

Аннотация проекта (ПНИЭР), выполняемого в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы»

Номер соглашения о предоставлении субсидии (государственного контракта)
14.575.21.0037

Название проекта

Разработка инновационных антибактериальных препаратов для профилактики и терапии внутри- и внебольничных инфекций, вызываемых полирезистентными штаммами грамположительных бактерий

Тематическое направление

Науки о жизни

Исполнитель

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Казанский (Приволжский) федеральный университет"

Цели и задачи исследования

Целью проекта является синтез и исследование биологических свойств новых малотоксичных антибактериальных препаратов, обладающих высокой активностью в отношении грамположительных бактерий, для высокоэффективной терапии внутри- и внебольничных инфекций, вызываемых, в том числе, полирезистентными штаммами грамположительных бактерий.

Актуальность и новизна исследования

Заболевания, вызываемые болезнетворными бактериями, являются одной из важнейших проблем современности. В последние годы в России и в мире растет число инфекций, вызываемых не чувствительными к антибиотикам штаммами бактерий. Подобный рост наблюдается как для внутрибольничных инфекций, так и для внебольничных случаев заражения. Только в 2015 году от бактериальных инфекций в России умерло около 2500 человек. В Европейском союзе число пациентов, погибших в результате резистентных бактериальных внутрибольничных инфекций, ежегодно составляет свыше 25 тыс. человек. Учитывая распространенность и опасность бактериальных инфекций, разработка высокоактивных инновационных препаратов для их терапии является одной из стратегических задач в развитии фармацевтической промышленности России. Перспективным подходом в разработке инновационных лекарственных средств является использование пиридоксина в качестве транспортной системы для эффективной доставки фармакофорных групп в живые клетки и ткани. Основной предпосылкой для реализации подобного подхода является участие пиридоксина в широком спектре метаболических процессов. Благодаря большому числу функциональных групп молекула пиридоксина доступна не только для химической модификации фармакофорными группами, но также для введения различных заместителей, влияющих на гидрофильно-липофильный баланс лекарственного препарата.

Описание исследования

По результатам первых двух этапов проекта (с 27 июня 2014 года по 30 июня 2015 года) было синтезировано 101 новое соединение фторхинолонового ряда

или четвертичных аммониевых солей, содержащих фрагменты производных пиридоксина. На основании первичного скрининга антибактериальной активности *in vitro* на 7 штаммах условно-патогенных микроорганизмов (4 грамположительных и 3 грамотрицательных) были отобраны 37 активных соединений. Для отобранных соединений была осуществлена оценка антибактериального действия на 16 полирезистентных штаммах (клинических изолятах) грамположительных бактерий и 2 полирезистентных штаммах грамотрицательных бактерий, позволившая выявить 16 перспективных соединений-лидеров. Исследования их токсичности *in vitro* на эмбриональных клетках почки человека (HEK-293), мутагенности (тест Эймса) и ДНК-повреждающей активности (SOS-хромотест) позволили выявить 12 соединений, которые сопоставимы или превосходят по своей активности высокоэффективные лекарственные препараты (моксифлоксацин, мирамистин, ванкомицин и хлорид бензалкония), а также обладают меньшей или сопоставимой с ними цитотоксичностью.

Исходя из данных по исследованию антибактериальной активности, токсичности *in vitro* и синтетической доступности из 12 перспективных соединений были отобраны 3 соединения-лидера (AP-45, AP-53 и AP-25). На третьем этапе выполнения проекта (с 1 июля по 31 декабря 2015 года) для исследования токсичности и специфической активности *in vivo* были наработаны опытные партии каждого из соединений в количествах 70-90 г. Исследование острой и подострой токсичности 3 соединений-лидеров *in vivo* на крысах показало, что соединение AP-45 существенно более токсично, чем AP-53 и AP-25 и не представляет интерес для дальнейшей разработки.

Исследование специфической активности соединений AP-53 и AP-25 на модели генерализованного сепсиса на мышах в сравнении с моксифлоксацином показало, что соединение AP-25 существенно более эффективно, чем моксифлоксацин и наиболее перспективно для дальнейшей разработки. Соединение AP-53 оказалось менее эффективным. Таким образом, по результатам первых трех этапов проекта был выявлен перспективный кандидат в антибактериальное лекарственное средство - соединение AP-25.

