

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-8-3-9
© Коллектив авторов, 2021

К. В. Кудрявцев*, Т. А. Федотчева, Н. Л. Шимановский

ИНГИБИТОРЫ СОРТАЗ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ И ИХ РОЛЬ В ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР)

ФГАОУ ВО “Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова” Минздрава России, Россия, 119435, Москва, ул. Б. Пироговская, 9А.

* e-mail: konstantin@kudryavtsev.ru

В обзоре приведены данные о функциях ферментов сортаз и их субстратов — поверхностных белков, и их роли в патогенезе таких инфекционных заболеваниях, как пневмония, инфекционный эндокардит, инфекционный артрит, мастит, заболевания кожи и желудочно-кишечного тракта. Значимость сортаз и поверхностных белков в патогенезе данных заболеваний описана на животных моделях. Приведены данные о перспективных ингибиторах сортаз — натуральных и синтетических, как возможных соединений для лечения инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: сортаза; поверхностные белки; адгезия; *S. aureus*; *E. faecalis*; *C. difficile*; эндокардит; артрит; пневмония; мастит; ингибиторы сортаз.

Грамположительные бактерии являются причиной нозокомиальных и внебольничных инфекций, сопровождающихся высокой смертностью. Кроме того, устойчивость к грамположительным патогенам, таким как *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* и *Enterococcus faecalis* и поиск путей её преодоления является одной из важнейших проблем фармакологии мирового масштаба.

За последнее десятилетие сформировалась альтернативная стратегия поиска фармакологической коррекции антибиотикорезистентности — многие исследования теперь нацелены на поиск путей снижения вирулентности патогенов без уничтожения или подавления роста бактерий, что способствует развитию в организме механизмов сопротивления [1].

Вирулентность грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* связана с поверхностными белками и адгезинами на клеточной стенке, закрепление которых осуществляет фермент сортаза. Сортазы представляются идеальной мишенью для борьбы с бактериальными инфекциями, так как, во-первых, подавление активности сортазы не будет сопровождаться резистентностью (бактерия не гибнет и не останавливается её рост). Во-вторых, сортаза локализуется поверхностно, на стенке бактерии, что облегчает доступ потенциальных ингибиторов к ней. В-третьих, гомологичных сортазам ферментов нет у эукариот, что является очевидным преимуществом в избирательности действия будущих не антибиотиков, а “антивирулентов”, “антиадгезинов”, “антипилинов” [2].

Сортазы и их функции

Грамположительные бактерии используют ферменты сортазы (цистеиновые транспептидазы) для ковалентного прикрепления белков к своей клеточной стенке и для сборки пилей. У патогенных бактерий сортазы являются потенциальными мишенями для лекарственных средств, поскольку многие из белков, которые они экспрессируют на поверхности, играют ключевую роль в патогенезе инфекции. Более того, стафилококковая сортаза А — *Staphylococcus aureus* Sortase A (SaSrtA) стала ценным биохимическим реактивом из-за её способности связывать биомолекулы *in vitro* посредством ковалентной пептидной связи [3].

На основании различий в первичных аминокислотных последовательностях сортазы можно разделить на шесть отдельных подсемейств, называемых ферментами классов А – F. Специфические для класса вариации в структуре фермента обеспечивают специфическое распознавание субстрата, и поэтому исследование структуры сортаз может помочь созданию альтернативных субстратов — миметиков сортаз. Транспептидазная активность SaSrtA по крайней мере в 20 раз выше, чем у других сортаз, и изучена наиболее детально. Существует два основных типа сортаз: (1) сортазы “заякорения” клеточной стенки, которые прикрепляют белок к кросс-мостиковому пептиду клеточной стенки, и (2) сортазы — пилин-полимеразы, которые ковалентно связывают субъединицы пилей вместе посредством лизин-изопептидных связей. В обоих случаях ферменты действуют как транспептидазы. Некоторые сортазы способны выполнять обе функции: прикреплять белки к клеточной стенке и полимеризовать пили.

Сортазы класса А в основном закрепляют поверхностные белки, ферменты класса В выполняют разнообразные функции, причем представители этого подсемейства либо прикрепляют белки к клеточной стенке, либо действуют как полимеразы пилина, которые собирают пили. Сортазы класса С могут функционировать как полимеразы, которые связывают белки пилина вместе через лизин-изопептидные связи с образованием пилей [4]. Сортазы класса D преобладают у различных видов бацилл и распознают необычную последовательность LPXТА, в которой аланин заменяет остаток глицина. Ферменты класса Е преобладают в почвенных и пресноводных актинобактериях и практически совсем не изучены. Компьютерное моделирование показало, что ферменты этой группы распознают необычный сортировочный сигнал LАХТG, в котором высококонсервативный остаток пролина заменен на аланин.

