

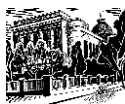
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

## **ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ**

Научно-практической конференции молодых ученых  
**«Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики,  
лечения и профилактики инфекционных и  
онкологических заболеваний»**

**Москва**

**2017**



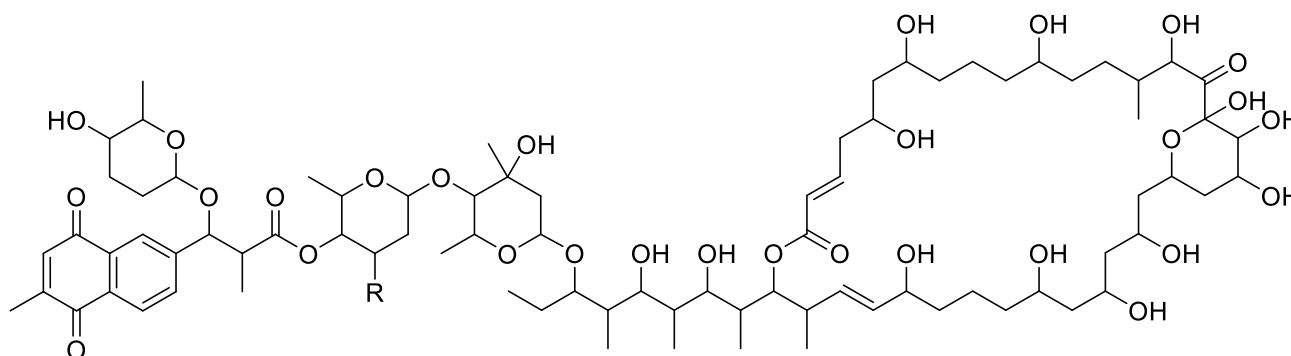
**Астолиды А и В, нафтохиноновые полиольные макролиды с антифунгальной активностью и цитотоксичностью, продуцируемые *Streptomyces hygroscopicus***

**Алферова В.А.**

ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

*alferovava@gmail.com*

В рамках поиска продуцентов антибиотиков с антифунгиальной активностью, обнаружен штамм *Streptomyces hygroscopicus*, обладающий высокой активностью в отношении грибов *Aspergillus niger*. Из культуральной жидкости штамма-продуцента методами экстракции, пересадения и обращенно-фазовой ВЭЖХ выделены два индивидуальных активных компонента – астолиды А и В. На основании масс-спектров высокого разрешения, ИК и УФ-спектров, а также корреляционных спектров ЯМР установлены структуры активных соединений:



R = H астолид А  
R = OH астолид В

Был изучен спектр биологической активности выделенных антибиотиков. Астолиды А и В обладают выраженной противогрибковой активностью в отношении грибов *A. niger* и дрожжей *Candida albicans*, а также активны против клинических изолятов резистентных к азолам патогенных микромицетов. Астолиды А и В проявили также высокую цитотоксическую активность.



**Возможное значение индукции некоторых интерферон-стимулированных генов в ответ  
на заражение клеточных линий меланомы человека вирусом кори**

*Аммур Ю.И.*

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»*

*yulia.ammour@yahoo.fr*

Онколитические вирусы, включая живые аттенуированные вакцинные штаммы вируса кори (ВК), в последнее время все чаще рассматриваются в качестве перспективных терапевтических агентов в отношении ряда опухолей человека. В качестве одного из механизмов, опосредующих онколитическую активность вирусов, рассматривается неспособность опухолевой клетки индуцировать полноценный иммунный ответ на вирусное заражение. Данное исследование направлено на установление параметров, определяющих чувствительность клеток меланомы человека к ВК. Мы сосредоточили наше внимание на отечественном вакцинном штамме ВК в отношении клеточных линий диссеминированной меланомы человека, полученных от пациентов РОНЦ. Клеточные линии заражали ВК с различной множественностью заражения (МОИ). Динамику вирусной репродукции, оценку гибели клеток и уровень экспрессии генов DDX58, IFN1, IFNB1, ISG15, IFIT1, OAS1, MxA, Cyclin D1, p21/27 и др. отслеживали через 3, 24, 48, 72 и 96 часов после заражения. Ранее было показано, что устойчивые к вирус-опосредованному онколизису лейкозные и здоровые клетки сохраняли функциональные пути противовирусной защиты, в то время как чувствительные клетки были дефектны по ним. Однако на клетках меланомы, несмотря на индукцию экспрессии ИФН I типа в ответ на вирусное заражение, наблюдали цитопатическое действие, при этом большим МОИ сопутствовала значительная продукция дефектных интерферирующих геномов, являющихся лигандами для RIG-I-подобных рецепторов. Действительно, через 24 часа после заражения наблюдали повышение уровня экспрессии этих рецепторов, коррелирующее с пиком экспрессии ИФН-β. При этом для зараженной культуры клеток Mel 1bg была характерна повышенная экспрессия гена MxA при снижении экспрессии гена Cyclin D1, а также индукция экспрессии гена TNFSF10 и XAF-1, а для зараженной культуры клеток Mel MTP – повышенная экспрессия гена OAS1 при слабой экспрессии гена MxA. По-видимому, это свидетельствует о том, что для полноценного ингибирования вирусной репликации требуется совместная экспрессия интерферон-стимулированных генов, тогда как при их отдельной экспрессии они выступают в качестве про-апоптотических сигналов, опосредуя гибель опухолевых клеток.



**Антиоксидантная активность метаболитов базидиальных грибов**

**Альмяшева Н.Р., Ярина М.С., Джавахян Б.Р., Голышкин А.В., Краснопольская Л.М.**

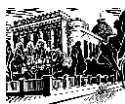
ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

*almyashevanelya@mail.ru*

Важным направлением современной биофармацевтики является поиск новых соединений с антиоксидантными свойствами и создание на их основе лекарственных препаратов. Известно, что нарушение антиоксидантно-прооксидантного баланса в организме приводит к окислительному стрессу. Заметные процессы перекисного окисления липидов можно наблюдать при ослаблении активности клеточных защитных систем. Доказано участие свободных радикалов в патогенезе очень многих заболеваний: атеросклероз, нарушения мозгового, коронарного и периферического кровообращения, ревматоидные, воспалительные и дегенеративные заболевания опорно-двигательной системы, легочные заболевания, онкологическая патология, болезнь Альцгеймера и Паркинсона и др.

Цель настоящей работы состояла в оценке антиоксидантной активности низкомолекулярных соединений, экстрагируемых этанолом, и полисахаридов базидиальных грибов. В качестве полисахаридов исследовали суммарные фракции водорастворимых полисахаридов и индивидуальных соединений – щелочерастворимого полисахарида ксилломаннана и водорастворимого производного  $\alpha$ -глюкана - соединения GGA, полученного в ИОХ РАН. Полисахариды и этанольные экстракты получали из погруженного мицелия штаммов *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *G. lucidum*, *G. frondosa*, *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. из коллекций лаборатории биосинтеза биологически активных соединений ФГБНУ «НИИНА», а также из плодовых тел *H. erinaceus*. В работе использовали три метода определения антиоксидантной активности: кулонометрический метод, метод хелатирования ионов железа и спектрофотометрический способ определения антирадикальной активности с помощью ДФПГ (2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил).

Антиоксидантную активность показали все испытанные суммарные фракции водорастворимых полисахаридов. Сравнение индивидуальных полисахаридов показало, что значительно более высокой активностью обладал полисахарид GGA. Наиболее наглядно это было продемонстрировано в опыте по хелатированию ионов железа. Среди этанольных экстрактов биомассы базидиомицетов наибольшую антирадикальную активность показал экстракт погруженного мицелия *G. frondosa*. Результаты определения антиоксидантной активности этанольных экстрактов погруженного мицелия базидиомицетов были сопоставлены с содержанием в биомассе фенольных соединений.



**Антимикробный потенциал экстремофильных микромицетов**

**Баранова А.А.<sup>1</sup>, Садыкова В.С.<sup>1</sup>, Георгиева М.Л.<sup>2</sup>, Никитин Д.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

anna916184@yandex.ru

Одной из основных проблем, с которой столкнулись в XXI веке, является появление резистентности, а также множественной резистентности патогенных микроорганизмов к обычно используемым антибиотикам. Несмотря на значительное снижение количества природных антибиотиков, внедряемых в клиническую практику, поиск новых соединений из природных источников все еще не утратил своей актуальности. Проведение поиска организмов, способных синтезировать биологически активные вещества, в том числе антибиотики, в настоящее время часто связывают с культурами, выделенными из необычных природных ниш – морей, рек, горячих и соленых источников. За последние 10-12 лет было выделено более 20 000 соединений, полученных из экстремофильных микроорганизмов. Поэтому в ближайшие годы можно ожидать, что при целенаправленном скрининге таких штаммов, будут обнаружены продуценты новых антибиотиков. Соответственно, требуются обширные коллекции изолятов грибов и выявление среди них наиболее активных.

Скрининг новых продуцентов антибиотиков проводился среди 22 алкалофильных аскомицетов *Emericellopsis alkalina*, выделенных из щелочных засоленных почв Центральной Азии, 30 психротолерантных микромицетов Антарктиды, а также 60 микромицетов выделенных из беспозвоночных организмов (вьетнамские многоножки, жуки-короеды).

У выделенных штаммов микромицетов исследована антимикробная активность методом блоков и диско-диффузионным методом, в отношении тест - культур *A. niger* INA 00760, *S. albicans* ATCC 2091 и *B. subtilis* ATCC 6633. Значительное число штаммов обладало высокой и/или умеренной активностью. Для наиболее активных штаммов были подобраны условия культивирования на жидких средах, а так же индивидуальные схемы экстракции антибиотических веществ. По результатам этого скрининга были отобраны 2 культуры *Emericellopsis alkalina* E101 и A118, для которых была установлена антибактериальная и антифунгальная активность антибиотиков, экстрагированных из культуральной жидкости. Для фракционирования активных веществ использовали комбинацию методов жидкостной хроматографии. Выделены, предположительно, пептидные фракции, имеющие высокую антифунгальную активность.



**Влияние концентрации глюкозы и витаминов на накопление капсульного  
полисахарида 9N серотипа *S. pneumoniae***

**Барановская С.А., Елкина С.И., Токарская М.М.**

ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова»;

*sofyabaranovskaya@gmail.com*

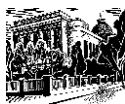
Для современной вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции применяют поливалентные конъюгированные вакцины на основе капсульных полисахаридов (КПС). Некоторые актуальные для РФ серотипы пневмококка не входят в состав зарегистрированных конъюгированных вакцин. Поэтому необходимо, чтобы создаваемая вакцина включала актуальные серотипы. Важным моментом является качество КПС, на основе которых разрабатываются иммунобиологические препараты. Так как КПС выделяют из культуральной жидкости, то необходимо, чтобы питательная среда способствовала высокой скорости роста *S. pneum.*, синтезу КПС, и не содержала компоненты, затрудняющие очистку препаратов. Известно, что на рост пневмококка и накопление им КПС влияют различные факторы, непосредственно в данной работе мы уделили особое внимание глюкозе и витаминам.

Таким образом, была поставлена цель изучить влияние концентрации глюкозы и витаминов в составе полусинтетической питательной среды на рост *S. pneum.* и накопление им КПС.

