



Ферменты в составе комбинированных антимикробных средств как улучшители их действия

Н.А. Степанов, А.Г. Асланлы, М.В. Домнин, Е.Н. Ефременко[✉]

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет
119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3
✉ e-mail: elena_efremenko@list.ru

Накапливающаяся информация о росте числа микроорганизмов, обладающих резистентностью по отношению к применяемым антимикробным препаратам, с одной стороны, и появление информации о наличии лабораторий, в которых ведутся закрытые работы с микробными патогенами, негативные свойства которых могут быть искусственно усилены, свидетельствуют о том, что необходима разработка новых эффективных антимикробных средств с максимально широким спектром действия.

Цель работы – провести анализ современных тенденций в развитии антимикробных препаратов, комбинирующих применение известных и широко используемых антибиотиков, а также веществ с антимикробными свойствами, включая металлические наночастицы, антимикробные пептиды, с различными ферментами, которые позволяют сохранить и усилить противомикробный эффект по отношению к клеткам различных микроорганизмов.

Источниковая база исследования – преимущественно англоязычная научная литература, доступная через глобальную сеть Интернет, а также собственные опубликованные экспериментальные исследования авторов.

Метод исследования – аналитический.

Результаты. В работе рассмотрены ферменты, которые, в отличие от классических антимикробных агентов, чаще вступающих в реакции ингибирования ключевых биохимических реакций, являются катализаторами процессов, направленных на окисление и гидролиз молекул, метаболически и структурно важных для микроорганизмов. Таким образом, ферменты многократно вступают в реакции, позволяющие существенно снизить концентрации веществ, важных для жизнедеятельности микробных клеток, что приводит к их ослаблению и более эффективному действию антимикробных агентов. Чаще всего при этом сами ферменты выступают в роли носителей для молекул с антимикробным действием, что позволяет избежать неспецифического их взаимодействия с другими, прежде всего, белками, выводящими, таким образом, часть, например, антибиотиков, из активного воздействия на клетки патогенов.

Выводы. Продemonстрировано, что ферментативное усиление бактерицидного действия антимикробных агентов может быть по отношению к разным клеткам, в том числе образуемым ими сложным по составу биосистемам (био пленкам), как в несколько раз, так и на несколько порядков. Такие комбинированные с ферментами антимикробные средства могут представлять интерес для проведения санитарных обработок разных поверхностей, емкостей, помещений, в том числе биологических лабораторий, для введения в состав защитных и перевязочных материалов.

Ключевые слова: антимикробные пептиды; био пленки; гидролазы; деконтаминация; защитные материалы; оксидазы; патогены; раневые инфекции

Для цитирования: Степанов Н.А., Асланлы А.Г., Домнин М.В., Ефременко Е.Н., Ферменты как усилители действия антимикробных веществ. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(2):146–163. EDN:lkteat.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-2-146-163>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: Е.Н. Ефременко является членом редколлегии журнала с 2019 г. Это не повлияло на процесс рецензирования и окончательное решение.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Российским научным фондом (грант № 23-14-00092).

Поступила 05.06.2024. После доработки 20.06.2024 г. Принята к публикации 27.06.2024.

© Н.А. Степанов, А.Г. Асланлы, М.В. Домнин, Е.Н. Ефременко, 2024

Journal of NBC Protection Corps. 2024. V. 8. No 2

Enzymes in the Content of Combined Antimicrobials as Improvers of Their Action

Nikolay A. Stepanov, Aysel G. Aslanli, Maksim V. Domnin, Elena N. Efremenko✉

Moscow State University, Faculty of Chemistry
Lenin Hills 1-3, 119991 Moscow, Russian Federation
✉ e-mail: elena_efremenko@list.ru

Accumulating information about the growing number of microorganisms that are resistant to the antibiotics used, on the one hand, and the emergence of information about the presence of laboratories in which closed work is carried out with microbial pathogens, the negative properties of which can be artificially enhanced.

The aim of the work to analyze current trends in the development of antimicrobial drugs combining the use of well-known and widely used antibiotics, as well as substances with antimicrobial properties, including metal nanoparticles, antimicrobial peptides, with various enzymes that allow to preserve and enhance the antimicrobial effect against the cells of various microorganisms

The source base of the research is mainly English-language scientific literature available via the global Internet network, as well as the authors' own published experimental studies.

The research method is analytical.

Results. The work considers enzymes that, unlike classical antimicrobial agents, which more often enter into reactions inhibiting key biochemical reactions, are catalysts for processes aimed at oxidation and hydrolysis of molecules that are metabolically and structurally important for microorganisms.

Conclusion. The enzyme repeatedly enters into reactions that significantly reduce the concentrations of substances important for the vital activity of microbial cells, which leads to their weakening and more effective action of antimicrobial agents. Most often, in this case, the enzymes themselves act as carriers for molecules with antimicrobial action, which avoids their non-specific interaction with other, primarily proteins, thus removing some, for example, antibiotics, from the active effect on pathogen cells. It has been demonstrated that the enzymatic enhancement of the bactericidal action of antimicrobial agents can be in relation to different cells, including the complex biosystems (biofilms) formed by them, both by several times and by several orders of magnitude. Such antimicrobial agents combined with enzymes may be of interest for carrying out sanitary treatments of various surfaces, containers, premises, including biological laboratories, for the introduction of protective and dressing materials.

Keywords: antimicrobial peptides; bacterial and fungal pathogens; biofilms; decontamination; hydrolases; oxidases; protective materials; wound infections

For citation: Stepanov N.A., Aslanli, A.G., Domnin M.V., Efremenko E.N. Enzymes in the content of combined antimicrobials as improvers of their action. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(2):146–163. EDN:lkteat. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-2-146-163>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: E.N. Efremenko is a member of the Editorial Board of the journal (since 2019). This had no impact on the peer review process and the final decision.

Funding: This work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (Grant № 123-14-00092).

Received June 5, 2024. Revised June 20, 2024. Accepted June 27, 2024

Сегодня много внимания во всем мире уделяется микробной контаминации различных объектов, росту числа микроорганизмов, устойчивых к воздействию широко применяемых антибиотиков. Это касается не только бактериальных клеток, но и грибных клеток, резистентность которых к действию фунгицидов ранее почти не обсуждалась.

Согласно недавно опубликованному исследованию, за последнее десятилетие уровень ежегодной смертности от распространения грибковых инфекций вырос в среднем по 120 странам мира в 2 раза (до 3,8 млн в год) [1]. Фактически из 6,5 млн человек ежегодно страдающих грибковыми заболеваниями, 1,8 млн поражены аспергиллезом (*Aspergillus*

flavus и *Aspergillus fumigatus*), 1,5 млн страдают от кандидозов (*Candida albicans*) и 194000 – криптококковым менингитом (*Cryptococcus neoformans*). В 2022 г. все эти патогены были включены в «World Health Organization (WHO) fungal priority pathogens list», составленный из 19 групп грибковых патогенов, связанных с серьезным риском смертности или заболеваемости [2]. С этими же грибковыми поражениями связаны и заболевания животных, растений, развитие биокоррозионных процессов, порча пищевых продуктов, кормов для животноводства, биодеградация строительных материалов [3–5]. Пандемия COVID-19 привела к ослаблению иммунной системы человека и усилила распространение грибковых заболеваний [6] при том, что основная масса применяемых средств лечения (антибиотиков) ориентирована на бактерии. Что касается проблемы резистентности бактерий ко многим «блокбастерным» антибиотикам, то она обсуждается давно, однако «свежую» струю в эти обсуждения привносит информация о выявлении в разных странах мира биологических лабораторий, занимающихся исследованиями бактериальных патогенов [7] с возможностью «синтетического усиления» продуцируемых ими природных токсинов [8] под предлогом разработки новых средств борьбы с ними. Отсюда очевидной становится необходимость иметь средства купирования и надежной супрессии возможных вспышек заболеваний, провоцируемых такими бактериальными клетками, за счет максимально возможной деконтаминации мест их появления.

Особую опасность представляют полимикробные консорциумы, включающие разные виды мицелиальных грибов и бактерий, которые могут формировать устойчивые биопленки, повышая еще больше устойчивость к воздействию антимикробных агентов [9]. Биопленки являются постоянным источником внутрибольничных инфекций, возникающих вследствие колонизации медицинских изделий и поверхностей (катетеров, контактных линз, механических клапанов сердца, эндотрахеальных трубок, медицинского инвентаря и оборудования) [10]. Бактериальные инфекции в сочетании с грибковыми, особенно вызванными дрожжами рода *Candida* и мицелиальными грибами рода *Aspergillus*, приводят к высокой смертности [11]. Грибы рода *Aspergillus* вызывают кожные заболевания, провоцируют аллергические реакции и приводят к хроническому инфицированию дыхательных путей. Мицелий грибов в смешанных консорциумах явля-

ется матриксом для роста клеток бактерий. Внеклеточные гидролитические ферменты грибов способствуют деградации труднодоступных субстратов, обеспечивая питательными веществами всех участников консорциума. Помимо этого, особую опасность представляют микотоксины, секретируемые грибами [12]. Загрязнение продуктов питания и кормов микотоксинами представляет реальную опасность, поскольку микотоксины представляют собой природные яды, выступая в качестве ингибиторов для различных процессов, включая синтез белков.

Образование микробных биопленок начинается с адсорбции клеток на поверхности материалов с последующим прикреплением, ростом биомассы и секрецией внеклеточных полисахаридов с формированием матрикса биопленки [13].

