

Analyzed indicators of reproduction in cows on the farm Sverdlovsk region. The presence of abortion, in average, 15% of the cows. Serological testing showed the presence of antibodies to *Chlamydomypha abortus* in 65% of aborted cows, 79% heifers.

УДК: 615.322

РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН ЛЕКАРСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ БЕТА-ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ

Негметжанов Б. М., магистрант 2-го курса кафедры
биотехнологии растений и микробиологии

Научный руководитель: к.б.н., доцент Ургалиев Ж. Ш.

Евразийский Национальный университет им. Л. Н. Гумилева,
г. Астана, Казахстан

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, рациональный дизайн, фармакология

Благодаря развитию технологии Rational Drug Design (метод рационального дизайна), а также углублению знаний о взаимодействии лекарственных веществ и их мишеней, появились новые возможности по быстрому и эффективному созданию новых препаратов. В результате проведенной работы планируется создать образцы конкретных лечебных и профилактических препаратов для заболеваний вызванных патогенами *Staphylococcus aureus*, в настоящее время относящихся к категории трудноизлечимых или неизлечимых. Положительные результаты этих исследований могут положить начало к созданию новых направлений в биологической и химической фармацевтической индустрии в Казахстане.

Основной задачей этого проекта является разработка системы тестирования циклодекстриновых (CD) поро-блокирующих соединений *in vitro*, с использованием ранее созданных CD -производных. А также, синтез замещенных β -CD производных и создание библиотеки этих соединений; проверка эффективности *in vitro* и *in vivo* селективированных CD соединений для блокирования пор, вызванных гемолизином золотистого стафилококка, вызывающего тяжелые формы легочной пневмонии и кожных заболеваний.

Золотистый стафилококк (*S. aureus*) вызывает пневмонию, бактеремию, инфекции кожи и мягких тканей, остеомиелит, септический артрит, а также усугубляет синдромы вызванные другими токсинами, желудочно-кишечные заболевания индуцированные энтеротоксинами, и шелушения кожи, вызванные эпидермолитическими токсинами [1].

В последнее десятилетие резко увеличилось число заболеваний тяжелой пневмонии среди взрослых и детей. В связи с увеличением устойчивости к противомикробным препаратам среди штаммов золотистого стафилококка и

появление новых вирулентных штаммов, значительно повысилась стоимость лечения и количество смертельных случаев [2].

Токсин альфа гемолизина из *S. aureus* является основным фактором вирулентности. Данный токсин образует трансмембранные каналы в мембранах клеток, которые приводят к распаду клетки. Этот процесс является спонтанным, промежуточные продукты образования гептамерных пор были проанализированы Кауатэ и Го [3].

Некоторые производные β -CD показали защитную активность в мышинной модели *S. aureus* пневмонии и могут быть использованы как потенциальные ингибиторы альфа токсинов стафилококка [4. 5]. Таким образом, β -CD является потенциальным кандидатом для разработки лекарственных препаратов на его основе путем дериватизации разными функциональными группами. В результате проведенной работы будут созданы новый принцип и методология по получению лекарственных препаратов.

Материалы и методы

Гемолиз кроличьих эритроцитов (скрининг производных β -циклодекстрина)

Цельная кровь разводится до концентрации 1:10 в фосфатно-буферном растворе 1X до получения 10% целой крови. Сепарация эритроцитов происходит после центрифугирования на скорости 1500 об/мин. Для приготовления рабочего раствора используется 10% целая кровь с достаточным количеством фосфатно-буферного раствора 1X (пропорция 1:4). Приготавливаются последовательно разбавленные растворы бета-ЦД в 1X PBS (2X): 400мМ, 200мМ, 100мМ, 50мМ, 25мМ, 12.5мМ, 6.25мМ, 3.125мМ, 1.56мМ и заполняются в соответствующие ячейки по 100мкл, такое же количество фосфатно-буферного раствора используется как негативный контроль (0% лизиса). 10мкл-гемолизина (2 единицы/мкл) добавляются в каждую ячейку в нижней части плашки. Инкубируется при комнатной температуре в течение 1 часа. После инкубирования центрифугируется на скорости 1500 об/мин в течение 5 мин. Затем 40 мкл содержимого ячеек перемещаются из плашки с круглым дном в плашку с плоским дном и добавляется 160 мкл фосфатно-буферного раствора. Содержимое плашки смешивается для получения однородности мультиканальной пипеткой и абсорбция измеряется на спектрофотометре (Elx808 Bio-Tek Instruments) при 405 нм.

