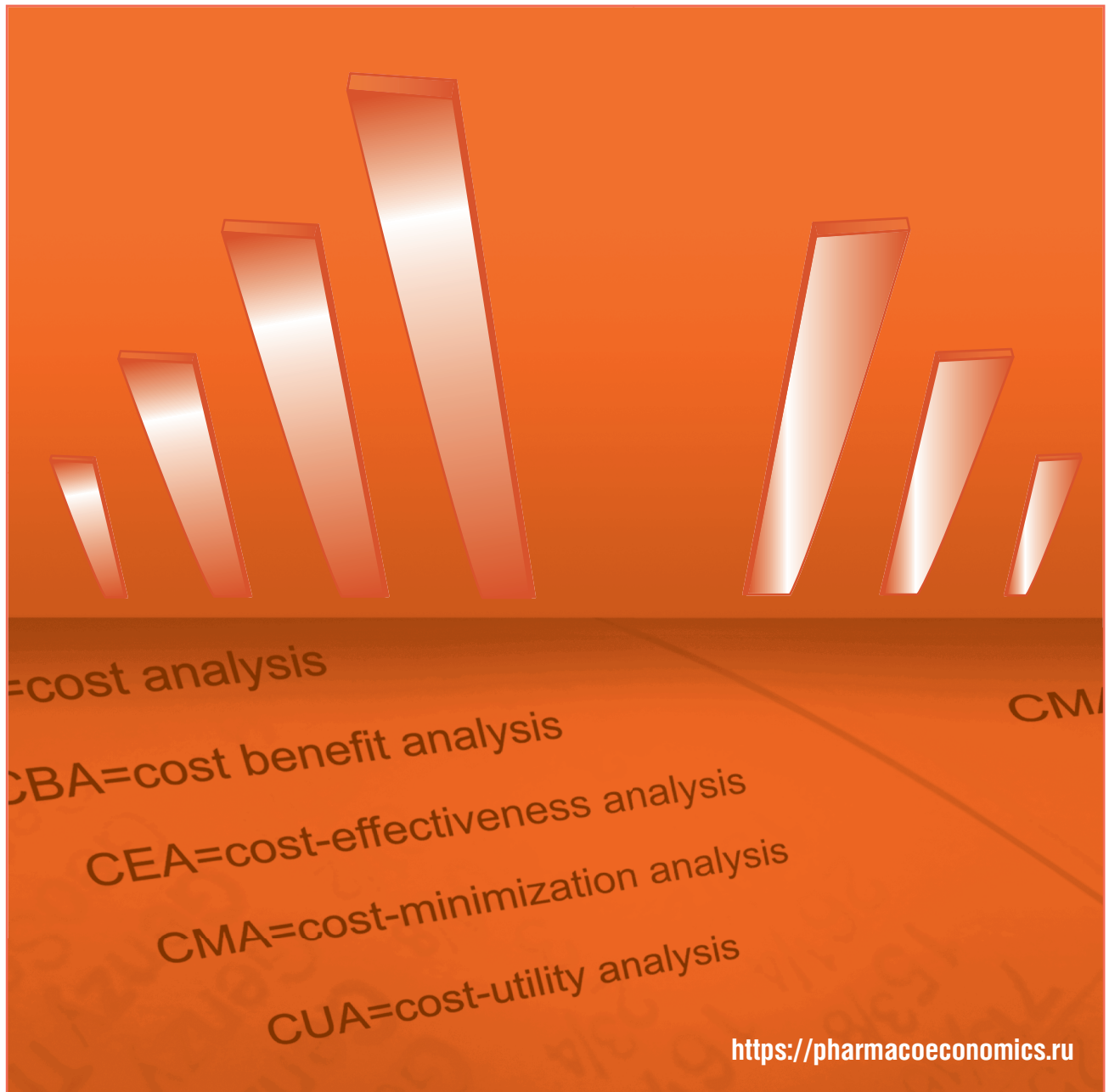


# Фармакоэкономика

Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология



**FARMAKOEkONOMIKA**  
Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology

2023 Vol. 16 No. 4

**№4** **Том 16**  
2023



<https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2023.192>

ISSN 2070-4909 (print)

ISSN 2070-4933 (online)

# Сравнительный хеомикробиомный анализ бактерицинов

И.Ю. Торшин, О.А. Громова

Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук (ул. Вавилова, д. 44, корп. 2, Москва 119333, Россия)

Для контактов: Ольга Алексеевна Громова, e-mail: [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com)

## РЕЗЮМЕ

**Цель:** комплексный анализ спектра антибактериального действия бактерицинов.

**Материал и методы.** Проведен хеомикробиомный анализ бактерицинов A/B, C, S, 28b, RS-2020 для оценки значений минимальных ингибирующих концентраций (англ. minimum inhibitory concentration, MIC) для 152 штаммов болезнетворных бактерий и значений площади под кривой роста (англ. area under curve, AUC) для репрезентативной выборки нормобиоты (38 бактерий – комменсалов человека).

**Результаты.** По сравнению с другими молекулами бактериоцинов C характеризовался меньшими значениями констант MIC для широкого круга штаммов патогенных бактерий. Так, он более эффективно ингибировал штаммы возбудителей бактериальной пневмонии (*H. influenzae*, *S. mutans*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*), внутрибольничных инфекций (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*), заболеваний кожи (*M. audouinii*, *T. mentagrophytes* и др.), инфекций мочевыводящих путей (*E. cloacae*, протеи *P. mirabilis* и *P. vulgaris*), *Fusobacterium necrophorum* и грибов *Candida*. В то же время бактериоцин C в меньшей степени, чем молекулы сравнения, тормозил рост нормофизиологической микробиоты родов *Bacteroides*, *Enterococcus*, непатогенных *Escherichia*, дрожжей *S. cerevisiae* и др. Стимулирует микроорганизмы – продуценты бутирата (анион масляной кислоты), бактериоцин C может проявлять пребиотические свойства.

**Заключение.** Выявлены и описаны основные структурные признаки молекулы бактериоцина C, связанные с антибактериальным воздействием на патогенную микробиоту.

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Бактериальные патогены, микробиом человека, площадь под кривой роста, фармакоинформационные технологии, хеоминформатика, анализ хемографов.

## ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ

Поступила: 04.04.2023. В доработанном виде: 05.06.2023. Принята к печати: 23.08.2023. Опубликована онлайн: 25.09.2023.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии необходимости раскрытия конфликта интересов в отношении данной публикации.

## Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-21-00154 «Разработка методов прогноза свойств фармакологических препаратов по их молекулярной структуре с помощью теории топологического анализа хемографов»).

## Вклад авторов

Авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

## Для цитирования

Торшин И.Ю., Громова О.А. Сравнительный хеомикробиомный анализ бактерицинов. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2023; 16 (4): 643–656. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2023.192>.

## Comparative chemomicrobiomic analysis of bacteriocins

I.Yu. Torshin, O.A. Gromova

Federal Research Center “Computer Science and Control”, Russian Academy of Sciences (44 corp. 2 Vavilov Str., Moscow 119333, Russia)

Corresponding author: Olga A. Gromova, e-mail: [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com)

## SUMMARY

**Objective:** comprehensive analysis of the spectrum of antibacterial action of bacteriocins.

**Material and methods.** Chemomicrobiome analysis of bacteriocins A/B, C, S, 28b, RS-2020 was performed to assess the minimum inhibitory concentration (MIC) values for 152 strains of pathogenic bacteria and the area under the growth curve (AUC) values for a representative sample of normobiota (38 human commensal bacteria).

**Results.** Compared to other molecules, bacteriocin C was characterized by lower MIC constants for a wide range of pathogenic bacterial strains. Thus, it more effectively inhibited strains of pathogens of bacterial pneumonia (*H. influenzae*, *S. mutans*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*), nosocomial infections (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*), skin diseases (*M. audouinii*, *T. mentagrophytes*, etc.), urinary tract infections (*E. cloacae*, *P. mirabilis* and *P. vulgaris*), *Fusobacterium necrophorum* and *Candida* fungi. At the same time, bacteriocin C to a lesser extent than the reference molecules inhibited the growth of the normophysiological microbiota of the *Bacteroides*, *Enterococcus* genera, non-pathogenic *Escherichia*, yeast *S. cerevisiae* and others. By stimulating butyrate (butyric anion) producing microorganisms, bacteriocin C can exhibit prebiotic properties.

**Conclusion.** The main structural features of the bacteriocin C molecule associated with the antibacterial effect on pathogenic microbiota were identified and described.

## KEYWORDS

Bacterial pathogens, human microbiome, area under the growth curve, AUC, pharmacoinformatics, chemoinformatics, chemograph analysis.

## ARTICLE INFORMATION

**Received:** 04.04.2023. **Revision received:** 05.06.2023. **Accepted:** 23.08.2023. **Published online:** 25.09.2023.

## Conflict of interests

The authors declare they have nothing to disclose regarding the conflict of interests with respect to this manuscript.

## Funding

The work was supported by a grant from the Russian Science Foundation (project no. 23-21-00154 "Development of methods for predicting the properties of pharmacological preparations by their molecular structure using the theory of topological analysis of chemographs").

## Authors' contribution

The authors contributed equally to this article.

## For citation

Torshin I.Yu., Gromova O.A. Comparative chemomicrobiomic analysis of bacteriocins. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoconomics and Pharmacoepidemiology*. 2023; 16 (4): 643–656 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2023.192>.