Функциональность и 3D-структуры как самих сортаз, так и их кластеров с пилиями практически не изучены. Сортазы класса В скорее всего работают как вспомогательные сортазы (например, *C. difficile* sortase В) или играют роль в усвоении железа (стафилококковая сортаза В — Sau-SrtB). Вызывает вопрос необходимость вовлечения столь огромных бактериальных ресурсов на продукцию пилей. Возможно, именно избыточность и универсальность поверхностных адгезинов помогают патогенам адаптироваться к ответу хозяина и избегать его; множественные типы пилей способствуют выживанию бактерий и развитию инфекций [5].

У *S. aureus* сортаза А специфически распознает последовательность LPXТG, а сортаза В — последовательность NPQTN. В случае *S. pyogenes* как сортаза А, так и сортаза В распознают белки с последовательностью LPXТG, но “заякоривают” разные белки. Было высказано предположение, что дифференцированное распознавание обусловлено аминокислотными остатками, расположенными непосредственно после мотива LPXТG. В случае SrtA все четыре белка, которые она “заякоривает”, имеют кислый (отрицательно заряженный) остаток, следующий сразу за мотивом LPXТG [6].

SrtA важна как на ранних, так и на более поздних стадиях инфекции, потому что адгезины и белки иммунного уклонения, которые она “заякоривает”, необходимы на всех стадиях. Хотя обе сортазы *S. aureus* являются факторами вирулентности, их влияние на течение инфекции различно и, вероятно, связано с функциями белков клеточной стенки, которые они “заякоривают”. Следовательно, значимость той или иной сортазы в инфекционном процессе определяется функцией белков клеточной стенки, которые она “заякоривает”. В связи с этим в различных животных моделях одна и та же сортаза может по-разному влиять на вирулентность [7]. Интересно, что гены сортаз обнаруживаются рядом с генами белков клеточной стенки, которые они “заякоривают”, на так называемом “островке патогенности” [7].

Факторы вирулентности, кодируемые островками патогенности, отвечают за различные этапы инфицирования: инвазию и локальный процесс, за выживаемость внутри фагоцитов или генерализацию процесса.

Роль сортаз в патогенезе инфекционных заболеваний

Септический артрит

Теоретически все известные бактерии могут вызвать септический артрит (СА) — деструктивное поражение суставов, обусловленное непосредственной инвазией синовиальной оболочки патогенными микроорганизмами. Однако на протяжении последних 40 лет наиболее распространенным этиологическим фактором СА остается *S. aureus*, являющийся причиной 80 % случаев инфекций суставов у больных ревматоидным артритом (РА). Данный патоген также выделяют наиболее часто (70 – 80 %) при инфекционном коксите и полиартикулярных вариантах СА, при этом прослеживается четкая тенденция к нарастанию метициллинрезистентных штаммов возбудителя (MRSA). В абсолютном большинстве случаев (80 – 90 %) поражается один сустав, чаще коленный или тазобедренный [8].

Антибактериальная терапия не дает 100 % эффективности, на последнем съезде экспертов Европейской противоревматической лиги (EULAR) в 2019 г. активно обсуждались безопасность и иммуногенность вакцинации, необходимость исследования роли различных патогенных факторов бактерий в патогенезе артритов.

Значение сортаз в патогенезе артритов преимущественно исследуется на мышинных моделях инфицирования *S. aureus*. Индуцирование СА внутривенным введением бактерий мышам и последующий анализ патологических анатомических поражений суставов, вызванных реплицированием микроорганизмов в них, продемонстрировали значительное снижение вирулентности srtA-мутантного штамма по сравнению с бактериями, обладающими способностью переносить и связывать поверхностные белки [9].

Так как *S. aureus* является как внутриклеточным, так и внеклеточным патогеном, способным проникать и размножаться в нейтрофилах, остеобластах и эпителиальных клетках молочных желез, его внутриклеточная локализация может быть причиной хронической предрасположенности к септическому артрит у вылеченных пациентов. Таким образом, эффективная вакцина должна воздействовать как на внеклеточные, так и на внутриклеточные формы бактерии. В исследованиях с использованием рекомбинантных адгезионных молекул были продемонстрированы преимущественно гуморальный ответ и частичная защита от инфекционного заражения. Такие же результаты были получены и с использованием рекомбинантных поверхностных белков [10]. Следовательно, для создания вакцины недостаточно использование какого-либо отдельного белка — адгезина. Одна из новых технологий, которая потенциально может способствовать комплексному

ответу, — это ДНК-вакцинация с использованием не одного, а целого комплекса генов — как молекул адгезии и поверхностных белков, так и распознающих ферментов — сортаз.