В работе использовали штамм №96420 сер.9N *S. pneum.*, предоставленный лабораторией микробиологии НЦЗД МЗ РФ. Ранее показано, что данный штамм - продуцент КПС. Посевную культуру выращивали 16 часов при 37<sup>0</sup>С на кровяном агаре с 5% подачей CO<sub>2</sub>. Как солевую основу использовали среду Ледерберга; в качестве источника азота - соевый пептон. Питательные среды стерилизовали при 1 атмосфере в течение 30 минут. Витамины стерилизовали фильтрованием. Штамм культивировали в бактериологических пробирках, содержащих 30 мл питательной среды. Посевная составила 4,2 млрд.кл. Выращивание проводили в течение 24 часа при температуре 37<sup>0</sup>С в термостате с 5% подачей CO<sub>2</sub>. Каждые 2 часа в течение 10 часов, а также через 24 часа контролировали оптическую плотность измеряли рН и глюкозу. Накопление КПС оценивали при помощи РИЭФ проб культуральной жидкости. В качестве референс-препарата использовали очищенный КПС, принадлежность которого к сер.9N подтверждена при помощи ЯМР-спектроскопии.

Проведенные исследования показали, что накопление КПС началось через 4 ч. и было максимально в средах с высокой и средней концентрацией глюкозы (15 г/л и 7,5 г/л), содержащих витамины.

Таким образом, можно предположить, что накопление КПС штаммом *S. pneum.* сер.9N зависело от концентрации глюкозы и не зависело от содержания витаминов.



Конференция молодых ученых и специалистов  
«Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики  
инфекционных и онкологических заболеваний»

**Уровни IgG-антител к *P. aeruginosa* инфицированных и неинфицированных  
синегнойной палочкой детей с муковисцидозом  
и врожденными пороками развития легких**

**Благовидов Д.А., Костинов М.П., Ястребова Н.Е., Симонова О.И.**

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»*

*dabdoctor@yandex.ru*

**Актуальность работы:** *P. aeruginosa* – наиболее частая причина обострений и неблагоприятных исходов заболевания у детей с муковисцидозом и врожденными пороками развития легких. Необходимость поиска новых мероприятий по профилактике и лечению синегнойной инфекции продиктована увеличением антибиотикорезистентности возбудителя.

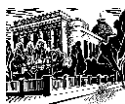
**Цель:** изучить уровни IgG-антител после вакцинации против *P. aeruginosa* у детей с муковисцидозом и врожденными пороками развития легких

**Материалы и методы:** Методом ИФА до вакцинации и через 6, 12 месяцев после иммунизации оценивался уровень специфических IgG-, IgG<sub>2</sub>-, IgG<sub>4</sub>-антител к комплексу антигенов, входящих в состав вакцины, у 47 вакцинированных детей и 31 непривитого ребенка с хронической синегнойной инфекцией из группы сравнения.

**Результаты:** введение вакцины против синегнойной инфекции сопровождалось достоверным ( $p < 0,05$ ) увеличением в сравнении с исходными уровнем IgG-, IgG<sub>2</sub>-, IgG<sub>4</sub>-антител к комплексу антигенов, входящих в состав вакцины через 6 и 12 месяцев.

**Заключение:** Вакцинация детей, неинфицированных *P. aeruginosa*, сопровождается преимущественно синтезом IgG-антител, а инфицированных – IgG<sub>2</sub>- и IgG<sub>4</sub>-антител к *P.aeruginosa*





## Влияние заместителей на биологические свойства аминопроизводных

### 1,4-диоксида 3-фенил-2-хиноксалинкарбонитрила

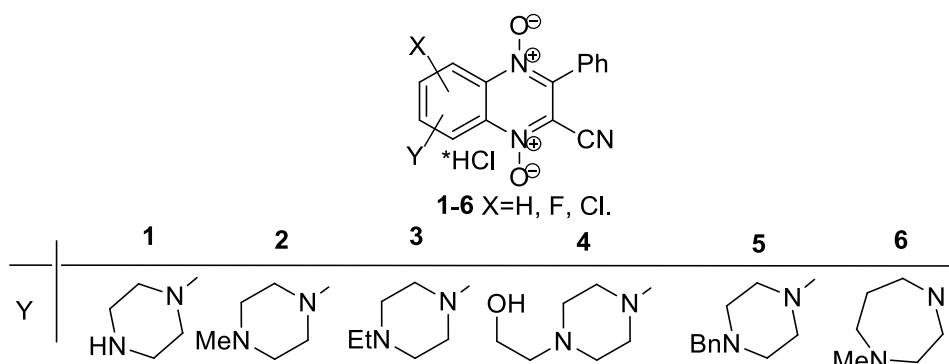
***Буравченко Г.И.<sup>1,2</sup>, Борунов А.М.<sup>1,2</sup>***

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

<sup>2</sup>Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева

*buravchenkogi@gmail.com*

Производные 1,4-диоксида 2-хиноксалинкарбонитрила обладают селективной цитотоксической активностью в условиях гипоксии [1]. С целью получения их водорастворимых аналогов, а также изучения влияния заместителей в положении 6 (7) гетероцикла на биологическую активность синтезирован ряд ранее не известных аминопроизводных 3-фенил-2-хиноксалинкарбонитрила **1-6**. Исследована цитотоксическая активность соединений (МТТ-тест) на клетках линий (MCF7, MDA-MB-231) аденокарцином молочной железы в условиях нормоксии (21%) и гипоксии (1%). Также изучена антипролиферативная активность соединений на клетках лимфолейкоза K562 и её резистентной линии K562/4 с активизированными механизмами МЛЮ.



Выявлена высокая антипролиферативная активность новых аминопроизводных **1-6**. Найдено, что для большинства линий опухолевых клеток 50%-я ростиингибирующая концентрация (IC<sub>50</sub>) близка или превосходит соответствующие значения для препаратов сравнения доксорубицина, цисплатина и тирапазамина. Отличительной чертой полученных производных **1-6** является высокая активность в отношении линий с фенотипом МЛЮ, а также селективная цитотоксичность в условиях гипоксии. Результаты скрининга показали, что наиболее перспективными оказались производные 6(7)-пиперазинил-3-фенил-2-хиноксалинкарбонитрилов **1**, причем введение заместителей к терминальной аминогруппе приводит к снижению активности.

### Литература

1. Shchekotikhin A.E. et al. PCT Int. Appl. WO 2015167350, **2015**.





## Токсикологическая характеристика препарата аимпила

*Голибродо В.А.*

*ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»*

*vasilisa2006@gmail.com*

**Введение.** Одним из современных направлений поиска противоопухолевых средств является создание химических композиций для адресной доставки препарата непосредственно в опухоль. Препарат аимпила представляет собой композицию экзогенного АФП, нековалентно связанного с атрактилозидом. Для продвижения препарата необходимо изучение его токсических свойств на различных моделях.

**Цель исследования.** Оценка токсических свойств препарата Аимпила при хроническом введении.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовали 60 беспородных крыс и 60 кроликов «Советская шиншилла» самцов и самок, по 10 животных в группе. Разовые дозы составляли одну (0,1 мг/кг для крыс и 0,05 мг/кг для кроликов) и десять тердоз (1 мг/кг для крыс и 0,5 мг/кг для кроликов). Препарат вводили ежедневно перорально в течение 30 дней, на 1 и 30 сутки по окончании курса введения животных подвергали эвтаназии. Клинические и патоморфологические исследования проводили в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств».

**Результаты.** При введении в однократной терапевтической дозе препарат не проявил ярко выраженного общетоксического действия. При 10-кратном превышении терапевтической дозы обнаружены кардио-, гепато- и нефротоксические свойства Аимпила у обоих видов животных. Кардиотоксическое действие препарата проявлялось только морфологически и было обратимым. Гепатотоксичность аимпила клинически выражалась в повышении активности АСТ и подтверждалась патоморфологическими исследованиями. У крыс клинические признаки нефротоксичности не выявлены, у кроликов на оба срока наблюдения в моче были обнаружены кетоновые тела и уробилиноген. Частично обратимые морфологические изменения в почках были найдены у обоих видов животных.

**Заключение.** Применение препарата в терапевтической дозе не оказывало влияния на структуру и функцию основных органов и систем организма животных. При значительном превышении терапевтической дозы возможно проявление кардио-, гепато-, и нефротоксичности. Дозозависимый и обратимый характер выявленных токсических эффектов позволяет заключить, что препарат является перспективным для дальнейшего изучения.



**Уровни охвата и своевременность вакцинации против пневмококковой инфекции на  
начальных этапах широкомасштабной вакцинации**

**Елагина Т.Н.**

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»*

*esina.tatjana5505@yandex.ru*

В 2014 году согласно Приказу Министерства Здравоохранения №125н от 21.03.14 Национальный календарь профилактических прививок РФ был расширен за счет вакцинации против пневмококковой инфекции (ПИ) детей первого года жизни. Качественно проведенная программа массовой иммунизации характеризуется высоким уровнем охвата прививками, соблюдением схемы вакцинации и своевременности.

Цель – определить уровень охвата вакцинацией против ПИ, соблюдение схемы и своевременности вакцинации против ПИ детей 2014-2015 годов рождения за 2014-2015 года на территории Троицкого и Новомосковского административных округов (ТиНАО) г.Москвы;

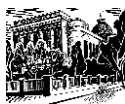
Материалы и методы – использовались ежегодные, ежемесячные отчетные формы государственной статистики, первичная медицинская документация (учетная форма №112/у).

Результаты: за 2014- 2016 года уровень охвата прививками против ПИ среди детей 1 года жизни на территории ТиНАО составляет 0,04%, 20,85% и 31% соответственно.

По данным 949 карт истории развития ребенка уровень охвата двукратной вакцинацией против ПИ среди детей 2015 г.р. составил 3,4%, а среди детей 2014 года рождения 7,8%. Однократно вакцинированы 10,2% детей 2015 г.р. и 11,9% детей 2014 г.р.

Своевременно, в возрасте 2 месяцев начата вакцинация лишь у 35,3% привитых детей, а закончена до 6 месяцев у 7,4% своевременно начавших.

Выводы – реализация широкомасштабной вакцинации против ПИ как средства контроля над эпидемическим процессом ПИ должна сопровождаться не только достаточно высокими уровнями охвата, но и своевременностью иммунизации (в первом полугодии жизни) и соблюдением схем вакцинации (без увеличения или сокращения интервалов между вакцинациями).



**Доклиническое исследование токсических свойств ЛХТА-2034**

**Еремкин Н.В., Трещалин И.Д., Переверзева Э.Р.**

*ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»*

*keremkin@gmail.com*

Антрациклиновые антибиотики используются в химиотерапии для лечения широкого спектра онкологических заболеваний, но их применение ограничено риском развития тяжелой кардиомиопатии. Поиски более доступных и эффективных противоопухолевых препаратов с пониженной кардиотоксичностью привели к созданию антрациклинов нового поколения. Однако для соединений этого класса характерна низкая активность в отношении опухолевых клеток с множественной лекарственной устойчивостью.

