

## ПРОТИМІКРОБНІ ЕФЕКТИ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ КОМПОЗИЦІЙ НІЗИНУ З ХЕЛПЕРНИМИ КОМПОНЕНТАМИ

Тетяна Осолодченко, Артур Мартинов,  
Ірина Андрєєва, Надія Завада,  
Олена Батрак, Ірина Рябова

Інститут мікробіології та імунології  
ім. І. І. Мечникова Національної академії  
медичних наук України

Стійкість до антибіотиків є найбільшою проблемою, яка загрожує здоров'ю суспільства. Діючі антибактеріальні препарати стають менш ефективними або навіть неефективними [1–5]. Особливий інтерес викликає залучення у боротьбу проти резистентних бактерій антимікробних пептидів, стійкість до яких розвивається значно повільніше, ніж до звичайних антибіотиків [6–9]. Антимікробні пептиди мають ряд переваг, що дозволяють використовувати їх в якості альтернативи антибіотикам, а саме мають антимікробну активність, низьку токсичність, широкий і вузький спектр дії різних пептидів, дають можливість створення на їх основі біоінженерних конструкцій [7, 10]. Нізин є натуральним нетоксичним пептидом, який отримується за допомогою спеціального штаму харчової молочнокислої бактерії *Lactococcus lactis subsp. lactis* в процесі ферментації. Нізин визнаний безпечним при використанні більш ніж в 50 країнах [7], [11–13]. Незважаючи на наявність антибактеріальних властивостей і активне використання нізину в харчовій промисловості, його медичне застосування не виходить за рамки експериментальних досліджень і він досі не схвалений для клінічного застосування [7]. Перспективним може бути поєднання нізину з інгібіторами резистентності, які не мають прямої антимікробної дії, але тим чи іншим шляхом зв'язують фактори резистентності бактерій, відновлюючи їх чутливість до класичних антибіотиків. Інгібітори резистентності ще називають хелперними компонентами або молекулами-потенціаторами. Пошук хелперних речовин серед вже відомих та гарно вивчених субстанцій вважають перспективним напрямком боротьби з резистентністю мікроорганізмів.

Мета роботи – мікробіологічне обґрунтування доцільності створення фармацевтичних композицій на основі немодифікованого і модифікованого нізину з хелперними речовинами для лікування інфекційних та гнійно-запальних захворювань.

### Матеріали та методи

Визначено протимікробну активність 1,0 % водяних розчинів немодифікованого і модифікованого нізину з хелперними речовинами. Модифікований нізин було отримано шляхом ацилювання нізину з оцтовим ангідридом. У якості хелперних речовин застосовано диклофенак натрія і амлодіпін. Для мікробіологічного дослідження використані 17 клінічних штамів мікроорганізмів, серед них 2 штами *E. faecalis*, 6 –

*Staphylococcus* spp., 4 – *Streptococcus* spp., 2 – *E. coli* і 3 штами *Proteus* spp. Культури мікроорганізмів було одержано з колекції лабораторії біохімії та біотехнології ДУ “ІМІ НАМН”. У якості порівняння використовували немодифікований нізин, диклофенак натрія та амлодіпін в ізольованому вигляді. Антимікробну активність речовин та їх комбінацій визначали дифузійним методом «колодязів» з вимірюванням діаметрів зон затримки росту мікроорганізмів [14]. Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин (оптична щільність) проводили за допомогою стандарту каламутності (0,5 од. за шкалою McFarland). Використовували прилад Densi-La-Meter (виробництва PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). Суспензію готували згідно з інструкцією до приладу та інформаційного листа про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006 “Стандартизація приготування мікробних суспензій”, м.Київ [15]. Синхронізацію культур проводили за допомогою низької температури (4°C) [16]. Мікробне навантаження становило  $10^7$  мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалося за стандартом McFarland. У роботу брали 18-24-х годинну культуру мікроорганізмів. Для бактерій використовували агар Мюлера-Хінтона. Для *Candida albicans* використовували агар Сабуро. Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів заміряли за допомогою мірної лінійки з точністю вимірювання 1,0 мм. При оцінці антибактеріальної активності досліджуваних речовин та їх композицій застосовували такі критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказує на те, що мікроорганізм не чутливий до внесеного в лунку препарату або концентрації антимікробної речовини;
- зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказують на малу чутливість культури до випробовуваної концентрації антимікробної речовини;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм розцінюються, як показник помірної чутливості мікроорганізму до концентрації випробовуваної речовини;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до випробовуваної концентрації антимікробної речовини.

