

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ:
заведующий кафедрой

_____ В. А. Кратасюк
“ ___ ” _____ 2021 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ИНОЗИДОЛ-ФЕНИЛ-ТИАЗОЛАЦЕТАМИДА В КАЧЕСТВЕ ПЭТ РФП ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

03.04.02 Физика 03.04.02.09 Технологическое сопровождение ядерной
медицины и медицинского оборудования

Научный руководитель: _____ к.ф.-м.н., доцент А. Н. Шуваев
дата, подпись уч.степень, должность

Выпускник: _____ А. В. Кечин
дата, подпись

Рецензент: _____ к.биол.наук, доцент Л.В. Степанова
дата, подпись уч.степень, должность

Красноярск 2021

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа по теме «КВАНТОВО - ХИМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ИНОЗИДОЛ-ФЕНИЛ-ТИАЗОЛАЦЕТАМИДА В КАЧЕСТВЕ ПЭТ РФП ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ГЛИОБЛАСТОМЫ» содержит 53 страниц текстового документа, 46 использованных источников, 25 рисунков, 9 таблиц.

Цель работы — создание квантовохимической модели ИНОЗИДОЛ-ФЕНИЛ-ТИАЗОЛАЦЕТАМИДА как радиофармпрепарата для визуализации микрометастаз глиобластомы методом позитрон-эмиссионной томографии.

Содержание

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Введение | 5 |
| 1 Литературный обзор | 7 |
| 1.1 Раковые опухоли | 7 |
| 1.1.1 Диагностика раковых опухолей | 8 |
| 1.1.2 Противораковая терапия | 10 |
| 1.2 Глиобластома | 13 |
| 1.3 Астроциты | 15 |
| 1.4 Рецептор эпидермального фактора роста | 16 |
| 1.4.1 EGFR мутации | 17 |
| 1.5 Позитрон-Эмиссионная томография | 18 |
| 1.6 Радиофармакология | 21 |
| 1.7 Моделирование in silico | 22 |
| 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ | 24 |
| 2.1 Объект исследования | 24 |
| 2.1.1 Фенинтен | 24 |
| 2.2 Методы исследования | 25 |
| 2.2.1 Квантово-химическое моделирование | 25 |
| 2.2.2 Динамика Ланжевена | 27 |
| 2.2.3 Метод модифицированного пренебрежения дифференциальным перекрытием (MNDO) | 29 |
| 2.2.4 Алгоритм Полак-Рибье | 30 |
| 2.2.5 Метод молекулярного докинга | 31 |
| 3 Результаты исследования | 34 |
| 3.1 Квантово-химическое моделирование | 34 |
| 3.2 Молекулярный докинг | 35 |
| 3.2.1 Молекулярная механика | 37 |
| 3.2.2 Активность препарата | 39 |
| 3.2.3 Проницаемость ГЭБ | 40 |

| | | |
|---|-------------------|----|
| 4 | Заключение | 42 |
| 5 | Список сокращений | 43 |
| | Список литературы | 53 |

ВВЕДЕНИЕ

Онкология - наиболее исследуемая область медицины объединяющая широкий спектр заболеваний, связанных с нарушениями в регуляции митотического цикла соматических клеток и активной неконтролируемой пролиферации последних. Нарушения в работе органов, систем органов в следствии образования опухолей и метастаз приводят к смерти пациента. В диагностике терапии раковых заболеваний участвует широкий спектр специалистов от хирургов и фармакологов до радиофизиков. Глиобластома - самая распространенная и самая опасная опухоль центральной нервной системы. Среднее время выживания после установления диагноза 15 месяцев, смертность на уровне 95 процентов. В основном формирование глиобластомы связано с пролиферацией астроцитов. Активная пролиферация астроцитов связана с изменением экспрессии рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). EGFR - мембранный рецептор тирозин-киназного семейства. При активации стимулирует различные клеточные активности, такие как: пролиферацию, рост, развитие, жизнедеятельность. Хотя EGFR и не является специфическим для астроцитов, именно повышенный уровень экспрессии данного рецептора является онкомаркером глиобластомы. На данный момент созданы радиофармпрепараты для визуализации различных опухолей связанных с мутацией EGFR. Препараты, разрабатываемые для ПЭТ диагностики, основанные на аффинности к EGFR на данный момент обладают недостатками связанными с большой массой и полярностью, не позволяющим этим препаратам пройти через гематоэнцефалический барьер. В ходе данной работы исследуется возможность создания радиофармпрепарата на основе олигопептидных лигандов EGFR методами проектирования *in-silico*.

Объектом (2R)-2-(1-оксо-1,3-дигидро-2H-инозидол)-2-фенил-N-(1,3-тиазол)ацетамид и рецептор эндотелиального фактора роста EGFR

Предметом настоящей работы являются: Поиск оптимальной позиции для радиоактивной метки на трипептиде

Целью данной работы является моделирование радиофармпрепарата на основе Инозидол-фенил-тиазолацетамида с последующим использованием полученного соединения как средства визуализации метастаз глиобластомы основанном на методе позитрон-эмиссионной томографии.

Задачи:

- 1) Построение квантово-химической модели меченного лиганда Инозидол-фенил-тиазолацетамида (Фенинтен);
- 2) Изучение квантово-химических свойств меченного лиганда Инозидол-фенил-тиазолацетамида;
- 3) Проведение докинга ЕГФР с меченым лигандом Фенинтенном;
- 4) Проведение сравнительного анализа моделей взаимодействия EGFR с различными вариантами меченного лиганда Фенинтена;
- 5) Оценка радиофармакологических свойств меченного лиганда фенинтена.

1 Литературный обзор

1.1 Раковые опухоли

Рак - вторая по счету причина смертности во всем мире. К 2014 году в одних только США было зарегистрировано 1665540 подтвержденных диагнозов, 585720 их этих пациентов умерло в результате развития заболевания. По оценке Российского Министерства Здравоохранения на 2018 год в России проживало 3,7 млн больных онкологическими заболеваниями. Число умерших за 2018 год составило 271т человек. К сожалению, рак является вариативным заболеванием, варьируются как ткани так и причины заболевания. В результате появляется необходимость точно устанавливать диагноз и назначать специфичное лечение в каждом конкретном случае. У мужчин распространенными являются онкологические заболевания легких, бронхов, простаты, кишечника и мочевого пузыря. Для женщин наибольшую опасность представляют онкологические заболевания груди, за ними следуют онкология легких и бронхов, кишечника, мочевого пузыря и щитовидной железы. У детей чаще всего встречаются рак крови, глиобластомы и лимфобластомы. Существует генетическая предрасположенность к некоторым типам рака. [1] Рак на данный момент является одним из наиболее изучаемых заболеваний. Под раком подразумевается более чем 277 типов злокачественных опухолей [2]. Заболевание объединяет мутационная природа патогенеза. Генетические мутации приводят к аномальной пролиферации клеток. В процессе пролиферации клетки выделяют цитокины и хемокины. Такие цитокины как VEGF (vascular endothelial growth factor) приводят к ангиогенезу, т.е. разрастанию сосудов, что в свою очередь производит эффект локального перераспределения кровотока в пользу новообразования. В следствии ускорения прохождения G1 фазы митотического цикла, раковые клетки, зачастую сильно меньше обычных соматических клеток, что позволяет клеткам дрейфовать в кровотоке или в лимфотоке и оседать в различных органах образуя метастазы. Злокачественные новообразования мешают нормальному функционированию органов перераспределяя локальные кровотоки, сдавливая функционирующие части органов,

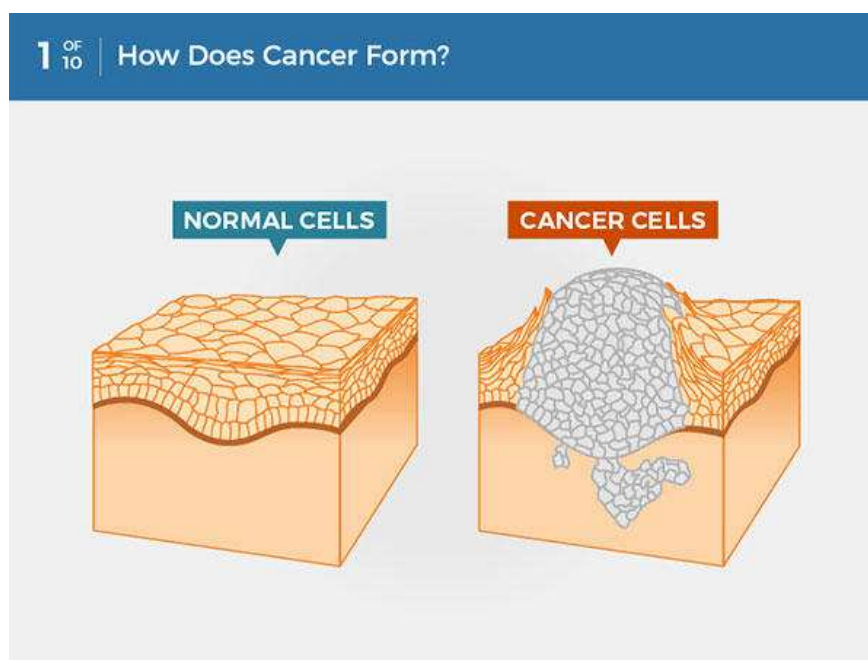


Рис. 1. Сравнение обычной ткани и раковой опухоли [www.cancer.gov]

влияя на соматические клетки через цитокиновые системы и систему интерлейкинов.

Химические соединения имеют важную роль в мутагенезе и онкогенезе. Например, сигаретный дым содержит канцерогены приводящие к раку легких. Химические соединения с канцерогенными свойствами влияют на цитоплазму и ядра клеток, что приводит к генетическим нарушениям и мутациям. Вирусы, бактерии и радиация - тоже являются причинами возникновения рака [3] Некоторые белки ответственные за пролиферацию клеток в обычном состоянии в следствии мутаций могут стать онкогенами. При недостатке генов опухолевой супрессии такие мутации приводят к неконтрольному клеточному делению. В норме существует более 30 белков, ответственных за репарацию ДНК. Например удаление урацила из ДНК защищает молекулу от повреждений полученных от воздействия ультрафиолета.

