

МОНІТОРИНГ СТАБІЛЬНОСТІ В ЧАСІ ПРОТИМІКРОБНОГО ЕФЕКТУ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ КОМПОЗИЦІЙ НА ОСНОВІ НІЗИНУ З ІНГІБИТОРАМИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ

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

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

Вступ. Резистентність збудників інфекцій до антибіотиків набувають поширення і стають серйозною проблемою сьогодення. Повільна розробка нових протимікробних засобів не в змозі вирішити ці питання, тому перспективним напрямком є поєднання антибактеріальних препаратів з різними механізмами дії [1]- [3]. В останні роки привертає увагу фахівців антимікробні пептиди, зокрема нізин, до яких резистентність розвивається повільніше, ніж до звичайних антибіотиків [4]. Нізин продукується бактеріями родів *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* та *Vlaütia* і належить до лантибіотиків, бактеріоцинів I класу, субтипу А [5]- [7]. Нізин визнаний як безпечний та схвалений для використання в якості харчової добавки, але його медичне застосування не виходить за рамки експериментальних досліджень і він досі не схвалений для клінічного застосування [8, 9]. Останні дослідження продемонстрували його виражену протимікробну дію, особливо щодо резистентних штамів бактерій [10, 11]. Комбінація нізину-поліміксин продемонструвала ефективне пригнічення біоплівкоутворення *Pseudomonas aeruginosa*. Синергічна взаємодія комбінації антибіотика з антимікробним пептидом дозволяє знизити концентрацію поліміксину, отже може бути потенційним шляхом зменшення нефротоксичності поліміксинів під час лікування інфекцій, спричинених *P. aeruginosa* [12, 13]. Комбінація нізину та колістину також виявилася успішною при видаленні біоплівок *E. coli* [14]. 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. Однак для комбінацій цих засобів виникає проблема стабільності лікарського засобу, збереження його терапевтичних властивостей, особливо антибактеріальної дії [15,16].

Мета роботи – дослідити стабільність антибактеріальної дії фармацевтичних композицій на основі нізину, диклофенаку натрія та амлодіпіна для лікування інфекційних та гнійно-запальних захворювань в часі.

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 досліджуваних речовин використані еталонні тест-культури грампозитивних і грамнегативних бактерій, які належать до різних таксономічних груп: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636. Протигрибкову дію речовин досліджено на референтному штамі *Candida albicans* ATCC 885-653. Культури мікроорганізмів було одержано з лабораторії медичної мікробіології з Музеєм мікроорганізмів ДУ “ІМІ НАМН”. Антимікробну активність досліджуваних речовин визначали дифузійним методом «колодязів» з вимірюванням діаметрів зон затримки росту мікроорганізмів протягом 3-х місяців [17]. 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 [18]. Синхронізацію культур проводили за допомогою низької температури (4°C). Мікробне навантаження становило 10⁷ 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 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. Дослідження проведені у трьох повторах [19].

Результати та обговорення

Досліджено стабільність протимікробного ефекту фармацевтичних композицій на основі 1,0 % водяних розчинів немодифікованого та ацетильованого нізину, диклофенаку натрія, амлодипіну шляхом їх витримування у нормальних умовах в реальному часі протягом 3 місяців. Результати наведені у таблиці 1.

Встановлено, що після зберігання впродовж 1 місяця фармацевтичної композиції немодифікованого нізину з диклофенаком натрія зберігався її помірний протимікробний ефект стосовно обох тест-штамів грамнегативних мікроорганізмів. Після зберігання впродовж 2 місяців протимікробний ефект подвійної композиції нізину з диклофенаком натрія знижався у межах помірного та знижався до слабкого після 3 місяців спостереження. Діаметри зон затримки росту *S. aureus* ATCC 25923 за 3 місяці спостереження знизилися з (21,0±0,0) мм до (13,3±0,5) мм, *B. subtilis* ATCC 6633 – з (22,7±0,5) мм до (13,7±0,5) мм. Чутливість тест-штамів грамнегативних мікроорганізмів та *C. albicans* ATCC 885-653 після 1-го місяця зберігання зазначеної композиції майже не змінилась. Після 2-х місяців зберігання чутливість *E. coli* ATCC 25922 знизилася до слабкої. Решта грамнегативних штамів після 2-х місяців зберігання виявились нечутливими до композиції 1,0 % водяних розчинів немодифікованого нізину та диклофенаку натрія. Після 3-х місяців зберігання зазначена композиція не виявила аніякого протимікробного ефекту стосовно усіх досліджених тест-штамів грамнегативних мікроорганізмів і штаму *C. albicans* ATCC 885-653.