### Результати та обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено, що стосовно усіх досліджених штамів *Staphylococcus* spp. 1,0 % водяні розчини немодифікованого нізину та амлодіпіну в ізольованому вигляді здійснювали слабкий протимікробний ефект (діаметри зон затримки росту у діапазоні від (13,0±0,0) мм до (14,7±0,5) мм) (таблиця 1). 1,0 % водяний розчин диклофенаку натрія в ізольованому вигляді виявив помірну протимікробну дію стосовно усіх досліджених штамів *S. epidermidis* (діаметри зон затримки росту у межах від (15,0±0,0) мм до (16,7±0,5) мм). Стосовно обох штамів *S. aureus* диклофенак натрія в ізольованому вигляді здійснював слабку протимікробну дію (діаметри зон затримки росту (12,7±0,5) мм і (14,0±0,0) мм). Щодо половини

**Таблиця 1. Протимікробна активність комбінацій немодифікованого нізину, диклофенаку натрія та амлодіпіну стосовно клінічних штамів мікроорганізмів**

№ п/п	Штами мікроорганізмів	Діаметр зони затримки росту, (M±m) мм, (n=3)					
		Нізин 1,0 % водяний розчин	Диклофенак натрія 1,0 % водяний розчин	Амлодіпінін 1,0 % водяний розчин	Нізин 1,0 % + диклофенак натрія 1,0 %	Нізин 1,0 % + амлодіпінін 1,0 %	Нізин 1,0 % + диклофенак натрія 1,0 % + амлодіпінін 1,0 %
1	<i>Staphylococcus aureus</i> 16	13,3±0,5	14,0±0,0	13,0±0,0	23,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	22,0±0,0 <sup>1), 3)</sup>	23,7±0,5 <sup>1), 2), 3)</sup>
2	<i>Staphylococcus aureus</i> 19	13,7±0,5	12,7±0,5	13,0±0,0	22,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	21,7±0,5 <sup>1), 3)</sup>	22,7±0,5 <sup>1), 2), 3)</sup>
3	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 14	14,0±0,0	15,0±0,0	14,0±0,0	24,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	23,0±0,0 <sup>1), 3)</sup>	24,3±0,5 <sup>1), 2), 3)</sup>
4	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 18	14,3±0,5	16,0±0,0	13,7±0,5	24,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	23,3±0,5 <sup>1), 3)</sup>	24,7±0,5 <sup>1), 2), 3)</sup>
5	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 22	14,0±0,0	16,7±0,5	13,0±0,0	26,0±0,0 <sup>1), 2)</sup>	24,7±0,5 <sup>1), 3)</sup>	26,0±0,0 <sup>1), 2), 3)</sup>
6	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 23	14,7±0,5	16,3±0,5	13,0±0,0	25,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	25,3±0,5 <sup>1), 3)</sup>	25,7±0,5 <sup>1), 2), 3)</sup>
7	<i>Streptococcus pneumoniae</i> 14	16,7±0,5	зростання	зростання	18,0±0,0	зростання	18,3±0,5
8	<i>Streptococcus pyogenes</i> 12	13,7±0,5	13,7±0,5	зростання	18,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	18,7±0,5 <sup>1), 3)</sup>	19,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>
9	<i>Streptococcus pyogenes</i> 21	14,0±0,0	12,0±0,0	зростання	19,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	18,0±0,0 <sup>1), 3)</sup>	20,0±0,0 <sup>1), 2)</sup>
10	<i>Streptococcus pyogenes</i> 2432	17,7±0,5	зростання	зростання	19,0±0,0	зростання	19,3±0,5
11	<i>Enterococcus faecalis</i> 25	12,7±0,5	13,0±0,0	зростання	15,7±0,5	15,7±0,5	17,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>
12	<i>Enterococcus faecalis</i> 27	12,0±0,0	зростання	зростання	16,7±0,5	15,3±0,5	18,0±0,0 <sup>1), 2)</sup>
13	<i>Escherichia coli</i> 29	13,0±0,0	13,3±0,5	зростання	18,0±0,0	16,7±0,5	17,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>
14	<i>Escherichia coli</i> 36	13,0±0,0	13,0±0,0	зростання	17,7±0,5	16,0±0,0	18,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>
15	<i>Proteus vulgaris</i> 35	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання	14,0±0,0
16	<i>Proteus mirabilis</i> 47	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання	14,0±0,0
17	<i>Proteus mirabilis</i> 49	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання	14,3±0,5

<sup>1)</sup> p < 0,05 у порівнянні з показником немодифікованого нізину в ізолюваному вигляді;

<sup>2)</sup> p < 0,05 у порівнянні з показником диклофенаку натрія в ізолюваному вигляді;

<sup>3)</sup> p < 0,05 у порівнянні з показником амлодіпіну в ізолюваному вигляді.