Особую роль в проявлении резистентности микроорганизмов к антимикробным агентам и формировании биопленок играют кворумные молекулы, влияющие на экспрессию молчащих генов в популяциях с высокой концентрацией клеток, и, соответственно, синтез белков – факторов вирулентности [14]. Внутри биопленок происходит обмен генетического материала, приводящий к горизонтальному переносу генов между клетками, в том числе тех, которые передают устойчивость к лекарствам препаратам [15]. Именно поэтому применяемые в настоящее время антимикробные средства (антибиотики, фунгициды) в рекомендуемых дозах малоэффективны, а повышение их применяемой концентрации приводит к повышению токсичности сред.

Все указанные причины приводят к тому, что особое внимание в последнее время помимо поиска новых антибиотиков и фунгицидов сосредоточено на исследовании комбинированного применения различных противомикробных препаратов с ферментами [16], позволяющими каталитически воздействовать на разные мишени в микробных клетках: клеточные стенки, мембраны, нуклеиновые кислоты, молекулы кворумного ответа клеток (Quorum Sensing, QS), пептиды и белки, участвующие в формировании биопленок на различных поверхностях (адезины, гидрофобины) (рисунки 1).

Помимо природных форм ферментов, синтезируемых различными живыми объектами (растениями, микроорганизмами и животными), могут быть получены рекомбинантные молекулы этих биокатализаторов, продуцируемые различными клетками-хозяевами, и при этом возможно направ-

ленное улучшение их каталитических характеристик по отношению к определенным субстратам.

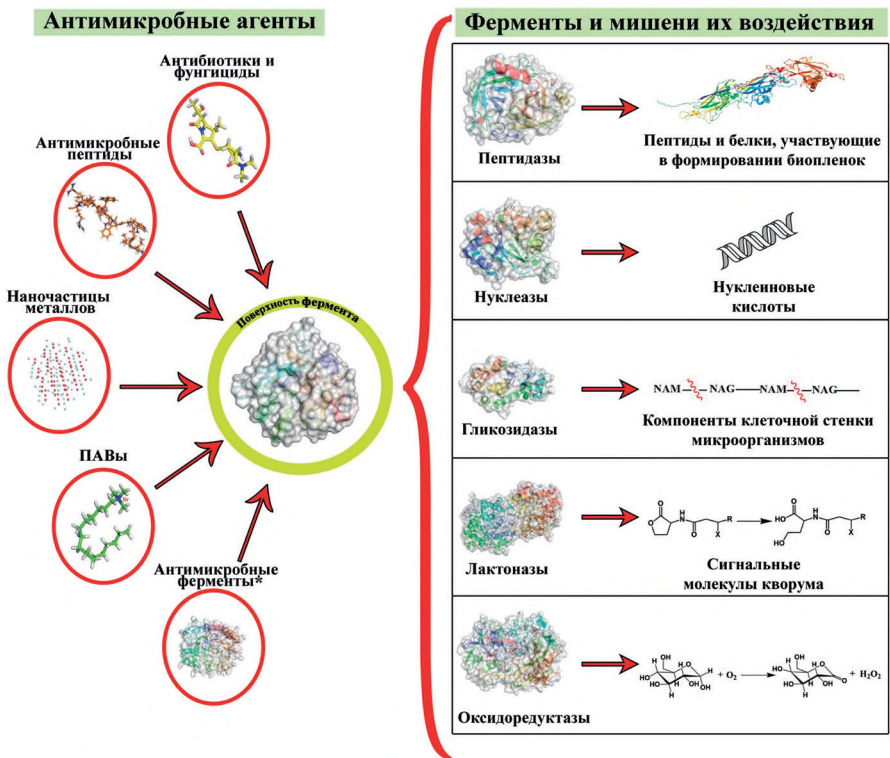
Цель работы – провести анализ современных тенденций в развитии антимикробных препаратов, комбинирующих применение известных и широко используемых антибиотиков, а также веществ с антимикробными свойствами, включая металлические наночастицы, антимикробные пептиды, с различными ферментами, которые позволяют сохранить и усилить противомикробный эффект по отношению к клеткам различных микроорганизмов (рисунк 1).

Вариации в составе фермент-содержащих комбинаций

Анализ ферментов, проявляющих разнообразную противомикробную активность, в сочетании с антибиотиками, свидетельствует о том, что большинство из них представляют собой гидролазы (таблица 1) [17–42], активно воздействующие на белковые и полисахаридные молекулы клеток. Некоторые из этих успешно применяемых гидролаз проявляют нуклеазную активность, причем в отношении разных молекул нуклеиновых кислот (как ДНК, так и РНК) [19, 21, 25, 26, 30].

Ферментативное разрушение экзополисахаридов (ЭПС) с применением разных карбогидраз, среди которых α-амилаза, трегалаза, целлюлаза, декстраназа, мутаназа и др. [18, 19, 35, 37–39], является одним из наиболее эффективных подходов к подавлению роста различных по составу биопленок и их уничтожению. Причина в том, что ЭПС играют важную роль не только в адгезии биопленок к различным поверхностям (техническим поверхностям, имплантам, тканям человека), но и в упрочнении самих матриц биопленок с включенными в них клетками разных микроорганизмов. В этой связи, возможность каталитического разрушения ЭПС в мягких условиях, характерных для ферментативных реакций, делает клетки, в том числе в составе биопленок, более доступными для воздействия различных антимикробных агентов.

В ряде случаев эффективно одновременное внесение ферментов и антимикробных агентов в состав средств для обработки мест микробной контаминации. Однако возможно комбинированное, но не одновременное, а последовательное применение ферментов и антибиотиков для достижения максимального эффекта. Так для борьбы с полимикробными биопленками



*Антимикробные ферменты: лизоцим, Дисперсин В, субтилизин и др.

Рисунок 1 – Исследуемые варианты комбинирования антимикробных агентов с ферментами, катализирующими различные реакции с биомолекулами (рисунок подготовлен авторами для обзора)

Таблица 1 – Примеры комбинаций ферментов с антимикробными препаратами и эффекты от их применения

Объекты	Источник контаминации объекта	Примененные антимикробные комбинации с ферментами	Эффект	Источник литературы
Раны	Биопленка <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Трипсин (0,15 мг/мл), ДНКаза I (дезоксирибонуклеаза) (50 Ед/мл) с меропенемом или амикацином (125–500 мг/мл)	Уничтожение биопленки, снижение концентрации применяемых антибиотиков в 2,5 раза в сравнении с индивидуальными антибиотиками	[17]
Поверхности из полипропилена и нержавеющей стали	Биопленки <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> и <i>Bacillus cereus</i>	Протеаза и α-амилаза (180 Ед/г) с SanicipBioControl (дезинфектант – смесь поверхностно-активных веществ с высокой проникающей способностью (четвертичные аммонийные соединения пятого поколения) (30 мл/л) и надуксусная кислота как окислитель (200 мг/л)	Снижение концентрации клеток в биопленках на 5–6 порядков на 1 см ²	[18]
Протезы	Биопленки <i>S. aureus</i> или <i>S. epidermidis</i> или <i>E. coli</i>	1,4-β-d-глюканаза, β-1,6-гексозаминидаза и РНК/ДНК эндонуклеазы с ципрофлоксацином, моксифлоксацином, колистином, доксициклином или линезолидом (0,25–30 мг/л)	Снижение концентрации клеток в биопленках (в большинстве вариантов на 80 %) по сравнению с обработкой только антибиотиками	[19]
Тканевые защитные материалы	<i>Bacillus subtilis</i> и <i>E. coli</i>	Полигистидиновая органофосфатгидролаза (His ₆ -ОРН) (0,3 г/л) и полимиксины (2 г/л)	Снижение концентрации клеток на поверхности защитного материала	[20]
Раны	Биопленки <i>S. aureus</i>	Наногеликарбопола (0,6 вес%), покрытые алкалозой (0,6 вес%) с ципрофлоксацином (0,32 мкг/мл)	Гибель клеток в биопленке	[21]
Раны	Биопленки <i>S. aureus</i>	Фицин, иммобилизованный на хитозане, в сочетании с бензалкония хлоридом (75 мг/мл)	Снижению количества клеток на 3 порядка при лечении ран через 6 дней	[22]
Раны, медицинские технические средства, катетеры, протезы	Биопленки <i>Candida albicans</i>	ДНКаза (0,13 мг/мл) в сочетании с амфотерицином В (4 мг/л)	ДНКаза повышала эффективность действия амфотерицина В, что снижало на 2 порядка концентрацию клеток в биопленке	[23]
Катетеры, протезы, сердечные клапаны	Биопленки <i>C. albicans</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	Субтилизин А (0,5 Ед/мл) в комбинации с моксифлоксацином (4 мг/л) и меропенемом (40 мг/л), каспофунгином (13,8 мг/л)	Снижение концентрации клеток на 40–90 % во всех биопленках	[24]
Легкие, катетеры, импланты, сердечные клапаны	Биопленка <i>Aspergillus fumigatus</i>	ДНКаза (128 мг/мл) самфотерицином В (0,125 мг/л) или каспофунгином (64 мг/л)	Эффективность амфотерицина В и каспофунгина улучшалась в присутствии фермента с 8-кратным снижением применяемых концентраций антибиотиков	[25]
Раны	Менингококковая инфекция, инфекции мочевыводящих путей, биопленки <i>Enterococcus faecalis</i> / <i>E. faecium</i>	Альгинатлиаза (15 Ед/мл) и ДНКаза (100 мг/л) с ванкомицином (16–64 мг/мл)	Ферменты повышали эффективность действия ванкомицина в отношении биопленок бактерий	[26]
Раны	Биопленки <i>S. aureus</i> / <i>P. aeruginosa</i>	Антисептик Пронтосан (10 % раствор) с протеазой (0,00083 Ед/мл) и ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) 10 мМ	Снижение концентрации клеток в биопленках <i>P. aeruginosa</i> и <i>S. aureus</i> в 1300 и 30 раз соответственно	[27]

