

IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С БЕЛКАМИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА СЦИНТИЛЛИРУЮЩЕЙ ФАЗЫ

А.С. Скребкова, А.В. Касперович, М.Г. Чернышева, Г.А. Бадун

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, e-mail: skrebkova.a@gmail.com

При дизайне лекарственных средств, в том числе радиофармпрепаратов, необходимо учитывать особенности их взаимодействия с белками. В работе предлагается для проведения *in vitro* исследований взаимодействия лекарственных средств с белками, помимо оптической спектроскопии водных растворов, использовать также жидкостную сцинтилляционную спектрометрию в варианте метода сцинтиллирующей фазы. В этом случае появляется возможность не только наблюдать образование комплексов лиганд-белок, но и с помощью меченных тритием соединений изучать их распределение между водным раствором и органической жидкостью, а также поверхностно-активные свойства. В данной работе проведено исследование связывания белка лизоцима с антисептиком мирамистином® и олигопептидом даларгином®.

Меченные тритием лизоцим, мирамистин и даларгин получали с помощью метода термической активации и проводили их очистку с помощью ВЭЖХ. В качестве органической жидкости в модельной двухфазной системе использовали п-ксилол с добавкой 2,5-дифениллоксазола. Готовили водные растворы смесей лизоцима с одним из лигандов, при этом только один из компонентов смеси содержал радиоактивную метку. Концентрацию лизоцима поддерживали постоянной и равной 0,01 мг/мл, а концентрацию лиганда изменяли от $2,5 \cdot 10^{-8}$ до $1 \cdot 10^{-5}$ М для мирамистина и от $6,9 \cdot 10^{-7}$ до $1,4 \cdot 10^{-3}$ М для даларгина. К полученным растворам добавляли сцинтилляционную жидкость на основе п-ксилола и инкубировали в течение

2 суток при температуре 25 °С для достижения равновесного распределения компонентов. Определение количества меченого вещества в объеме ксилола и на межфазной границе жидкость-жидкость проводилось путем измерения скорости счета β -излучения трития в двухфазной системе и в отобранной аликвоте органической фазы.

Показано, что в исследуемом диапазоне концентраций мирамистин и даларгин не влияли на концентрацию лизоцима в органической фазе. Однако обнаружено влияние белка на адсорбцию этих лигандов на межфазной границе и их содержание в ксилоле. Для анализа образования комплексов белок-лиганд в объеме водной фазы использовали метод флуоресцентной спектроскопии. Обнаружено увеличение флуоресценции триптофана в присутствии мирамистина и даларгина, что свидетельствует об усилении гидрофильного окружения триптофана в комплексе лизоцим-лиганд.

В докладе обсуждается возможный состав образующихся комплексов и применимость предложенного подхода для исследования лигандов различной природы при *in vitro* характеристизации лекарственных средств.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (18-33-20147-мол_a_вед).