Композиція 1,0 % водяних розчинів немодифікованого нізину та амлодипіну після 1 місяця спостереження також зберігала помірний протимікробний ефект щодо обох тест-штамів грамнегативних мікроорганізмів, а також щодо *E. coli* ATCC 25922 і *P.aeruginosa* ATCC 27853. Після 2 місяців спостереження протимікробний ефект подвійної композиції немодифікованого нізину з амлодипіном щодо *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633 та *E. coli* ATCC 25922 продовжував знизатися у межах помірного. Стосовно решти тест-штамів грамнегативних мікроорганізмів і *C. albicans* ATCC 885-653 вже після 2-х місяців спостереження протимікробного ефекту не спостерігалось. Діаметри зон затримки росту *S. aureus* ATCC 25923 за 3 місяці спостереження знизився з (21,0±0,5) мм до (14,0±0,0) мм, *B. subtilis* ATCC 6633 – з (21,7±0,5) мм до (14,3±0,5) мм, *E. coli* ATCC 25922 – з (16,7±0,5) мм до (12,0±0,0) мм.

Потрійна комбінація 1,0 % водяних розчинів немодифікованого нізину, диклофенаку натрія та амлодипіну впродовж усіх 3-х місяців спостереження зберігала помірну протимікробну активність щодо обох грамнегативних мікроорганізмів, хоча ефект в процесі спостереження і дещо знизився. Діаметри зон затримки росту *S. aureus* ATCC 25923 за 3 місяці

спостереження знизився з (22,7±0,5) мм до (16,7±0,5) мм, *B. subtilis* ATCC 6633 – з (23,7±0,5) мм і (16,3±0,5) мм. Серед грамнегативних мікроорганізмів найповільніше чутливість до потрійної комбінації немодифікованого нізину з диклофенаком натрія і амлодипіном знизилася у тест-штаму *E. coli* ATCC 25922, який залишався помірно чутливим до зазначеної комбінації до 2-х місяців і лише після 3-х місяців спостереження його чутливість до даної комбінації знизилася до слабкої. Діаметр зони затримки росту *E. coli* ATCC 25922 за 3 місяці при цьому знизився з (19,7±0,5) мм до (14,0±0,0) мм. Тест-штам *P.aeruginosa* ATCC 27853 залишався помірно чутливим до потрійної комбінації 1,0 % водяних розчинів немодифікованого нізину, диклофенаку натрія і амлодипіну впродовж 1-го місяця спостереження, та надалі його чутливість до зазначеної комбінації знизилася до слабкої. Діаметр зони затримки росту *P.aeruginosa* ATCC 27853 за 3 місяці знизився з (20,0±0,0) мм до (12,3±0,5) мм. Чутливість до зазначеної комбінації *P. vulgaris* ATCC 4636 після 1 місяця знизувалася до слабкої і залишалася такою до кінця експеримента. Тест-штам *C.albicans* ATCC 653-885 залишався слабо чутливим до потрійної комбінації 1,0 % водяних розчинів немодифікованого нізину, диклофенаку натрія і амлодипіну до 2 місяців, та після 3 місяців повністю втрачав свою чутливість до зазначеної комбінації.

