

Харківський національний університет
імені В. Н. Каразіна

(повне найменування вищого навчального закладу)

Навчально-науковий інститут «Фізико-технічний факультет»

(назва факультету)

Кафедра прикладної фізики та фізики плазми

(повна назва кафедри)

Пояснювальна записка

з дипломної роботи

(назва навчальної дисципліни, практики)

на тему

укр. Комп'ютерне моделювання білкових наносистем доставки
протипухлинного препарату доxorубіцину

англ. Computer modeling of proteinsantitumor delivery nanosystems drug
doxorubicin

Виконала: студент 4 курсу навчання
освітнього рівня бакалавр зі спеціальності
105 Прикладна фізика та наноматеріали
освітня програма: Прикладна фізика

Катерина АНІЩЕНКО

(прізвище та ініціали)

(особистий підпис)

Керівник Галина ГОРБЕНКО

(прізвище та ініціали)

(особистий підпис)

Рецензент Валерій ЛІСОВСЬКИЙ

(прізвище та ініціали)

(особистий підпис)

Анотація

Аніщенко К. О. – Комп'ютерне моделювання білкових наносистем доставки протипухлинного препарату доксорубіцину. – Рукопис.

Дипломна робота бакалавра за спеціальністю 105 «Прикладна фізика та наноматеріали» – Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, Харків, 2024.

61 с., 47 рис., 3 табл., 21 джерел.

Комп'ютерне моделювання відіграє вирішальну роль у розробці ефективних протипухлинних наносистем доставки таких ліків, як доксорубіцин. Використовуючи обчислювальні методи, вчені можуть передбачити поведінку цих наносистем, у тому числі те, як вони взаємодіють із білками в організмі. Зокрема, у контексті взаємодії білків з ліками комп'ютерне моделювання дозволяє дослідникам моделювати зв'язування доксорубіцину з цільовими білками, що беруть участь у прогресуванні раку, що дозволяє оптимізувати механізми доставки ліків для підвищення ефективності та зменшення побічних ефектів. Таке моделювання допомагає зрозуміти динаміку взаємодії ліків та білків на молекулярному рівні, сприяючи розробці більш цілеспрямованої та ефективної протипухлинної терапії.

Summary

Anishchenko K. O. – Computer modeling of proteinsantitumor delivery nanosystems drug doxorubicin. – Manuscript.

Bachelor's thesis in speciality 105 "Applied Physics and Nanomaterials" – V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, 2024.

61 pages, 47 pictures, 3 tables, 21 sources.

Computer modeling plays a crucial role in the development of effective antitumor nanosystems for the delivery of drugs such as doxorubicin. Using computational methods, scientists can predict the behavior of these nanosystems, including how they interact with proteins in the body. In particular, in the context of protein-drug interactions, computer modeling allows researchers to model the binding of doxorubicin to target proteins involved in cancer progression, allowing optimization of drug delivery mechanisms to increase efficacy and reduce side effects. Such modeling helps to understand the dynamics of drug-protein interaction at the molecular level, contributing to the development of more targeted and effective anticancer therapy.

ЗМІСТ

Вступ.....	5
Розділ 1. Огляд літератури.....	7
1.1. Наночосії лікарських препаратів на основі білків.....	7
1.2. Структура та функції сироваткового альбуміну.....	8
1.3. Структура та функції лізоциму.....	12
1.4. Біологічна активність доксорубіцину.....	13
1.5. Ядерна медицина.....	14
1.6. Технецій-99.....	15
Розділ 2. Комп'ютерне моделювання.....	19
2.1. Підготовка структур координаційних комплексів технецію, доксорубіцину, індоціанінового зеленого та білка.....	19
2.2. Метод молекулярного докінгу.....	21
Розділ 3. Результати власних досліджень.....	23
3.1 Дослідження взаємодії координаційних комплексів технецію з лізоцимом.....	23
3.2 Дослідження взаємодії лікарського препарату (доксорубіцину) з системою радіонуклід-лізоцим.....	36
3.3 Дослідження взаємодії візуалізуючого агенту (індоціанінового зеленого) з системою координаційний комплекс технецію-лізоцим- доксорубіцин.....	46
Висновки.....	57
Перелік посилань на літературні джерела.....	60

Вступ

У сучасному світі онкологічні захворювання залишаються однією з основних проблем громадського здоров'я та медичної науки. Незважаючи на значні досягнення у лікуванні раку, ефективність і побічні ефекти багатьох антиракових препаратів залишаються предметом постійних досліджень та пошуків нових підходів. Одним з потенційно обіцяючих методів лікування є використання нанотехнологій у створенні наносистем доставки протипухлинних препаратів.

Протипухлинний препарат доксорубіцин вже довгий час використовується у клінічній практиці для лікування різних видів раку. Проте, його ефективність обмежується побічними ефектами та розвитком лікувального стійкого резистентності пухлин до препарату. Для подолання цих обмежень привертає увагу розробка наносистем доставки доксорубіцину, які дозволяють цільово доставляти препарат до пухлинного ураження, знижуючи при цьому системну токсичність.

Ключовим етапом у розробці наносистем доставки є їхнє комп'ютерне моделювання. Використання комп'ютерних моделей дозволяє вивчати взаємодію між білковими наночастинками та лікарськими препаратами, передбачати їхнє поведінку у внутрішньоклітинному середовищі та оптимізувати конструкцію наносистеми для максимальної ефективності. Більш того, комп'ютерне моделювання дозволяє попередньо оцінити токсичність та безпеку розроблених наносистем, що є критичним для подальшого їхнього клінічного впровадження.

Метою даної дипломної роботи є розробка та оцінка комп'ютерних моделей наносистем білкової доставки протипухлинного лікарського препарату доксорубіцину, а саме систем на основі яєчного лізоциму в поєднанні з комплексами технецію (12 сполук) та барвника ближнього інфрачервоного діапазону (індоціаніновий зелений).

Для досягнення даної мети були поставлені та вирішені наступні завдання:

- 1) Побудова структур лікарського препарату, комплексів радіонукліда технецію-99m та індоціанінового зеленого в MarvinSketch з подальшою оптимізацією структур в Avogadro;
- 2) Проведення молекулярного докінгу в програмі HDOCK з метою отримання комплексів лізоцим-радіонуклід;
- 3) Вибір найбільш енергетично вигідних моделей для системи білок-комплекс технецію;
- 4) Дослідження взаємодії доксорубіцину з системою лізоцим-радіонуклід методом молекулярного докінгу;
- 5) Вибір найбільш енергетично вигідних моделей для потрійної системи лізоцим-радіонуклід-доксорубіцин;
- 6) Дослідження взаємодій між візуалізуючим агентом індоціаніновим зеленим та потрійним комплексом з попереднього етапу;
- 7) Детальний аналіз взаємодій між досліджуваними лігандами та лізоцимом для найбільш енергетично вигідних моделей всіх отриманих систем в програмі PLIP.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Наносії лікарських препаратів на основі білків

Нові відкриття в медицині та способи лікування різних захворювань створюють потребу більш складні методи доставки ліків. Традиційно терапевтична ефективність біомолекулярної лікарських засобів, таких як білки та олігонуклеотиди, часто обмежений їх коротким періодом напіврозпаду через протеоліз та нирковий кліренс. Ліки в кровообігу можуть швидко фільтруватися в нирках і очищається через ретикулоендотеліальну систему (RES) до того, як досягне цільового місця. Для введених препаратів через ін'єкцію судинна система може забезпечити прямий шлях до місця захворювання або об'їздом препарат можна виключити. Однак ці препарати слід застосовувати у високих дозах частота перфузії та циркуляції через судинну мережу, нарешті дифундуючи в тканинний інтерстицій, для досягнення необхідного терапевтичного ефекту. У той час як пероральний шлях введення ліків є найбільшим зручний, безпечний і широко прийнятий метод, ці біологічно активні сполуки повинні бути нерозчинними в шлунок, щоб уникнути значних втрат через кислоту та пепсин у шлунку та ферментах підшлункової залози у тонкій кишці. Після потрапляння в кишечник ліки повинні розчинятися і всмоктуватися через слизову оболонку кишечника. Зазначені вище традиційні методи не підходять при хронічному і стійкі захворювання, що вимагають систем доставки ліків, які є нетоксичними, довгостроковими, і контролюється для доставки правильної дози в правильний час. Тому є переважна потреба в механічно стабільних полімерних матеріалах як носіях доставки ліків для інкапсуляції терапевтичних засобів від деградації та очищення, зберігаючи решту тіла від надмірної токсичності.

Інтерес до біополімерів на основі білка для доставки ліків зріс в останні роки.

Наноносії лікарських препаратів на основі білків представляють собою перспективну класифікацію наноматеріалів, призначених для доставки та таргетного вивільнення лікарських речовин у організмі.

Основна перевага наноносіїв на основі білків полягає у їхній біологічній сумісності з організмом людини, що зменшує ризик виникнення токсичних ефектів та подальші побічні реакції. Крім того, білкові наноносії можуть бути функціоналізовані для специфічного спрямованого впливу на конкретні клітини або тканини, що забезпечує більш точну та ефективну доставку лікарських речовин до патологічних ділянок.

Створення наноносіїв на основі білків включає в себе ряд складних технологічних процесів, таких як самоорганізація білкових молекул у наноструктури, функціоналізація поверхні для забезпечення стабільності та спрямованої активності, а також введення лікарських засобів у структуру наносистеми. [1]. Порівняно з синтетичними полімерами вони мають переваги у тому, що вони водорозчинні, біосумісні, здатні до біологічного розкладання та нетоксичний.

1.2. Структура та функції сироваткового альбуміну

Альбумін - найбільш поширений білок в плазмі крові становить приблизно 60% всіх білків в крові. Це добре розчинний у воді дрібний глобулярний білок з молекулярною масою 67 кДа і середнім періодом напіврозпаду 19 днів. Він демонструє стабільність в діапазоні рН 4-9 і може нагріватися протягом 10 годин при температурі 60 ° С. Його можна отримати з багатьох джерел, включаючи людську сироватку (human serum albumin, HSA) (рис.1), бичачу сироватку (bovine serum albumin, BSA), щурячу сироватку (rat serum albumin, RSA) і яєчний білок (ovalbumin, OVA), але два типи, що найбільш часто використовуються для доставки ліків, - це HSA і BSA. [2]

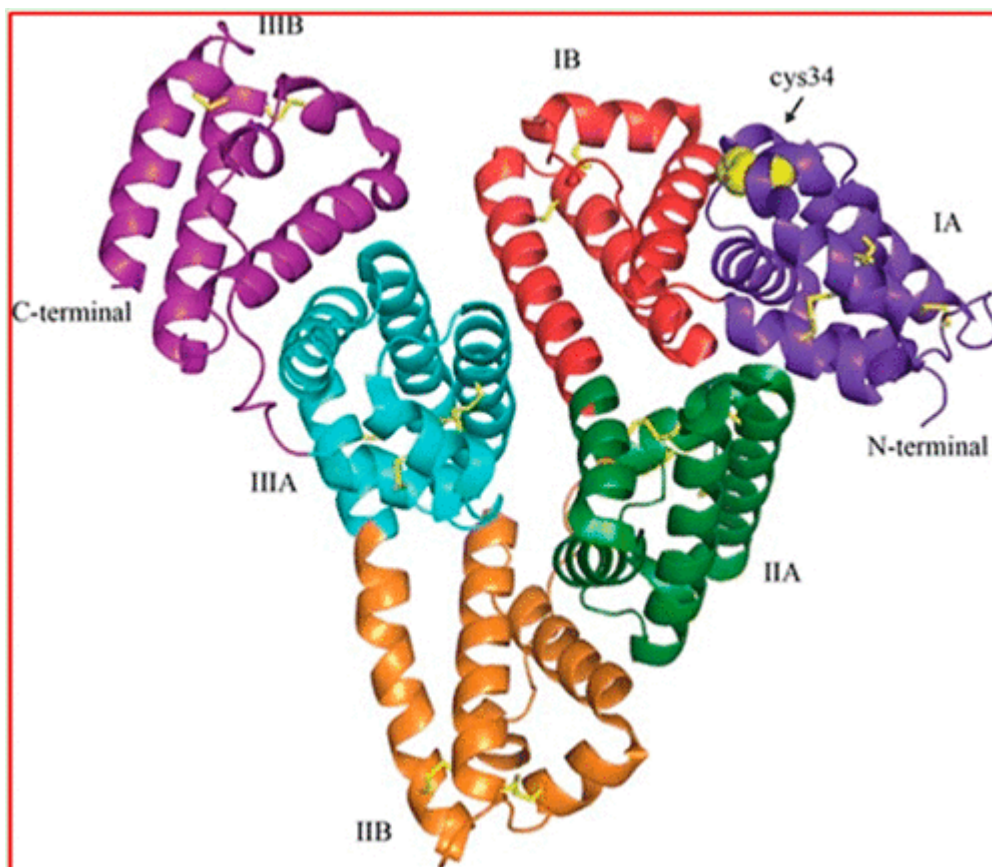


Рис.1.1 Структура сироваткового альбуміну людини

Сироватковий альбумін людини складається з одного ланцюга з 585 амінокислот. Він синтезується в основному у печінці і виконує різноманітні важливі функції в організмі. Його вироблення регулюється потребами організму. Зокрема, стимулюється синтез інсуліном, тироксином і кортизолом або такими станами, як гіпоальбумінемія, тоді як йому перешкоджають калій і вплив на гепатоцити надмірного осмотичного тиску. Крім того, достатнє надходження поживних речовин має фундаментальне значення для запуску вироблення альбуміну. Фактично, погана адсорбція поживних речовин знижує здатність печінки виробляти білок. Альбумін відповідає за підтримання осмотичного тиску крові, живить тканини, транспортує гормони, вітаміни, ліки і двовалентні катіони, такі як кальцій і цинк, по всьому організму. Він діє як поглинач вільних радикалів при запальних станах і бере участь в таких процесах, як згортання крові і загоєння ран.

Альбуміни широко використовуються як засоби доставки ліків при різних захворюваннях через їх високу концентрацію в сироватці крові, тривалий період напіввиведення, часту рециркуляцію, рясне накопичення в доброякісних і злоякісних типах тканин, нетоксичність і неімуногенність [3, 4, 5]. Альбумін швидко дифундує через негерметичні кровоносні судини в пухлинах [5]. Кон'югація ліків з альбуміном може бути досягнута шляхом ковалентного зв'язування терапевтичної сполуки з N- або C-кінцем білка або будь-якої іншої унікальної амінокислоти альбуміну за допомогою клік-хімії, технології рекомбінантної ДНК, хімічного перехресного зшивання або не ковалентної взаємодії [5-6].

HSA є глобулярним білком у формі серця з повторюваною серією з шести спіральних субдоменів [7, 8]. HSA складається з 67% α -спіралей, 10% витків, 23% випадкових котушок і жодних β -листів [9]. Структури рентгенівської кристалографії з високою роздільною здатністю показують три переважаючі домени в альбуміні. Зазвичай вони пронумеровані як домен I (1–195 амінокислот), домен II (196–383 амінокислот) і домен III (384–585 амінокислот) [6] (рисунок 1.1). Кожен домен підрозділяється на два субдомени, A і B. HSA має 17 внутрішньомолекулярних дисульфідних містків, які присутні переважно між α -спіралями. Ці дисульфідні зв'язки необхідні для стабільності білка [10].

Притаманні властивості сироваткового альбуміну людини роблять його дуже бажаним для біотехнологічних застосувань. Він зазвичай використовується в культурах клітин як заміна сироватки, що традиційно використовується.

1.3. Структура та функції лізоциму

Лізоцим складається з приблизно 129 амінокислот. Він відноситься до групи глікозидаз, що мають каталітичну активність проти бактеріальних клітинних стінок. У стінках двох останніх він розщеплює хітин – полімер

ацетилглюкозаміну, тобто виявляє хітинолітичну (або ацетилглюкозамінідазну) активність. Лізоцим є універсальним поширеним ферментом на всіх етапах еволюції живих організмів — від вірусів до вищих ссавців та людини, де відіграє роль захисту організму від інфекцій. Фермент виконує різні біологічні функції, зокрема, виявляє протівірусну активність завдяки формуванню нерозчинних комплексів із кислими вірусами; антибіотичну, антибактеріальну дію тощо.

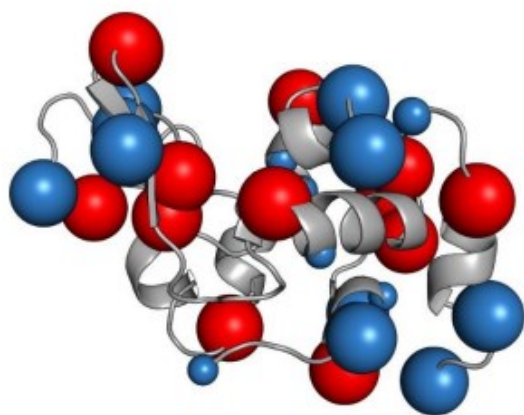


Рис.1.2 Молекула лізоцима

Молекула складається з двох областей, з'єднаних довгою α спіраллю, між якими розташований активний центр ферменту [11]. N-кінцевий домен (залишки 40-88) складається з декількох спіралей і в основному є антипаралельним β -листом. Другий домен складається з залишків 1-39 і 89-129, а його вторинна структура в значній мірі складається з α -спіралей. Дві області молекули розділені спіраль-циклом ASP:87-ARG:114, який відіграє ключову роль у його антимікробній функції. Молекула відповідає принципу гідрофобності всередині і гідрофільності зовні: всі полярні групи знаходяться на поверхні, а більшість гідрофобних груп приховані всередині ферменту. Конформаційний перехід в лізоцимі передбачає відносний рух двох його частин один до одного, що забезпечує вільний доступ до субстрату і створює

відповідне середовище для каталізу. Вважається, що такий тип конструкції відіграє вирішальну роль у ферментативній дії лізоциму [13].

Завдяки високому значенню ізоелектричної точки фермент зв'язується з овумоуцином яєчного білка (pI 4.5-5.0) і негативно зарядженими залишками сіалової кислоти в глікопротеїні, а також з овотрансферином (pI 6.0) і овалбуміном (pI 6.0). Лізоцим є дуже стабільним ферментом. Чотири дисульфідні зв'язки одного поліпептидного ланцюга роблять цю маленьку білкову молекулу надзвичайно компактною і дуже стабільною. Повинні бути збережені принаймні два -S-S- зв'язки для підтримки ферментативної функції. Два з чотирьох дисульфідних зв'язків також відповідають за термічну стійкість ферменту, його активність зберігається навіть через 1-2 хвилини при 100 °С. Така ж висока стабільність спостерігається в кислому розчині з рН 3.0-4.0. Однак сполуки тіолу швидко інактивують лізоцим, а тому активність ферменту в білку курячих яєць відсутня при нагріванні до 60°C через наявність вільних SH-груп овалбуміну при такій температурі [14].