1.1.1 Диагностика раковых опухолей

Онкологические заболевания, в первую очередь, диагностируются методами дифференциальной диагностики. Постановка диагноза требует про-

ведения лабораторных исследований образцов жидкости (кровь, моча, спинномозговая жидкость, церебральные жидкости) и образцов пораженной ткани (биопсия). В жидкостях проводится поиск биомаркеров опухолей [4]. Визуализация злокачественных новообразований основана на методах компьютерной томографии (КТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ), ультразвукового сканирования (УЗИ), позитрон-эмиссионной томографии, радиографии и рентгеновского сканирования.

Компьютерная томография является, по сути, более развитой версией рентгеновского сканирования. В программных комплексах сводятся в трехмерную картину серии рентгеновских снимков полученных в различных плоскостях. Для увеличения контрастности снимков используется контрастный краситель вводимый внутривенно. Компьютерная томография позволяет визуализировать опухоли в большинстве тканей. Разрешение метода не всегда позволяет визуализировать метастазы.

Магнитно-резонансная томография - метод визуализации внутренних органов и тканей, основанный на явлении ядерного магнитного резонанса. Атомы водорода помещенные в сильное внешнее магнитное поле выстраивают свой магнитный момент "по полю" и при внесении возмущения в направлении спина переходят в возбужденное состояние. При релаксации происходит рассеивание энергии возбуждения в виде электромагнитного излучения. Сканер МРТ визуализирует распределения этой энергии. И в следствии наличия различий при прохождении электромагнитного излучения в разных тканях, появляется возможность дифференцировать ткани, обнаруживать локальные девиации плотности тканей, визуализировать потоки и тепловые выделения катаболических реакций. МРТ позволяет выявить как опухоль так и метастазы.

Ультразвуковое исследование основано на распространении волны частотой от 2 до 29 МГц. В тканях организма волны распространяются согласно законам геометрической оптики с различными коэффициентами преломления и поглощения для различных тканей. Это свойство позволяет визуализировать субмиллиметровые объекты

1.1.2 Противораковая терапия

Терапию рака можно разделить на инвазивные и неинвазивные методы. Хирургическое удаление опухоли не всегда приводит к полному выздоровлению, период ремиссии после удаления некоторых опухолей может составлять года и в некоторых случаях десятилетия. Радиологическая терапия сводится к удалению опухоли и метастаз сфокусированным излучением [5]. Технология Кибер-нож позволяет сфокусировать гамма излучение в точке объемом 1mm^3 [6]. Большая поглощенная доза в короткий промежуток времени выжигает малый объем опухоли, оказывая при этом малое воздействие на окружающие ткани. Метод использовался первоначально для терапии новообразований в мозге. В последних разработках были произведены модификации, позволяющие работать с подвижными органами (легкими, сердцем, кишечником) [7]. При необходимости длительного воз-

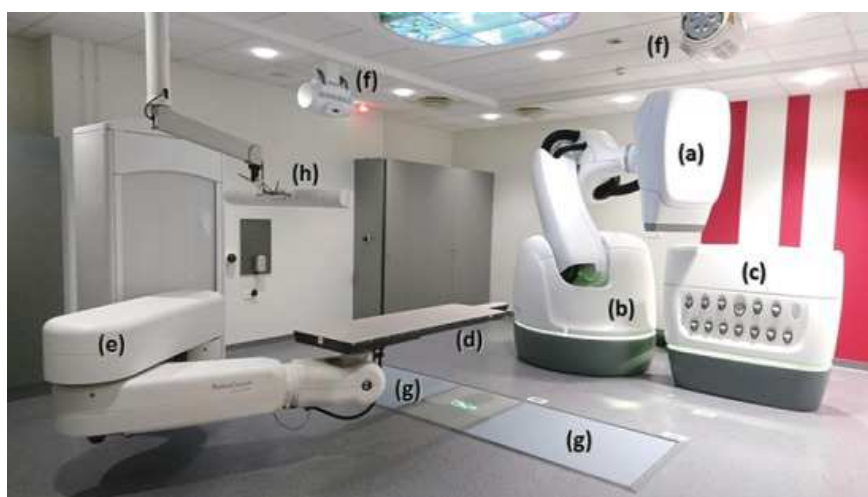


Рис. 2. Элементы системы Кибер-нож А.6-МВ ускоритель рентгеновских лучей b. Роботизированный манипулятор с. Набор коллиматоров d. Кушетка пациента e. Второй роботизированный манипулятор f. 2кВ рентгеновский излучатель для имаджинга g. планарные детекторы рентгеновского излучения h. камера для отслеживания дыхания и движений пациента [5]

действия на опухоль, используется таргетная терапия про которой в опухоли либо вводится радиоактивный изотоп напрямую (брахитерапия) либо через кровоток вводится радиофармпрепарат (РФП), который проектируется таким образом чтобы селективно связываться с опухолевыми клетками. Проблема этих методов в побочном облучении получаемом здоровыми

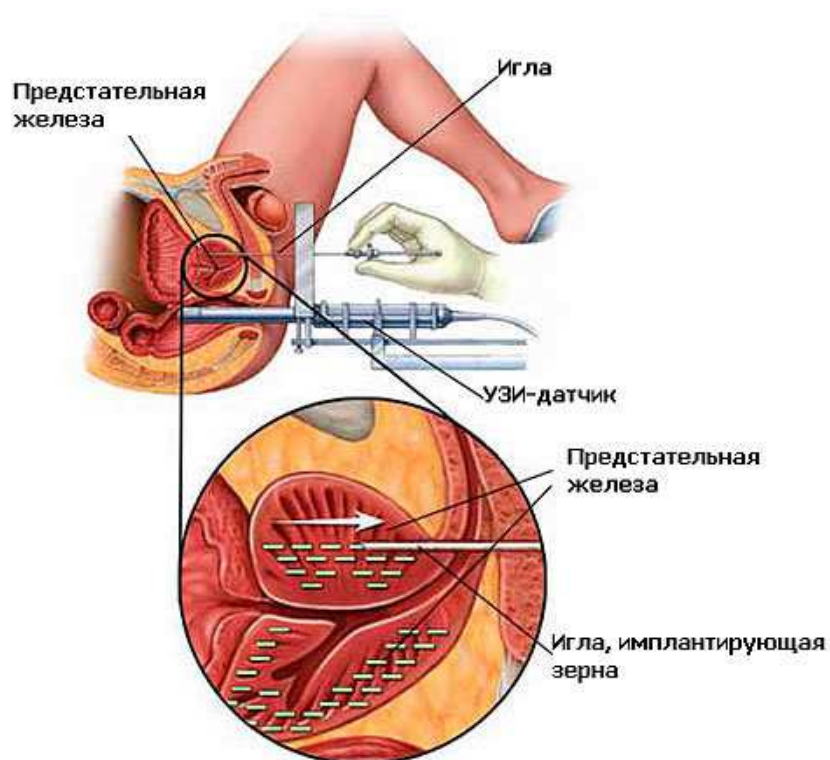
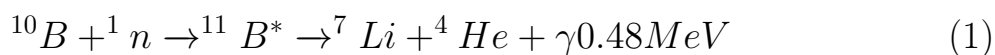


Рис. 3. Брахитерапия рака простаты

тканями и общим увеличением поглощенной дозы организмом. При проектировании РФП необходимо точно знать природу опухоли, определить ее биомаркеры. Т.е. для каждого типа опухоли (даже в рамках одних клеточных культур биомаркеры могут быть разные) необходим свой препарат. Бор-нейтрон захватная терапия (БНЗТ) - метод лечения основанный на способности захвата ядром бора нейтрона с последующим распадом и выделением гамма кванта.



Метод ограничен необходимостью разработки РФП переносчиков бора видоспецифичными для различных опухолей и необходимостью постройки источников тепловых нейтронов, либо использованием стационарных циклотронов крупных физических научных центров. На данный момент в клинике широкое распространение получили два бор-содержащих препарата L-борфенилаланин и боркаптат. На данный момент метод используется небольшим числом стран (Китай, Финляндия, Япония) [8]

Исследователи занимающиеся ДНК-оригами предполагают два направле-

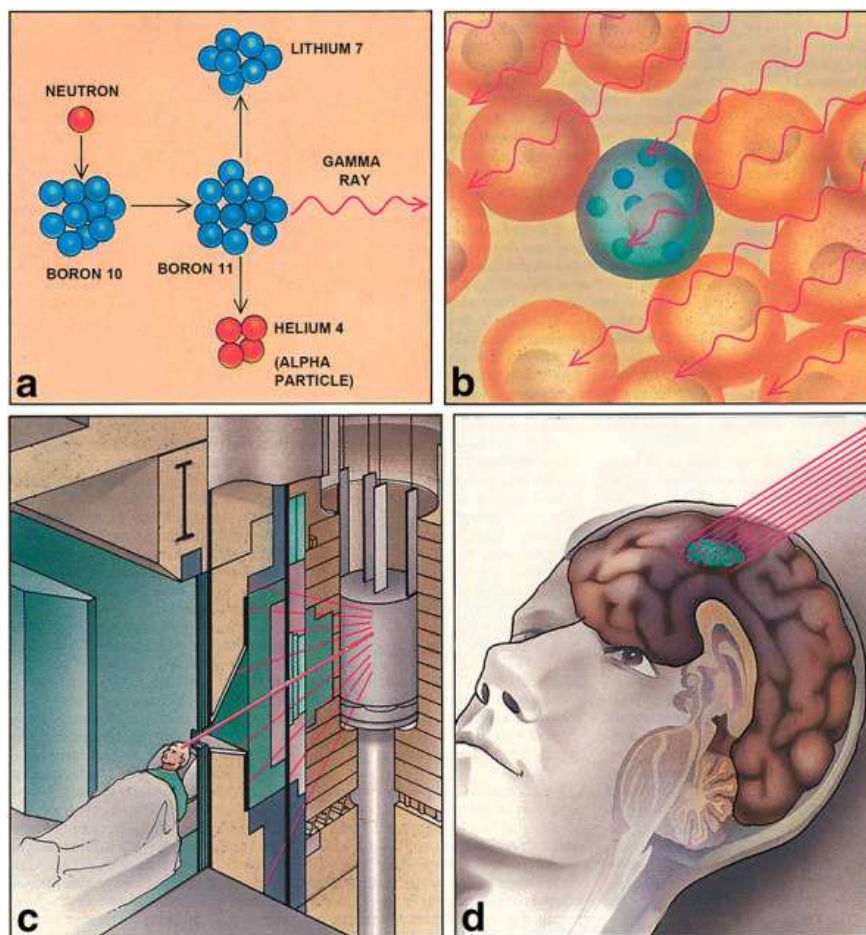


Рис. 4. Бор-нейтрон захватная терапия [8]

