

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-331

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
НОВОГО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДОМИМЕТИКА КАМП-1*****EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE USE
OF A NEW ANTIMICROBIAL PEPTIDOMIMETIC SAMP-1**Е. М. Любушкина¹, Е. А. Бондарева^{1,2}, М. С. Солдатова¹, Д. В. Ярославцев¹¹*НИИ клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск*
²*Новосибирский государственный медицинский университет*E. M. Lyubushkina¹, E. A. Bondareva^{1,2}, M. S. Soldatova¹, D. V. Yaroslavtsev¹¹*Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the ICG SB RAS, Novosibirsk*
²*Novosibirsk State Medical University*✉ lizaveta.lyubushkina@list.ru**Аннотация**

Развитие резистентности к антибиотикам у бактерий является одной из основных проблем в современном мире и одной из самых больших угроз, с которыми сталкивается человечество. Поиск альтернативных противомикробных молекул привел к изучению антимикробных природных пептидов, на основе которых создаются синтетические пептидомиметики, которые обладают большей устойчивостью к протеолизу, метаболической стабильностью, меньшей гематотоксичностью.

В лаборатории АО «СЦФБ» был синтезирован короткий катионный пептидомиметик КАМП-1. Пептидомиметик не имеет микробной мишени, он взаимодействует за счет электростатических сил с мембраной микробных тел, вызывая перфорирование мембраны и потерю электролитов, приводящей к гибели прокариот. При помощи метода серийных разведений было установлено, что для аттестованных штаммов бактерий и грибов минимальная ингибирующая концентрация не превышала 100 мг/л, что делает его перспективным для дальнейшего изучения. При проведении эксперимента по острой токсичности был установлен диапазон токсических доз для мышей — 7,5–10,0 мг/кг и для крыс — 4,5–5,5 мг/кг. Токсический эффект проявлялся в течение первых нескольких минут и приводил к гибели подопытных, выжившие имели признаки здорового экстерьера, физиологическую прибавку веса. По истечении 14 дней выжившие испытуемые подвергались эвтаназии, при вскрытии у животных не было зафиксировано на макропрепаратах признаков токсического воздействия. Животные, погибшие в ходе эксперимента, при макроскопии имели признаки дистрибутивного шока. Результаты токсичности ведут к следующему этапу исследования КАМП-1 на культуре клеток для более детального изучения взаимодействия с мембраной эукариот.

Abstract

The development of antibiotic resistance in bacteria is one of the major problems in the modern world and one of the greatest threats facing humanity. The search for alternative antimicrobial molecules has led to the study of natural antimicrobial peptides, which serve as the basis for creating synthetic peptidomimetics. These synthetic versions are more resistant to proteolysis, have greater metabolic stability, and exhibit less hematotoxicity.

The short cationic peptidomimetic SAMP-1 was synthesized in the laboratory of JSC “SCPБ”. Peptidomimetics do not have a specific microbial target; instead, they interact with microbial membranes through electrostatic forces, causing membrane perforation and electrolyte loss, which leads to the death of prokaryotes. Using the serial dilution method, it was determined that the minimum inhibitory concentration for certified strains of bacteria and fungi did not exceed 100 mg/L, making it promising for further study. In the acute toxicity experiment, the range of toxic doses was determined to be 7,5–10,0 mg/kg for mice and 4,5–5,5 mg/kg for rats. The toxic effect manifested within the first few minutes and led to the death of the test subjects; survivors showed signs of a healthy appearance and physiological weight gain. After 14 days the surviving test subjects were euthanized, and no signs of toxic effects were observed in the macroscopic examination of the animals. Animals that died during the experiment exhibited signs of distributive shock upon macroscopic examination. The toxicity results prompt the next stage of research on SAMP-1 using cell cultures to study its interaction with eukaryotic membranes in more detail.

Введение

Способность микроорганизмов образовывать антибиотик без навыка быть устойчивым к нему не имеет смысла. В борьбе с устойчивостью к антибиотикам человечество проигрывает. Сейчас существует серьезная угроза перехода в постантибиотический мир. Поиск новых альтернативных молекул антибиотикам привел к синтетическим пептидомиметикам, которые берут идею своего происхождения от природных антимикробных пепти-

* Работа выполнена по теме государственного задания № FWNR-2024-0005.
© Е. М. Любушкина, Е. А. Бондарева, М. С. Солдатова, Д. В. Ярославцев, 2024

дов, являющимися представителями врожденного иммунитета у всех животных. В лаборатории АО «СЦФБ» синтезировали инновационный короткий катионный пептидомиметик КАМП-1, требующий дальнейшего изучения.