Лізоцим вбиває грампозитивні бактерії шляхом гідролізу β -1-4 глікозидного зв'язку між N-ацетилглюкозаміном і N-ацетилмурамовою кислотою в бактеріальній клітинній стінці [12]. Розкладання бактерій лізоцимом має два наслідки: 1) руйнування бактерій і 2) виділення імуномодуючих бактеріальних лігандів, включаючи фрагменти пептидогліканів [12]. Однак, крім ферментативної активності, він має антимікробну дію завдяки своїй катіонній природі, що дозволяє йому зв'язуватися з негативно зарядженими поверхнями (як у випадку з лактоферином), тим самим розширюючи свою активність далеко за межі грампозитивних бактерій [12, 15]. На додаток до їх ферментативної активності, лізоцими с-типу (такі як лізоцим людини і миші LysM і LysP) є катіонними [16] і можуть проникати в негативно заряджені бактеріальні мембрани утворюючи пори [17].

1.4. Біологічна активність доксорубіцину

Доксорубіцин- антибіотик антрациклінового ряду, виділений із культури *Streptomyces peucetius* var. *caesius* , має високу протипухлинну та протилейкозну активність при низькій вибірковості дії. Препарат пригнічує синтез ДНК та РНК: інтеркалює у подвійну спіраль ДНК між парами азотистих основ (порушується матриця та змінюється просторова структура) та викликає розщеплення ДНК внаслідок утворення вільних радикалів. [18]

Доксорубіцин є одним з найефективніших і широко використовуваних протипухлинних препаратів у хіміотерапії. Його біологічна активність полягає в кількох ключових механізмах, які дозволяють йому ефективно боротися з раковими клітинами:

1. Пошкодження ДНК: Доксорубіцин взаємодіє з ДНК ракових клітин, вбудовуючись в її структуру. Це призводить до утворення адресованих регіонів пошкоджень та страндових переривань в ланцюгах ДНК, що перешкоджає правильному функціонуванню клітин та сприяє їхньому гібелі.
2. Гальмування топоізомерази II: Доксорубіцин є інгібітором топоізомерази II, ферменту, який відповідає за розрізання та перевертання ланцюгів ДНК. Зупинка роботи цього ферменту призводить до накопичення дво- та чотириланцюгових обертань ДНК, що також сприяє пошкодженню генетичного матеріалу ракових клітин.
3. Генерація вільних радикалів: Доксорубіцин може стимулювати утворення вільних радикалів, які в свою чергу можуть посилювати пошкодження ДНК та інших молекул в клітині, сприяючи її гібелі.
4. Імуномодуляція: Деякі дослідження показують, що доксорубіцин може впливати на імунну систему, стимулюючи або підтримуючи імунні відповіді, які сприяють боротьбі з раком.

5. Ангіогенезіс: Доксорубіцин може також впливати на процес ангіогенезу, тобто утворення нових кровоносних судин, який є необхідним для живлення та зростання пухлини.

Усі ці механізми дії доксорубіцину спільно сприяють його високій ефективності у лікуванні пухлин та ракових захворювань. Однак, важливо враховувати, що разом з високою ефективністю він також може мати серйозні побічні ефекти, що обмежують його використання.

1.5 . Ядерна медицина

Ядерна медицина – це один із сучасних напрямків діагностики та лікування в Туреччині з використанням радіоактивних ізотопів.

Ядерна медицина дозволяє виявляти онкологічні процеси на ранніх стадіях, тоді як у звичайному томографі вони ще видно і докладно вивчати інші порушення у роботі внутрішніх органів.

Методика дає можливість дослідження практично всіх областей тіла людини та знаходить успішне застосування в таких галузях, як ендокринологія, урологія, неврологія, пульмонологія, ортопедія, онкологія, кардіологія та ін.

Лікарями успішно спостерігаються процеси жовчного метаболізму, кровопостачання органів та тканин, визначається місце розташування епілептичного вогнища, функції щитовидної залози, сечового міхура, нирок, оцінюється шкідливий вплив хіміотерапії на серце тощо.

Ядерна медицина дозволяє розпізнати найменші зміни в роботі органу, а значить розпочати своєчасне лікування та значно підвищити шанси на повне одужання навіть у разі серйозних патологій. Велике значення цей різновид функціональної діагностики має в онкології. Вона дає можливість виявити рак на 1-2 стадії розвитку, коли симптоматика ще не виявляється і людина навіть не підозрює про наявність серйозної патології. Висока точність обладнання дозволяє проводити прицільне опромінення без шкоди

здоровим тканинам, а також доставляти лікарські засоби точно в уражену область.

Неоціненна користь відзначається і в кардіології. Метод дозволяє відмовитися від складних та передчасних операцій на серці. При регулярному обстеженні можна відстежувати динаміку лікування та оцінювати його ефективність.

1.6. Технецій-99

Технецій-99 (Tc-99) - радіоактивний метал, який в основному утворюється в результаті експлуатації ядерних реакторів та випробувань ядерної зброї. Це сріблясто-сірий метал з тривалим періодом напіврозпаду, що становить приблизно 210 000 років, що робить його стійким забруднювачем навколишнього середовища. Технецій-99 викликає особливу занепокоєність із-за його здатності утворювати аніонні з'єднання (пертехнетат), які володіють високою рухливістю в навколишньому середовищі і з меншою ймовірністю поглинаються ґрунтовими мінералами порівняно з катіонними сполуками [19]

Tc-99 утворюється при поділі ядер в реакторах і може бути виявлений у ядерних відходів. Він був викинутий в навколишнє середовище в результаті атмосферних ядерних випробувань і як побічний продукт переробки ядерного палива, особливо на старих установках, на яких були відсутні сучасні заходи по локалізації. Завод в Селлафілд у Великобританії, наприклад, був значним джерелом викидів Tc-99 в Ірландське море. [19].

Але якщо згадувати практичну користь від відкриття ланцюгової реакції розподілу урану, то відразу після зброї та енергетики, мабуть, виявиться методи ядерної медицини. Ядерні явища використовують як у діагностиці, і променевої терапії. На прикладі радіоактивного ізотопу технеція ^{99m}Tc можливо розглянути, як ядерні реактори допомагають із діагностикою онкології.

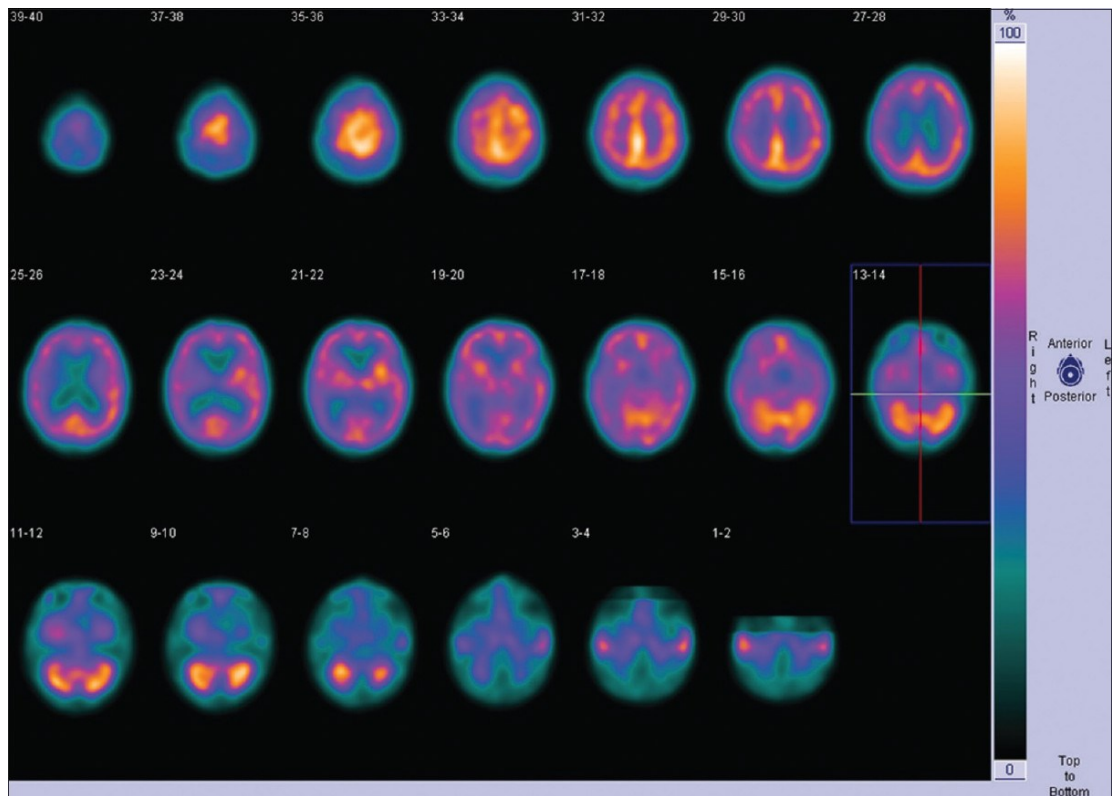


Рис.1.3 Томографічні зрізи інтенсивності гамма-випромінювання міченого ^{99m}Tc препарату.

Короткоживучий ізомер технеція ^{99m}Tc – зонд (трасер), переміщення якого організмом і накопичення можна контролювати з допомогою томографії гамма-квантов, що вилітають при ізомерному переході цього нукліда. Він має короткий період напіврозпаду ($T = 6,04$ години, розпадаючись в основний стан ^{99}Tc , теж радіоактивний ізоотоп, але з періодом напіврозпаду вже 214 тисяч років), у технеції немає стабільних ізоотопів, він незнайомий з нашої біохімії, тому він не вбудовується в метаболічні шляхи в організмі та швидко виводиться. Ще однією важливою корисною властивістю є енергія γ -випромінювання (140 кеВ) - вона досить велика, щоб проникати крізь тканини і досить мала, щоб не викликати їх переопромінення.[20]

Технецій-99m - це радіоактивний ізоотоп, механізм дії якого полягає в гамма-випромінюванні в тканині або органі-мішені, яке потім вловлюється унікальною гамма-камерою для отримання медичної візуалізації. ^{99m}Tc

з'єднується зі специфічним лігандом і утворює комплекси, які потім можуть зв'язуватися з тканиною-мішенню або органом з високою спорідненістю. При розподілі по всьому тілу і локалізації в області своєї мети ^{99m}Tc випускає фотони, які можуть бути захоплені для отримання зображення за допомогою ОФЕКТ або ПЕТ-сканування.

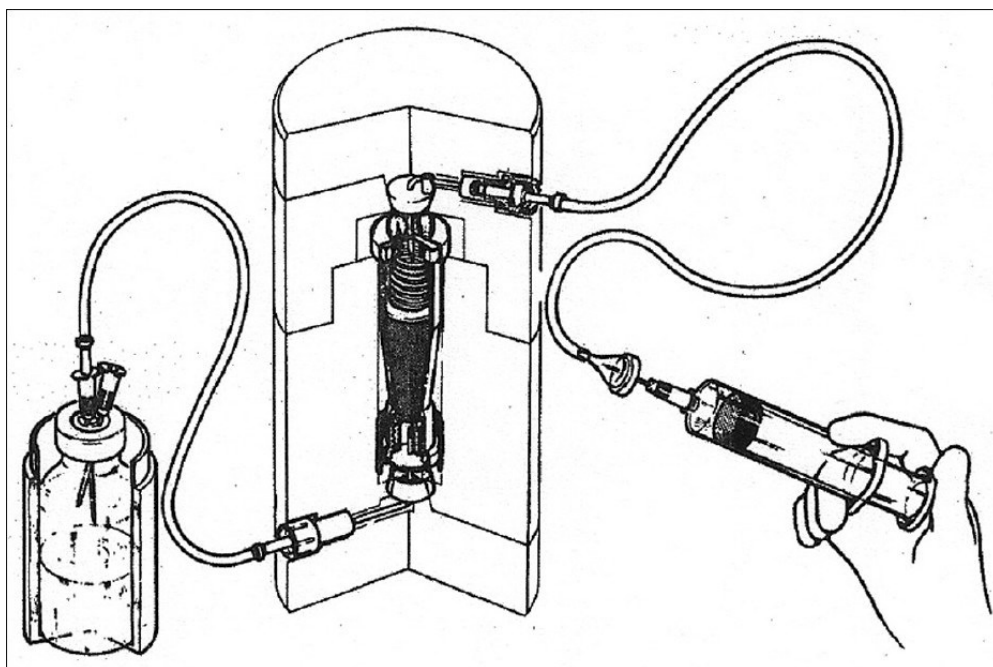


Рис.1.4 Схема, що ілюструє отримання технецію шляхом промиття колонки з материнським ізотопом, що знаходиться в свинцевому захисті спеціальним середовищем, що вимиває технецій.

ПЕТ-сканування додатково виявляє метаболічну або біохімічну функцію тканини або органа-мішені і може виявити як нормальну, так і аномальну метаболічну активність. ОФЕКТ-візуалізація дозволяє отримати тривимірне зображення області-мішені, де розподілений радіоактивний індикатор. Це дозволяє оцінити перфузію та функції конкретних органів і тканин, що може бути більш вигідним, ніж методи анатомічної діагностичної візуалізації, такі як комп'ютерна томографія (КТ) та магнітно-резонансна томографія (МРТ), які можуть дати уявлення лише про структурної інформації. Радіоактивний індикатор технецію можна вводити шляхом ін'єкції внутрішньовенно (В/в)

або перорально. Після введення певного комплексу радіоактивних ізотопів він накопичується в органі-мішені або тканини. Після локалізації в тканини-мішені в організмі гамма-промені випускаються Tc-99m, які потім поглинаються для діагностичної візуалізації. [21]

Розділ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

2.1. Підготовка структур координаційних комплексів технецію, доксорубіцину, індоціанінового зеленого та білка

Структури радіофармпрепаратів, лікарського препарату та барвника були побудовані в MarvinSketch (рис. 2.1А) та оптимізовані в Avogadro (рис. 2.1Б). Перша програма дозволяє намалювати об'єкт, друга – зробити попередню оптимізацію геометрії для вдосконалення його просторової структури, після чого можна зберегти результати у файлах формату .pdb – стандартний формат для багатьох програм, у якому записані координати усіх атомів об'єкту.

Для початку використовуючи базові інструменти у головному вікні програми MarvinSketch було намальовано молекулу. Оскільки для подальшої роботи (молекулярний докінг чи молекулярно-динамічне моделювання) недостатньо схематичного зображення молекули (де відсутні атоми водню в ароматичних кільцях), необхідно додати їх штучно і зробити Clean2D/3D. Далі необхідно зробити оптимізацію геометрії молекули за допомогою програми Avogadro.

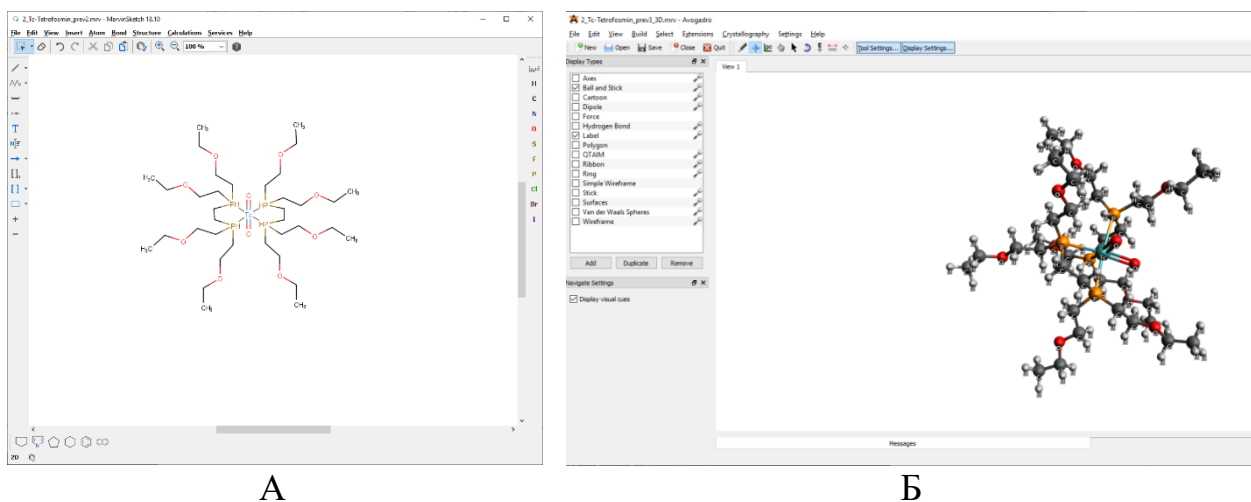


Рис. 2.1 Побудова структур в MarvinSketch (А) та оптимізація в Avogadro (Б)

Структури використаних в роботі координаційних комплексів технецію наведені на рис. 2.2.

