

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КАТИОННЫХ АНТИСЕПТИКОВ С КАРДИОЛИПИНСОДЕРЖАЩЕЙ МОДЕЛЬНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МЕМБРАНОЙ

Е. Г. Холина^{1,2}, М. Е. Боздаганян^{1,2}, М. Г. Страховская^{1,2}, И. Б. Коваленко^{1,2} ✉

¹ Федеральное научно-клиническое учреждение здравоохранения «Федеральный научный центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Плазматическая мембрана является одной из главных мишеней действия катионных антисептиков (КА). Целью исследования было изучить на молекулярном уровне действие относящихся к разным химическим классам КА на кардиолипинсодержащие участки плазматической бактериальной мембраны. Исследование выполнено с применением крупнозернистого молекулярного моделирования. На основе созданных крупнозернистых молекулярных моделей КА, включая мирамистин, хлоргексидин, пиклоксидин и октенидин, изучено их взаимодействие с липидным кардиолипинсодержащим бислоем. КА снижали коэффициенты латеральной диффузии липидов и увеличивали площадь поверхности мембраны, приходящуюся на липид. Кроме мирамистина, все КА снижали параметры порядка жирнокислотных цепей липидов. Добавление октенидина в соотношении КА : липид как 1 : 4 приводило к кластеризации кардиолипина с последующим вырыванием из модельного бислоя нейтральных молекул фосфатидилэтаноламина. Выявлено, что КА обладают способностью сорбироваться на липидном бислое, вызывая кластеризацию отрицательно заряженных липидов. Антисептик октенидин вызывает образование кардиолипиновых микродоменов. Нарушение латерального распределения липидов и вырывание молекул фосфатидилэтаноламина может привести к повышению проницаемости липидного бислоя. Наиболее значимое уменьшение коэффициента латеральной диффузии липида кардиолипина в $2,8 \pm 0,4$ раза отмечено в присутствии КА хлоргексидина при соотношении антисептик : липид как 1 : 4.

Ключевые слова: антисептик, бактериальная мембрана, молекулярное моделирование, мирамистин, хлоргексидин, пиклоксидин, октенидин

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90045 и государственного задания «Влияние липидного состава бактериальных мембран на процессы взаимодействия с антимикробными соединениями», шифр: «Мембрана».

Вклад авторов: Е. Г. Холина — создание молекулярных моделей исследуемых веществ, проведение расчетов, написание текста статьи; М. Е. Боздаганян — проведение расчетов, написание текста статьи; М. Г. Страховская — идея исследования, написание текста статьи, анализ результатов; И. Б. Коваленко — идея исследования, создание вычислительной инфраструктуры, написание текста статьи, анализ результатов.

✉ **Для корреспонденции:** Илья Борисович Коваленко
ул. Ореховый бульвар, д. 28, 115682, г. Москва; ikovalenko78@gmail.com

Статья получена: 19.07.2021 **Статья принята к печати:** 21.08.2021 **Опубликована онлайн:** 11.09.2021

DOI: 10.47183/mes.2021.024

INTERACTION OF CATIONIC ANTISEPTICS WITH CARDIOLIPIN-CONTAINING MODEL BACTERIAL MEMBRANES

Kholina EG^{1,2}, Bozdaganyan ME^{1,2}, Strakhovskaya MG^{1,2}, Kovalenko IB^{1,2} ✉

¹ Federal Scientific and Clinical Center of Specialized Medical Care and Medical Technology of FMBA, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Plasma membrane is one of the major targets for cationic antiseptics (CA). The study was aimed to assess molecular effects of CAs of different chemical classes on cardiolipin-containing regions of bacterial plasma membranes. The study was carried out using coarse-grained molecular modeling. Interaction of CAs, such as miramistin, chlorhexidine, picloxidine, and octenidine, with cardiolipin-containing bilayer was assessed based on the CA coarse-grained models. CAs reduced lipid lateral diffusion coefficients and increased the membrane area per lipid. All CAs, except miramistin, reduced the lipid fatty acid chain order parameters. Adding octenidine at a CA : lipid ratio of 1 : 4 resulted in cardiolipin clustering with subsequent pulling the neutral phosphatidylethanolamine molecules out of the model bilayer. It was found that CAs have the potential for sorption to lipid bilayer, causing clustering of negatively charged lipids. Antiseptic octenidine causes formation of cardiolipin microdomains. Abnormal lateral lipid distribution together with pulling out phosphatidylethanolamine molecules can result in increased lipid bilayer permeability. The most significant reduction of cardiolipin lateral diffusion coefficient by 2.8 ± 0.4 times was observed in the presence of CA chlorhexidine at an antiseptic : lipid ratio of 1 : 4.

Keywords: antiseptic, bacterial membrane, molecular modeling, miramistin, chlorhexidine, picloxidine, octenidine

Funding: the research was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (project № 19-34-90045) and the State assignment "The influence of the lipid composition of bacterial membranes on the processes of interaction with antimicrobial compounds" (code: "Membrane").

Author contribution: Kholina EG — constructing molecular models of studied substances, calculations, manuscript writing; Bozdaganyan ME — calculations, manuscript writing; Strakhovskaya MG — study concept, manuscript writing, analysis of the results; Kovalenko IB — study concept, building a computing infrastructure, manuscript writing, analysis of the results.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ilya B. Kovalenko
Orekhovyi bulvar, 28, Moscow, 115682; ikovalenko78@gmail.com

Received: 19.07.2021 **Accepted:** 21.08.2021 **Published online:** 11.09.2021

DOI: 10.47183/mes.2021.024

Антисептики относятся к одной из ключевых групп соединений, активно применяемых для профилактики и борьбы с инфекционными заболеваниями. Активность антисептиков связана с их способностью ингибировать рост (бактериостатический эффект) и инактивировать клетки микроорганизмов (бактерицидный эффект). Среди антисептиков одними из наиболее эффективных являются

катионные соединения, которые электростатически связываются с отрицательно заряженными группами компонентов клеточных стенок бактерий, вытесняя стабилизирующие их двухвалентные катионы. Исследования антимикробной природы действия антисептиков выявили дезинтеграцию клеточной мембраны с последующим вытеканием внутриклеточных

компонентов [1], нарушение клеточного метаболизма [2, 3], ингибирование ферментов, угнетение электронного транспорта и окислительного фосфорилирования [4, 5]. В частности, с помощью электронной микроскопии показаны специфические разрывы бактериальных клеточных стенок [6, 7].