В ФГБНУ «НИИНА» было получено производное антрацендиона, на основе которого был разработан противоопухолевый мультитаргетный препарат ЛХТА-2034, действующий на несколько мишеней, важных для опухолевого роста, и обладающий высокой активностью в отношении опухолевых клеток с фенотипами множественной лекарственной устойчивости.

Целью настоящего исследования являлось изучение токсических свойств ЛХТА-2034 в хроническом эксперименте на крысах при парентеральном введении.

Материалы и методы: В эксперименте использовали 30 беспородных крыс самцов. Препарат в виде 0,18% раствора в 5% глюкозе вводили внутривенно ежедневно в течение 14 дней в разовых дозах 3 и 4,5 мг/кг (суммарно МПД и ЛД50 соответственно). На 1 и 30 сутки по окончании курса введений животных подвергали эвтаназии. Клинические и патоморфологические исследования проводили в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств».

Результаты исследования: Введение препарата в обеих изученных дозах не оказывало влияния на клинико-лабораторные показатели состояния организма животных. При применении дозы, суммарно равной МПД, были обнаружены умеренные патоморфологические изменения в почках. Введение в дозе, суммарно составляющей ЛД50, приводило к повреждению структуры печени, почки, сердца, двенадцатиперстной и тощей кишки. У части животных изменения в печени, почках и миокарде сохранялись до конца наблюдения. Структура слизистой оболочки кишечника полностью восстанавливалась в течение месяца.

Заключение: Дозозависимый и обратимый характер выявленных токсических эффектов позволяет рекомендовать препарат для дальнейшего изучения. При значительных передозировках необходимо учитывать возможность возникновения деструктивных изменений в печени, почках, миокарде и верхних отделах тонкой кишки.



## Изучение антибиотических свойств бактерий-эндобионтов

### плодовых тел базидиальных грибов

*Ефименко Т.А.*

ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

*efimen@inbox.ru*

Интенсивное применение антибиотиков привело к тому, что многие штаммы болезнетворных микроорганизмов выработали устойчивость к известным антибиотикам. Одним из путей решения этой проблемы является поиск новых природных антибиотиков, преодолевающих лекарственную устойчивость бактерий. Объектами исследования данной работы являются штаммы бактерий, выделенные из плодовых тел базидиальных грибов.

В общей сложности из 86 плодовых тел грибов было выделено 93 бактериальных штамма, из которых 79 (85%) в условиях глубинного культивирования образуют антибиотики. Для определения антибиотической активности использовали 12 тест-организмов, среди которых присутствуют штаммы *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177, устойчивый к гликопептидным антибиотикам группы ванкомицина (VRLM), и *Staphylococcus aureus* INA 00761, устойчивый к бета-лактамам (MRSA).

Для дальнейшего изучения были отобраны 16 бактериальных штаммов-продуцентов, с различающимися антибиотическими спектрами и идентифицированы на основании анализа гена 16S рРНК. Из отобранных продуцентов восемь штаммов на достаточно высоком уровне проявили активность в отношении метициллин-резистентного золотистого стафилококка (MRSA), четыре штамма – в отношении штамма *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177 (VRLM). У трех штаммов показано антимикробное действие на тест-штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853, устойчивый ко многим антибиотикам лекарственного назначения. У двух штаммов *Bacillus subtilis* INA 01085 и INA 01086 были изучены и описаны физико-химические свойства образуемых ими веществ. Было установлено, что оба штамма образуют олигопептидные антибиотики, эффективные в отношении грамположительных тест-культур, и полиены, обладающие противогрибковой активностью. Описанные пептидные антибиотики относятся к ранее неизвестным природным соединениям.

По данным литературы среди изученных штаммов, выявлены виды бактерий, ранее не выделявшиеся из подобного источника, и виды, для которых ранее не была описана антибиотическая активность. Благодаря высокому проценту штаммов среди выделенных бактерий, обладающих антибиотической активностью, можно заключить, что плодовые тела являются перспективным источником для поиска продуцентов новых антимикробных соединений.



**Получение и исследование иммунобиологических свойств слитого  
рекомбинантного белка OprF-aTox-OprI *Pseudomonas aeruginosa***

**Е.М. Зимина, Н.А. Михайлова, А.А. Калошин**

ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

*Ziminka@yandex.ru*

Синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) является возбудителем целого ряда инфекций различной степени тяжести. Ввиду устойчивости микроорганизма к широкому спектру антибиотиков традиционное лечение синегнойной инфекции малоэффективно. Поэтому в России и за рубежом создаются специфические иммунобиологические препараты и, в частности, профилактические вакцины на основе протективных антигенов возбудителя.

Цель исследования – получение слитого рекомбинантного белка OprF-aTox-OprI *P. aeruginosa* и исследование его иммунобиологических свойств.

В плазмидную конструкцию, предназначенную для синтеза рекомбинантного белка OprF-aTox, по сайту рестрикции Xho I встроили амплифицированный ген мембранного белка I (210 п.о.).

Отбор рекомбинантных конструкций pET<sub>28</sub>-oprF-atox-oprI проводили методом рестриктоного анализа и секвенированием встроеного гена.

Наличие на N-концах белков последовательности из шести гистидинов сделало возможным очистку рекомбинантных белков на Ni-активированном сорбенте. Очищенный рекомбинантный белок OprF-aTox-OprI (расчетная молекулярная масса 107,2 кДа) специфически реагировал с кроличьими иммунными сыворотками к OprF, анатоксину и белку OprI.

При исследовании протективных свойств рекомбинантные белки вводили мышам внутрибрюшинно двукратно с двухнедельным интервалом, используя в качестве адьюванта гидроокись алюминия. В течение 10 дней после заражения живой вирулентной культурой *P. aeruginosa* регистрировали гибель животных и в последующем рассчитывали индекс эффективности (ИЭ). ИЭ защитных свойств рекомбинантного белка OprF-aTox-OprI в условиях эксперимента оказался практически равным ИЭ комплекса из двух белков OprF и aTox *P. aeruginosa*. Специфичность выявленного эффекта подтверждена увеличением в сыворотке крови иммунизированных животных титров антител к составляющим компонентам рекомбинантного белка.

Полученные результаты позволяют рассматривать слитый рекомбинантный белок OprF-aTox-OprI в качестве варианта антисинегнойного вакцинного препарата.



**Возможности коррекции уровня витамина D при лечении  
вагинальных инфекций у беременных**

*Игнатьева М.А.*

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»*

*ziminka@yandex.ru*

В настоящее время доказано, что имеется тесная взаимосвязь иммунной системы с репродуктивной функцией организма. Особого внимания заслуживают исследования воздействия на процесс воспаления и противоинфекционный иммунитет витамина D. Витамин D регулирует уровни провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ,  $\gamma$ -интерферона) при бактериальной инфекции. Ряд исследований доказал иммуномодулирующий эффект витамина D и наличие целого ряда заболеваний, ассоциирующихся с его дефицитом. В частности, при беременности дефицит витамина D увеличивает частоту случаев преэклампсии, гестационного сахарного диабета, преждевременных родов, бактериального вагиноза. Сюда следует отнести и негативные последствия для плода и новорожденных, наиболее частым из которых является задержка внутриутробного роста и снижение массы тела новорожденных.

Цель - изучение эффективности применения витамина D для профилактики и лечения вагинальных инфекций у беременных.

Материалы и методы: под наблюдением находятся 50 пациенток. I гр. – 26 женщин, не получавших препараты витамина D во время беременности; II гр. – 24 женщины, получавшие препараты витамина D во время беременности. Из 50 беременных у 40 выявлены различные влагалищные инфекции, кольпит, в том числе кандидозный, персистирующая герпесвирусная инфекция, урогенитальная инфекция. 10 беременных без влагалищных инфекций – группа сравнения.

Проводилось наблюдение за беременными со II триместра до родоразрешения, с оценкой присоединения гестационных осложнений и перинатальных исходов.

Получены результаты: из 50 пациенток 30 - уже родоразрешены. В группе пациенток, которые не получали витамин D, отмечено присоединение следующих гестационных осложнений - фетоплацентарная недостаточность 15%, внутриутробная инфекция 25%, гестационный сахарный диабет 10%. Напротив, в группе пациенток принимавших препараты витамина D число присоединившихся гестационных осложнений ниже в 2 раза. Важно отметить интересный пример, у пациентки с отягощенным акушерским анамнезом (3 преждевременными родами в анамнезе) и персистирующей герпесвирусной инфекцией, принимавшей препараты витамина D в течение 2 и 3 триместра беременности, 4 роды



Конференция молодых ученых и специалистов  
**«Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики  
инфекционных и онкологических заболеваний»**



произошли в срок. Напротив, у пациентки с герпесвирусной инфекцией, однократно обострившейся во время беременности, не принимавшей витамин D во время беременности, у ребенка диагностирована пневмония, у пациентки после родов - эндометрит.

Так же отмечен более высокий уровень заболеваемости ОРИ во время беременности в I гр., по сравнению со II гр. (в 2 раза). Стоит отметить, что прием препаратов витамина D на протяжении всей беременности, значительно снизил случаи заболевания ОРИ в течение беременности у пациенток в холодное время года.

Заключение: получены предварительные результаты влияния витамина D у беременных женщин на присоединение гестационных осложнений и перинатальные исходы.





**Исследование клиничко-иммунологических эффектов иммуномодуляторов в  
комплексном лечении больных с внебольничной пневмонией**

***Кажарова С.В., Коровкина Е.С., Костинов М.П.***

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»*

*doctors85@mail.ru*

Введение: Внебольничная пневмония (ВП) – широко распространенное заболевание у взрослых, занимающее ведущее место в структуре заболеваемости и смертности от инфекционных заболеваний в развитых странах. Рост числа антибиотикополрезистентных штаммов микроорганизмов диктует необходимость поиска новых подходов к терапии и реабилитации больных с различными воспалительными заболеваниями системы органов дыхания.

Цель: изучение иммунологической эффективности иммуномодулирующих препаратов у пациентов с тяжелой и среднетяжелой формами ВП.

Материалы и методы.

В исследование вошло 60 пациентов в возрасте от 18 до 70 лет (средний возраст  $53,15 \pm 3,18$ ) с диагнозом внебольничная пневмония средне тяжелого и тяжелого течения, находившиеся на госпитальном лечении с 2016-2017 гг. Пациенты были распределены на три группы, методом случайной выборки: 1 группа (n 20) получали терапию препаратом Бронхо-ваксом в сочетании с базисной антибактериальной и симптоматической терапией; 2 группа (n 20) получали препарат Азоксимера бромид в сочетании с базисной антибактериальной и симптоматической терапией; контрольная группа (n 20) проводилась только базисная антибактериальная и симптоматическая терапия.

Проведенное обследование:

Клинический анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы и СОЭ на 1 и 13 дни заболевания. Для верификации диагноза пневмонии всем больным было проведено рентгенологическое исследование в 1 и 13 дни. Для оценки качества жизни все пациенты заполняли дневники самоконтроля. Также производился забор сыворотки для дальнейшего определения цитокинового профиля и острофазовых белков воспаления.

Основные результаты:

Клиническая картина была представлена синдромом интоксикации, лихорадкой, характерной аускультативной картиной (крепитация). На фоне комбинированной терапии с использованием иммуномодуляторов (Бронхо-Ваксом, Азоксимера бромид), отмечалось уменьшение длительности и выраженности интоксикационного синдрома (на 3-4 дня),



рентгенологическим разрешением легочной инфильтрации( в среднем на 14-15 сутки госпитализации).