Определенные клетки и молекулы приобретенного иммунитета усиливают тяжесть инфекции — это одно из звеньев патогенеза СА. Другое звено — экспрессия адгезинов, связанных с вирулентностью, которая регулируется генетическими регуляторными элементами (например, *agr* и *sarloci*), а также сортазами. Оба типа регулирования важны для исхода артрита, вызванного *S. aureus*. Показано, что инактивация локусов сортазы А приводит к отчетливому улучшению течения септического артрита [11].

Поэтому принципиально новым решением проблемы инфекционных артритов может стать введение вакцины рекомбинантных белков в комплексе — сортазы, адгезины и фибронектины, так как в моделях на животных показана роль всех трех компонентов инфицирования.

Кожные инфекции

Вторая группа болезней, вызываемых золотистым стафилококком, — это кожные инфекции, от легких до опасных для жизни. *S. aureus* является самой частой причиной возникновения таких кожных болезней и болезней мягких тканей, как импетиго, фолликулит, эктима, абсцессы, фурункулы и карбункулы, флегмона, пиомиозит и фасциит, гнойный гидраденит и т.д. Даже местные инфекции кожи могут привести к бактериемии, не говоря о том, что после антибиотикотерапии часто возможно реинфицирование и хроническое течение.

Механизмы вирулентности *S. aureus* при этих инфекциях остаются малоизученными. Для исследования влияния *S. aureus* при развитии кожных инфекций, как правило, используют мышинные модели образования абсцесса и некроза кожи, вызванные подкожным введением бактерий.

В модели кожного абсцесса штамм *S. aureus* с дефицитом сортазы, лишенный всей клеточной стенки, был менее вирулентным, чем штамм дикого типа. Кроме того, менее вирулентны были штаммы, в которых отсутствует сортаза А, связывающая фибронектин, клампинг-фактор А или поверхностный белок SasF. На модели кожного некроза было показано, что поверхностные белки *S. aureus* не вовлечены в патогенез некроза.

В работе [12] на мышинных моделях абсцесса и некроза кожи, вызванных подкожным введением бактерий, была изучена роль сортазы, белка А и клампинг-фактора А. Соответствующие штаммы, нокаутированные по гену сортазы А и сортазы В (DsrтAsrtB, SKM14), по гену *spa* (DU5873) и по гену *ClfA* (DclfA, DU5876), по поверхностному белку SasF и фибронектинсвязывающим белкам А и В вводились мышам подкожно. Формирование абсцесса и кожного некроза наблюдали визуально, по набуханию и покраснению в месте введения, также определяли количество колоний бактерий в коже (в одну часть спины вводили му-

тантные штаммы, в другую — штаммы дикого типа). При введении мутантных по сортазам штаммов количество колоний бактерий в коже значительно снизилось на 2 день, набухание кожи почти не наблюдалось. При этом даже в высокой дозе инокулята количество колоний снижалось. Все протестированные мутантные по поверхностным белкам штаммы (белок А, FnbAB, SasF, ClfA) показали сниженную вирулентность в модели кожного абсцесса, но только при узком диапазоне инокулята, в отличие от мутанта, лишенного сортазы, который обладал пониженной вирулентностью при более широком спектре доз заражения. На модели некроза кожи у двух штаммов — сортаза-дефицитного и дикого — ни частота некроза, ни величина области некроза значительно не различались. Таким образом, поверхностные белки играют важную роль в вирулентности инфекций кожного абсцесса *S. aureus*, но не в формировании некроза кожи.

Мастит

Другой возможностью применения ингибиторов сортаз является лечение мастита — воспалительного поражения молочных желез, протекающего в острой или хронической форме. Возникает мастит при инфицировании тканей патогенной микрофлорой, основным возбудителем данного заболевания также является золотистый стафилококк.

Возможны несколько путей попадания патогенной микрофлоры в ткани молочной железы: через расширенные молочные ходы в послеродовой период; в результате травмы молочной железы или через трещины на сосках; распространение возбудителя из близлежащих пораженных очагов. В соответствии с механизмом инфицирования различают лактационный и нелактационный мастит.

В клинической картине мастита принято выделять несколько форм, переходящих одна в другую, соответственно: серозную, инфильтративную, абсцидирующую, флегмонозную, некротическую.

Проблема маститов особенно актуальна и экономически значима в ветеринарии и животноводстве. Фрагменты антибактериальных препаратов значительно ухудшают качество молока. Кроме того, при маститах у животных, их хроническом течении, часто развивается множественная лекарственная устойчивость, ограничивающая эффективность антибактериальной терапии, вплоть до возникновения метициллин-устойчивых штаммов *S. aureus* (MRSA).