Среди КА наиболее обширной группой веществ являются четвертичные аммониевые соединения (QAC) и бигуаниды [8]. Первые получили свое название за счет того, что в их структуре присутствует четвертичный азот с ковалентно присоединенным к нему гидрофобным заместителем [8]. К представителям негетероциклических QAC относится мирамистин (MIR), несущий один положительный заряд. Пространственная структура MIR обладает изогнутой формой и напоминает крюк, в котором голова наклонена к алкильному хвосту [9]. Предполагается, что положительно заряженный азот MIR взаимодействует с отрицательно заряженными фосфолипидами, что приводит к нарушению нормального распределения зарядов на поверхности мембраны, а гидрофобный хвост встраивается в бактериальные мембраны, результатом чего становится нарушение их физических и биологических функций. К представителям гетероциклических QAC относится антисептик октенидин (OCT), в структуре которого два пиридиновых атома азота соединены посредством длинного алкильного линкера, а в пара-положениях пиридиновых колец находятся остатки алкиламинов [10]. Несущий два положительных заряда OCT проявляет высокое сродство к липидам в составе бактериальной мембраны, особенно к отрицательно заряженному кардиолипину (CL). Бигуаниды относятся к виду соединений, где амидиновая группа присоединена к гуанидиновой с образованием $-C=N-C=N-$ конъюгированной системы. Наиболее изученный представитель группы бигуанидов — хлоргексидин (CHL). В состав симметричной химической структуры CHL входят две соединенные гидрофобным линкером гидрофильные бигуанидиновые группы, к каждой из которых присоединено хлорфенольное кольцо. Для CHL характерна пространственная конформация в виде скобки [11]. При физиологических значениях pH молекула CHL несет два положительных заряда [10]. Большое распространение CHL получил благодаря антимикробной активности по отношению ко многим микроорганизмам, включая широкий ряд грамположительных и грамотрицательных бактерий, вирусы и грибы. Однако в отношении грамположительных бактерий CHL более эффективен. Некоторые виды грамотрицательных видов, такие как *Proteus mirabilis* (минимальная ингибирующая концентрация (МИК) составляет 115 мг/л), *Providencia stuartii* (МИК составляет 102 мг/л), проявляют высокую устойчивость по отношению к CHL [12].

Бактериальная плазматическая мембрана играет важную роль в функционировании клетки и выполняет множество функций, включая регуляцию транспорта веществ и участие в делении. Липиды, составляющие бактериальную плазматическую мембрану, варьируют по количеству и длине жирных кислот, количеству и расположению содержащихся в них двойных связей, структуре и заряду гидрофильной части [13]. Общими для большинства бактерий являются нейтральный фосфатидилэтанолламин (PE) и отрицательно заряженные фосфолипиды, фосфатидилглицерол (PG) и CL, составляющие по крайней мере 15% от общего содержания [14]. В отличие от PE и PG, CL имеет более массивную

структуру за счет содержания в ней двух фосфатных остатков и четырех жирных кислот.

Для бактериальной плазматической мембраны характерно гетерогенное распределение липидов [15]. Фосфолипид PE распределен равномерно в клетках широкого ряда грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Pseudomonas putida*, *Azotobacter vinelandii*, *Proteus vulgaris*), в то время как в клетках видов *Bacillus* показана его локализация в септальных участках [16]. Для анионных липидов показано формирование микродоменов. В частности, на полюсах клеток грамотрицательных бактерий в составе плазматической мембраны присутствуют микродомены из молекул CL. Считается, что локализация CL на полюсах связана с его участием в процессах клеточного деления, в частности, с взаимодействием с белками клеточного деления DnaA, MinD, FtsA. DnaA отвечает за инициацию репликации ДНК, MinD в составе системы MinCDE препятствует локализации дивисомы вблизи полюсов клетки, FtsA — бактериальный актин, линкерный белок для бактериального тубулина FtsZ, формирующего в середине клетки Z-кольцо. Данные белки реагируют преимущественно с анионными липидами бактериальной плазматической мембраны за счет наличия в своей структуре амфитропных мотивов, обогащенных положительно заряженными аминокислотами [17]. Другие важные клеточные процессы, в которых участвует CL за счет взаимодействия с белками — передача энергии, осмоадаптация и транслокация белков. С помощью рентгеноструктурного анализа продемонстрировано присутствие CL в структурах реакционного центра и цитохром-с-оксидазы *Rhodobacter sphaeroides*, формат- и сукцинат дегидрогеназы *E. coli* [13]. На *E. coli* показана колокализация CL с осмосенсорным транспортером ProP [18], реагирующим на изменение осмоляльности путем усиления транспорта в клетку органических осмолитов, а на *Vibrio cholerae* — колокализация с системой Eps, отвечающей за экспорт холерного токсина [19].

Несмотря на объем экспериментальных данных по механизмам действия катионных антисептиков, эти сведения не позволяют четко ответить на вопрос, что служит первопричиной бактерицидного действия антисептиков — дезинтеграция мембраны или угнетение клеточного метаболизма. Таким образом, точные молекулярные механизмы действия данной группы антимикробных веществ не до конца исследованы. Учитывая выказанные ранее предположения о возможной роли молекул CL как центров связывания КА [6], целью данной работы было исследовать влияние КА на CL-содержащие участки плазматической мембраны бактериальных клеток методами молекулярного моделирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Крупнозернистые молекулярные модели КА описаны ранее [20]. Для исследования влияния КА на модельный бислой были выбраны представители бигуанидов — CHL, пиклоксидин (PIC), QAC — (MIR, OCT). Все КА, кроме MIR, несут двойной положительный заряд. Химические структуры КА с разбиением их на крупнозернистые частицы в соответствии с силовым полем MARTINI представлены на рис. 1. Тип частиц C1 был выбран для описания гидрофобных участков КА по аналогии с параметризацией липидов, SC2/SC3/SC4 — для ароматических фрагментов, P5 — для фрагментов, содержащих пептидные связи, по аналогии с параметризацией аминокислот во второй

версии силового поля MARTINI. Антисептики мы добавляли к модельному бислою при двух разных соотношениях КА : липид 1 : 8 и 1 : 4 в соответствии с концентрациями, применяемыми в медицинских растворах.