Продолжение таблицы 1

Объекты	Источник контаминации объекта	Примененные антимикробные комбинации с ферментами	Эффект	Источник литературы
Продукты питания	Биопленки <i>Salmonella</i> sp.	Бромид цетилтриметиламмония (1 мг/мл) с целлюлазой R-10 (20 мг/мл)	Удаление зрелой биопленки и снижение клеток на 6 порядков	[28]
Импланты	Биопленка <i>S. aureus</i>	Дисперсин В, лизостафин, α-амилаза, эндопротеиназа, сerraпептаза (1–64 мкг/мл) с ванкомицином и римфапицином (5 мг/мл)	Полное уничтожение или снижение клеток в биопленках на 1–6 порядков	[29]
Катетеры	Биопленка <i>C. albicans</i> и <i>S. epidermidis</i>	ДНКаза I или ДНКаза из бактерий <i>Vibrio alginolyticus</i> (5 мкг/мл) и биосурфактант <i>Bacillus subtilis</i> (300 мкг/мл)	Снижение концентрации клеток в биопленке на 79–85 %	[30]
Кожа, легких, катетеры	Биопленки <i>C. albicans</i> / <i>S. aureus</i> ; <i>C. albicans</i> / <i>E. coli</i> ; <i>C. albicans</i> / <i>P. aeruginosa</i> ; <i>C. albicans</i> / <i>K. pneumoniae</i>	Лонгидаза (3000 Ед/мл) (бовгигиалуронидаза) с флуконазолом (256 мкг/мл)	Совместное применение фермента с противогрибковым препаратом увеличило эффективность действия флуконазола в 4 раза	[31]
Импланты	Биопленки <i>C. albicans</i> и <i>E. faecalis</i>	Глюкозооксидаза с наночастицами Fe ₃ O ₄ (1,0 мг/мл)	Разрушение матрикса биопленки и гибель клеток за счет оксидативного стресса	[32]
Продукты питания	<i>Bacillus cereus sensu lato</i> , <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i>	ЭндолизинPlyG в комбинации с литическим бактериофагом (vB_BanS_Вср1) и кодируемым им эндолизином PlyB (0,625 мг/кг)	Выживаемость зараженных сибирской язвой мышей составила 71 %	[33]
Раны	Биопленка <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Коммерческий препарат Flaminal®, в составе которого глюкозооксидаза, лактопероксидаза и гваякола (1 мас. %)	Гибель клеток на 90 %	[34]
Подводные поверхности	Биопленки бактерий родов <i>Pseudoalteromonas</i> и <i>Rhodobacter</i>	α-химотрипсин (1500 Ед/мл), α-амилаза (83 Ед/мл), липаза (500 Ед/мл)	Снижение адгезии морских микроорганизмов к твердым поверхностям на 90 %	[35]
Стальные поверхности	<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	Трегалаза (30 мг/л) с сульфатом тетрагидроксиметил-фосфония (50 мг/л)	Снижение концентрации адгезированных к стальной поверхности биокоррозионных клеток в 5,7 раза и уменьшение потери массы стали на 30 %	[36]
Продукты питания, промышленные системы хранения и трубопроводы	Биопленка <i>Bacillus cereus</i>	Протеаза (1 Ед/мл, pH 8,5, 60 °C) и HNO ₃ (10 мл/л)	Полное удаление биопленки	[37]
Легкие, бронхи, технические поверхности	Биопленка разных штаммов клеток <i>P. aeruginosa</i>	Целлюлаза <i>Aspergillus niger</i> (10 Ед/мл) с цефтазидимом (16–256 мкг/мл)	Антибиотик в сочетании с целлюлазой снижает рост биопленки в 32–128 раз в зависимости от штамма бактерий	[38]
Импланты	Биопленки <i>S. mutans</i> , <i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>Streptococcus oralis</i>	Декстраназа (8,75 Ед/мл) и мутаза (1,75 Ед/мл) в сочетании с Листерином (Johnson&Johnson)	Снижение концентрации клеток бактерий на 3 порядка	[39]
Бронхолегочная система	Биопленки <i>S. aureus</i>	Сухой порошок для ингаляционной терапии с сerraиопептидазой (50 мкл/мл) и левофлоксацином (0,25 мг/мл)	Эрадикация биопленки на 85–90 %	[40]
Слизистые поверхности человека	<i>Streptococcus sobrinus</i> , <i>S. mutans</i> и <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Гидрогель Pluronic® F-127 (20 мас%), содержащий лизоцим (2 мг/мл) и лактоферрин (1 мг/мл)	Ингибирование образования биопленок <i>S. sobrinus</i> и <i>S. mutans</i>	[41]

Продолжение таблицы 1

Объекты	Источник контаминации объекта	Примененные антимикробные комбинации с ферментами	Эффект	Источник литературы
Протезированные суставы	Биопленка <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Термочувствительный гидрогель Pluronic® F127 для лечения перипротезной инфекции суставов с серратиопептидазой (25 мг/мл), ванкомицином (4 мг/мл геля) и микросферы из поли(ε-капролактона) (200 мг/мл гидрогеля)	Ингибирование образования биопленки	[42]

(*S. aureus*, *S. epidermidis* и *E. coli*), формирующимися в местах протезирования, успешно применялась комбинация ферментов эндо-1,4-β-d-глюканазы, β-1,6-гексозаминидазы и неспецифической РНК/ДНК эндонуклеазы в сочетании с антибиотиками разных классов. Зрелые биопленки обрабатывались ферментами в течение 0,5 ч, а затем инкубировались с антибиотиками, что в результате обеспечивало достижение синергического эффекта и значительного снижения общего остаточного количества жизнеспособных клеток по сравнению с биопленками, обработанными только антибиотиками [19].

Продолжая анализировать успешные варианты применения ферментов в сочетании с антибиотиками для подавления различных микробных инфекций, следует подчеркнуть эффективность применения именно нескольких ферментов, проявляющих разную субстратную специфичность действия в каталитических реакциях. Ферменты, разрушая полисахариды, белки, нуклеиновые кислоты, используют, соответственно, разные мишени для воздействия на клетки. Так, например, была показана эффективность использования ряда гидролитических ферментов (α-амилазы, ДНКазы I, лизоцима, литиказы, субтилизина А, дисперсина В, целлюлазы) в комбинации с антимикробными препаратами (моксифлоксацином и меропенемом, амфотерицином В, ванкомицином, каспифунгином) против моно-, двух- и трехвидовых биопленок, формируемых бактериями (*S. aureus*, *E. coli*) и дрожжами (*C. albicans*). При этом надо отметить, что основным компонентом воздействия в исследованных комбинациях ферментов оказался субтилизин А. В его присутствии были отмечены наибольшие успехи в снижении биомассы всех протестированных биопленок (до 90 %) [24].

Надо отметить, что микробный состав биопленок во многом определяет не только тип применяемых антимикробных средств (антибактериальные препараты, фунгициды, их смесь), но и состав ферментов, вводимых в комбинации с ними. Так, для ингибиро-

вания дрожжевых биопленок *C. albicans* эффективной оказалась дезоксирибонуклеаза I (ДНКаза I) в комбинации с различными противогрибковыми препаратами. Было показано, что амфотерицин В в сочетании с ДНКазой позволяет в 100 раз снизить концентрацию клеток в биопленке. С другой стороны, сочетание того же фермента с каспифунгином и флуконазолом оказалось неэффективным [23].

Было показано, что грибы *Aspergillus fumigatus* образуют биопленки, в структуре которых с помощью флуоресцентной микроскопии и количественного ПЦР-анализа было показано наличие внеклеточной (так называемой экологической) ДНК, аналогично тому, как она присутствует и в бактериальных биопленках. Эта информация была использована, и архитектурная целостность грибной биопленки была дестабилизирована обработкой ферментом ДНКазой. Комбинации этого фермента с амфотерицином В и каспифунгином значительно повышали эффективность противогрибковых препаратов, в результате чего удалось снизить концентрации применяемых фунгицидов в 8 раз, чтобы добиться аналогичных результатов в отсутствии фермента [25].

Известно, что *Enterococcus* могут быть причиной серьезных тканевых поражений, в их числе раневые инфекции, эндокардит, менингит, а также инфекции мочевыводящих путей. Для подавления этих бактерий известно применение ванкомицина, который мало эффективен, особенно в отношении биопленок, вследствие своей плохой биодоступности. Однако эффективность действия антибиотика может быть значительно повышена при его использовании в комбинации с ферментами ДНКазы I и альгинатлиазой (подтверждено на клинических изолятах) [26].