При исследованиях мастита на животных моделях было показано, что, как и в случае многих других инфекционных заболеваний, сортазы играют важную роль и в патогенезе мастита. В ряде исследований показано, что ингибиторы сортазы значительно уменьшают вирулентность *S. aureus* как *in vitro*, так и *in vivo* [13, 14].

В исследованиях *in vivo* была продемонстрирована терапевтическая эффективность ингибитора сортазы олигопептида LPRDA [15]. Авторы показали, что, в отличие от контрольных животных, инфицированных *S. aureus* дикого типа, у животных при инфицировании

дефектным по сортазе А штаммом *S. aureus*, а также в случае введения олигопептида воспалительных изменений практически не наблюдалось.

Олигопептид LPDRA оккупирует активный сайт сортазы А и предотвращает развитие мастита, вызванного *S. aureus*. Учитывая незаменимую роль SrtA в грамположительных патогенных бактериях и универсальность структуры его активных сайтов [14, 16], олигопептид LPDRA должен предотвращать появление различных бактериальных инфекций, требующих SrtA-катализируемого поверхностного “заякоривания” белка, особенно вызванное устойчивыми грамположительными бактериями.

Инфекционные пневмонии

По мере возрастания устойчивости к антибактериальным препаратам лечение пневмонии у госпитализированных пациентов становится всё труднее. Существует пять основных мишеней для антибактериальных препаратов при лечении пневмоний: воздействие на этапы синтеза клеточной стенки, воздействие на ДНК-гиразы, на метаболические ферменты, на ДНК-зависимую РНК-полимеразу и на синтез белка.

Принципиально новым направлением является нацеливание на патогенез инфекционных процессов, а не на собственно уничтожение бактерий [17]. Такой подход способствует устранению инфекции без развития множественной лекарственной устойчивости. Препятствуя бактериальной адгезии, благодаря ингибированию, нейтрализации и очищению от эндотоксинов и введению цитокинов в качестве иммуноадьювантов, вероятно, можно будет добиться успеха в лечении пневмонии. Можно выделить несколько таких путей:

- нарушение бактериальной адгезии: воздействие на биогенез пилей. Низкомолекулярные ингибиторы периплазматического шаперона, такие как 2-пиридины, блокируют биогенез пилей и, вероятно, это должно привести к образованию “лысых” бактерий;

- ингибирование активности протеазы и транспептидазы приведет к уменьшению адгезии размножения в тканях. Ингибиторы сортазы, такие как пептидил-аналоги хлорметана, могут быть полезны для человека при лечении инфекций, вызванных лекарственно-устойчивыми грамположительными бактериями. Такие вещества могут нарушить патогенез бактериальной инфекции, не влияя на жизнеспособность микробов;

- ещё один подход к предотвращению бактериальной адгезии и последующей колонизации связан с разработкой новых полисахаридов, препятствующих адгезии к лейкоцитам на поверхности эндотелия сосудов человека [18].

Эффективность второго подхода была показана на мышиной модели пневмонии, вызванной *S. aureus*. Выявлено, что натуральный ингибитор сортазы А сальвианоловая кислота в комбинации с латамоксемом — цефалоспорином III поколения — полностью блокирует патогенез пневмонии, вызванной метициллин-устойчивым штаммом золотистого стафилококка.

Было показано, что сальвианоловая кислота ингибировала адгезию *S. aureus* к фибриногену дозозависимым образом. Бактерии с нокаутированным геном сортазы А показали самую низкую адгезию, которая составила всего $12 \pm 1,53$ %. Эти результаты показали, что ингибирование SrtA с помощью сальвианоловой кислоты снижает адгезию бактерий к фибриногену. Сальвианоловая кислота снижает образование биопленок, аналогично тому, которое наблюдалось в группе Δ srtA; это указывает на то, что сальвианоловая кислота может уменьшать образование биопленок *S. aureus*, ингибируя активность SrtA. Сальвианоловая кислота ослабляла инвазию *S. aureus* в клетки рака легких человека A549 за счет ингибирования “заякоривания” поверхностных белков бактерий. Таким образом, ингибиторы сортазы показали многообещающие результаты в доклинических исследованиях. Кроме того, в отличие от вакцин, ингибиторы сортазы имеют ряд преимуществ, в том числе возможность их перорального применения, обратимость действия, возможное противовоспалительное действие.

Острая пневмония обычно сопровождается чрезмерной активацией воспалительного процесса, которая приводит к инфильтрации воспалительными клетками и тяжелому повреждению тканей [19, 20]. Поскольку сообщалось, что сальвианоловая кислота обладает сильной противовоспалительной активностью [21], были исследованы уровни провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-6 и IL-1 β в BALF. Было показано, что сальвианоловая кислота подавляет уровни экспрессии провоспалительных цитокинов TNF- α , IL-6, IL-1 β у мышей. При микроскопическом и гистопатологическом исследовании также было продемонстрировано, что лечение сальвианоловой кислотой может замедлить развитие воспаления и облегчить повреждение тканей легких.