## Основные моменты

## Что уже известно об этой теме?

- ▶ Бактериоцины – антибактериальные пептиды, синтезируемые бактериями
- ▶ Перспективно использование бактериоцинов как антибиотиков и антисептиков
- ▶ Бактериоцины существенно различаются по размеру и спектру антибактериального действия

## Что нового дает статья?

- ▶ Установлены более низкие значения минимальных ингибирующих концентраций для бактериоцина С, чем для возбудителей бактериальной пневмонии (*H. influenzae*, *S. mutans*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*), внутрибольничных инфекций (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*), инфекций мочевыводящих путей (*E. cloacae*, протеи *P. mirabilis* и *P. vulgaris*) и грибов *Candida*
- ▶ Показано, что бактериоцин С слабее тормозит рост нормофизиологической микрофлоры *Bacteroides*, *Enterococcus*, *S. cerevisiae* и др.
- ▶ Выделены структурные признаки молекулы бактериоцина С, связанные с антибактериальным воздействием на патогенную микрофлору

## Как это может повлиять на клиническую практику в обозримом будущем?

- ▶ Лечение острых респираторных заболеваний может включать топическое применение бактериоцинов, которые наименее агрессивны по отношению к микробиому человека и в то же время подавляют рост бактерий-возбудителей
- ▶ Бактериоцин С может проявлять пребиотические свойства, стимулируя бифидобактерии – продуценты масляной кислоты

## Highlights

## What is already known about the subject?

- ▶ Bacteriocins are antibacterial peptides synthesized by bacteria
- ▶ The use of bacteriocins as antibiotics and antiseptics is promising
- ▶ Bacteriocins differ significantly in size and spectrum of antibacterial action

## What are the new findings?

- ▶ Lower minimum inhibitory concentration values were established for bacteriocin C against pathogens of bacterial pneumonia (*H. influenzae*, *S. mutans*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*), nosocomial infections (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*), urinary tract infections (*E. cloacae*, *P. mirabilis* and *P. vulgaris* proteas) and *Candida* fungi
- ▶ It was shown that bacteriocin C inhibited the growth of the normophysiological microbiota of *Bacteroides*, *Enterococcus*, *S. cerevisiae*, etc. to a lesser degree
- ▶ Structural features of the bacteriocin C molecule associated with the antibacterial effect on pathogenic microbiota were identified

## How might it impact the clinical practice in the foreseeable future?

- ▶ Treatment of acute respiratory infections may include topical application of bacteriocins, which are the least aggressive towards the human microbiome and, at the same time, inhibit the growth of pathogen bacteria
- ▶ Bacteriocin C can exhibit prebiotic properties by stimulating butyric acid-producing bifidobacteria

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Бактериоцины представляют собой антибактериальные пептиды, состоящие из 15–20 аминокислот. Они действуют как антибиотики против грамположительных бактерий (например, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) и, в меньшей степени, против грамотрицательных (в частности, *E. coli*). Торможение развития бактериального компонента инфекции является важным шагом в лечении и профилактике тяжелого течения смешанных вирусно-бактериальных инфекций [1]. Например, течение острых респираторных заболеваний (ОРЗ) может существенно усложняться бактериями *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Fusobacterium necrophorum* [2, 3]. Бактериоцины используются в лекарственных средствах для терапии назофарингита, тонзилита, ринита, ангины, ларингита и в препаратах местного действия для лечения инфицированных ран [4, 5].

Аминокислотная последовательность «линейных» бактериоцинов А и В (формил-Х-Gly-Ala-D-Leu-Ala-D-Val-Val-D-Val-Trp-D-Leu-Х-D-Leu-Trp-D-Leu-Trp-этаноламин, Х = триптофан в бактериоцине А, Х = фенилаланин в бактериоцине В) сформированы так, что образуют спиральные фрагменты структуры белка (рис. 1). «Линейные» бактериоцины являются ионофорами: их спиральные димеры образуют поры в клеточных мембранах и в органеллах бактерий, что нарушает натрий-калиевый баланс бактерий и приводит к гибели клеток [6]. Этот механизм действия бактериоцинов обуславливает отсутствие резистентности, характерной для многих других антибиотиков.

Бактериоцин С (известный также как грамицидин) — «циклический» вариант бактериоцина, в котором «линейная» последовательность аминокислот замкнута в цикл. Он характеризуется бактериостатическим и бактерицидным действием в отношении стрептококков и стафилококков, грамположительных анаэробных бактерий и др. В частности, бактериоцин С оказывает бактериостатическое действие на *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus spp.* [7]. Он применяется наружно в терапии гнойных и воспали-

тельных инфекций кожи и мягких тканей, язв, пролежней, при воспалительных заболеваниях уха и горла, стоматите, гингивите, конъюнктивите, кератите, блефарите, фурункулезе.

Заметим, что имеется ряд мiskonцепций, связанных со свойствами бактериоцина С. Пропоненты данных мiskonцепций действуют агрессивно, не располагая никакими научными данными, подтверждающими их заявления. Например, считается, что грамицидин С «полностью инактивируется в кислой среде желудка», поэтому якобы «не воздействует на бактерии кишечника». Подобного рода утверждения противоречат общеизвестному факту: среда в кишечнике нейтральная или слабощелочная (pH>7,0 в тонком кишечнике, pH>8,0 в толстом кишечнике). Имеются также не вполне корректные и бездоказательные утверждения о том, что якобы грамицидин С «аналогичен бактериоцинам комменсалов ротоглотки». Такие заявления полностью игнорируют и существенные различия в размерах белков (на порядок и более), и, конечно же, свойства белков. Также распространяются ничем не обоснованные заблуждения о якобы низкой всасываемости и системной биодоступности данной молекулы и делаются далеко идущие выводы о том, что, мол, распределение и накопление в тканях не имеет принципиального значения. Такого рода мiskonцепции обуславливают необходимость сравнительных исследований различных бактериоцинов (в частности, по отношению к микробиому человека).

Известны также бактериоцины, которые не являются пептидами. Например, бактериоцин S (также известен как «малый бактериоцин») был исходно выделен из культуральной жидкости грамотрицательной бактерии *Rhizobium leguminosarum*, образующей симбиотические азотфиксирующие клубеньки на ряде бобовых растений. Бактериоцин S структурно связан с котранскрипционными факторами, влияющими на рост бактерий *Vibrio fischeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Erwinia carotovora* и др. [8].

Бактериоцин 28b из *Serratia marcescens* проявляет бактерицидную активность против грамотрицательных бактерий (прежде всего, *E. coli*). Анализ мутантных штаммов *E. coli* показал, что воздействие бактериоцина 28b осуществляется при участии основного липополисахарида, белков наружной мембраны OmpA и OmpF, а также бактериальных белков TolQ, TolA и TolB [9]. Синтетический бактериоцин RS-2020 – перспективная молекула для исследования антибактериальных свойств.

В целом сравнительное изучение эффективности и безопасности бактериоцинов представляет существенный научный и практический интерес. Перед проведением масштабных экспериментальных исследований *in vivo* или клинических испытаний целесообразно оценить различия в эффективности бактериоцинов на более фундаментальном уровне. Хемомикробиомные скрининги препаратов, проводимые на основе современных информационных технологий анализа больших данных, позволяют оценивать эффекты веществ на различные типы бактерий-комменсалов в желудочно-кишечном тракте человека и на различные штаммы болезнетворных бактерий [10–12].

В настоящей работе представлены результаты сравнительного хемомикробиомного анализа бактериоцинов С, А и В, S, 28b и RS-2020. Хемомикробиомный анализ основан на хемоинформационном подходе, теории анализа размеченных графов, теории метрического анализа данных [13], комбинаторной теории разрешимости, топологической теории анализа [14] плохо формализованных задач и новейших методов прогнозирования значений числовых переменных [15].

**Цель** – комплексный анализ спектра антибактериального действия бактериоцинов.

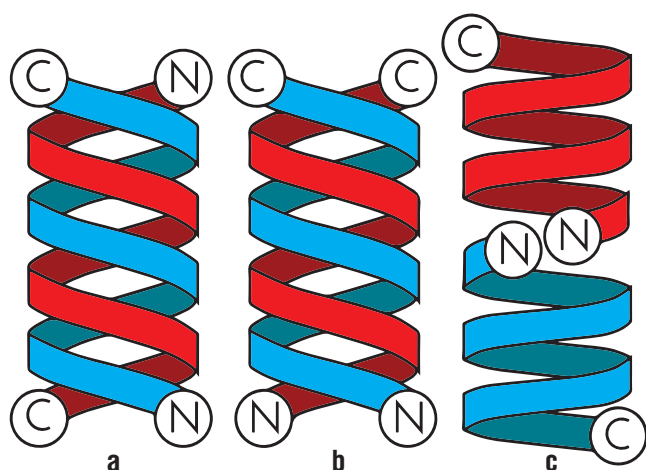


Рисунок 1. Бактериоцины образуют антипараллельные (а) и параллельные (б) двойные спирали, а также димер-спирали (с) в липидных слоях бактериальных мембран.

Figure 1. Bacteriocins form antiparallel (a) and parallel (b) double helices and dimer helices (c) in lipid layers of bacterial membranes.

C – C-peptide residue (i.e. last); N – N-peptide residue (first)



## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIAL AND METHODS

## Хемомикробиомный анализ / Chemomicrobiomic analysis

Проведен хемомикробиомный анализ молекул бактерицинов (рис. 2). Хемореактивный подход к анализу фундаментальной проблемы «структура – свойство» молекул – один из новейших трендов применения систем искусственного интеллекта в постгеномной фармакологии. При этом анализ фармакологического «потенциала» исследуемых молекул выполняли в рамках хемоинформационной парадигмы, т.е. путем сопоставления химической структуры изучаемой молекулы со структурами миллионов других молекул, фармакологические свойства которых были ранее изучены в экспериментальных и клинических исследованиях.

«Обучение» алгоритмов искусственного интеллекта осуществляли на основе больших данных, собранных в таких ресурсах, как PubChem/PHARMGKB, HMDB, STRING [16–18] и др., и реализовали с использованием многоуровневого контроля качества обучения в рамках топологического подхода к распознаванию информативных паттернов в данных [13–15].

Теория топологического распознавания – это развитие алгебраического подхода к проблемам распознавания. Она является полезным инструментом изучения описаний характеристик (признаков) объектов. В случае хемореактивного анализа объектами исследования являются хемографы ( $\chi$ -графы) – особые типы графов, т.е. математических конструкций, каждая из которых состоит

