

BioRegioPlant

Antibiotika-Alternativen auf Basis von Pilzen und Pflanzen

Ziel

Ziel des Projektes war die Entwicklung einer Methode zur Untersuchung der antibakteriellen Wirksamkeit hydrophober Sekundäremetabolite aus regionalen Pilzen und Pflanzen. Im Projekt wurden vom kooperierenden Unternehmen BioSolutions Halle GmbH ausgewählte Naturstoffe extrahiert und für die Analysen zur Verfügung gestellt (z.B. Argabinhaltiger CO₂-Extrakt aus *Artemisia glabella*, Coumaroyl-/Feruloyl-Serotoninderivat). Die Stoffe besitzen hydrophobe Eigenschaften und benötigen zur Untersuchung der antibakteriellen Wirksamkeit in wässriger Umgebung geeignete Lösemittelvermittler. Im Projekt sollten kommerzielle Lösemittelvermittler zur Solubilisierung der Substanzen getestet und deren eigene antimikrobielle Wirksamkeit untersucht werden. Auf Grundlage der Ergebnisse sollten definierte Konzentrationen der Lösemittelvermittler zur Solubilisierung von Naturstoffen erprobt und die minimale Hemmkonzentration (MHK) untersucht werden. Für die Quantifizierung sollte ein Geräte-basierter Assay unter Verwendung eines Redoxindikators zur Erfassung von Fluoreszenzsignalen etabliert werden.

Ergebnis

Im Rahmen des Projektes ist es gelungen, eine Methode zur Untersuchung der antimikrobiellen Wirkung von hydrophoben Substanzen zu etablieren. Es wurde ein Geräte-basierter Test entwickelt, welcher eine quantitative Aussage zur Inhibitionswirkung der Testsubstanz auf Mikroorganismen ermöglicht. Standardisierte Tests zur MHK-Bestimmung von Naturstoffen scheitern häufig an den hydrophoben Eigenschaften von Substanzen und der Quantifikation. Mit der erarbeiteten Methode auf Basis von Resazurin ist es möglich, eine quantitative Auswertung der MHK beliebiger Substanzen zu erhalten. Somit könnten neue Wirkstoffe getestet werden, um Antibiotika-Alternativen zu identifizieren und antibiotikaresistente Erreger effektiv zu bekämpfen.

In der Entwicklung des Methodenpanels wurde zur Standard-MHK-Methode der Redoxindikator Resazurin hinzugefügt. Dieser ist ein ungiftiger, wasserlöslicher, blauer Farbstoff, welcher in Abhängigkeit des pH-Wertes irreversibel zum pinkfarbenen, fluoreszierenden Resorufin reduziert wird. Unter Verwendung des Resazurins kann die inhibitorische Wirkung einer Testsubstanz auf Organismen visualisiert und die Fluoreszenz über einen Detektor quantifiziert werden. Unter Anwendung des Redoxfarbstoffes wurden Tests mit unterschiedlichen Konzentrationen ausgewählter Lösemittelvermittler (bspw. Tegosoft, PEG, Myritol) durchgeführt. Als Testorganismen wurden herkömmliche bakterielle Kulturen (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*) verwendet. Im Ergebnis konnten die MHK der Lösemittelvermittler auf den Stoffwechsel der Testorganismen ermittelt werden.

Die Tests zur MHK-Bestimmung der Lösemittelvermittler mit Resazurin wurden in offenen und geschlossenen 96-Well-Platten durchgeführt, um die Anwendung der Methode für potentiell pathogene Laborstämme zu erweitern. Im Resultat konnten keine Unterschiede zwischen der Fluoreszenzmessung an der offenen im vgl. zur geschlossenen Platte ermittelt werden, sodass zukünftig auch pathogene Laborstämme in geschlossenen Platten vermessen werden können. Final erfolgten die Experimente zur Solubilisierung der Naturstoffe in geeigneten Konzentrationen der Lösemittelvermittler zur anschließenden Untersuchung der MHK unter Verwendung der etablierten Methode. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die getesteten Substanzen eine antimikrobielle Wirksamkeit aufweisen und somit als potentielle Antibiotika-Alternative in Frage kommen.

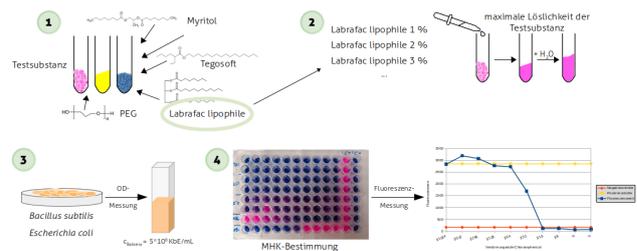


Bild: Methodenpanel zur Untersuchung hydrophober Substanzen auf antibakterielle Wirksamkeit

Auf Basis der Ergebnisse konnte eine kostengünstige Methode zur Bewertung der antibakteriellen Wirksamkeit hydrophober Substanzen etabliert werden, welche aus mehreren Arbeitsschritten besteht und systematisch aufgebaut ist (siehe Bild). Das Methodenpanel dient als Arbeitsanweisung für die Untersuchung neuer Substanzen bzw. Extrakte, welche hinsichtlich der antibiotischen Wirkung charakterisiert werden sollen.

Veröffentlichungen

Verband Innovativer Unternehmen e.V. (VIU)
Ausgabe Nr. 2/22-29. Jahrgang, Mai 2022

Förderung

IB-LSA
Europäischer Fonds für regionale Entwicklung (EFRE)
ZS/2022/02/164248
Laufzeit: 03/22 - 12/22