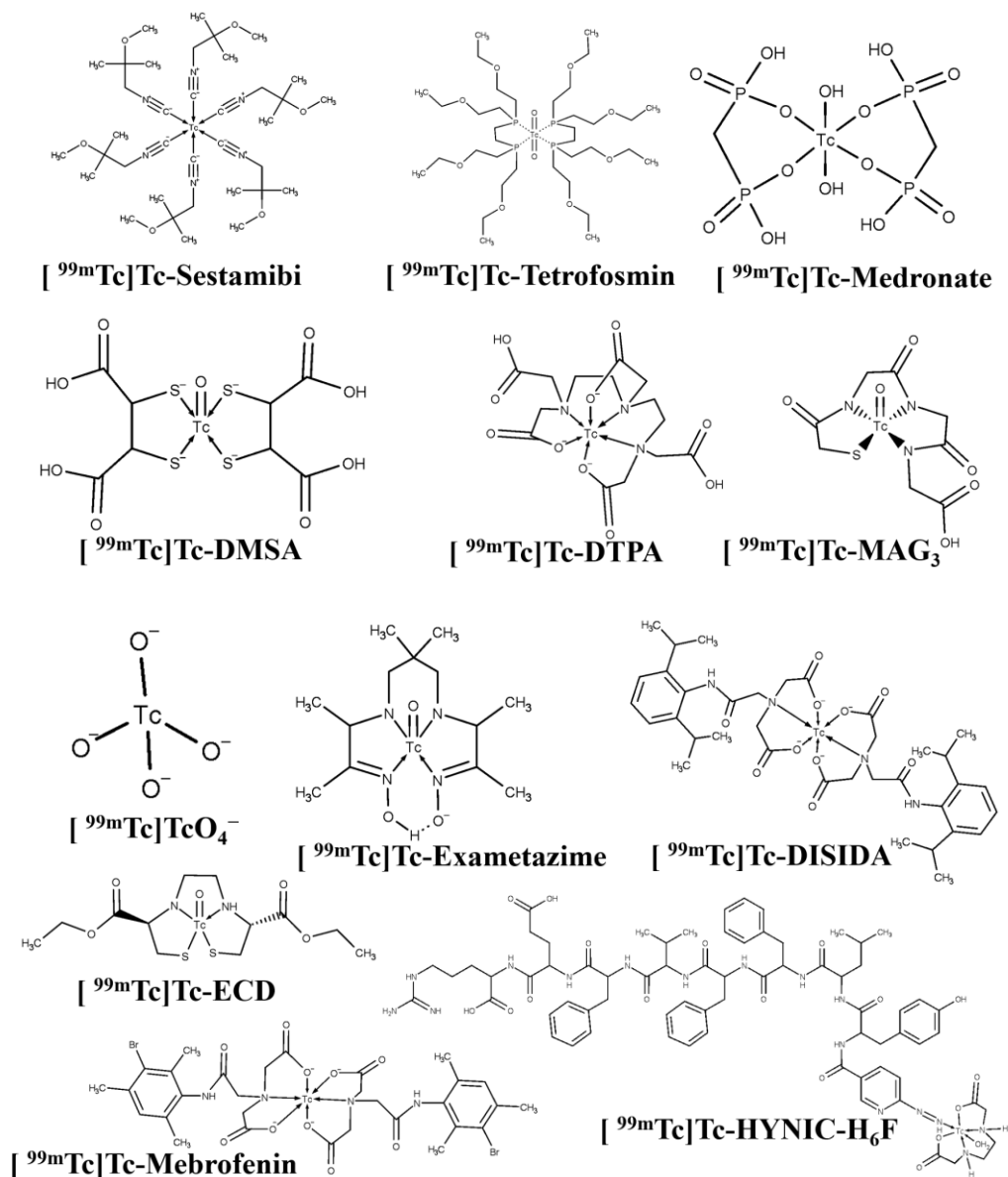


Рис. 2.2 Структури координаційних комплексів технецію

Структури лікарського препарату та барвника наведені на рис. 2.3.

Кристалічна структура яєчного лізоциму була взята з бази даних білків Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), PDB ID білка – 1AKI. Методом молекулярної динаміки була проведена релаксація структури лізоциму в воді. Для цього за допомогою серверу CHARMM-GUI (<https://www.charmm->

gui.org/) були підготовлені вхідні файли для подальшого розрахунку молекулярно-динамічної траєкторії системи, що складалась із комірки, заповненої білком, молекулами води та іонами (0.15 М NaCl). А молекулярно-динамічна симуляція була проведена в розрахунковому пакеті GROMACS. Конформація білка в останньому фреймі була взята як початкова структура для досліджень методом молекулярного докінгу.

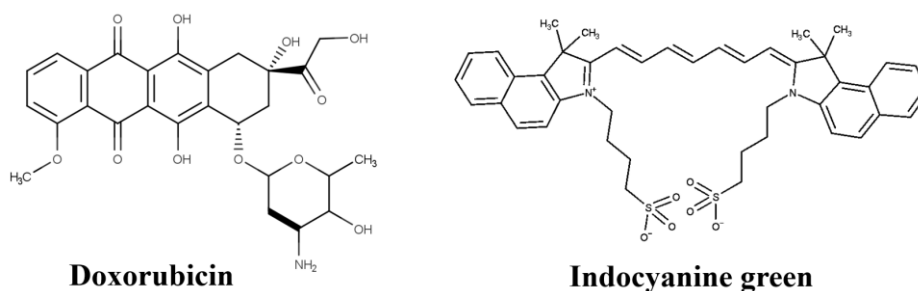


Рис. 2.3 Структури лікарського препарату (доксорубіцин) та барвника (індоціанінового зеленого)

2.2. Метод молекулярного докінгу

Метод молекулярного докінгу належить до виду біоінформатичного моделювання, що включає взаємодію між двома (або навіть більше) молекулами для досягнення стабільного комплексу. За допомогою алгоритму докінгу можна передбачити взаємодію молекул, визначити просторову структуру їх комплексів та афінність взаємодії. Існує декілька взаємозалежних конформацій молекул, що є сприятливими для взаємодії. Це так звані способи зв'язування. Алгоритми докінгу низькомолекулярних сполук до молекул рецептора є невід'ємним знаряддям для раціонального дизайну ліків. Докінг може застосовуватися на різних стадіях процесу розроблення ліків. Найчастіше його використовують для віртуального скринінгу бібліотек низькомолекулярних органічних сполук та фрагментів.

Методи докінгу також використовують для вивчення взаємодій між протеїнами.

На першому етапі дослідження було знайдено найкращі комплекси координаційних комплексів технецію з лізоцимом за допомогою серверу HDOCK (Рис. 2.4). Модель 1 системи білок-радіонуклід з найкращою енергією зв'язування розглядалась як рецептор для наступної системи білок-радіонуклід-доксорубіцин (де лікарський препарат виступав лігандом). А модель 1, цієї системи знову завантажувалась на сайт як рецептор для отримання комплексу білок-радіонуклід-доксорубіцин-індоціанін зелений. Найбільш енергетично вигідні комплекси кожної подвійної, потрійної систем та систем, що складались з чотирьох елементів, візуалізувались за допомогою програми Chimera 1.14 та аналізувались за допомогою серверу PLIP (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>).

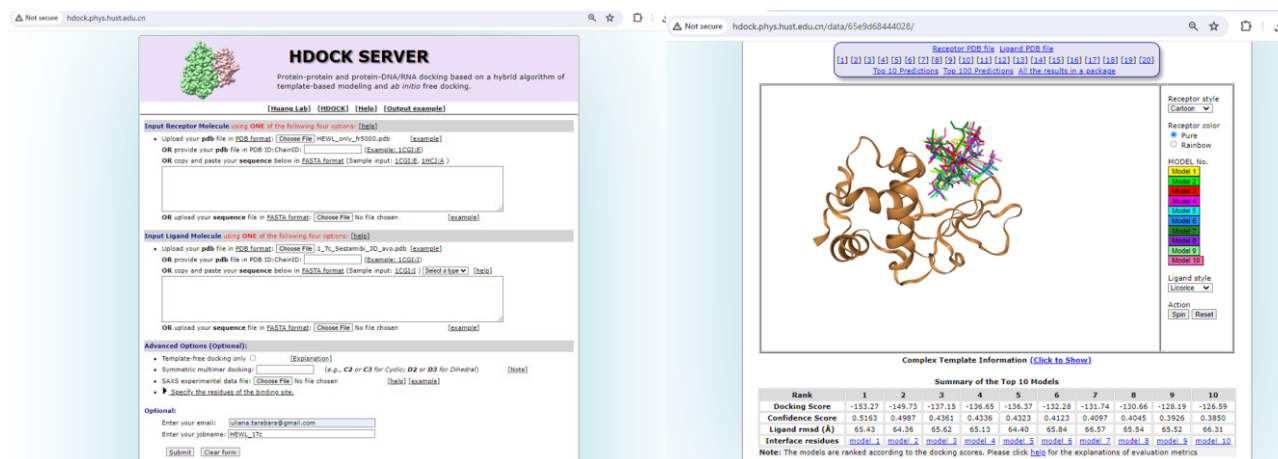


Рис. 2.4 Проведення дослідження методом молекулярного докінгу з використанням серверу HDOCK. Вигляд серверу із завантаженими структурами до (А) та після (Б) розрахунку

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Дослідження взаємодії координаційних комплексів технецію з лізоцимом

На рис. 3.1А представлені 10 найбільш енергетично вигідних комплексів радіонуклід ($[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Sestamibi}$)-лізоцим, де перша модель пофарбована жовтим, 2 – зеленим, 3 – червоним, 4 – яскраво-рожевим, 5 – небесно-голубим, 6- синім, 7 – темно-зеленим, 8 – фіолетовим, 9 – світло-зеленим, 10 – світло-рожевим. Як можна бачити із рис. 3.1Б, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Sestamibi}$ найбільш вірогідніше зв'язується з активним центром лізоциму.

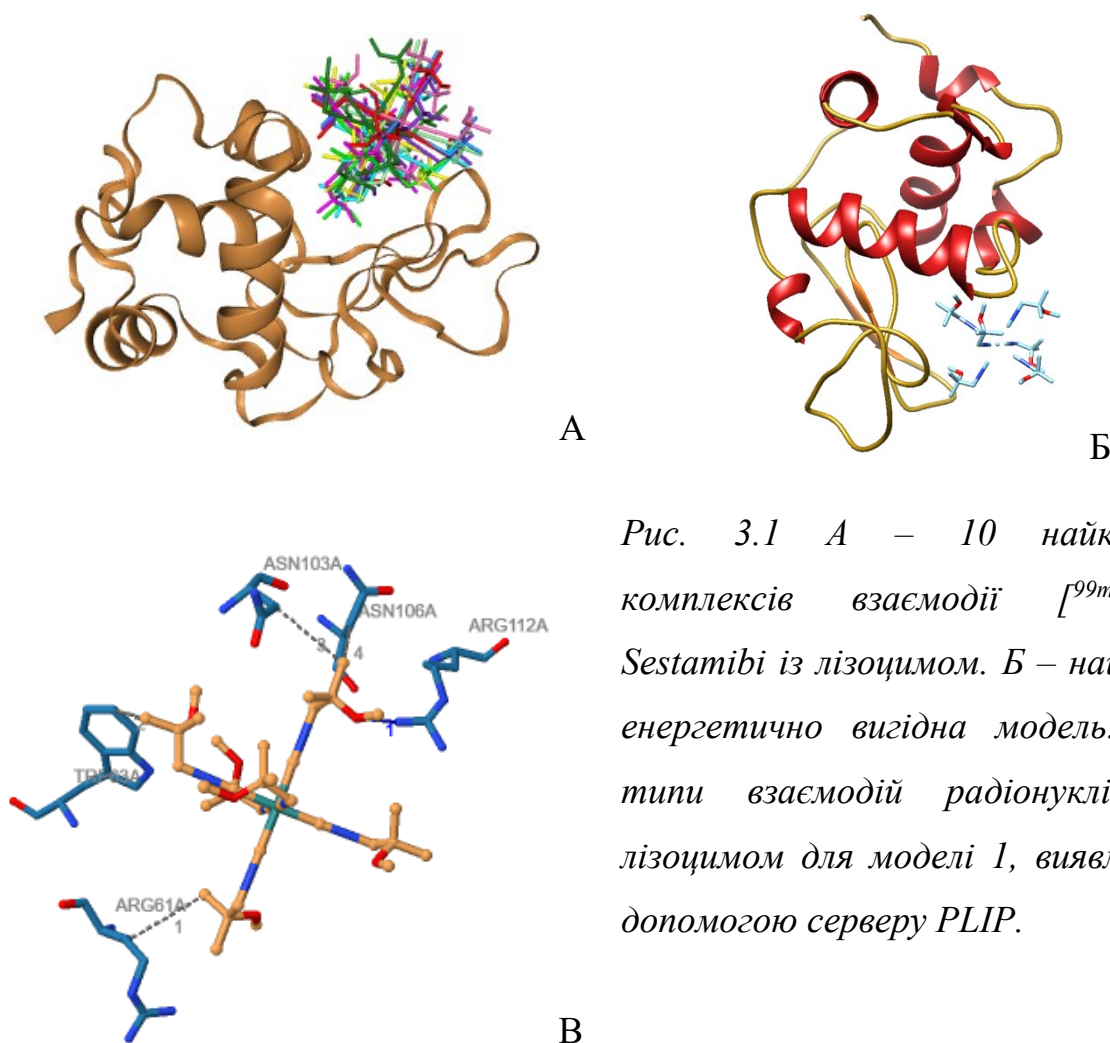
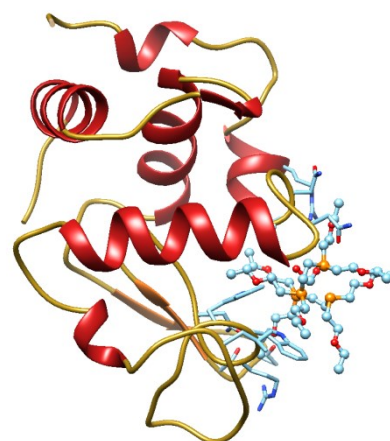


Рис. 3.1 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Sestamibi}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

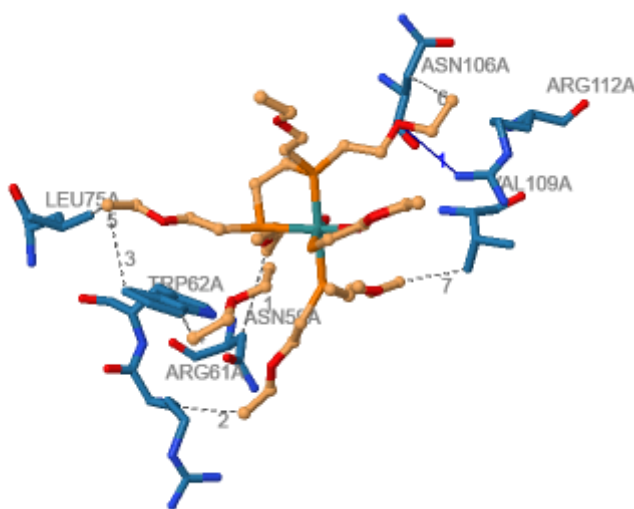
На рисунку 3.1В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. На рисунку гідروفобні взаємодії позначені пунктирними лініями, а водневі зв'язки – суцільними синіми лініями. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок гідروفобних взаємодій таких амінокислотних залишків як ARG61, TRP63, ASN103, ASN106 зі структурою координаційного комплексу технецію та водневим зв'язком з ARG112.



А



Б



В

Рис. 3.2 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Tetrofosmin}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

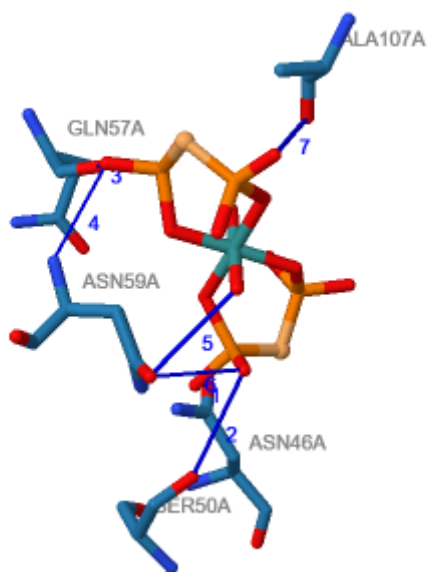
На рисунку 3.2В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. На рисунку гідрофобні взаємодії позначені пунктирними лініями, а водневі зв'язки – суцільними синіми лініями. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок гідрофобних взаємодій таких амінокислотних залишків як ASN59, ARG61, TRP62, LEU75 зі структурою координаційного комплексу технецію та водневим зв'язком з ARG112.



А



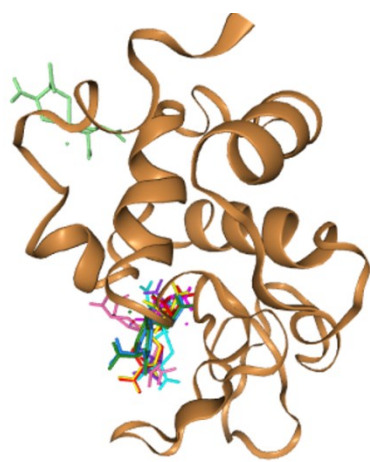
Б



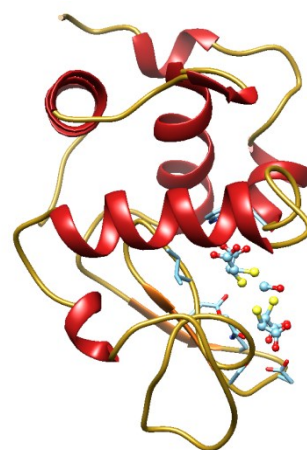
В

Рис. 3.3 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Medronate}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

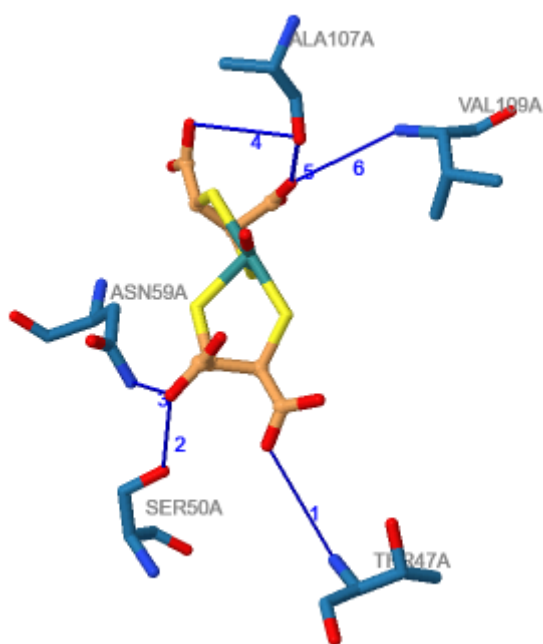
На рисунку 3.3В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. На рисунку гідрофобні взаємодії позначені пунктирними лініями, а водневі зв'язки – суцільними синіми лініями. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок водневих зв'язків з ASN46, SER50, GLN57, ASN59 і ALA107.