досліджених штамів *Streptococcus* spp. немодифікований нізин виявив помірну протимікробну активність (діаметри зон затримки росту у межах від (16,7±0,5) мм до (17,7±0,5) мм). Чутливість клінічних штамів *E. faecalis* щодо немодифікованого нізину виявилась слабкою (діаметри зон затримки росту (12,0±0,0) мм і (12,7±0,5) мм). Половина досліджених штамів *Streptococcus* spp. і *E. faecalis* виявили слабку чутливість щодо диклофенаку натрія в ізолюваному вигляді (діаметри зон затримки росту у межах від (12,0±0,0) мм до (13,7±0,5) мм). Щодо амлодіпіну в ізолюваному вигляді досліджені штами *Streptococcus* spp. і *E. faecalis* були нечутливими.

В результаті експериментів з грамнегативними тест-штамами мікроорганізмів було встановлено, що в ізолюваному вигляді лише немодифікований нізин і диклофенак натрія виявили слабку протимікробну активність стосовно клінічних штамів *E. coli* (діаметри зон затримки росту у межах від (13,0±0,0) мм до (13,3±0,5) мм). Клінічні штами *Proteus* spp. до немодифікованого нізину і диклофенаку натрія в ізолюваному вигляді виявились нечутливими. До амлодіпіну жодний з досліджених грамнегативних клінічних штамів мікроорганізмів також не виявив чутливості.

При комбінуванні 1,0 % водяних розчинів немодифікованого нізину, диклофенаку натрія та амлодіпіну в усіх випадках їх протимікробна активність щодо клінічних штамів *S. aureus* зростала до помірної (діаметри зон затримки росту в діапазоні від (22,0±0,0) мм до (23,7±0,5) мм, p < 0,05 у порівнянні з показниками речовин в ізолюваному вигляді). Найбільшу чутливість до комбінацій немодифікованого нізину, диклофенаку натрія і амлодіпіна виявили клінічні штами *S. epidermidis* (діаметри зон затримки росту в діапазоні від (23,0±0,0) мм до (26,0±0,0) мм, p < 0,05 у порівнянні з показниками речовин в ізолюваному вигляді). Четверть досліджених клінічних штамів *S. epidermidis* виявили високу чутливість щодо комбінації немодифікованого нізину і амлодіпіна, половина – до комбінації нізину і диклофенаку натрія та до потрійної комбінації нізину, диклофенаку натрія і амлодіпіна.

Щодо усіх досліджених представників роду *Streptococcus* дія комбінацій немодифікованого нізину з диклофенаком натрія та потрійної комбінації нізину, диклофенаку і амлодіпіну була помірною (діаметри зон затримки росту в діапазоні від (18,0±0,0) мм до (20,0±0,0) мм). Проте половина досліджених штамів *Streptococcus* spp. виявились взагалі нечутливими до комбінації немодифікованого нізину і амлодіпіну.

Щодо досліджених клінічних штамів *E. faecalis* протимікробна дія усіх досліджених комбінацій речовин була помірною (діаметри зон затримки росту у межах від (15,3±0,5) мм до (18,0±0,0) мм) і вищою за дію речовин в ізолюваному вигляді.

В результаті експериментів з грамнегативними клінічними штамми мікроорганізмів встановлено, що помірно чутливою до усіх досліджених комбінацій немодифікованого нізину, диклофенаку натрія і амлодіпіну виявились обидва досліджені клінічні штами *E. coli* (діаметри зон затримки росту у діапазоні від (16,0±0,0) мм до (18,7±0,5) мм). Представники *Proteus* spp. виявились нечутливими щодо подвійних комбінацій нізину з диклофенаком натрія та нізину з амлодіпіном. Потрійна комбінація немодифікованого нізину, диклофенака натрія і амлодіпіна здійснювала на клінічні штами *Proteus* spp. слабкий протимікробний ефект (діаметри зон затримки росту у діапазоні від (14,0±0,0) мм до (14,3±0,5) мм).