Интересно отметить, анализируя известные результаты по применению ванкомицина, что его комбинирование с разными ферментами позволяет по-разному влиять на биопленки, различающиеся по своей стадии формирования. Так, на примере био-

пленки патогенных бактерий *S. aureus* было установлено, что использование ванкомицина, а также рифампицина в сочетании с дисперсином В (1 мкг/мл) значительно снижает жизнеспособность биопленок полисахаридного типа (флоккулярного типа) и в гораздо меньшей степени биопленок, содержащих уже белок-адгезин, то есть уже прикрепленных к поверхности. При этом обработка лизостафином в дозе 1 мкг/мл сама по себе приводила к снижению клеток в составе биопленок, а в сочетании с ванкомицином и рифампицином в дозе 5 мг/мл достигалась полная гибель всех бактерий в составе биопленок вне зависимости от их стадия развития [29]. α -Амилаза и серрапептаза в сочетании с ванкомицином или рифампицином обеспечивали только значительное снижение на 1–4 порядка численности бактерий в биопленках, но не полную гибель всех клеток. При этом серрапептаза в сочетании с обоими антибиотиками в лучшем варианте приводила к снижению количества клеток на 6 порядков [29].

Еще одним интересным решением задачи по усилению действия антимикробных веществ является привнесение в их комбинацию с ферментами дополнительного комплексообразующего агента, способного связывать ионы металлов, которые должны присутствовать в активных центрах важных клеточных ферментов. Так для элиминирования бактериальных биопленок, сформированных клетками *P. aeruginosa* и *S. aureus*, применялась их комбинированная обработка различными коммерчески доступными антисептиками, протеазами и этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). В поиске возможных синергических эффектов ЭДТА (20 мМ) в сочетании с антисептиком нанесли на биопленки, что приводило к их разрушению и гибели клеток на 99 %. В этой связи дополнительное введение фермента уже не улучшало эффективность такой обработки. Однако при снижении концентрации ЭДТА в 2 раза, добавление фермента приводило к полному уничтожению плотных биопленок как *P. aeruginosa*, так и *S. aureus*. Поскольку ЭДТА может осуществлять вывод металлов не только из активных центров ферментов бактерий, но и клеток обрабатываемых тканей человека, проявляя, таким образом, токсичный эффект, то использование ферментов фактически позволило снизить подобную токсичность, сохранив необходимый положительный антимикробный результат [27].

Эффективной против дрожжевой-бактериальной биопленки, содержащей *C. albicans*

и *S. epidermidis*, оказалась комбинация биосурфактанта (300 мкг/мл), представляющего собой липопептид, состоящий из пирроло[1,2-а]пиазин-1,4-диона, гексагидро-3-(фенилметил)-, метилового эфира октадекановой кислоты и метилового эфира гексадекановой кислоты, с ДНКазой I или ДНКазой из морских бактерий *Vibrio alginolyticus* (5 мкг/мл). Было установлено значительное ингибирование роста биопленки (на 79–85 %). Полученный эффект достигался за счет снижения поверхностного натяжения, что предотвращало прилипание микробных клеток к поверхности [30]. То есть применение поверхностно-активного вещества (ПАВ) (рисунок 1), обладающего антимикробными свойствами, в комбинации с ферментами оказалось весьма эффективным в своем воздействии на биопленки, содержащие про- и эукариотические клетки.

Еще одним примером использования комбинирования ферментов с веществами, проявляющими свойства, характерные для ПАВ, является применение смеси гидролитических ферментов (декстраназы и мутаназы) с клинически используемым противомикробным препаратом Листерин, содержащим различные эфирные масла. Декстраназа и мутаназа синергически разрушали матрицу биопленки, заметно усиливая действие Листерина (снижение концентрации клеток было в 1000 раз по сравнению с одним только противомикробным препаратом). Стоит отметить, что Листерин без ферментов воздействовал только на *S. mutans* и не действовал на *Actinomyces naeslundii* и *Streptococcus oralis* [39].

Для подавления еще более сложных по составу биопленок, в частности, дрожжей *C. albicans* с разными бактериями *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, возникающими при тяжелых инфекциях кожи, легких, а также при развитии катетер-ассоциированных инфекций, была исследована эффективность применения Лонгидазы® в комбинации с фунгицидом (флуконазолом). В результате было установлено, что обработка биомассы биопленок дрожжей с различными бактериями на 30–40 %, при этом эффективность воздействия фермента зависела от состава внеклеточного матрикса биопленок. Сам флуконазол в таком сочетании клеток был неожиданно малоэффективен по отношению к дрожжам *C. albicans*, в то же время совместное применение фермента с противогрибковым препаратом увеличило эффективность действия последнего в 4 раза [31].

Среди ферментов, относящихся к классу оксидоредуктаз, наиболее часто используемым является глюкозооксидаза, которая эффективно катализирует конверсию глюкозы в глюконовую кислоту и перекись водорода (H_2O_2), что приводит к окислительному стрессу клеток, и способствует повышению уязвимости клеток для антимикробных агентов. Например, были получены наночастицы Fe_3O_4 , модифицированные глюкозооксидазой с высокой эффективностью антибактериального действия в отношении смешанных биопленок *C. albicans* с *E. faecalis*. При контакте наночастиц с биопленкой наблюдалось ее разрушение за счет колебания наночастиц с ферментом, индуцированного магнитным полем, и образования активных форм кислорода, генерируемых ферментом и металлическими наночастицами (рисунок 1), которые в подобной системе выступали в качестве антимикробных агентов [32].

В другом исследовании с глюкозооксидазой было показано, что запатентованный препарат Flaminal®, в состав которого входят глюкозооксидаза, лактопероксидаза и гваякол (2-метоксифенол), подавляет рост различных бактерий, в том числе в составе биопленок *S. aureus*, метициллин-резистентного штамма *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Для 90 % ингибирования сформировавшихся биопленок требовалась всего 1 мас% концентрация препарата. При этом стафилококки были более чувствительны, чем клетки *P. aeruginosa* [34].

Среди различных современных стратегий борьбы с бактериальными патогенами особое внимание уделяется бактериофагам. Бактериофаги, проявляя высокую специфичность воздействия к клеткам-мишеням, синтезируют эндолизины и другие ферменты, которые разрушают бактериальные клетки. Эта противомикробная активность делает их почти идеальными кандидатами в качестве средств биологического контроля присутствия определенных бактериальных патогенов. Например, был выделен фаг *Myoviridae* vB_BanS_Vsr1, антимикробная активность которого была исследована на различных штаммах *B. anthracis* (возбудителя сибирской язвы). При внутривенном введении комбинации фагового эндолизина PlyB в сочетании с другим эндолизином PlyG мышам, зараженным сибирской язвой, выживаемость мышей составила 71 % [33].

Особое место занимают исследования по комбинированному применению ферментов с антимикробными препаратами в решении задач подавления роста и развития биопленок в водных средах. Сюда относятся различные подводные поверхности, подвергающиеся

биокоррозии вследствие биообрастаний, влекущих за собой значительные финансовые затраты из-за необходимости дорогостоящего обслуживания и проведения очистки. Для борьбы с биообрастаниями применялись краски с биоцидными свойствами, на основе соединений меди. Однако из-за своей высокой и неспецифической токсичности для морских живых объектов они были запрещены. Причем в морских биообрастаниях и формировании биопленок участвуют не только бактерии, но и микроводоросли, которые сами синтезируют токсины (микроцистины), которые не только ухудшают качество воды, но и вместе с испарениями попадают в воздух и становятся респираторно опасными [43].

Поскольку ЭПС и белки играют ключевую роль в адгезии бактерий к поверхностям, то было исследовано использование нескольких гидролитических ферментов (α -химотрипсин, α -амилаза, липаза), способных воздействовать на соответствующие биополимерные компоненты биопленок в качестве стратегии предотвращения морского биообрастания и биокоррозии. Было показано, что по отдельности ни один из ферментов не ингибировал образование биопленки при индивидуальном применении. Однако комбинация всех трех ферментов снижала образование биопленок почти на 90 % даже без добавления еще каких-либо биоцидов [36].

Реально биокоррозия стальных изделий представляет собой серьезную угрозу техническим средствам во нефтегазовой, водо- и интернет-снабжающей, военной областях. Биопленки сульфатредуцирующих бактерии *Desulfovibrio vulgaris* часто участвуют в процессах биокоррозии в микроаэрофильных и анаэробных (придонных) условиях. Применяемые биоциды характеризуются низкой эффективностью действия против анаэробных биопленок, однако, как показали исследования, на формирование анаэробной биопленки может влиять трегалоза – дисахарид, регулирующий число водородных связей, формирующихся в микроокружении поверхности бактериальных клеток. Учитывая это, фермент трегалаза был протестирован в качестве усилителя действия биоцида сульфата тетраакис(гидроксиметил)фосфония, который используют для ингибирования роста биопленок *Desulfovibrio vulgaris* на углеродистой стали. Лабораторные исследования показали, что присутствие трегалазы приводило к 5,7-кратному снижению количества адгезированных к стали клеток, снижению потери веса металла за счет ингибирования биокоррозии на 30 % по сравнению с обработкой только одним биоцидом [36].