А



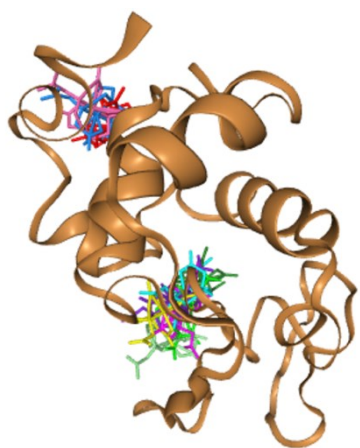
Б



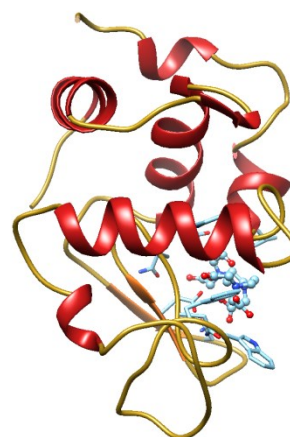
В

Рис. 3.4 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DMSA}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

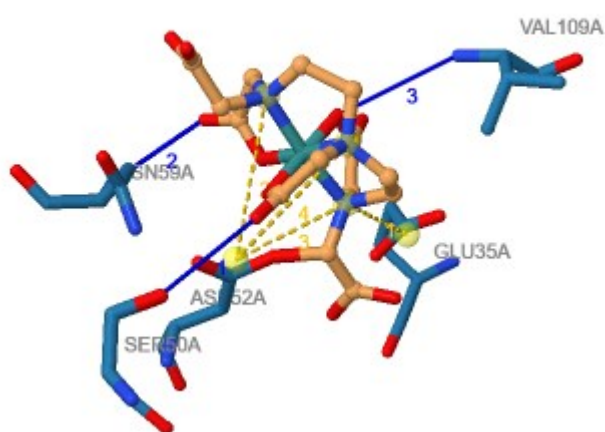
На рисунку 3.4В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. На рисунку гідрофобні взаємодії позначені пунктирними лініями, а водневі зв'язки – суцільними синіми лініями. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок водневих зв'язків з THR47, SER50, ALA107, ASN59 і VAL109.



А



Б



В

Рис. 3.5 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

На рисунку 3.5В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. На рисунку гідрофобні взаємодії позначені пунктирними лініями, а водневі зв'язки – суцільними синіми лініями. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок водневих зв'язків з THR47, SER50, ALA107, ASN59 і VAL109.

зв'язки – суцільними синіми лініями. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок гідروفобних взаємодій таких амінокислотних залишків як зі структурою координаційного комплексу технецію та водневим зв'язком з ARG112.

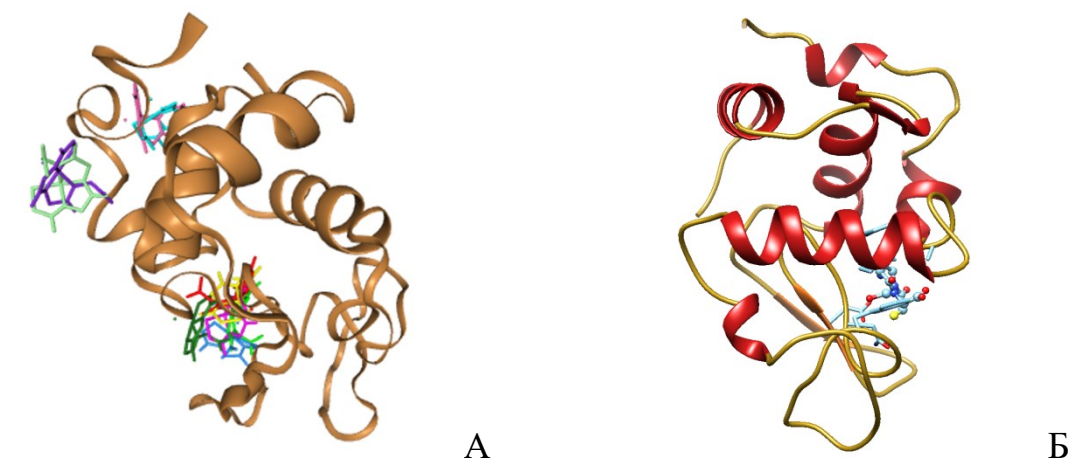
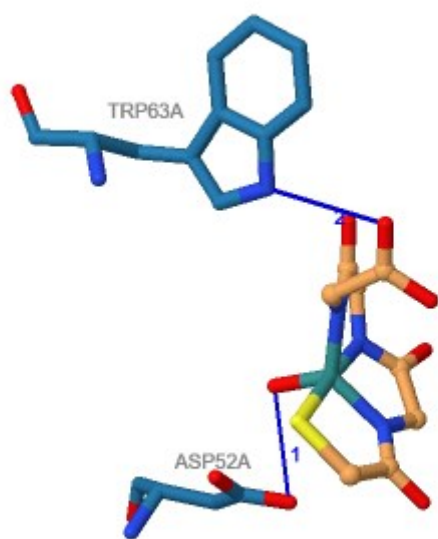
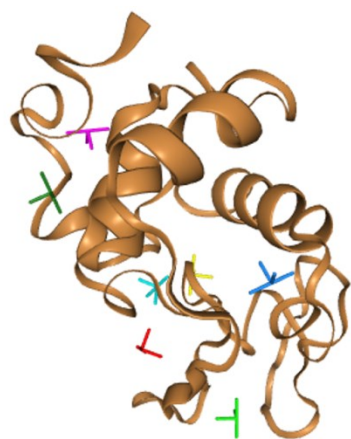


Рис. 3.6 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAG3}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.



В

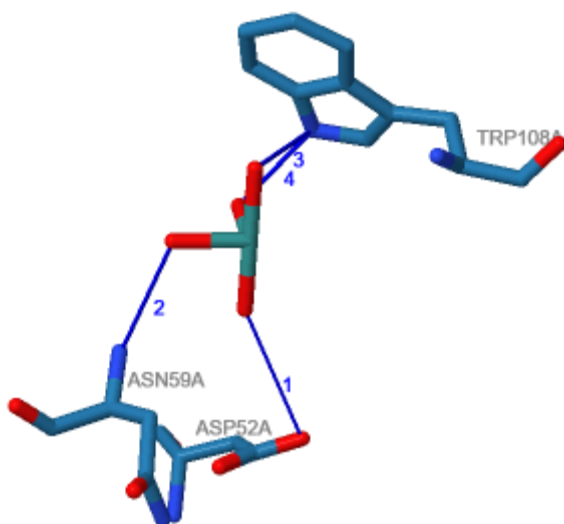
На рисунку 3.6В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок водневих зв'язків з ASP52 і TRP63.



А



Б



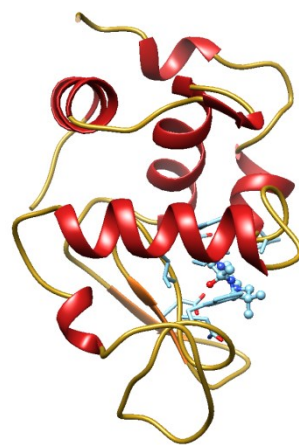
В

Рис. 3.7 А – 10 найкращих комплексів взаємодії *Pertechnetate* ($[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$) із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

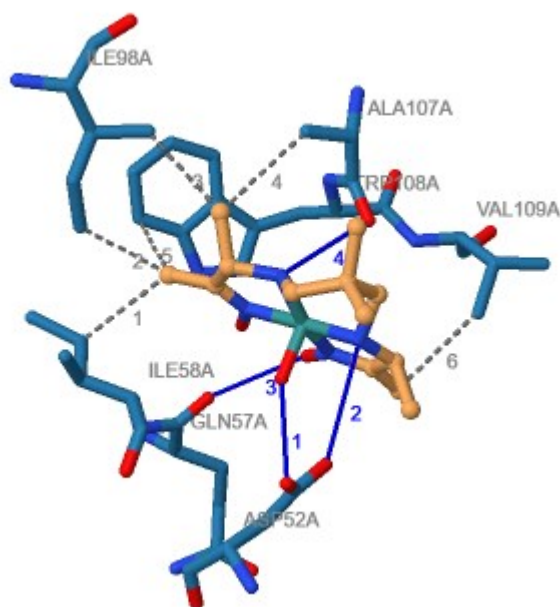
На рисунку 3.7В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок водневих зв'язків з ASP52 і TRP59, TRP108.



А



Б



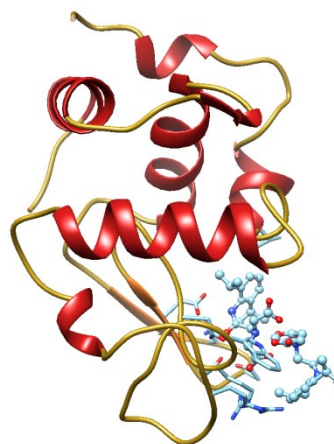
В

Рис. 3.8 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Exametazime}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

На рисунку 3.8 В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. На рисунку гідрофобні взаємодії позначені пунктирними лініями, а водневі зв'язки – суцільними синіми лініями. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок гідрофобних взаємодій таких амінокислотних залишків як ILE58, ILE98, ALA107, TRP108, VAL109 зі структурою координаційного комплексу технецію та водневим зв'язками з ASP52, GLN57 і ALA107.

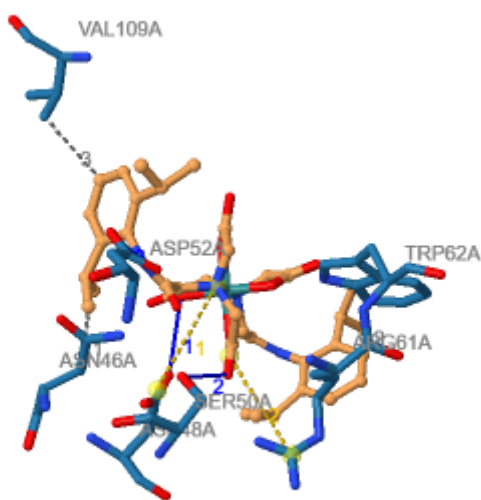


А



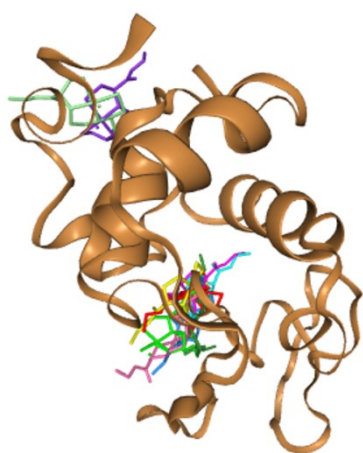
Б

Рис. 3.9 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DISIDA}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

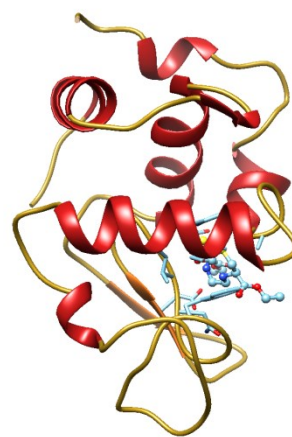


В

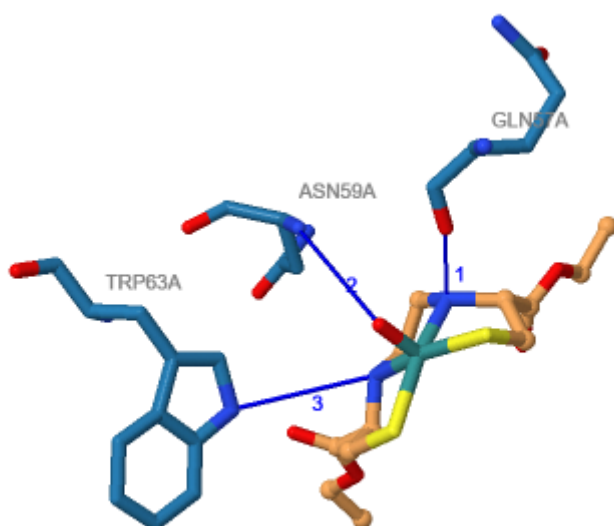
На рисунку 3.9 В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. На рисунку гідрофобні взаємодії позначені пунктирними лініями, а водневі зв'язки – суцільними синіми лініями. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок гідрофобних взаємодій таких амінокислотних залишків як ASN46, TRP62, VAL109 зі структурою координаційного комплексу технецію та водневими зв'язками з ASP48, SER50 і ASP52 і сольові містки з ASP48 і ARG61.



А



Б



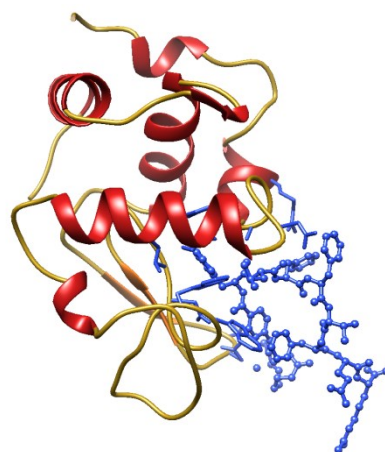
В

Рис. 3.10 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-ECD}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

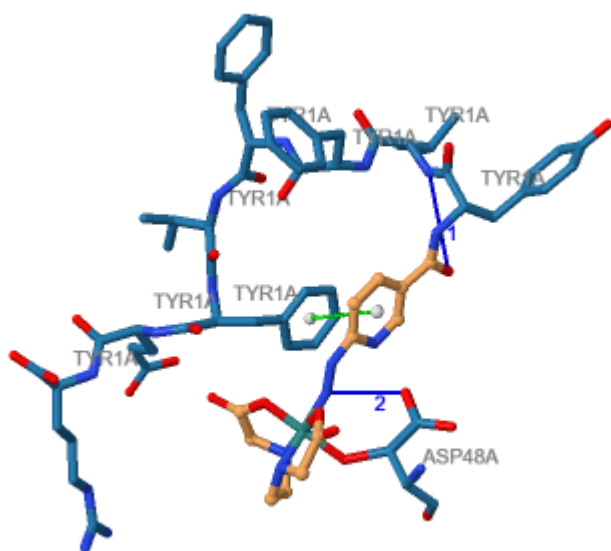
На рисунку 3.10В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок водневих зв'язків з ASN59, TRP63 і ASN59.



A



Б



B

Рис. 3.11 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]/\text{Tc-HYNIC-H6F}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

Структура $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-HYNIC-H}_6\text{F}$ дещо некоректно розпізнавалась використаними в роботі онлайн програмами, тому частина структури ліганду позначено як TYR1 (Рис 3.11B). За результатами серверу PLIP виявлено гідрофобну взаємодію $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-HYNIC-H}_6\text{F}$ з від'ємно зарядженим амінокислотним залишком (ASP48).

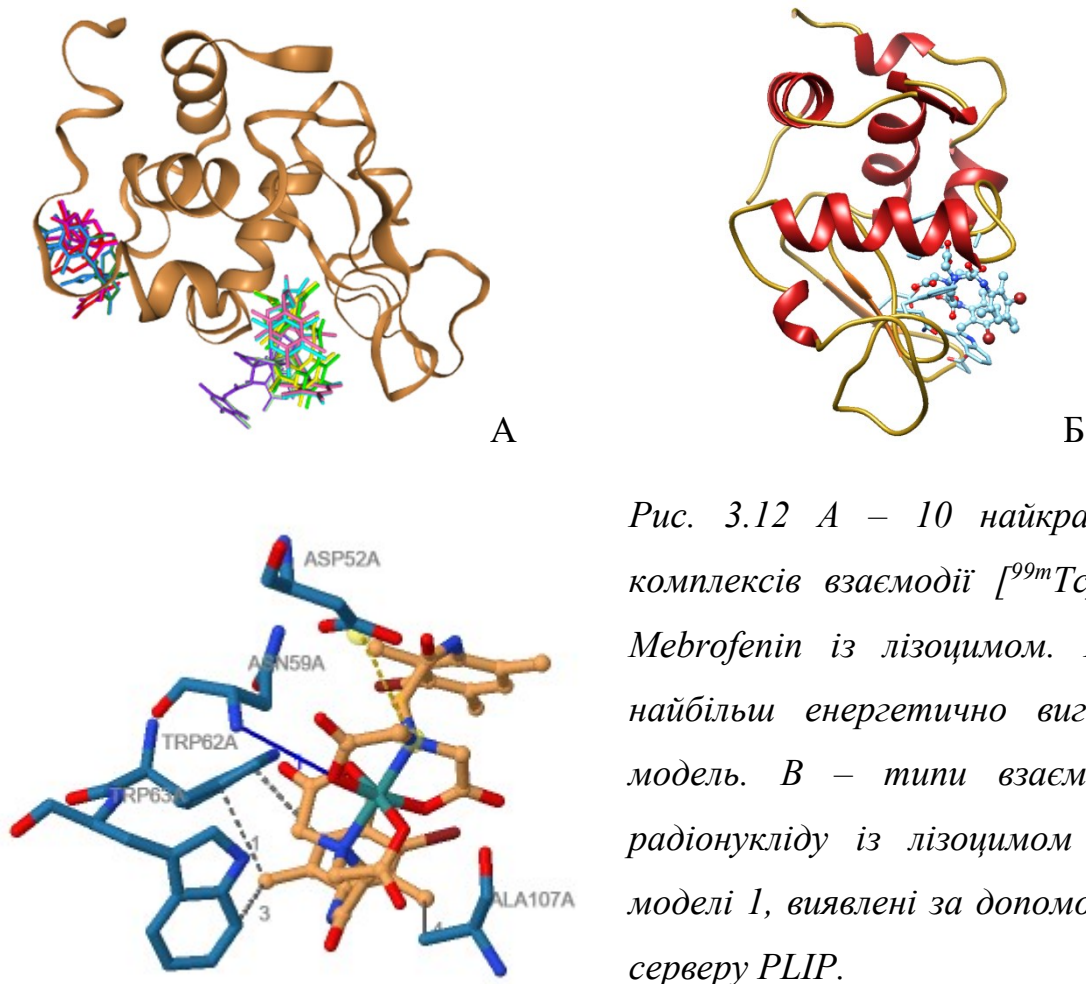


Рис. 3.12 А – 10 найкращих комплексів взаємодії $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$ із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій радіонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

В

На рисунку 3.12В представлені результати аналізу найбільш енергетично вигідного комплексу в програмі PLIP, що дозволило виявити амінокислотні залишки, що взаємодіють з лізоцимом, та типи взаємодій. На рисунку гідрофобні взаємодії позначені пунктирними лініями, а водневі зв'язки – суцільними синіми лініями. Виявлено, що комплекс стабілізується за рахунок гідрофобних взаємодій таких амінокислотних залишків як TRP62, TRP63, ALA107 зі структурою координаційного комплексу технецію та водневим зв'язком з ASN59 і сольовий місток з ASP52.