При анализе результатов лабораторного обследования (лейкоцитарная формула, СОЭ), выявлен умеренный лейкоцитоз, увеличение палочек, повышение СОЭ. В ходе динамического наблюдения получены следующие результаты: достоверное снижение количества лейкоцитов периферической крови во всех группах на 13 день заболевания, более выраженная динамика снижения уровней лейкоцитов наблюдалась в группе №1. Наиболее выраженная динамика снижения уровней палочкоядерных нейтрофилов наблюдалась в группе №2. Отчетливый уровень снижения показателей СОЭ наблюдалось в группе № 1.

#### Заключение.

Применение азоксимера бромида и бронхо-ваксома является эффективным и безопасным средством коррекции иммунных нарушений при назначении по соответствующей схеме в комплексе с антибактериальными препаратами. При применении азоксимера бромида наблюдается более ранняя положительная динамика клинических симптомов, что позволяет сделать вывод о повышении эффективности лечения тяжелой пневмонии при включении азоксимера бромида в состав комплексной терапии. Использование препаратов азоксимера бромида и бронхо-ваксом повышает эффективность антибактериальной терапии, сопровождается положительной клинической динамикой. Таким образом, включение иммуномодуляторов в состав комплексной терапии ВП клинически обосновано



**Поиск продуцентов антибиотиков, активных в отношении метициллинорезистентного  
стафилококка и синегнойной палочки**

**Куликова Н.Г.**

ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

*machavariani.nina@mail.ru*

Целью данного исследования было изыскание продуцентов антибиотиков, активных в отношении метициллинорезистентного стафилококка (MRSA) и синегнойной палочки, которые входят в список ВОЗ приоритетных патогенов, в отношении которых должен проводиться поиск новых антибиотиков.

Первым этапом исследования было выделение актиномицетов из местообитаний, которое проводили методом поверхностного посева водных суспензий с добавлением в состав агаризованных питательных сред адреналина (1 мкг/мл), гетероауксина (20 мкг/мл) и циркона (1 мкг/мл). Применение селективных агентов на этом этапе работы позволили изолировать культуры редких родов актинобактерий, которые являются источником продуцентов неизвестных антибиотиков, а также способствовали выделению большего количества антибиотически активных культур в отношении грамположительных тест-бактерий, в том числе метициллинорезистентного стафилококка (MRSA), и грамотрицательных тест-бактерий, в том числе синегнойной палочки.

Следующий этап исследования состоял в подборе условий антибиотикообразования при глубинном культивировании штаммов актиномицетов редких родов. В связи с тем, что в контроле культуры были неактивными, был разработан метод индукции антибиотикообразования, заключающийся в добавлении в состав жидких питательных сред адреналина (1 мкг/мл) и гетероауксина (20 мкг/мл). Разработанный метод позволил добиться биосинтеза антибиотиков у большинства исследуемых штаммов, что имеет очень важное практическое значение, т. к. многие культуры не проявляют антибиотической активности в стандартных жидких питательных средах *in vitro*. Следовательно, образующиеся ими антибиотические вещества не изучаются, что, в свою очередь, может привести к потере потенциальных продуцентов антибиотиков с новыми ценными свойствами.

В результате проведенных исследований была создана биоресурсная коллекция актиномицетов, содержащая штаммы, активные в отношении *Staphylococcus aureus* (MRSA) и *Pseudomonas aeruginosa*, а также культуры редких родов актиномицетов, которые могут служить объектами как научных изысканий, так и для скрининга продуцентов неизвестных антибиотиков.



**Разработка экспериментальной модели сочетанной  
вирусно-бактериальной пневмонии**

Е.И. Леонова, И.Н. Фалынскова, Н.М. Махмудова, И.А. Ленева, Н.А. Михайлова.

ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

*evgeniya-leonova@mail.ru*

Грипп — это острая респираторная вирусная инфекция, представляющая собой серьезную проблему общественного здравоохранения, вызывающая тяжелые заболевания и приводящая к смертельным исходам в группах населения повышенного риска. Большая часть смертельных исходов от гриппа обусловлена вторичной бактериальной пневмонией. Анализ клинических данных подтвердил, что бактериальные пневмонии составляли 30% осложнений после перенесенного пандемического гриппа среди детей, при этом наиболее частым регистрируемым патогеном был *S. aureus*.

Целью исследования являлась разработка и характеристика экспериментальной модели вторичной бактериальной пневмонии после гриппозной инфекции, индуцированной вирусом гриппа А/Калифорния/04/09 (H1N1) пндм, и последующего заражения живой вирулентной культурой *S.aureus* штамма 1986.

Для моделирования вторичной бактериальной пневмонии самок мышей BALB/C массой 12-14 г инфицировали интраназально сублетальными дозами вируса гриппа А/Калифорния/04/2009 (пндм H1N1 2009) и в последующем заражали внутрибрюшинно или интраназально различными дозами *S.aureus* 1986. В качестве контроля использовали группы животных, отдельно инфицированных вирусом или *S.aureus* в тех же дозах и промежутках времени.

Полученные результаты показали, что последовательное сочетанное заражение приводит к увеличению смертности мышей, потере веса, а также к уменьшению средней продолжительности жизни по сравнению с группами мышей, инфицированных отдельно вирусом гриппа или *S. aureus* 1986. Титр вируса и плотность бактерий в легких при последовательном заражении мышей вирусом гриппа А/Калифорния/04/09 (H1N1) и *S. aureus* 1986, значительно повышались по сравнению с результатами при раздельном заражении вирусом гриппа и *S. aureus* 1986. Кроме того, бактериальное заражение, последовавшее после вирусного, приводит к увеличению сроков элиминации вируса и бактерий из легких. Полученные результаты свидетельствуют об усилении роста *S. aureus* 1986 и повышении факторов его патогенности в условиях ассоциации с вирусом гриппа.



**Поиск антибиотиков, обладающих антифунгальной активностью**

**Максимова М.А., Бычкова О.П., Тренин А.С.**

ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

*maxjmova-maria@yandex.ru*

Грибковые инфекции являются одной из наиболее серьезных угроз здоровью населения. Особую опасность представляют глубокие (инвазивные) микозы, характеризующиеся высокой смертностью, в частности, кандидозы и аспергиллезы, т.е. заболевания, вызываемые патогенными штаммами дрожжей рода *Candida* и грибов рода *Aspergillus*. Существующих в настоящее время противогрибковых препаратов относительно немного и они весьма несовершенны, поскольку, как правило, высоко токсичны. Необходимо создание новых антифунгальных лекарственных средств. Актуально проведение скрининга новых продуцентов противогрибковых антибиотиков, а также анализ антифунгальной активности соединений, получаемых путем полного химического синтеза.

При проведении поисковых исследований основное наше внимание направлено на работу с микроорганизмами - продуцентами антибиотиков, в первую очередь с штаммами актиномицетов, свежевыделенных из природных источников. Анализируются также продукты метаболизма коллекционных культур (высшие грибы базидиомицеты).

Культивирование микробных продуцентов в различных по химическому составу жидких питательных средах позволяет подобрать условия культивирования, способствующие образованию антибиотиков. Анализ культуральной жидкости продуцентов в биологических тестах с использованием различных бактериальных и грибных тест-культур, в том числе *Candida albicans* ATCC 14053 и *Aspergillus niger* ATCC 16404, позволяет выявить наиболее перспективные продуценты, в первую очередь штаммы, проявившие, главным образом, антифунгальную активность, наиболее перспективные в качестве продуцентов противогрибковых антибиотиков.

Указанный подход одновременно является первичным этапом скрининга ингибиторов биосинтеза стеролов (ИБС), поскольку выявление штаммов с антифунгальной активностью существенно повышает вероятность обнаружения этих вторичных метаболитов, обладающих гиполлипидемическим, антифунгальным или противоопухолевым действием. Анализ препаратов, получаемых в НИИНА путем полного химического синтеза, также позволяет выявить соединения, перспективные для дальнейшей разработки в качестве эффективных антифунгальных лекарственных средств.



**Получение куриного противоротавирусного иммуноглобулина**

**Марков Д.В., Файзулов Е.Б., Нагиева Ф.Г., Никонова А.А., Марова А.А.**

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»*

*mdvvc@mail.ru*

Иммуноглобулины Y (IgY) - основная разновидность антител, которые встречаются у птиц, амфибий и рептилий и присутствуют в крови и желтках яиц. Особый интерес представляют препараты патоген-специфических IgY для иммунотерапии и иммунопрофилактики инфекций желудочно-кишечного тракта человека и животных. Препараты специфических IgY, например, уже сегодня применяются в виде кормовых добавок для молодняка сельскохозяйственных и домашних животных с целью профилактики вирусных и бактериальных кишечных инфекций.

Ротавирусы отвечают примерно за половину всех случаев госпитализации детей с острыми гастроэнтеритами и являются причиной высокой детской смертности в развивающихся странах. Если в странах, проводящих массовую вакцинопрофилактику ротавирусной инфекции, ущерб от нее в последние годы значительно снижен, то в России заболеваемость ротавирусным энтеритом остается на высоком уровне.

Цель работы заключалась в отработке методических подходов к получению препаратов куриного IgY, обладающего противоротавирусной активностью. Куры-несушки породы Леггорн в количестве 9 голов, были разделены на 3 группы по 3 головы и трижды с двухнедельным перерывом внутримышечно иммунизированы культуральным ротавирусом человека. Группе 1, 2 и 3 вводили антиген с адъювантом Фрейнда, гидроксидом алюминия и без адъюванта, соответственно. На протяжении опыта собирали яйца и сыворотки крови кур, которые исследовались на антитела к ротавирусу и вируснейтрализующую активность. Препараты IgY выделяли из желтков яиц методом осаждения ПЭГ-6000 (Polson A. с соавт.). Титр антител в сыворотках и желтках яиц определяли методом ИФА, а титр нейтрализующих антител – в реакции нейтрализации на культуре чувствительных клеток МА-104.

Показано, что при всех трех режимах иммунизации желтки яиц и сыворотки крови кур через 2-4 недели после последней иммунизации содержали антитела к ротавирусу в высоких титрах (от 1:32000 до 1:512000), а также обладали выраженной вируснейтрализующей активностью в культуре клеток МА-104 (титры от 1:128 до 1:2048). Полученные результаты могут быть использованы при разработке препарата с пероральным способом применения для пассивной иммунопрофилактики и иммунотерапии ротавирусного энтерита у детей.





**Морфо-физиологические и вирулентные свойства штаммов**

***Streptococcus pneumoniae* 6В разного происхождения**

***Асташкина Е.А., Матвеева Е.А., Кукина О.М.***

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»*

*selena7-87@rambler.ru*

Известно, что в зависимости от условий *Streptococcus pneumoniae* растут цепями различной длины [Костюкова Н.Н., Бехало В.А., 2014]. Считают, что короткие формы цепей характерны для инвазивных штаммов, так как они более устойчивы к опсоно-фагоцитарному киллингу, в то время как большая поверхность длинных цепей способствует прикреплению к эпителиальным клеткам и колонизации эпителиальной поверхности [Rodriguez J.L. et al., 2012]. Изучение взаимосвязи морфологии колоний и адгезивных свойств *S. pneumoniae* показало увеличение колонизации носоглотки прозрачными фазовыми вариантами, по сравнению с опалесцирующими, причем прозрачные колонии содержат клетки с тонкими капсулами или без них, и в опытах на животных такие клетки менее вирулентны, чем клетки опалесцирующих колоний того же штамма [Cundell D.R. et al., 1995].