Визначено протимікробну активність комбінацій ацетильованого нізину з диклофенаком натрія і амлодіпіном. Результати досліджень наведені у таблиці 2.

При комбінуванні 1,0 % водяних розчинів ацетильованого нізину, диклофенаку натрія та амлодіпіну в усіх випадках подвійної комбінації (ацетильований нізін з диклофенаком натрія та ацетильований нізін з амлодіпіном) протимікробна активність щодо клінічних штамів *S. aureus* зростала до помірної (діаметри зон затримки росту в діапазоні

від (24,0±0,0) мм до (24,7±0,5) мм,  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками речовин в ізолюваному вигляді). Чутливість клінічних штамів *S. aureus* щодо потрійної комбінації 1,0 % водяних розчинів ацетильованого нізину, диклофенаку натрія та амлодіпіну зростала до високого ступеню (діаметри зон затримки росту в діапазоні від (26,0±0,0) мм до (26,3±0,5) мм,  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками речовин в ізолюваному вигляді). Аналогічний протимікробний ефект спостерігався і стосовно досліджених клінічних штамів *S. epidermidis*. Діаметри зон затримки росту *S. epidermidis* під впливом подвійних комбінацій ацетильованого нізину з диклофенаком натрія або амлодіпіном коливались у межах від (23,7±0,5) мм до (24,7±0,5) мм ( $p < 0,05$  у порівнянні з показниками речовин в ізолюваному вигляді). Протимікробна дія потрійної комбінації ацетильованого нізину, диклофенаку натрія та амлодіпіну на клінічні штами *S. epidermidis*, як і до штамів *S. aureus*, зростала до високого ступеню (діаметри зон затримки росту у межах від (25,3±0,5) мм до (26,7±0,5) мм),  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками речовин в ізолюваному вигляді).

Щодо усіх представників *Streptococcus* spp. протимікробна дія усіх досліджених комбінацій ацетильованого нізину з диклофенаком натрія та амлодіпіном та потрійної комбінації нізину, диклофенаку і амлодіпіну була помірною (діаметри зон затримки росту в діапазоні від (18,7±0,5) мм до (24,7±0,5) мм).

**Таблиця 2. Протимікробна активність комбінацій ацетильованого нізину, диклофенаку натрія і амлодіпіну стосовно клінічних штамів мікроорганізмів**