Инфекционный эндокардит

Инфекционный эндокардит (ИЭ) относится к числу заболеваний с высоким уровнем летальности. При отсутствии лечения смертность при ИЭ составляет 100 %. В последние годы отмечается значительный рост числа больных эндокардитом в нашей стране и за рубежом. По данным различных авторов, сегодня выросла заболеваемость в пожилом и старческом возрасте, а также среди лиц в возрасте до 30 лет, использующих внутривенное введение наркотических препаратов. ИЭ первично локализуется на клапанах сердца и протекает с проявлениями системной инфекции, сосудистыми осложнениями и иммунной реакцией. В последние годы к категории лиц повышенного риска отнесены больные с очаговой инфекцией, а также лица, у которых применялись инвазивные методы исследования, включая установку подключичного катетера. Особую группу риска составляют наркоманы, практикующие внутривенное введение наркотических препаратов, у которых ИЭ протекает с поражением интактных клапанов сердца. Результаты посевов крови наркоманов с ИЭ показали, что в 71,3 % случаев высевается *S. aureus*, в 7 % — *S. epidermale*, в 2,5 % —

E. faecalis [22]. У больных ИЭ после установки катетера и других процедур эндопротезирования часто высевается *E. faecalis*. У пациентов с ИЭ обнаруживаются антитела к 9 белкам клеточной стенки *E. faecalis*. Одним из этих белков является сортаза С. Также было установлено, что для формирования плёнок *E. faecalis* при ИЭ помимо сортазы С важны белки, кодируемые опероном *ebp*. Указанный оперон также был идентифицирован и в штамме *E. faecium*, выделенном у пациентов с мультирезистентным ИЭ. Следовательно, локус *ebpA-srtC* или сортаза С может быть потенциальной мишенью как для профилактики, так и для лечения ИЭ.

В то же время важно помнить, что причины возникновения ИЭ могут быть различны, а в нескольких исследованиях было показано, что механизмы развития будут отличаться в зависимости от причины, причём и в случае механического повреждения (катетером), и в случае индуцированного воспаления большую роль играет фактор фон Виллебранда [23].

При механическом повреждении на клапане откладываются фибрин и фактор фон Виллебранда (VWF, von Willebrand factor), и *S. aureus* закрепляется на клапане за счёт сортазы А-зависимых адгезинов, таких как VWF-связывающий белок и белок А.

При воспалении сердечного клапана активация эндотелия приводит к высвобождению фактора фон Виллебранда. Это привлекает большое количество тромбоцитов, которые фактически доставляют *S. aureus* к поверхности клапана. В этом случае роль фибрина и сортазы А не существенна.

Таким образом, для практического эффективного применения ингибиторов сортазы необходимо учитывать механизм развития эндокардита и его стадию.

Инфекции ЖКТ

Сортазы и поверхностные белки могут рассматриваться как мишени терапевтического воздействия и при инфекциях ЖКТ, вызванных грамположительными бактериями: как условно-патогенными (энтеробактерии, неферментирующие бактерии, стафилококки, анаэробные бактерии клостридии), так и патогенными, например, бактериями рода Листерия (*Listeria*) — *Listeria monocytogenes* [24, 25]. Было описано значение сортазы А для вирулентности *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes* [26–28], а также роль сортазы С в вирулентности клостридий (*C. difficile*) [29, 30].

Химическая природа ингибиторов сортаз

Как фермент на бактериальной стенке, сортаза А более восприимчива к таргетным ингибиторам, чем внутриклеточные бактериальные мишени. Более того, поскольку сортаза А не является важным компонентом роста и пролиферации бактерий, ингибирование сортазы А не приводит ни к устойчивости бактерий, ни к воздействию на нормальную микрофлору хозяина. Следовательно, сортаза А является многообещающей мишенью для борьбы с инфекциями *S. aureus* [31].

На сегодняшний день разработано немало классов ингибиторов SrtA, включая диарилакрилонитрилы, пиридазины, арил-3-акриламиды, дигидро-β-карболины, бензотиазолины, триазолотиадиазолы, 2-(2-фенилгидразинилиден)алканоаты, 2-фенилбензофуран-7-карбоксамид, 2-фенилтиазолы, 2,5-дизамещенные тиadiaзолы и тиadiaзолины. Наиболее активные соединения имеют значения IC₅₀ около 1,5 мкМ. Выявлено, что для ингибирования сортазы важное значение имеет арил(β-амино)этилкетон-группа.