Цель исследования: изучение морфологических, ростовых и вирулентных свойств трех штаммов *S. pneumoniae* 6В разного происхождения.

Материалы и методы. В работе использованы 3 штамма серотипа 6В: № 1 – коллекционный вариант штамма № 123, депонированного в 2014 г; № 2 – штамм № 3353, выделенный у ребенка в 2012 г. из уха при ОСО; № 3 – штамм № 1121, выделенный в 2010 г. из ликвора больной гнойным менингитом. Ростовые свойства оценивали по динамике накопления биомассы на основании расчета продуктивности процесса по накоплению биомассы (qx, м.к./ч), удельной скорости роста ( $\mu$ , ч<sup>-1</sup>) и числа прошедших генераций (n) [Перт С.Дж., 1978] при выращивании штаммов в сердечно-мозговой (с/м), полусинтетической (п/с) и синтетической (с/с) средах.

Результаты. Все штаммы характеризовались выраженным  $\alpha$ -гемолизом, чувствительностью к оптохину и дезоксихолату натрия (за исключением штамма № 1). Колонии всех трех штаммов были опалесцирующими, но штаммы №№ 2 и 3 имели 2 типа колоний, отличающихся размерами и формой, а клетки этих колоний обладали толстой капсулой, в отличие от штамма № 1, в котором капсула не наблюдалась или была тонкой.

Установлено, что для штамма № 1 характерны наиболее высокие ростовые свойства при выращивании в п/с среде (qx=0,85;  $\mu_{\text{макс}}$ =3,25; n=18,3) по сравнению с с/м (qx=0,21;  $\mu_{\text{макс}}$ =0,72; n=7,8) и с/с средой (qx=0,08;  $\mu_{\text{макс}}$ =0,61; n=3,0). Сравнительное изучение динамики роста трех штаммов в п/с среде выявило различия в ростовых свойствах. Так, для



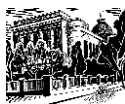


Конференция молодых ученых и специалистов  
**«Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики  
инфекционных и онкологических заболеваний»**



штаммов №№ 1, 2 и 3, соответственно,  $qx=0,96$ ; 0,57 и 0,20. При этом различается и их вирулентность, которую изучали при внутрибрюшинном заражении мышей BALB/c: LD50, соответственно,  $>10^9$ ;  $6,0 \times 10^7$  и  $3,0 \times 10^4$  микробных клеток.

Выводы. Из трех изученных штаммов разного происхождения, штамм № 3, выделенный при инвазивном инфекционном процессе, обладал наиболее высокой вирулентностью *in vivo* и сниженными ростовыми свойствами *in vitro*.



**Применение метода оптимизации кодонов для повышения уровня  
экспрессии рекомбинантных полипептидов на примере белка ORF3 вируса  
гепатита E 1 генотипа**

**Милованова А.В.**

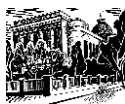
*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. Мечникова»*

*rose\_48@mail.ru*

При экспрессии в бактериальной системе рекомбинантных белков, имеющих эукариотическую природу, в том числе и вирусных белков, зачастую наблюдают низкий выход искомого продукта. Одним из методов повышения уровня экспрессии, который применили в настоящей работе, является оптимизация кодонов соответствующей нуклеотидной последовательности; в первом приближении, это замена (за счет вырожденности генетического кода) некоторых нуклеотидных триплетов, характерных для эукариот, но редких в прокариотах, на более часто встречающиеся в прокариотах кодонные триплеты.

В работе была поставлена задача получения рекомбинантного аналога белка ORF3 вируса гепатита E (ВГЕ), имеющего диагностическую значимость при обнаружении иммуноглобулинов класса G и M в сыворотках инфицированных пациентов. Для этого РНК ВГЕ выделяли из клинического материала, амплифицировали методом обратной транскрипции плюс ПЦР; полученный фрагмент комплементарной ДНК клонировали в плазмиду рЕХ с последующей трансформацией в экспрессирующий штамм *E. coli* POP2136. Аутентичность нуклеотидной последовательности клонированного фрагмента кДНК ВГЕ 1-го генотипа была подтверждена секвенированием. Однако добиться удовлетворительного уровня синтеза рекомбинантного белка ORF3 ВГЕ не удалось, поэтому с целью повышения выхода целевого продукта мы использовали метод оптимизации кодонов, позволяющий модифицировать последовательность нуклеотидов для более эффективной трансляции в клетках хозяина без изменения аминокислотной последовательности кодируемого белка. В результате проведенной оптимизации кодонов удалось добиться повышения уровня экспрессии рекомбинантного белка ORF3 ВГЕ, что подтверждено методами электрофореза белковых лизатов культуры рекомбинантных штаммов и Вестерн-блоттинга.

*Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, уникальный идентификатор проекта RFMEFI61316X0057.*



## Синтез и антибактериальная активность новых амидов эремомицина

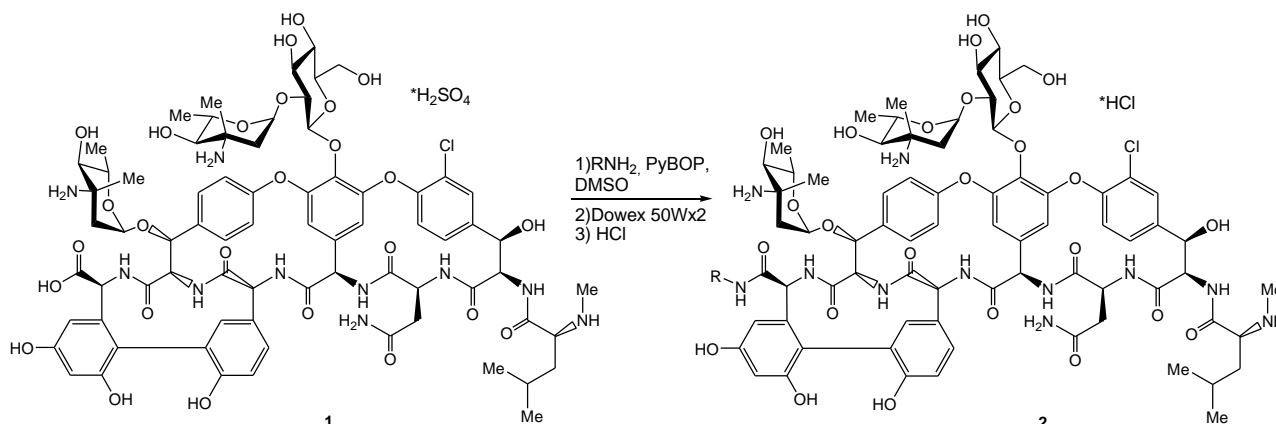
Моисеев Е.И.

ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

moiseenko.alena@gmail.com

Эремомицин – оригинальный отечественный гликопептидный антибиотик, открытый в 1979 году Г.Ф. Гаузе. Как и другие природные гликопептидные антибиотики, эремомицин блокирует синтез пептидогликана за счет ингибирования транспептидации [1]. Хотя эремомицин обладает лучшей, чем ванкомицин антибактериальной активностью и меньшей токсичностью, его низкая активность в отношении резистентных штаммов MRSA и VRE обуславливает необходимость поиска более активных полусинтетических производных.

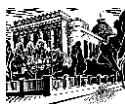
Среди известных путей модификации гликопептидных антибиотиков наиболее перспективным является получение карбоксамидов [1]. Также известно, что активность гликопептидных антибиотиков может быть улучшена за счет введения гидрофобных заместителей [2]. Основываясь на этих данных, конденсацией эремомицина и различных аминов в присутствии конденсирующего агента PyBOP в ДМСО получена серия новых карбоксамидов эремомицина **2**. Очистку продуктов осуществляли ионообменной хроматографией на смоле Dowex 50Wx2.



Среди синтезированных амидов эремомицина выявлен ряд производных, более активных, чем ванкомицин в отношении, как чувствительных, так и устойчивых штаммов грамположительных бактерий: в 5-10 раз в отношении чувствительных штаммов *S. aureus* и *E. faecalis* и в 10-25 раз в отношении резистентных штаммов *E. faecium* и *E. gallinarum*. Выбраны перспективные направления модификации эремомицина для поиска соединений-кандидатов и дальнейшего создания нового поколения гликопептидных антибиотиков.

### Литература

- [1] Ashford P.A. and Bew S.P., *Chem. Soc. Rev.*, 2012, 41, 957  
[2] Bambeke F.V. et al., *Drugs*, 2004, 64(9), 91



**Синтез и исследование антипролиферативной активности аминотильных  
производных гелиомицина**

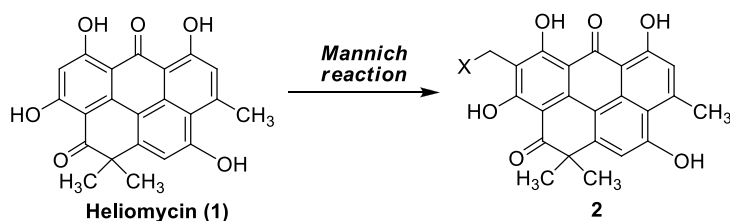
***Надысев Г.Я., Тихомиров А.С.***

ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

*heliomycin@yandex.ru*

Гелиомицин (резистомицин, **1**) – бактериальный метаболит, продуцируемый *Streptomyces resistomycificus*. Наличие у гелиомицина противовирусной [1] и антифунгальной [2] активности делает это соединение перспективным для детальных исследований. Тесты *in vitro* продемонстрировали способность гелиомицина блокировать пролиферацию некоторых видов опухолевых клеток [3]. Кроме того, установлено, что антибактериальные свойства гелиомицина обусловлены ингибированием РНК-полимераз [4]. Благодаря широкому спектру биологической активности гелиомицина, получение его новых производных носит важный характер с целью дальнейшего получения кандидатов для лекарственных средств.

Аминотильрованием гелиомицина (**1**) по реакции Манниха получена серия новых полусинтетических производных общей формулы **2** и исследована их способность ингибировать рост опухолевых клеток. Изучение антипролиферативной активности проводилось на линиях клеток НСТ-116, К-562, лейкемии мыши L1210, опухоли шейки матки HeLa, а также постнатальных фибробластах человека (ПФЧ) в сравнении с гелиомицином и доксорубицином. Анализ результатов биологического скрининга выявил ряд закономерностей в связи структура-активность и позволил отобрать соединения-лидеры, перспективные для дальнейших углубленных исследований.



**Литература:**

1. Бражникова М.Г. и др. *Антибиотики*, 1958, 2, 29.
2. Lamberty M., et al., *Biochemistry*. 2001, 40 (40), 11995.
3. Adinarayana G., et al., *Bioorg. Khim.* 2006, 32 (3), 328.
4. Королёв П.Н. и др., *Антибиотики*, 1978., 23(3), 242.