№ п/п	Штами мікроорганізмів	Діаметр зони затримки росту, (M±m) мм, (n=3)					
		Нізін 1,0 % водяний розчин	Диклофенак натрія 1,0 % водяний розчин	Амлодіпін 1,0 % водяний розчин	Ацетильований нізін 1,0 % + диклофенак натрія 1,0 %	Ацетильований нізін 1,0 % + амлодіпін 1,0 %	Ацетильований нізін 1,0 % + диклофенак натрія 1,0 % + амлодіпін 1,0 %
1	<i>Staphylococcus aureus</i> 16	13,3±0,5	14,0±0,0	13,0±0,0	24,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	24,0±0,0 <sup>1), 3)</sup>	26,3±0,5 <sup>1), 2), 3)</sup>
2	<i>Staphylococcus aureus</i> 19	13,7±0,5	12,7±0,5	13,0±0,0	24,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	24,0±0,0 <sup>1), 3)</sup>	26,0±0,0 <sup>1), 2), 3)</sup>
3	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 14	14,0±0,0	15,0±0,0	14,0±0,0	24,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	23,7±0,5 <sup>1), 3)</sup>	25,3±0,5 <sup>1), 2), 3)</sup>
4	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 18	14,3±0,5	16,0±0,0	13,7±0,5	24,0±0,0 <sup>1), 2)</sup>	24,0±0,0 <sup>1), 3)</sup>	26,0±0,0 <sup>1), 2), 3)</sup>
5	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 22	14,0±0,0	16,7±0,5	13,0±0,0	24,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	23,7±0,5	26,7±0,5 <sup>1), 2), 3)</sup>
6	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 23	14,7±0,5	16,3±0,5	13,0±0,0	24,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>	24,7±0,5	25,7±0,5 <sup>1), 2), 3)</sup>
7	<i>Streptococcus pneumoniae</i> 14	16,7±0,5	зростання	зростання	19,7±0,5	18,7±0,5	21,7±0,5
8	<i>Streptococcus pyogenes</i> 12	13,7±0,5	13,7±0,5	зростання	22,0±0,0 <sup>1), 3)</sup>	21,0±0,0	23,0±0,0 <sup>1), 2)</sup>
9	<i>Streptococcus pyogenes</i> 21	14,0±0,0	12,0±0,0	зростання	22,3±0,5 <sup>1), 3)</sup>	20,7±0,5	22,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>
10	<i>Streptococcus pyogenes</i> 2432	17,7±0,5	зростання	зростання	24,7±0,5	20,0±0,0	22,0±0,0
11	<i>Enterococcus faecalis</i> 25	12,7±0,5	13,0±0,0	зростання	20,7±0,5 <sup>1), 3)</sup>	20,0±0,0 <sup>1), 3)</sup>	22,0±0,0 <sup>1), 2)</sup>
12	<i>Enterococcus faecalis</i> 27	12,0±0,0	зростання	зростання	22,0±0,0	21,0±0,0	22,7±0,5 <sup>1)</sup>
13	<i>Escherichia coli</i> 29	13,0±0,0	13,3±0,5	зростання	20,0±0,0	19,7±0,5	21,7±0,5 <sup>1), 2)</sup>
14	<i>Escherichia coli</i> 36	13,0±0,0	13,0±0,0	зростання	19,0±0,0	18,0±0,0	20,0±0,0 <sup>1), 2)</sup>
15	<i>Proteus vulgaris</i> 35	зростання	зростання	зростання	15,3±0,5	15,7±0,5	18,0±0,0
16	<i>Proteus mirabilis</i> 47	зростання	зростання	зростання	16,7±0,5	15,3±0,5	18,7±0,5
17	<i>Proteus mirabilis</i> 49	зростання	зростання	зростання	17,0±0,0	15,7±0,5	18,0±0,0

<sup>1)</sup>  $p < 0,05$  у порівнянні з показником немодифікованого нізину в ізолюваному вигляді;

<sup>2)</sup>  $p < 0,05$  у порівнянні з показником диклофенаку натрія в ізолюваному вигляді;

<sup>3)</sup>  $p < 0,05$  у порівнянні з показником амлодіпіну в ізолюваному вигляді.

Схожі результати, а саме помірний протимікробний ефект, отримані і для всіх застосованих комбінацій ацетильованого нізину, диклофенаку і амлодіпіна у відношенні клінічних штамів *E.faecalis* (діаметри зон затримки росту у межах від (20,0±0,0) мм до (22,7±0,5) мм).

Стосовно усіх клінічних штамів грамнегативних мікроорганізмів як подвійні, так і потрійна комбінація ацетильованого нізину, диклофенаку натрія і амлодіпіна здійснювала помірний протимікробний ефект, який був дещо вищий при потрійному комбінуванні. Діаметри зон затримки росту клінічних штамів *E.coli* коливалися у межах від (18,0±0,0) мм до (21,7±0,5) мм, *Proteus* spp. – у межах від (15,3±0,5) мм до (18,7±0,5) мм.

#### Висновки

1. При комбінуванні немодифікованого нізину, диклофенаку натрія та амлодіпіну спостережено підвищення протимікробної дії комбінацій до високої стосовно частини клінічних штамів *S. epidermidis* та до помірної – стосовно решти клінічних штамів грампозитивних мікроорганізмів та *E.coli*.
2. При комбінуванні немодифікованого нізину, диклофенака натрія і амлодіпіну найефективнішою виявилась їх потрійна комбінація, яка окрім високої протимікробної дії стосовно 50,0 % клінічних штамів *S. epidermidis* та помірної – стосовно *S. aureus*, *E.faecalis*, решти штамів *S. epidermidis* та *E.coli* виявила слабку протимікробну дію стосовно досліджених клінічних штамів *Proteus* spp.
3. При комбінуванні ацетильованого нізину, диклофенаку натрія і амлодіпіну спостережено підвищення протимікробної дії комбінацій як до грампозитивних, так і до грамнегативних клінічних штамів мікроорганізмів.
4. При порівняльному аналізі протимікробної активності 1,0 % водяних розчинів немодифікованого нізину, диклофенака натрія, амлодіпіна в ізольованому вигляді та їх комбінацій, а також ацетильованого нізину в комбінаціях з диклофенаком натрія і амлодіпіном найбільш ефективною по відношенню до досліджених клінічних штамів грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів виявилась потрійна комбінація 1,0 % водяних розчинів ацетильованого нізину, диклофенаку натрія і амлодіпіна.