Бактериальные биопленки, образующиеся на поверхностях при производстве и хранении сырья и продуктов питания, приводят к их порче и потенциальному риску для человека, накапливая бактериальную биомассу, продуцирующую токсины [8]. Из-за повышенной устойчивости биопленок к традиционным процессам дезинфекции требуются новые стратегии для предотвращения как их образования, так и их удаления. Эндоспорообразующие бактерии, в частности, *B. cereus*, являются известными патогенами, выявляемыми в продуктах питания. Причина в том, что часто биопленки развиваются в промышленных системах хранения и трубопроводах на пищевых предприятиях, в которых присутствует остаточная влажная среда после реализованного производственного цикла. Интересно, что очистка технологического оборудования с применением протеазы привела к полному удалению клеток биопленки, тогда как традиционная щелочная обработка не дала такого результата [37].

Была исследована *in vitro* эффективность действия антибиотика цефтазидима и целлюлазы, продуцируемой грибом *Aspergillus niger*, примененных по-отдельности и в комбинации против биопленок *P. aeruginosa*. Цефтазидим и целлюлаза, индивидуально примененные, снижали образование биопленок в водных средах, тем эффективнее, чем более высокая их концентрация использовалась. Комбинация фермента (10 Ед/мл) с антибиотиком (256 мкг/мл) приводила к значительному снижению биомассы биопленок, и концентрация антибиотика в такой комбинации, необходимая для ингибирования биопленок, была в 32 раза меньше, чем та, что давала тот же эффект без фермента [38].

Стабилизированные формы ферментов в составе комбинированных фермент-содержащих антимикробных препаратах

Одним из важных вопросов, связанных с применением любых катализаторов, включая ферменты, является стабильность проявляемых ими характеристик. Чтобы увеличить стабильность каталитических свойств ферментов при их хранении и использовании, применяют высушивание. Такая форма ферментов пригодна не только для хранения, но и даже для их применения. Так, например, в экспериментах *in vivo* комбинация левофлоксацина и серратиопептидазы использовалась при лечении инфекций, вызываемых *S. aureus*. Было установлено уничтожение биопленки на 90 % при ингаляционном лечении инфицированных крыс [40], при этом для ингаляций применялся сухой порошкообразный

комбинированный фермент-содержащий препарат. Нанесения сухих форм ферментов возможно и на раневые поверхности, где присутствует экссудат, создающий необходимые условия для гидролитического катализа. При этом сухая форма фермента может использоваться в составе перевязочных и влагосорбирующих материалов, использование которых далее будет обсуждаться отдельно.

Помимо высушивания ферменты могут быть стабилизированы в составе различных носителей и матриксов. Интересными представляются решения, направленные на использование для этих целей разнообразных гелевых систем. Например, был получен наногель, функционализированный алкалозой в сочетании с антибиотиком ципрофлоксацином, который позволял полностью устранить биопленки *S. aureus* в течение 6 ч. Частицы наногеля, покрытые алкалозой, не проявляли токсичности, и поэтому продемонстрированный нанотехнологический подход потенциально может стать очень мощным средством лечения хронических раневых инфекций [21].

Фицин, иммобилизованный на хитозановом гелевом носителе, позволил сохранить ~90 % исходной активности фермента. Фицин разрушал биопленки стафилококков (*S. aureus*), повышая эффективность антибактериальных препаратов. В частности, площадь кожных ран у инфицированных крыс после обработки фицином с антибиотиком уменьшалась в 2 раза через 4 суток со снижением концентрации клеток бактерий в биопленках в 1000 раз [22].

Был исследован антибактериального эффект введения в гель полоксамера 407 с торговым названием Pluronic F-127, фермента лизоцима, а также белка лактоферрина против бактерий *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus acidophilus*. Данный гель проявлял противомикробную активность в отношении всех протестированных бактерий и эффективно ингибировал образование биопленок как *S. sobrinus*, так и *S. mutans* [41].

Был получен термочувствительный гель на основе плюроника, содержащий фермент серратиопептидазу и антибиотик ванкомицин. Была проведена оценка *in vitro* эффективности действия этой комбинации против перипротезной инфекций суставов. Анализ показал снижение количества бактериальных клеток. Фермент увеличивал антибиопленочную активность ванкомицина, однако увеличение концентрации фермента в применяемой комбинации в 2 раза без изменения концентрации антибиотика не приводило к увеличению оказываемого антимикроб-

ного эффекта. Очевидно, что соотношение антибиотик/фермент в применяемых комбинациях имеет решающее значение для получения максимально эффективных антимикробных препаратов [27]. Эти соотношения необходимо проверять экспериментально, но прогнозировать их можно на основе применения компьютерных методов молекулярного моделирования взаимодействий ферментов с различными эффекторами, которые широко применяются сегодня в энзимологии.

Фермент-содержащие антимикробные комбинации в составе тканевых материалов

Отдельный интерес по отношению к фермент-содержащим комбинациям с антимикробными агентами представляют различные носители, в том числе тканевые. Они, с одной стороны, повышают стабильность ферментов, а с другой стороны, фактически

локализуют и поддерживают присутствие обсуждаемых комбинаций в месте применения, а именно: перевязочные материалы – на раневых поверхностях, защитные костюмы – на теле человека, защитные материалы – в системах фильтрации и сорбции для защиты дыхательной системы, при изоляции продуктов питания, различных технических поверхностей и т.д. (таблица 2) [44–52]. При этом в качестве носителей могут использоваться натуральные, синтетические, смесевые и композитные материалы, поверхность которых может быть химически модифицирована, в том числе сшивающими агентами, или вступать в нековалентные взаимодействия с ферментами, надежно удерживая их таким образом.

Хлопковый текстиль с антимикробными свойствами был разработан путем поверхностной модификации материала

Таблица 2 – Результаты исследования различных фермент-содержащих комбинаций с антимикробным действием, иммобилизованных на различных материалах

Объекты воздействия (микроорганизмы)	Фермент-содержащая антимикробная комбинация на носителе	Эффект	Источник литературы
Бактерии <i>S. aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> и дрожжи <i>C. albicans</i>	Хлопковый текстиль с иммобилизованными ферментами из препаратов Termamyl 2X (α-амилаза) и Bioprep 3000L (щелочная пектиназа)	Повышение антимикробной активности по сравнению с Termamyl 2X в отношении клеток <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i> и <i>C. albicans</i> , а также частично в отношении <i>P. aeruginosa</i>	[44]
Бактерии <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	Эвгенол-содержащие нанокапсулы человеческого сывороточного альбумина и шелкового фиброина со смесью хлопка/полиэтилентерефталата, функционализированных ферментами (целлюлазным комплексом и кутиназой)	Ингибирование роста <i>S. aureus</i> и <i>E. coli</i> на 81 и 33 % соответственно	[45]
Бактерии <i>S. aureus</i>	Рекомбинантный ферментный препарат AuresinePlus, содержащий автолизин LytM, был иммобилизован в многослойном нетканом материале, полученном на основе поли(лактид-ко-гликолида) с хитозаном	Уничтожение бактерий на 99,4 ± 0,6 %	[46]
Бактерии <i>E. coli</i> , <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , <i>Rhodococcus ruber</i> , <i>B. subtilis</i> и дрожжи <i>Candida</i> sp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Cryptococcus albidus</i> , <i>Pachysolen tannophilus</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Torulopsis</i> sp., <i>Trichosporon beigeli</i>	His ₆ -ОРН с бацитрацином	Максимальное увеличение эффективности действия бацитрацина в отношении клеток грамотрицательных бактерий и ряда штаммов дрожжей в 2,8 и 9,3 раз соответственно	[47]
Бактерии <i>P. aeruginosa</i> и <i>E. coli</i>	Послойное нанесение комбинации ферментов (ацилазы и α-амилазы) на силиконовые трубки катетеризованных животных	Полное уничтожение биопленок за 7 суток <i>in vivo</i>	[48]
Бактерии <i>Pseudomonas</i> sp., <i>B. subtilis</i>	Пенициллинацилаза и His ₆ -ОРН с полимиксином В и колистином иммобилизовались на различных тканевых носителях	Увеличение эффективности действия от 12,5 до 35 раз в сравнении с антибиотиками	[48]

Продолжение таблицы 2

Объекты воздействия (микроорганизмы)	Фермент-содержащая антимикробная комбинация на носителе	Эффект	Источник литературы
Бактерии <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>B. subtilis</i>	His ₆ -ОРН с β-лактамными антибиотиками (ампициллин, меропенем, имипенем, цефтриаксон) и АМП (индолицидин, темпорин А)	Увеличение эффективности анти- фунгального действия	[49–51]
Бактерии <i>E. coli</i> , <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , <i>Rhodococcus ruber</i> , <i>Bacillus subtilis</i> и дрожжи <i>Candida</i> sp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Cryptococcus albidus</i> , <i>Pachysolen tannophilus</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Torulopsis</i> sp., <i>Trichosporon beigelii</i>	His ₆ -ОРН с бацитрацином	Максимальное увеличение эффективности действия бацитрацина в отношении клеток грамотрицательных бактерий и ряда штаммов дрожжей в 2,8 и 9,3 раз соответственно	[52]

и иммобилизации ферментных коммерческих препаратов Termamyl 2X (α-амилаза) и Biorper 3000L (щелочная пектиназа) [44]. Полученный материал был применен против клеток *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* и *C. albicans*. Оказалось, что хлопок с Biorper 3000L проявляет более высокую антимикробную активность по сравнению с Termamyl 2X в отношении протестированных клеток.

С целью производства «антимикробного текстиля» был изучен вариант объединения эвгенол-содержащих нанокapsул человеческого сывороточного альбумина в шелковом фиброине со смесью хлопка/полиэтилентерефталата (ПЭТ). Полученный материал был дополнительно функционализирован ферментами (целлюлазный комплекс и кутиназа) и ингибировал рост *S. aureus* и *E. coli* на 81 и 33 % соответственно [45].