## Получение и иммунохимические свойства конъюгатов капсульного полисахарида

### *S.pneumoniae* серотипа 9N со столбнячным анатоксином

**Нуриев Р.И.**

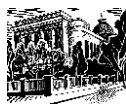
ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

*rinat1nuriev@gmail.com*

В последние годы наблюдается изменение спектра циркулирующих серотипов *S.pneumoniae*, связанное с началом широкого применения пневмококковых вакцин. В связи с этим своевременная диагностика и создание средств профилактики в отношении актуальных серотипов *S.pneumoniae*, непредставленных в конъюгатных вакцинах, приобретает особую значимость.

На основе капсульного полисахарида *S. pneumoniae* серотипа 9N (Пс9N), специфичных к данному антигену поликлональных антител (Ястребова Н.Е.) и моно- и поликлональных антител к столбнячному анатоксину (САТ) разработаны методы количественного определения Пс9N (до 2,5 нг/мл) и САТ (до 10 нг/мл) в конкурентном и сэндвич-ИФА, а также сэндвич вариант для качественной оценки конъюгатов САТ-Пс9N. Конъюгаты САТ с Пс9N, модифицированным дигидразидом адипиновой кислоты, получены в реакции карбодиимидной конденсации при разных соотношениях компонентов. На основании данных иммунохимической оценки определен конъюгат с наиболее оптимальным составом. Низкая иммуногенность полученных препаратов, обнаруженная в предварительных экспериментах, обусловила необходимость использования адьюванта. Исследованы параметры сорбции САТ и Пс9N на гидроксиде алюминия, в результате подобрано оптимальное ( $\leq 1:1$ , w/w) соотношение конъюгата с адьювантом для проведения экспериментов *in vivo*. Иммунизацию мышей Пс9N или конъюгатом САТ-Пс9N с массовым соотношением компонентов 3:4 (по 10 мкг/мышь в пересчете на Пс) проводили внутрибрюшинно, трижды с двухнедельным интервалом. Исследование динамики антителопродукции и влияния адьюванта (100 мкг/мышь) на иммуногенность показало, что нарастание титра антител к Пс9N и САТ наблюдается уже после двукратной иммунизации мышей конъюгированным препаратом, адсорбированным на гидроксиде алюминия, однако статистически значимое отличие ( $p < 0.05$ ) от контроля (ФСБ) достигается только после третьей иммунизации. В группе, иммунизированной конъюгатом без адьюванта, достоверное нарастание титров антител к Пс9N и САТ не наблюдалось.

В дальнейшем планируется продолжение экспериментов на лабораторных животных и тестах *in vitro* с целью определения протективных свойств вырабатываемых к полисахариду антител.



## Синтез и биологическая активность новых производных олигомицина А

Омельчук О.А.<sup>1,2</sup>, Лысенкова Л.Н.<sup>1</sup>, Грамматикова Н.Э.<sup>1</sup>, Деженкова Л.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

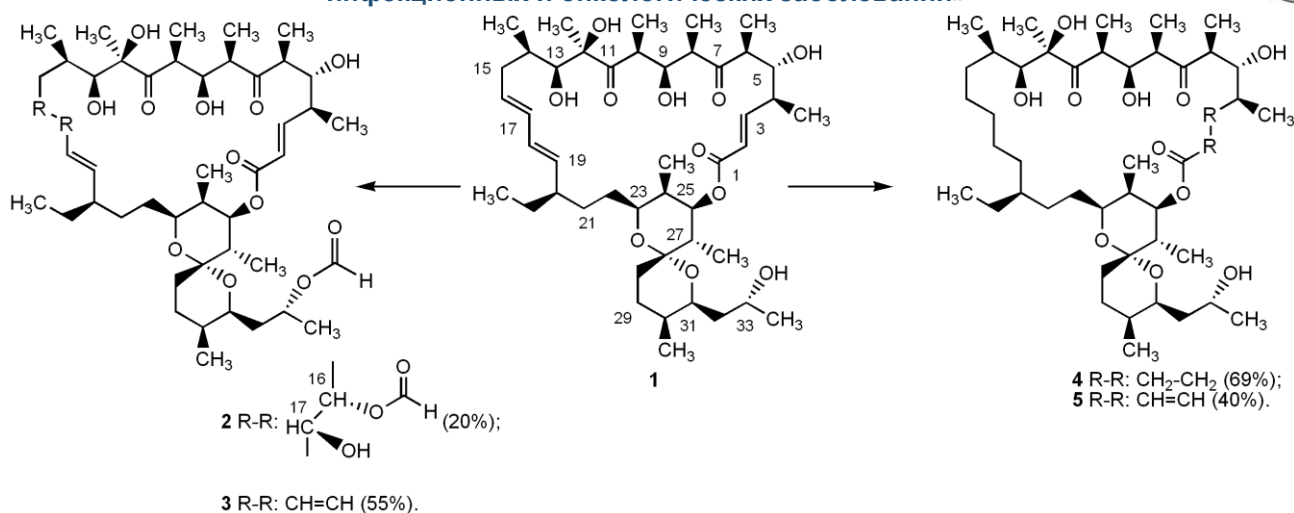
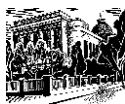
<sup>2</sup>Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева

*omelchuk.93@mail.ru*

Макролидный антибиотик олигомицин А (**1**) проявляет высокую противогрибковую, антиактиномикозную и цитотоксическую активность. Являясь ингибитором F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-АТФ-синтазы, олигомицин А связывается с F<sub>0</sub> субъединицей и блокирует транспорт протонов, нарушая энергетический обмен в клетках про- и эукариот. С целью изучения связи структура-активность была проведен синтез новых производных олигомицина А и скрининг их биологических свойств.

Продолжая работы<sup>1</sup> по поиску методов модификации макроцикла, мы исследовали возможности окисления олигомицина А. Обработка исходного антибиотика м-хлорпероксибензойной кислотой приводит преимущественно к нестабильному 16,17-эпоксиолигомицину, дальнейшее взаимодействие которого с муравьиной кислотой приводит к 16,17-дигидро-16,17-дигидроксиолигомицин-16,33-диформиату (**2**). Вследствие того, что раскрытие эпоксидного цикла в муравьиной кислоте сопровождается формилированием гидроксигруппы в 33 положении, было исследовано взаимодействие антибиотика **1** с НСООН. В исходном олигомицине ОН-группа в 33 положении легко этерифицируется муравьиной кислотой, и основным продуктом является олигомицин-33-формиат.

Недавно опубликованные данные о перспективности 2,3-дигидроолигомицина А<sup>2</sup>, полученного микробиологическим путем, стимулировали исследования возможностей химического восстановления олигомицина А. Исчерпывающим гидрированием исходного антибиотика на Pd/C в метаноле синтезирован 2,3,16,17,18,19-гексагидроолигомицин А **3**. При замене палладиевого катализатора на платиновый гидрирование олигомицина А в метаноле протекает преимущественно по диеновым связям, приводя к 16,17,18,19-тетрагидроолигомицину А **4**.



Исследование биологических свойств олигомицина А (**1**) и его производных **2**, **4** и **5** показало, что диеновая система в 16-19 положениях играет важную роль в биологической активности олигомицина А, обеспечивая конформационную жесткость молекулы. Формилирование 33 положения повышает селективное действие олигомицина А в отношении опухолевых клеток.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (№ 15-15-00141).*

### Литература

1. Lysenkova L.N. et al. *J.Antibiot.*, **2012**, *65*, 223-225.
2. Park J.W. et al. *J.Antibiot.*, **2011**, *64*, 155-157.





Конференция молодых ученых и специалистов  
«Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики  
инфекционных и онкологических заболеваний»



**Разработка водосовместимых форм антибиотиков рифамицинового ряда**

**Островский К.П.**

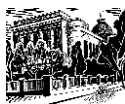
ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

*ostrovkp@mail.ru*

Рифапентин – антибиотик рифамицинового ряда, способный заменить рифампицин в стандартной противотуберкулёзной терапии. Однако его существенным недостатком является низкая растворимость в воде, поэтому в настоящее время существуют лишь его пероральные формы.

Работы посвящена созданию технологии получения формы этого антибиотика, пригодной для внутривенного введения. Это достигалось, благодаря его солюбилизации белками, в результате чего существенно возрастала его водная растворимость (практически в 100 раз, по сравнению с чистой субстанцией). Из возможных вспомогательных веществ были взяты белки человеческого сывороточный альбумин, сукцинированный желатин и казеинат натрия. Используемыми технологическими подходами был метод наноосаждения и различные методы гомогенизации. Полученный препарат представлял собой наноразмерную суспензию, содержащую комплекс белка с антибиотиком и частицы его субстанции, стабилизированные белком. Впоследствии было установлено, что наибольшей концентрации антибиотика в препарате удаётся достичь, используя альбумин и казеин в качестве вспомогательных веществ и метод ультразвуковой гомогенизации в качестве технологии. При этом концентрация антибиотика в воде составляла вплоть до 10 мг/мл, в то время растворимость субстанции не превышает 0,1-0,2 мг/мл. Важно, что размеры частиц в суспензиях имели субмикронный порядок (не более 500-700 нм), что делает возможным их внутривенное введение, не допуская эмболии. Кроме того, с разбавлением размеры уменьшаются, приближаясь к размерам молекулы белка в водном растворе (10-20 нм). Для наилучшего состава (на основе альбумина) была испытана его специфическая активность, на мышах Balb/C, с использованием штамма *M. tuberculosis* H37Rv (модель острого туберкулёза). Лечебные дозы составляли 5, 10 и 20 мг/кг. Было установлено, что новая форма, по крайней мере, не уступала по эффективности пероральной субстанции, а в наиболее высокой дозе статистически значимо превосходила её.

Также были проведены токсикологические испытания. Значение LD<sub>50</sub> составило 340 мг/кг для внутривенной формы, что позволяет её отнести к классу малотоксичных. В эксперименте по субхронической токсичности было установлено, что внутривенная форма в целом совпадает по токсическому действию с пероральной субстанцией, при этом обладает меньшей гастроинтестинальной и кардиотоксичностью.



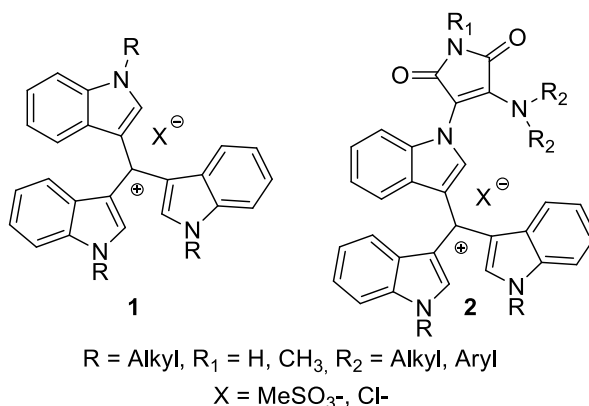
**Антибактериальные и противогрибковые свойства новых производных  
трииндолилметана**

**Панов А.А., Симонов А.Ю., Лавренов С.Н., Тренин А.С., Лакатош С.А.**

ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

7745243@mail.ru

Производные трииндолилметана известны своей антибактериальной, противогрибковой и противоопухолевой активностью [1]. С целью изучения связи структура-активность нами были синтезированы и протестированы на биологическую активность более 35 новых производных вида **1** и **2**, а также родственных им соединений.



