

Исследование противомикробных свойств модифицированного эндолизина в составе альгинатных гелей для создания лекарственной формы местного применения

Чернецова А.Е.¹, Антонова Н.П.²

1 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: ani-nat2000@mail.ru*; 2 - Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Институт вирусологии им.Д.И.Ивановского, Москва, Россия, *E-mail: northernnatalia@gmail.com*

Устойчивость к антибиотикам среди бактерий становится более значимой проблемой из-за неконтролируемого применения противомикробных агентов. Существует потребность в создании новых эффективных и безопасных антибактериальных агентов, которые не вызывают развитие резистентности. Среди изучаемых подходов - разработка средств на основе литических ферментов бактериофагов (эндолизинов). Они отличаются меньшим риском развития резистентности у бактерий, высокой бактерицидной активностью, эффективны в отношении бактериальных пленок. Формулирование эндолизинов в гели на основе водорастворимых биополимеров, таких как альгинаты, обладающих хорошей биосовместимостью, и способствующих ранозаживлению, делает такие препараты перспективными в терапии раневых бактериальных инфекций.

Нами был получен рекомбинантный эндолизин LysAm24-SMAP, представляющий собой модифицированный двудоменный лизоцим-подобный фермент, и способный гидролизовать пептидогликан клеточной стенки грамотрицательных бактерий [1].

В ходе работы был изучен дозозависимый эффект фермента в отношении экспоненциально растущих клеток *A. baumannii* и установлено, что минимальная концентрация эндолизина, необходимая для проявления активности составляет 1 мкг/мл. Подбор оптимальных условий действия фермента для дальнейшего использования в лекарственной форме показал, что активность LysAm24-SMAP не зависит от растворителя, белок активен в диапазоне pH от 5,0 до 9,0 со снижением активности до 80% при нейтральных значениях pH.

Для формулирования противомикробных составов получали 1% и 0,5% гели на основе водорослевого альгината, приготовленные с использованием PBS pH=5,0; PBS pH=7,5 и 0,9% NaCl. В гели был введен эндолизин LysAm24-SMAP в конечной концентрации 1 мг/мл, для препаратов проводили оценку по трем параметрам: спектрофотометрическое определение концентрации фермента, ДСН-ПААГ электрофорез для оценки стабильности белка в составе препарата и оценка бактерицидной активности в отношении планктонных клеток модельного штамма *A. baumannii*. В результате, было установлено, что все варианты гелей проявляли активность, вне зависимости от растворителя и концентрации биополимера.

Также была оценена активность гелей в отношении биопленок *A. baumannii*, сформированных на покровных стеклах. Микроскопия препаратов, окрашенных кристаллическим фиолетовым, показала, что после двухчасовой инкубации с гелями (PBS, pH=7,5), содержащими LysAm24-SMAP в концентрации 1 мг/мл, значительно нарушена структура биопленки, по сравнению с PBS и контрольным гелем без лизина.

Результаты демонстрируют, что LysAm24-SMAP, инкапсулированный в гели на основе водорослевого альгината, проявляет высокую антибактериальную активность и обладает потенциалом для разработки противомикробных препаратов.

Источники и литература

- 1) 1. Antonova N.P., Vasina D.V., Lendel A.M. et al. Broad Bactericidal Activity of the Myoviridae Bacteriophage Lysins LysAm24, LysECD7, and LysSi3 against Gram-Negative ESKAPE Pathogens // Viruses. 2019. Vol. 11, №3. P. 284.