

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

ПОТЕНЦИРОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ АНТИБИОТИКОВ С ПОМОЩЬЮ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ

Вапенова Дария Юрьевна

*Оренбургский государственный университет
г. Оренбург*

Каримов Ильшат Файзелгаянович

*кандидат биологических наук
Оренбургский государственный университет
г. Оренбург
Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук
г. Оренбург*

DOI: [10.31618/nas.2413-5291.2019.2.44.25](https://doi.org/10.31618/nas.2413-5291.2019.2.44.25)

ANTIBIOTICS ACTION POTENTIATION BY SMALL MOLECULES

Vapenova Dariya Yurevna

*Orenburg State University
Orenburg*

Karimov Ilshat Faizelgayanovich

*PhD in Biology
Orenburg State University
Orenburg*

*Federal Research Centre of Biological Systems and Agro-technologies of the Russian Academy of Sciences
Orenburg*

Аннотация

Целью работы стало исследование возможности потенцирования антибиотиков малыми молекулами растительного происхождения. В работе использованы четыре типа культур, в отношении которых изучено действие семи антибиотиков в сочетании с шестью молекулами, входящими в состав дуба. Обнаружено увеличение активности цефтазидима при сочетании с пропилрезорцином, кумарином и пирогаллолом в отношении *P. aeruginosa*, однако с канамицином наблюдался обратный эффект. Таким образом, потенцирование наблюдается только в отдельных случаях и зависит как от типа препарата, так и тестируемого микроорганизма.

Abstract

The aim of the work was to study the possibility of potentiation of antibiotics with small molecules of plant origin. We used four types of cultures for which the effect of seven antibiotics in combination with six molecules from the oak has been studied. An increase in ceftazidime activity was found when combined with propylresorcinol, coumarin and pyrogallol against *P. aeruginosa*, but the opposite effect was observed with kanamycin. Thus, potentiation is observed only in individual cases and depends both on the type of the drug and the microorganism being tested.

Ключевые слова: потенцирование; антибиотик; растительные молекулы

Keywords: potentiation; antibiotic; plant molecules

Борьба с адаптационной способностью микроорганизмов к антибиотикам, также как и с антибиотикорезистентностью штаммов микроорганизмов, достаточно трудна и проводится по трем направлениям: 1) применение больших доз антибиотиков; 2) изыскание новых антибактериальных препаратов, в том числе и антибиотиков; 3) комбинация антибактериальных препаратов и антибиотиков с различным механизмом действия на микробную клетку, а также сочетание антибиотиков с другими лекарственными препаратами, обладающими специфическим воздействием на антибиотикорезистентность. Новые перспективные соединения с антибактериальной активностью появились в группах бета-лактамов, макролидов, фторхинолонов, гликопептидов и оксазолидинонов, а также в новых химических группах.

Несмотря на большое число антимикробных препаратов, номенклатура которых насчитывает около 200 наименований (около 150 зарегистрированы в России), их число постоянно увеличивается. Каждый год появляются 1-2 новых препарата, и

многие из них пополняют арсенал антимикробных лекарственных средств. Причины разработки новых препаратов разнообразны: расширение антимикробного спектра, повышение активности в отношении определенных микроорганизмов, поиск соединений с активностью в отношении проблемных возбудителей, улучшение фармакокинетических свойств, снижение токсичности [7, с.1]. Одной из главных причин поиска новых соединений является возрастающая с каждым годом резистентность микробов к антимикробным препаратам, причем ее выраженность бывает настолько велика, что многие широко применяемые лекарственные средства теряют свою значимость при лечении ряда инфекций [3, с.24]. Все основные антимикробные препараты, внедренные в клиническую практику или находящиеся на разных стадиях изучения, получены синтетическим или полусинтетическим путем. Ведутся работы по созданию и улучшению лекарственных форм известных препаратов [6, с.3].

С другой стороны, широко известны бактерицидные эффекты различных растительных экстрактов, используемых как в народной, так и классической медицине. К примеру, эфирные масла вследствие их липофильной природы, легко диффундируют через бактериальные мембраны клетки, вследствие чего происходит усиление проницаемости клеточных мембран, ведущая к утечке клеточных компонентов и потере ионов [4, с.83]. К тому же они могут не только ингибировать активность патогенных бактерий [5], но и усиливать эффекты воздействия антибиотиков [1, 2].