Результаты

Были синтезированы соединения производных бета-циклодекстрина в качестве потенциальных поро-блокаторов и протестированы *in vitro*. В ходе синтеза были учтены такие аспекты, как разнообразие полости соединения при помощи добавления гидрофильных и гидрофобных групп, удлинение функциональных групп для эффективного взаимодействия и увеличения размера (диаметра) соединения. В результате, получено 9 новых амид-производных соединений. Все производные β -ЦД были протестированы на их способность защиты клеток от α -ГЛ бактерии *S. aureus* при концентрации 25 μ М (Рисунок 1). В результате проведенного скрининга высокую эффективность показали соединения NM-018, NM-046 и NM-047. При концентрации 25 μ М,

они имеют достаточно низкий уровень гемолиза клеток, учитывая физиологический лизис клеток и в сравнении с фосфатно-буферным раствором (PBS).

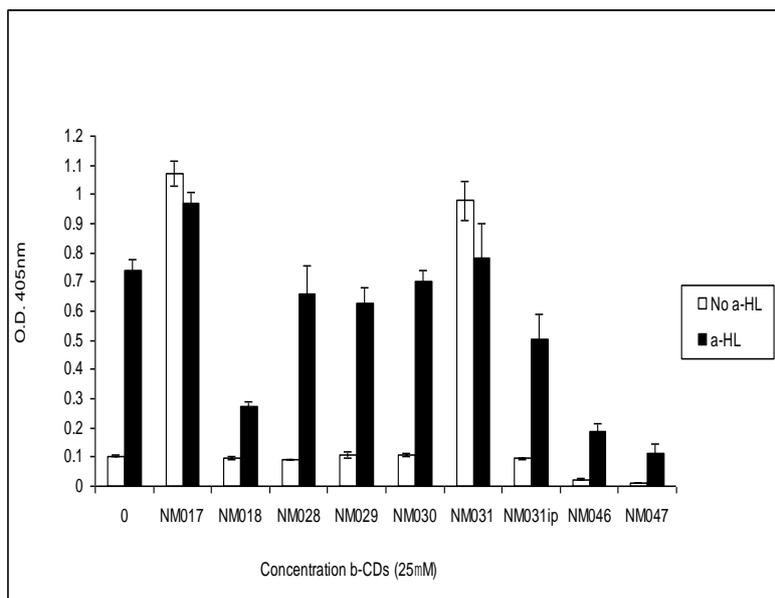


Рис.1. Скрининг защиты эритроцитов кролика от лизиса α -токсина

Библиографический список

1. Lowy, F. D. (1998). "Staphylococcus aureus infections." *N Engl J Med* 339(8): 520-532.
2. Chambers, H. F. (2005). "Community-associated MRSA--resistance and virulence converge." *N Engl J Med* 352(14): 1485-1487.
3. Bubeck Wardenburg, J., et al. (2007). "Surface proteins and exotoxins are required for the pathogenesis of Staphylococcus aureus pneumonia." *Infect Immun* 75(2): 1040-1044.
4. Kawate, T. and E. Gouaux (2003). "Arresting and releasing Staphylococcal alpha-hemolysin at intermediate stages of pore formation by engineered disulfide bonds." *Protein Sci* 12(5): 997-1006.
5. Schlievert, P. M., et al. (2010). "Secreted virulence factor comparison between methicillin-resistant and methicillin-sensitive Staphylococcus aureus, and its relevance to atopic dermatitis." *J Allergy Clin Immunol* 125(1): 39-49.

RATIONAL DRUG DESIGN BASED ON BETA CYCLODEXTRIN DERIVATIVES

Negmetzhanov BM, Urgaliev J. Sh.

Staphylococcus aureus is one of the most significant causes of serious hospital- and community-acquired bacterial infections, contributing to morbidity and mortality in individuals of all ages. Novel approaches to both prevent and treat S. aureus-mediated invasive pulmonary and other infections, especially methicillin-resistant S. aureus (MRSA), are necessary. Our approach is based on the principle of pore blocking. Pores are made by the bacterial toxins to evade host's cells. We use structural information of the pore and utilize computer modeling to make more effective chemical drugs based on β -cyclodextrin (β -CD) derivatives.