

## ОЦЕНКА НОВОГО ТЕХНЕЦИЙ-99М СОДЕРЖАЩЕГО РАДИОХИМИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ НА ОСНОВЕ КАРКАСНЫХ БЕЛКОВ С ХЕЛАТНЫМИ ГРУППАМИ

Ф. Ш. Юлдашева<sup>1</sup>, Г. Е. Янович<sup>2</sup>, А. С. Фоминых<sup>1</sup>  
 Научный руководитель – к.х.н., доцент Е. В. Плотников

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский политехнический университет  
 634050, Россия, г. Томск, проспект Ленина д. 30, [tpu@tpu.ru](mailto:tpu@tpu.ru)

<sup>2</sup>Сибирский государственный медицинский университет  
 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт 2 стр. 18, [dekanat.ff@ssmu.ru](mailto:dekanat.ff@ssmu.ru)

Сверхэкспрессия некоторых тирозинкиназных рецепторов является показателем онкогенеза и прогрессирования многих карцином. Одним из таких рецепторов является рецептор человеческого эпидермального фактора роста типа 2 (HER2), гиперэкспрессия которого наблюдается в случаях рака молочной железы, желудочно-пищеводного тракта, пищевода, яичников и других видов рака [1].

Одним из многообещающих классов инженерных каркасных белков для молекулярной визуализации рака с HER2-экспрессией являются белки анкириновых повторов (DARPin). Белок DARPin состоит из трех или четырех 33-аминокислотных повторов. DARPin характеризуется высокой термодинамической стабильностью против термической и химической денатурации. Ещё одним из важных преимуществ DARPin является высокоэффективное производство в прокариотических хозяевах, что снижает производственные затраты [2].

**Цель.** Оценка интернализации радиохимического соединения с HER2 экспрессирующей клеточной линией рака яичника SKOV-3 *in vitro*. В качестве объекта исследования используется радиокомплекс на основе радионуклида технеция-99м, белка DARPin G3 и пептидного хелатора триглицидлцистеина ( $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-G}_3\text{-G}_3\text{C}$ ).

**Материалы и методы.** Клеточный процессинг и интернализация радиокомплекса  $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-G}_3\text{-G}_3\text{C}$  оценивали с использованием клеток SKOV-3. Клетки (3 чашки на момент времени,  $10^6$  клеток на чашку) непрерывно инкубировали с 1 нМ раствором  $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-G}_3\text{-G}_3\text{C}$  при 37 °С. Во время инкубации интернализированную фракцию периодически определяли методом кислотной промывки. Ассоциированные с мембраной DARPin удаляли из клеток обработкой 4 М раствором мочевины в 0,2 М глициновом буфере, рН 2,0, в течение 5 мин на льду. Собирали раствор и измеряли его активность. Клеточные

остатки, содержащие интернализированные конъюгаты, отделяли обработкой 1 М раствором NaOH в течение 30 мин при 37 °С. Измеряли радиоактивность во фракциях и рассчитывали процент общей клеточной, мембранной и интернализированной радиоактивности.

**Результаты.** Валидация теста интернализации  $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-G}_3\text{-G}_3\text{C}$  показала, что менее 5 % активности было связано с клетками после 2-часовой инкубации на льду и последующей промывки кислотой. Количество интернализированной активности достигало плато через 6 ч после начала инкубации. Интернализация  $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-G}_3\text{-G}_3\text{C}$  в SKOV-3 происходила достаточно медленно (25 % за 24 часа), что создает предпосылки для эффективного удержания радиоактивной метки внутри опухолевой клетки (рис. 1). В то же время общая клеточно-ассоциированная активность достигала максимума к 4–6 ч и затем снижалась, что характеризует быстрое вымывание радиокатаболитов из клеток.

**Выводы.** Таким образом, исследование показало, что таргетный агент на основе  $^{99m}\text{Tc}$  и DARPin-хелат ( $\text{G}_3\text{C}$ ) имеет предпосылки для перспективности в диагностики опухоли, поскольку комплекс удерживается в опухоли и не удерживается в здоровых органах.

