

R¹R²ONR³. В силу уникальных особенностей своей структуры они способны под действием внешних стимулов генерировать стабильный нитроксильный и активный алкильный радикалы [1].

Целью работы являлось изучение цитостатических свойств производных алкоксиаминов на опухолевых культурах А-431 (рак кожи) и РС-3 (рак предстательной железы).

Биологические образцы линий клеток А-431 и РС-3 инкубировали при температуре 37 °С в атмосфере СО₂ (5 %). Клетки засеивали в 96-луночные планшеты по 5000 клеток в лунку. Объектом исследования стали растворы алкоксиаминов № 1–6 в ДМСО, которые добавлялись к клеткам после 24 часов инкубации. Оценку метаболической активности проводили с помощью МТТ-теста, результаты которого представлены на рисунках 1 и 2.

Список литературы

1. *Votkina D.E., Abramov A.A., Kovalskaya E.S., Plotnikov E.V., Postnikov P.S., Stepanova E.V., & Petunin P.V. // ChemMedChem. – 2023. – 18. – 11. – e202300026.*

В результате работы было установлено, что при концентрациях 250 мкМ, 125 мкМ и 62,5 мкМ аминов № 1, 2 жизнеспособность клеток линии РС-3 снизилась до 97 %, для клеток А-431 аналогичная концентрация алкоксиаминов оказала снижение метаболической активности до 100 %, что доказывает токсичность исследуемых веществ при данных концентрациях. Линия А-431 оказалась чувствительнее к амидам № 4 и 6, и при начальных концентрациях веществ жизнеспособность клеток составила не более 16 %, в то время как у РС-3 при тех же концентрациях аминов этот показатель выше в 3 раза. Вещества № 3 и 5 не проявили токсичных свойств: жизнеспособность обеих клеточных линий составила не менее 60 %.

Таким образом, алкоксиамины представляют значительный интерес для разработки новых противоопухолевых препаратов.

РАДИОНУКЛИДНАЯ ДИАГНОСТИКА ЭКСПРЕССИИ EGFR КАРКАСНЫМ БЕЛКОМ DARP_{in} (HE)₃-E01, МЕЧЕННЫМ ^{99m}Tc

Г. Е. Янович¹, Р. Н. Варвашеня¹, А. А. Прач²

Научный руководитель – д.фарм.н., профессор ИШХБМТ М. С. Ларькина

¹Сибирский государственный медицинский университет
Россия, Томск

²Томский политехнический университет
Россия, Томск
sonne_gleb@mail.ru

На поверхности клеток расположены рецепторы, которые используются как мишени для визуализации опухоли и ее метастазов и таргетной терапии. Одной из таких перспективных мишеней является рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), который сверхэкспрессируется в глиомах [1], а также в опухолях головы и шеи, груди [2], кишечника, легких [3] и мочевого пузыря [4]. Рекомбинантные белки с анкириновыми повторами, такие как DARP_{in} (HE)₃-E01, имеют небольшой размер, нетоксичны, высокоаффинны к мишени EGFR и являются перспективной альтернативой антителам.

Целью исследования является изучить возможность диагностики экспрессии рецептора

эпидермального фактора роста адресным белком DARP_{in} (HE)₃-E01, меченным ^{99m}Tc.

Специфичность связывания *in vitro* тестировали методом насыщения на 2 клеточных линиях А-431 и РС-3. В контрольных чашках для насыщения клеточных рецепторов клетки предварительно инкубировали с цетуксимабом (500 нМ) в течение 30 минут при температуре 37 °С. После этого, во все чашки с клетками, добавляли комплекс [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-E01 до концентрации 5 нМ и инкубировали 1 ч при температуре 37 °С.

После инкубации клетки промывали 1 мл раствора PBS, открепляли 0,5 мл трипсина и собирали. Связанную с клетками радиоактивность измеряли с использованием гамма-счетчика

(1480 Wizard, Perkin Elmer, США) и представляли в виде процента от добавленной активности на млн клеток.

Биораспределение и таргетные свойства *in vivo* проводили с использованием иммунодефицитных мышей Nu/J с привитыми человеческими опухолями А-431 (EGFR+) и Ramos (EGFR-).

Для измерения биораспределения мышам внутривенно (в хвостовую вену) вводили раствор [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-E01 (60 кБк на мышь, 3 мкг на мышь) в 100 мкл 1 % BSA в PBS. Спустя 4 часа после инъекции мышей умерщвляли, кровь забирала гепаринизированным шприцем путем пункции сердца. Также были собраны образцы опухолей и органов. Образцы взвешивали и измеряли их активность с помощью гамма-счетчика. Измерения были скорректированы на фон. Рассчитывали процент введенной дозы на грамм образца органа или ткани (% ВД/г).

Для определения статистически значимых отличий ($p < 0,05$) использовали непарный двусторонний t-тест.

Список литературы

1. Collins V.P., James C.D. *Gene and chromosomal alterations associated with the development of human gliomas* // *Faseb J.* – 1993. – 7:926–930.
2. Earp H.S., Dawson T.L., Li X. and Yu H. *Heterodimerization and functional interaction between EGF receptor family members: A new signaling paradigm with implication for breast cancer research* // *Breast Cancer Res. Treat.* – 1995. – 35:115–132.
3. Kaseda S., Ueda M., Ozawa S., Ishihara T., Abe O. and Shimizu N. *Expression of epidermal growth factor receptors in four histologic cell types of lung cancer.* // *J. Surg. Oncol.* – 1989. – 42:16–20.
4. Neal D.E. and Mellon K. *Epidermal growth factor receptor and bladder cancer: A review,* 1992. – *Urol. Int.* – 48:365–371.

Результаты уровня связывания комплекса [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-E01 с EGFR в клеточной культуре А-431 составил $7,17 \pm 0,04$ % ВД/г. В клетках РС-3 с низкой экспрессией EGFR процент связывания комплекса значимо ниже ($p < 0,05$), чем в клетках А-431, и составил $1,4 \pm 0,2$ % ВД/г.

Радиокомплекс [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-E01 накапливает активность в опухолевых ксенографтах А-431 у мышей значимо выше, чем в ксенографтах Ramos ($p < 0,05$). В почках и печени накопление составило более 20 % (ВД/г), в остальных органах значения не превышали 7 % (ВД/г).

Заключение. Было установлено, что радиокомплекс DARPin (HE)₃-E01, меченный ^{99m}Tc, специфически связывается с EGFR-экспрессирующими раковыми клетками человека *in vitro*, а также специфически накапливается в EGFR-экспрессирующих ксенотрансплантатах у мышей. [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-E01 является перспективным для визуализации гиперэкспрессии рецептора эпидермального фактора роста при раке.