#### Antimicrobial effects of pharmaceutical compositions of nisin with auxiliary components

Tetyana Osolodchenko, Artur Martynov, Iryna Andreieva, Nadiya Zavada, Olena Batrak, Iryna Ryabova

**Introduction.** One of the promising methods of combating antibiotic resistance can be the combination of nisin with helper substances that do not have a direct antimicrobial effect, but in one way or another bind the resistance factors of bacteria, restoring their sensitivity to classical antibiotics. The search for helper substances among already known and well-studied substances is considered a promising direction in the fight against the resistance of microorganisms. **The aim of the work** is the

microbiological substantiation of the feasibility of creating pharmaceutical compositions based on nisin with auxiliary substances for the treatment of infectious and purulent-inflammatory diseases. **Materials & methods.** The antimicrobial activity of 1.0% aqueous solutions of unmodified and modified nisin with helper substances was determined. Modified nisin was obtained by acylation of nisin with acetic anhydride. Diclofenac sodium and amlodipine are used as auxiliary substances. 17 clinical strains of microorganisms were used for microbiological research. The antimicrobial activity of substances and their combinations was determined by the diffusion method of "wells" with the measurement of the diameters of the zones of growth retardation of microorganisms. **Results & discussion** 1.0% aqueous solutions of unmodified nisin and amlodipine in isolated form exerted mainly a weak antimicrobial effect on gram-positive microorganisms. Moderate sensitivity of clinical strains of *S. epidermidis* and weak sensitivity of *S. aureus* and *E. faecalis* to sodium diclofenac was established. With regard to clinical strains of gram-negative microorganisms, all investigated substances in isolated form were inactive or weakly active. When combining unmodified nisin, diclofenac sodium and amlodipine, an increase in the antimicrobial effect of the combinations was observed to a high level against some clinical strains of *S. epidermidis* and to a moderate level against the remaining clinical strains of gram-positive microorganisms and *E. coli*. When combining 1.0% aqueous solutions of unmodified nisin, diclofenac sodium and amlodipine in all cases, their antimicrobial activity against clinical strains of *S. aureus* increased to moderate. Clinical strains of *S. epidermidis* showed the greatest sensitivity to combinations of unmodified nisin, diclofenac sodium and amlodipine. Regarding all investigated representatives of the genus *Streptococcus*, the effect of combinations of unmodified nisin with diclofenac sodium and the triple combination of nisin, diclofenac and amlodipine was moderate. However, half of the studied strains of *Streptococcus* spp. were generally insensitive to the combination of unmodified nisin and amlodipine. Regarding the studied clinical strains of *E. faecalis*, the antimicrobial effect of all studied combinations of substances was moderate. As a result of experiments with gram-negative clinical strains of microorganisms, it was established that *E. coli* strains were moderately sensitive to all tested combinations of unmodified nisin, sodium diclofenac and amlodipine. Representatives of *Proteus* spp. were insensitive to double combinations of unmodified nisin with diclofenac sodium and nisin with amlodipine. The triple combination of unmodified nisin, diclofenac sodium and amlodipine was effective on clinical strains of *Proteus* spp. weak antimicrobial effect. When combining 1.0% aqueous solutions of acetylated nisin, diclofenac sodium and amlodipine in all cases of a double combination, the antimicrobial activity against clinical strains of *S. aureus* and *S. epidermidis* increased to a moderate level, and to a high level in relation to the triple combination. Regarding the representatives of *Streptococcus* spp., *E. faecalis* and gram-negative microorganisms, the antimicrobial effect of all studied combinations was moderate. **Conclusion.** 1.