ния терапии рака. Во-первых нуклеотидные молекулы, сложенные по принципу оригами можно использовать как доставщики фармпрепаратов к опухоли. Непосредственно в опухоли молекула "раскрывается" под воздействием, либо специфических для опухоли биомаркеров, либо методами фотосенсибилизации и препарат высвобождается [9]. Во-вторых ДНК-оригами можно "раскрывать" в кровотоке непосредственно в злокачественном образовании тем самым эмболизировать опухоль и прекращать метаболизм. [10]

Нобелевская премия в области физиологии и медицины 2018 года была выдана за открытия в иммунотерапии рака Джеймсу П. Алисону и Тасуку Хондзё. Исследователями был открыт механизм выключения ингибирования опухолевыми клетками иммунного ответа. На основе разработок ученых был произведен препарат ипилимумаб - антитело блокирующее CTLA-4 (мембранный рецептор лимфоцитов). Рецептор PD-1 на мембранах лимфоцитов также оказывает супрессорное действие на иммунные клетки.

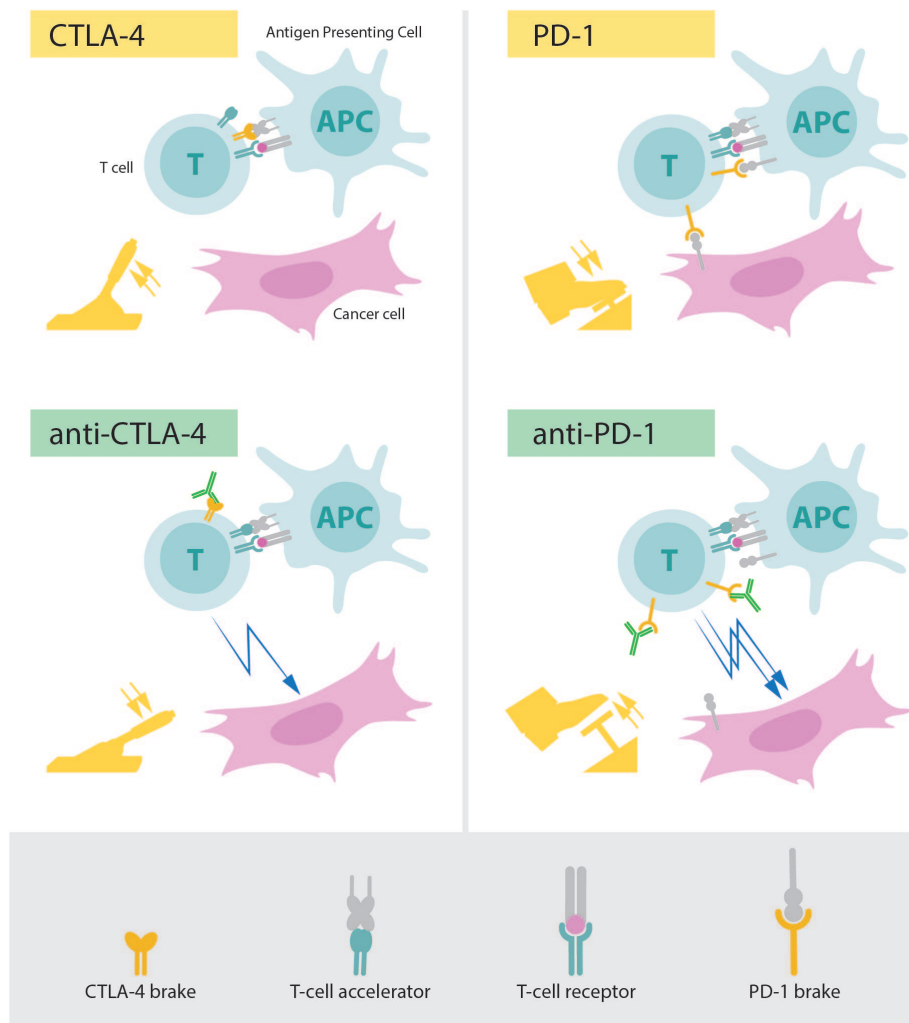


Рис. 5. Сверху слева: Активация Т-лимфоцитов антиген-презентирующими клетками требует ингибирования активным CTLA-4 комплексом. Снизу слева: Антитела к CTLA-4 блокируют ингибирующий комплекс и лимфоцит атакует раковые клетки. Справа изображен схожий механизм для PD-1 ингибирования[<https://www.nobelprize.org/>]

Препарат ниволумаб способен ингибировать этот рецептор и запускать иммунную реакцию по отношению к раковым опухолям.

1.2 Глиобластома

Глиобластома - наиболее часто встречающаяся опухоль центральной нервной системы у взрослых. Среднее время выживания 12-15 месяцев [11], сильно зависит от срока постановки диагноза и полученной терапии. Только 5 процентов пациентов выживают в 5 летний период после постановки

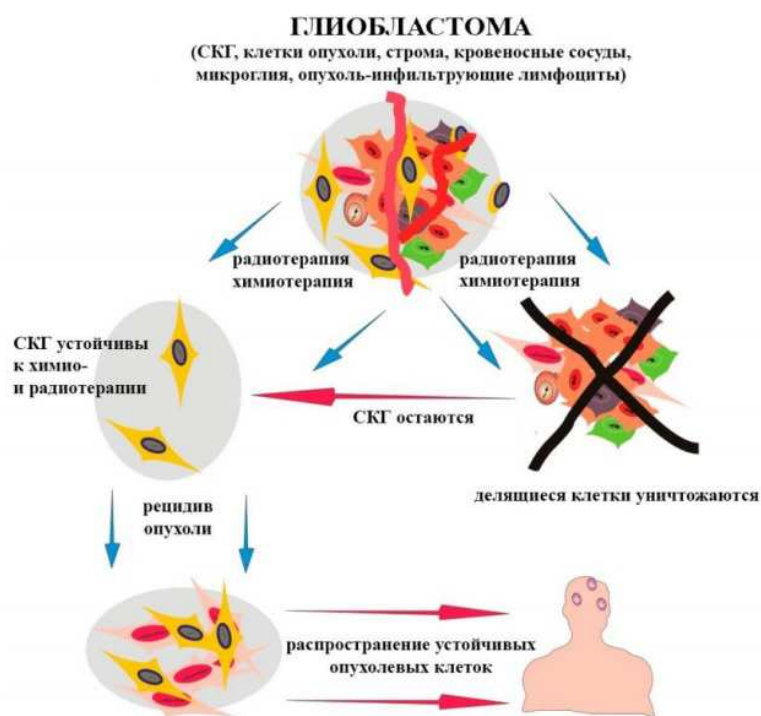


Рис. 6. Свойства глиобластомы и ее поведение при химио- и радиотерапии [12]

диагноза. Отличительные особенности глиобластомы - высокий уровень локальных повреждений и диффузное проникновение в окружающие ткани мозга, сильная геномная нестабильность, активная пролиферация, взрывной уровень ангиогенеза, устойчивость к апоптозу и тенденция к некрозам. [13] В совокупности эти свойства приводят к высокому уровню рецидивов, низкому терапевтическому эффекту и высокой смертности. Хирургическое вмешательство не приводит к излечению глиобластомы, даже при тотальном уровне резекции с последующей радиотерапией, совмещенной с химиотерапией. Одной из главных причин проблем терапии глиобластомы - ее гетерогенность. Было показано что в рамках одной опухоли могут сосуществовать различные субпопуляции клеток, каждая из которых требует специфичное лечение. На уровне этапе визуализации эти субпопуляции обладают различными друг от друга свойствами затрудняющими правильную визуализацию и точную локализацию опухолей и метастаз. [11] В течении последнего десятилетия с помощью технологий биоинформатики было проведено генотипирование различных субпопуляций клеток глиобластомы. Были собраны гистологические молекулярные карты позволяю-

щие диагностировать диффузные глиомы. В 2016 году ВОЗ выпустил консенсус для более точного установления диагноза глиомы. С этого момента некоторые когорты пациентов получили возможность получать таргетное лечение.