Включение ферментов в перевязочные материалы и создание, так называемых, энзимиотиков (Enzybiotics – антимикробных препаратов на основе ферментов), для улучшения их антимикробных свойств на сегодняшний день представляет большой научно-практический интерес. В этой связи были разработаны антимикробные раневые повязки на основе нетканых материалов с ферментами (AuresinePlus). Такие повязки позволяют доставлять фермент непосредственно в инфицированную рану, улучшая их высвобождение из материала в активной каталитической форме. Были протестированы различные методы иммобилизации фермента, и было показано, что как физически адсорбированные, так и ковалентно связанные ферменты (с использованием N-гидроксисукцинимид/ N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида) проявляли высокую антибактериальную активность [46].

Особое внимание при разработке перевязочных материалов уделяется изучению теоретических и практических подходов к иммобилизации ферментов на различных производных наноцеллюлозы, которая, являясь природным материалом, характеризуется высокой биосовместимостью, химической стабильностью и хорошей гигроскопичностью. Для этих целей бактериальную целлюлозу (БЦ) использовали в качестве носителя для комбинаций антимикробных пептидов (АМП) с ферментами – пенициллинацилазой и гексагистидинсодержащей оргонофосфатгидролазой (His₆-ОРН), гидролизующими бактериальные молекулы QS. В качестве АМП использовались полимиксин В и колистин. Анализ антибактериальной активности приготовленных образцов БЦ с указанными комбинациями *in vitro* подтвердил их эффективность против грамотрицательных *Pseudomonas* sp. и грамположительных *B. subtilis* [47]. Оказалось, что комбинации пенициллинацилазы/колистин и His₆-ОРН/колистин, обеспечивают 13-кратное (*B. subtilis*) и 35-кратное (*Pseudomonas* sp.) увеличение эффективности действия АМП.

Для борьбы с бактериальными биопленками на силиконовые катетеры методом послойного осаждения наносились ферменты ацилаза и α-амилаза [48]. Комбинирование обоих ферментов приводило не только к значительному снижению роста и формированию одновидовых (*P. aeruginosa*) и смешанных (*P. aeruginosa* и *E. coli*) биопленок, но и к их полной эрадикации за 7 суток при проведении исследований на животных *in vivo*.

Комбинирование ферментов с антимикробными агентами оказалось весьма перспективным для получения защитных материалов с выраженной химико-биологи-

ческой защитой [53, 54]. Фермент His₆-ОРН был успешно использован для таких целей, причем как в сочетании с наночастицами металлов [20, 53], так и в комбинации с АМП и антибиотиками [48–55]. Действие разработанных фермент-содержащих образцов защитных материалов оценивалось по отношению к различным бактериям (*B. subtilis* и *E. coli*), при этом контролировалась гидролитическая активность His₆-ОРН в составе тканевых материалов. Интерес в таком контроле состоял в том, что данный фермент способен катализировать не только гидролиз фосфор-органических соединений, но и молекул QS, причем как бактерий, так и грибов [56]. В результате численность бактериальных клеток на поверхности материала снижалась в разы. Кроме того, большая часть ферментной активности сохранялась в материалах в отношении пестицида параоксона [20].

Было установлено, что β-лактамы антибиотиков (ампициллин, меропенем, имипенем, цефтриаксон) и различные АМП могут оказывать стабилизирующее воздействие на His₆-ОРН за счет образования нековалентных полиэлектролитных комплексов с молекулой фермента [55, 56]. Среди исследованных АМП наибольшую эффективность в отношении клеток грамотрицательных бактерий проявила комбинация индолицидина/His₆-ОРН, а в отношении клеток грамположительных бактерий – комбинация полимиксина В/His₆-ОРН (таблица 3).

Было выявлено заметное улучшение антибактериальной эффективности бацитрацина в отношении *Pseudomonas* sp. при его сочетании с His₆-ОРН. Также показано, что комбинация His₆-ОРН/бацитрацин против ряда штаммов дрожжей позволяет существенно снизить (в 9,3 раза) ингибирующую концентрацию самого АМП [52]. При этом исследовании были проведены для всех указанных сочетаний фермента с АМП как в отсутствии носителя, в качестве которого была выбрана БЦ, так и в иммобилизованном виде. Следует отметить, что, БЦ, выбранная для нанесения тех или иных фермент-содержащих антимикробных комбинаций при использовании одного и того же фермента, неоднозначно влияла на получаемый результат (таблица 3). Этот факт свидетельствует о том, что не только взаимодействие фермента с носителем может определять эффективность получаемой комбинации, но и антимикробные агенты сами, вероятно, взаимодействуют с носителем, и это влияет на их свойства. Например, было установлено, что ферменты лактоназа AiiA и металло-β-лактамаза NDM-1 могут гидролизовать лактон-содержащие мо-

Таблица 3 – Увеличение эффективности действия различных АМП в комбинации с His₆-ОРН, применяемой в растворимой форме или нанесенной на бактериальную целлюлозу, против грамположительных и грамотрицательных бактериальных клеток [20, 48–51]

АМП	Бактерии	Увеличение эффективности, раз
Без бактериальный целлюлозы		
Бацитрацин	<i>Pseudomonas</i> sp.	2,8
Индолицидин		156,7
Темпорин А		22,9
Бацитрацин	<i>B. subtilis</i>	1,0
Индолицидин		1,8
Темпорин А		3,6
На бактериальной целлюлозе		
Колистин	<i>Pseudomonas</i> sp.	30,7
Полимиксин В		3,8
Индолицидин		2,7
Темпорин А		1,9
Колистин	<i>B. subtilis</i>	4,4
Полимиксин В		12,9
Индолицидин		5,4
Темпорин А		1,5

лекулы QS грибов и сами проявлять высокую антифунгальную активность в отношении клеток различных мицелиальных грибов [56]. Предположительно комбинирование данных ферментов, как между собой, так и с различными антимикробными агентами в составе противомикробных материалов также может позволить значительно улучшить действие последних в отношении широкого спектра микроорганизмов, однако это еще предстоит проверить.

Заключение

Анализируя представленный материал, отражающий современные тенденции использования разных ферментов в комбинации с разнообразными антимикробными агентами, можно сделать несколько основных выводов:

1. Разработка и применение подобных комбинаций позволяет существенно улучшить антимикробную эффективность действия применяемых противомикробных средств, при этом не только против бактериальных патогенов, относящимся к числу ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.) и проявляющих высокую устойчивость к действию антибиотиков, но и улучшить

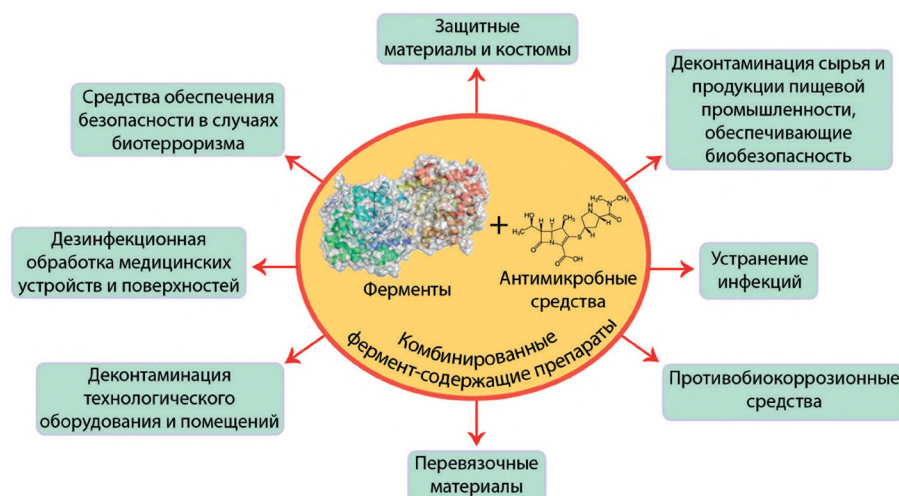


Рисунок 2 – Области потенциального применения комбинированных фермент-содержащих препаратов антимикробного действия (рисунок подготовлен авторами для обзора)

воздействие на клетки грибов, внесенных в международный лист опасных грибных патогенов;

2. Обсуждаемые фермент-содержащие комбинации с антимикробными агентами могут эффективно применяться не только против отдельных клеток микроорганизмов, но главное – против микробных биопленок, в составе которых клетки разных микроорганизмов пребывают в состоянии кворума и повышенной резистентности к противомикробным

воздействиям, при этом такие биопленки могут иметь высокую гетерогенность состава и включать разные про- и эукариотические клетки, в том числе различных патогенов;

3. Формы и области применения (рисунок 2) разрабатываемых фермент-содержащих комбинаций с антимикробным действием могут быть весьма разнообразными, а стабильность проявляемых ими свойств – высокой.

