

### Литература

1. Mathers, C WHO. The Global Burden of Disease: 2004 Update / C. Mathers, D.M. Fat, J.T. Boerma – World Health Organization, 2008. – 146 p.
2. Mills, J.N. Advanced Imaging Modalities in the Detection of Cerebral Vasospasm / J.N. Mills [et al.] // Neurology Research International. – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 415960, 15 pages.
3. Синицын, В.Е. Применение ионных рентгеноконтрастных средств в современной лучевой диагностике. Вопросы клинической эффективности, безопасности и фармакоэкономики / В.Е. Синицын // Медицинская визуализация. – 2003. – № 1. – С. 121–127.
4. Einstein, A.J. Estimating risk of cancer associated with radiation exposure from 64-slice computed tomography coronary angiography / A.J. Einstein, M.J. Henzlova, S. Rajagopalan // JAMA. – 2007. – Vol. 298, № 3. – P. 317–323.
5. Mudra, R. Near-infrared spectroscopy extended with indocyanine green dye dilution for cerebral blood flow measurement: Median values in healthy volunteers / R. Mudra [et al.] // Opto-Electronics Review. – 2008. – Vol. 16, Issue 3. – P. 297–308.

### ИЗМЕНЕНИЯ КОНФОРМАЦИИ ТРОМБИНА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПОЛИАМИДОАМИННЫХ ДЕНДРИМЕРОВ

Терехова М.<sup>1</sup>, Брышевская М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,  
Минск, Беларусь,*

<sup>2</sup>*Кафедра Общей биофизики, Лодзьский университет, Лодзь, Польша*

Дендримеры – это сильноразветвленные синтетические макромолекулы, структуру которых можно точно контролировать при синтезе, что позволяет успешно использовать их в нанобиотехнологии в качестве посредников для целевой доставки препаратов в клетки при терапии различных заболеваний. Однако в определенных концентрациях дендримеры могут сами проявлять цитотоксичность, сводя на нет всю свою полезность при доставке лекарств. В данной работе исследовалось влияние полиамидоаминовых (ПАМАМ) дендримеров на конформацию белка методом измерения флуоресценции. Флуоресценцию растворов белков обеспечивают ароматические аминокислоты (триптофан, тирозин, фе-

нилаланин), которые в третичной структуре могут быть ориентированы по-разному, что обеспечивает зависимость положения и интенсивности пиков флуоресценции от конформации белка. Таким образом можно установить факт изменения конформации белка под действием различных агентов, а также оценить степень этого изменения.

Цель работы: установить влияние гидрофильных и гидрофобных РАМAM дендримеров на конформацию белка тромбина методом измерения флуоресценции раствора.

Материалы и методы. В эксперименте использован белок тромбин ( $M_w$  36,7 кДа), полученный в РНПЦ гематологии и трансфузиологии МЗ РБ. Дендримеры РАМAM G4 (формула  $[NH_2(CH_2)_2NH_2]_4(G=4)$ ,  $M_w$  14214,17 Да, содержат 64 поверхностных первичных аминогрупп) и РАМAM-25 %  $C_{12}$  G4 (формула  $C_{1006}H_{2016}N_{250}O_{156}$ ,  $M_w$  20112,35, содержат на поверхности 48 первичных аминогрупп и 16 групп  $[N-(2\text{-гидроксидодецил})]$ ), были приобретены в фирме Sigma-Aldrich (USA). Измерение флуоресценции раствора белка производилось на приборе Jasco-F6300 (Japan). Возбуждение молекул белка осуществлялось на длине волны 280 нм, измерение флуоресценции происходило на длинах волн от 310 нм до 450 нм с шагом 1 нм. Длина оптического пути составляла 1 см. Конечный объем раствора в кварцевой кювете составлял 2 мл. Конечная концентрация тромбина составляла 0,136 мкмоль/л, конечная концентрация дендримеров варьировалась по отношению к концентрации белка в следующем виде: 0,5; 1; 2; 3; 5; 7; 10. Для дендримера РАМAM G4 было произведено дополнительное измерение с отношением концентраций дендример-белок равным 15. Растворы тромбина и дендримера РАМAM G4 готовились в фосфорном буферном растворе с pH 7,4, раствор дендримера РАМAM-25 %  $C_{12}$  G4 готовился в этиловом спирте. В данном эксперименте измеряемыми параметрами выступали длина волны, при которой наблюдался пик флуоресценции, и интенсивность пика. В качестве контроля для РАМAM G4 выступал раствор тромбина в фосфорном буфере, в качестве контроля для РАМAM-25 %  $C_{12}$  G4 выступал раствор тромбина с добавлением этилового спирта.

Результаты. Обнаружено, что при добавлении дендримеров к растворам белка при повышении молярного соотношения "дендример:белок" для РАМAM G4 наблюдается постепенное и небольшое снижение интенсивности основного пика при варьирующейся длине волны от 338 до 342 нм. В то же время при добавлении РАМAM-25 %  $C_{12}$  G4 отмечалось резкое уменьшение длины волны пика до 329 нм, которое за-

тем оставалось постоянным, в то время как интенсивность пика возрастала по сравнению с контрольным образцом (рисунок).