Цель исследования — изучить противомикробную активность и параметры острой токсичности КАМП-1.

Материалы и методы

КАМП-1 состоит из трех L-аминокислот, две из которых синтетические. Является амфифильной молекулой с положительным зарядом и через электростатическое взаимодействие связывается с мембраной микроорганизма, которая имеет отрицательный заряд, это приводит к образованию пор в мембране микроорганизма, отток анионов, деполаризацию мембраны и гибель микроорганизма.

Антимикробную активность КАМП-1 определяли при помощи метода серийных разведений пептидомиметика с использованием тест-культур сертифицированных штаммов бактерий и грибов с определением минимальной ингибирующей концентрацией (МИК). Провели исследование острой токсичности на двух видах грызунов: крысах и мышах. Раствор КАМП-1 в различных концентрациях однократно внутривенно вводили лабораторным животным и ежедневно наблюдали за ними в течение 14 дней. Высчитывали при помощи программа StatPlus диапазон летальных доз.

Результаты

КАМП-1 продемонстрировал ингибирующую способность к аттестационным штаммам. Согласно ВОЗ, вещество является перспективным антимикробным средством в случае, если его МИК не превышает 100 мг/л. Пептидомиметик имел МИК для сертифицированных грам «+» штаммов (*S. aureus* ATCC 6538, *B. cereus* ATCC 10702, *Corynebacterium hoffmani* K22) в 15 раз меньше, для грам «-» штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 в 12 раз меньше, а для *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 в 1,67 раз меньше, для штаммов грибов (*Candida albicans* NCTC 885-653, *Candida glabrata* KY22, *Candida parapsilosis* KY23, *Candida krusei* PY22, *Candida tropicalis* PY23) от 1,25–2,5 раза меньше максимально допустимого предела, что делает его перспективной фармацевтической субстанцией с антибактериальным и противогрибковым действием.

При проведении эксперимента по острой токсичности максимальная концентрация КАМП-1, при которой не регистрировали гибель мышей и крыс, были 7,0 мг/кг и 4,0 мг/кг соответственно. У аутбредных мышей в диапазоне доз 7,5–10,0 мг/кг и у аутбредных крыс 4,5–5,5 мг/кг регистрировался токсический эффект, который проявлялся гибелью животных в течение первых минут после введения вещества. Симптомы токсического воздействия были однотипны и имели последовательность в проявлении: заторможенность реакции, сохранение естественного положения — на четырех лапах, нереагирование на звуковые раздражители, отказ от еды и воды, учащенное дыхание по типу грудно-брюшного и последующее возникновение клинических судорог. Некоторые испытуемые восстанавливали витальные функции: в диапазоне доз 7,5–9,5 мг/кг у мышей и 4,5–5,0 мг/кг у крыс. Между самками и самцами не было разницы при воздействии КАМП-1. При вскрытии не были выявлены макроскопические изменения внутренних органов (легкие, сердце, печень, головной мозг, селезенка, кишечник). Гибель животных в эксперименте наступала от дистрибутивного шока, вероятнее всего, спровоцированного пептидомиметиком при взаимодействии с рецепторным аппаратом эндотелия. Результаты по выявленным летальным дозам исследуемой субстанции представлены в таблице.

Параметры острой токсичности после однократного внутривенного введения КАМП-1 у лабораторных животных

Группа животных	LD ₁₀ , мг/кг	LD ₅₀ , мг/кг	LD ₉₀ , мг/кг
Аутбредные мыши	7,48	8,88	10,28
Аутбредные крысы	4,11	4,63	5,16

Требуется дальнейшее изучение КАМП-1 в формате требований регистрационного досье лекарственного препарата.

Выводы

- КАМП-1 является перспективным противомикробным средством, что подтверждается МИК, не превышающей 100 мг/л в отношении грам «+» и грам «-» штаммов, а также штаммов грибов.
- У КАМП-1 регистрируется дозозависимый летальный эффект и диапазон остротоксических доз для мышей 7,5–10 мг/кг и для крыс 4,5–5,5 мг/кг.