Список источников/References

1. Denning DW. Global incidence and mortality of severe fungal disease. *Lancet Infect Dis*. 2024;24:E428–38. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00692-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00692-8)
2. Fisher MC, Denning DW. The WHO fungal priority pathogens list as a game-changer. *Nat Rev Microbiol*. 2023;21:211–2. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00861-x>
3. Rather MA, Gupta K, Bardhan P, Rather, Borah M, Sarkar, A. et al. Microbial biofilm: a matter of grave concern for human health and food industry. *J Basic Microbiol*. 2021;61(5):380–95. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000678>
4. Kochina TA, Kondratenko YA, Shilova OA, Vlasov DY. Biocorrosion, biofouling, and advanced methods of controlling them. *Prot Met Phys Chem Surf*. 2022;58(1):129–50. <https://doi.org/10.1134/S2070205122010129>
5. Liu X, Koestler RJ, Warscheid T, Katayama Y, Gu JD. Microbial deterioration and sustainable conservation of stone monuments and buildings. *Nat Sustain*. 2020;3(12):991–1004. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-00602-5>
6. Авдеева МГ, Зотов СВ, Кулбужева МИ, Мошкова ДЮ, Журавлева ЕВ. Грибковые осложнения при новой коронавирусной инфекции COVID-19. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2021;26(6):252–69. <https://doi.org/10.17816/EID108872>
7. Avdeeva MG, Zotov SV, Kulbuzheva MI, Moshkova DY, Zhuravleva EV. Fungal complications with the new coronavirus infection COVID-19. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2021;26(6):252–69. <https://doi.org/10.17816/EID108872>
8. Филонов ВВ, Щеренко ВВ, Попов ЮЕ, Терещатов ВЭ. Биологические лаборатории в Кавказском регионе как источники угроз национальной безопасности России. *Вестник войск РХБ защиты*. 2022;6(3):258–70. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-3-258-270>

Filonov VV, Shcherenko VV, Popov YE, Tereshchatov VE. Biological laboratories in the caucasus region as sources of threats to Russia's national security. *Journal of NBC Protection Corps*. 2022;6(3):258–70.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-3-258-270>

8. Супотницкий МВ. Биологические свойства бактериальных токсинов. *Вестник войск ПХБ защиты*. 2024;8(1):34–64. EDN:jtrfxo
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-34-64>

Supotnitskiy MV. The Biological properties of bacterial toxins. *Journal of NBC Protection Corps*. 2024;8(1):34–64. EDN:jtrfxo
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-34-64>

9. Kulshrestha A, Gupta P. Combating polymicrobial biofilm: Recent approaches. *Folia Microbiol*. 2023;68(4):495–505.
<https://doi.org/10.1007/s12223-023-01070-y>

10. Sharma S, Mohler J, Mahajan SD, Schwartz SA, Bruggemann L, Aalinkeel R. Microbial biofilm: a review on formation, infection, antibiotic resistance, control measures, and innovative treatment. *Microorganisms*. 2023;11(6):1614.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11061614>

11. Tits J, Cammue BPA, Thevissen K. Combination therapy to treat fungal biofilm-based infections. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22):8873.
<https://doi.org/10.3390/ijms21228873>

12. Lyagin I, Efremenko E. Enzymes for detoxification of various mycotoxins: origins and mechanisms of catalytic action. *Molecules*. 2019;24(13):2362.
<https://doi.org/10.3390/molecules24132362>

13. Thallinger B, Prasetyo EN, Nyanhongo GS, Guebitz GM. Antimicrobial enzymes: an emerging strategy to fight microbes and microbial biofilms. *Biotechnol J*. 2013;8(1):97–109.
<https://doi.org/10.1002/biot.201200313>

14. Efremenko E, Senko O, Stepanov N, Aslanli A, Maslova O, Lyagin I. Quorum sensing as a trigger that improves characteristics of microbial biocatalysts. *Microorganisms*. 2023;11(6):1395.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11061395>

15. Gliźniewicz M, Milek D, Olszewska P, Czajkowski A, Serwin N, Cecerska-Heryć E, et al. Advances in bacteriophage-mediated strategies for combating polymicrobial biofilms. *Front Microbiol*. 2024;14:1320345.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1320345>

16. Efremenko E, Stepanov N, Aslanli A, Lyagin I, Senko O, Maslova O. Combination of enzymes with materials to give them antimicrobial features: modern trends and perspectives. *J Funct Biomater*. 2023;14(2):64.
<https://doi.org/10.3390/jfb14020064>

17. Fanaei Pirlar R, Emaneini M, Beigverdi R, Banar M, B van Leeuwen W, Jabalameli F. Combinatorial effects of antibiotics and enzymes against dual-species *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the wound-like medium. *PLoS One*. 2020;15(6):e0235093.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235093>

18. Iñiguez-Moreno M, Gutiérrez-Lomelí M, Avila-Novoa MG. Removal of mixed-species biofilms developed on food contact surfaces with a mixture of enzymes and chemical agents. *Antibiotics*. 2021;10(8):931.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics10080931>

19. Poilvache H, Ruiz-Sorribas A, Cornu O, Van Bambeke F. In vitro study of the synergistic effect of an enzyme cocktail and antibiotics against biofilms in a prosthetic joint infection model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021;65(4):e01699–20.
<https://doi.org/10.1128/aac.01699-20>

20. Lyagin I, Stepanov N, Frolov G, Efremenko E. Combined modification of fiber materials by enzymes and metal nanoparticles for chemical and biological protection. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3):1359.
<https://doi.org/10.3390/ijms23031359>

21. Weldrick PJ, Hardman MJ, Paunov VN. Enhanced clearing of wound-related pathogenic bacterial biofilms using protease-functionalized antibiotic nanocarriers. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2019;11(47):43902–19.
<https://doi.org/10.1021/acsami.9b16119>

22. Baidamshina DR, Koroleva VA, Trizna EY, Pankova SM, Agafonova MN, Chirkova MN, et al. Anti-biofilm and wound-healing activity of chitosan-immobilized Ficin. *Int J Biol Macromol*. 2020;164:4205–17.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.030>

23. Martins M, Henriques M, Lopez-Ribot JL, Oliveira R. Addition of DNase improves the *in vitro* activity of antifungal drugs against *Candida albicans* biofilms. *Mycoses*. 2012;55(1):80–5.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2011.02047.x>

24. Ruiz-Sorribas A, Poilvache H, Kamarudin NHN, Braem A, Van Bambeke F. Hydrolytic enzymes as potentiators of antimicrobials against an inter-kingdom biofilm model. *Microbiol Spectr*. 2022;10(1):e02589-21. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02589-21>
25. Rajendran R, Williams C, Lappin DF, Millington O, Martins M. Extracellular DNA release acts as an antifungal resistance mechanism in mature *Aspergillus fumigatus* biofilms. *Eukaryot. Cell*. 2013;12(3):420–9. <https://doi.org/10.1128/ec.00287-12>
26. Torelli R, Cacaci M, Papi M, Sterbini FP, Martini C, Posteraro B, et al. Different effects of matrix degrading enzymes towards biofilms formed by *E. faecalis* and *E. faecium* clinical isolates. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2017;158:349–55. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.07.010>
27. Lefebvre E, Vighetto C, Di Martino P, Garde VL, Seyer D. Synergistic antibiofilm efficacy of various commercial antiseptics, enzymes and EDTA: a study of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* biofilms. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(2):181–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.05.008>
28. Wang H, Wang H, Xing T, Wu N, Xu X, Zhou G. Removal of *Salmonella* biofilm formed under meat processing environment by surfactant in combination with bio-enzyme. *LWT-Food Sci Technol*. 2016;66:298–304. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.049>
29. Hogan S, Zapotoczna M, Stevens NT, Humphreys H, O'Gara JP, O'Neill E. Potential use of targeted enzymatic agents in the treatment of *Staphylococcus aureus* biofilm-related infections. *J Hosp Infect*. 2017;96(2):177–82. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.02.008>
30. Srikanth R, Banu SF, Sowndarya J, Parveen JHS, Rubini D, Wilson A, et al. Biosurfactant synergized with marine bacterial DNase disrupts polymicrobial biofilms. *Folia Microbiol*. 2021;66(5):831–42. <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00876-y>
31. Gatina A, Trizna E, Kolesnikova A, Baidamshina D, Gorshkova A, Drucker V, et al. The bovyhaluronidase azoximer (Longidaza®) disrupts *Candida albicans* and *Candida albicans*-bacterial mixed biofilms and increases the efficacy of antifungals. *Medicina*. 2022;58(12):1710. <https://doi.org/10.3390/medicina58121710>
32. Ji Y, Han Z, Ding H, Xu X, Wang D, Zhu Y, et al. Enhanced eradication of bacterial/fungi biofilms by glucose oxidase-modified magnetic nanoparticles as a potential treatment for persistent endodontic infections. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2021;13(15):17289–99. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c01748>
33. Schuch R, Pelzek AJ, Nelson DC, Fischetti VA. The PlyB endolysin of bacteriophage vB_BanS_Bcp1 exhibits broad-spectrum bactericidal activity against *Bacillus cereus sensu lato* isolates. *Appl Environ Microbiol*. 2019;85(9):e00003-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.00003-19>
34. Cooper RA. Inhibition of biofilms by glucose oxidase, lactoperoxidase and guaiacol: the active antibacterial component in an enzyme alginate. *Internat Wound J*. 2013;10(6):630–7. <https://doi.org/10.1111/iwj.12083>
35. Zanaroli G, Negroni A, Calisti C, Ruzzi M, Fava F. Selection of commercial hydrolytic enzymes with potential antifouling activity in marine environments. *Enzyme Microb Technol*. 2011;49(6-7):574–9. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.05.008>
36. Wang D, Ivanova SA, Hahn R, Gu T. Evaluation of trehalase as an enhancer for a green biocide in the mitigation of *Desulfovibrio vulgaris* biocorrosion of carbon steel. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2022;45(4):659–67. <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02684-7>
37. Kumari S, Sarkar PK. Optimisation of *Bacillus cereus* biofilm removal in the dairy industry using an in vitro model of cleaning-in-place incorporating serine protease. *Int J Dairy Technol*. 2018;71(2):512–8. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12454>
38. Kamali E, Jamali A, Izanloo A, Ardebili A. In vitro activities of cellulase and ceftazidime, alone and in combination against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *BMC Microbiol*. 2021;21:1–10. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02411-y>
39. Ren Z, Kim D, Paula AJ, Hwang G, Liu Y, Li J, et al. Dual-targeting approach degrades biofilm matrix and enhances bacterial killing. *J Dent Res*. 2019;98(3):322–30. <https://doi.org/10.1177/002203451881848>
40. Gupta PV, Nirwane AM, Belubbi T, Nagarsenker MS. Pulmonary delivery of synergistic combination of fluoroquinolone antibiotic complemented with proteolytic enzyme: A novel antimicrobial and antibiofilm strategy. *Nanomed Nanotechnol Biol Med*. 2017;13(7):2371–84. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.06.011>