1.3 Астроциты

Астроциты - самые распространенные клетки глиальной ткани обеспечивающие протекание ключевых процессов центральной нервной системы. Астроциты участвуют в формировании гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), Астроциты - динамичные и подвижные клетки. Современные исследования показывают что астроциты являются зоно-специфичными клетками с индивидуальными патологическими свойствами. [14] Астроциты подвергаются интенсивной матурации в процессе развития. Изменяясь от слабо дифференцированных клеток до подвижных и динамичных либо массивных и разветвленных структур. Динамическое перестроение цитоскелета и мембранных структур играют важную роль в связности клеточных структур, обеспечению проводимости сигналов и обеспечению общего состояния. Нарушения в физиологических процессах астроцитов приводят к появлениям патологических состояний. [15] Исследования на животных показывают что взаимодействие астроцитов и синаптических контуров многоуровневое и мультимодальное, происходящее под различными физиологическими состояниями, влияют на поведение. Астроциты экспрессируют спектр рецепторов, транспортеров позволяющих им реагировать на множество нейромедиаторов, цитокинов, простагландинов, сигналов связанных с изменением концентраций ионов, рН, иммунного и окислительно-восстановительного состояний. Астроциты обладают машинерией способной производить большое количество молекул, таких как : глутамат, НМДА агонист D-серин, АТФ, аденозин, лактат и т.д. Продукты астроцитов участвуют в формировании синапсов, прунинге, и обзих процессах связанных с нейропластичностью. [17]

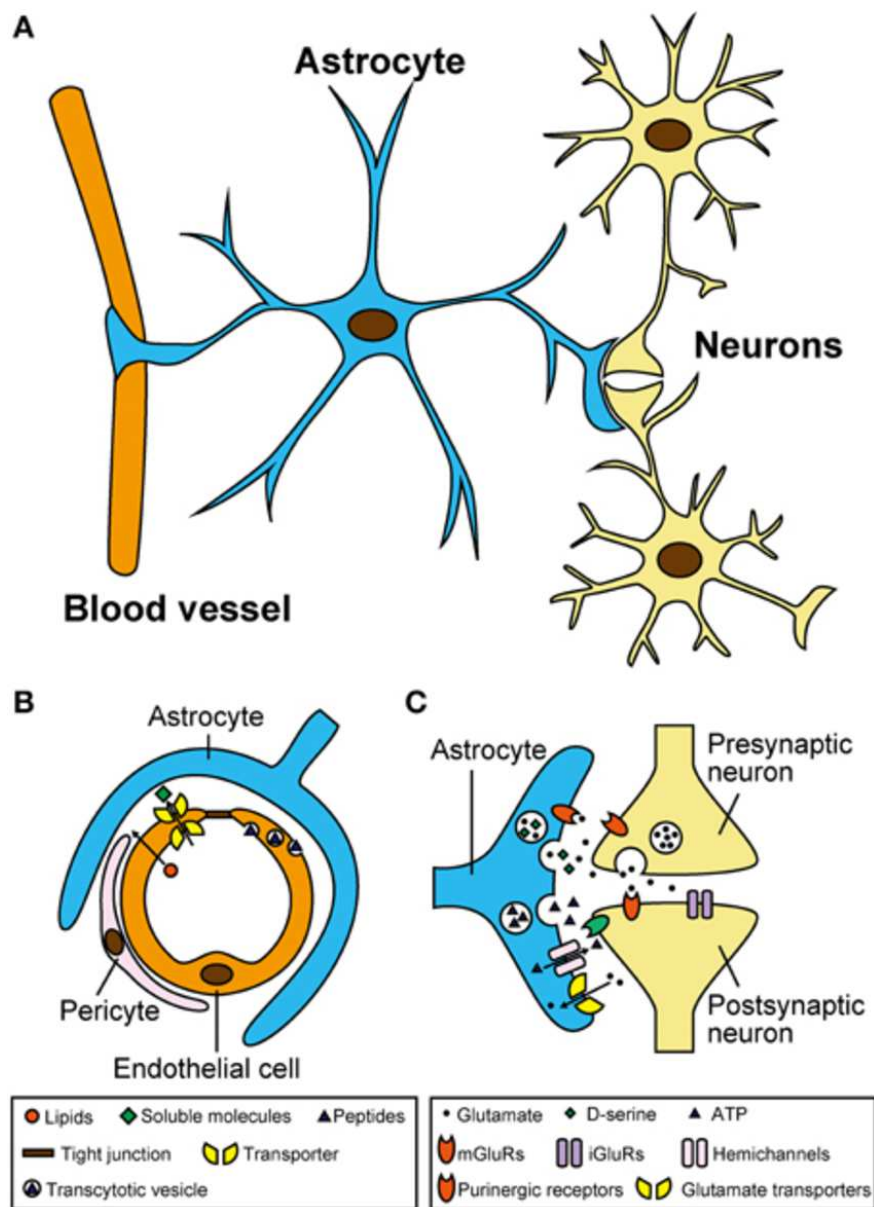


Рис. 7. Связь астроцитов с капиллярами и нейронами [16]

1.4 Рецептор эпидермального фактора роста

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) - рецептор белковой природы, присутствующий на мембранах практически всех клеток. Агонидами EGFR являются несколько классов веществ - факторы роста, пирогены, интерлейкины. При активации рецептора, запускаются различные каскадные сигнальные пути регулирующие рост, пролиферацию либо гибель клеток. Различные нарушения в структуре либо в экспрессии гена EGFR приводят к активной пролиферации клеток и в следствии формировании злокачественного образования. Повышение уровня экспрессии EGFR

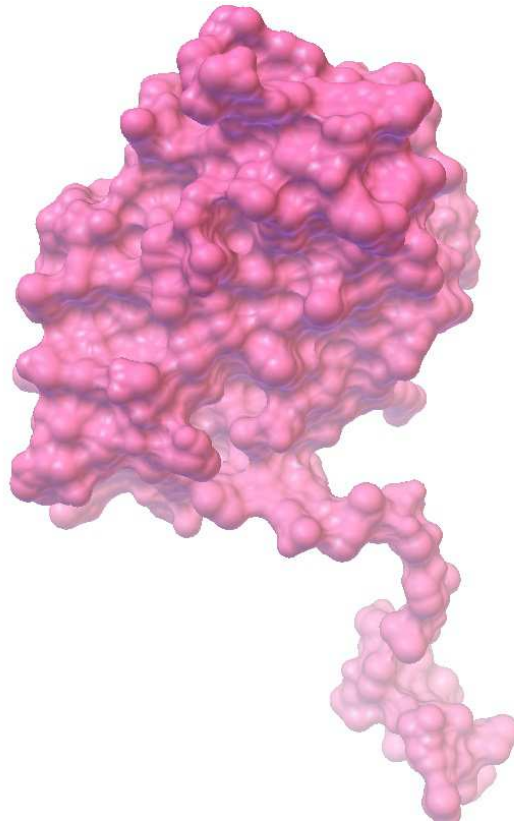


Рис. 8. EGFR [RSCB PDB]

- свойство агрессивно развивающейся первичной глиобластомы. [18]

1.4.1 EGFR мутации

Мутации гена EGFR могут приводить как к повышенной экспрессии белка, так и к автоактивации рецептора. Автоактивация рецептора происходит без воздействия агониста, при этом запускаются каскадные сигнальные пути, активируются Тог- системы. Активация TOR-системы приводит к пролиферации опухолевых клеток, росту опухоли, активному ангиогенезу и метастазированию. Ингибиторы EGFR: gefitinib (иресса), erlotinib (тарцева) и afatinib (гиотриф) показали себя как перспективные фармакологические противоопухолевые препараты. Эти ингибиторы тирозинкиназы (ключевого фермента сигнального пути) достаточно небольшие молекулы, которые захватываются раковыми клетками - и останавливают сигнальный каскад. Активирующие мутации гена EGFR могут как определять чувствительность опухолевых клеток к ингибиторам тирозинкиназ - Del19, L858R, G719X, L861Q, S768I, так и наоборот, устойчивость к ним

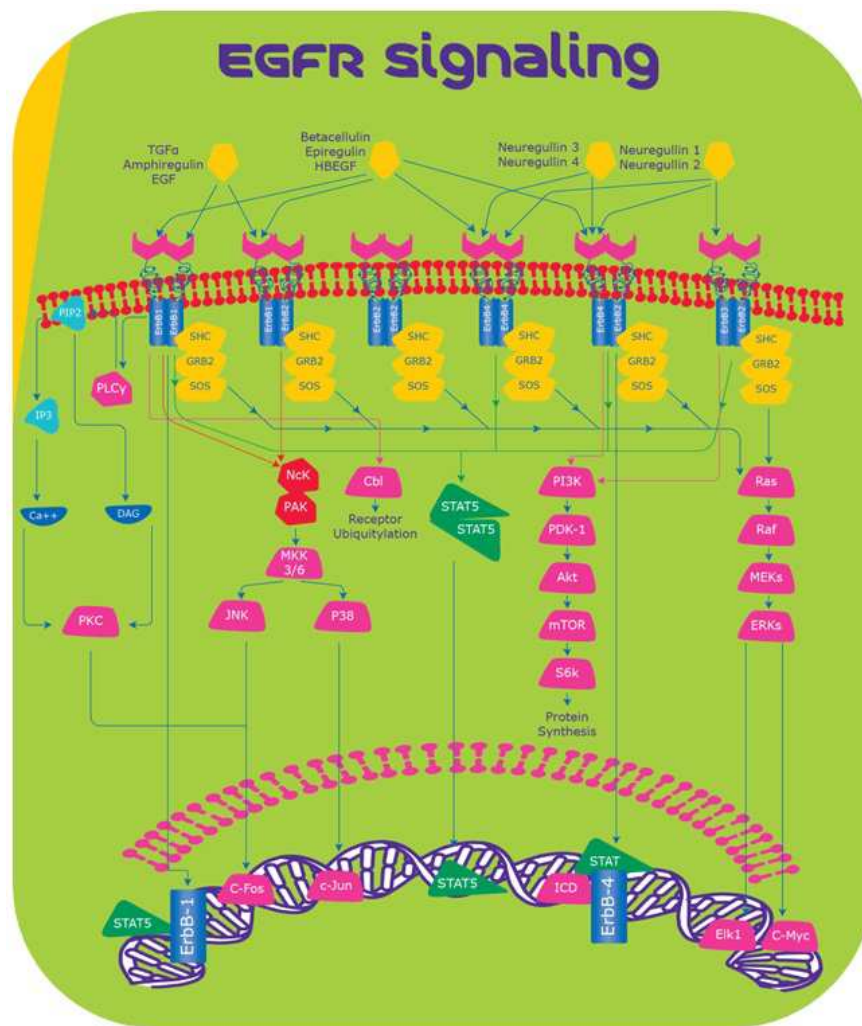


Рис. 9. EGFR пути регуляции

- Ins20, T790M. При проведении таргетной терапии необходимо провести проверку на мутацию T790M, данная мутация связана с появлением резистентности к ингибиторам тирозинкиназ. В случае выпадения экзонов со 2 по 7 в гене EGFR наступает мутация EGFRv3, которая приводит к онкогенезу, усиливает пролиферацию, подвижность и устойчивость к химиотерапии. [11] [19]

1.5 Позитрон-Эмиссионная томография

Позитрон-эмиссионная томография (ПЭТ) наиболее чувствительный и специфичный метод имаджинга молекулярных взаимодействий и путей метаболизма для человека, основанная на возможности некоторых радиоактивных атомов испытывать позитронный бета распад.