Після зберігання впродовж 1-го місяця протимікробна активність подвійних композицій ацетильованого нізину як з диклофенаком натрія, так і з амлодипіном щодо усіх досліджених референтних тест-штамів залишалася майже на попередньому рівні, проте при подальшому зберіганні рівень їх протимікробної дії поступово знижувався. Після зберігання обох подвійних фармацевтичних композицій з ацетильованим нізином їх протимікробний ефект щодо *S. aureus* ATCC 25923 зберігався помірним впродовж усіх 3 місяців спостереження, щодо *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853 – впродовж 2 місяців. Після 3-х місяців спостереження діаметри зон затримки росту *S. aureus* ATCC 25923 під впливом подвійних композицій ацетильованого нізину з диклофенаком натрія та амлодипіном знизилися відповідно з (24,7±0,5) мм до (15,3±0,5) мм та з (23,7±0,0) мм до (15,7±0,5) мм. Після 2-х місяців спостереження діаметри зон затримки росту *B. subtilis* ATCC 6633 під впливом подвійних композицій ацетильованого нізину з диклофенаком натрія та амлодипіном знизилися відповідно з (24,7±0,5) мм до (18,7±0,5) мм та з (24,0±0,0) мм до (18,0±0,0) мм, *E. coli* ATCC 25922 – відповідно з (21,7±0,5) мм до (17,7±0,5) мм та з (20,7±0,0) мм до (17,0±0,0) мм, *P.aeruginosa* ATCC 27853 – відповідно з (19,0±0,0) мм до (15,7±0,5) мм та з (18,7±0,0) мм до (15,3±0,0) мм. Після 3-х місяців збереження обох подвійних композицій чутливість до них *B. subtilis* ATCC 6633 та *E. coli* ATCC 25922 знизилася до слабкої. *P.aeruginosa* ATCC 27853 після 3-х місяців спостереження взагалі втратив чутливість до обох подвійних композицій з ацетильованим нізином.

Таблиця 1 – Моніторинг стабільності протимікробного ефекту в часі фармацевтичних композицій на основі нізину, диклофенаку натрія, амлодипіну стосовно референтних штамів мікроорганізмів

№ п/п	Речовина	Термін зберігання	Діаметр зони затримки росту, (M±m) мм, (n=3)					
			<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C. albicans</i> ATCC 653-885
1	Нізин 1,0 % + Диклофенак натрія 1,0 %	Початк.	21,0±0,5	22,7±0,5	18,0±0,0	12,7±0,5	19,0±0,0	12,7±0,5
		1 міс.	19,7±0,5	20,7±0,5	17,3±0,5	11,7±0,5	17,7±0,5	12,3±0,5
		2 міс.	17,3±0,5 ¹⁾	16,0±0,0 ¹⁾	12,7±0,5 ¹⁾	зростання	зростання	зростання
		3 міс.	14,0±0,0 ¹⁾	13,7±0,5 ¹⁾	зростання	зростання	зростання	зростання
2	Нізин 1,0 % + Амлодипін 1,0 %	Початк.	21,0±0,0	21,7±0,5	16,7±0,5	12,0±0,0	17,7±0,5	12,0±0,0
		1 міс.	19,7±0,5	19,7±0,5	15,7±0,5	зростання	15,7±0,5	зростання
		2 міс.	16,7±0,5 ¹⁾	16,7±0,5 ¹⁾	15,3±0,5	зростання	зростання	зростання
		3 міс.	13,3±0,5 ¹⁾	14,3±0,5 ¹⁾	12,0±0,0	зростання	зростання	зростання
3	Нізин 1,0 % + Диклофенак натрія 1,0 % + Амлодипін 1,0 %	Початк.	22,7±0,5	23,7±0,5	19,7±0,5	15,7±0,5	20,0±0,0	14,7±0,5
		1 міс.	20,7±0,5	20,0±0,0	17,7±0,5	14,7±0,5	18,3±0,5	13,0±0,0
		2 міс.	19,0±0,0	18,7±0,5 ¹⁾	16,3±0,5	14,3±0,5	14,0±0,0 ¹⁾	12,3±0,5
		3 міс.	16,7±0,5 ¹⁾	16,3±0,5 ¹⁾	14,0±0,0 ¹⁾	13,3±0,5	12,3±0,5 ¹⁾	зростання
4	Ацильований нізин 1,0 % + Диклофенак натрія 1,0 %	Початк.	24,7±0,5	24,7±0,5	21,7±0,5	17,7±0,5	19,0±0,0	14,3±0,5
		1 міс.	23,7±0,5	24,0±0,0	21,3±0,5	17,0±0,0	18,3±0,5	12,0±0,0
		2 міс.	19,7±0,5 ¹⁾	18,7±0,5 ¹⁾	17,7±0,5	14,7±0,5	15,7±0,5	зростання
		3 міс.	15,3±0,5 ¹⁾	14,7±0,5 ¹⁾	12,7±0,5 ¹⁾	зростання	зростання	зростання
5		Початк.	23,7±0,5	24,0±0,0	20,7±0,5	17,0±0,0	18,7±0,5	14,7±0,5

