

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

*А.М. Дёмин<sup>1</sup>, Ю.В. Кузнецова<sup>2</sup>, В.П. Краснов<sup>1</sup>, А.А. Ремпель<sup>2</sup>*  
**СИНТЕЗ ГИБРИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ  $Fe_3O_4$  И НАНОЧАСТИЦ  $Ag_2S$  В БИМЕДИЦИНСКИХ ЦЕЛЯХ**

<sup>1</sup>ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург;

<sup>2</sup>ФГБУН 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 аминоксильные 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 аминоксильными 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**

<sup>1</sup>ФГБУН «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  $\alpha_{V\beta_3}$ ,  $\alpha_{V\beta_5}$ , 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 <sup>1</sup>H 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 TBUT 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 аминоксильными 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-

годных для их последующей конденсации с другими биомолекулами или МНЧ.

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

А.М. Дёмин<sup>1</sup>, А.Г. Першина<sup>2</sup>, В.В. Иванов<sup>2</sup>,  
О.Б. Шевелев<sup>3</sup>, К.В. Невская<sup>2</sup>, Д.О. Ащеулова<sup>2</sup>,  
В.П. Краснов<sup>1</sup>, А.Э. Сазонов<sup>2</sup>, Л.М. Огородова<sup>2</sup>

# **СИНТЕЗ НАНОГИБРИДНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ $Fe_3O_4$ , ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ pH-ЗАВИСИМЫМ ПЕПТИДОМ (rHLIP), ДЛЯ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЗОН ЛОКАЛЬНОГО АЦИДОЗА**

<sup>1</sup>ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск;

<sup>3</sup>ФГБНУ ИЦГ СО РАН, Новосибирск

**Введение.** Пептиды rHLIPs (pH Low Insertion Peptides) — класс гидрофобных пептидов, способных встраиваться в мембраны клеток при низких значениях pH. Известно, что опухолевые ткани имеют пониженную pH межклеточного пространства. Поэтому rHLIP может служить молекулярным вектором для транспортировки лекарственных веществ или, например, магнитных наночастиц (МНЧ) в опухоль. Таким образом, можно получить высокоэффективные диагностические препараты для использования в онкологии.

**Цель исследования** — разработка нанобиогибридной конструкции на основе МНЧ, модифицированных силановыми производными и функционализированных за счет формирования ковалентной связи с pH-чувствительным пептидом, предназначенной для выявления зон локального ацидоза *in vivo* методом магнитно-резонансной (МР) томографии.

**Материалы и методы.** Для получения нанобиогибридной конструкции использовали МНЧ  $Fe_3O_4$  диаметром 10 нм, полученные методом осаждения из растворов солей  $Fe^{3+}$  и  $Fe^{2+}$ . Наночастицы охарактеризованы методами инфракрасной спектроскопии, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии, динамического рассеяния света. Проведены исследования МР-контрастных свойств *in vitro* и *in vivo* (Bruker, Biospec 117/16 USR, Германия).

**Результаты.** МНЧ модифицировали 3-аминопропилсиланом, далее проводили конденсацию малеимидного кросс-линкера EMCS, имеющего активированную гидроксисукцинимидом карбоксильную группу, с аминок группами на поверхности МНЧ. Иммунизация rHLIP на МНЧ проведена за счет нуклеофильного присоединения SH-группы L-Cys данного пептида к двойной связи остатка малеимида. В результате получена наногибридная конструкция МНЧ — rHLIP, в которой пептид закреплен на поверхности ковалентно. МР-контрастные свойства МНЧ подтверждены исследованиями *in vitro* и *in vivo*, эффективное контрастирование патологической ткани достигается при введении наноконъюгата в дозе 0,6 мг/кг, сопоставимой с дозами введения ряда коммерческих препаратов, например Feridex. По данным ЛДГ- и МТТ-тестов полученный наноконъюгат в концентрации до 40 мкг/мл не оказывал выраженного токсического действия *in vitro* на клетки линии НТС.

**Заключение.** Проведена иммобилизация rHLIP на МНЧ на основе  $Fe_3O_4$ . rHLIP был закреплен на поверхности 3-аминопропилсилан-модифицированных МНЧ при использовании гетерофункционального линкера EMCS. Полученные МНЧ-rHLIP малотоксичны, а по своим МР-контрастным свойствам сопоставимы с рядом коммерческих препаратов и могут быть использованы для создания в дальнейшем препаратов для МР-диагностики.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00247).

А.М. Дёмин<sup>1</sup>, А.Г. Першина<sup>2</sup>, А.Э. Сазонов<sup>2</sup>,  
Л.М. Огородова<sup>2</sup>, В.П. Краснов<sup>1</sup>

# **ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ПЕПТИДАМИ И БЕЛКАМИ**

<sup>1</sup>ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск

**Введение.** Наноматериалы на основе магнитных наночастиц (МНЧ), в первую очередь  $Fe_3O_4$ , часто используются как диагностические (в том числе для магнитно-резонансной томографии или магнитной релаксометрии) и терапевтические (гипертермия) агенты, в качестве систем фармацевтической доставки лекарственных средств, применяемых в онкологии и других областях.

**Цель исследования** — разработка подходов к модификации МНЧ пептидами и белками визуализирующих диагностических агентов и препаратов для терапии онкологических заболеваний.

**Материалы и методы.** В работе использованы МНЧ на основе  $Fe_3O_4$  диаметром 10 нм, полученные методом осаждения из растворов солей  $Fe^{3+}$  и  $Fe^{2+}$ . МНЧ предварительно функционализировали 3-аминосиланом (МНЧ-NH<sub>2</sub>) (ковалентно) или N-(фосфонометил)аминодиуксусной кислотой (МНЧ-COOH) (нековалентно). В работе использованы методы инфракрасного, ультрафиолетового излучения, флуориметрии и масс-спектропии высокого разрешения и др.

**Результаты.** Иммунизацию на функционализированные МНЧ можно проводить путем конденсации аминокислотных или карбоксильных групп на их поверхности со свободными карбоксильными или аминок группами белка (или пептида) соответственно при использовании карбодиимидов. На примере конъюгации МНЧ с rHLIP флуоресцентным белком TagGFP2 и антителами к CD117 изучены процесс иммунизации пептидов и белков на поверхность МНЧ при использовании 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) и возможность протекания побочных процессов, связанных с поликонденсацией молекул пептидов и белков в присутствии карбодиимида. Реакции проводили в фосфатном буферном растворе (pH 7,5) при использовании эквивалентных количеств EDC в расчете на количество функциональных групп на поверхности МНЧ. В случае МНЧ-COOH на 1-м этапе проводили активацию карбоксильных групп EDC, после чего добавляли соответствующий аминок компонент. В случае МНЧ-NH<sub>2</sub> EDC добавляли в реакционную массу в присутствии карбоксильной компоненты.

**Заключение.** Разработаны химические подходы к получению МНЧ-конъюгатов с пептидами и белками. Пока-