Выделившийся позитрон при взаимодействии с электроном аннигилирует с выделением двух гамма квантов с энергией 0,511кЭв



Фотоны, выделившиеся в результате аннигиляции, согласно закону сохранения импульса разлетаются по одной оси в противоположных направлениях. Синхронные вспышки фотонов детектируются фотоумножительными установками и в дальнейшем обрабатываются для визуализации полученных данных.

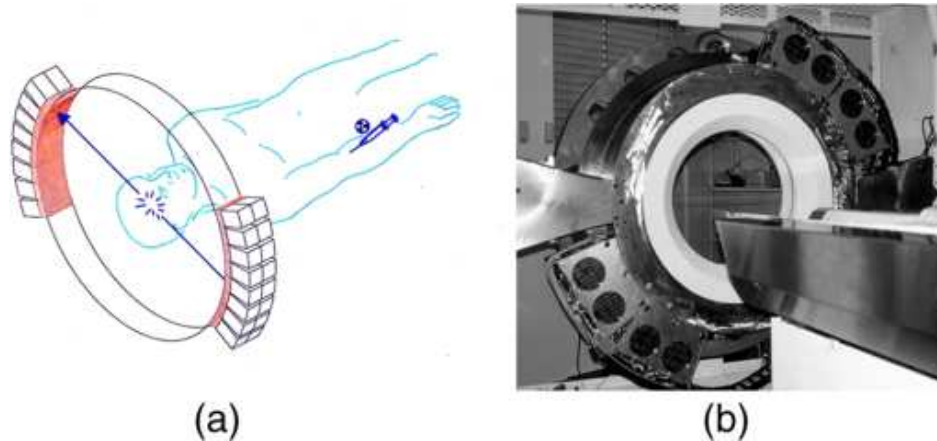


Рис. 10. Излучение аннигиляции а. Симметричное распределение фотонов регистрируется вращающимся сканером б.Вращающаяся ПЭТ установка [20]

Специфичность метода основывается на широком спектре радионуклидов испытывающих позитронный бета распад, которые используются как радиометки специфичных биомаркеров без нарушения их биологических функций. Излучение от меченных трасеров, так же является специфичным и отличается по своим характеристикам от фонового. Главные факторы, которые необходимо учитывать - комптоновское рассеяние, которое меняет направление первоначального позитрона и поглощение фотонов тканями. Чувствительность ПЭТ метода основанна на двух составляющих, во первых - возможность произвести радиометку с высокой удельной активностью на грамм, во вторых - способность детектировать и локализовать

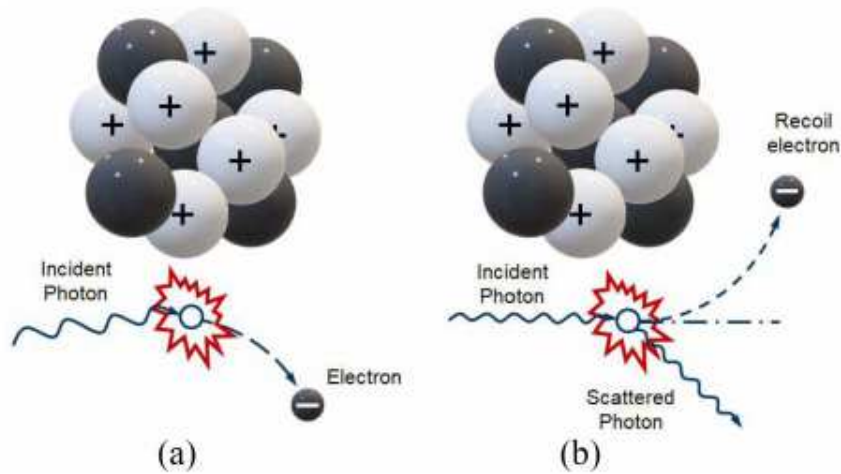


Рис. 11. Взаимодействие ПЭТ с тканями а. Фотоэлектронное поглощение б. Комптоновское рассеяние [21]

испускающее позитрон ядро с помощью подсчета спаренных фотонов испущенных в следствии аннигиляции позитрона с электроном. Временное разрешение метода позволяет избежать механических (например вращение опоры излучателей рентгеновских лучей в КТ) и электромагнитных (таких как пульсации сигнала в МРТ) временных ограничений. К проблемам метода относится ограничение активности РФП допустимой для введения пациентам. [21] ПЭТ можно использовать для проведения измерений плотностей распределения рецепторов и аффинности молекулярных структур. Метод используется при исследовании расстройств психиатрического спектра и позволяет измерить уровень нейродеградации при нейродегенеративных заболеваниях. Трасеры основанные на ^{11}C показали снижение активности ацетилхолинэстеразы в кортексе, амигдале и гиппокампе при заболевании Альцгеймера, показали сильные разрушения в тельцах Леви при болезни паркинсона. [22] Современные ПЭТ установки прошли путь развития от планарных сдвоенных детекторов, до массивов из детекторов совмещенных с компьютерной томографией КТ и магнитно-резонансной томографией МРТ.

1.6 Радиофармакология

Радиофармакология - раздел фармакологии использующей в составе фармпрепарата короткоживущий радиоактивный изотоп. Излучение происходящее в ходе распада радиоактивного изотопа используется в терапевтических целях, угнетая окружающие ткани, либо для диагностики, помогая визуализировать области повышенной концентрации радиоактивного препарата [20].

Технологической основой радиофарм производства можно считать медицинский циклотрон. Где под воздействием пучка протонов происходит облучение прекурсора и превращение его в радиоактивный изотоп. Длительное время основными изотопами производимыми на циклотронах были Йод-131, Молибден - 99, Фтор-18, Углерод-11. На данный момент, в связи с работками в области физики расплавов, стали доступны изотопы Галлия-68, Иттрия-86, Цинка-63 и Циркония-89 и Технеция-99м. [23]

Современная фармакология активно использует пептидные препараты в виду их способности селективно связываться с различными мембранными или немембранными рецепторами. Высокая селективность пептидных препаратов используется в радиофармакологии. На данный момент существуют технологии мечения пептидов радиоизотопами Фтора-18, Углерода-11, Галлия-68 и Меди-64. [24] Для проникновения радиофармпрепарата РФП

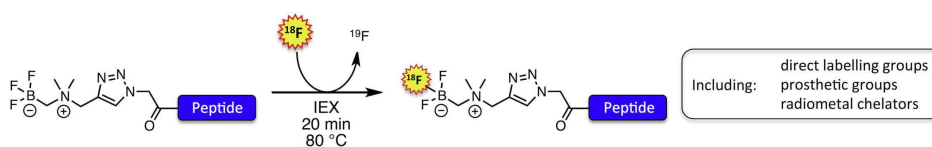


Рис. 12. Схема мечения пептида радиоизотопом Фтор-18 по технологии IEX [24]

через гематоэнцефалический барьер ГЭБ применяются антитела аффинные к рецептору трансферина Tfr. [25] Использование радиофармпрепаратов - регулируемая законодательством область находящаяся под действием Норм радиационной безопасности НРБ-99. Процесс изготовления радионуклидных препаратов начинается с письменной заявки работника медицинской организации. Препарат изготавливается в строгом соответствии с назначением лечащего врача, обязательно внесенным в медицинскую до-

кументацию пациента. По Российскому законодательству дозовая нагрузка при проведении ПЭТ взрослому человеку составляет 550 МБк. Фактически, уровень не превышает 200 МБк. Медицинские центры использующие РФП проектируются в соответствии с нормами радиационной безопасности. Время содержания пациентов в таких центрах обуславливается как терапевтической так и радиационной составляющими. Не допускается контакт пациентов, получивших РФП, с посетителями медицинского центра и с персоналом не участвующем непосредственно в процедурах. Канализация проектируется таким образом, чтобы был обеспечен сбор жидких радиоактивных отходов в отстойниках с недопущением попадания высоко-радиоактивных отходов в окружающую среду.

1.7 Моделирование *in silico*

При исследовании живых систем *in vivo* есть ограничения как этические так и физические. Если на органном и системном уровнях исследования возможно проводить на модельных организмах (*caenorhabditis elegans*, *danio rerio* и т.д.), то на молекулярном и клеточном уровнях исследования, длительное время, было принято проводить *in vitro*. В последнее десятилетие компьютерное моделирование достигло высоких уровней развития в различных областях науки. В биологии такое моделирование получило обозначение *in silico* (лат. в кремнии). Подход *in silico* многоуровневый и включает в себя задачи моделирования молекулярной механики, протекания биохимических процессов либо системному функционированию. Методы *in silico* разделяются на следующие группы:

- Биоинформатика — методики анализа биологических текстов
- Гомологичное моделирование — определение структур белка на основе гомологий
- Молекулярный докинг — изучение взаимодействий лиганд-рецептор или фермент-субстрат

- Эволюционная биология — поиск эволюционных связей на различных уровнях
- Молекулярная эволюция — развитие простых молекулярных систем в более сложные [26]

2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объект исследования

2.1.1 Фенинтен

Объектом исследования является трипептидный агонист рецептора ЕГФР (2R)-2-(1-оксо-1,3-дигидро-2H-инозидол)-2-фенил-N-(1,3-тиазол)ацетамид (фенинтен) и возможные его соединения с атомарным фтором.