№ п/ п	Речовина	Термін зберігання	Діаметр зони затримки росту, (M±m) мм, (n=3)					
			<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C.albicans</i> ATCC 653-885
	Ацильований нізін 1,0 % + Амлодипін 1,0 %	1 міс.	23,0±0,0	24,0±0,0	20,0±0,0	17,0±0,0	18,0±0,0	12,3±0,0
		2 міс.	18,7±0,5 ¹⁾	18,0±0,0 ¹⁾	17,0±0,0 ¹⁾	14,0±0,0 ¹⁾	15,3±0,5	зростання
		3 міс.	15,7±0,5 ¹⁾	14,0±0,0 ¹⁾	13,0±0,0 ¹⁾	зростання	зростання	зростання
6	Ацильований нізін 1,0 % + Диклофенак натрія 1,0 % + Амлодипін 1,0 %	Початк.	25,7±0,5	26,7±0,5	23,0±0,0	19,7±0,5	21,0±0,0	15,3±0,5
		1 міс.	24,7±0,5	25,7±0,5	22,3±0,5	19,0±0,0	20,3±0,5	13,3±0,5
		2 міс.	20,7±0,5 ¹⁾	20,0±0,0 ¹⁾	18,7±0,5 ¹⁾	17,0±0,0	16,3±0,5 ¹⁾	12,0±0,0
		3 міс.	16,7±0,5 ¹⁾	15,3±0,5 ¹⁾	14,0±0,0 ¹⁾	13,7±0,5 ¹⁾	13,0±0,0 ¹⁾	зростання

¹⁾ p < 0,05 у порівнянні з показником на початку дослідження.

Тест-штам *P. vulgaris* ATCC 4636 після 1 місяця спостереження зберігав помірну, після 2-х місяців – слабку та після 3-х місяців – втрачав чутливість до обох подвійних композицій з ацетильованим нізином. Тест-штам *C. albicans* ATCC 885-653 за 3 місяці спостереження з слабо чутливого став нечутливим до подвійних комбінацій ацетильованогнізину як з диклофенаком, так і з амлодипіном.

Протимікробний ефект потрійної композиції ацетильованого нізину з диклофенаком натрія та амлодипіном знизився з високого до помірного щодо *S. aureus* ATCC 25923 після 1-го місяця зберігання, щодо *B. subtilis* ATCC 6633 – після 2-х. При подальшому зберіганні впродовж 3-х місяців рівень протимікробного ефекту потрійної композиції ацетильованого нізину з диклофенаком натрія і амлодипіном поволи знижувався у межах помірного. За 3-и місяці спостереження діаметр зони затримки росту *S. aureus* ATCC 25923 під впливом потрійної композиції ацетильованого нізину з диклофенаком натрія та амлодипіном знизився з $(25,7 \pm 0,5)$ мм до $(16,7 \pm 0,5)$ мм, *B. subtilis* ATCC 6633 – з $(26,7 \pm 0,5)$ мм до $(15,3 \pm 0,5)$ мм.

Щодо усіх досліджених тест-штамів грамнегативних мікроорганізмів протимікробний ефект потрійної композиції ацетильованого нізину з диклофенаком і амлодипіном зберігався помірним до 2-х місяців спостереження і зривався до слабкого після 3-го місяця зберігання. Діаметри зон затримки росту *E. coli* ATCC 25922 за 2 місяці спостереження знизився з $(23,0 \pm 0,0)$ мм до $(18,7 \pm 0,5)$ мм, *P. vulgaris* ATCC 4636 – з $(19,7 \pm 0,5)$ мм до $(17,0 \pm 0,0)$ мм, *P. aeruginosa* ATCC 27853 – з $(21,7 \pm 0,0)$ мм до $(16,3 \pm 0,5)$ мм.

Чутливість тест-штаму *C. albicans* ATCC 885-653 до потрійної композиції ацетильованого нізину з диклофенаком і амлодипіном вже після 1-го місяця спостереження знизилася до слабкої, а к 3-му місяцю була втрачена взагалі.