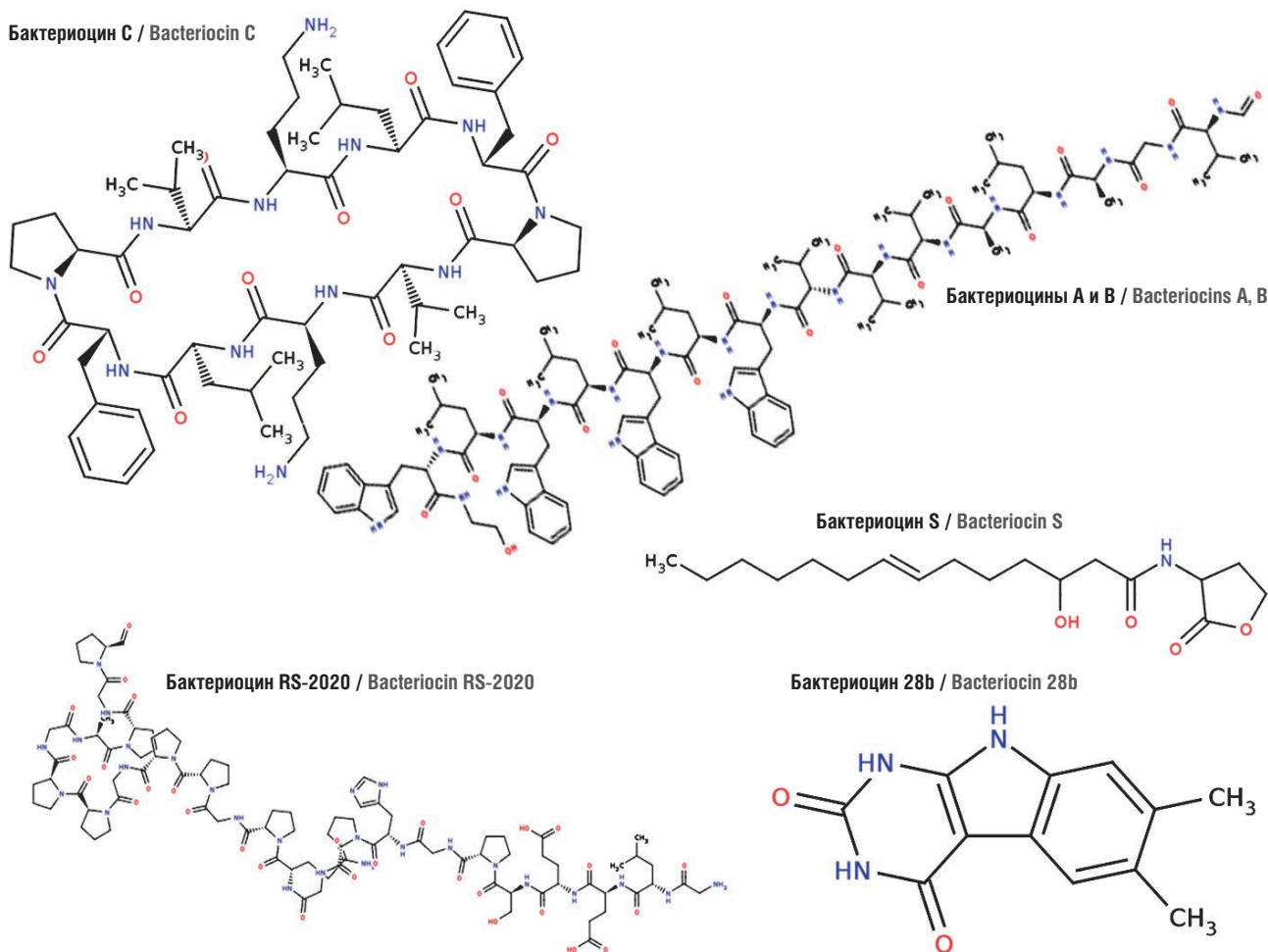
из группы вершин и группы ребер – связей между вершинами. В рамках теории топологического распознавания вводится функция расстояния  $d_{\chi}$ , отражающая химическое расстояние между двумя произвольными молекулами [10–12].

## Этапы обработки данных / Stages of data processing

Для обработки собранных данных применяли новейшие методы топологической теории машинного обучения [15]. На первом этапе, используя способ вычисления химического расстояния  $d_{\chi}$ , устанавливали список молекул, наиболее близких к исследуемому веществу. На втором этапе для каждой молекулы из базы данных извлекали все измеренные фармакологические свойства. Затем для каждого из фармакологических свойств строили эмпирическую функцию распределения (ЭФР) значений этого свойства. Значения различных фармакологических свойств вычисляли как математическое ожидание и дисперсию соответствующих ЭФР [10].

## Репрезентативная выборка нормобиоты человека / Representative sample of human normobiota

Для каждого из изученных веществ были получены значения площади под кривой роста (англ. area under growth curve, AUC) для репрезентативной выборки нормобиоты человека, включившей 38 бактерий-комменсалов (в т.ч. различные виды бифидо- и лактобактерий) и более 152 болезнетворных бактерий, которые более



**Рисунок 2.** Химические формулы молекул, для которых был проведен хемомикробиомный анализ. Сплошные стрелки обозначают связи, направленные из условной плоскости рисунка к читателю, пунктирные – из плоскости рисунка от читателя

**Figure 2.** Chemical formulas of the molecules for which chemomicrobiome analysis was performed. Solid arrows indicate bonds pointing from the notional plane of the figure toward the reader, dashed arrows indicate bonds pointing from the plane of the figure away from the reader

подробно описаны в работах [10, 12, 19]. Данная выборка микробиома включает 21 род бактерий и представляет 78% микробиома желудочно-кишечного тракта.

Большинство исследованных штаммов были комменсалами с относительной численностью 1% или более и распространены не менее 50% у здоровых добровольцев. На этой выборке штаммов микробиома для всех молекул на рисунке 1 были оценены значения AUC, их стандартные отклонения и значения статистической достоверности отличий AUC от контроля (стандартная среда выращивания бактерий).

На основании информации в базах данных Human Microbiome Project [17], iHMP [17] и PubChem [18] были разработаны алгоритмы для оценки значений минимальных ингибирующих концентраций (англ. minimum inhibitory concentration, MIC) для 152 штаммов болезнетворных бактерий.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ / RESULTS AND DISCUSSION

Хемоинформационный анализ позволил оценить воздействие исследованных молекул на протеом (совокупность белков), метаболом (совокупность метаболитов) и микробиом (совокупность микроорганизмов-симбионтов) человека. В частности, в результате проведения анализа были получены:

- оценки накопления исследованных молекул в различных клетках и тканях человека;
- оценки воздействия исследованных молекул на метаболом человека;
- данные по сравнению структур бактериоцинов с молекулами метаболома человека, оценки значений AUC для представителей нормофизиологического микробиома человека;

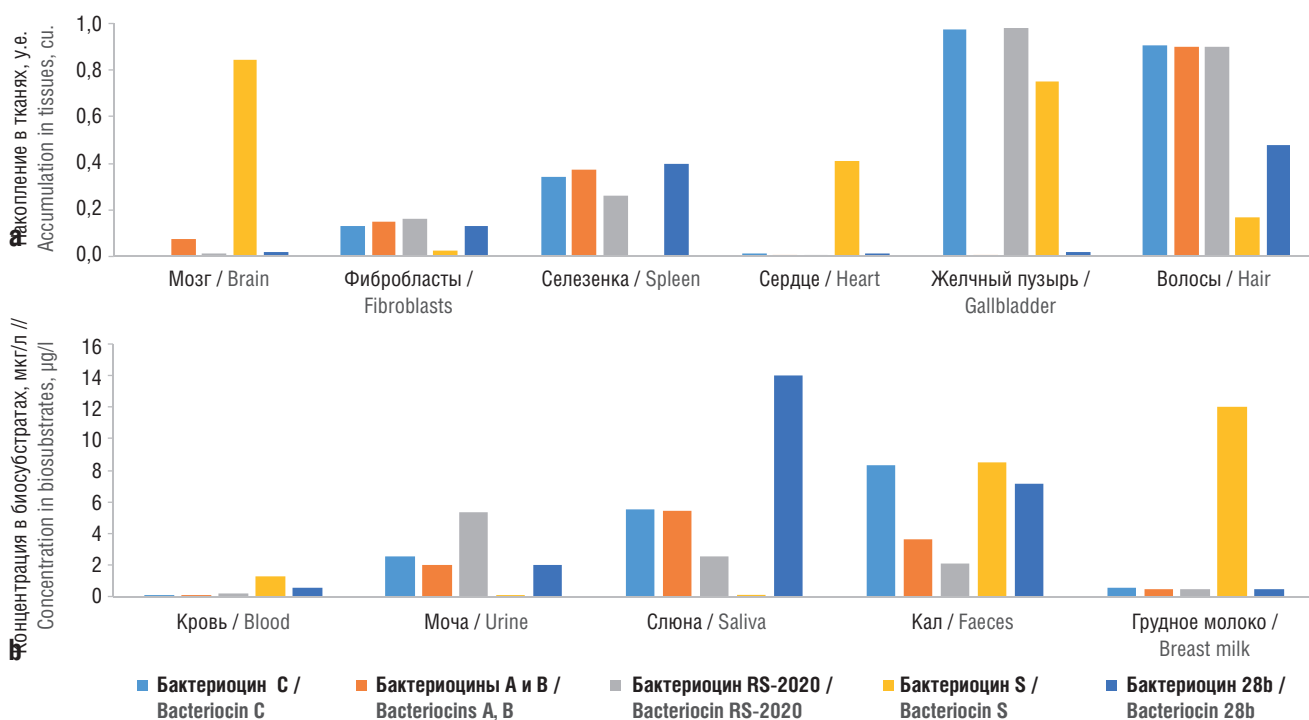
– значения минимальных ингибирующих концентраций MIC для патогенных микроорганизмов.

### Накопление исследованных молекул в различных клетках и тканях человека / Accumulation of the studied molecules in diverse human cells and tissues

Хемоинформационный анализ показал, что исследованные молекулы существенно отличались по накоплению в различных тканях организма человека. В частности, бактериоцин С практически не накапливается в тканях мозга и сердца, а концентрируется в желчи и волосах. В фибробластах и ткани селезенки исследованные бактериоцины (за исключением бактериоцина S) накапливаются в сопоставимых количествах (рис. 3а). Бактериоцин С может накапливаться в слюне, выводится с мочой и калом, практически не накапливаясь в крови и грудном молоке (рис. 3б).

Проведен анализ схожести химической структуры бактериоцина С со структурами всех молекул в базе данных метаболома человека. Различия между каждой парой молекул оценивалось посредством вычисления химического расстояния  $d\chi$  ( $d\chi=0$  – молекулы идентичны,  $d\chi=1$  – молекулы не имеют значимых совпадений структурных фрагментов) [10–12]. Отметим, что степень структурной схожести бактериоцина С и бактериоцинов А/В была невысокой ( $d\chi=0,36$ , что соответствует совпадению не более чем 64% структурных фрагментов в молекулах бактериоцинов А/В и С).

Среди компонентов метаболома человека наиболее близким к бактериоцину С по химической структуре (значения  $d\chi$  в диапазоне 0,03–0,20) был ряд нейропептидов, в т.ч. морфицептин (пептид, выделенный из бета-казеина,  $d\chi=0,03$ ), эндоморфин-2 (агонист мю-опиоидных рецепторов,  $d\chi=0,07$ ), нейромедин N (нейропептид, схожий с нейротензином, который стимулирует



**Рисунок 3.** Оценки вероятностей накопления исследованных молекул в различных клетках, тканях и биосубстратах человека (по результатам хемоинформационного анализа):

**a** – накопление в органах и клетках; **b** – уровни в биосубстратах (норма)

**Figure 3.** Estimates of probabilities of the studied molecules accumulation in different human cells, tissues and biosubstrates (based on the results of chemoinformatic analysis):

**a** – accumulation in organs and cells; **b** – levels in biosubstrates (normal)

вазодилатацию и взаимодействует с дофаминергической системой,  $d\chi=0,19$ ). Однако, учитывая крайне низкое накопление бактериоцина С в головном мозге (см. рис. 3а), бактериоцин С вряд ли будет проявлять существенные нейромодулирующие эффекты.