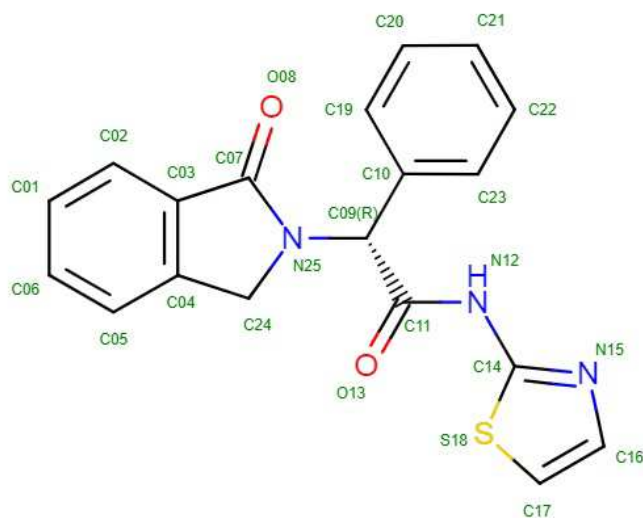


Рис. 13. 2D структура
(2R)-2-(1-оксо-1,3-дигидро-2H-инозидол)-2-фенил-N-(1,3-тиазол)ацетамида
(фенинтена)

| | |
|---------------------------|-----------------------|
| Стехиометрическая формула | $C_{19}H_{15}N_3O_2S$ |
| Молекулярная масса | 349.4063 а.е.м |
| Площадь поверхности | 4239,798 Å^2 |
| Дипольный момент | 2,817 Дебай |
| Градиент RMS | 29,5 ккал/А*моль |
| Энергия Гиббса | -95286,6 ккал/моль |

Таблица 1. Физико-химические параметры фенинтена

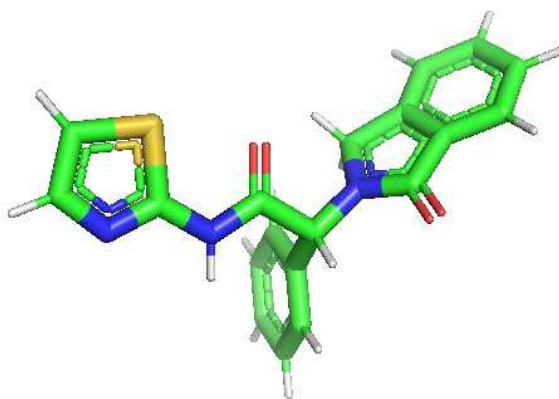


Рис. 14. Нативная структура фенинтена

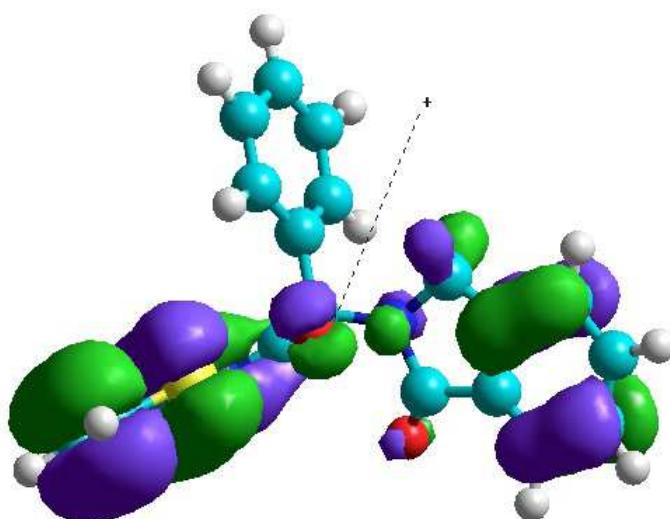


Рис. 15. Валентные электронные плотности фенинтена

2.2 Методы исследования

2.2.1 Квантово-химическое моделирование

Квантово-химическое моделирование - построение математического описания системы, основанное на фокусе на главных свойствах моделируемого объекта [27]. В зависимости от целей исследования набор свойств объявленных главными может варьировать. В достаточном описании квантово-химической модели необходимо учитывать ряд Физических явлений: взаимодействие электронов между собой [28], образование Куперовских пар [29], движение электронов в поле ядер, релятивистские эффекты [30], квантовые эффекты, спиновые, электро-механические деформации, резонанс-

ный перенос энергии [31]. Одновременное вычисление перечисленных эффектов представляется сложной вычислительной задачей. Поэтому эффекты ранжируются по степени важности. Первоначальной задачей ставится формирование иерархии математических моделей, учитывающих наиболее важные эффекты. Построение моделей идет от более простой (шарики и палочки в школьных наборах химии), но отражающей пространственную характеристику вещества, к комплексным, динамическим моделям. Полученные квантово-химические математические модели веществ развиваются в сторону физического реализма. Модели учитывают сольватное окружение [32], pH среды [33], наложение внешних электрических полей [34] и т.д. При построении квантово-химической модели изолированной молекулы используется нерелятивистское стационарное уравнение замечательного австрийского физика -теоретика Шредингера в приближении не менее замечательных физиков Борна-Оппенгеймера

$$\hat{H}\Psi(r) = E\Psi(r) \quad (4)$$

где $\Psi(\mathbf{r})$ - волновая функция (зависит от координат всех электронов системы), \hat{H} - нерелятивистский Гамильтониан (антиплагиат уверен что я должен придумать другое название Гамильтониану) молекулы. Эта модель не учитывает ряд релятивистских эффектов, но учитывает взаимное отталкивание электронов и притяжение электронов к ядрам. Полученные решения *ab initio* (лат. - с начала) дают неплохие результаты в молекулярной динамике. Модель можно развить изменяя Гамильтониан, внося в него квантовые поправки, учитывая движение ядер, эффекты сольватации. В приближении Хартри-Фока [35] модель некоторым образом упрощается заменой многоволновой функции произведением одноэлектронных функций. На данный момент существует широкий спектр методов как *ab initio*: HF, CI, CC, MPT, MCSCF, CASSCF, MRC так и полуэмпирических: ZDO, CNDO, INDO, ZINDO, NDDO, MNDO, AM1, PM3 и т.д. [36]

2.2.2 Динамика Ланжевена

Динамика Ланжевена разработана как дискретизация стохастического дифференциального уравнения чье равновесное распределение совпадает с постериорным. В молекулярной механике динамика Ланжевена позволяет моделировать сольватную оболочку.

При расчете больших массивов данных наиболее успешным классом алгоритмов является стохастическая оптимизация (алгоритм Роббинса-Монро). Эти алгоритмы обрабатывают небольшой объем данных за итерацию, обновляя параметры модели на шаг градиента расчетной функции. [37]. Каждый шаг обычный метод цепей Монте Карло Маркова требует обчета всего датасета. Тем не менее, Байесовские методы способны найти неустойчивые точки в исследуемых параметрах без переподгонки.

Пусть θ - определяет параметрический вектор, где $p(\theta)$ априорное распределение, и $p(x|\theta)$ - вероятность параметризации рандомного элемента данных x - θ . Постериорное распределение выбранных N элементов массива данных $X = \{x_i\}_{i=1}^N p(\theta|X)$. Каждую итерацию t , задается набор из n элементов данных $X_t = \{x_{t1}, \dots, x_{tn}\}$ и происходит перерасчет параметров:

$$\Delta\theta_t = \frac{\epsilon_t}{2} (\nabla \log p(\theta_t) + \frac{N}{n} \sum_{i=1}^n \nabla \log p(x_{ti}|\theta_t)) \quad (5)$$

где ϵ_t - последовательность размера шага. Главная идея метода в том что градиент высчитанный на подмножестве аппроксимируется к истинному градиенту всего множества. В множественных итерациях главный датасет используется в роли генератора шума. На больших датасетах данный метод позволяет сэкономить время вычислений. Условием сходимости к локальному максимуму становятся два требования для размера шага.

$$\sum_{t=1}^{\infty} \epsilon_t = \infty \quad \sum_{t=1}^{\infty} \epsilon_t^2 < \infty \quad (6)$$

Первое ограничение ведет к тому что параметр θ достигнет точного значения, независимо от постановки условий инициализации, второе ограничение приводит к сходимости мод вместо скачков вокруг зоны сходимости. Обычно размеры шага спадают полиномиально $\epsilon_t = a(b + t)^{-\gamma}$ где

$\gamma \in (0.5, 1]$ Один из классов цепей Монте Карло Маркова - Динамика Ланжевена, в нем к шагам градиента добавляется Гауссовский шум, что позволяет решению не свестись к локальным апостериорным максимумам. .

$$\Delta\theta_t = \frac{\epsilon}{2}(\nabla\log p(\theta_t) + \sum_{i=1}^N \nabla\log p(x_i|\theta_t)) + \eta_t \quad (7)$$

$$\eta_t \sim N(0, \epsilon) \quad (8)$$

Величина шага градиента и вариации вносимого шума сбалансированы так что варьируемая функция сходится апостериорно. Для уравнивания алгоритмов стохастического градиента и динамики Ланжевена необходимо скомбинировать оба приближения. Это позволит эффективно использовать большие датасеты и при этом вычислять искомые параметры Байесовскими методами. Приближение использует стохастические градиенты Роббинса-Монро, добавляет Гауссов шум сбалансированный размером шага и позволяет размеру шага стремиться к нулю. Приближение можно выразить в следующем виде:

$$\Delta\theta_t = \frac{\epsilon_t}{2}(\nabla\log p(\theta_t) + \frac{N}{n} \sum_{i=1}^n \nabla\log p(x_{ti}|\theta_t)) + \eta_t \quad (9)$$

$$\eta_t \sim N(0, \epsilon) \quad (10)$$

где размер шага стремится к нулю со скоростью удовлетворяющей условиям(5).

В моделировании квантово-механических систем важно применять условия, приближенные к реальным. Любая реальная система всегда находится в окружении: инертном или сольватном. Молекулярная Динамика Ланжевена позволяет добавить в систему сольватную оболочку без гидродинамических взаимодействий. Пусть система состоит из N частиц массами M расположенных по координатам $X=X(t)$, для такой системы уравнение Ланжевена можно выразить как:

$$M\ddot{X} = -\nabla U(X) - \gamma M\dot{X} + \sqrt{2M\gamma k_b T}R(t) \quad (11)$$

Где $U(X)$ - потенциал взаимодействия частицы, γ - константа понижения, T -температура, $R(t)$ - Гауссов шум удовлетворяющий условиям $\langle R(t) \rangle = 0$

$\langle R(t)R(t') \rangle = \delta(t - t')$. В пределе Динамика Ланжевена сводится к Броуновской динамике [38].