Отже, за результатами вивчення стабільності протимікробного ефекту композицій на основі немодифікованого і ацетильованого нізину з диклофенаком натрія і амлодипіном шляхом витримування у нормальних умовах в реальному часі протягом 3 місяців встановлено зниження їх протимікробного ефекту стосовно усіх досліджених референт-штамів мікроорганізмів, при цьому протимікробний ефект композицій з ацетильованим нізином знижувався дещо повільніше, ніж з немодифікованим. З урахуванням отриманих результатів надалі доцільними є застосування у фармацевтичних композиціях компонентів, спрямованих на покращення стабільності протимікробних властивостей фармацевтичних композицій нізину з інгібіторами резистентності.

Monitoring of time stability of antimicrobial effect of nisin-based pharmaceutical compositions with resistance inhibitors

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

Introduction. The combination of nisin with resistance inhibitors, which do not have a direct antimicrobial effect but bind bacterial resistance factors in one way or another, restoring their sensitivity to classical antibiotics, is a promising area of medical science. However, combinations of these agents face the problem of drug stability, preservation of its therapeutic properties, especially antibacterial action. **The aim of the work** to study the stability of the antibacterial effect of pharmaceutical compositions based on nisin, diclofenac sodium and amlodipine for the treatment of infectious and purulent inflammatory diseases over time. **Materials & methods.** The antimicrobial activity of 1.0 % aqueous solutions of unmodified and modified nisin with chelating agents was determined. Modified nisin was obtained by acylation of nisin with acetic anhydride. Diclofenac sodium and amlodipine were used as the chelating agents. For the microbiological study of the investigated substances, reference test cultures of gram-positive and gram-negative bacteria belonging to different taxonomic groups were used: The antimicrobial activity of the test substances was determined by the diffusion method of “wells” with the measurement of the diameters of the zones of inhibition of microbial growth. **Results & discussion.** It was found that after storage for 1 month of the pharmaceutical composition of unmodified nisin with diclofenac sodium, its moderate antimicrobial effect against both test strains of gram-positive microorganisms was maintained. After storage for 2 months, the antimicrobial effect of the double composition of nisin with diclofenac sodium decreased within the range of moderate and decreased to weak after 3 months of observation. After 3 months of storage, this composition did not show any antimicrobial effect against all the test strains of gram-negative microorganisms and *C. albicans* ATCC 885-653. The composition of 1.0% aqueous solutions of unmodified nisin and amlodipine after 1 month of observation also maintained a moderate antimicrobial effect against both test strains of gram-positive microorganisms, as well as against *E. coli* ATCC 25922 and *P. aeruginosa* ATCC 27853. After 2 months of observation, the antimicrobial effect of the double composition of unmodified nisin with amlodipine against *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633 and *E. coli* ATCC 25922 continued to decrease within the moderate range. As for the rest of the test strains of gram-negative microorganisms and *C. albicans* ATCC 885-653, no antimicrobial effect was observed after 2 months of observation. The triple combination of 1.0% aqueous solutions of unmodified nisin, diclofenac sodium and amlodipine maintained moderate antimicrobial activity against both gram-positive microorganisms during all 3

months of observation, although the effect slightly decreased during the observation period. Among Gram-negative microorganisms, the slowest decrease in susceptibility to the triple combination of unmodified tetnisin with diclofenac sodium and amlodipine was observed in the test strain *E. coli* ATCC 25922. The ternary combination of 1.0% aqueous solutions of unmodified nisin, diclofenac sodium and amlodipine maintained moderate antimicrobial activity against both gram-positive microorganisms during all 3 months of observation, although the effect slightly decreased during the observation period. After storage for 1 month, the antimicrobial activity of the double formulations of acetylated nisin with both diclofenac sodium and amlodipine against all the studied reference test strains remained almost at the same level, but during further storage, the level of their antimicrobial effect gradually decreased. The antimicrobial effect of the ternary composition of acetylated nisin with diclofenac sodium and amlodipine decreased from high to moderate against *S. aureus* ATCC 25923 after 1 month of storage, and against *B. subtilis* ATCC 6633 - after 2 months. With further storage for 3 months, the level of antimicrobial effect of the triple composition of acetylated nisin with diclofenac sodium and amlodipine slowly decreased within the moderate range. For all the test strains of gram-negative microorganisms studied, the antimicrobial effect of the ternary composition of acetylated nisin with diclofenac and amlodipine remained moderate up to 2 months of observation and decreased to weak after 3 months of storage. **Conclusion.** Thus, according to the results of studying the stability of the antimicrobial effect of compositions based on unmodified and acetylated nisin with diclofenac sodium and amlodipine by keeping them under normal conditions in real time for 3 months, a decrease in their antimicrobial effect was found in relation to all the studied reference strains of microorganisms, while the antimicrobial effect of compositions with acetylated nisin decreased somewhat more slowly than with unmodified nisin. Taking into account the results obtained, it is advisable to use components in pharmaceutical compositions aimed at improving the stability of the antimicrobial properties of pharmaceutical compositions of nisin with resistance inhibitors. **Key words:** stability of antimicrobial effect, nisin, acetylated nisin, diclofenac sodium, amlodipine, pharmaceutical compositions, microorganisms