Параметри зв'язування для всіх розглянутих вище систем, що відповідають афінності зв'язування ліганду з рецептором (чим менша оцінка зв'язування, тим більша вірогідність утворення комплексу) зведені до

загальної таблиці 3.1. Середньоквадратичні відхилення лігандів обчислюються шляхом порівняння лігандів у моделях докінгу з вхідними структурами.

Таблиця 3.1

Параметри зв'язування для системи лізоцим-координаційний комплекс технецію, отримані за допомогою серверу HDOCK

Система білок- радіонуклід	Оцінка зв'язування	Середньоквадратичне відхилення ліганду, Å
[^{99m} Tc]Tc-Sestamibi	-153.27	65.43
[^{99m} Tc]Tc-Tetrofosmin	-153.04	66.02
[^{99m} Tc]Tc-Medronate	-121.38	55.98
[^{99m} Tc]Tc-DMSA	-136.11	58.06
[^{99m} Tc]Tc-DTPA	-152.75	58.82
[^{99m} Tc]Tc-MAG ₃	-125.54	59.83
Pertechnetate ([^{99m} Tc]TcO ₄ ⁻)	-56.19	56.87
[^{99m} Tc]Tc-Exametazime	-131.88	58.26
[^{99m} Tc]Tc-DISIDA	-177.31	63.06
[^{99m} Tc]Tc-ECD	-123.88	59.54
[^{99m} Tc]Tc-HYNIC-H ₆ F	-195.15	73.41
[^{99m} Tc]Tc-Mebrofenin	-175.55	60.47

Як можна бачити із Таблиці 3.1 афінність зв'язування радіофармпрепарату з лізоцимом знаходиться у межах: -195.15 – -56.16 та спадає у такій послідовності: [^{99m}Tc]Tc-HYNIC-H₆F > [^{99m}Tc]Tc-DISIDA > [^{99m}Tc]Tc-Mebrofenin > [^{99m}Tc]Tc-Sestamibi > [^{99m}Tc]Tc-Tetrofosmin >

$[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DMSA} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Exametazime} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAG}_3 > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-ECD} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Medronate} > [^{99m}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$.

Узагальнюючи результати, всі досліджувані координаційні комплекси технецію зв'язуються з активним центром лізоциму за рахунок водневих зв'язків (всі системи), гідрофобних взаємодій (комплекси лізоциму з $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Sestamibi}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Tetrofosmin}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Exametazime}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DISIDA}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$) та сольових містків (комплекси лізоциму з $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DISIDA}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$). За даними, отриманими з серверу PLIP, найбільш часто у взаємодію з лігандом вступали такі амінокислотні залишки: ASN59 (спостерігався для 7 систем), ASP52 (6 систем), VAL109 (5 систем), TRP63, ALA107 (виявлені в 4 системах) та ASP48, SER50, GLN57, ARG61, TRP62 (виявлені в 3 системах).

3.2 Дослідження взаємодії лікарського препарату (доксорубіцину) з системою радіонуклід – лізоцим

Перед дослідженням потрібних систем білок-радіонуклід-доксорубіцин, було проведено контрольне дослідження системи білок-доксорубіцин (Рис. 3.13).

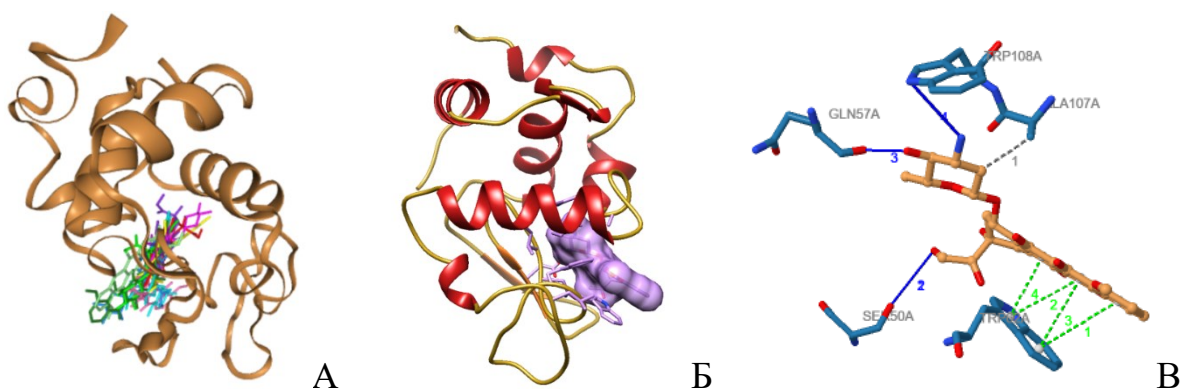


Рис. 3.13 А – 10 найкращих комплексів взаємодії лікарського препарату доксорубіцину із лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За допомогою серверу PLIP виявлено, що система стабілізується гідрофобними взаємодіями (ALA107, на рисунку 3.13В позначені блакитною пунктирною лінією), водневими зв'язками (SER50, GLN57, TRP108 на рисунку 3.13В позначені блакитною суцільною лінією) та π -стекінг взаємодіями (TRP62, на рисунку 3.13В позначені зеленою пунктирною лінією).

На рисунку 3.14 представлено взаємодію доксорубіцину з системою лізоцим-[^{99m}Tc]Tc-Sestamibi. На рисунку 3.14А представлено 10 найкращих комплексів, де перша модель пофарбована жовтим, 2 – зеленим, 3 – червоним, 4 – яскраво-рожевим, 5 – небесно-голубим, 6- синім, 7 – темно-зеленим, 8 – фіолетовим, 9 – світло-зеленим, 10 – світло-рожевим. Як видно з рисунку 3.14Б, і радіонуклід і лікарський препарат прагнуть зв'язатися з активним центром білка, що схоже має достатні розміри для розміщення обох структур.

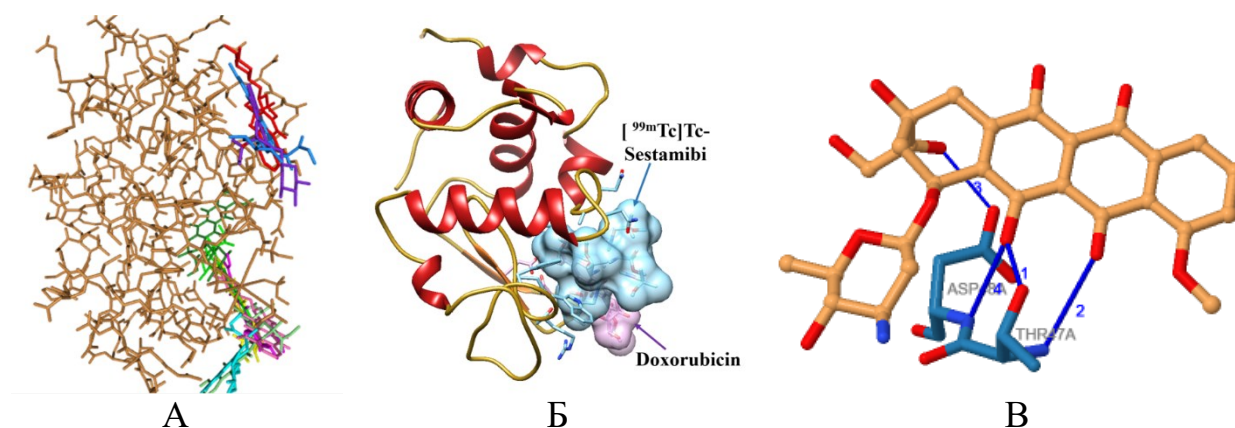


Рис. 3.14 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом [^{99m}Tc]Tc-Sestamibi-лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За даними серверу PLIP (Рис. 3.14), тільки два амінокислоті залишки (полярний залишок THR47 та негативно заряджений залишок ASP48) взаємодіють з доксорубіцином за рахунок водневих зв'язків.

У системі $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Tetrofosmin}$ -лізоцим-доксорубіцин (Рис. 3.15) з лікарським препаратом взаємодіє за рахунок гідрофобних сил такий амінокислотний залишок як VAL109 за рахунок водневих зв'язків GLU35, ASN46, THR47, ASP52 і ARG112.

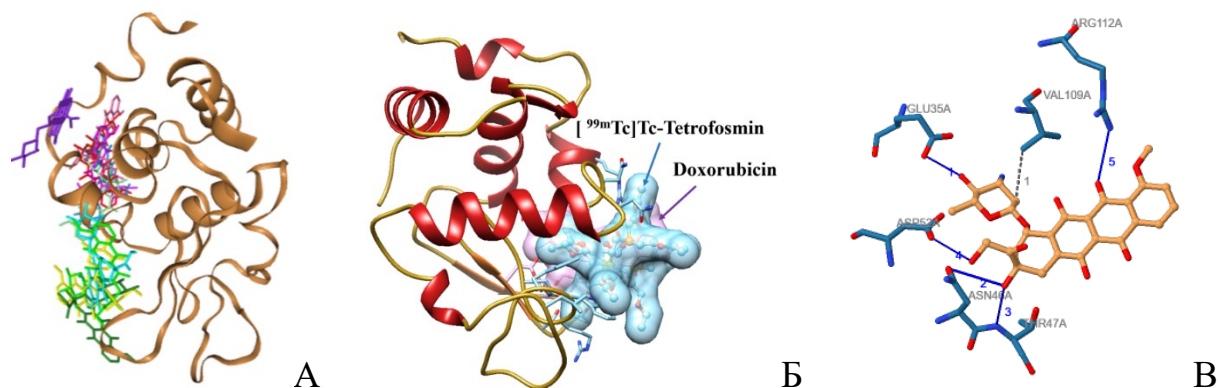


Рис. 3.15 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Tetrofosmin}$ -лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

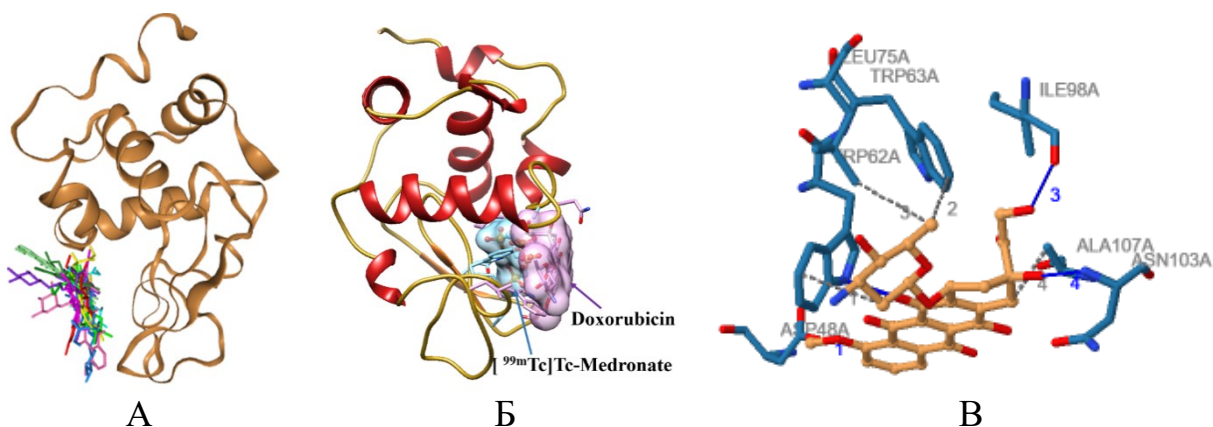


Рис. 3.16 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Medronate}$ -лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За даними серверу PLIP (Рис. 3.16), з доксорубіцином взаємодіють за рахунок гідروفобних сил такі амінокислотні залишки як TRP62, TRP63, LEU75 і ALA107 за рахунок водневих зв'язків ASP48, TRP62, ILE98, і ASN103.

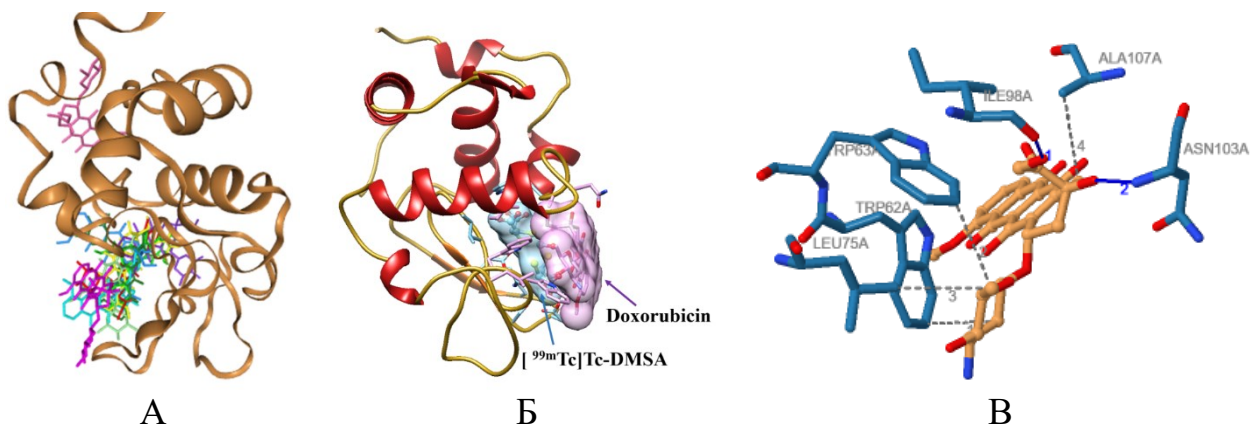


Рис. 3.17 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DMSA}$ -лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

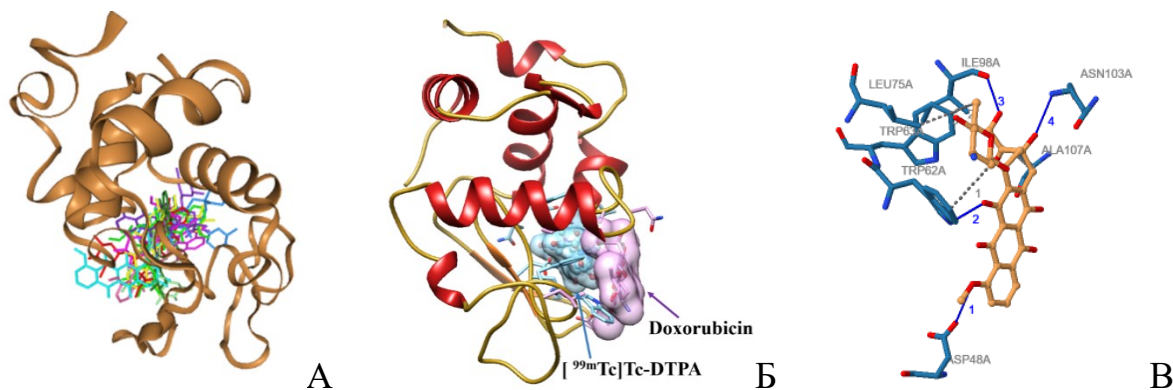


Рис. 3.18 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$ -лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

У системі $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DMSA-лізоцим-доксорубіцин}$ (Рис. 3.17) з лікарським препаратом взаємодіють за рахунок гідروفобних сил такі амінокислотні залишки як TRP62, TRP63, LEU75 і ALA107 за рахунок водневих зв'язків ILE98 і ASN103.

За даними серверу PLIP (Рис. 3.18), з доксорубіцином взаємодіють за рахунок гідروفобних сил такі амінокислотні залишки як TRP62, TRP63, LEU75 і ALA107 за рахунок водневих зв'язків ASP48, TRP62, ILE98 і ASN103.

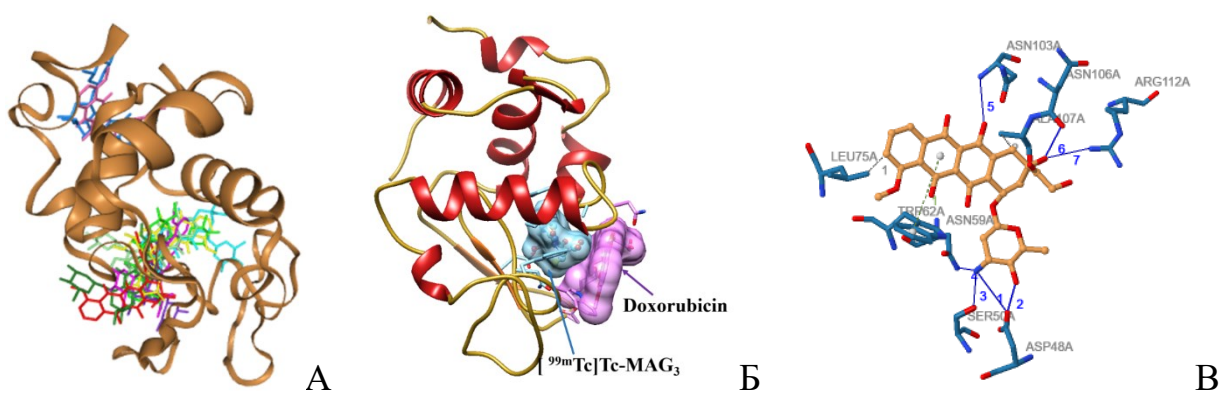


Рис. 3.19 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAG}_3\text{-лізоцим}$. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

У системі $[^{99m}\text{Tc}]\text{ Tc-MAG}_3\text{-лізоцим-доксорубіцин}$ (Рис. 3.19) з лікарським препаратом взаємодіють за рахунок гідروفобних сил такі амінокислотні залишки як LEU75 і ALA107, за рахунок водневих зв'язків, ASP48, SER50, ASN103, ASN59, ASN106 і ARG112, а також π -стекинг з TRP62. За даними серверу PLIP (Рис. 3.20), з доксорубіцином взаємодіють за рахунок гідروفобних сил такі амінокислотні залишки як ASP48, ASN59, ARG61, TRP62, ILE98 і ALA107 за рахунок водневих зв'язків THR47, ASP48, SER50 і ASN59, а також спостерігаються π -стекинг взаємодії з TRP63 і формується сольвий місток з ARG61 .