Среди ингибиторов SrtA есть натуральные соединения, полученные либо из растительного сырья, либо синтезированные бактериями. Среди многообразия

Натуральные и синтетические ингибиторы SrtA с МПК менее 100 мкг/мл

Ингибитор	МПК (мкг/мл) <i>S. aureus</i>	Ссылка
Натуральные ингибиторы		
Берберина хлорид/Berberine chloride	100	[37, 38]
Халисульфат 1/Halisulfate 1	1,56 – 25	[39]
Изоаапатамин/Isoaaptamin	50	[41]
Кураринол/Kurarinol	7,12	[41]
Кураридин/Kuraridin	8,8	[41]
Софорафлавон/Sophoraflavanone	7,36	[41]
Кадииолд/Cadiolide E	3,9	[34]
Эудистомин/Eudistomin Y3	14	[34]
Синтетические ингибиторы		
(Z)-3-(2,5-Диметоксифенил)-2-(4-метоксифенил)/ (Z)-3-(2,5-Dimethoxyphenyl)-2-(4-methoxyphenyl)	9,2	[42]
Арил(β-амино)этилкетон 1 (вещество 5927860)/Aryl(β-amino)ethylketone 1 (AAEK1)	47	[43]
Арил(β-амино)этилкетон 2 (вещество 5927943)/Aryl(β-amino)ethylketone 2 (AAEK2)	15	[43]
Родамин/Rhodamine	3,7	[35]
Пиридазинон/1H-Pyridazin-6-one, Pyridazinone	0,2	[35]
Пиразолотион/Pyrazole-3-thione, Pyrazolethione	0,3	[35]
Дигидро-β-карболин/3,4-Dihydro-β-carboline-3-carboxylic acid	25	[44]
Морфолинобензоат/Morpholinobenzoate	58	[45]

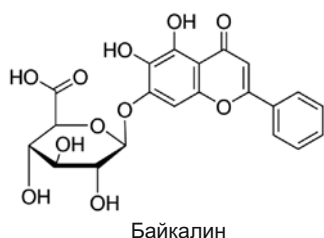
натуральных ингибиторов SrtA присутствуют полифенолы, известные своей химиосенсибилизирующей активностью (ингибиторы Р-гликопротеина), например, такие как куркумин, кверцетин, вогонин [9, 32, 33].

Найденные ингибиторы SrtA необходимо в дальнейшем исследовать и оптимизировать, поскольку они либо имеют недостаточно специфическое действие именно в отношении SrtA, либо обладают неудовлетворительными физико-химическими свойствами (например, высокомолекулярные соединения), либо достаточно медленно инактивируют фермент [34, 35]. В качестве потенциальных специфических ингибиторов SrtA были предложены 4-винилсульфонил-5-фенилпролинаты: они необратимо ингибируют SrtA за счет модификации фермента по Cys184, но константы ингибирования для них оказались недостаточно низкими — диапазон находился в пределах миллимолярных концентраций [36].

Преимущественно разработка ингибиторов SrtA осуществляется *in silico*, а механизм действия подтверждается *in vitro*, и только для небольшого количества потенциальных молекул продемонстрирована активность в отношении инфекции *in vivo*. Впервые в 2018 г. Wang J. с соавт. показал, что олигопептидный ингибитор SrtA — LPRDA — не влиял на жизнеспособность бактерий, но оказывал терапевтическое действие в отношении мастита, вызванного *S. aureus*, *in vivo* [15].

В таблице приведены некоторые натуральные и синтетические ингибиторы SrtA с установленной минимальной подавляющей концентрацией (*Staphylococcus aureus*), МПК (мкг/мл), составляющей не более 100 мкМ.

Согласно данным [46], байкалин, основной биоактивный компонент скутелларии, обладающий множественной фармакологической активностью, значительно подавляет активность SrtB ($IC_{50} = 25,86$ мкг/мл) и защищает клетки A549 альвеолярного эпителия человека от повреждающего действия *S. aureus*, ослабляя адгезию *S. aureus* к клеткам A549. Байкалин непосредственно связывается с активным центром SrtB и препятствует взаимодействию между SrtB и его субстратом.



Благодаря тому, что ингибирование сортаз не вызывает нарушения деления и не угнетает жизнеспособность бактерии, делая маловероятным возникновение устойчивости к ингибиторам сортаз, это семейство бактериальных ферментов является перспективной мишенью для разработки новых классов антибактериальных лекарственных средств.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-15-00258).