2.2.3 Метод модифицированного пренебрежения дифференциальным перекрытием (MNDO)

При расчете квантово-механических моделей в программном комплексе HyperChem 8.0.8. был задействован MNDO - метод.

В целях улучшения производительности используются полуэмпирические методы представляющие из себя версии приближения Хартри-Фока включающие данные полученные империческим путем. В MNDO методе, Гамильтониан элемента находящегося между атомными орбиталями i и j принимает вид

$$H_{ij}^{core} = U_{ij}\delta_{ij} + \sum_{B \neq A} [V_{ij,B}^S + V_{ij,B}^F] \quad (12)$$

Где U_{ij} энергия единичного электрона i -ой орбитали, δ_{ij} - символ Кронекера, $V_{ij,B}^S$ - притяжение ядро-электрон между распределенным ij зарядом и ядром B , $V_{ij,B}^F$ "Фейнмановская" коррекция, принимает вид:

$$V_{ij,B}^F = \langle B | ij \rangle = k_B Z_B \int \frac{p_{ij}}{r_{Bp_{ij}}^7 + r_{BJ}^7} \quad (13)$$

где p_{ij} - элемент матрицы плотностей (индексы i j относятся к атому $A \neq B$), k_A - настраиваемая Фейнмановская константа для элемента A , r_{BJ} - радиус затухания. [39] В MNDO методе выполняется параметризация трех переменных параметров k_A , r_{BJ} и α_A . Параметр α_A отражает межъядерный потенциал отталкивания A -го элемента. Межъядерный потенциал рассчитывается в модели точечных зарядов как:

$$E_{AB} = \frac{Z'_A Z'_B e^2}{R_{AB}} \quad (14)$$

где R_{AB} - межъядерное расстояние, Z'_A - эффективный заряд ядра. Общее уравнение для потенциала межъядерного взаимодействия в вычислительных системах приобретает вид

$$E_{AB} = Z'_A Z'_B e^2 \langle s_A s_A, s_B s_B [1 + F(A) + F(B)] \rangle \quad (15)$$

Где $\langle s_{AS_A}, s_{BS_B}[1 + F(A) + F(B)] \rangle$ - интеграл электрон-электронного отталкивания, $F(A)$ и $F(B)$ - атом-специфичные функции.

$$F(A) = \exp^{-\alpha_A R_{AB}} \quad (16)$$

Ограничения MNDO метода в невозможности учесть водородные связи и планарной ориентации атомов азота, рассчитываемых методом. Необходимо учитывать что в параметризации метода все термодинамические поправки сводятся к энтальпии при 300К. Так же если параметризация опирается на экспериментальные данные, полуэмпирические методы "скрывают" электронные эффекты корреляции. Если, конечно физика твердого тела включила в процедуру параметризации переходные и возбужденные состояния элементов системы.

2.2.4 Алгоритм Полак-Рибье

Полак-Рибье-Поляк (Polak–Ribière–Polyak) - метод оптимизации нелинейных бесконечных массивов использующий алгоритм сопряженных градиентов [40]. Общую задачу оптимизации можно выразить как:

$$\min_{x \in R} (f) \quad (17)$$

где искомая функция $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}$ не обязательно выпуклая, но при этом дифференцируемая на всем заданном интервале. Метод сопряженных градиентов генерирует последовательность точек $\{x_j\}_{j \geq 0} \subset \mathbb{R}^n$ используя как точку старта предположение $x_0 \in \mathbb{R}^n$. Следующая исследуемая точка x_{j+1} генерируется по следующей формуле:

$$x_{j+1} = x_j + \alpha_j d_j \quad (18)$$

Где d_j - направление падения $f(x_j)$, а $\alpha_j \in \mathbb{R}^+$ - длина шага с учетом условия $f(x_{j+1}) \leq f(x_j)$. Для избегания сваливания в локальные минимумы применяется внесение стохастических возмущений. Генерируется новая последовательность $\{X_k\}_{k \geq 0}$ где $X_0 = x_0$

$$X_{k+1} \in \arg(\min\{f(Y_k^i), i = 0, \dots, m\}) \quad (19)$$

$$Y_k^i = \begin{cases} \mathcal{G}(X_k) & \text{for } i = 0 \\ \mathcal{G}(X_k) + \mathcal{P}_k^i & \text{for } i = 1, \dots, m \end{cases} \quad (20)$$

где $\mathcal{G}(X_k)$ - точка полученная несколькими итерациями процедуры (18), \mathcal{P}_k^i - стохастические возмущения. В общем виде стохастические возмущения подчиняются распределению Гаусса [41].

2.2.5 Метод молекулярного докинга

Молекулярный докинг - ключевой инструмент структурной молекулярной биологии и *in silico* драг дизайна. Целью лиганд-белкового докинга является предсказание наиболее вероятных состояний связывания лиганда и трехмерной структуры белка. Успешные методы докинга работают в многомерном пространстве, эффективно используют скоринговые функции и корректно ранжируют возможные конформации докинга. Докинг можно использовать для выполнения виртуального скрининга больших библиотек веществ, ранжируя результаты и представляя гипотезу пути активации/ингибирования белковой молекулы. [42]

Метод молекулярного докинга является связующим методом драг дизайна. В общем виде драг дизайн объединяет ряд методов: Скрининг, профайлинг цели, рационализация взаимодействия, предсказание воздействия, полифармакология, перепозиционирование докинга. Скрининг - идентификация веществ влияющих на молекулярные цели и оптимизация этих веществ. Профайлинг - предсказание возможности взаимодействия вещества с молекулярной целью, основанное на лиганд-рецепторной комплементарности. Рационализация - поиск структурных переменных необходимых для успешного связывания. Предсказание воздействия - понимание в какую сторону произведет воздействие связывания (активация/ингибирования) и оценка силы этого воздействия. Полифармакология - оптимизация фармпрепарата в необходимом для функционирования окружении (облатки) либо с добавлением фармпрепаратов используемых в терапии исследуемого заболевания но имеющим другие молекулярные цели. Перепозиционирование препарата - проверка возможности связываться с вновь открытыми

молекулярными целями ранее открытых препаратов. [43]

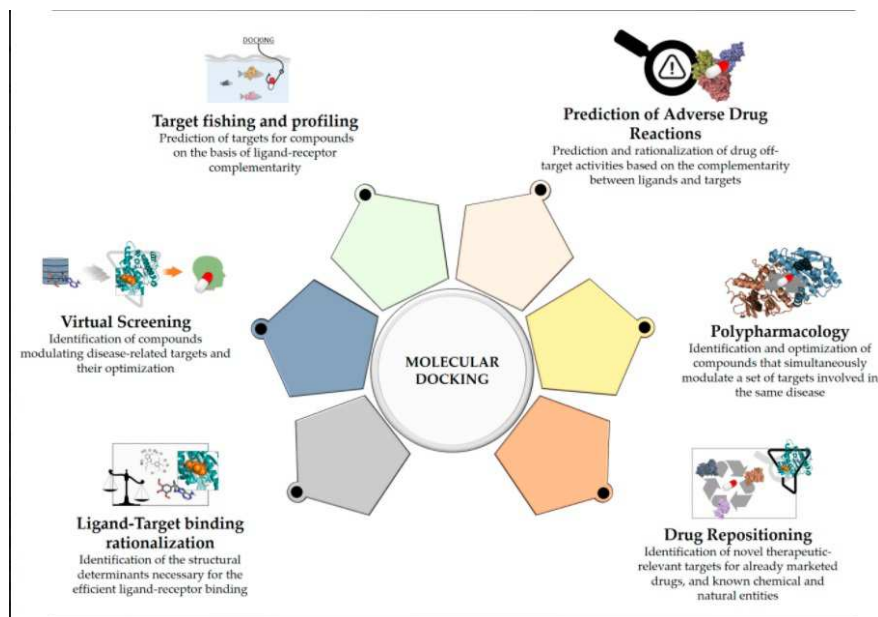


Рис. 16. Принципиальные основы Молекулярного докинга

Молекулярный докинг длительное время использовался как сольный метод. Но на данный момент принято интегрировать его в потоковые расчетные методы, такие как лиганд-базированные, структурно-базированные, ИИ. Это позволяет снять многие ограничения метода. В частности, лиганд-базированные приближения позволяют улучшить точность докинга с помощью сравнения предсказанной модели докинга и экспериментально установленных структур Лиганд-белок. Структурно-базированные приближения, такие как молекулярная динамика и приближения свободной энергии связи широко используются в комбинации с докингом для улучшения результатов виртуального скрининга. Молекулярная динамика позволяет учитывать гибкость связей в активной зоне, и соответственно изменения конформации активной зоны и всего белка. Так же методы молекулярной механики позволяют оценить стабильность комплекса лиганд-белок. Методы молекулярной механики активно развиваются, появились техники метадинамики, зонтичного сэмплирования и метод обмена репликами. Все эти методы позволяют уточнять функции белка динамику состояния молекулы в зависимости от присутствия лигандов и сольвентов. В последние годы активно развиваются системы искусственного интеллек-

та и нейросети, которые не обошли стороной и драг дизайн. ИИ позволяет легко использовать постоянно пополняющиеся базы доступных структур, химических соединений, биоактивности препаратов и т.д. Методы машинного обучения включающие RF (random forest) и SVM (Support vector machines) применяются для предсказаний аффинности даже для гибких структур. Машинное обучение позволило улучшить скоринговые функции. Уточненные RF методом скоринговые коэффициенты применяются, в частности, в программном комплексе AutoDock Vina. [43]