41. Tonguc-Altin K, Sandalli N, Duman G, Selvi-Kuvvetli S, Topcuoglu N, Kulekci G. Development of novel formulations containing lysozyme and lactoferrin and evaluation of antibacterial effects on mutants *Streptococci* and *Lactobacilli*. *Arch Oral Biol*. 2015;60(5):706–14.
<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.02.004>
42. Sarıgöl E, Ekizoğlu M, Pehlivan SB, Bodur E, Sağiroğlu M, Çalış S. A thermosensitive gel loaded with an enzyme and an antibiotic drug for the treatment of periprosthetic joint infection. *J Drug Deliv Technol*. 2018;43:423–29.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.11.004>
43. Wiśniewska K, Śliwińska-Wilczewska S, Savoie M, Lewandowska AU. Quantitative and qualitative variability of airborne cyanobacteria and microalgae and their toxins in the coastal zone of the Baltic Sea. *Sci Total Environ*. 2022;20(826):154152.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154152>
44. Coradi M, Zanetti M, Valério A, de Oliveira D, da Silva A, Ulson SMDAG, et al. Production of antimicrobial textiles by cotton fabric functionalization and pectinolytic enzyme immobilization. *Mater Chem Phys*. 2018;208:28–34.
<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2018.01.019>
45. Quartinello F, Tallian C, Auer J, Schön H, Vielnascher R, Weinberger S, et al. Smart textiles in wound care: functionalization of cotton/PET blends with antimicrobial nanocapsules. *J Mater Chem B*. 2019;7(42):6592–603.
<https://doi.org/10.1039/c9tb01474h>
46. Urbanek O, Wysocka A, Nakielski P, Pierini F, Jagielska E, Sabała I. *Staphylococcus aureus* specific electrospon wound dressings: influence of immobilization technique on antibacterial efficiency of novel enzymatic. *Pharmaceutics*. 2021;13(5):711.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050711>
47. Aslanli A, Lyagin I, Stepanov N, Presnov D, Efremenko E. Bacterial cellulose containing combinations of antimicrobial peptides with various QQ enzymes as a prototype of an “enhanced antibacterial” dressing: *in silico* and *in vitro* data. *Pharmaceutics*. 2020;12(2):1155.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121155>
48. Ivanova K, Fernandes MM, Francesko A, Mendoza E, Guezguez J, Burnet M, et al. Quorum-Quenching and matrix-degrading enzymes in multilayer coatings synergistically prevent bacterial biofilm formation on urinary catheters. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2015;7(49):27066–77.
<https://doi.org/10.1021/acsami.5b09489>
49. Maslova O, Aslanli A, Stepanov N, Lyagin I, Efremenko E. Catalytic characteristics of new antibacterials based on hexahistidine-containing organophosphorus hydrolase. *Catalysts*. 2017;7(9):271.
<https://doi.org/10.3390/catal7090271>
50. Aslanli A, Lyagin I, Efremenko E. Novel approach to Quorum Quenching: rational design of antibacterials in combination with hexahistidine-tagged organophosphorus hydrolase. *Biol Chem*. 2018;399(8):869–79.
<https://doi.org/10.1515/hsz-2018-0162>
51. Aslanli A, Lyagin I, Efremenko E. Charges' interaction in polyelectrolyte (nano)complexing of His₆-OPH with peptides: unpredictable results due to imperfect or useless concept? *Int J Biol Macromol*. 2019;140:368–76.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.137>
52. Aslanli A, Domnin M, Stepanov N, Efremenko E. “Universal” antimicrobial combination of bacitracin and His₆-OPH with lactonase activity, acting against various bacterial and yeast cells. *Int J Mol Sci*. 2022;23(16):9400.
<https://doi.org/10.3390/ijms23169400>
53. Завьялов ВВ, Завьялова НВ, Холстов ВИ, Ковтун ВА, Гореленков ВК, Фролов ГА и др. Совместное действие металлических и ферментных наночастиц, используемых для функционализации защитных самоочищающихся материалов, нейтрализующих фосфорорганические соединения и обладающих бактерицидной активностью. *Вестник войск РХБ защиты*. 2023;7(2):107–26. EDN: jzeivh
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2023-7-2-107-126>
- Zavyalov VV, Zavyalova NV, Kholstov VI, Kovtun VA, Gorelenkov VK, Frolov GA, et al. The joint action of metal and enzymatic nanoparticles used for functionalization of protective self-cleaning materials neutralizing organophosphates and possessing bactericide activity. *Journal of NBC Protection Corps*. 2023;7(2):107–26. EDN: jzeivh
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2023-7-2-107-126>
54. Завьялов ВВ, Завьялова НВ, Холстов ВИ, Ковтун ВА, Гореленков ВК, Фролов ГА. и др. Бактерицидные свойства модульных защитных материалов. *Вестник войск РХБ защиты*. 2022;6(2):123–36. EDN: ombiwn.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-2-123-136>

Zavyalov VV, Zavyalova NV, Kholstov VI, Kovtun VA, Gorelenkov VK, Frolov GA, et al. Bactericidal Properties of Modular Protective Materials. *Journal of NBC Protection Corps*. 2022;6(2):123–36. EDN: ombiwn.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2022-6-2-123-136>

55. Efremenko E, Lyagin I, Aslanli A, Stepanov N, Maslova O, Senko O. Carrier variety used in immobilization of His₆-OPH extends its application areas. *Polymers*. 2023;15(3):591.
<https://doi.org/10.3390/polym15030591>

56. Efremenko E, Aslanli A, Domnin M, Stepanov N, Senko O. Enzymes with lactonase activity against fungal quorum molecules as effective antifungals. *Biomolecules*. 2024;14(3):383.
<https://doi.org/10.3390/biom14030383>

Вклад авторов / Authors contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Концептуализация – **Е.Н. Ефременко**; анализ литературы – **Н.А. Степанов**, **А.Г. Асланлы**, **М.В. Домнин**, **Е.Н. Ефременко**; написание оригинального текста – **Н.А. Степанов**, **А.Г. Асланлы**, **Е.Н. Ефременко**; подготовка рисунков – **Н.А. Степанов**, **М.В. Домнин**; рецензирование и редактирование текста – **Н.А. Степанов**, **Е.Н. Ефременко**. Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию рукописи / All authors confirm that their authorship meets the ICMJE criteria. The greatest contribution is distributed as follows: Conceptualization – **E.N. Efremenko**; literature analysis – **N.A. Stepanov**, **A.G. Aslanly**, **M.V. Domnin**, **E.N. Efremenko**; writing of the original text – **N.A. Stepanov**, **A.G. Aslanly**, **E.N. Efremenko**; preparation of drawings – **N.A. Stepanov**, **M.V. Domnin**; reviewing and editing of the text – **N.A. Stepanov**, **E.N. Efremenko**. All the authors made a significant contribution to the preparation of the article, read and approved the final version of the manuscript.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах / Authors

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3.

Степанов Николай Алексеевич. Научный сотрудник, канд. техн. наук, член коллектива, выполняющего исследование.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0821-8226>

Асланлы Айсель Гюлхан гызы. Научный сотрудник, канд. хим. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1087-6690>

Домнин Максим Владимирович. Аспирант, член коллектива, выполняющего исследование.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9834-0606>

Ефременко Елена Николаевна. Зав. лабораторией, д-р биол. наук, профессор, руководитель коллектива, выполняющего исследование.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6992-854X>

Контактная информация для всех авторов: elena_efremenko@list.ru

Контактное лицо: Ефременко Елена Николаевна; elena_efremenko@list.ru

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry. Lenin Hills 1-3, Moscow 119991, Russian Federation.

Nikolay A. Stepanov. Cand. Sci. (Techn.). Grant team member.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0821-8226>

Aysel G. Aslanly. Scientific Researcher. Cand. Sci. (Chem.). Grant team member.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1087-6690>

Maksim V. Domnin. Post graduate student, Grant team member.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9834-0606>

Elena N. Efremenko. Laboratory Chief. Dr Sci. (Biol.). Professor. Grant supervisor.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6992-854X>

Contact information for all authors: elena_efremenko@list.ru

Contact person: Elena Nikolaevna Efremenko; elena_efremenko@list.ru