Однако на данный момент имеется небольшое количество исследований по совместному действию антибиотиков и малых молекул, входящих в состав растительных экстрактов. В связи с этим целью данной работы стала оценка возможности потенцирования действия антибиотиков некоторыми молекулами, встречающихся в растительном сырье.

В работе были использованы культуры штаммов *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, полученных из клинических образцов и описанных с использованием дифференциально-диагностических сред (HiMedia, Индия) и наборов для биохимической идентификации бактерий (Lachema, Чехия). В качестве антимикробных препаратов использованы наборы дисков для диско-диффузионного метода (НИЦФ, Россия). Использованы растительные молекулы, идентифицированные ранее в экстракте коры дуба (Sigma-Aldrich, США).

Оценка действия антибиотиков ожидаемо продемонстрировала различную чувствительность использованных культур, тем не менее обнаружены некоторые общие закономерности. В частности, на все изучаемые штаммы наиболее выраженное действие оказал офлоксацин, а также другие два использованных препарата из группы фторхинолонов (таблица 1).

ТАБЛИЦА 1
ДИАМЕТРЫ ЗОН ПОДАВЛЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ АНТИБИОТИКОВ

Антибиотики	Исследуемые микроорганизмы			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>
Ципрофлоксацин	35,67±0,03	32±0,23	23,33±1,2	30±1,15
Офлоксацин	37±0,57	34±0,57	24±0,58	33±1,53
Канамицин	22,67±0,33	26,33±0,88	14,66±0,88	16,67±0,66
Левифлоксацин	33,67±0,88	33,67±0,66	24,33±0,67	26±1,53
Ампициллин	7,33±0,45	22±1,73	0	0
Гентамицин	22,67±0,88	29,33±0,67	11±0,31	23±1,15
Цефтазидим	29,67±0,33	17,33±1,45	0	29,33±1,2

Вследствие сходства действия данных антибиотиков и отсутствие механизмов резистентности к ним у использованных культур бактерий был сформирован прогноз об отсутствии у данных препаратов синергизма с растительными молекулами. С другой стороны, к некоторым препаратам бактерии демонстрировали устойчивость, в частности к ампициллину и цефтазидиму, а также умеренную чувствительность к канамицину и гентамицину.

Некоторые из использованных малых молекул проявили незначительный самостоятельный бактерицидный эффект. Для всех культуры зарегистрировано ингибирующее действие пропилрезорцина, что результировалось формированием зоны подавления роста диаметром от 8,33 до 9,67 мм. Данный эффект по всей видимости связан с тем, что данное соединение является представителем d₁-факторов и способно менять активность клеток, переводя их в гипометаболическое состояние путем изменения состояния мембран и стабилизации ферментных комплексов. Помимо этого, для культур *E.coli* и *S.aureus* также зарегистрировано ингибирующее действие пирогаллола.

Добавление пропилрезорцина выявило наибольшее потенцирующее действие на ампициллин при действии на культуру *S.aureus*, при этом получена зона ингибирования роста диаметром

20,83±0,44 мм, а также достоверно обнаружено усиление действия гентамицина на 34 %. Однако в случае действия цефтазидима на данный штамм пропилрезорцин оказывает обратный эффект, заключающийся в снижении чувствительности, выражающееся изменением диаметра зоны подавления роста с 29 до 15 мм. В отношении энтеробактерий данное соединение не оказала заметного влияния, однако для псевдомонад потенцирующий эффект зарегистрирован при действии цефтазидима на 58 %, тогда как антибактериальное действие канамицина и ампициллина, напротив, снижался (рисунки 1).

Сочетание цефтазидима с кумарином в отношении *P.aeruginosa* вновь формирует потенцирующий эффект, ведущий к увеличению бактерицидной активности на 78 %, что также наблюдается и в случае культуры *K. pneumoniae*, при котором происходит формирование пятнадцати миллиметровой зоны подавления роста. Однако для кишечной палочки подобного эффекта не было зарегистрировано, а для золотистого стафилококка обнаружено обратное действие. Применение кумарина с канамицином против синегнойной палочки также привело к уменьшению бактерицидной активности, наблюдаемое по снижению диаметра зоны подавления

ния с 26 до 14 мм. При этом по отношению к культуре *S.aureus* наблюдался эффект потенцирования с увеличением зоны подавления на 41 %.

Наконец, эффект пирогаллола был связан по большей части только с ампициллином, причем для

граммотрицательных бактерий комплексное соединение не имело бактерицидных свойств, тогда как для стафилококка обнаружено формирование выраженной зоны подавления роста.