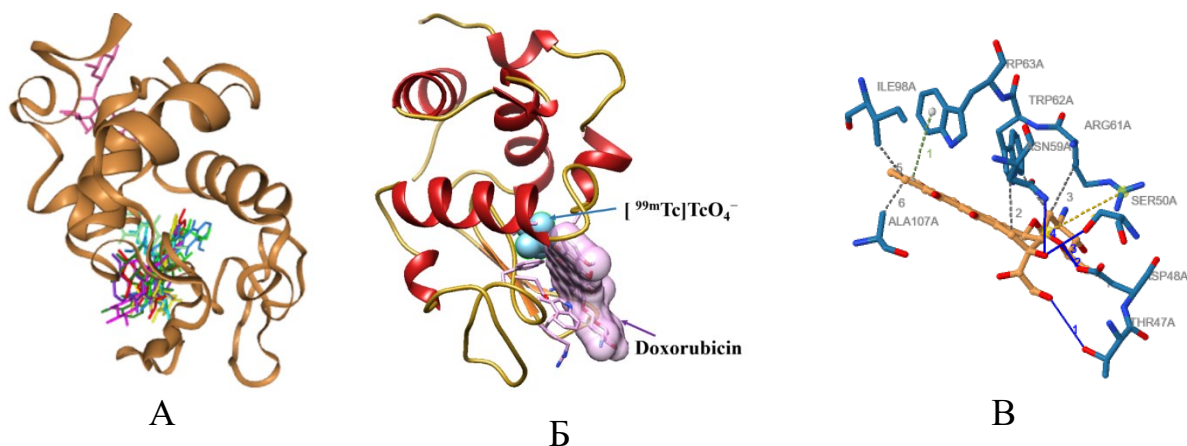


Рис. 3.20 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$ -лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

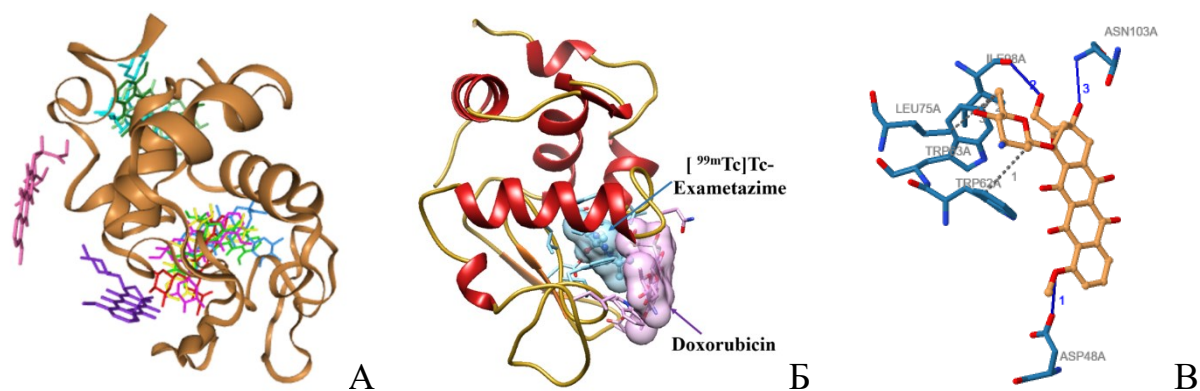


Рис. 3.21 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}$ -Exametazime-лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За даними серверу PLIP (Рис. 3.21), з доксорубіцином взаємодіють за рахунок гідрофобних сил такі амінокислотні залишки як TRP62 і LEU75 за рахунок водневих зв'язків GLU35, ASP48, ILE98 і ASN103.

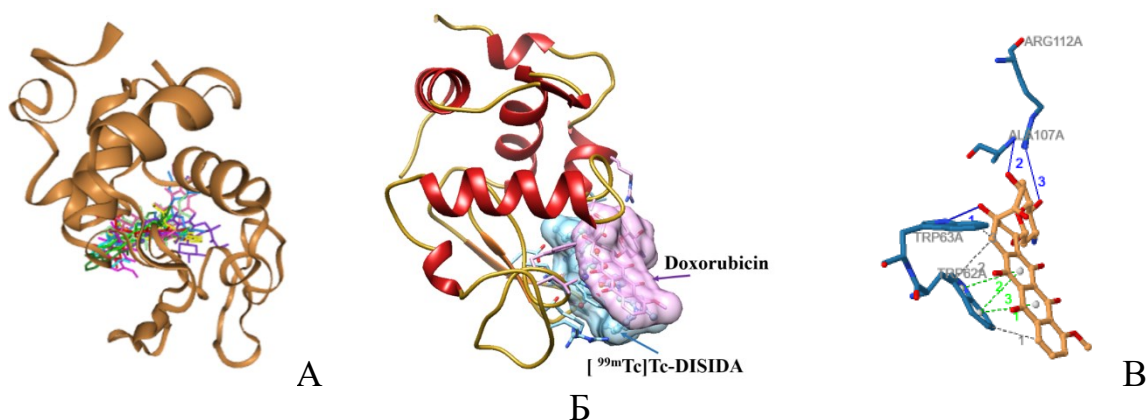


Рис. 3.22 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DISIDA}$ -лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За даними серверу PLIP (Рис. 3.22), з доксорубіцином взаємодіють за рахунок гідрофобних сил такі амінокислотні залишки як TRP62 і TRP63, за рахунок водневих зв'язків, TRP63, ALA107 і ARG112, а також π -стекинг з TRP62.

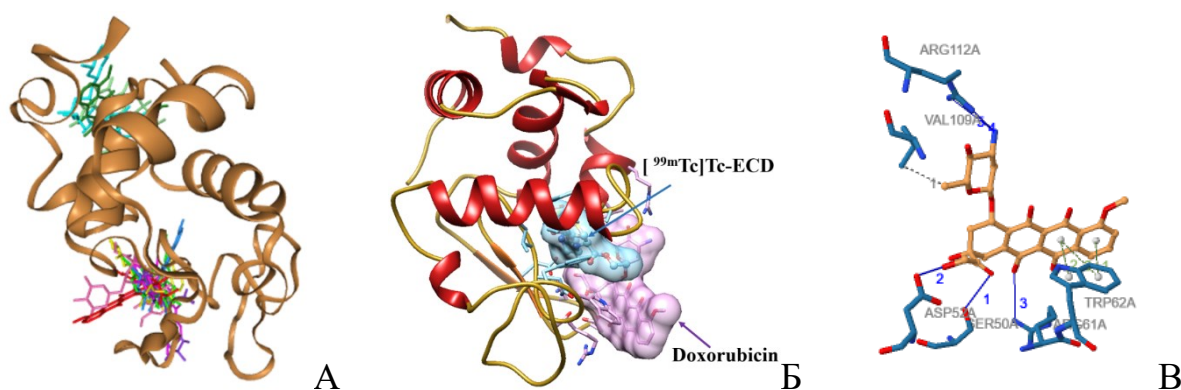


Рис. 3.23 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-ECD}$ -лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За даними серверу PLIP (Рис. 3.23), з доксорубіцином взаємодіють за рахунок гідрофобних сил з таким амінокислотним залишком як VAL109 за

рахунок водневих зв'язків ASP52, SER50, ARG61 і ARG112, а також π -стекинг з TRP62.

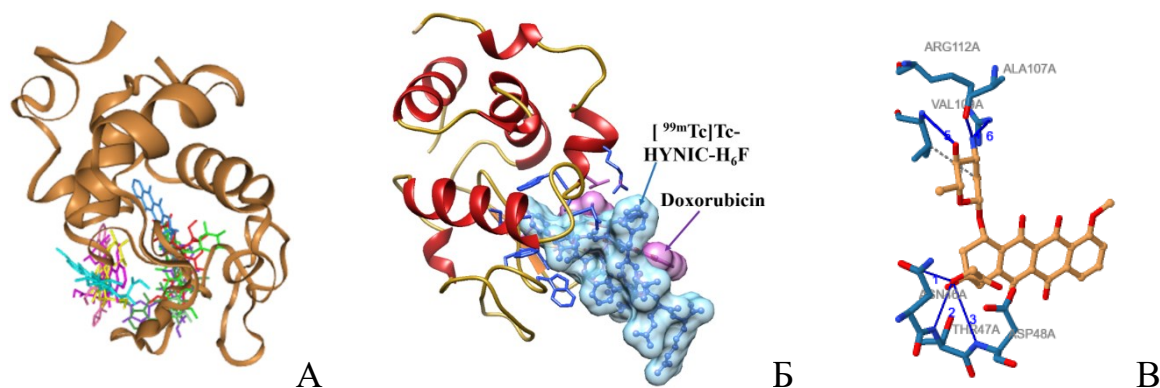


Рис. 3.24 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-HYNIC-H}_6\text{F}$ -лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За даними серверу PLIP (Рис. 3.24), з доксорубіцином взаємодіє за рахунок гідрофобних сил такий амінокислотний залишок як VAL109 за рахунок водневих зв'язків ASN46, THR47, ASP48, ALA107, VAL109 і ARG112.

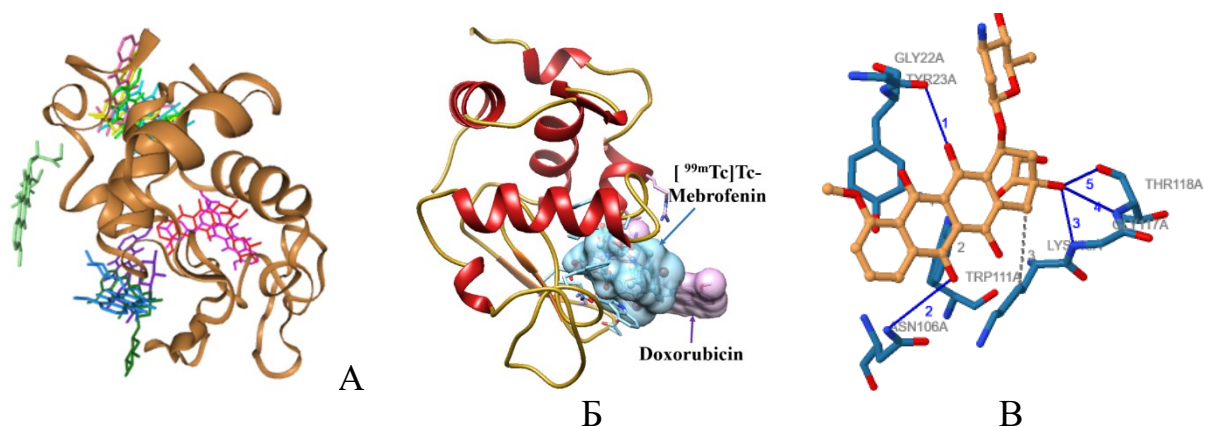


Рис. 3.25 А – 10 найкращих комплексів взаємодії доксорубіцину з комплексом $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$ -лізоцим. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій лікарського препарату із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За даними серверу PLIP (Рис. 3.25), з доксорубіцином взаємодіють за рахунок гідрофобних сил такі амінокислотні залишки як TYR23, TRP111 і LYS116 за рахунок водневих зв'язків GLY22, ASN106, GLY117 і THR118.

Таблиця 3.2

Параметри зв'язування для системи лізоцим-координаційний комплекс технецію-доксорубіцин, отримані за допомогою серверу HDOCK

Система білок- радіонуклід- доксорубіцин	Оцінка зв'язування	Середньоквадратичне відхилення ліганду, Å
Контрольна система лізоцим-доксорубіцин	-207.00	56.23
[^{99m} Tc]Tc-Sestamibi	-168.50	57.28
[^{99m} Tc]Tc-Tetrofosmin	-178.47	58.14
[^{99m} Tc]Tc-Medronate	-212.60	58.25
[^{99m} Tc]Tc-DMSA	-198.79	58.55
[^{99m} Tc]Tc-DTPA	-219.56	58.31
[^{99m} Tc]Tc-MAG ₃	-197.18	58.41
Pertechnetate ([^{99m} Tc]TcO ₄ ⁻)	-204.71	56.21
[^{99m} Tc]Tc-Exametazime	-183.39	58.60
[^{99m} Tc]Tc-DISIDA	-233.08	59.06
[^{99m} Tc]Tc-ECD	-183.51	57.31
[^{99m} Tc]Tc-HYNIC-H ₆ F	-219.73	59.83
[^{99m} Tc]Tc-Mebrofenin	-167.24	66.23

Як можна бачити із Таблиці 3.2 афінність доксорубіцину до лізоциму в контрольній системі становить -207, в той час як в потрійних системах оцінка зв'язування знаходиться у межах -233.08 – -167.24. Отримані значення показують, що доксорубіцин може утворювати комплекси з лізоцимом з дещо вищою вірогідністю, ніж радіофармпрепарат (на 2.46-0.1% більше, ніж оцінка зв'язування для координаційних комплексів технецію, окрім системи з $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$). Афінність зв'язування доксорубіцину з системою лізоцим-радіофармпрепарат спадає у такій послідовності: $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DISIDA} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-HYNIC-H}_6\text{F} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Medronate} > [^{99m}\text{Tc}]\text{TcO}_4^- > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DMSA} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAG}_3 > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Exametazime} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-ECD} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Tetrofosmin} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Sestamibi} > [^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$.

Узагальнюючи результати, доксорубіцин всіх досліджуваних систем зв'язується переважно з активним центром лізоциму, окрім комплексу з $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$, за рахунок водневих зв'язків (всі системи), гідрофобних (всі системи, окрім $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Sestamibi}$) та π -стекінг взаємодій (контрольна система, що містила тільки доксорубіцин, комплекси лізоциму з $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAG}_3$, *Pertechnetate*, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DISIDA}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-ECD}$) та сольових містків (комплекси лізоциму з *Pertechnetate*).

Для систем, що містять $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Medronate}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DMSA}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Exametazime}$, спостерігається один сайт зв'язування для доксорубіцину, що складається з ASP48, TRP62, TRP63, LEU75, ILE98, ASN103, ALA107.

Для всіх інших систем, окрім системи з $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$, в якій доксорубіцин зв'язується з поверхневими залишками лізоциму, найбільш часто у взаємодію з лігандом вступали такі амінокислотні залишки: TRP62, ALA107, ARG112 (виявлені в 5 системах), ASP48, SER50 (в 4 системах), THR47, VAL109 (в 3 системах).

3.3 Дослідження взаємодії візуалізуючого агенту (індоціанінового зеленого) з системою координаційний комплекс технецію–лізоцим–доксорубіцин

На рисунку 3.26 представлено результати дослідження взаємодії індоціанінового зеленого з лізоцимом.

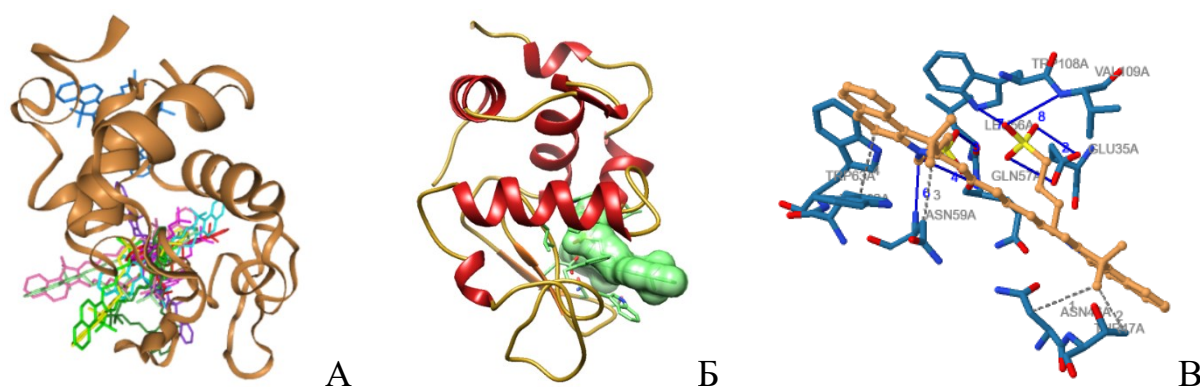


Рис. 3.26 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з лізоцимом. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За допомогою серверу PLIP (Рис. 3.26) виявлено, що система стабілізується гідрофобними взаємодіями (ASN46, THR47, ASN59, TRP62, TRP63) та водневими зв'язками (GLU35, LEU56, GLN57, ASN59, TRP108, VAL109).

Також було проаналізовано ще одну контрольну систему лізоцим-доксорубіцин-індоціаніновий зелений (Рис. 3.27).

Виявлено, що найбільший вклад в стабілізацію індоціанінового зеленого (Рис. 3.27) з лізоцимом вносять гідрофобні взаємодії (ASN44, ASN46, VAL109), водневими зв'язками (GLU35, ASP52, ASP52, GLN57), сольовими містками (GLU35, ASP52) та π -катіонними взаємодіями (ARG112)

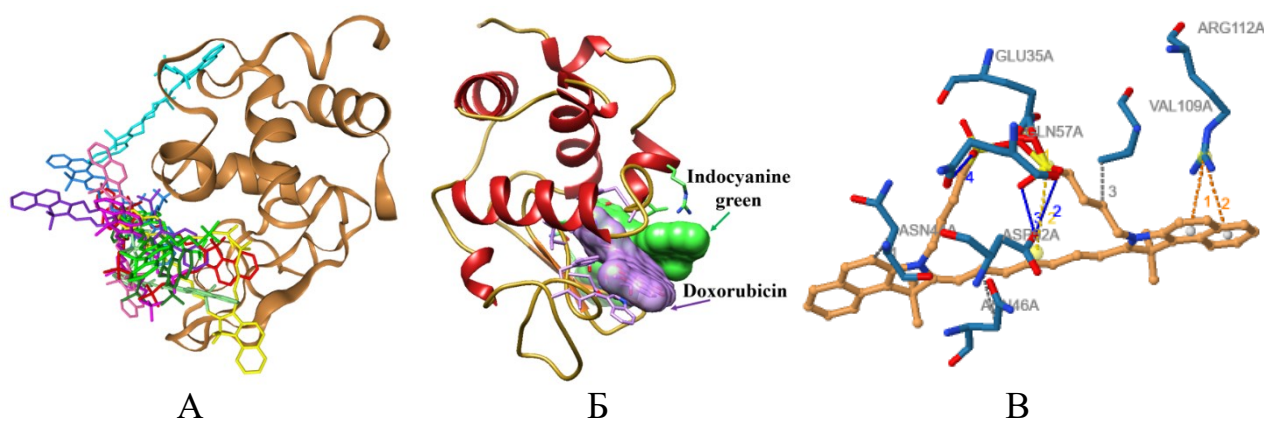


Рис. 3.27 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим-доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

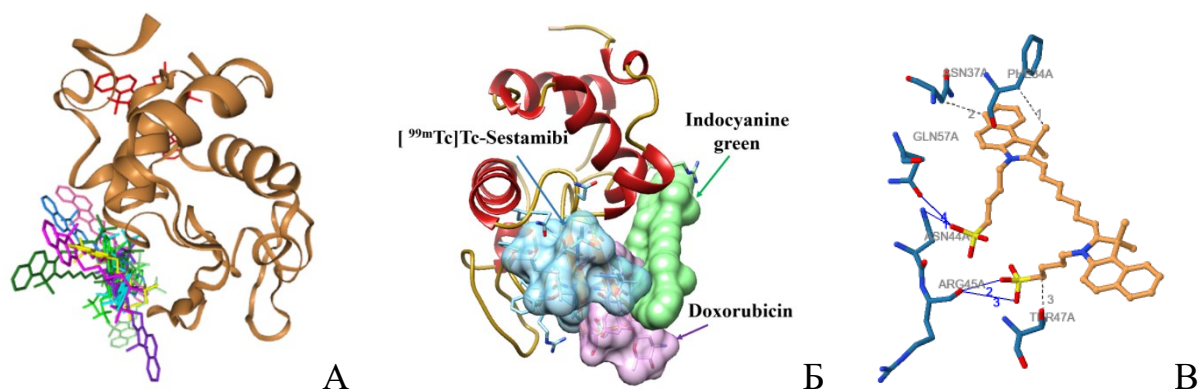


Рис. 3.28 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- $[^{99m}\text{Tc}]$ Tc-Sestamibi-доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За допомогою серверу PLIP (Рис. 3.28) виявлено, що система стабілізується гідрофобними взаємодіями (PHE34, ASN37, THR47) та водневими зв'язками (ASN44, ARG45, GLN57).