В отношении тест-культур *Aspergillus niger* ATCC 16404 и дрожжевой культуры *Candida albicans* ATCC 14053 минимальная подавляющая концентрация (МПК) некоторых из протестированных веществ оказалась в диапазоне 4-8мкг/мл. Некоторые из новых производных оказались активны в отношении также и культур, резистентных к применяемым в настоящее время антибиотикам. В отношении грамотрицательных бактерий (штамм *Escherichia coli* 25922 ATCC) полученные соединения, однако, оказались малоактивны.

**Литература:**

1. Lavrenov S. N., Luzikov Y. N., Bykov E. E., et al. Synthesis and cytotoxic potency of novel tris(1-alkylindol-3-yl)methyl cation salts: Role of N-alkyl substituents, // Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2010, V. 18, P. 6905–6913.



**Молекулярно-генетическая характеристика вирусов – этиологических агентов острых респираторных и кишечных вирусных инфекций, и их сочетанных форм**

***Петруша О.А., Ергучева Е.Д., Никонова А.А.***

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»*

*Petrusha.olga@gmail.com*

Целью работы является проведение молекулярно-генетической характеристики вирусов, вызывающих сочетанные (с одновременным поражением как респираторного (РТ), так и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) одним или разными патогенами) и смешанные (заболевания ЖКТ или РТ, вызываемые не одним, а несколькими патогенами) респираторные и кишечные вирусные инфекции у детей, госпитализированных в стационар с симптомами ОКИ и/или ОРВИ.

Материалом для исследования служили назальные мазки, сыворотки крови и образцы стула от детей (N=81, 2 месяца -17 лет), госпитализированных с симптомами ОРВИ (N=30), ОКИ (N=28) и сочетанием симптомов ОКИ/ОРВИ (N=23) в период с сентября 2015 по сентябрь 2016 года. Образцы были проанализированы методом мультиплексной ПЦР-РВ. Назальные мазки - на наличие нуклеиновых кислот (НК) вирусов гриппа А и В (ВГА и ВГВ), вирусов парагриппа 1-4 типов (ВПГ1-4), аденовирусов (АДВ), респираторно-синцитиального вируса (РСВ), риновирусов (РВ), энтеровирусов (ЭВ), коронавирусов (КВ) и бокавирусов (БВ); фекальные образцы анализировались на наличие НК АДВ, ЭВ, ротавирусов А (РВА), норовирусов (НВ) и астровирусов (АВ).

НК различных вирусов были выявлены в образцах у 65% пациентов. В группе ОРВИ положительными оказались 53% назальных мазков и 17% фекальных образцов. В мазках были выявлены: РВ - 17%, БВ - 13%, ВПГ1, АДВ и КВ - по 10%, ВГА - 7%, ВПГ3 - 3%, микст-инфекции - 17%. В фекалиях обнаружены: АВ - 7%, РВА, ЭВ и АДВ - 3%. Также встречались случаи сочетанных инфекций. В группе ОКИ положительными оказались 71% фекальных образцов и 11% назальных мазков. В фекальных образцах выявлены: НВ (36%), РВА (29%), АДВ (7%), ЭВ (4%), микст-инфекции - 7%. В назальных мазках выявлены АДВ (7%) и ВПГ3 (4%). Выявлены случаи сочетанной инфекции. В группе ОКИ/ОРВИ (N=23) 52% фекальных образцов и 22% назальных мазков оказались положительными. В фекалиях обнаружены: РВА (26%), НВ - 17%, АДВ - 9%. В мазках: РВ (9%), КВ, АДВ и ВПГ3 - 4%. Один случай сочетанной инфекции. Кроме того, положительными оказались 4 образца сыворотки: 2 РВА, 1 НВ (диагноз ОКИ) и 1 БВ (диагноз ОРВИ).

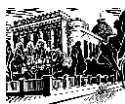
В ходе проведенных исследований было установлено, что самыми распространенными патогенами в группе ОРВИ являются БВ и РВ в назальных мазках, в



Конференция молодых ученых и специалистов  
**«Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики  
инфекционных и онкологических заболеваний»**



фекалиях - АВ; в группе ОКИ – НВ и РВА в фекалиях и АДВ в мазках; в группе с симптомами ОКИ/ОРВИ – НВ и РВА в фекалиях и РВ в назальных мазках. Микст-инфекции одного локуса регистрировались в группе ОРВИ у 17% пациентов, в группе ОКИ – у 4% и не встречались в группе ОКИ/ОРВИ ( $p>0.05$ ). Оказалось, что у детей с клиническими симптомами сочетанного поражения респираторного и кишечного трактов возбудители вирусных инфекций в назальных мазках и фекалиях одновременно обнаруживались не чаще (4%), чем у детей только с ОРВИ (10%) или ОКИ (4%). Лишь у одного пациента (из группы ОКИ) в фекалиях и мазке из носа был выявлен АДВ. В назальных мазках ни у одного пациента из общего числа обследованных не был обнаружен РВА.



**Выделение рекомбинантного Core белка вируса гепатита С,  
экспрессированного в *Pichia pastoris***

**Печелюлько А.А., Тараканова Ю.Н.**

ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

yaguar2224@mail.ru

**Введение.** Вирус гепатита С (ВГС) является РНК-содержащим вирусом. Нуклеокапсид ВГС окружен липопротеиновой оболочкой, в состав которой входят гликопротеины Е1 и Е2. Капсид вируса содержит структурный белок сердцевин (Core), а также неструктурные белки NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS4A и NS5B.

Цель настоящей работы заключалась в получении агрегатов рекомбинантного Core белка ВГС (НСсAg) (с чистотой  $\geq 90\%$ ), необходимого для получения гибридом-продуцентов специфических моноклональных антител (МКА), предназначенных для создания диагностической ИФТС. Задачи исследования: 1) разработка методики выделения НСсAg, экспрессированного в *Pichia pastoris*; 2) получение белка с чистотой  $\geq 90\%$ ; 3) ренатурация белка с последующим агрегированием; 4) определение в образце доли агрегированного белка; 5) иммунизация мышей Balb/C полученным продуктом.

**Материалы и методы.** Были исследованы 24 клона *Pichia pastoris*, с различным уровнем экспрессии НСсAg, предоставленные ИБФН им. Г. К. Скрыбина РАН. Клетки дрожжей разрушали с помощью двукратного пропускания через Френч-пресс с последующей обработкой 2М и 8М мочевиной в TEN-буфере. Клоны с наиболее высоким уровнем экспрессии белка отбирали с помощью SDS-электрофореза в ПААГ. Далее искомым белок высаливали путем добавления в супернатант сульфата аммония до насыщения 0,1. Смесь центрифугировали, осадок растворяли в 6М мочевины в TEN-буфере. Ренатурацию проводили путём гель-фильтрации против PBS. Степень чистоты НСсAg оценивали с помощью SDS-электрофореза в ПААГ, а долю агрегатов – ВЭЖХ.

В результате был получен ренатурированный НСсAg с чистотой  $\geq 90\%$ , который собирался в агрегаты с м. м. более  $1 \times 10^6$  Да. Массовая доля агрегатов в растворе составляла около 70%.

**Выводы.** Таким образом, был успешно выделен и очищен рекомбинантный НСсAg, который будет использован в дальнейшем для получения гибридом-продуцентов МКА, необходимых для конструирования ИФТС, предназначенной для лабораторной диагностики ВГС-инфекции.



**Выделение комплекса антибиотиков группы амикумацинов**

***Рогожин Е.А.<sup>1,2</sup>, Ефременкова О.В.<sup>2</sup>, Коршун В.А.<sup>1,2</sup>***

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

*rea21@list.ru*

В последние годы на фоне распространения и увеличения уровня резистентности болезнетворных бактерий к применяемым лекарственным препаратам все актуальнее становится изыскание и введение в клиническую медицинскую практику антибиотиков, эффективных в отношении таких организмов. В ходе поиска новых перспективных соединений сотрудниками НИИНА им. Г.Ф. Гаузе был выделен почвенный штамм *Bacillus pumilus* ИНА 01110 - продуцент антибиотика, эффективного в отношении тестовой культуры *Staphylococcus aureus* MRSA. Показано, что данный антибиотик является амикумацином А, относящимся к классу дигидроизокумаринов. В ряде исследований было установлено, что данное соединение обладает активностью в отношении возбудителя язвы желудка *Helicobacter pilory*, а также ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий, патогенных и фитопатогенных грибов. Механизм его действия на молекулярном уровне заключается в инактивации функционирования бактериальных рибосом, что приводит к остановке биосинтеза белка в патогенной клетке; интересно, что данный способ действия принципиально отличен от других используемых в медицине антибиотиков. В рамках оптимизации условий фракционирования и выделения целевого антибиотика, из концентрата, полученного обогащением на смоле Amberlyte XAD-2 с последующим элюированием смесью «n-бутанол/ацетон/вода» (1:1:1) (рН 7.0) и разделением упаренного и перерастворенного осадка прямофазной колоночной хроматографией в системе «этилацетат/этанол» (4:1) и «хлороформ/метанол» (7:3), посредством твердофазной экстракции (ТФЭ) на гидрофобном сорбенте и финальной дочистки методом полупрепаративной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ), помимо амикумацина А, были идентифицированы еще два компонента с близкими временами удерживания. Масс-спектрометрический анализ методом ESI MS высокого разрешения позволил установить структурную принадлежность обоих компонентов, которые являются амикумацинами В и С, соответственно.



**Сравнительное изучение иммуногенности и защитной эффективности**

**двух типов живых гриппозных вакцин при гомологичном и**

**гетерологичном контрольном заражении**

*Ртищев А.А.*

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова»*

*rtishchevartyom@gmail.com*

Практика получения производственных реассортантов для живой гриппозной вакцины в нашей стране ограничивается традиционной методикой реассортации родительских вариантов в куриных эмбрионах с последующей селекцией полученных вариантов и их отбором. Введение в практику получения гриппозных живых вакцин генно-инженерных подходов позволяет оптимизировать отдельные этапы этого процесса. В последние годы большой интерес среди исследователей вызывает метод, предполагающий прямое включение заранее известных и хорошо охарактеризованных мутаций в геном эпидемических штаммов вируса гриппа, который таким образом приобретает ts- и att- фенотип и может быть использован в качестве кандидата в живые гриппозные вакцины. В лаборатории генетики РНК-содержащих вирусов была получена панель сайт-специфических мутантов штамма A/WSN/33 путём включения ts- мутаций из генома ХА штаммов-доноров аттенуации в геном вирулентного штамма A/WSN/33, кодирующие белки полимеразного комплекса PB1 и PB2. В концевую консервативную часть COOH-домена белка PA всех полученных сайт-специфических мутантов была включена обнаруженная в результате наших исследований мутация F658A, которая способствовала их дополнительной аттенуации.