В рамках выполнения 4 этапа проекта (с 1 января по 31 июня 2016 года) была проведена оптимизация химической структуры выявленного кандидата в антибактериальное лекарственное средство AP-25 и синтезировано 25 новых соединений. Был проведен первичный скрининг антибактериальной активности синтезированных соединений *in vitro* на 7 штаммах условно-патогенных микроорганизмов и выявлено 10 активных соединений. Углубленное исследование антибактериального действия отобранных соединений на клинических штаммах полирезистентных грамположительных и грамотрицательных бактерий позволило выявить 6 наиболее активных соединений, которые сопоставимы или превосходят по своей активности высокоэффективные лекарственные препараты (моксифлоксацин, ломефлоксацин, мирамистин и ванкомицин). Исследования их токсичности *in vitro* на эмбриональных клетках почки человека, мутагенности и ДНК-повреждающей активности позволили выявить два соединения-лидера (AP-102 и FP-63), которые превосходят по своей антибактериальной активности высокоэффективные лекарственные препараты, а также обладают меньшей или сопоставимой с ними цитотоксичностью. Для исследования токсичности и специфической активности *in vivo* были наработаны опытные партии каждого из

них в количествах 70-90 г. Исследование острой и подострой токсичности на крысах соединений AP-102 и FP-63 показало, что они оба являются нетоксичными и не оказывают негативного воздействия на показатели крови, внутренние органы и ткани животных. На модели генерализованного сепсиса на мышах специфическая активность соединений AP-102 и FP-63 оказалась значительно выше препарата сравнения моксифлоксацина. Таким образом, по результатам четырех этапов проекта были отобраны два кандидата в антибактериальные лекарственные средства - AP-25 и FP-63.

Для выявленных кандидатов в антибактериальные лекарственные средства - AP-25 и FP-63 на заключительном этапе проекта (с 1 июля по 31 декабря 2016 года) производится исследование хронической токсичности на крысах, разработка лабораторных и опытно-промышленные регламентов, плана доклинических исследований, исследование стабильности и разработка проектов ТЗ на выполнение дальнейших ОТП в рамках мероприятия 2.5 «Доклинические исследования инновационных лекарственных средств» ФЦП «ФАРМА-2020».

Результаты исследования

1. Образцы производных пиридоксина, содержащие фрагменты известных препаратов фторхинолонового ряда либо четвертичные аммониевые фрагменты, в количестве не менее 100 штук.
2. Результаты исследований антибактериальной активности и токсичности синтезированных соединений *in vitro*. Выявление на основании проведенных исследований соединений-лидеров.
3. Результаты исследований токсичности (острой и подострой) и антибактериального действия на моделях экспериментальных инфекций *in vivo* выявленных соединений-лидеров.
4. Результаты исследований антибактериальной активности и токсичности модифицированных соединений-лидеров *in vitro*, результаты исследований токсичности (острой и подострой) и антибактериального действия на моделях экспериментальных инфекций *in vivo* модифицированных соединений-лидеров. Выявление на основании проведенных исследований кандидатов в лекарственные средства.
5. Результаты исследования влияния кандидатов в лекарственные средства фторхинолонового ряда на способность ингибировать процессы обмена нуклеиновых кислот в бактериальной клетке посредством специфического взаимодействия с комплексами нуклеиновых кислот с ДНК-гиразой и топоизомеразой IV, результаты исследований кандидатов в лекарственные средства, содержащих фрагменты четвертичных аммониевых солей, на целостность клеточной стенки и цитоплазматической мембраны бактериальной клетки.
6. Результаты исследования хронической токсичности и стабильности кандидатов в лекарственные средства.
7. Лабораторный технологический регламент получения и очистки кандидатов в лекарственные средства.

8. Экспериментальные образцы кандидатов в лекарственные средства в количестве, не менее 10 г.
9. Проект опытно-промышленного регламента получения кандидатов в лекарственные средства.
10. Разработка плана дальнейших доклинических исследований кандидатов в лекарственные средства.
11. Разработка проекта ТЗ на выполнение ОТП по теме «Доклинические исследования антибактериального лекарственного средства, содержащего фрагмент пиридоксина, для терапии внутри- и внебольничных инфекций, вызываемых полирезистентными штаммами грамположительных бактерий».

Практическая значимость исследования

Выявленные по результатам проведенных исследований кандидаты в лекарственные средства составят основу заявок на формирование тематики в рамках мероприятия 2.5 «Доклинические исследования инновационных лекарственных средств» ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».

При положительных результатах доклинических исследований кандидаты в лекарственное средство будут выноситься на клинические испытания.

Ожидаемые результаты предназначены для последующего проведения клинических исследований, организации производства и медицинского применения на территории Российской Федерации.

Организация производства готовых лекарственных форм планируется на мощностях индустриального партнера проекта ОАО «Татхимфармпрепараты».