Интересно отметить схожесть структуры бактериоцина С с вазоконстрикторными пептидами вещество Р ( $d\chi=0,38$ ), ангиотензин IV ( $d\chi=0,38$ ), ангиотензин II ( $d\chi=0,43$ ), а также с антигипертензивным препаратом эналаприл ( $d\chi=0,39$ ), принадлежащим к классу ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ). Ингибируя АПФ, эналаприл тормозит биотрансформацию ангиотензина I в ангиотензин II, который регулирует артериальное давление и является ключевым компонентом ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [20]. Схожесть с эналаприлом позволяет предположить слабый антигипертензивный эффект бактериоцина С при поступлении в системный кровоток.

### Воздействие исследованных молекул на метаболом человека / The effect of the studied molecules on human metabolome

Выполнено сравнение оценок влияния исследуемых бактериоцинов на 1322 фермента, которые участвуют в формировании метаболома человека, и найдены достоверные отличия для 682 из 1322 метаболических ферментов. В результате сравнений профилей, включающих 682 метаболических фермента, стало возможным построение диаграммы, наглядно характеризующей степень метаболических различий между исследованными молекулами (рис. 4). Анализ суммированных данных позволяет сделать несколько выводов.

Во-первых, метаболомные эффекты бактериоцина С наиболее близки к метаболомным эффектам бактериоцинов А и В. Все остальные бактериоцины проявляют существенно отличающиеся метаболомные эффекты.

Во-вторых, бактериоцины А/В/С расположены ближе к вертикальной оси, которая отражает степень взаимодействия исследованных бактериоцинов с ферментами биосинтеза АТФ. Эти ферменты вовлечены в биологические процессы энергетического метаболизма клеток (GO:0006754 Биосинтез АТФ, GO:0003873 6-фосфофрукто-2-киназа, GO:0006003 Метаболизм фруктозо-2,6-бисфосфата, GO:0009055 Цепь переноса электронов, GO:0006120 Митохондриальный транспорт электронов через никотинамид динуклеотид и убихинон, GO:0006081 Метаболизм альдегидов, GO:0072593 Метаболизм активных форм кислорода, GO:0051591 Ответ на циклический аденозин монофосфат)<sup>1</sup>.

В-третьих, бактериоцины А/В/С практически не затрагивают горизонтальную ось диаграммы на рисунке 4, которая соответствует взаимодействиям с ферментами катаболизма АТФ и регуляции экспрессии генов. Эти метаболомные эффекты в гораздо большей степени связаны с синтетическим бактериоцином RS-2020 и «малым» бактериоцином S, чем с бактериоцинами А/В/С. Горизонтальная ось соответствует биологическим активностям, связанным с расходом АТФ (GO:0032869 Клеточный ответ на инсулиновый стимул, GO:0007200 Сигнальный путь рецепторов через фосфолипазу С, GO:0006195 Катаболизм пуринов, GO:0046135 Катаболизм пиримидинов), в т.ч. с использованием АТФ для регуляции экспрессии генов (GO:0006361 Инициация транскрипции РНК-полимеразой I, GO:0010628 Активация экспрессии генов) и для роста клеток (GO:0007411 Рост аксонов, GO:0043005 Рост нейронов, GO:0014069 Постсинаптическая плотность).

В-четвертых, анализ профилей активностей 682 метаболических ферментов дает возможность выделить 15 функциональных категорий по международной номенклатуре GO, отличающих

метаболомные эффекты бактериоцина С от бактериоцинов А и В (рис. 5). По сравнению с бактериоцинами А и В для метаболомных эффектов бактериоцина С были более характерны метаболомные эффекты, связанные с аминокислотным метаболизмом (GO:0048038 Связывание хинона, GO:0006541 Метаболизм глутамина, GO:0006536 Метаболизм глутамата, GO:0006103 Метаболизм 2-оксoglutarата), антиоксидантной защитой (GO:0006750 Биосинтез глутатиона), гормональным балансом (GO:0032355 Ответ на эстрадиол, GO:0051384 Ответ на глюкокортикоиды, GO:0042574 Метаболизм ретиналя), липидным метаболизмом (GO:0008610 Биосинтез липидов, GO:0004497 Моноксигеназы, GO:0015721 Транспорт желчных кислот, GO:0030148 Биосинтез сфинголипидов).

В-пятых, воздействие бактериоцина С на метаболом связано с метаболическими ферментами, которые достоверно чаще, чем ферменты из контрольной группы, взаимодействуют с рядом микронутриентных кофакторов: двухвалентными железом  $Fe^{(2+)}$  и медью  $Cu^{(2+)}$ , аскорбат-анионом (витамин С), пиридоксалем (витамин В6) (рис. 6). Соответственно, обеспеченность этими микронутриентами может влиять на метаболизацию и эффективность бактериоцина С.

Таким образом, для бактериоцина С характерен уникальный метаболический отклик организма, отличающий его от эффектов других бактериоцинов. В частности, бактериоцин С практически не взаимодействует с ферментами катаболизма АТФ и регуляции экспрессии генов человека.

### Бактериоцины и рост нормофизиологического микробиома человека / Bacteriocins and growth of normophysiological human physiological microbiome

В результате хемомикробиомного анализа получены оценки значений AUC для 38 репрезентативных представителей здоровой микробиоты человека (нормобиоты). Для дальнейшего анализа отобраны только те данные, которые соответствовали значениям AUC, статистически достоверно отличающимся от контрольных

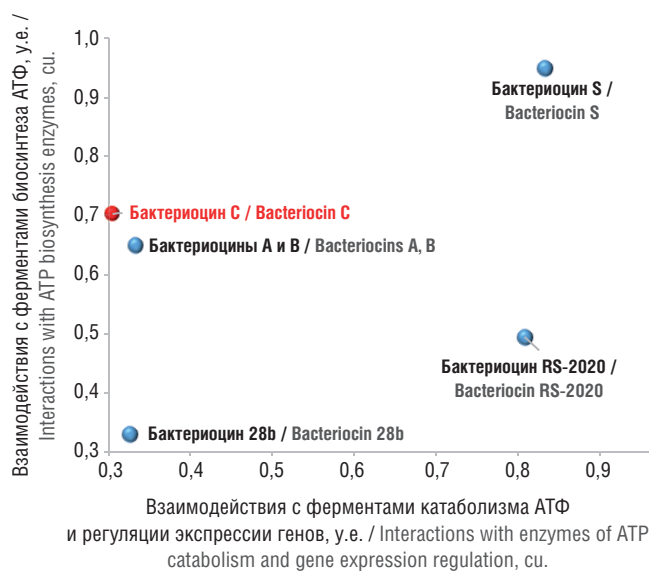


Рисунок 4. Проекция различий в метаболомных профилях исследованных бактериоцинов на плоскость.

АТФ – аденозинтрифосфат

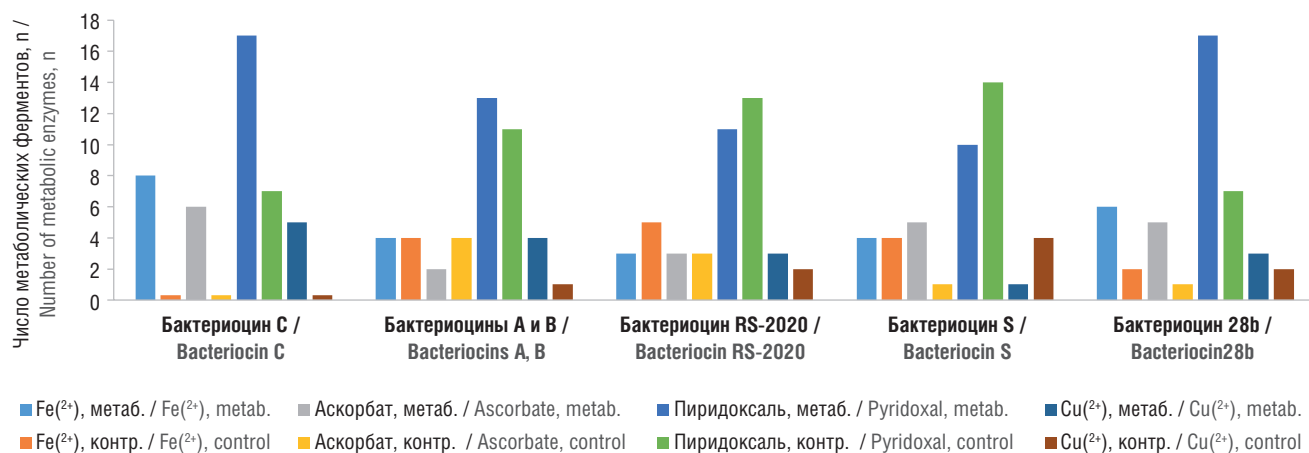
Figure 4. Projection of differences in the metabolomic profiles of the studied bacteriocins onto a plane.

ATP – adenosine triphosphate

<sup>1</sup> Международная номенклатура GO (англ. Gene Ontology).



**Рисунок 5.** Достоверные отличия между бактериоцином С и всеми другими исследованными бактериоцинами в профилях воздействия на метаболом человека. На концентрических окружностях приведены числа метаболических ферментов, относящихся к 15 указанным функциональным категориям по международной номенклатуре GO (англ. Gene Ontology)  
**Figure 5.** Significant differences between bacteriocin C and all other bacteriocins studied in the profiles of effects on the human metabolome. The numbers of metabolic enzymes belonging to 15 indicated functional categories according to the international Gene Ontology (GO) nomenclature are shown on the concentric circles



**Рисунок 6.** Микроэлементные кофакторы, вовлеченные в метаболомные ответы бактериоцинов. Для каждого кофактора приведены числа ферментов в группе метаболических ферментов и ферментов в контрольной группе  
**Figure 6.** Micronutrient cofactors involved in the metabolomic responses of bacteriocins. For each cofactor, the numbers of enzymes in the metabolic enzyme group and enzymes in the control group are given



экспериментов ( $p < 0,05$  при сравнении со стандартной средой выращивания бактерий) и со значениями стандартных отклонений AUC, не превышающими погрешность метода (в среднем  $0,07$  у.е. AUC).