Представляло большой интерес сравнить иммуногенный и защитный потенциал двух типов живых гриппозных вакцин, имеющих одинаковые поверхностные антигены. В настоящей работе представлены результаты сравнительного изучения фенотипических характеристик, а также иммуногенности и защитной эффективности ряда полученных сайт-специфических мутантов штамма A/WSN/33, имеющих ts-мутации в различных генах, кодирующих белки полимеразного комплекса и традиционного вакцинного ХА-реассортанта, имеющего 6 внутренних генов от ХА штамма A/Краснодар/101/35/59 (H2N2) и поверхностные белки HA и NA от штамма A/WSN/33, при гомологичном и гетерологичном контрольном заражении.





**Клинический эффект назначения поликомпонентной антибактериальной вакцины в комплексном лечении нетяжёлой внебольничной пневмонией у лиц молодого возраста в организованных коллективах**

**Tatevosov V.P., Kostinov M.P., Шубин И.В.**

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»*

*ФГБНУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России*

*vitalic-tatevosov@mail.ru*

**Актуальность работы:** Внебольничная пневмония (ВП) относится к числу наиболее распространённых острых инфекционных заболеваний у человека и является одной из ведущих причин смерти от инфекционных болезней.

**Цель:** Оценка клинического эффекта назначения поликомпонентной антибактериальной вакцины в комплексном лечении лёгкой и среднетяжёлой внебольничной пневмонией у военнослужащих по призыву нового пополнения.

**Материалы и методы:** 1 этап: физикальное обследование, антропометрические показатели, общий анализ крови, общий анализ мочи, рентгенография ОГК; 2 этап: оценка эффективности проведённого лечения на 16 сутки; 3 этап: контрольное обследование через 6 месяцев.

В исследование включены 88 военнослужащих по призыву из числа нового пополнения, поступивших на стационарное лечение по поводу ВП лёгкого и среднетяжёлого течения. В основную группу включены 35 пациентов, которым помимо базисной антибактериальной терапии, вводилась поликомпонентная антибактериальная вакцина. Контрольную группу составили 53 пациента, получавших базисную антибактериальную терапию.

**Результаты:** Лихорадочный период у пациентов основной группы составил в среднем 1,8 суток, у пациентов контрольной группы - 2,9 суток; на 16 сутки после начала лечения у пациентов основной группы количество эозинофилов было выше на 65%, чем у пациентов контрольной группы ( $p \leq 0,005$ ); через 6 месяцев у пациентов основной группы количество эозинофилов было больше на 29%, чем у пациентов контрольной группы ( $p \leq 0,01$ ). В течение периода наблюдения (6 месяцев) после стационарного лечения: пневмонию перенесли 9% пациентов основной группы и 30% контрольной; ОРВИ – 18% основной и 24% контрольной групп, бронхит – 9% основной и 18% контрольной групп, синусит - 18% пациентов контрольной группы. ( $p \leq 0,05$ ).

**Заключение:** Применение поликомпонентной вакцины в комплексном лечении внебольничной пневмонии лёгкого и среднетяжёлого течения у лиц молодого возраста в организованных коллективах военнослужащих достоверно снижает респираторную заболеваемость и тяжесть её течения, снижает риск развития повторной ВП ( $p \leq 0,05$ ).



Амиды антрафуран-2 и 3-карбоновых кислот – перспективный класс для поиска  
новых противоопухолевых веществ

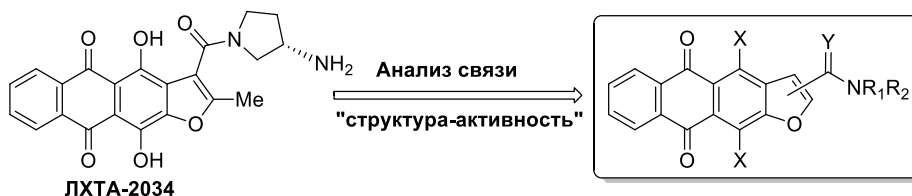
А.С. Тихомиров

ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

tikhomirov.chem@gmail.com

Гетарен-конденсированные 9,10-антрацендионы (гетаренантрахиноны) продемонстрировали значительные перспективы для разработки новых противоопухолевых средств. В ряду линейных гетаренантрахинонов с одним гетероатомом производные антрафурандиона оказались наиболее активным хемотипом. На основе 4,11-дигидрокси-5,10-диоксоантра[2,3-*b*]фуран-3-карбоксамиды были получены производные (например, ЛХТА-2034, Схема) с высокой антипролиферативной активностью. Более того, соединение ЛХТА-2034 способно преодолевать множественную лекарственную устойчивость опухолевых клеток и воздействует на ряд внутриклеточных мишеней (топоизомераза 1, протеинкиназы, и др.) [1].

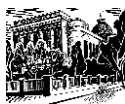
Для проведения сфокусированного анализа закономерностей между структурой антра[2,3-*b*]фуран-3-карбоксамидов и их биологической активностью разработан ряд методов аннелирования фуранового ядра к фрагменту антрахинона, а также получена библиотека соединений для скрининга антипролиферативной активности.



Тестирование показало, что большинство производных обладают цитотоксической активностью в интервале от низких микромолярных до субмикромолярных концентраций. Важным открытием стало то, что практически все производные этого хемотипа преодолевают резистентность опухолевых клеток, обусловленную как повышенной экспрессией Р-гликопротеина, так и делецией гена p53. Установлено, что соединения-лидеры серии блокируют работу топоизомеразы 1 и индуцируют ROS, приводя к апоптозу опухолевых клеток.

### Литература

[1] Shchekotikhin A.E., Dezhenkova L.G., et al. *Eur. J. Med. Chem.*, **2016**, 112. P. 129.



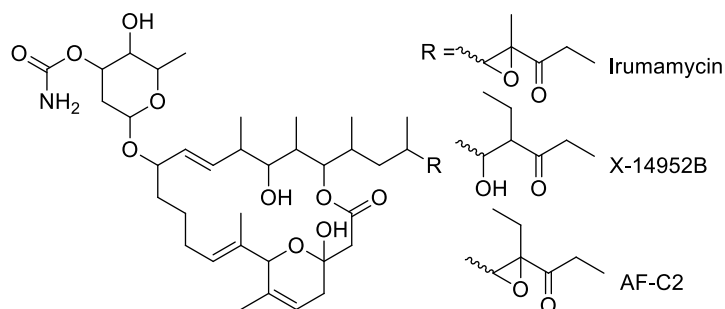
**Макроциклические поликетиды с антифунгальной активностью,  
продуцируемые стрептомицетами**

*Тюрин А.П.*

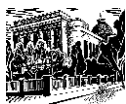
ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»

*ap2rin@gmail.com*

В результате фенотипического скрининга продуцентов из коллекции Института по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе были обнаружены два продуцента со значительной антифунгальной активностью. Из культуральной жидкости и мицелия *Streptomyces hygroscopicus* ИНА-18/11 были выделены два близких по строению вещества, астолиды А и В. Новые антибиотики представляют собой 36-звенные полиолиновые макролиды, конъюгированные с дезокси-сахарами и хромофором на основе 2-метил-6-замещенного нафтохина.



Из мицелия штамма *S. roseoflavus* ИНА-5812 выделено три структурно близких антибиотика: ирумацин, X-14952В и ранее не описанный AF-C2. Строение веществ установлено на основании масс-спектров высокого разрешения, ИК и УФ-спектров, а также корреляционных спектров ЯМР.



**Влияние современных вакцин против гриппа на иммунофенотип лимфоцитов и Толл-подобные рецепторы**

**Хромова Е.А., Сходова С.А., Столпникова В.Н., Кукина О.М., Ахматова Н.К.,  
Костинов М.П.**

*ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова*

*kate.khromova@mail.ru*

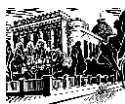
Актуальность работы: В механизме формирования поствакцинального иммунитета в настоящее время отсутствует информация о сравнительной активности адьювантных и безадьювантных вакцин и их влиянии на врожденные и приобретенные эффекторы иммунной системы на молекулярно-клеточном уровне.

Цель: Изучение влияния вакцин против гриппа (иммуноадьювантных и безадьювантных) на иммунофенотип лимфоцитов у женщин детородного возраста и содержание клеток с экспрессией Толл-подобных рецепторов (TLRs) (in vitro).

Материалы и методы: Оценивали субпопуляционную структуру лимфоцитов и экспрессию TLRs лейкоцитов периферической крови у 16 здоровых женщин детородного возраста под воздействием вакцин против гриппа (Инфлювак - субъединичная вакцина, Ваксигрип - сплит-вакцина, Гриппол плюс - полимер-субъединичная иммуноадьювантная вакцина) методом проточной цитометрии на приборе FC-500 (Beckman Coulter, США).

Результаты исследования: Наиболее выраженным активационным потенциалом в отношении активации различных типов иммунокомпетентных клеток обладала иммуноадьювантная вакцина. Увеличение численности гранулоцитов с экспрессией эндосомальных TLRs отмечалось под действием все исследуемых вакцин, но иммуноадьювантная вакцина индуцировала экспрессию данных рецепторов в большей степени. При этом сплит-вакцина обладала наиболее мощным стимулирующим действием в отношении лимфоцитов, экспонирующих эндосомальные рецепторы. Все исследуемые вакцины индуцировали численность TLR-9-экспрессирующих моноцитов, а иммуноадьювантная вакцина стимулировала клетки с TLR-3.

Выводы: Результаты исследования позволяют раскрыть новые механизмы влияния вакцин против гриппа на параметры иммунной системы - активацию клеток-эффекторов врожденного и адаптивного иммунитета, распознающих патоген-ассоциированные молекулярные структуры, и, инициирующие трансдукцию каскада сигналов, для формирования полноценного иммунного ответа.



## Получение и биологическая активность полисахаридов грибов рода *Ganoderma*

**Ярина М.С.<sup>1</sup>, Краснопольская Л.М.<sup>1</sup>, Усов А.И.<sup>2</sup>, Марахонов А.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»,

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН»

<sup>3</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»

*maria.s.yarina@gmail.com*

Грибы рода *Ganoderma* широко известны в научной и популярной литературе благодаря своим биологически активным веществам, химическая природа которых весьма разнообразна. Большое количество работ посвящено полисахаридам и полисахаридным комплексам. Целью нашей работы было биохимическое, биотехнологическое и медико-биологическое изучение полисахаридных фракций (ПСХФ) грибов рода *Ganoderma*.

В работе по изучению ПСХФ использовали погружённый мицелий двух штаммов рода *Ganoderma*. Медико-биологическое исследование включало в себя комплексное изучение биологической активности ПСХФ: определение цитотоксической, антиоксидантной, антигерпетической, антибактериальной, противоопухолевой активности и потенцирование действия цитостатиков.

Штаммы *G. lucidum* и *G. resinaceum* культивировали на оптимизированной среде. Нами был разработан метод выделения полисахаридов из погружённого мицелия. Был получен и исследован ряд фракций водо- и щелочерастворимых полисахаридов из мицелия. У исследованных фракций были обнаружены противоопухолевая активность, потенцирование действия цитостатиков и антиоксидантная активность и отсутствовала цитотоксическая активность. Приведённые результаты свидетельствуют о перспективности комплексных работ со щелочерастворимыми полисахаридами грибов рода *Ganoderma*, а возможно и других видов лекарственных грибов.

Совместно с ООО «Алфарм» получены результаты доклинических испытаний препарата из щелочерастворимой фракции полисахаридов.