Молекулярную крупнозернистую модель бислоя мы создавали с помощью CHARMM-GUI MARTINI Maker [21], разработанного научной группой профессора Има в Лихайском университете (Lehigh University; США), в силовом поле MARTINI [22]. Модель плазматической мембраны, имитирующей липидный состав на полюсах бактериальной клетки, состояла из липидов пальмитоил-олеил-PE (POPE), POPG и CL, несущих заряд -2 (CDL2), в соотношении 81 : 7 : 12 по массе. Расчеты крупнозернистой молекулярной динамики (МД) мы проводили с использованием программного пакета Gromacs 2019.4 (разработан в университетах Уппсалы и Стокгольма, а также Королевском Технологическом Институте, Швеция) [23] в течение 5 мкс для систем КА : липид 1 : 8 и в течение 35 мкс для систем КА : липид 1 : 4. Моделирование проводили в ансамбле NPT с использованием термостата V-rescale ($T = 320$ K; $\tau_T = 1$ пс) и баростата Парринелло-Рамана ($p_{ref} = 1$ бар; $\tau_p = 12$ пс) [23]. МД-расчеты мы выполняли с добавлением поляризуемой воды [24], с диэлектрической постоянной $\epsilon_r = 2,5$, с шагом интегрирования 20 фс. Характеристики модельных бислоев в присутствии КА вычисляли с использованием встроенных утилит программного пакета Gromacs 2019.4. Площадь на липид была рассчитана с помощью *gmx energy*, коэффициенты латеральной диффузии — *gmx msd*. Профили плотности компонентов молекулярно-динамических систем относительно центра бислоя, радиальные функции распределения, оценка количества липидов вне плоскости бислоя мы оценивали с помощью программ, написанных нами на языке Python с применением функций библиотеки

MDAnalysis. Значения толщины модельных мембран мы определяли по профилям плотности как разность положений пиков плотности фосфатов относительно центра бислоя. Характеристики модельных бислоев для каждой системы мы подсчитывали по двум последним мкс МД-траектории.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В присутствии всех исследованных КА наблюдалось снижение коэффициентов латеральной диффузии липидов (рис. 2А), незначительное снижение толщины бислоя (рис. 2Б) и увеличение площади на липид (рис. 2В). В присутствии всех типов КА, кроме MIR, отмечено снижение параметров порядка для жирнокислотных цепей липидов (данные не показаны), что можно объяснить принципиально другой химической природой MIR по сравнению с остальными КА. Обладая более длинными гидрофобными участками, молекулы MIR более глубоко проникали в модельный бислой и их взаимодействие с жирными кислотами приводило к упорядочиванию липидов в модельной мембране.

Добавление ОСТ в высокой концентрации способствовало формированию в бислое CL микродомена. При этом вначале происходило встраивание в бислой части молекул ОСТ с последующим стягиванием отрицательно заряженных липидов CL и PG в кластер. Часть молекул ОСТ, оставшаяся в «растворе», довольно быстро собиралась в один мицеллярный агрегат. Такое поведение молекул связано с большим числом гидрофобных участков в молекуле ОСТ (помимо терминальных концевых участков, между фрагментами пиридина присутствует длинный гидрофобный линкер). Мицеллярный агрегат сорбировался на молекулы ОСТ, находящиеся на

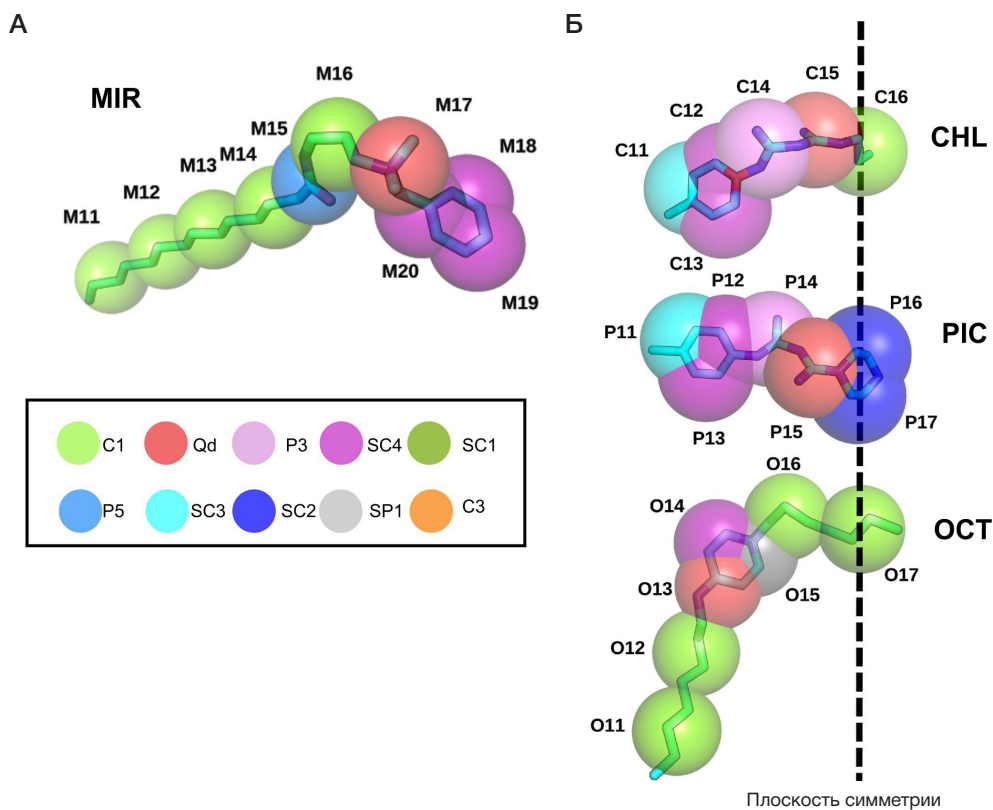


Рис. 1. Химические структуры КА с наложенными на них крупнозернистыми частицами. А. Мирамистин (MIR). Б. Хлоргексидин (CHL). В. Пиклоксидин (PIC); Г. Октенидин (ОСТ). Крупнозернистые частицы выделены разными цветами в соответствии с выбранными типами частиц в силовом поле MARTINI (нижняя часть панели А)