When combining unmodified nisin, diclofenac sodium and amlodipine, an increase in the antimicrobial effect of the combinations was observed to a high level in relation to some of the clinical strains of *S. epidermidis* and to a moderate level in relation to the rest of the clinical strains of gram-positive microorganisms and *E.coli*. 2. When combining unmodified nisin, diclofenac sodium and amlodipine, their triple combination was the most effective, which, in addition to a high antimicrobial effect against 50.0% of clinical strains of *S. epidermidis* and a moderate one against *S. aureus*, *E.faecalis*, the remaining strains of *S. epidermidis* and *E.coli* showed a weak antimicrobial effect against the studied clinical strains of *Proteus* spp.3. When combining acetylated nisin, diclofenac sodium and amlodipine, an increase in the antimicrobial effect of the combinations was observed against both gram-positive and gram-negative microorganisms. 4. In a comparative analysis of the antimicrobial activity of 1.0% aqueous solutions of unmodified nisin, diclofenac sodium, amlodipine in isolated form and their combinations, as well as acetylated nisin in combinations with diclofenac sodium and amlodipine, the most effective against the studied clinical strains of gram-positive and gram-negative microorganisms a triple combination of 1.0% aqueous solutions of acetylated nisin, diclofenac sodium and amlodipine was found.

**Key words:** nisin, acetylated nisin, auxiliary components, diclofenac sodium, amlodipine, pharmaceutical compositions, microorganisms, antimicrobial activity

## References

1. Arias, C. A.; Murray, B. E. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century: a clinical super-challenge. *The New England Journal of Medicine*. 2009. 360(5). 439–443. DOI: 10.1056/NEJMp0804651
2. WHO. Antimicrobial resistance: Global report on surveillance, vol.2014. Geneva. WHO(2014). URL: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748\\_eng.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf).
3. Brown, D. Antibiotic resistance breakers: can repurposed drugs fill the antibiotic discovery void? *Nat. Rev. Drug Discov*. 2015.14(12). 821–832. DOI: 10.1038/nrd4675.
4. Church, N. A.; McKillip, J. L. Antibiotic Resistance Crisis: Challenges and Imperatives. *Biologia (Bratisl.)* 2021. 76 (5). 1535–1550. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00697-x>.
5. WHO. Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics (WHO, 2017)
6. Magana, M.; Pushpanathan, M.; Santos, A. L.; et al. The Value of Antimicrobial Peptides in the Age of Resistance. *Lancet Infect. Dis*. 2020. 20 (9). e216–e230. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30327-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30327-3).
7. Knysh, O. V.; Martynov, A. V. Microbiological substantiation of the use of synergistic polymyxin-nisin combinations (review). *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. 2. 17-25. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8046043>.
8. Lewies, A.; Du Plessis, L. H.; Wentzel, J. F. Antimicrobial Peptides: The Achilles' Heel of Antibiotic Resistance? *Probiotics Antimicrob. Proteins*. 2019. 11 (2). 370–381. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9465-0>.
9. Cotter, P. D.; Ross, R. P.; Hill, C. Bacteriocins – a viable alternative to antibiotics? *Nat Rev Micro*. 2012. 11. 95–105.
10. Burov, A. M. Experimental justification of the use of a multicomponent gel with nisin for the prevention and therapy of wound infection: dissertation. ... doctor of philosophy: 03.00.07 – 222 "Medicine" / A. M. Burov; Kharkiv National Medical University. Kharkiv, 2021. 176 p.
11. Kudryashov, V. L.; Alekseev, V. V.; Fursova N. A. Nizin and natamycin are effective food microbiological preservatives. *Food industry*. 2020. 2 (44). 67–71.
12. Thomas, V. M.; Brown, R. M.; Ashcraft, D. S.; et al. Synergistic Effect between Nisin and Polymyxin B against Pandrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter Baumannii*. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2019. 53 (5). 663–668. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.03.009>.
13. Bisenova, G.N.; Sarmurzyna, Z.S.; Almagambetov, K.Kh.; et al. Study of bacteriocin-producing activity of isolates and collection cultures of lactic acid bacteria. *Science news of Kazakhstan*. 2016. 1 (127). 86–98.
14. Volyanskiy, Y. L.; Gritsenko, I. S.; Shyrokobokov, V. P.; et al. The study of the specific activity of antimicrobial drugs: a method. Recommendations. K. StEntScPhC Ministry of Helthcare of Ukraine. 2004. 38 p.
15. Volyanskiy, Y. L.; Mironenko, L. G.; Kalinichenko, S. V.; et al. Standardization of the preparation of microbial suspensions : Newsletter of innovations in health care № 163-2006. Ministry of Health Care of Ukraine. K. : Ukrmedpatentinform, 2006. 10 p.
16. Basnakyany, I. A. Cultivation of microorganisms with desired properties. *M. : Medicine*, 1992. P. 29-59.