

**К. В. Кожихова¹, Д. В. Успенская¹, А. В. Тимофеева^{1,2},
А. А. Шатилов^{1,2}, Л. И. Вишнякова, И. П. Шиловский¹,
S. Karthikeyan³, С. М. Андреев¹, М. Р. Хаитов¹**

¹ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России,
115478, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, 24,
kv.kozhikhova@nrcii.ru,

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России,
119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2,

³Российский университет дружбы народов,
117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

ДЕНДРИМЕРНЫЕ ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ПЕПТИДЫ: ДИЗАЙН, ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И АКТИВНОСТЬ ПРОТИВ РСВ*

Ключевые слова: пептидные дендримеры, респираторно-синцитиальный вирус, твердофазный синтез.

Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ) является одним из наиболее распространенных вирусных патогенов [1]. Вирус особенно опасен для детей и в некоторых случаях может привести к тяжелому бронхиолиту, пневмонии с госпитализацией или даже смертельным исходом [2]. Несмотря на десятилетия исследований биологии РСВ, эффективная и безопасная терапия все еще находится в стадии разработки [3].

Было обнаружено, что некоторые природные пептиды обладают активностью против респираторных вирусов [4], но их применение ограничено низкой стабильностью в биологических средах. Один из современных подходов к усилению терапевтических возможностей пептидов заключается в химическом синтезе их модифицированных аналогов, например дендримеров с разветвленными структурами. Основной целью данного исследования было разработать относительно короткие дендримерные катионные пептиды и проверить их противовирусную активность в отношении РСВ.

Моделирование пептидов проводилось с учетом последних данных о биологически активных катионных природных пептидах [5] и особенностях структуры нуклеолина, идентифицированного в качестве клеточного рецептора РСВ [6]. В результате были синтезированы 7 пептидных дендримеров с использованием протоколов твердофазного синтеза с fmoc-защитной стратегией в автоматическом и ручном режиме.

Очистка пептидных дендримеров проводилась с помощью ВЭЖХ с октадецильной стационарной фазой в градиентном токе (0,1 % ТФУ/ацетонитрил) и УФ-детектором, структуры подтверждали с помощью MALDI-масс-спектрометрии и ¹H-ЯМР-спектроскопии. Цитотоксичность полученных дендримеров оценивалась в МТТ-тесте на клеточной линии МА-104. Противовирусная активность изучалась с использованием двух подходов с оценкой прямого вирулицидного действия и конкурентного ингибирования РСВ в сравнении с известным линейным пептидом LL-37 (семейство кателицидинов) [4] и анти-F0 моноклональными антителами. Сродство пептидов к предполагаемому рецепторному нуклеолину (С23) продемонстрировано с помощью молекулярного докинга *in silico*.

Негидрофобные дендримерные пептиды не обладали цитотоксичностью в исследуемом диапазоне концентраций. С ростом амфипатичности синтезированных молекул возрастала цитотоксичность до уровней, сравнимых с LL-37. При этом для противовирусных испытаний использовался нетоксичный диапазон концентраций. Пять из семи синтезированных дендримеров оказывали сильное противовирусное действие на РСВ, из них пептиды, обладающие большим сродством к нуклеолину (высокие значения свободной энергии комплекса пептид/нуклеолин), демонстрировали противовирусный эффект превышающий активность LL-37. Кроме того, разветвленные пептиды обладали большей стабильностью в биологических средах, чем их линейные аналоги, что расширяет перспективы их дальнейшего исследования.

Таким образом, новые искусственные пептидные дендримеры обладают активностью против РСВ благодаря комбинации двух механизмов: прямой неспецифической дестабилизации вирусной оболочки и конкурентного взаимодействия с клеточным рецептором РСВ.

Список литературы

1. Bont L., Checchia P. A., Fauroux B. *et al.* // *Infect. Dis. Ther.* 2016. Vol. 5. P. 271–298.
2. Geoghegan S., Erviti A., Caballero M. T. *et al.* // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017. Vol. 195, № 1. P. 96–103.
3. Griffiths C., Drews S. J., Marchant D. J. // *Clin. Microbiol. Rev.* 2017. Vol. 30. P. 277–319.
4. Currie S. M., Gwyer Findlay E., McFarlane A. J. *et al.* // *J. Immunol.* 2016. Vol 196 (6). P. 2699–2710.
5. Findlay E. G., Currie S. M., Davidson D. J. // *BioDrugs.* 2013. Vol. 27, № 5. P. 479–493.
6. Tayyari F., Marchant D., Moraes T. J. *et al.* // *Nat. Med.* 2011. Vol. 17. P. 1132–1135.

* Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 18-74-10002.