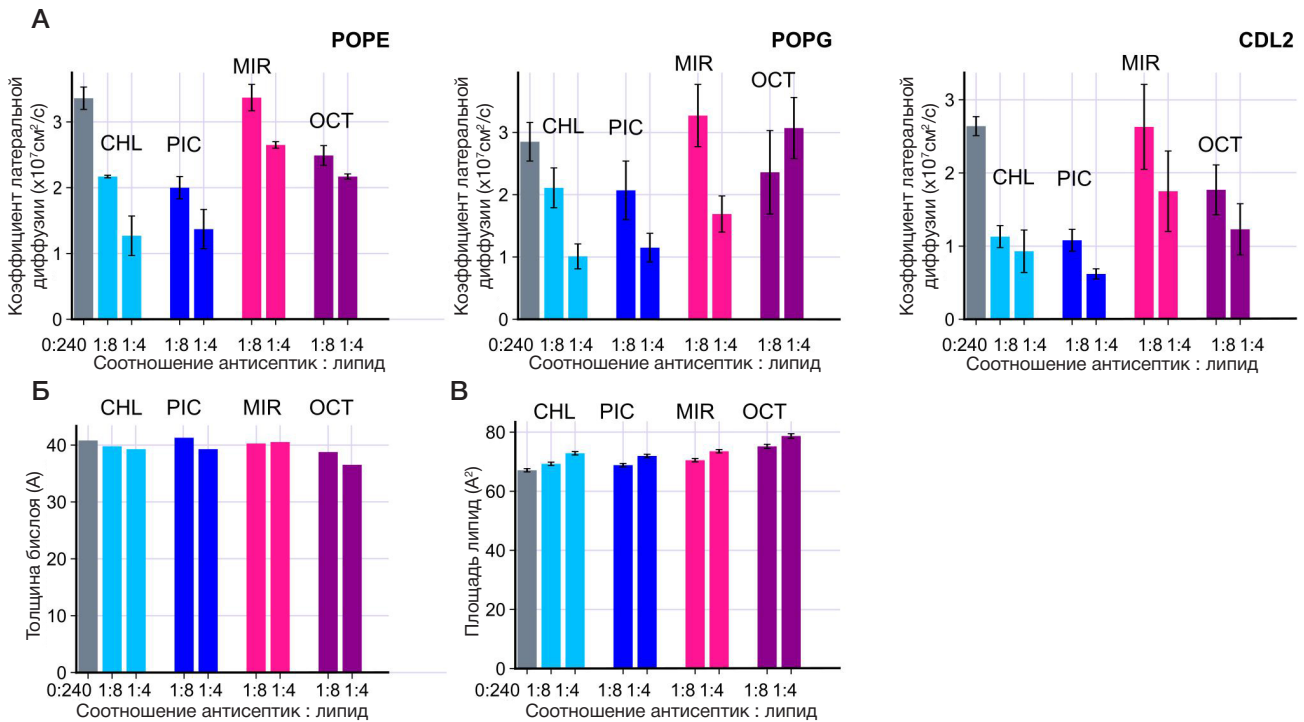


Рис. 2. Характеристики модельной мембраны состава POPE:POPG:CDL2 в присутствии КА в различной концентрации. **А.** Коэффициенты латеральной диффузии для липидов POPE (слева), POPG (посередине) и для CDL2 (справа). **Б.** Толщина бислоя. **В.** Площадь на липид. (Значения параметров для модельной мембраны без добавления КА показаны серым цветом)

сформированном CL микродомене (рис. 3А), и существовал в таком состоянии несколько микросекунд. При этом происходило нарушение симметричности расположения молекул POPE во внешнем и внутреннем монослое. Последнее подтверждается смещением пиков полярных голов липидов POPE во внешнем монослое относительно среднего положения фосфатов на профилях относительной плотности компонентов системы (рис. 3Б). Это происходит за счет того, что находящиеся рядом с CL доменом фосфаты полярных голов POPE липидов притягиваются к мицеллярному агрегату из молекул OCT. Начиная с момента времени примерно через 18 мкс МД расчета происходило постепенное вырывание молекул POPE, находящихся рядом с CL микродоменом (рис. 4А). Процесс вырывания длился около 2 мкс (рис. 4Б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Плазматические мембраны грамотрицательных и грамположительных бактерий различаются по составу. Для наиболее изученных модельных видов в таблице указаны соотношения между тремя преобладающими липидами. Из этих данных видно, что липид PE наиболее представлен в мембранах большинства видов грамотрицательных клеток по сравнению с грамположительными. Содержание CL, как правило, составляет не более 20% от общего количества, за исключением видов, в которых отсутствует PE. В плазматических мембранах таких видов содержание CL может достигать 50%.

На основании проведенных крупнозернистых МД расчетов нами показано, что все изученные КА встраиваются