В среднем по выборке здоровой микробиоты значение AUC для бактериоцина С составило  $0,62 \pm 0,19$  у.е. Более высокий усредненный показатель AUC был найден только для бактериоцина 28b ( $0,72 \pm 0,14$ ); для всех остальных бактериоцинов среднее значение AUC было на 15–35% ниже (бактериоцины A/B –  $0,54 \pm 0,26$ , бактериоцин RS2020 –  $0,44 \pm 0,26$ , бактериоцин S –  $0,46 \pm 0,28$ ). Полученные результаты суммированы на **рисунке 7**.

В наибольшей степени пребиотические эффекты бактериоцина С по отношению к нормобиоте были очевидны для бифидобактерий *B. longum*, участвующих в биосинтезе витаминов и входящих в состав многих пробиотиков (AUC 0,55; для остальных молекул AUC 0,05–0,35). Рост бифидобактерий *B. adolescentis*, составляющих до 85% нормобиоты и необходимых для всасывания жиров и выработки короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), в наибольшей мере поддерживался бактериоцином С (AUC 0,44) и бактериоцином 28b (AUC 0,57; для остальных молекул AUC 0,04–0,25). Бактериоцин С лучше всех остальных молекул поддерживал рост бактерий *Roseburia hominis*, которые регулируют Т-лимфоцитарный иммунитет и, кроме того, сами производят антимикробные пептиды (AUC 0,65; для остальных молекул AUC 0,04–0,50).

Для ряда нормобиотических бактерий эффекты бактериоцина С были сопоставимы с эффектами бактериоцина 28b (AUC 0,50–0,88), а эффекты всех остальных молекул были существенно меньше (AUC 0,07–0,60) (**рис. 8**). К этим бактериям относились:

- *Bacteroides vulgates* (микробиом толстой кишки, продуцируют пропионат, биосинтез витаминов К, В6, В12);
- *Eubacterium eligens* (синтез КЦЖК масляной, уксусной, муравьиной, витамина В12 и аминокислот);

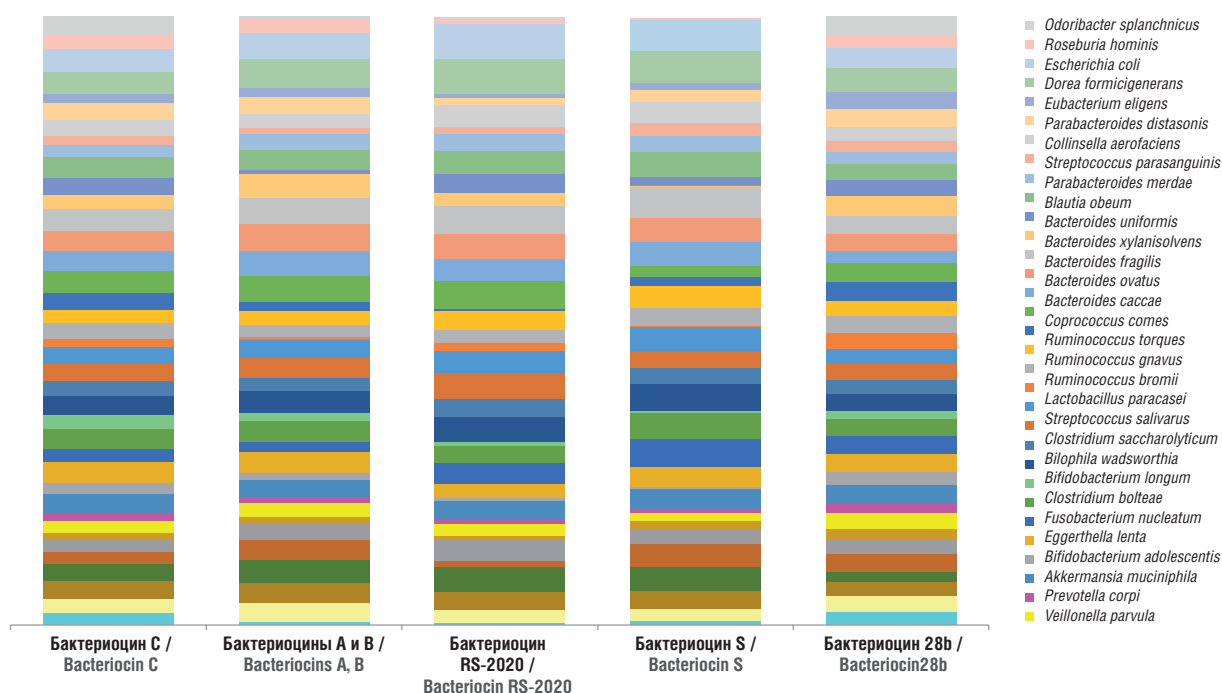
- *Blautia obeum* (микробиом толстого кишечника, синтез аутоиндуктора-2, ограничивает колонизацию холерных вибрионов);
- *Eggerthella lenta* (деконъюгирует желчные кислоты);
- *Akkermansia muciniphila* (муцин-разлагающая бактерия, тормозит развитие диабета, воспаления, синтезирует никотинамид);
- *Ruminococcus gnavus* (продуцирует антибактериальное соединение руминококцин А, действующее против патогенных клостридий).

Очевидно, что, стимулируя микроорганизмы – продуценты масляной кислоты и других КЦЖК, бактериоцин С может проявлять пребиотические свойства.

### Воздействие бактериоцина и других пребиотиков на рост патогенных штаммов / The effect of bacteriocin and other prebiotics on the growth of pathogenic strains

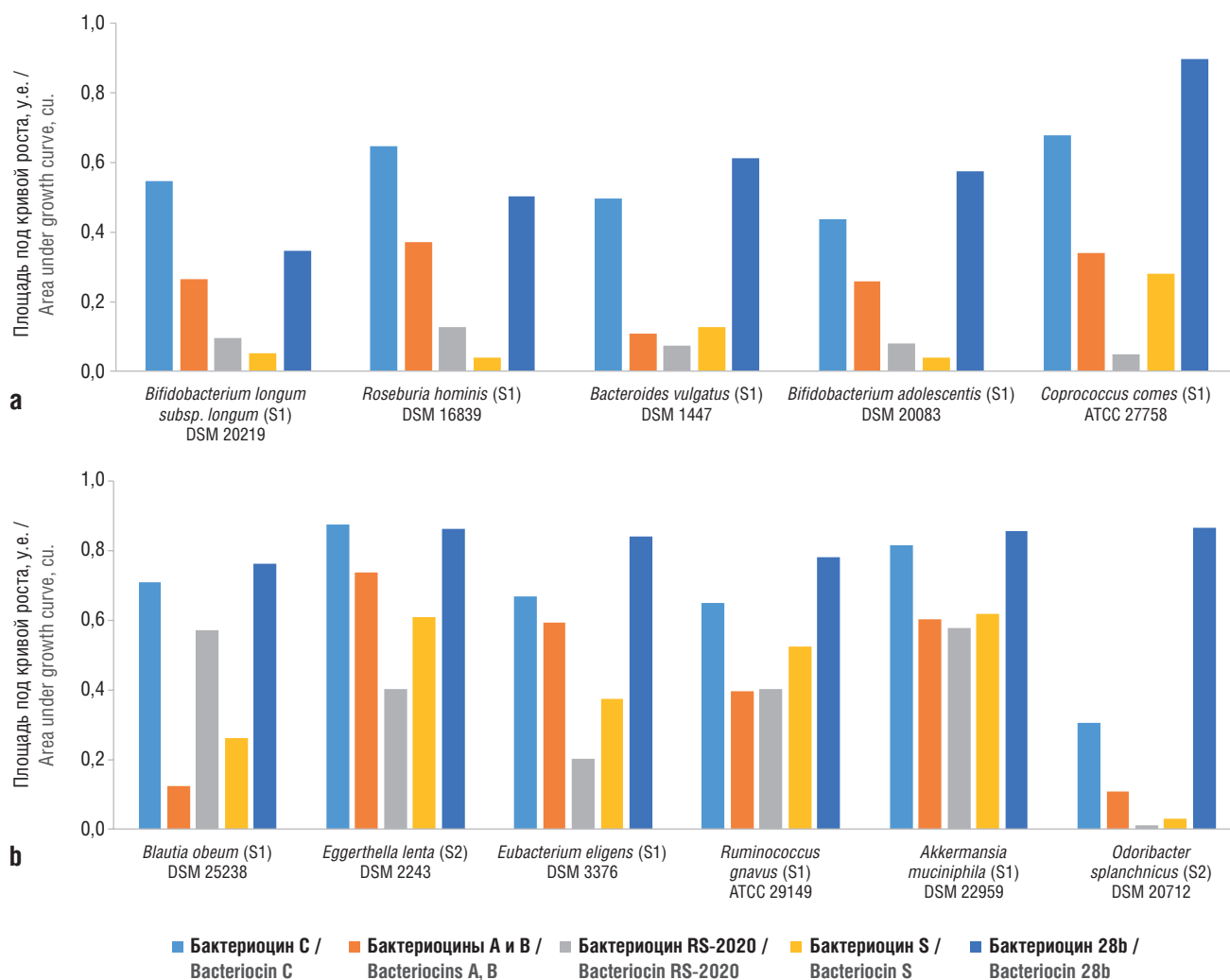
Хемомикробиомный анализ значений МИС исследованных молекул при воздействии на 152 штамма болезнетворных бактерий показал, что бактериоцин может тормозить рост некоторых болезнетворных организмов. Такие оценки были получены, в частности, для возбудителей кожных патологий (*M. audouinii*, *T. mentagrophytes* и др.), инфекций мочевыводящих путей (*E. cloacae*, протеи *P. mirabilis* и *P. vulgaris*), грибов *Candida*, возбудителей бактериальной пневмонии (*H. influenzae*, *S. mutans*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*), внутрибольничных инфекций (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*) и для нормофизиологической микробиоты (**рис. 9**).

Конечно, в ряде случаев говорить о выраженном антибактериальном действии исследованных бактериоцинов на все бактерии не приходится: для отдельных штаммов значения МИС достаточно велики (40–160 мкг/мл). Однако даже такие умеренные эффекты бактериоцинов способствуют элиминации антибиотик-резистентных штаммов рассмотренных микроорганизмов.



