

в процессах пролиферации, дифференцировки, апоптоза, регуляции клеточного цикла, репликации, транскрипции и т. д.

А.М. Дёмин¹, Ю.В. Кузнецова², В.П. Краснов¹, А.А. Ремпель²
СИНТЕЗ ГИБРИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ Fe_3O_4 И НАНОЧАСТИЦ Ag_2S В БИМЕДИЦИНСКИХ ЦЕЛЯХ

¹ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург;

²ФГБУН ИХТТ УрО РАН, Екатеринбург

Введение. В настоящее время магнитные наночастицы (МНЧ) и квантовые точки (КТ) достаточно часто используются в качестве мультимодальных платформ для получения на их основе диагностических и терапевтических препаратов, в первую очередь в онкологии. МНЧ часто используют в качестве материалов, усиливающих контраст при магнитно-резонансной томографии. Эмиссия КТ Ag_2S в близкой инфракрасной (ИК) области является основным преимуществом в визуализации клеток оптическими методами, так как в этой части диапазона автофлуоресценция клеток минимальна. Кроме того, преимуществом наночастиц Fe_3O_4 и Ag_2S является их низкая токсичность и возможность получения на их основе материалов в биомедицинских целях.

Цель исследования — получение гибридных наноматериалов на основе Fe_3O_4 и Ag_2S , сочетающих в себе как магнитные свойства МНЧ, так и оптические свойства КТ.

Материалы и методы. КТ Ag_2S и МНЧ Fe_3O_4 получали осаждением частиц из растворов соответствующих солей. КТ стабилизировали бычьим сывороточным альбумином (БСА), а для стабилизации МНЧ использовали N-(фосфонометил) иминодиуксусную кислоту (PMIDA). Методом динамического рассеяния света (Zetasizer Nano ZS) изучены гидродинамические характеристики полученных суспензий КТ и гибридных наночастиц (Fe_3O_4 -BSA- Ag_2S). Оптические свойства изучены при использовании UV-2401PC (Shimadzu). Fe_3O_4 -BSA- Ag_2S охарактеризованы данными ИК-спектроскопии (Nicolet 6700) и PCA (STADI-P, STOE).

Результаты. На 1-м этапе исследованы условия получения стабильных водных суспензий КТ на основе Ag_2S при использовании БСА и проведено исследование влияния количества БСА на стабильность получаемых суспензий Ag_2S -BSA. Показано, что для стабилизации 1 мг Ag_2S в воде (0,35 мг/мл) достаточно 0,1 мг БСА. В работе предложен новый метод синтеза гибридных наночастиц на основе Fe_3O_4 и КТ Ag_2S , заключающийся в нанесении на поверхность МНЧ БСА и осаждении в дальнейшем на белковом покрытии КТ. Для этого к коллоидному раствору Fe_3O_4 -PMIDA добавляли раствор БСА. Молекулы БСА содержат в своем составе как свободные карбоксильные, так и аминокислотные группы. Используемые в реакции Fe_3O_4 -PMIDA имеют высокий отрицательный поверхностный заряд, что увеличивает силу связывания молекул БСА с поверхностью за счет ионного взаимодействия между карбоксильными группами PMIDA и аминокислотными группами БСА. Осаждение КТ проводили по аналогии с методикой, разработанной на 1-м этапе работы путем добавления к наночастицам Fe_3O_4 -PMIDA-БСА последовательно Ag^+ и S^{2-} .

Заключение. Предложен новый метод синтеза МНЧ на основе Fe_3O_4 и КТ Ag_2S , заключающийся в нанесении

на поверхность МНЧ БСА и осаждении на белковом покрытии КТ. Полученные гибридные наноматериалы могут быть использованы для реализации новых подходов к визуализации клеток (том числе опухолевых) и изучения внутриклеточных процессов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 14-03-00146-а) и УрО РАН (№ 15-21-3-6).

А.М. Дёмин, М.А. Макаренко, В.П. Краснов

СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ RGD-ПЕПТИДА

¹ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург

Введение. Производные RGD-пептида (содержащие в своей структуре фрагмент L-Arg-Gly-L-Asp) в настоящее время используются в качестве молекулярных векторов, обеспечивающих специфическую доставку препарата в опухолевые ткани за счет связывания с интегринами $\alpha_{IIb}/IIIa$, $\alpha_V\beta_3$, $\alpha_V\beta_5$, вовлеченными в процессы метастазирования опухоли и ангиогенеза. Конъюгация RGD-пептидов с терапевтическими и диагностическими агентами (противораковыми препаратами или наночастицами) может позволить получить высокоэффективные препараты для использования в онкологии.

Цель исследования — разработка синтетических подходов для получения производных KRGD- и GRGD-пептидов, которые в дальнейшем могут быть конъюгированы с магнитными наночастицами (МНЧ) для применения в магнитно-резонансной диагностике онкологических заболеваний.

Материалы и методы. В работе использовали классические методы пептидной химии в растворе. Синтез пептидов осуществляли путем последовательного наращивания пептидной цепи, исходя из диметилового эфира L-аспаргиновой кислоты. Строение и чистота полученных продуктов подтверждена данными ¹H ядерного магнитного резонанса (Bruker Avance 500), элементного анализа (Perkin Elmer PE 2400), HRMS (LCMS-2010 фирмы «Shimadzu») и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (Agilent 1100, колонка Phenomenex Luna C-18).

Результаты. На 1-м этапе был оптимизирован метод синтеза RGD-пептида. Путем его конденсации с Fmoc-L-Lys (Boc) — OH или Fmoc-Gly при использовании TBUTU в качестве конденсирующего агента получены избирательно защищенные производные KRGD и GRGD соответственно. Fmoc-группы удаляли 20 % пиперидином в метаноле, в результате чего получали пептиды со свободными аминокислотными группами. Далее проводили конденсацию с глутаровым ангидридом и получали целевые производные KRGD- и GRGD-пептидов, содержащие спейсеры со свободными карбоксильными группами соответственно. Защита функциональных групп пептида была выбрана таким образом, чтобы сохранить их биологические свойства и при этом обеспечить возможность их связывания с другими биомолекулами или материалами, например с поверхностью МНЧ в целях создания МРТ-контрастных препаратов для визуализации опухолевых тканей.

Заключение. Разработаны синтетические подходы для получения производных защищенных KRGD- и GRGD-пептидов, содержащих остатки глутаровой кислоты, при-