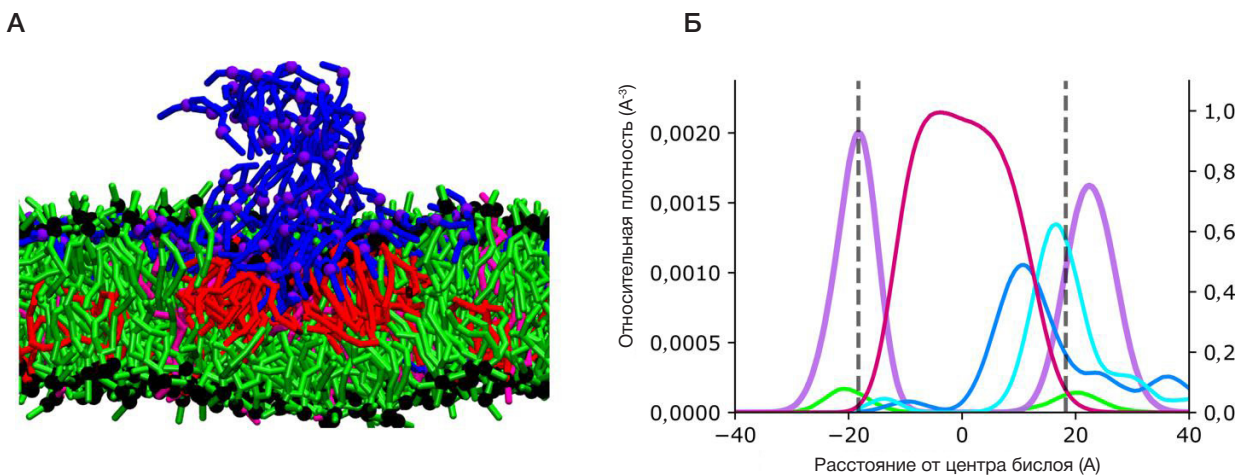


Рис. 3. Эффект кластеризации CDL2 в присутствии антисептика OCT в соотношении КА : липид 1 : 4. **А.** Кадр МД расчета в момент времени 15 мкс. Липиды POPE показаны зеленым, POPG — розовым, CDL2 — красным, OCT — синим. Остатки фосфатов показаны черным, заряженные частицы молекул OCT — фиолетовым. **Б.** Профили плотности различных компонентов модельной мембраны. Профиль плотности для жирнокислотных цепей липидов показан розовым, заряженные частицы OCT — циановым, терминальные частицы OCT — голубым, NH₃ частица (этанол) POPE липида — фиолетовым, GLO частица (глицерол) POPG липида — зеленым. Серыми пунктирными линиями отмечены положения фосфатов, проведенные через центры соответствующих пиков. Профили плотности для жирнокислотных цепей, нормированные на максимум пикового значения, показаны по второй оси ординат (справа)

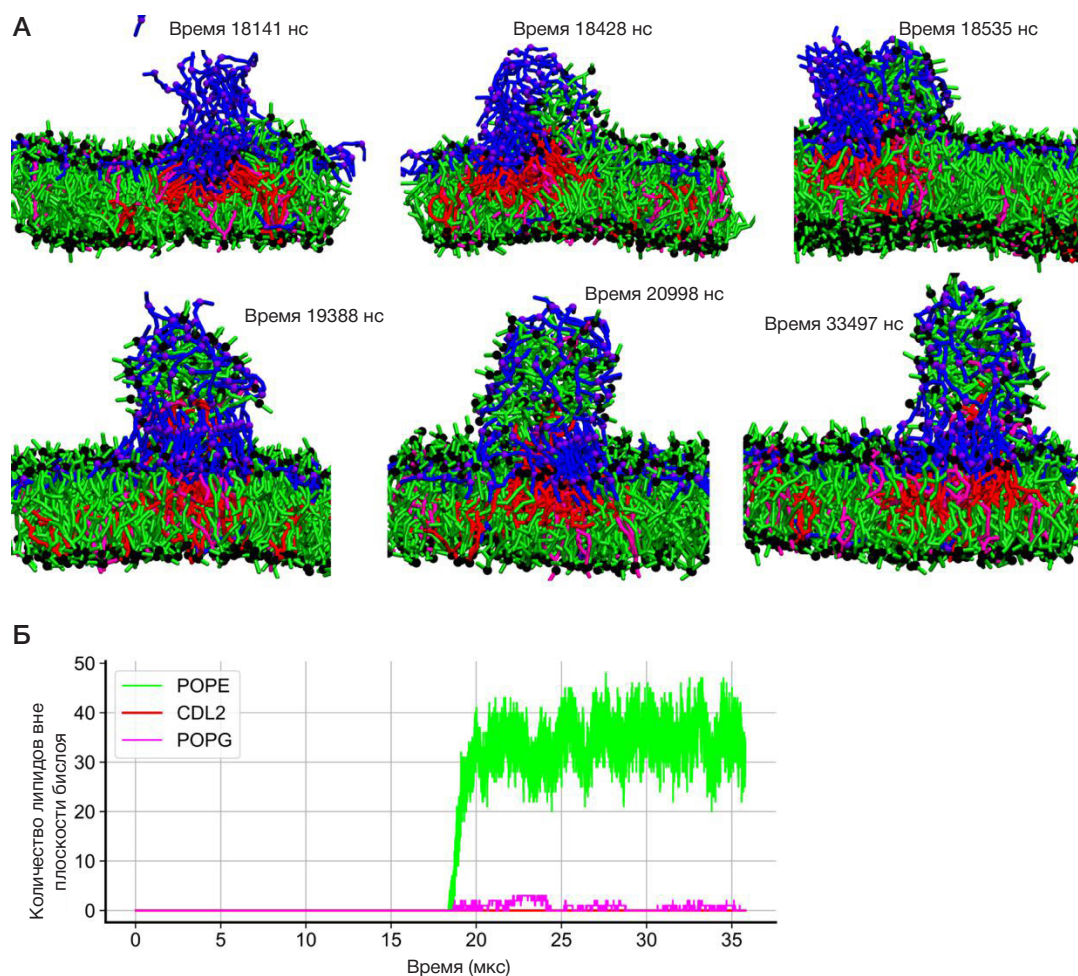


Рис. 4. Эффект вырывания липидов молекулами ОСТ из модельного бислоя. Соотношение КА : липид равно 1 : 4. **А.** Последовательные кадры МД расчета в разные моменты времени. Липиды POPE показаны зеленым, POPG — розовым, CDL2 — красным, ОСТ — синим. Остатки фосфатов показаны черным, заряженные частицы молекул ОСТ — фиолетовым. **Б.** Количество вырванных из бислоя липидов в зависимости от времени МД расчета

в модельный липидный бислой. Все исследованные КА снижали коэффициенты латеральной диффузии как нейтральных POPE, так и отрицательно заряженных липидов POPG и CDL2 (см. рис. 2А). Подвижность липидов жидкостно-мозаичных биологических мембран [25] играет важную роль для поддержания активности мембранных белков, участвующих во всех клеточных процессах, включая рост и дифференциацию клетки, транспорт веществ, клеточное дыхание. Подвижность липидов является мерой того, насколько легко данные биомолекулы могут перемещаться в плоскости бислоя, и оценивается через коэффициенты латеральной диффузии

[26], которые могут быть получены из результатов молекулярной динамики [27]. Уменьшение коэффициентов латеральной диффузии до 20% от исходного уровня выявлено при соотношении концентраций антимикробное вещество : липид как 1 : 5 [28, 29], что может негативно влиять на функциональное состояние мембраны.