References

1. Brown, D. Antibiotic resistance breakers: can repurposed drugs fill the antibiotic discovery void? *Nat. Rev. Drug Discov.* 2015, V.14, № 12, 821–832. DOI: 10.1038/nrd4675.
2. 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>.

3. Arias, C. A.; Murray, B. E. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century: a clinical super-challenge. *The New England Journal of Medicine*. 2009, Vol. 360, №. 5, 439–443. DOI: 10.1056/NEJMp0804651
4. 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).
5. Soltani, S.; Hammami, R.; Cotter, P. D.; et al. Bacteriocins as a New Generation of Antimicrobials: Toxicity Aspects and Regulations. *FEMS Microbiol. Rev.* 2021, 45 (1), fuaa039. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa039>.
6. Lewies, A.; Wentzel, J. F.; Jordaan, A.; et al. Interactions of the Antimicrobial Peptide Nisin Z with Conventional Antibiotics and the Use of Nanostructured Lipid Carriers to Enhance Antimicrobial Activity. *Int. J. Pharm.* 2017, 526 (1–2), 244–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.04.071>.
7. O’Sullivan, J. N.; O’Connor, P. M.; Rea, M. C.; et al. Nisin J, a Novel Natural Nisin Variant, Is Produced by *Staphylococcus Capitis* Sourced from the Human Skin Microbiota. *J. Bacteriol.* 2020, 202 (3). <https://doi.org/10.1128/JB.00639-19>.
8. Hatziioanou, D.; Gherghisan-Filip, C.; Saalbach, G.; et al. Discovery of a Novel Lantibiotic Nisin O from *Blautia Obeum* A2-162, Isolated from the Human Gastrointestinal Tract. *Microbiology* 2017, 163 (9), 1292–1305. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000515>.
9. Chi, H.; Holo, H. Synergistic Antimicrobial Activity Between the Broad Spectrum Bacteriocin Garvicin KS and Nisin, Farnesol and Polymyxin B Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Curr. Microbiol.* 2018, 75 (3), 272–277. <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1375-y>.
10. Field, D.; Seisling, N.; Cotter, P. D.; et al. Synergistic Nisin-Polymyxin Combinations for the Control of *Pseudomonas* Biofilm Formation. *Front. Microbiol.* 2016, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01713>.
11. Mathur, H.; Field, D.; Rea, M. C.; et al. Fighting Biofilms with Lantibiotics and Other Groups of Bacteriocins. *Npj Biofilms Microbiomes* 2018, 4 (1), 9. <https://doi.org/10.1038/s41522-018-0053-6>.
12. Knysh, O. V.; Martynov, A. V. Microbiological substantiation of the use of synergistic polymyxin-nisin combinations (review). *Annals of Mechnikov Institute*. 2023, N 2, 17-25. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8046043>.
13. 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.
14. Kudryashov, V. L.; Alekseev, V. V.; Fursova N. A. Nizin and natamycin are effective food microbiological preservatives. *Food industry*. 2020, No. 2 (44), 67–71.

15. 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, No. 1 (127), 86–98.
16. Li, Q.; Montalban-Lopez, M.; Kuipers, O. P. Increasing the Antimicrobial Activity of Nisin-Based Lantibiotics against Gram-Negative Pathogens. *Appl. Environ. Microbiol.* 2018, 84 (12), e00052-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.00052-18>.
17. 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.
18. 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.
19. Basnakyan, I. A. Cultivation of microorganisms with desired properties. M. : Medicine, 1992. - P. 29-59.