

**КОМБИНИРОВАННЫЕ ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА
ОСНОВЕ HIS₆-ОРН С ВЫСОКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ
ДЕЙСТВИЯ В ОТНОШЕНИИ ПАТОГЕННЫХ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК**

Создание новых антимикробных препаратов, для преодоления устойчивости патогенных микроорганизмов к их воздействию является одной из главных задач XXI века. Высокореzистентные популяции бактериальных клеток развиваются благодаря их способности взаимодействовать друг с другом посредством сигнальных молекул и формировать так называемый кворумный ответ (Quorum Sensing, QS. Многие грамотрицательные бактерии в качестве таких сигнальных молекул-автоиндукторов QS используют лактонсодержащие соединения (различные N-ацилгомосеринлактоны, АГЛ). Прерывание QS (quorum quenching, QQ) путем ферментативного гидролиза молекул АГЛ является одним из перспективных путей решения проблемы формирования резистентности. Фермент гексагистидинсодержащая органофосфатгидролаза (His₆-ОРН) относится к числу ферментов способных к QQ [1]. Ранее было установлено, что комплексы His₆-ОРН и различных β-лактамных антибиотиков увеличивают эффективность действия и фермента, и антибиотиков, а также расширяют субстратный спектр действия фермента в такой комбинации по отношению к разным молекулам АГЛ [2,3]. Для создания стабильных форм фермента His₆-ОРН и применения их *in vivo* эффективным оказалось использование полиэлектrolитных комплексов фермента с полипептидами (полиаспарагиновой и полиглутаминовой кислотами) [4,5].

Сегодня активно накапливается научная информация о разнообразных полипептидах с антимикробными свойствами (АМП), выделяемых из разных источников, различающиеся между собой по числу аминокислотных остатков (от 10 до 50) и их последовательности в пептидной структуре. Высокая антимикробная активность, широкий спектр действия и отсутствие резистентности к действию АМП у различных микроорганизмов позволяет рассматривать их в качестве потенциальной альтернативы для известных и применяемых антибиотиков. Следовательно, очевиден

интерес к возможному получению их комбинаций с His₆-ОРН как QQ-ферментом. Замена ранее изученных полиаминокислот (полиаспарагиновой и полиглутаминовой кислот), в составе полиэлектролитных комплексах с His₆-ОРН, на АМП, специально подобранные для подобных комплексов, может в потенциале позволить не только осуществить стабилизацию фермента в комплексе с новыми полипептидами, но и придать таким системам двойные свойства: сохранить каталитическую активность His₆-ОРН как QQ-фермента, гидролизующего молекулы АГЛ, и привнести вместе с АМП дополнительные антимикробные свойства.

В данной работе была исследована возможность комбинирования His₆-ОРН с различными АМП для получения каталитически активных ферментных комплексов с высокой стабильностью, способностью к QQ и потенциальным антимикробным действием. Для этого, с помощью метода молекулярного докинга были смоделированы комплексы АМП и His₆-ОРН и были изучены различные параметры взаимодействия (средство, заряд, площадь контакта и т. Д.) в полученных моделях.

Было показано, что как анионные, так и катионные полипептиды связываются с His₆-ОРН с незначительным влиянием их заряда, что значительно отличается от существующей концепции взаимодействия между зарядами при образовании комплексов между пептидами. Наноконплексы His₆-ОРН с индолицидин и темпорин А были отобраны для экспериментальных исследований и была показана эффективность функционирования в них таких комплексов.

Выполнено при финансовой поддержке РФФ грант 16-14-00061.

ЛИТЕРАТУРА

1 Maslova, O.V.; Senko, O.V.; Stepanov, N.A.; Aslanli, A.G.; Efremenko, E.N. His₆-ОРН and its stabilized forms combating quorum sensing molecules of gram-negative bacteria in combination with antibiotics. *Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod.* 2017, 12(3).

2 Aslanli, A.G.; Lyagin, I.V.; Efremenko, E.N. Novel approach to Quorum Quenching: rational design of antibacterials in combination with hexahistidine-tagged organophosphorus hydrolase. *Biol. Chem.* 2018, 399(8), 869–879.

3 Maslova, O.; Aslanli, A.; Stepanov, N.; Lyagin, I.; Efremenko, E. Catalytic characteristics of new antibacterials based on hexahistidine-containing organophosphorus hydrolase. *Catalysts.* 2017, 7(9), 271.

4 Efremenko, E.N.; Lyagin, I.V.; Klyachko, N.L.; Bronich, T.; Zavyalova, N.V.; Jiang, Y.; Kabanov, A.V. A simple and highly effective

catalytic nanozyme scavenger for organophosphorus neurotoxins. *J. Control. Release.* 2017, 247, 175–181.

5 Lyagin, I.V.; Efremenko, E.N. Biomolecular engineering of biocatalysts hydrolyzing neurotoxic organophosphates. *Biochimie.* 2018, 144, 115–121.