Наиболее заметно снижение латеральной диффузии проявлялось по отношению к липиду CDL2, обладающему большим отрицательным зарядом (–2 по сравнению с –1 у POPG) и более массивной структурой. Наиболее слабый эффект на снижение латеральной диффузии проявлял MIR. Это может быть связано с тем, что молекулы MIR,

Таблица. Соотношение фосфатидилэтаноламина (PE), фосфатидилглицерола (PG), кардиолипина (CL) в составе плазматической мембраны некоторых видов грамотрицательных (–) и грамположительных (+) бактерий [13, 14]

Вид	PE, %	PG, %	CL, %
<i>Escherichia coli</i> (–)	80	15	5
<i>Yersinia kristensenii</i> (–)	60	20	20
<i>Proteus mirabilis</i> (–)	80	10	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (–)	82	5	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (–)	60	21	11
<i>Caulobacter crescentus</i> (–)	0	78	9
<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	0	58	42
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (+)	0	50	50
<i>Bacillus cereus</i> (+)	43	40	17
<i>Bacillus polymyxa</i> (+)	60	3	8

в отличие от остальных исследуемых КА, несут один положительный заряд и поэтому не способны связывать несколько липидов и образовывать протяженные участки относительно иммобилизованных липидов. Ярко выраженное замедление латеральной диффузии липидов в присутствии бигуанидов CHL и PIC также можно объяснить их химической природой. CHL и PIC, обладающие зарядом +2 и коротким линкером между заряженными частицами, способствовали формированию полужесткого каркаса, связывающего липиды в упорядоченные области в мембране.

При добавлении всех исследованных КА незначительно снижалась средняя толщина модельной мембраны и увеличивалась площадь, приходящаяся на одну молекулу липида (см. рис. 2). Все антисептики, за исключением MIR, нарушали упаковку жирных кислот липидов за счет расталкивания ацильных цепей своими встроенными в мембрану терминальными участками. Длинный хвост MIR напоминает по химической природе жирные кислоты липидов, поэтому его добавление приводило к упорядочиванию липидов в модельной мембране. Выявленные нами изменения в модельном бислое могут объяснять деструктивное действие антисептиков на функциональные и барьерные свойства плазматических мембран бактериальных клеток.

Антисептик OCT способствовал формированию в бислое CL микродомена, на который молекулы антисептика сорбировались в виде мицеллярного агрегата, вырывая из бислоя находящиеся рядом нейтральные липиды POPE. Подобные эффекты могут привести к наблюдаемому в эксперименте увеличению проницаемости везикул при добавлении OCT. На основе полученных экспериментальных результатов [30] был предложен следующий молекулярный механизм бактерицидного действия OCT. На начальном этапе OCT связывается с наружной бактериальной мембраной, вследствие чего происходит нейтрализация поверхностного заряда. Гидрофобные участки OCT взаимодействуют с ацильными цепями липида А, в результате чего возникает гидрофобное

несоответствие и нарушаются структура и целостность мембраны. Подобным образом молекулы OCT влияют и на плазматическую мембрану, вызывая ее деполяризацию, нарушение текучести и упаковки ацильных цепей фосфолипидов. В результате такого неспецифического действия в итоге обе мембраны клеточной стенки повреждаются, и внутриклеточное содержимое вытекает наружу. Полученные нами данные молекулярного моделирования о сорбции OCT на липидный бислой, снижении в присутствии OCT коэффициентов латеральной диффузии липидов и параметров порядка ацильных цепей подтверждают описанный в работе [30] механизм бактерицидного действия этого антисептика.

ВЫВОДЫ

На основе созданных крупнозернистых моделей КА из групп бигуанидов (CHL, PIC) и QAC (MIR, OCT) изучено их взаимодействие с CL-содержащим модельным бислоем, имитирующим состав плазматической мембраны на полюсах клеток палочковидных бактерий. Результаты МД-моделирования выявили как сходство, так и различие во влиянии различных КА на модельный бислой. При добавлении всех исследованных КА снижались коэффициенты латеральной диффузии липидов, незначительно уменьшалась средняя толщина мембраны и увеличивалось значение площади на липид. OCT при высокой концентрации способствовал образованию CL микродоменов с последующим вырыванием POPE липидов из модельной плазматической мембраны. Изучение взаимодействия КА с модельной бактериальной плазматической мембраной методами компьютерного моделирования позволило подтвердить на молекулярном уровне экспериментально установленные факты. Сравнение эффективности КА разной химической природы может оказать существенный вклад в создание новых эффективных препаратов и способствовать рациональному использованию антисептиков.