ЛИТЕРАТУРА

1. S. Cascioferro, M. Totsika, D. Schillaci, *Microb. Pathog.*, **77**, 105 – 112 (2014); doi: 10.1016 / j.micpath.2014.10.007.
2. S. C. Wu, F. Liu, K. Zhu, et al., *J. Agric. Food Chem.*, **67**(48), 13195 – 13211 (2019); doi: 10.1021 / acs.jafc.9b05595.
3. A. W. Jacobitz, M. D. Kattke, J. Wereszczynski, et al., *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.*, **109**, 223 – 264 (2017); doi: 10.1016 / bs.apcsb.2017.04.008.
4. H. Ton-That, O. Schneewind, *Mol. Microbiol.*, **50**(4), 1429 – 1438 (2003); doi: 10.1046 / j.1365-2958.2003.03782.x.
5. B. Khare, V. L. Narayana, *Protein Sci.*, **8**, 1458 – 1473 (2017); doi: 10.1002 / pro.3191.
6. G. K. Paterson, T. J. Mitchell, *Trends Microbiol.*, **12**(2), 89 – 95 (2004); doi: 10.1016 / j.tim.2003.12.007.
7. J. LeMieux, D. L. Hava, A. Basset, et al., *Infect. Immun.*, **74**(4), 2453 – 2456 (2006); doi: 10.1128 / IAI.74.4.2453-2456.2006.
8. Б. С. Белов, *Эффективная фармакотерапия*, **15**(40), 46 – 52 (2019); doi: 10.33978 / 2307-3586-2019-15-40-46-52.
9. M. W. Ha, S. W. Yi, S. M. Paek, *Antibiotics (Basel)*, **9**(10), 706 (2020); doi: 10.3390 / antibiotics9100706.
10. O. P. Kerro-Dego, T. Prysliak, A. A. Potter, et al., *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **113**(1 – 2), 125 – 138 (2006).
11. A. Tarkowski, M. Mokarewa, L. V Collins, et al., *FEMS Microbiol. Lett.*, **217**(2), 125 – 132 (2002); doi: 10.1111 / j.1574-6968.2002.tb11466.x.
12. J. Kwiecinski, T. Jin, E. Josefsson, *APMIS*, **122**(12), 1240 – 1250 (2014); doi: 10.1111 / apm.12295.
13. N. Suree, C. K. Liew, V. A. Villareal, et al., *J. Biol. Chem.*, **284**(36), 24465 – 24477 (2014); doi: 10.1074 / jbc.M109.022624.
14. F. Chen, B. Liu, D. Wang, et al., *FEMS Microbiol Lett.*, **351**(1), 95 – 103 (2014); doi: 10.1111 / 1574-6968.12354.
15. J. Wang, H. Li, J. Pan, et al., *Front Microbiol.*, **9**, 245 (2018); doi: 10.3389 / fmicb.2018.0024.
16. I. M. Jonsson, S. K. Mazmanian, O. Schneewind, et al., *J. Infect. Dis.*, **185**(10), 1417 – 1424 (2002); doi: 10.1086 / 340503.
17. M. Cazzola, M. G. Matera, C. P. Page, *Trends Pharmacol. Sci.*, **24**(6), 306 – 314 (2003); doi: 10.1016 / S0165-6147(03)00129-9.
18. D. Mu, Y. Luan, L. Wang, et al., *Emerg. Microbes Infect.*, **9**(1), 169 – 179 (2020); doi: 10.1080 / 22221751.2020.1711817.
19. T. Bremell, A. Abdelnour, A. Tarkowski, *Infect. Immun.*, **60**, 2976 – 2985 (1992).
20. M. Verdrengh, A. Tarkowski, *Infect. Immun.*, **65**, 2517 – 2521 (1997).
21. L. Jiang, J. Wang, J. Ju, J. Dai, *Eur. J. Pharmacol.*, 883 – 173352 (2020); doi: 10.1016 / j.ejphar.2020.173352. Epub 2020 Jul 6. PMID: 32645333.
22. В. И. Уланова, В. И. Мазуров, В. А. Цинзерлинг, *Клин. медицина*, **98**(2), 115 – 121 (2020); doi: 10.30629 / 0023-2149-2020-98-2-115-121.
23. L. Liesenborghs, S. Meyers, M. Lox, et al., *Eur. Heart J.*, **40**(39), 3248 – 3259 (2019); doi: 10.1093 / eurheartj / ehz175. PMID: 30945735.
24. Н. И. Габриэлян, Е. М. Горская, О. М. Цирульникова, *Вестник трансплантолог. и искусств. органов*, **17**(2), 64 – 69 (2015); https: // doi.org / 10.15825 / 1995-1191-2015-2-64-69.
25. A. J. Roberts, M. Wiedmann, *Cell Mol. Life Sci.*, **60**(5), 904 – 918 (2003); doi: 10.1007 / s00018-003-2225-6.
26. L. I. Banla, N. H. Salzman, C. J. Kristich, *Curr. Opin. Microbiol.*, **47**, 26 – 31 (2019); doi: 10.1016 / j.mib.2018.10.005.
27. L. I. Banla, A. M. Pickrum, M. Hayward, et al., *Infect. Immun.*, **87**(5), e00853 – 18 (2019); doi: 10.1128 / IAI.00853-18.
28. C. Sabet, M. Lecuit, D. Cabanes, et al., *Infect. Immun.*, **73**(10), 6912 – 6922 (2005); doi: 10.1128 / IAI.73.10.6912-6922.2005.