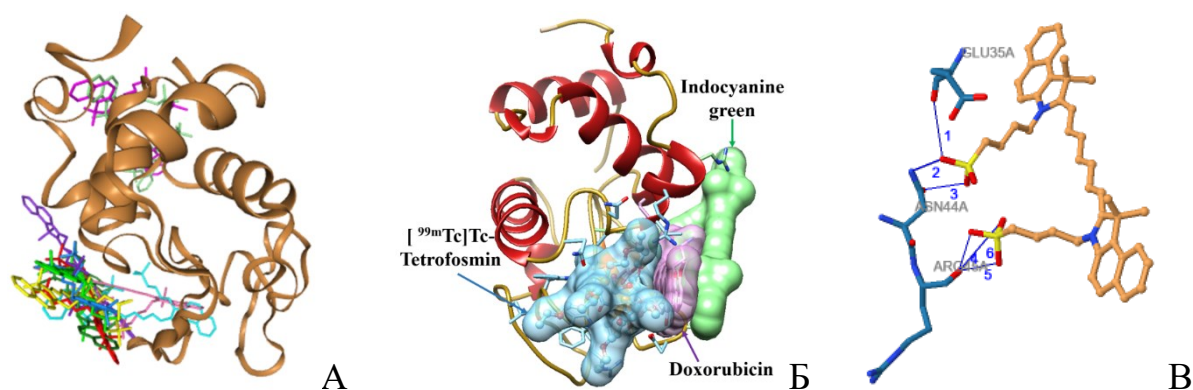


Рис. 3.29 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- $[^{99m}\text{Tc}]/\text{Tc-Tetrofosmin}$ -доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За допомогою серверу PLIP (Рис. 3.29) виявлено, що система стабілізується водневими зв'язками (GLU35, ASN44, ARG45).

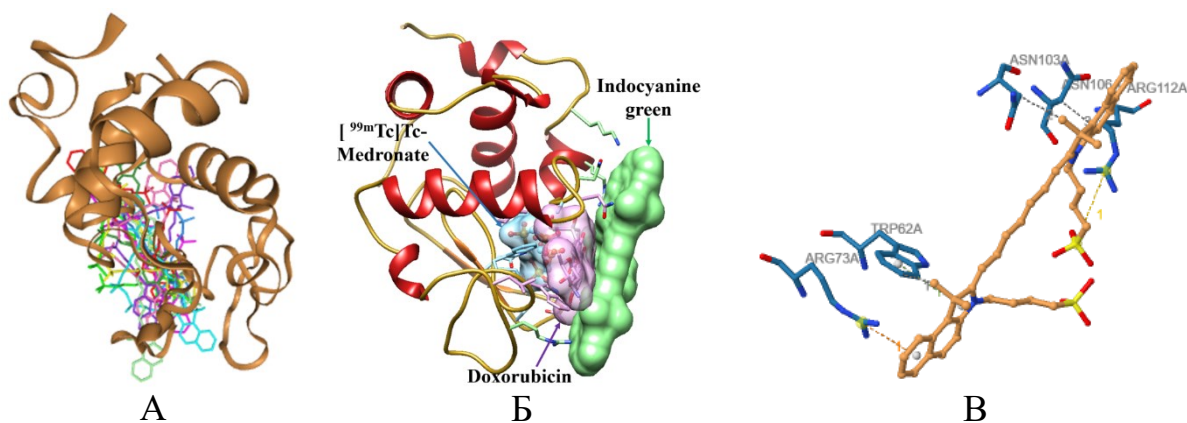


Рис. 3.30 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- $[^{99m}\text{Tc}]/\text{Tc-Medronate}$ -доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За допомогою серверу PLIP (Рис. 3.30) виявлено, що система стабілізується гідрофобними взаємодіями (TRP62, ASN103, ASN106),

сольовим містком (ARG112), π -стекінгом (TRP62), π -катионними взаємодіями (ARG73) та π -стекінг (TRP62).

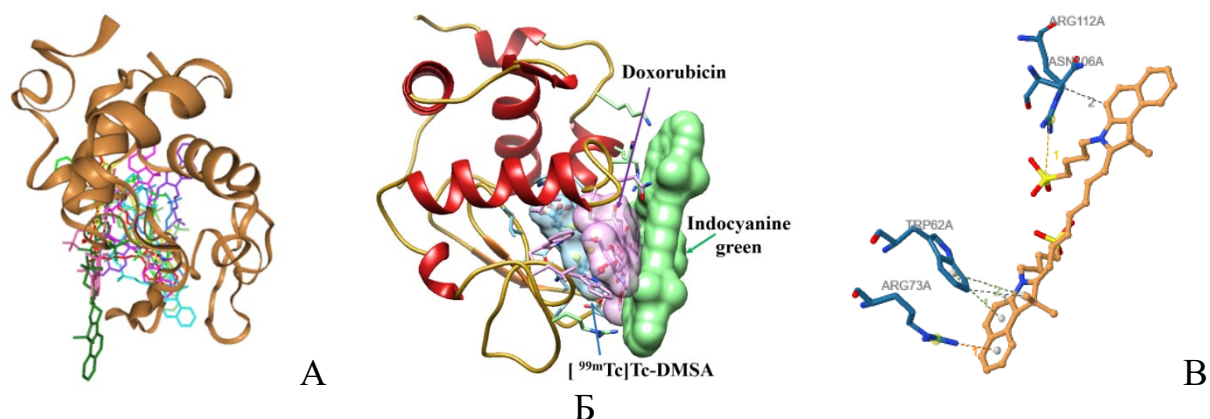


Рис. 3.31 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- $[^{99m}\text{Tc}]/\text{Tc-DMSA}$ -доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

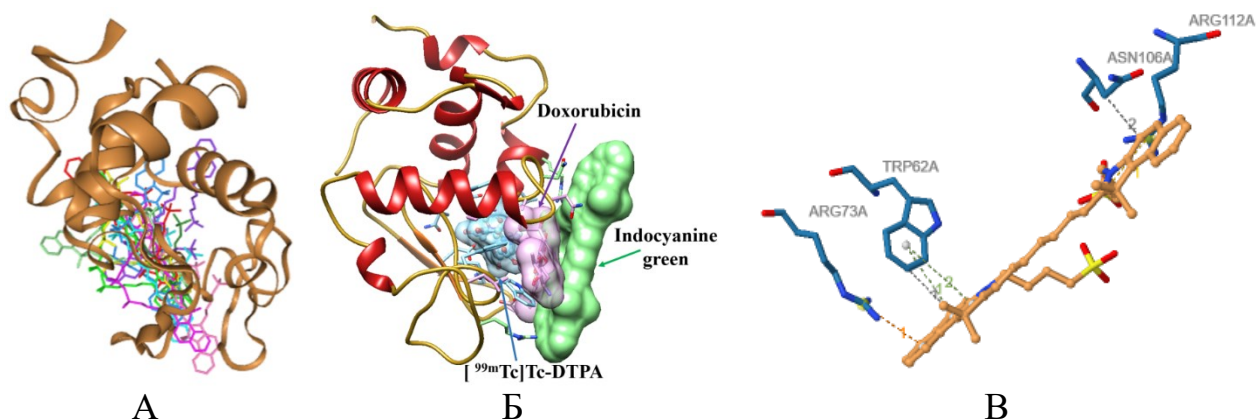


Рис. 3.32 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- $[^{99m}\text{Tc}]/\text{Tc-DTPA}$ -доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За допомогою серверу PLIP (Рис. 3.31) виявлено, що система стабілізується гідрофобними взаємодіями (TRP62, ASN106), водневими зв'язками (GLU35, LEU56, GLN57, ASN59, TRP108, VAL109), сольовим

містком (ARG112), π -стекинговими (TRP62) та π -катионними взаємодіями (ARG73).

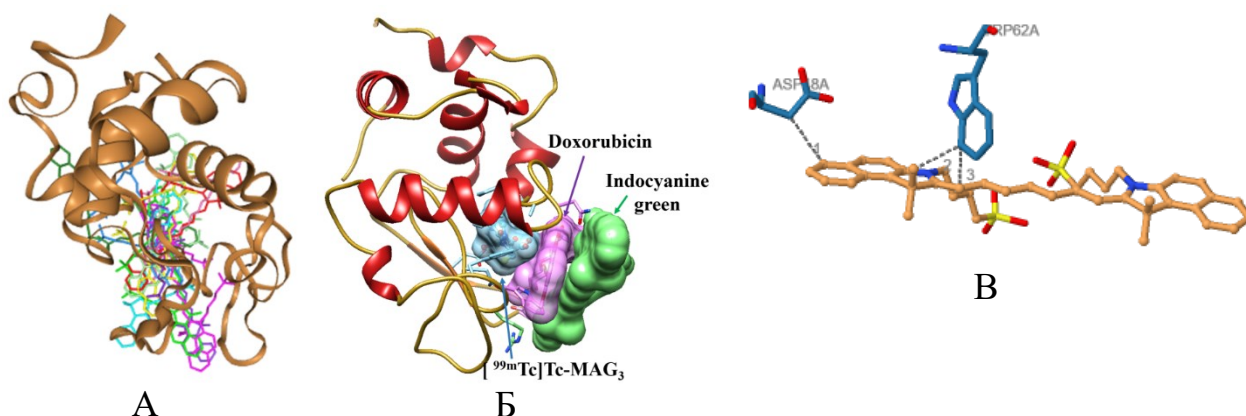


Рис. 3.33 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-MAG}_3$ -доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

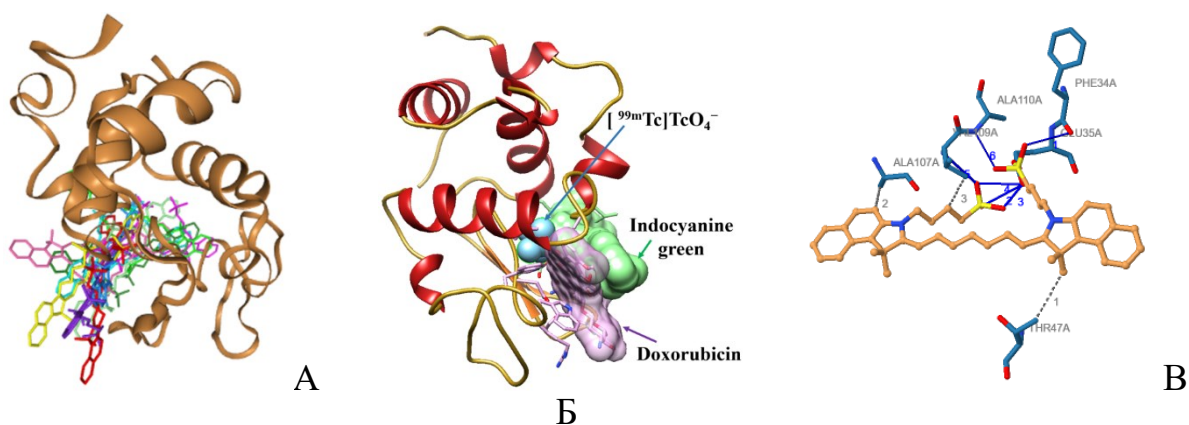


Рис. 3.34 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- *Pertechnetate*-доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

У системі $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$ -лізоцим-доксорубіцин-індоціаніновий зелений (Рис. 3.32) виявлено, що візуалізуючий агент з білком стабілізується

гідрофобними (TRP62, ASN106), π -стекинговими (TRP62) та π -катионними (ARG73) взаємодіями, а також сольовими містками (ARG112).

А в системі [^{99m}Tc]Tc- Tc-MAG₃-лізоцим-доксорубіцин-індоціаніновий зелений (Рис. 3.33) виявлено, що візуалізуючий агент з білком стабілізується гідрофобними взаємодіями (ASP48, TRP62).

За допомогою серверу PLIP (Рис. 3.34) виявлено, що система стабілізується гідрофобними взаємодіями (THR47, ALA107, VAL109) та водневими зв'язками (PHE34, GLU35, VAL109, ALA110).

У системі [^{99m}Tc]Tc-Exametazime-лізоцим-доксорубіцин-індоціаніновий зелений (Рис. 3.35) виявлено, що візуалізуючий агент з білком стабілізується гідрофобними взаємодіями (TRP62, ASN103, ASN106), сольовими містками (ARG112), π -стекингом (TRP62) та π -катионними взаємодіями (ARG73)

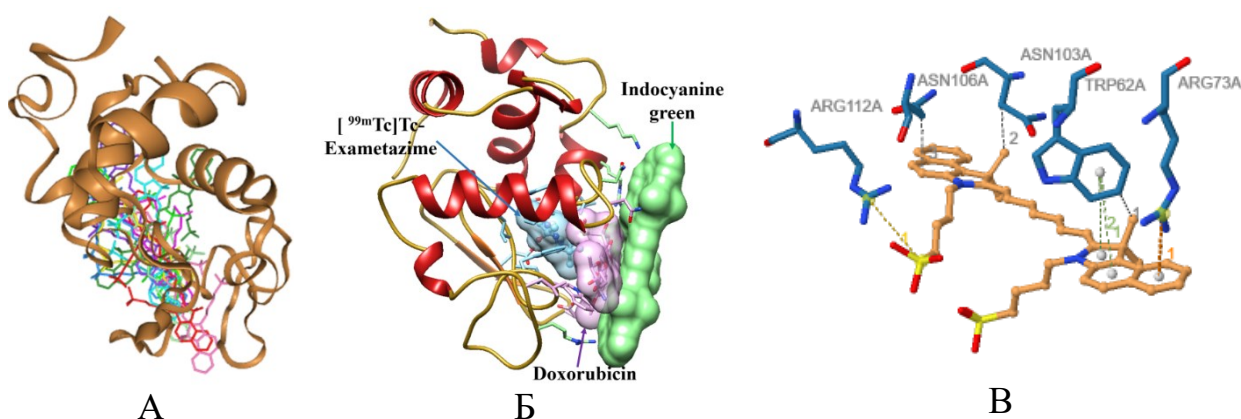


Рис. 3.35 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- ^{99m}Tc -Exametazime-доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

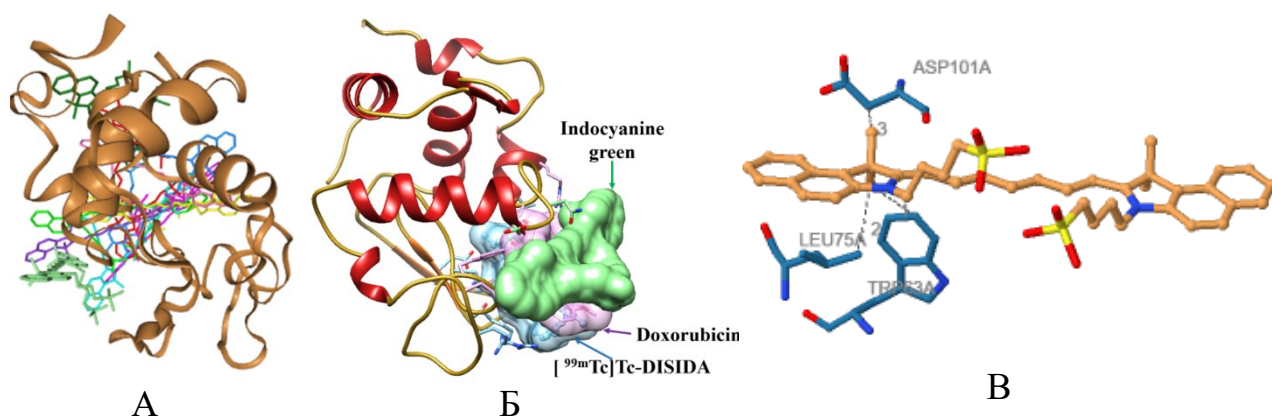


Рис. 3.36 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- $[^{99m}\text{Tc}]$ Tc-DISIDA-доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За допомогою серверу PLIP (Рис. 3.36) виявлено, що система стабілізується гідрофобними взаємодіями (TRP63, LEU75, ASP101).

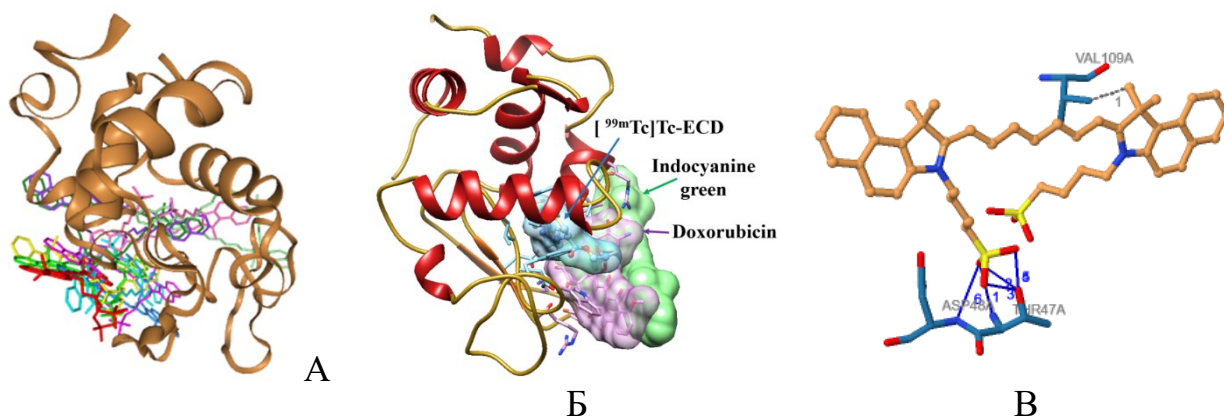


Рис. 3.37 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- $[^{99m}\text{Tc}]$ Tc-ECD-доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За допомогою серверу PLIP (Рис. 3.37) виявлено, що система стабілізується гідрофобними взаємодіями (VAL109) та водневими зв'язками (THR47, ASP48).