**Рисунок 7.** Профили воздействия исследованных молекул на нормобиоту человека. Ширина каждого прямоугольника пропорциональна соответствующему нормализованному значению площади под кривой роста соответствующего комменсала

**Figure 7.** Profiles of the studied molecules effects on the human normobiota. The width of each rectangle is proportional to the corresponding normalized value of the area under the growth curve of the corresponding commensal



**Рисунок 8.** Представители нормобиоты, для которых пребиотические эффекты бактериоцина были наиболее выраженными (а, б). DSM (нем. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) – Немецкая коллекция микроорганизмов и клеточных культур; ATCC (англ. American Type Culture Collection) – Американская коллекция типовых культур

**Figure 8.** Representatives of normobiota, for which the prebiotic effects of bacteriocin were the most pronounced (a, b). DSM (German: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures; ATCC – American Type Culture Collection

Для большинства изученных патогенов бактериоцин С проявлял более выраженные бактерицидные эффекты (или по крайней мере эффекты, сопоставимые с другими бактериоцинами). Например, все исследованные бактериоцины в одинаковой степени ингибируют *Fusobacterium necrophorum* (возбудитель отита, синусита, назофарингита и др.): средние значения MIC лежали в диапазоне 0,30–0,40 мкг/мл.

В случае возбудителей бактериальной пневмонии *Streptococcus pneumoniae* (также возбудитель менингита, среднего отита, синусита, эндокардита, септического артрита и др.) средние значения MIC составили 6,25±5,61 мкг/мл для бактериоцина С и 10–13 мкг/мл для всех остальных бактериоцинов. В среднем по различным штаммам *Haemophilus influenzae* (возбудитель бактериальной пневмонии и других гемофильных инфекций) для бактериоцина С значения MIC составили 10,60±10,48 мкг/мл, для остальных молекул – 11–14 мкг/мл.

Для *Klebsiella pneumoniae* (вызывает внутрибольничные инфекции, включая пневмонию, сепсис, инфекции мочевыводящих путей, бактериемию, менингит, абсцессы в печени, особенно при иммунодефицитах) усреднение по 14 штаммам показало сопоставимую активность для бактериоцинов А/В/С (MIC 9,24±7,47 мкг/мл),

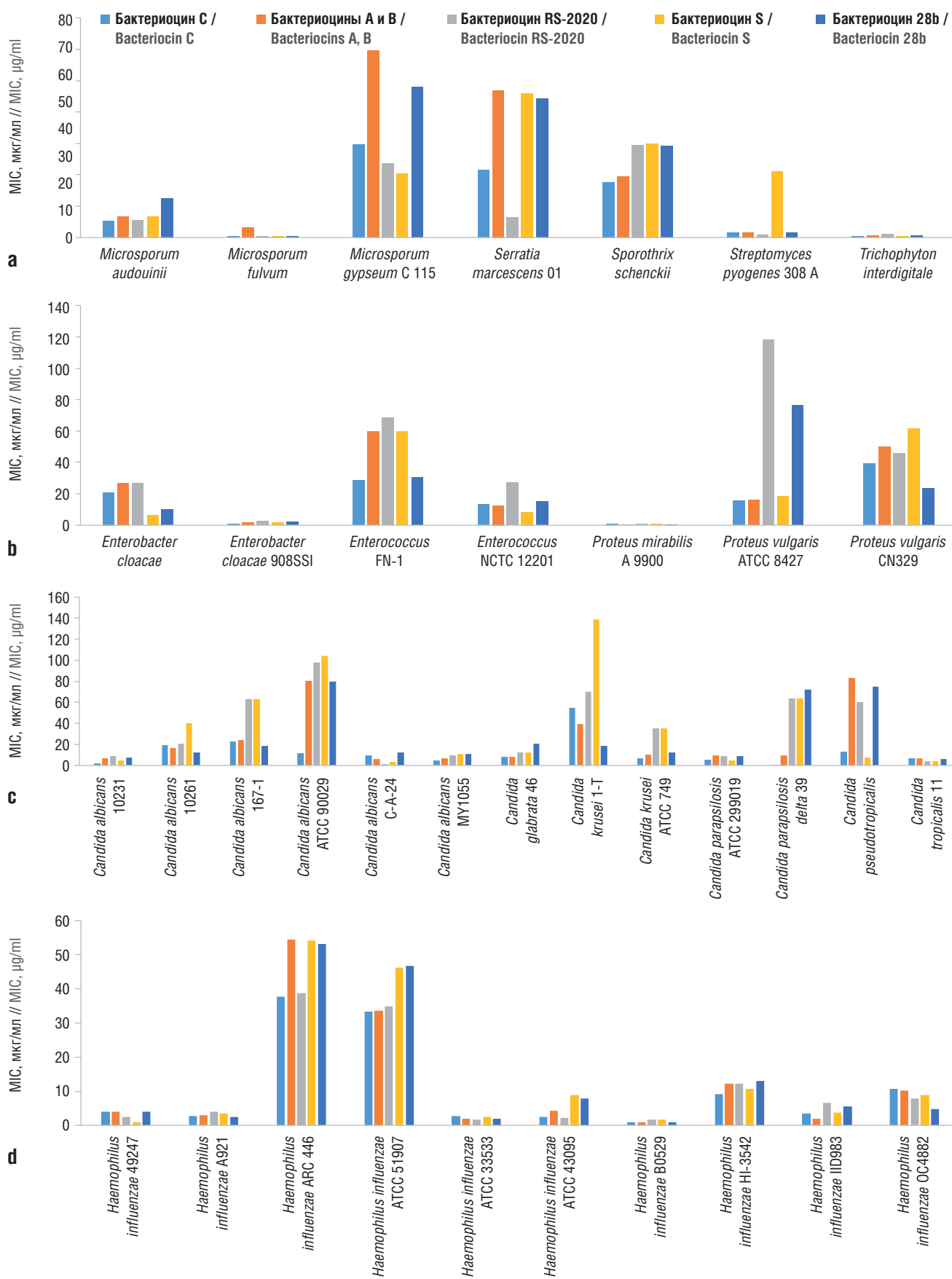
бактериоцинов RS2020 и S (14,1±13,21 мкг/мл) и несколько лучшую активность для бактериоцина 28b (8,28±14,14 мкг/мл).

В случае 12 штаммов *Pseudomonas aeruginosa* (вызывает внутрибольничные инфекции, в т.ч. вентилятор-ассоциированную пневмонию и сепсис, характеризуется естественной резистентностью к антибиотикам) эффекты всех бактериоцинов были сопоставимы (MIC 23,34±21,62 мкг/мл).

Для 21 штамма стафилококков *S. aureus* (вызывает внутрибольничные инфекции, кожные инфекции – прыщи, целлюлит, карбункулы, пневмонию, менингит, эндокардит, бактериемию и сепсис) наименьшие значения MIC были найдены для бактериоцина С (8,75±6,37 мкг/мл, для остальных молекул – 14,59±14,07 мкг/мл).

Анализ значений MIC на выборке нормофизиологической микробиоты (*Bacteroides*, *Enterococcus*, непатогенные *E. coli*) подтвердил описанные выше результаты анализа 38 бактерий – комменсалов нормобиоты. В частности, значения MIC для нормобиоты были достоверно выше для бактериоцина С (28,47±27,16 мкг/мл) и бактериоцинов А/В (24,74±28,39 мкг/мл), чем для остальных молекул (18,48±15,25 мкг/мл). Соответственно, бактериоцины А/В/С в меньшей степени тормозят рост нормобиоты, чем другие бактериоцины.

Был проведен анализ хемомикробиомных алгоритмов, которые

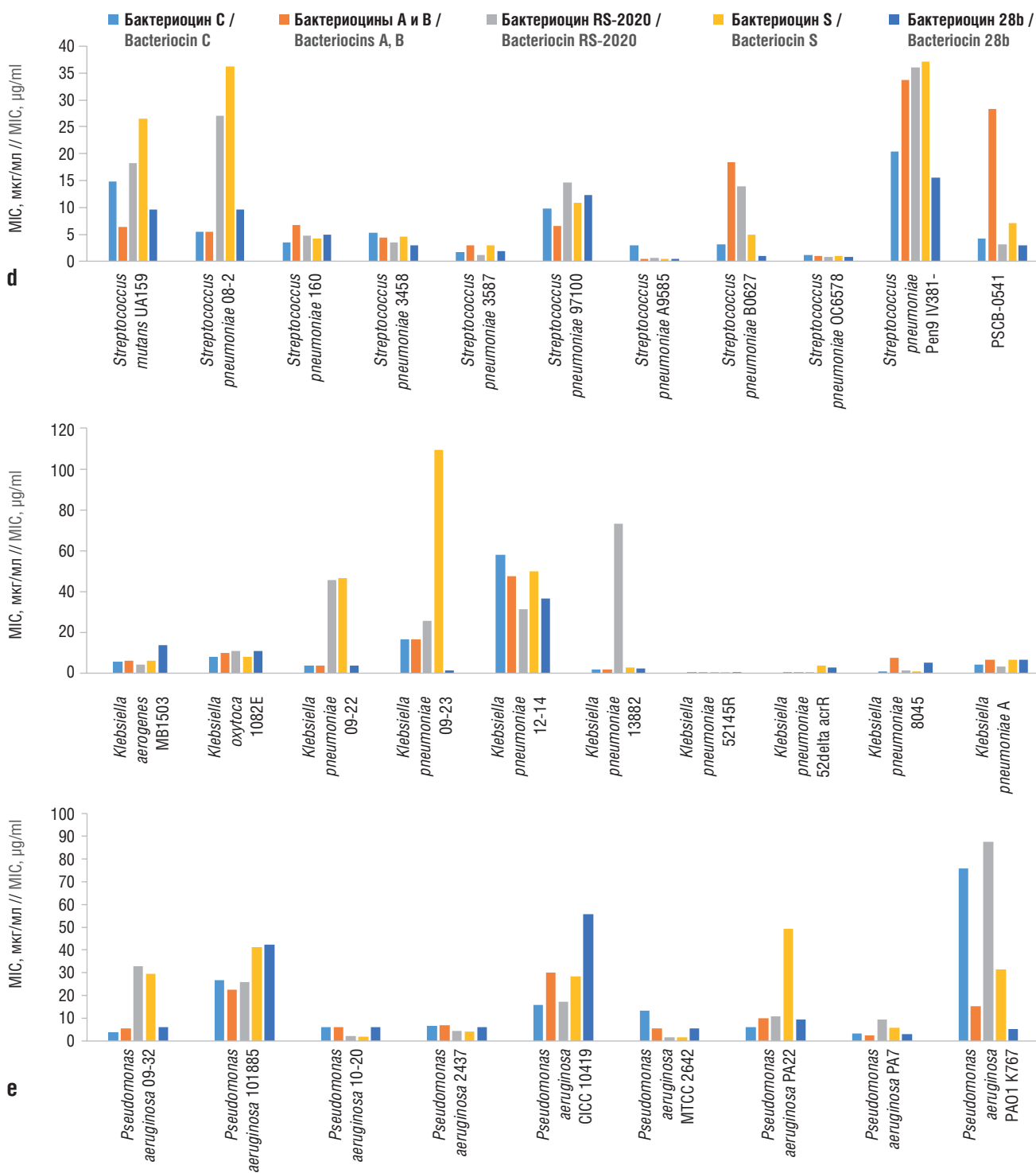


**Рисунок 9 (начало).** Результаты хемомикробиомного анализа значений минимальных ингибирующих концентраций (англ. minimum inhibitory concentration, MIC) ряда патогенных бактерий:

**a** – кожные инфекции; **b** – инфекции мочевыводящих путей; **c** – грибы *Candida*; **d** – возбудители бактериальной пневмонии; **e** – внутрибольничные инфекции

**Figure 9 (beginning).** Results of chemomicrobiome analysis of minimum inhibitory concentration (MIC) values of a number of pathogenic bacteria:

**a** – skin infections; **b** – urinary tract infections; **c** – *Candida* fungi; **d** – bacterial pneumonia agents; **e** – nosocomial infections



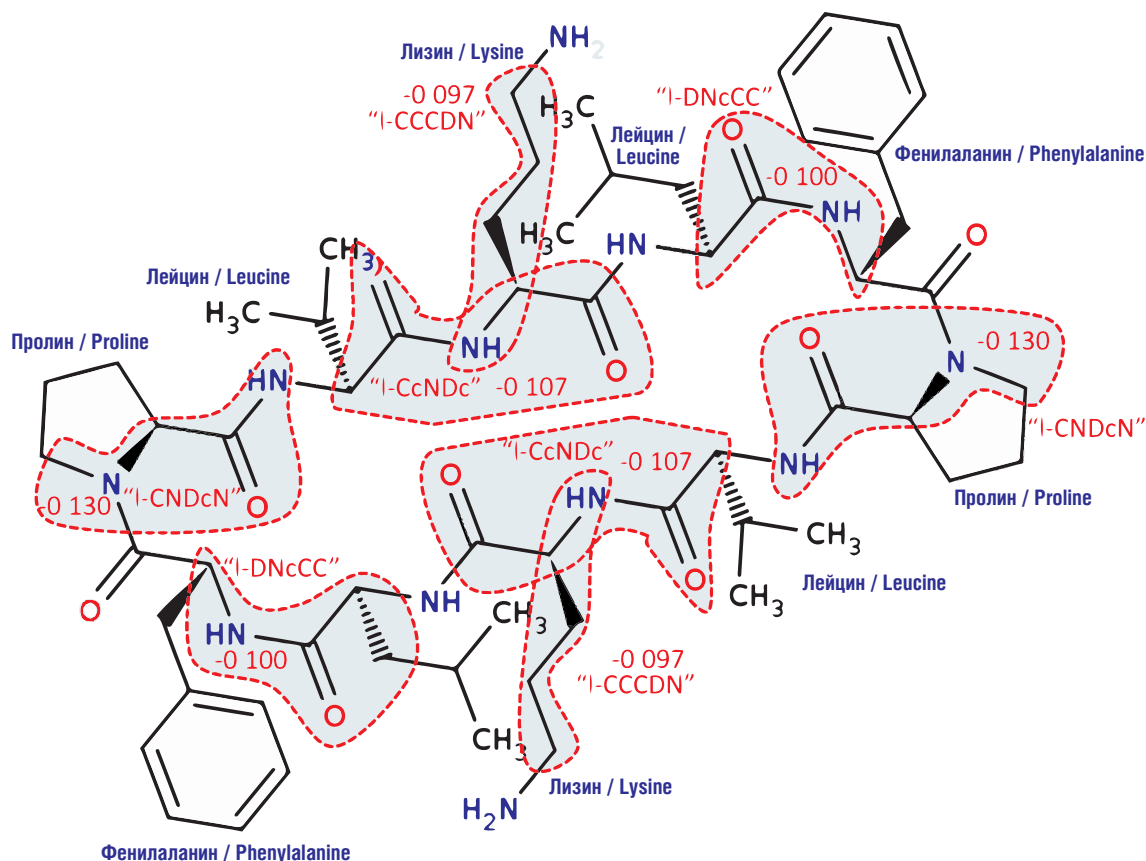
**Рисунок 9 (окончание).** Результаты хеомикробиомного анализа значений минимальных ингибирующих концентраций (англ. minimum inhibitory concentration, MIC) ряда патогенных бактерий:

**a** – кожные инфекции; **b** – инфекции мочевыводящих путей; **c** – грибы *Candida*; **d** – возбудители бактериальной пневмонии; **e** – внутрибольничные инфекции. ATCC (англ. American Type Culture Collection) – Американская коллекция типовых культур; NCTC (англ. National Collection of Type Cultures) – Национальная коллекция типовых культур (Великобритания); RCMB (англ. Respiratory Cell & Molecular Biology) – журнал «Биология респираторных клеток и молекул»; MGH (англ. Massachusetts General Hospital) – Массачусетская больница общего профиля (Бостон); PCI (англ. Peer Community in Microbiology) – Сообщество коллег по микробиологии; UCL (англ. University College London) – Университетский колледж Лондона; MTCC (англ. Microbial Type Culture Collection and Gene Bank) – Коллекция культур микробного типа и банк генов; CGMCC (англ. China General Microbiological Culture Collection) – Китайская общая коллекция микробиологических культур; ARS (англ. Agricultural Research Service) – Служба сельскохозяйственных исследований; CPHL (англ. Central Public Health Laboratories) – Центральные лаборатории общественного здравоохранения (Египет); RSKK (англ. Refik Saydam National Culture Collection) – Национальная коллекция культур Рефика Сайдама (Турция)

**Figure 9 (end).** Results of chemomicrobiome analysis of minimum inhibitory concentration (MIC) values of a number of pathogenic bacteria:

**a** – skin infections; **b** – urinary tract infections; **c** – *Candida* fungi; **d** – bacterial pneumonia agents; **e** – nosocomial infections. ATCC – American Type Culture Collection; NCTC – National Collection of Type Cultures (UK); RCMB – Respiratory Cell & Molecular Biology; MGH – Massachusetts General Hospital. Massachusetts General Hospital – Massachusetts General Hospital (Boston); PCI – Peer Community in Microbiology; UCL – University College London; MTCC – Microbial Type Culture Collection and Gene Bank; CGMCC – China General Microbiological Culture Collection; ARS – Agricultural Research Service; CPHL – Central Public Health Laboratories (Egypt); RSKK – Refik Saydam National Culture Collection (Turkey)





**Рисунок 10.** Фрагменты структуры бактериоцина С, наиболее значимые для воздействия молекулы на болезнетворные штаммы бактерий. Для указанных фрагментов приведены значения вклада в константу минимальной ингибирующей концентрации (англ. minimum inhibitory concentration, MIC) (мкг/мл), полученные в результате усреднения по 152 штаммам. Отрицательное значение вклада соответствует снижению MIC, т.е. большему вкладу фрагмента в антибактериальную активность. Обозначения фрагментов приведены в соответствии с номенклатурой, используемой в хемореактомном анализе: I – цепь атомов; C – L-атом углерода; D – D-атом углерода; c – sp<sup>2</sup>-гибридный атом углерода; N – трехвалентный атом азота

**Figure 10.** Fragments of the structure of bacteriocin C, most significant for the effect of the molecule on pathogenic bacterial strains. The contribution values to the minimum inhibitory concentration (MIC) constant ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), obtained by averaging over 152 strains, are given for these fragments. A negative contribution value corresponds to a lower MIC, i.e. a greater contribution of the fragment to antibacterial activity. Fragment designations are given according to the nomenclature used in chemoreactome analysis: I – atoms chain; C – L-carbon atom; D – D-carbon atom; c – sp<sup>2</sup>-hybrid carbon atom; N – trivalent nitrogen atom

характеризовались максимально возможной аккуратностью прогнозирования значений MIC (80–95%). Сопоставление весов признаков в этих алгоритмах с результатами для нормофизиологической микробиоты позволило выявить основные структурные признаки бактериоцина С, связанные с воздействием на патогенную микробиоту. Всего было выявлено более 1000 таких структурных фрагментов. Наибольший вклад в снижение значений MIC для патогенных бактерий вносили пептидные фрагменты между пролином и лейцином (вес  $-0,13$  мкг/мл на один фрагмент в молекуле бактериоцина С), пептидная связь между фенилаланином и лейцином (вес  $-0,10$  мкг/мл), фрагмент боковой цепи лизина (вес  $-0,107$  мкг/мл) и др. (рис. 10).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ / CONCLUSION

Лечение ОРЗ может включать топическое применение бактерицидных средств. Представленные в работе оценки значений MIC для 152 штаммов болезнетворных бактерий, полученные посредством хемомикробиомного анализа, показали, что бактериоцин С характеризуется меньшими значениями MIC для различных штаммов *H. influenzae*, *S. mutans*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *F. necrophorum*. Важно

подчеркнуть, что многие из перечисленных бактерий участвуют в патофизиологии ОРЗ.

Для *S. pneumoniae* и *S. aureus* бактериоцин С проявлял более выраженные бактерицидные эффекты по сравнению с остальными бактериоцинами. При усреднении по 10 штаммам *S. pneumoniae* средние значения MIC составили  $6,25 \pm 5,61$  мкг/мл для бактериоцина С и  $10\text{--}13$  мкг/мл для всех остальных бактериоцинов. Усреднение по 21 штамму стафилококков *S. aureus* показало наименьшие значения MIC для бактериоцина С ( $8,75 \pm 6,37$  мкг/мл, для остальных молекул –  $14,59 \pm 14,07$  мкг/мл). В случае других возбудителей назофарингита бактериоцин С показал эффекты, сопоставимые с остальными бактериоцинами (*Haemophilus influenzae*: MIC  $10\text{--}14$  мкг/мл, *Fusobacterium necrophorum*: MIC  $0,30\text{--}0,40$  мкг/мл, *Klebsiella pneumoniae*: MIC  $8\text{--}14$  мкг/мл, *Pseudomonas aeruginosa*: MIC  $23,34 \pm 21,62$  мкг/мл).