29. N. Tapon, A. Hall, *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **9**(1), 86 – 92 (1997); doi: 10.1016 / s0955-0674(97)80156-1.
30. J. A. Kirk, O. Banerji, R. P. Fagan, *Microb. Biotechnol.*, **10**(1), 76 – 90 (2017); doi: 10.1111 / 1751 – 7915.12372.
31. И. М. Грубер, *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*, **3**(88), 72 – 82 (2016); doi: 10.31631 / 2073-3046-2016-15-3-72-82.
32. А. Е. Абагуров, Т. А. Крючко, *Здоровье ребенка*, **12**(4), 491 – 497 (2017); doi: 10.22141 / 2224-0551.12.4.2017.107631.
33. G. Nitulescu, A. Zanfirescu, O. T. Olaru, et al., *Molecules*, **21**(11), 1591 (2016); doi: 10.3390 / molecules21111591I.
34. Y. Guo, S. Cai, G. Gu, et al., *RSC Advances*, **5**(62), 49880 – 49889 (2015); doi: 10.1039 / c5ra07568h.
35. N. Suree, S. W. Yi, W. Thieu, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, No. 20, 7174 – 7185 (2009); doi: 10.1016 / j.bmc.2009.08.067.
36. K. V. Kudryavtsev, M. L. Bentley, D. G. McCafferty, *Bioorg. Med. Chem.*, **17**(7), 2886 – 2893 (2009); doi: 10.1016 / j.bmc.2009.02.008.
37. F. Chen, F. Xie, B. Yang, et al., *PLoS One*, **12**(3), e0173767 (2017); doi: 10.1371 / journal.pone.0173767.
38. K. B. Oh, M. N. Oh, J. G. Kim, et al., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **70**(1), 102 – 106 (2006); doi: 10.1007 / s00253-005-0040-8.
39. J. Bae, J. E. Jeon, Y. J. Lee, et al., *J. Nat. Prod.*, **74**(8), 1805 – 1811 (2011); doi: 10.1021 / np200492k.
40. K. H. Jang, S. C. Chung, J. Shin, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**(19), 5366 – 5369 (2007); doi: 10.1016 / j.bmcl.2007.08.007.
41. I. Oh, W. Y. Yang, S. C. Chung, et al., *Arch. Pharm. Res.*, **34**(2), 217 – 222 (2011); doi: 10.1007 / s12272-011-0206-0.
42. K.-B. Oh, S.-H. Kim, J. Lee, et al., *J. Med. Chem.*, **47**, 2418 – 2421 (2004).
43. A. W. Maresso, R. Wu, J. W. Kern, et al., *J. Biol. Chem.*, **282**, 23129 – 23139 (2007).
44. Y.-J. Lee, Y.-R. Han, W. Park, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 6882 – 6885 (2010).
45. B. C. Chenna, J. R. King, B. A. Shinkre, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **45**, 3752 – 3761 (2010).
46. G. Wang, Y. Gao, H. Wang, et al., *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **8**, 418 (2018); doi: 10.3389 / fcimb.2018.

Поступила 08.12.20

INHIBITORS OF SORTASES OF GRAM-POSITIVE BACTERIA AND THEIR ROLE IN THE TREATMENT OF INFECTIOUS DISEASES

K. V. Kudryavtsev^{1,*}, T. A. Fedotcheva¹, and N. L. Shimanovsky¹

¹ N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997 Russia

*e-mail: konstantin@kudryavtsev.ru

In this article we review the functions of bacterial enzymes – sortases, and their substrates, surface proteins – and discuss their role in pathogenesis of infectious diseases such as pneumonia, septic endocarditis, septic arthritis, and mastitis, cutaneous and gastro-intestinal infections. The importance of sortases for the pathogenesis of the abovementioned diseases has been studied on animal models. We have also considered the known and potential sortase inhibitors, both natural and synthetic, as possible compounds for the treatment of these infectious diseases.

Keywords: sortase; surface proteins; adhesion; *S. aureus*; *E. faecalis*; *C. defficialis*; endocarditis; arthritis; pneumonia; mastitis; sortase inhibitors.