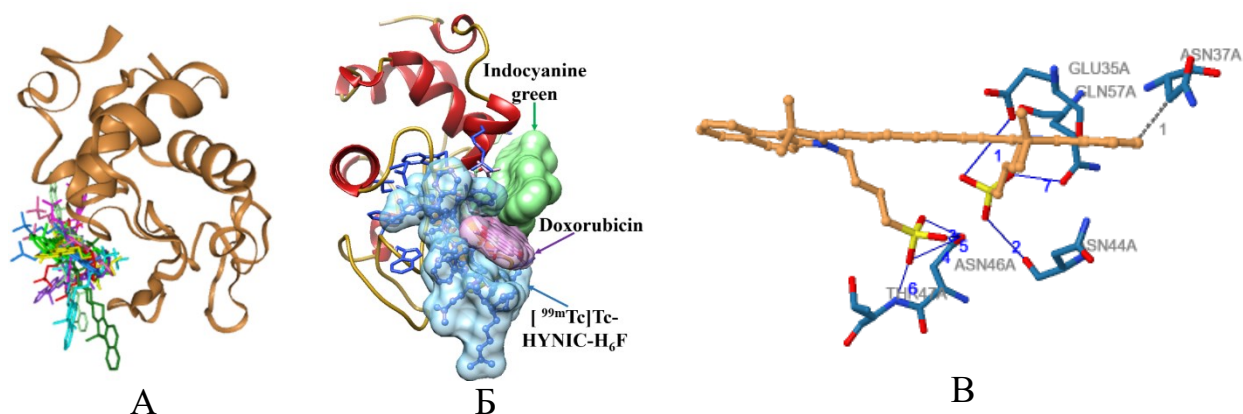


Рис. 3.38 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-HYNIC-H6F}$ -доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP.

За допомогою серверу PLIP (Рис. 3.38) виявлено, що система стабілізується гідрофобними взаємодіями (ASN37) та водневими зв'язками (GLU35, ASN44, ASN46, THR47, GLN57).

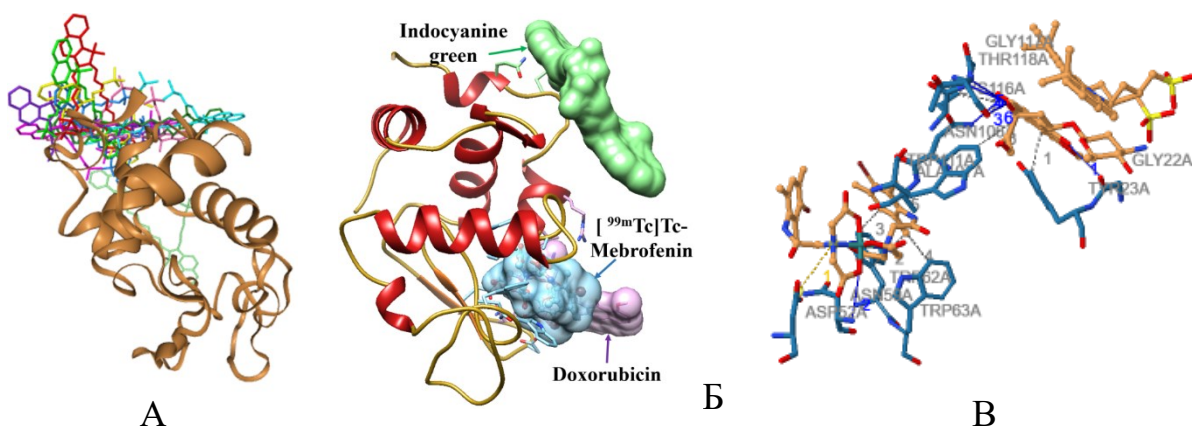


Рис. 3.39 А – 10 найкращих комплексів взаємодії індоціанінового зеленого з комплексом лізоцим- $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$ -доксорубіцин. Б – найбільш енергетично вигідна модель. В – типи взаємодій візуалізуючого агенту, доксорубіцину та радонукліду із лізоцимом для моделі 1, виявлені за допомогою серверу PLIP

Для системи білок-[^{99m}Tc]Tc-Mebrofenin-доксорубіцин-індоціаніновий зелений (Рис. 3.39) не виявлено взаємодій між візуалізуючим агентом та лізоцимом, оскільки, як можна бачити з Рис. 3.39В індоціаніновий зелений взаємодіє із доксорубіцином, а не білком, а такі типи взаємодії PLIP розрізнити не може. Як можна бачити з порівняльної таблиці (Табл. 3.3), енергія зв'язування візуалізуючого агенту з таким потрійним комплексом дещо нижча по модулю, ніж для інших систем, однак більша, ніж для більшості координаційних комплексів технецію (Табл. 3.1). Скоріше за все, спостерігається пряма взаємодія між лікарським препаратом та індоціаніновим зеленим ймовірно за рахунок ароматичних взаємодій.

Як можна бачити із Таблиці 3.3 афінність індоціанінового зеленого до лізоциму в контрольній подвійній системі становить -192.56, а в потрійній (лізоцим-доксорубіцин-індоціаніновий зелений) – -179.69, що трішки гірше, ніж для інших досліджуваних систем. У системах білок-радіонуклід-доксорубіцин-індоціаніновий зелений оцінка зв'язування знаходиться у межах -224.93 – -186.34. Таким чином, ймовірність зв'язування індоціанінового зеленого з білком дещо вища порівняно з координаційними комплексами технецію (на 2.46-0.06 %) та доксорубіцином (на 0.2-0.02 %, окрім систем з [^{99m}Tc]TcO $_4^-$ та [^{99m}Tc]Tc-DISIDA). Афінність зв'язування індоціанінового зеленого з системою лізоцим-радіофармпрепарат-доксорубіцин спадає у такій послідовності: [^{99m}Tc]Tc-HYNIC-H $_6\text{F}$ > [^{99m}Tc]Tc-DTPA > [^{99m}Tc]Tc-Exametazime > [^{99m}Tc]Tc-Medronate > [^{99m}Tc]Tc-DMSA > [^{99m}Tc]Tc-ECD > [^{99m}Tc]Tc-MAG $_3$ > [^{99m}Tc]Tc-DISIDA > [^{99m}Tc]Tc-Sestamibi > [^{99m}Tc]Tc-Tetrofosmin > [^{99m}Tc]TcO $_4^-$ > [^{99m}Tc]Tc-Mebrofenin.

Узагальнюючи результати, індоціаніновий зелений, як і доксорубіцин та комплекси радіонукліда технецію-99m, намагається зв'язатись з активним центром білка, окрім системи з [^{99m}Tc]Tc-Mebrofenin, в якій візуалізуючий агент взаємодіє з лікарським препаратом. Стабілізація комплексу барвника з білком відбувається за рахунок гідрофобних взаємодій (всі системи, окрім

Таблиця 3.3

Параметри зв'язування для системи лізоцим-координаційний комплекс технецію-доксорубіцин- індоціаніновий зелений, отримані за допомогою серверу HDOCK

Система білок- радіонуклід- доксорубіцин- індоціаніновий зелений	Оцінка зв'язування	Середньоквадратичне відхилення ліганду, Å
Контрольна система лізоцим-індоціаніновий зелений	-192.56	61.11
Контрольна система лізоцим-доксорубіцин- індоціаніновий зелений	-179.69	59.93
[^{99m} Tc]Tc-Sestamibi	-198.22	60.23
[^{99m} Tc]Tc-Tetrofosmin	-197.40	60.96
[^{99m} Tc]Tc-Medronate	-219.54	67.30
[^{99m} Tc]Tc-DMSA	-217.43	68.41
[^{99m} Tc]Tc-DTPA	-224.89	68.11
[^{99m} Tc]Tc-MAG ₃	-208.21	68.02
Pertechnetate ([^{99m} Tc]TcO ₄ ⁻)	-195.10	61.44
[^{99m} Tc]Tc-Exametazime	-220.50	68.09
[^{99m} Tc]Tc-DISIDA	-203.86	67.58
[^{99m} Tc]Tc-ECD	-217.02	66.46
[^{99m} Tc]Tc-HYNIC-H ₆ F	-224.93	60.66
[^{99m} Tc]Tc-Mebrofenin	-186.34	74.76

[^{99m}Tc]Tc-Tetrofosmin), водневих зв'язків (системи, що містять [^{99m}Tc]Tc-Sestamibi, [^{99m}Tc]Tc-Tetrofosmin, Pertechnetate, [^{99m}Tc]Tc-ECD, [^{99m}Tc]Tc-HYNIC-H₆F та контрольні системи), π-стекинг (системи, що містять [^{99m}Tc]Tc-Medronate, [^{99m}Tc]Tc-DMSA, [^{99m}Tc]Tc-DTPA, [^{99m}Tc]Tc-Exametazime) та π-

катіон взаємодій, а також сольових містків (системи, що містять [^{99m}Tc]Tc-Medronate, [^{99m}Tc]Tc-DMSA, [^{99m}Tc]Tc-DTPA, [^{99m}Tc]Tc-Exametazime та контрольна потрійна система).

Індоціаніновий зелений локалізується в одному сайті зв'язування для систем, що містять [^{99m}Tc]Tc-Sestamibi, [^{99m}Tc]Tc-Tetrofosmin, та взаємодіє з такими залишками як PHE34, GLU35, ASN37, ASN44, ARG45, THR47, GLN57. Інший сайт зв'язування спостерігається для систем, що містять [^{99m}Tc]Tc-Medronate, [^{99m}Tc]Tc-DMSA, [^{99m}Tc]Tc-DTPA, [^{99m}Tc]Tc-Exametazime. Цей сайт утворений такими залишками як TRP62, ARG73, ASN103, ASN106, ARG112. Для всіх інших систем, окрім системи з [^{99m}Tc]Tc-Mebrofenin, найбільш часто у взаємодію з лігандом вступали такі амінокислотні залишки: THR47, GLU35 (виявлені в 4 системах), VAL109 (в 3 системах).

ВИСНОВКИ

Методом молекулярного докінгу в роботі було проведено оцінку низки наноносіїв протипухлинного препарату доксорубіцину на основі яєчного лізоциму з системою подвійної можливості візуалізації, що включала комплекси радіонукліда технецію-99m (12 сполук) та флуоресцентного барвника індоціанінового зеленого, що випромінює та поглинає в ближньому інфрачервоному діапазоні (так званому, оптичному вікні біологічних тканин).

1. Найвищу афінність зв'язування радіофармацевтичних препаратів на основі ^{99m}Tc отримано для систем лізоцим- $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-HYNIC-H}_6\text{F}$ (оцінка зв'язування -195.15), білок- $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DISIDA}$ (-177.31) та лізоцим- $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$ (-175.55), в той час як $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Medronate}$ (-121.38) та $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$ (-56.19) демонстрували нижчу ймовірність утворення стабільних комплексів.
2. Досліджувані координаційні комплекси технецію зв'язуються з активним центром лізоциму переважно за рахунок водневих зв'язків, в той час як гідрофобні взаємодії та сольові містки відігравали додаткову стабілізуючу роль. Більшість комплексів технецію 99m в активному центрі білка взаємодіяли з ASN59 (7 систем), ASP52 (6 систем), VAL109 (5 систем), TRP63, ALA107 (виявлені в 4 системах).
3. Найвищу спорідненість доксорубіцину до яєчного лізоциму було отримано в потрібних системах (білок- комплекс технецію-99m – лікарський препарат), що містили $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DISIDA}$ (оцінка зв'язування -233.08), $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-HYNIC-H}_6\text{F}$ (-219.73) та $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$ (-219.56), тоді як для систем з $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Sestamibi}$ (-168.50) та $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$ (-167.24) спостерігалась найнижча афінність зв'язування доксорубіцину з білком.
4. Доксорубіцин зв'язується переважно з активним центром лізоциму, окрім системи з $[\text{}^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$, за рахунок водневих зв'язків

та гідрофобних взаємодій (всі системи, окрім $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Sestamibi}$), в той час як π -стекінг взаємодії та сольові містки відіграють додаткову стабілізуючу роль. Для систем, що містять $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Medronate}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DMSA}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Exametazime}$, спостерігається один сайт зв'язування (ASP48, TRP62, TRP63, LEU75, ILE98, ASN103, ALA107) для доксорубіцину. Протипухлинний препарат всіх інших систем, окрім системи з $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$, найчастіше взаємодіє з TRP62, ALA107, ARG112 (виявлені в 5 системах), ASP48, SER50 (в 4 системах), THR47, VAL109 (в 3 системах).

5. Найвища по модулю оцінка зв'язування індоціанінового зеленого з білком спостерігалась для систем, що містили $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-HYNIC-H}_6\text{F}$ (-224.93), $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$ (-224.89) та $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Exametazime}$ (-220.50), тоді як системи білок- $[^{99m}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$ (-195.10)/ $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$ (-186.34)-доксорубіцин-барвник демонстрували нижчу ймовірність утворення стабільних комплексів.
6. Індоціаніновий зелений, окрім системи з $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Mebrofenin}$, в якій візуалізуючий агент взаємодіє з доксорубіцином, зв'язується з активним центром білка переважно за рахунок гідрофобних взаємодій (всі системи, окрім $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-Tetrofosmin}$). Також спостерігаються водневі зв'язки, π -стекінг та π -катіон взаємодії та сольові містки. Виявлено 2 сайти зв'язування барвника (перший: PHE34, GLU35, ASN37, ASN44, ARG45, THR47, GLN57; другий: TRP62, ARG73, ASN103, ASN106, ARG112) та амінокислотні залишки, з якими найбільш часто взаємодіє барвник решти систем (THR47, GLU35, VAL109).
7. В загальному, отримані результати свідчать про те, що системи з $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-HYNIC-H}_6\text{F}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DTPA}$, $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc-DISIDA}$ є найбільш перспективними для експериментального тестування

наноносіїв протипухлинного препарату на основі яєчного лізоциму з системою подвійної можливості візуалізації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- [1] Protein-Based Drug-Delivery Materials Dave Jao, Ye Xue, Jethro Medina and Xiao Hu
- [2] The Uniqueness of Albumin as a Carrier in Nanodrug Delivery Alessandra Spada, Jaber Emami*, Jack A. Tuszynski, and Afsaneh Lavasanifar*
- [3] Evans, T.W. Albumin as a drug—biological effects of albumin unrelated to oncotic pressure. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2002, 16 (Suppl. 5), 6–11.
- [4] Chuang, V.T.; Otagiri, M. Recombinant human serum albumin. *Drugs Today (Barc)* 2007, 43, 547–561.
- [5] Larsen, M.T.; Kuhlmann, M.; Hvam, M.L.; Howard, K.A. Albumin-based drug delivery: Harnessing nature to cure disease. *Mol. Cell Ther.* 2016, 4, 3.
- [6] Tao, C.; Chuah, Y.J.; Xu, C.; Wang, D.A. Albumin conjugates and assemblies as versatile bio-functional additives and carriers for biomedical applications. *J. Mater. Chem. B* 2019, 7, 357–367
- [7] He, X.M.; Carter, D.C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature* 1992, 358, 209–215.
- [8] Sugio, S.; Kashima, A.; Mochizuki, S.; Noda, M.; Kobayashi, K. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Protein Eng.* 1999, 12, 439–446.
- [9] Murayama, K.; Tomida, M. Heat-induced secondary structure and conformation change of bovine serum albumin investigated by Fourier transform infrared spectroscopy. *Biochemistry* 2004, 43, 11526–11532.
- [10] Paris, G.; Kraszewski, S.; Ramseyer, C.; Enescu, M. About the structural role of disulfide bridges in serum albumins: Evidence from protein simulated unfolding. *Biopolymers* 2012, 97, 889–898
- [11] Young, A. C. M., Tilton, R. F., & Dewan, J. C. (1994). Thermal expansion of hen egg-white lysozyme. *Journal of Molecular Biology*, 235(1), 302–317.

- [12] C. A. Ragland SA, "From bacterial killing to immune modulation: recent insights into the functions of lysozyme," *PLoS Pathog.*, no. 13(9), 2017.
- [13] Ibrahim HR, "Insights into the structure–function relationships of ovalbumin, ovotransferrin, and lysozyme," CRC Press, p. 37–56, 1997.
- [14] Tomizawa, H., Yamada, H., & Imoto, T. (1994). The Mechanism of Irreversible Inactivation of Lysozyme at pH 4 and 100 .degree.C. *Biochemistry*, 33(44), 13032–13037.
- [15] Woods, C. M., Hooper, D. N., Ooi, E. H., Tan, L.-W., & Carney, A. S. (2011). Human Lysozyme has Fungicidal Activity against Nasal Fungi. *American Journal of Rhinology & Allergy*, 25(4), 236–240.
- [16] M. C. Callewaert L, "Lysozymes in the animal kingdom," *Biosci.*, no. 35(1), pp. 127-187, 2010.
- [17] Zhang, X., Jiang, A., Yu, H., Xiong, Y., Zhou, G., Qin, M., ... Wang, J. (2016). Human Lysozyme Synergistically Enhances Bactericidal Dynamics and Lowers the Resistant Mutant Prevention Concentration for Metronidazole to *Helicobacter pylori* by Increasing Cell Permeability. *Molecules*, 21(11), 1435.
- [18] TECHNOLOGY AND ANALYSIS OF THERMOSENSITIVE LIPOSOMAL PREPARATION OF DOXORUBICIN E. V. Tazina, E. V. Ignat’eva, A. P. Polozkova, O. L. Orlova, and N. A. Oborotova Blokhin Oncological Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 115478 Russia
- [19] <https://en.wikipedia.org/wiki/Technetium-99>
- [20] <https://habr.com/ru/articles/369643/>
- [21] Technetium-99m Steven M. Kane; Inderbir S. Padda; Preeti Patel; Donald D. Davis