Помимо этого, при добавлении дендримеров возникал второй пик флуоресценции в районе длин волн 410–434 нм. В случае с РАМAM G4 этот пик обнаруживался лишь при высоких соотношениях концентраций дендримеров и белка (10 и 15), а также наблюдался в одном повторе в серии при соотношении концентраций 1:1. Для дендримера РАМAM-25 % C<sub>12</sub> G4 второй пик появлялся начиная с самых низких соотношений и при увеличении концентрации дендримеров наблюдалось постепенное увеличение как длины волны, так и интенсивности пика.

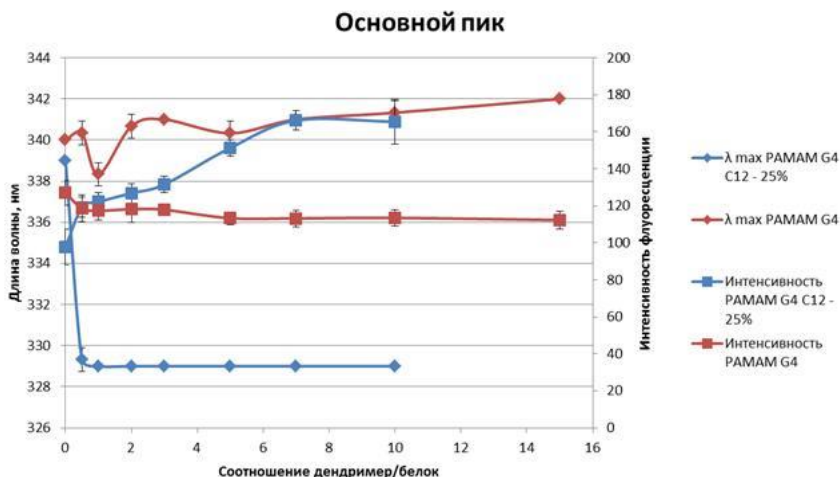


Рисунок – Изменения интенсивности и положения максимума флуоресценции тромбина в присутствии дендримеров в различных концентрациях.

Обсуждение. При сравнении графиков зависимости длины волны и интенсивности пиков флуоресценции раствора тромбина при добавлении различных дендримеров можно заметить, что изменения по сравнению с контрольным образцом при добавлении гидрофильного дендримера менее выражены, чем при добавлении гидрофобного. Особый интерес представляет появление второго пика флуоресценции, который отсутствовал в контрольных опытах и при добавлении низких концентраций дендримера РАМAM G4. Следовательно, дендример РАМAM-25 % C<sub>12</sub> G4 оказывал денатурирующее влияние на тромбин начиная с минималь-

ных концентраций, в то время как подобное влияние дендример РАМAM G4 оказывал только начиная с 10-кратной молярной концентрации по отношению к концентрации белка, тогда как влияние низких концентраций было менее выраженным. Из этого можно сделать вывод, что применение в медицине гидрофобных полиамидаминных дендримеров может привести к нежелательным побочным эффектам в результате денатурации, а следовательно, к утрате функции белков (в частности тромбина), в то время как гидрофильные дендримеры потенциально могут не оказывать столь негативного влияния при низких концентрациях.

## **ГИПОТЕНЗИВНОЕ И ЦИТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ГЛУТАТИОНОМ ПРИ ИХ ВВЕДЕНИИ В ОРГАНИЗМ КРЫС РАЗЛИЧНЫМИ СПОСОБАМИ**

**Тимошин А.А.<sup>1</sup>, Лакомкин В.Л.<sup>1</sup>, Абрамов А.А.<sup>1</sup>, Рууге Э.К.,  
Ванин А.Ф.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*ФГБУ "Российский кардиологический научно-производственный  
комплекс" Минздрава России, Москва, Россия*

<sup>2</sup>*ФГБУН "Институт химической физики имени Н.Н.Семёнова" РАН,  
Москва, Россия*

Известно, что динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) с тиол-содержащими лигандами являются одной из основных стабилизированных форм NO в организме животных и человека. Такие соединения осуществляют депонирование NO и перенос его к мишеням действия, а также обладают собственным антиоксидантным действием [1]. Целью работы являлось исследование переноса и накопления данных комплексов в ткани органов, а также их гипотензивного и защитного действия в результате введения препарата ДНКЖ с лигандом глутатионом (ДНКЖ-Глт) в организм крыс различными способами.

Эксперименты проводились на крысах линии Wistar. В ходе опытов осуществлялся мониторинг среднего АД (АДср) и его изменений в результате введения ДНКЖ-Глт. Содержание связанных с белками ДНКЖ в крови и ткани органов после инъекции данного препарата определялось исходя из их сигналов ЭПР при  $g=2,03$ . Для оценки уровня NO, включая его стабилизированные формы, применялась спиновая ловушка