Литература

- Denyer SP, Hugo WB. Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. *Soc Appl Bacteriol Tech Ser.* 1991; 27: 171–87.
- Kroll RG, Patchett RA. Biocide-induced perturbations of aspects of cell homeostasis : intracellular pH, membrane potential and solute transport. *Soc Appl Bacteriol Tech Ser.* 1991; 27: 189–202.
- Russell AD, Hugo WB. Perturbation of homeostatic mechanisms in bacteria by pharmaceuticals. In: Whittenbury R, Gould GW, Banks JG, Board RG, editors. *Homeostatic mechanisms in microorganisms.* Bath University Press, Bath, England. 1988; p. 206–19.
- Fuller SJ. Biocide-induced enzyme inhibition. *Soc Appl Bacteriol Tech Ser.* 1991; 27: 235–49.
- Kuyyakanond T, Quesnel LB. The mechanism of action of chlorhexidine. *FEMS Microbiol Lett Oxford Academic.* 1992; 100 (1–3): 211–15.
- Cheung, HY, Wong MM, Cheung SH, Liang LY, Lam YW, Chiu SK. Differential actions of chlorhexidine on the cell wall of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. *PLoS One.* 2012; 7 (5): e36659.
- Страховская М. Г., Халатян А. С., Будзинская М. В., Холина Е. Г., Колюшкина Н. А., Коваленко И. Б. и др. Чувствительность антибиотикорезистентных коагулазонегативных стафилококков к антисептику пиклоксидину. *Клиническая практика.* 2020; 11 (1): 42–48.
- Gilbert P, Moore LE. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *J Appl Microbiol.* 2005; 99 (4): 703–15.
- Dolgushin FM, Goloveshkin AS, Ananyev IV, Osintseva SV, Torubaev YV, Krylov SS, et al. Interplay of noncovalent interactions in antiseptic quaternary ammonium surfactant Miramistin. *Acta Crystallogr Sect C International Union of Crystallography (IUCr).* 2019; 75 (4): 402–11.
- Vereshchagin AN, Frolov NA, Egorova KS, Seitkalieva MM, Ananikov VP. Quaternary Ammonium Compounds (QACs) and Ionic Liquids (ILs) as Biocides: From Simple Antiseptics to Tunable Antimicrobials. *Int J Mol Sci.* 2021; 22 (13): 67–93.
- Van Oosten B, Marquardt D, Komljenović I, Bradshaw JP, Sternin E, Harroun TA. Small molecule interaction with lipid bilayers: a molecular dynamics study of chlorhexidine. *J Mol Graph Model.* 2014; 48: 96–104.
- Amsterdam D, Ostrov BE. Disinfectants and antiseptics: Modes of action, mechanisms of resistance, and testing regimens. *Antibiotics in Laboratory Medicine.* Wolters Kluwer Health Adis (ESP), 2014; p. 1135–230.
- Lin TY, Weibel DB. Organization and function of anionic phospholipids in bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2016; 100 (10): 4255–67.
- Epand RM, Epand RF. Bacterial membrane lipids in the action of antimicrobial agents. *J Pept Sci.* 2011; 17 (5): 298–305.

15. Matsumoto K, Kusaka J, Nishibori A, Hara H. Lipid domains in bacterial membranes. *Mol Microbiol*. 2006; 61 (5): 1110–17.
16. Strahl H, Errington J. Bacterial Membranes: Structure, Domains, and Function. *Annu Rev Microbiol*. 2017; 71: 519–38.
17. Mileykovskaya E, Dowhan W. Cardiolipin membrane domains in prokaryotes and eukaryotes. *Biochim Biophys Acta — Biomembr*. Elsevier B.V. 2009; 1788 (10): 2084–91.
18. Romantsov T, Battle AR, Hendel JL, Martinac B, Wood JM. Protein localization in *Escherichia coli* cells: comparison of the cytoplasmic membrane proteins ProP, LacY, ProW, AqpZ, MscS, and MscL. *Journal of bacteriology*. 2010; 192 (4): 912–24.
19. Camberg JL, Johnson TL, Patrick M, Abendroth J, Hol WG, Sandkvist M. Synergistic stimulation of EpsE ATP hydrolysis by EpsL and acidic phospholipids. *The EMBO journal*. 2007; 26 (1): 19–27.
20. Kholina EG, Kovalenko IB, Bozdaganyan ME, Strakhovskaya MG, Orekhov PS. Cationic antiseptics facilitate pore formation in model bacterial membranes. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2020; 124 (39): 8593–600.
21. Qi Y, Inglyfsson HI, Cheng X, Lee J, Marrink SJ, Im W. CHARMM-GUI martini maker for coarse-grained simulations with the martini force field. *Journal of chemical theory and computation*. 2015; 11 (9): 4486–94.
22. Marrink SJ, Risselada HJ, Yefimov S, Tieleman DP, De Vries AH, et al. The MARTINI Force Field: Coarse Grained Model for Biomolecular Simulations. *J Phys Chem B*. 2007; 111 (27): 7812–24.
23. Abraham MJ, Murtola T, Schulz R, Pall S, Smith JC, Hess B, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *Software X*. 2015; 1: 19–25.
24. Yesylevskyy SO, Schäfer LV, Sengupta D, Marrink SJ. Polarizable water model for the coarse-grained MARTINI force field. *PLoS computational biology*. 2010; 6 (6): e1000810.
25. Singer SJ, Nicolson GL. The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes. *Science*. 1972; 175 (4023): 720–31.
26. Macháň R, Hof M. Lipid diffusion in planar membranes investigated by fluorescence correlation spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2010; 1798 (7): 1377–91.
27. Moradi S, Nowroozi A, Shahlaei M. Shedding light on the structural properties of lipid bilayers using molecular dynamics simulation: a review study. *RSC Adv. The Royal Society of Chemistry*. 2019; 9 (8): 4644–58.
28. John T, Thomas T, Abel B, Wood BR, Chalmers DK, Martin LL. How kanamycin A interacts with bacterial and mammalian mimetic membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2017; 1859 (11): 2242–52.
29. Berglund NA, Piggot TJ, Jefferies D, Sessions RB, Bond PJ, Khalid S. Interaction of the antimicrobial peptide polymyxin B1 with both membranes of *E. coli*: a molecular dynamics study. *PLoS computational biology*. 2005; 11 (4): e1004180.
30. Malanovic N, Ön A, Pabst G, Zellner A, Lohner K. Octenidine: Novel insights into the detailed killing mechanism of Gram-negative bacteria at a cellular and molecular level. *Int J Antimicrob Agents*. 2020; 56 (5): 106146.

