

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-74

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ С АНТИМИКРОБНЫМ ПЕПТИДОМ ChBac3.4

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF NANOPARTICLES WITH THE ANTIMICROBIAL PEPTIDE ChBac3.4

А. Ю. Евстратова¹, Е. Я. Минаев¹, Н. С. Шастина¹, О. А. Баранова², А. В. Чеканов², Д. В. Товпеко³, А. С. Комлев⁴,
М. С. Сухарева⁴, Е. В. Владимирова⁴, Э. Ю. Соловьева², А. И. Федин², В. А. Щелконогов^{1,2}

¹*МИРЭА — Российский технологический университет, Москва*

²*Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Москва*

³*Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург*

⁴*Институт экстремальной медицины, Санкт-Петербург*

A. Yu. Evstratova¹, E. Ya. Minaev¹, N. S. Shastina¹, O. A. Baranova², A. V. Chekanov², D. V. Tovpeko³, A. S. Komlev⁴,
M. S. Sukhareva⁴, E. V. Vladimirova⁴, E. Yu. Solovyeva², A. I. Fedin², V. A. Shchelkonogov^{1,2}

¹*MIREA — Russian Technological University, Moscow*

²*Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow*

³*S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg*

⁴*Institute of Extreme Medicine, Saint Petersburg*

E-mail: evstratova.anastasya.8@yandex.ru

Аннотация

Получены липосомы (Лс) с антимикробным пептидом ChBac3.4, с размером частиц в диапазоне 140–210 нм, характеризующиеся высокой степенью включения в наночастицы (НЧ) независимо от pH среды и дисперсионной стабильностью при длительном хранении при T +4 °C. Продemonстрировано, что Лс с ChBac3.4 обладают выраженными антиоксидантными свойствами.

Abstract

Liposomes (Lc) with antimicrobial peptide ChBac3.4, with a particle size of 140–210 nm were obtained, characterized by a high encapsulation efficiency in nanoparticles (NPs) regardless of the pH of the medium and dispersion stability during long-term storage at T +4 °C. It has been demonstrated that Lc with ChBac3.4 have pronounced antioxidant properties.

Сосудистые заболевания головного мозга являются серьезными и распространенными патологиями центральной нервной системы, часто приводящими к летальным исходам. Ишемический процесс — ключевой фактор протекания многих патологических реакций в головном мозге. В основе таких биохимических реакций лежит «оксидативный стресс». Оксидативный стресс характеризуется чрезмерным образованием активных форм кислорода (АФК) и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), что приводит к повреждению и гибели нейронов головного мозга. Таким образом, при комплексной терапии данной патологии важно использовать препараты, обладающие антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Антимикробный пептид (АМП) ChBac3.4 представляет собой богатый пролином и аргинином пептид, который обладает широким спектром биологических свойств от бактерицидного действия до участия в процессах регенерации. Однако при систематическом введении ChBac3.4 возникает ряд проблем, таких как высокая цитотоксичность, нежелательные побочные эффекты и быстрая биodeградация в организме.

Поэтому целью исследования является получение липосом с антимикробным пептидом ChBac3.4 для защиты его от биodeградации, пролонгированного действия, а также исследование биологической активности на модельных системах.

Первоначально получали фосфатидилхолиновые (ФХ) липосомы с ChBac3.4 методом гидратации липидной пленки, диспергируя ее фосфатным буферным (ФБР, pH 7,4) или физиологическим (pH 5,7) растворами, содержащими пептид, с последующей экструзией.

Таким образом были получены ФХ-липосомы с ChBac3.4 с размером частиц в диапазоне от 140 до 210 нм. Степень включения активной субстанции в Лс варьировалась от 60 до 95 % в зависимости от концентрации активной субстанции (0,3–0,6 мг/мл). Необходимо отметить, что эффективность включения АМП в Лс не зависела от pH среды. Было показано, что НЧ с ChBac3.4 были гомогенными, электронейтральными и дисперсионно ста-

бильными при длительном хранении (более 10 мес.) при $T +4^{\circ}\text{C}$. Также было обнаружено, что за 3 дня высвободилось около $60 \pm 10\%$ ChBac3.4 из наночастиц, что позволяет судить о пролонгированном действии.

Для оценки антиоксидантной активности Лс с ChBac3.4 был проведен тест с использованием стабильного DPPH-радикала. При добавлении Лс с ChBac3.4 (3,5–10,5 мкМ) наблюдалось выраженное снижение концентрации DPPH-радикала, свидетельствующее о его восстановлении. В ходе эксперимента было установлено, что Лс с ChBac3.4 обеспечивали ингибирование DPPH-радикала в пределах 64–72 %, что указывает на выраженные антиоксидантные свойства данных липосом с АМП. Стоит отметить, что «пустые» Лс и водные растворы ChBac3.4 (3,5–10,5 мкМ) также обладают антиоксидантным эффектом (ингибирование DPPH-радикала — 46–56 %).

Одними из форменных элементов крови являются нейтрофилы, способные генерировать активные формы кислорода (АФК) в присутствии различных активаторов или при воспалительных процессах. В данной работе оценивалось антиоксидантное действие липосом с ChBac3.4 на активированных нейтрофилах в сравнении с водным раствором пептида и «пустых» Лс. Активацию нейтрофилов обуславливали форбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА).

В результате проведенных исследований было показано, что добавление ФМА к нативным нейтрофилам (контроль) приводило к увеличению интенсивности хемилюминесценции нейтрофилов по сравнению с интактными клетками. Добавление Лс с ChBac3.4 (3,5–10,5 мкМ) приводило к значительному уменьшению (примерно 6–32 раза) интенсивности хемилюминесценции, обусловленной протеканием свободно-радикальных процессов в нейтрофилах, активированных с помощью ФМА, по сравнению с контролем. Наиболее эффективным антиоксидантным действием обладали Лс с ChBac3.4 при использовании максимально исследуемой концентрации пептида. Водный раствор ChBac3.4 (3,5–10,5 мкМ) и «пустые» липосомы также проявляли антиоксидантные свойства в выбранной клеточной модели, снижая концентрацию АФК примерно в 2 раза.

Таким образом, липосомы с ChBac3.4 являются перспективными кандидатами для дальнейших исследований молекулярно-биологических механизмов *in vitro*.