В то же время бактериоцин С в меньшей степени, чем молекулы сравнения, тормозил рост нормобиоты родов *Bacteroides*, *Enterococcus*, непатогенных *E. coli*, дрожжей *S. cerevisiae* и др. Более того, основываясь на оценках значений AUC для 38 бактерий – комменсалов человека, можно предположить, что бактериоцин С проявляет пребиотические свойства, стимулируя микроорганизмы – продуценты короткоцепочечных жирных кислот.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Marx J., Hockberger R., Walls R. Rosen's emergency medicine: concepts and clinical practice. 7<sup>th</sup> ed. Chapter 30. Philadelphia, Pennsylvania: Mosby; 2010.
2. Bisno A.L. Acute pharyngitis. *N Engl J Med.* 2001; 344 (3): 205–11. <https://doi.org/10.1056/NEJM200101183440308>.
3. Baltimore R.S. Re-evaluation of antibiotic treatment of streptococcal pharyngitis. *Curr Opin Pediatr.* 2010; 22 (1): 77–82. <https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e32833502e7>.
4. Wang F., Qin L., Pace C.J., et al. Solubilized gramicidin A as potential systemic antibiotics. *Chembiochem.* 2012; 13 (1): 51–5. <https://doi.org/10.1002/cbic.201100671>.
5. Palm J., Fuchs K., Stammer H., et al. Efficacy and safety of a triple active sore throat lozenge in the treatment of patients with acute pharyngitis: results of a multi-centre, randomised, placebo-controlled, double-blind, parallel-group trial (DoriPha). *Int J Clin Pract.* 2018; 72 (12): e13272. <https://doi.org/10.1111/ijcp.13272>.
6. Lum K., Ingólfsson H.I., Koeppel R.E. II, Andersen O.S. Exchange of gramicidin between lipid bilayers: implications for the mechanism of channel formation. *Biophys J.* 2017; 113 (8): 1757–67. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.08.049>.
7. Регистр лекарственных средств России. Грамицидин С (Gramicidinum S). URL: <https://www.rlsnet.ru/active-substance/gramicidin-s-1294> (дата обращения 30.03.2023).
8. Schripsema J., de Rudder K.E., van Vliet T.B., et al. Bacteriocin small of *Rhizobium leguminosarum* belongs to the class of N-acyl-L-homoserine lactone molecules, known as autoinducers and as quorum sensing co-transcription factors. *J Bacteriol.* 1996; 178 (2): 366–71. <https://doi.org/10.1128/jb.178.2.366-371.1996>.
9. Enfedaque J., Ferrer S., Guasch J.F., et al. Bacteriocin 28b from *Serratia marcescens* N28b: identification of *Escherichia coli* surface components involved in bacteriocin binding and translocation. *Can J Microbiol.* 1996; 42 (1): 19–26. <https://doi.org/10.1139/m96-004>.
10. Торшин И.Ю., Громова О.А., Захарова И.Н., Максимов В.А. Хемомикробиомный анализ Лактитола. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2019; 164 (4): 111–21. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-164-4-111-121>.
11. Торшин И.Ю., Галустян А.Н., Иванова М.И. и др. Хемомикробиомный анализ синергизма D-маннозы и D-фруктозы в сравнении

- с другими метаболитами. *Эффективная фармакотерапия.* 2020; 16 (20): 22–31.
12. Громова О.А., Торшин И.Ю., Наумов А.В., Максимов В.А. Хемомикробиомный анализ глюкозамина сульфата, пребиотиков и нестероидных противовоспалительных препаратов. *ФАРМАКОЭКОНОМИКА. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология.* 2020; 13 (3): 270–82. <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.049>.
13. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On metric spaces arising during formalization of problems of recognition and classification. Part 2: Density properties. *Pattern Recognit Image Anal.* 2016; 26 (3): 483–96. <https://doi.org/10.1134/S1054661816030202>.
14. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the theoretical basis of metric analysis of poorly formalized problems of recognition and classification. *Pattern Recognit Image Anal.* 2015; 25 (4): 577–87. <https://doi.org/10.1134/S1054661815040252>.
15. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the procedures of generation of numerical features over the splits of a set of objects and the problem of prediction of numeric target variables. *Pattern Recognit Image Anal.* 2019; 29 (4): 654–67. <https://doi.org/10.1134/S1054661819040175>.
16. The Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research. *Nature.* 2012; 486 (7402): 215–21. <https://doi.org/10.1038/nature11209>.
17. The Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The Integrative Human Microbiome Project: dynamic analysis of microbiome-host omics profiles during periods of human health and disease. *Cell Host Microbe.* 2014; 16 (3): 276–89. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.08.014>.
18. Kim S., Chen J., Cheng T., et al. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47 (D1): D1102–9. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1033>.
19. Maier L., Pruteanu M., Kuhn M., et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature.* 2018; 555 (7698): 623–8. <https://doi.org/10.1038/nature25979>.
20. Saavedra J.M. Brain angiotensin II: new developments, unanswered questions and therapeutic opportunities. *Cell Mol Neurobiol.* 2005; 25 (3–4): 485–512. <https://doi.org/10.1007/s10571-005-4011-5>.

## REFERENCES:

1. Marx J., Hockberger R., Walls R. Rosen's emergency medicine: concepts and clinical practice. 7<sup>th</sup> ed. Chapter 30. Philadelphia, Pennsylvania: Mosby; 2010.
2. Bisno A.L. Acute pharyngitis. *N Engl J Med.* 2001; 344 (3): 205–11. <https://doi.org/10.1056/NEJM200101183440308>.
3. Baltimore R.S. Re-evaluation of antibiotic treatment of streptococcal pharyngitis. *Curr Opin Pediatr.* 2010; 22 (1): 77–82. <https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e32833502e7>.
4. Wang F., Qin L., Pace C.J., et al. Solubilized gramicidin A as potential systemic antibiotics. *Chembiochem.* 2012; 13 (1): 51–5. <https://doi.org/10.1002/cbic.201100671>.
5. Palm J., Fuchs K., Stammer H., et al. Efficacy and safety of a triple active sore throat lozenge in the treatment of patients with acute pharyngitis: results of a multi-centre, randomised, placebo-controlled, double-blind, parallel-group trial (DoriPha). *Int J Clin Pract.* 2018; 72 (12): e13272. <https://doi.org/10.1111/ijcp.13272>.
6. Lum K., Ingólfsson H.I., Koeppel R.E. II, Andersen O.S. Exchange of gramicidin between lipid bilayers: implications for the mechanism of channel formation. *Biophys J.* 2017; 113 (8): 1757–67. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.08.049>.
7. Register of Medicines of Russia. Gramicidinum S. Available at:

- <https://www.rlsnet.ru/active-substance/gramicidin-s-1294> (in Russ.) (accessed 30.03.2023).
8. Schripsema J., de Rudder K.E., van Vliet T.B., et al. Bacteriocin small of *Rhizobium leguminosarum* belongs to the class of N-acyl-L-homoserine lactone molecules, known as autoinducers and as quorum sensing co-transcription factors. *J Bacteriol.* 1996; 178 (2): 366–71. <https://doi.org/10.1128/jb.178.2.366-371.1996>.
9. Enfedaque J., Ferrer S., Guasch J.F., et al. Bacteriocin 28b from *Serratia marcescens* N28b: identification of *Escherichia coli* surface components involved in bacteriocin binding and translocation. *Can J Microbiol.* 1996; 42 (1): 19–26. <https://doi.org/10.1139/m96-004>.
10. Torshin I.Yu., Gromova O.A., Zakharova I.N., Maximov V.A. Hemomikrobiomny lactitol analysis. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2019; 164 (4): 111–21 (in Russ.). <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-164-4-111-121>.
11. Torshin I.Yu., Galustyan A.N., Ivanova M.I., et al. Chemomicrobiome analysis of synergism of D-mannose and D-fructose in comparison with other metabiotics. *Effective Pharmacotherapy.* 2020; 16 (20): 22–31 (in Russ.).
12. Gromova O.A., Torshin I.Yu., Naumov A.V., Maksimov V.A. Chemomicrobiome analysis of glucosamine sulfate, prebiotics and

- non-steroidal anti-inflammatory drugs. *FARMAKOEKONOMIKA. Sovremennaya farmakoeconomika i farmakoepidemiologiya / FARMAKOEKONOMIKA. Modern Pharmacoconomics and Pharmacoepidemiology*. 2020; 13 (3): 270–82 (in Russ.). <https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoeconomika.2020.049>.
13. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On metric spaces arising during formalization of problems of recognition and classification. Part 2: Density properties. *Pattern Recognit Image Anal.* 2016; 26 (3): 483–96. <https://doi.org/10.1134/S1054661816030202>.
14. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the theoretical basis of metric analysis of poorly formalized problems of recognition and classification. *Pattern Recognit Image Anal.* 2015; 25 (4): 577–87. <https://doi.org/10.1134/S1054661815040252>.
15. Torshin I.Yu., Rudakov K.V. On the procedures of generation of numerical features over the splits of a set of objects and the problem of prediction of numeric target variables. *Pattern Recognit Image Anal.* 2019; 29 (4): 654–67. <https://doi.org/10.1134/S1054661819040175>.
16. The Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research. *Nature*. 2012; 486 (7402): 215–21. <https://doi.org/10.1038/nature11209>.
17. The Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The Integrative Human Microbiome Project: dynamic analysis of microbiome-host omics profiles during periods of human health and disease. *Cell Host Microbe*. 2014; 16 (3): 276–89. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.08.014>.
18. Kim S., Chen J., Cheng T., et al. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47 (D1): D1102–9. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1033>.
19. Maier L., Pruteanu M., Kuhn M., et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature*. 2018; 555 (7698): 623–8. <https://doi.org/10.1038/nature25979>.
20. Saavedra J.M. Brain angiotensin II: new developments, unanswered questions and therapeutic opportunities. *Cell Mol Neurobiol.* 2005; 25 (3–4): 485–512. <https://doi.org/10.1007/s10571-005-4011-5>.

#### Сведения об авторах

Торшин Иван Юрьевич – к.ф.-м.н., к.х.н., ведущий научный сотрудник ФИЦ «Информатика и управление» РАН (Москва, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>; WoS ResearcherID: C-7683-2018; Scopus Author ID: 7003300274; РИНЦ SPIN-код: 1375-1114.

Громова Ольга Алексеевна – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник ФИЦ «Информатика и управление» РАН (Москва, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>; WoS ResearcherID: J-4946-2017; Scopus Author ID: 7003589812; РИНЦ SPIN-код: 6317-9833. E-mail: [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com).

#### About the authors

Ivan Yu. Torshin – PhD (Phys. Math.), PhD (Chem.), Leading Researcher, Federal Research Center “Computer Science and Control”, RAS (Moscow, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>; WoS ResearcherID: C-7683-2018; Scopus Author ID: 7003300274; RSCI SPIN-code: 1375-1114.

Olga A. Gromova – Dr. Med. Sc., Professor, Leading Researcher, Federal Research Center “Computer Science and Control”, RAS (Moscow, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>; WoS ResearcherID: J-4946-2017; Scopus Author ID: 7003589812; RSCI SPIN-code: 6317-9833. E-mail: [unesco.gromova@gmail.com](mailto:unesco.gromova@gmail.com).