

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-145

**ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННАЯ АТАКА НА МИКОБАКТЕРИИ: НОВЫЙ МЕТОД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТРЕГАЛОЗОСОДЕРЖАЩЕГО ТРИКАРБОЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ\*****MYCOBACTERIA-TARGETED ATTACK: A NEW APPROACH USING A TREHALOSE-CONJUGATED TRICARBOCYANINE DYE**Н. В. Козобкова<sup>1</sup>, М. П. Самцов<sup>2</sup>, А. П. Луговский<sup>2</sup>, Д. С. Тарасов<sup>2</sup>,  
Н. В. Белько<sup>2</sup>, А. П. Савицкий<sup>1</sup>, А. С. Капрельянц<sup>1</sup>, М. О. Шлеева<sup>1</sup><sup>1</sup>Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Москва<sup>2</sup>Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко БГУ, МинскN. V. Kozobkova<sup>1</sup>, M. P. Samtsov<sup>2</sup>, A. P. Lugovski<sup>2</sup>, D. S. Tarasov<sup>2</sup>,  
N. V. Bel'ko<sup>2</sup>, A. P. Savitsky<sup>1</sup>, A. S. Kaprelyants<sup>1</sup>, M. O. Shleeva<sup>1</sup><sup>1</sup>Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow<sup>2</sup>A. N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems of the Belarusian State University, Minsk

✉ natalia.cosolapowa@gmail.com

**Аннотация**

В работе представлен новый трегалозосодержащий трикарбоцианиновый краситель (TCC2Tre), который под действием света ближнего инфракрасного диапазона приводит к более эффективному уничтожению микобактерий в сравнении с красителем, не содержащим трегалозу.

**Abstract**

The paper presents a novel tricarbo-cyanine dye functionalized with two trehalose units (TCC2Tre) is developed. Under irradiation, TCC2Tre causes more effective killing of mycobacteria compared to the dye without trehalose conjugation.

Появление и распространение штаммов с устойчивостью к противомикробным препаратам значительно затрудняет лечение инфекций и приводит к утрате эффективности антибиотиков и других антимикробных препаратов. Особенно стоит обратить внимание на штаммы с множественной лекарственной устойчивостью. Кроме того, даже чувствительные к антибиотикам штаммы возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis* могут образовывать покоящиеся формы, которые устойчивы к применяемым в клинике антибиотикам. Поэтому необходим альтернативный подход к решению данной проблемы.

Одним из таких подходов является метод антибактериальной фотодинамической инактивации. Некоторые существующие фотосенсибилизаторы (ФС) активны при длине волны, не превышающей 690 нм, и, как правило, не проникают в глубокие слои тканей организма. Следовательно, перспективным направлением исследований является применение новых ФС, специфичных к патогенам и активированных в ближнем инфракрасном диапазоне с увеличенной длиной проникающего действия света для уничтожения микобактерий.

Для повышения специфичности связывания ФС с бактериями использовали конъюгацию флуоресцентных молекул с антибиотиками, пептидами и антителами. [1]. В частности, был синтезирован и изучен ФС BODIPY с конъюгированной трегалозой [2, 3]. Трегалоза является важным компонентом клеточной стенки микобактерий [4], которая может быть создана как самой клеткой, но также взятой извне благодаря активности специфических микобактериальных транспортеров.

Цель работы — получить конъюгат трикарбоцианинового красителя с трегалозой и оценить его фотодинамический эффект на микобактериях (медленно растущем *M. tuberculosis* и быстрорастущем *M. smegmatis*), а также в разных физиологических состояниях.

Конъюгат с трегалозой (TCC2Tre) синтезирован из ранее полученного трикарбоцианинового красителя (TCC). Нами исследована эффективность нового фотосенсибилизатора на непатогенной быстрорастущей микобактерии *M. smegmatis* (в активной и покоящейся форме) и на медленно растущем *M. tuberculosis*. Результаты проведенных экспериментов показали, что при облучении *M. smegmatis* светом 740 нм после их инкубации

\* Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 24-15-00221).

с ТСС2Тре в течение трех часов уменьшает количество жизнеспособных клеток на три порядка, в то время как тот же краситель без трегалозы показал низкую активность при тех же условиях. В отношении покоящейся формы *M. smegmatis* (6 месяцев покоя), как и в случае с активными клетками, наблюдался более выраженный фотодинамический эффект у ТСС2Тре.

Подобно экспериментам с *M. smegmatis* ТСС2Тре более эффективен против *M. tuberculosis* по сравнению с ТСС и даже более выражен по сравнению с результатами на *M. smegmatis* в тех же условиях. С увеличением световой дозы при плотности мощности 240 мВт/см<sup>2</sup> наблюдалось увеличение количества погибших клеток в культуре *M. tuberculosis*. При плотности мощности 468 Дж/см<sup>2</sup> выявлена полная инактивация клеток *M. tuberculosis* при использовании ТСС2Тре при воздействии светом с длиной волны 740 нм.

Таким образом, фотодинамическая инактивация микобактерий, осуществляемая с помощью трегалозоспецифичного красителя, активируемого в ближнем инфракрасном диапазоне, эффективна как для микобактерий в активной фазе роста, так и для микобактерий в покоящемся состоянии. Полученные данные открывают перспективные возможности для разработки новых методов фотодинамической терапии туберкулеза с использованием специфически связанных с трегалозой красителей.

### Литература

1. Grimmeisen M., Jessen-Trefzer C. Increasing the Selectivity of Light-Active Antimicrobial Agents — Or How To Get a Photosensitizer to the Desired Target. *ChemBioChem*. 2023. Vol. 24(18): e202300177.
2. Dutta A. K., Choudhary E., Wang X. et al. Trehalose Conjugation Enhances Toxicity of Photosensitizers against Mycobacteria. *ACS Central Science*. 2019. Vol. 5(4). P. 644–650.
3. Liang J., Liu F., Xu P. et al. Molecular Recognition of Trehalose and Trehalose Analogues by *Mycobacterium tuberculosis* LpqY-SugABC // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2023. Vol. 120(35): e2307625120.
4. Woodruff P. J., Carlson B. L., Siridechadilok B. et al. Trehalose Is Required for Growth of *Mycobacterium Smegmatis* // *Journal of Biological Chemistry*. 2004. Vol. 279(28). P. 28835–28843.