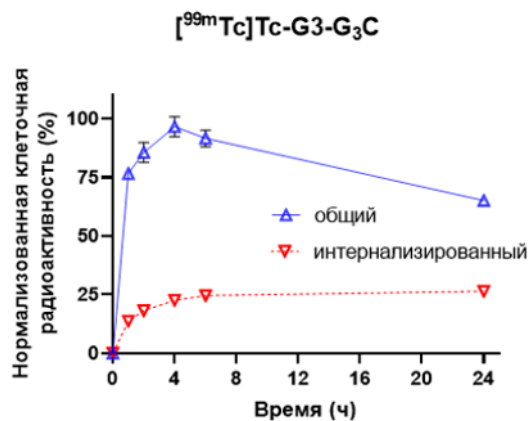


Рис. 1. Результаты определения интернализации радиокомплекса  $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-G}_3\text{-G}_3\text{C}$  в SKOV-3

### Список литературы

1. Yan M. et al. *HER2 aberrations in cancer: implications for therapy // Cancer treatment reviews, 2014. – V. 40. – № 6. – P. 770–780.*
2. Plückthun A. *Designed ankyrin repeat proteins (DARPs): binding proteins for research, diagnostics, and therapy // Annual review of pharmacology and toxicology, 2015. – V. 55. – P. 489–511.*

## БИООРТОГОНАЛЬНАЯ ЭЛЕКТРОННО-ОБРАЩЕНАЯ РЕАКЦИЯ ДИЛЬСА-АЛЬДЕРА КАК СПОСОБ СОЗДАНИЯ ТАРГЕТНОЙ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ХЛОРИНА- $e_6$ В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

П. Янкович, В. Ф. Отвагин, А. В. Нючев

Научный руководитель – д.х.н., профессор А. Ю. Федоров

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н. И. Лобачевского

603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, petar.jankovic96@mail.ru

Биоортогональные реакции – это химические реакции, обладающие способностью протекать внутри живых систем (*in vivo*), и при этом ни каким образом не мешают протеканию естественных биохимических процессов. Селективность реакций данного типа заключается в функциональных группах, которые, как правило, не встречаются в биомолекулах, поэтому способны реагировать только друг с другом. Такие реакции обладают большой научной популярностью, так как они нашли свое применение в лечении опухолевых заболеваний (фотодинамической терапии) и не только их.

Фотосенсибилизатор Хлорин- $e_6$ , и его аналоги, нашли свое применение в медицинской практике. Низкая селективность связывания с клетками опухоли – основной недостаток используемых в клинической практике фотосенсибилизаторов хлоринового ряда, что приводит к нежелательному повреждению здоровых тканей.

Разработанная нами стратегия доставки фотосенсибилизатора состоит из молекулы тетразина, таргетного фрагмента – биотина и линкера (рис. 1.). Биологический вектор должен усваиваться в больших количествах опухолевыми клетками в целях обеспечения минимального вреда препарата для здоровой ткани.

Посредством биоортогональной электронно-обращенной реакции Дильса-Альдера

(IEDDA), подобный хлорину- $e_6$  фотоактивный агент, целенаправленно *in vivo* реагирует с тетразин-содержащей молекулой и образует единую фотоактивную систему. Полученная система выделяет синглетный кислород при облучении ее светом определенной длины волны, что в итоге вызывает гибель опухолевой клетки [1].

Ранее показали, что хлориновый фотосенсибилизатор с экзо-двойной связью хорошо взаимодействует с тетразиновым ядром. В настоящее время, из метилфеофорбида-а, с помощью реакций бромирования с последующим элиминированием и кислотного гидролиза, планируется получить модифицированный хлорин- $e_6$  с экзо-тройной связью. Образующаяся экзо-тройная связь будет положительно сказываться на скорость протекания IEDDA реакции.

Производное тетразина **6** (рис. 2.) синтезировали из аминокислоты – глицина и витамина биотина. С помощью цепочки последовательных реакций был получен тетразин **4**, к которому в конце присоединили биотин клик-реакцией на меди.

В будущем, полученный двухкомпонентный препарат может быть хорошей основой для получения серии похожих препаратов как диагностического назначения, так и терапевтического.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 21-73-10230).