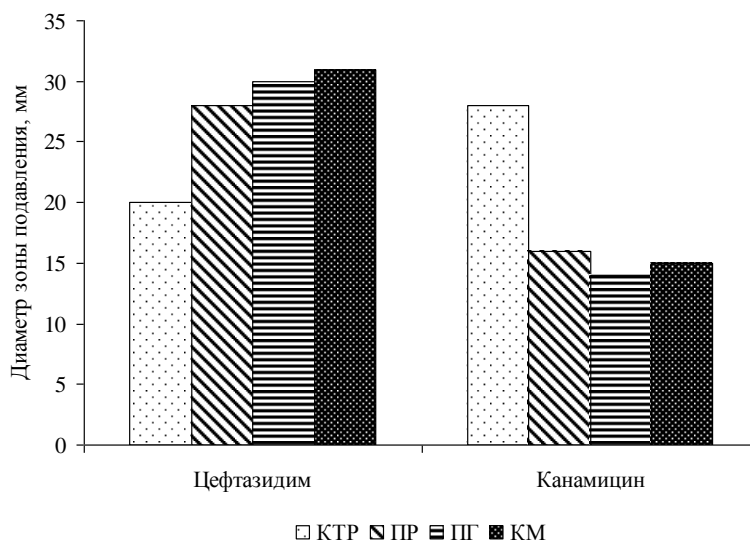


Рисунок 1. Эффекты различных малых молекул в сочетании с антибиотиками при действии на *P.aeruginosa*. Обозначения: КТП - контроль; PP - пропилрезорцин; PG - пирогаллол; KM - кумарин.

К тому же подтвердилась гипотеза об отсутствии потенцирования действия фторхинолонов в отношении использованных культур бактерий вследствие изначально высокой их чувствительности к данной группе антибактериальных препаратов. Эффекта действия ванилина, скополетина и антиарола в проведенном исследовании зарегистрировано не было.

Таким образом, результаты работы демонстрируют возможность формирования потенцирующего действия малых молекул на антибиотики. При этом наиболее выраженные эффекты обнаруживаются при использовании цефтазида в отношении *P.aeruginosa*, а также ампициллина и канамицина против *S.aureus*. Тем не менее, в некоторых случаях никакого положительного эффекта не наблюдается, а иногда формируется обратное действие, ведущее к снижению чувствительности тест-штамма. При этом наблюдаемые явления зависят не только от использованных соединений и антибактериальных препаратов, но и особенностей использованных культур бактерий. В связи с этим развитие данного направления исследований позволит создать комплексные препараты, проявляющие большую антибактериальную активность по сравнению с отдельными компонентами.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект №16-16-10048)

Список литературы:

1. Dzotam J.K. Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR)

Gram-negative bacteria / J.K. Dzotam, F.K. Touani, V. Kuete // BMC Complement Altern. Med. 2015. Vol.16. No.9. doi: 10.1186/s12906-016-0990-7

2. Fankam A.G. Antibacterial and antibiotic resistance modifying activity of the extracts from *Albanblackia gabonensis*, *Combretum molle* And *Gladiolus guartinianus* against gram-negative bacteria including multi-drug resistant phenotypes / A.G. Fankam, J.R. Kuate, V. Kuete // BMC Complement Altern. Med. 2015. doi: 10.1186/s12906-015-0726-0

3. Hooper D. Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones / D. Hooper // Clin. Infect. Dis. Suppl. – 2000. – Vol. 2. – P. 24-28.

4. Kapil A. The challenge of antibiotic resistance: need to contemplate / A. Kapil // Indian J. Med. Res. – 2005. – Vol. 121, № 2. – P. 83-91.

5. Upadhyay A. Combating pathogenic microorganisms using plant-derived antimicrobials: a mini-review of the mechanistic basis / A. Upadhyay, I. Upadhyaya, A. Kollanoor-Johny, K. Venkitanarayanan // BioMed Research International. 2014. Article ID 761741. 18 pp. doi: 10.1155/2014/761741

6. Зубов П.В. Разработка новых антибактериальных препаратов – проблемы и перспективы / П.В. Зубов, В.В. Новикова // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 3-10.

7. Фролова А.В. Эфирные масла – перспективные источники при разработке антимикробных лекарственных средств для местного лечения гнойных ран / А. В. Фролова // Вестник ВГМУ. – 2010. – Т. 9. – № 1. – С. 1-10