References

1. Denyer SP, Hugo WB. Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. *Soc Appl Bacteriol Tech Ser*. 1991; 27: 171–87.
2. Kroll RG, Patchett RA. Biocide-induced perturbations of aspects of cell homeostasis: intracellular pH, membrane potential and solute transport. *Soc Appl Bacteriol Tech Ser*. 1991; 27: 189–202.
3. Russell AD, Hugo WB. Perturbation of homeostatic mechanisms in bacteria by pharmaceuticals. In: Whittenbury R, Gould GW, Banks JG, Board RG, editors. *Homeostatic mechanisms in microorganisms*. Bath University Press, Bath, England. 1988; p. 206–19.
4. Fuller SJ. Biocide-induced enzyme inhibition. *Soc Appl Bacteriol Tech Ser*. 1991; 27: 235–49.
5. Kuyyakanond T, Quesnel LB. The mechanism of action of chlorhexidine. *FEMS Microbiol Lett Oxford Academic*. 1992; 100 (1–3): 211–15.
6. Cheung, HY, Wong MM, Cheung SH, Liang LY, Lam YW, Chiu SK. Differential actions of chlorhexidine on the cell wall of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. *PLoS One*. 2012; 7 (5): e36659.
7. Strakhovskaya MG, Khalatyan AS, Budzinskaya MV, Kholina EG, Kolyshkina NA, Kovalenko IB, Zhukhovitsky VG. Chuvstvitel'nost' antibiotikorezistentnykh koagulazonegativnykh stafilokokkov k antiseptiku pikloksidinu. *Klinicheskaja praktika*. 2020; 11 (1): 42–48. Russian.
8. Gilbert P, Moore LE. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. *J Appl Microbiol*. 2005; 99 (4): 703–15.
9. Dolgushin FM, Goloveshkin AS, Ananyev IV, Osintseva SV, Torubaev YV, Krylov SS, et al. Interplay of noncovalent interactions in antiseptic quaternary ammonium surfactant Miramistin. *Acta Crystallogr Sect C International Union of Crystallography (IUCr)*. 2019; 75 (4): 402–11.
10. Vereshchagin AN, Frolov NA, Egorova KS, Seitkalieva MM, Ananikov VP. Quaternary Ammonium Compounds (QACs) and Ionic Liquids (ILs) as Biocides: From Simple Antiseptics to Tunable Antimicrobials. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (13): 67–93.
11. Van Oosten B, Marquardt D, Komljenović I, Bradshaw JP, Sternin E, Harroun TA. Small molecule interaction with lipid bilayers: a molecular dynamics study of chlorhexidine. *J Mol Graph Model*. 2014; 48: 96–104.
12. Amsterdam D, Ostrov BE. Disinfectants and antiseptics: Modes of action, mechanisms of resistance, and testing regimens. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Wolters Kluwer Health Adis (ESP), 2014; p. 1135–230.
13. Lin TY, Weibel DB. Organization and function of anionic phospholipids in bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016; 100 (10): 4255–67.
14. Epand RM, Epand RF. Bacterial membrane lipids in the action of antimicrobial agents. *J Pept Sci*. 2011; 17 (5): 298–305.
15. Matsumoto K, Kusaka J, Nishibori A, Hara H. Lipid domains in bacterial membranes. *Mol Microbiol*. 2006; 61 (5): 1110–17.
16. Strahl H, Errington J. Bacterial Membranes: Structure, Domains, and Function. *Annu Rev Microbiol*. 2017; 71: 519–38.
17. Mileykovskaya E, Dowhan W. Cardiolipin membrane domains in prokaryotes and eukaryotes. *Biochim Biophys Acta — Biomembr*. Elsevier B.V. 2009; 1788 (10): 2084–91.
18. Romantsov T, Battle AR, Hendel JL, Martinac B, Wood JM. Protein localization in *Escherichia coli* cells: comparison of the cytoplasmic membrane proteins ProP, LacY, ProW, AqpZ, MscS, and MscL. *Journal of bacteriology*. 2010; 192 (4): 912–24.
19. Camberg JL, Johnson TL, Patrick M, Abendroth J, Hol WG, Sandkvist M. Synergistic stimulation of EpsE ATP hydrolysis by EpsL and acidic phospholipids. *The EMBO journal*. 2007; 26 (1): 19–27.
20. Kholina EG, Kovalenko IB, Bozdaganyan ME, Strakhovskaya MG, Orekhov PS. Cationic antiseptics facilitate pore formation in model bacterial membranes. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2020; 124 (39): 8593–600.
21. Qi Y, Inglyfsson HI, Cheng X, Lee J, Marrink SJ, Im W. CHARMM-GUI martini maker for coarse-grained simulations with the martini force field. *Journal of chemical theory and computation*. 2015; 11 (9): 4486–94.
22. Marrink SJ, Risselada HJ, Yefimov S, Tieleman DP, De Vries AH, et al. The MARTINI Force Field: Coarse Grained Model for Biomolecular Simulations. *J Phys Chem B*. 2007; 111 (27): 7812–24.
23. Abraham MJ, Murtola T, Schulz R, Pall S, Smith JC, Hess B, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *Software X*. 2015; 1: 19–25.
24. Yesylevskyy SO, Schäfer LV, Sengupta D, Marrink SJ. Polarizable water model for the coarse-grained MARTINI force field. *PLoS computational biology*. 2010; 6 (6): e1000810.
25. Singer SJ, Nicolson GL. The Fluid Mosaic Model of the Structure

- of Cell Membranes. *Science*. 1972; 175 (4023): 720–31.
26. Macháň R, Hof M. Lipid diffusion in planar membranes investigated by fluorescence correlation spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2010; 1798 (7): 1377–91.
 27. Moradi S, Nowroozi A, Shahlai M. Shedding light on the structural properties of lipid bilayers using molecular dynamics simulation: a review study. *RSC Adv. The Royal Society of Chemistry*. 2019; 9 (8): 4644–58.
 28. John T, Thomas T, Abel B, Wood BR, Chalmers DK, Martin LL. How kanamycin A interacts with bacterial and mammalian mimetic membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2017; 1859 (11): 2242–52.
 29. Berglund NA, Piggot TJ, Jefferies D, Sessions RB, Bond PJ, Khalid S. Interaction of the antimicrobial peptide polymyxin B1 with both membranes of *E. coli*: a molecular dynamics study. *PLoS computational biology*. 2005; 11 (4): e1004180.
 30. Malanovic N, Ön A, Pabst G, Zellner A, Lohner K. Octenidine: Novel insights into the detailed killing mechanism of Gram-negative bacteria at a cellular and molecular level. *Int J Antimicrob Agents*. 2020; 56 (5): 106146.