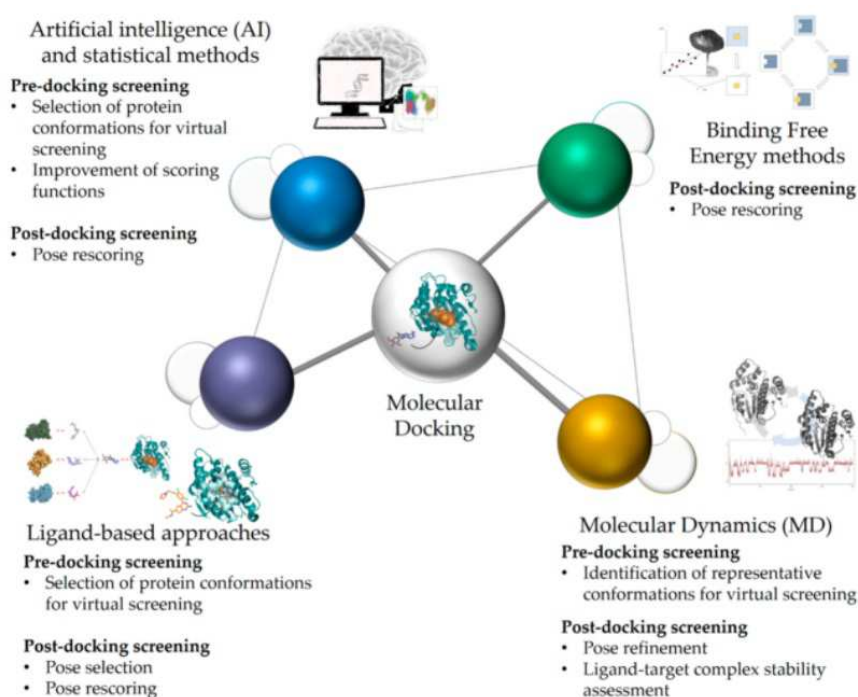


Рис. 17. Принципиальные основы Молекулярного докинга

Докинг с использованием AutoDock Vina разбивается на следующие этапы:

- 1) Скачивание образа рецептора из баз данных Protein Data Bank
- 2) С помощью программы AutoDockTools из образа белка удаляется все сольватное окружение.
- 3) С помощью программы AutoDockTools добавляются полярные молекулы водорода и Коллмановский заряд.
- 4) Аналогичным образом подготавливаются модели лиганда.
- 5) С помощью программы AutoDockTools производится расчет оптимальной области докинга.
- 6) Консольный запуск AutoDock Vina и поиск оптимальных расположе-

ний лиганда относительно белка опираясь на их энергию связи.

7) Визуализация и анализ результатов с помощью программы AutoDockTools.

Потенциалы взаимодействий вносимых атомов в зону докинга распределяются модулем Auto Grid по массиву сеток потенциалов.

AutoDock находит самое оптимальное положение лиганда по отношению к белку исходя из их энергий связывания.

3 Результаты исследования

3.1 Квантово-химическое моделирование

Структура нативного трипептида (2R)-2-(1-оксо-1,3-дигидро-2H-инозидол)-2-фенил-N-(1,3-тиазол)ацетамида была взята с сайта RCSB.org (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics PDB). В ходе дальнейшей работы трипептид получил рабочее название "Фенинтен". Для проведения исследования структуры нативного трипептида и его соединений с атомом фтора использовали программу HyperChem 8.0.

Оптимизацию геометрии всех молекул проводили с использованием силового поля MM+ методом молекулярной механики, алгоритма Polak-Ribiere с RMS градиентом 0.1 ккал/А*моль. Используя полуэмпирический метод расчета MNDO(a), проведено моделирование динамики Ланжевена в присутствии сольватного окружения. Метод Динамики Ланжевена моделирует движение молекул, подвергнутых случайным столкновениям и силам трения, и используется для моделирования как сольватированных систем, так и мономерных систем. В динамике Ланжевена были использованы следующие параметры:

- Время выполнения - 1пс
- Временной шаг - 0,001пс
- Температура симуляции - 310К

| Номер атома | Энергия Гиббса кКал/моль | Дипольный момент Дебай | RMS grad кКал/А*моль |
|--------------|-----------------------------|---------------------------|-------------------------|
| метка фтором | | | |
| T=310K | | | |
| 1 | -4459.98 | 0.8398 | 25.05 |
| 3 | -4461.55 | 1.472 | 28.83 |
| 4 | -4460.91 | 2.504 | 27.88 |
| 5 | -4459.93 | 4.526 | 34.49 |
| 6 | -4460.07 | 5.292 | 26.42 |
| 9 | -4459.24 | 3.856 | 26.03 |
| 10 | -4462.98 | 4.215 | 24.68 |
| 11 | -4461.23 | 1.051 | 24.04 |
| 12 | -4461.88 | 4.117 | 25.51 |
| 13 | -4458.53 | 5.098 | 30.12 |
| 14 | -4451.74 | 4.038 | 29.2 |
| 16 | -4464.77 | 4.453 | 24.56 |
| 17 | -4458.69 | 4.051 | 35.62 |

Таблица 2. Квантово-химическое моделирование меченного фенинтена

3.2 Молекулярный докинг

Структура рецептора EGFR в формате pdb была взята из RCSB PDB (Protein Data Bank) (8). Молекулярный докинг — это метод молекулярного моделирования, который позволяет предсказать наиболее выгодную для образования устойчивого комплекса ориентацию и положение одной молекулы по отношению к другой. Молекулярный докинг исследуемых молекул проводился с помощью пакета AutoDock Vina и MGTools. AutoDock Vina был выбран благодаря его высокой точности и скорости. Для докинга были выбраны три меченные молекулы фенинтена и нативный лиганд. Метки получили названия 57n - нативный лиганд, 57n6 - фенинтен А, 57n11- фенинтен В и 57n13 - фенинтен С меченные фтором в различных положениях (2R)-2-(1-оксо-1,3-дигидро-2H-инозидол)-2-фенил-N-(1,3-тиазол)ацетамид. Компьютерные модели выбранных молекул были подготовлены к докингу согласно методике. Докинг проводился методом Single-docking experiment

Educational Use Only

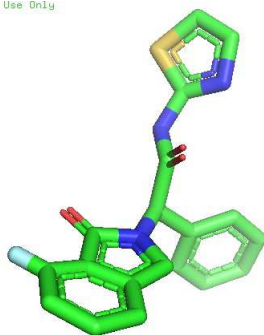


Рис. 18. Фенинтен А

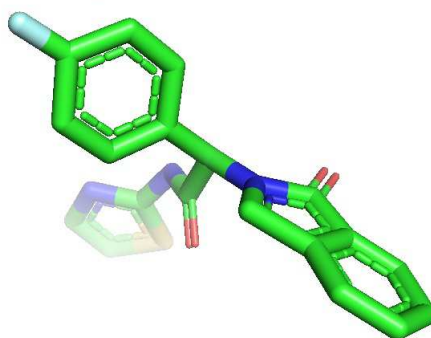


Рис. 19. Фенинтен В

Educational Use Only

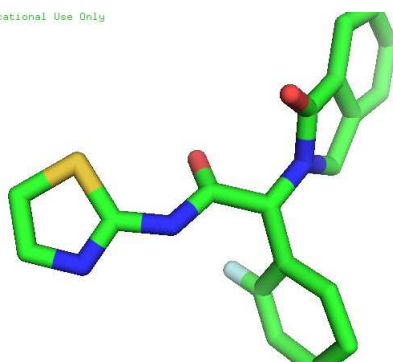


Рис. 20. Фенинтен С

с AutoDock vina (стыковка одного лиганда с единственным рецептором). В данном методе фиксируются валентные углы и длины связи (также пептидные связи белка устанавливаются как не вращающиеся). Макромолекула (рецептор EGFR) остается неизменной, гибким является лиганд, его положение связей может меняться. Далее использовали ламарковский генетический алгоритм, так как он является наиболее точным и надежным. При расчете энергии связывания учитываются ван-дер-ваальсовы и электростатические взаимодействия, водородные связи, а также вклад энергии де-

сольватации. В качестве параметров применяются значения силового поля AMBER. Докинг проводится в отсутствие сольватной оболочки. Макромолекула и лиганды были протонированы (добавлены водороды). Результаты докинга представлены в таблице 2.

| Лиганд | Фен | Фен А | Фен В | Фен С |
|------------------------------|------|-------|-------|-------|
| Энергия связи (ккал/моль) | -6,9 | -6,6 | -6,7 | -5,9 |
| Количество водородных связей | 6 | 5 | 5 | 5 |

Таблица 3. Энергия связи молекул с лигандом

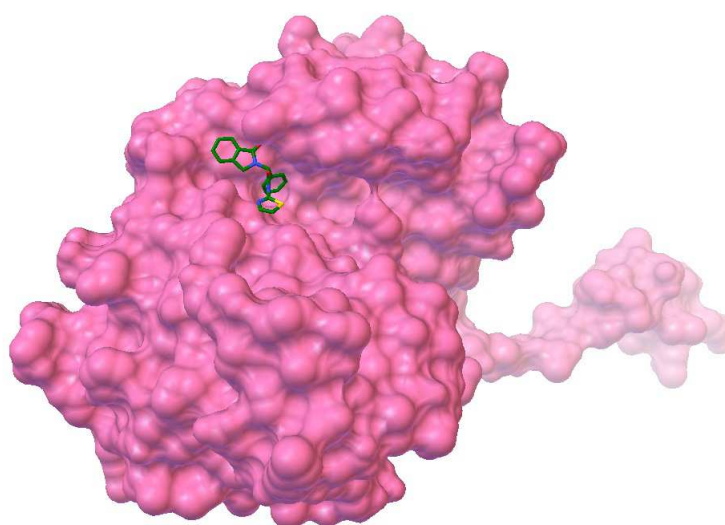


Рис. 21. Докинг EGFR - Фенинтен

3.2.1 Молекулярная механика

Для оценки афинности комплекса рецептор-лиганд необходимо рассчитать константу диссоциации. Чем меньше значение константы диссоциации тем лучше афинность. Образование комплекса белок-лиганд можно считать двунаправленным процессом



Константа связывания в такой системе рассчитывается как отношение концентраций элементов уравнения

$$K_b = \frac{[L][P]}{[LP]} \quad (22)$$

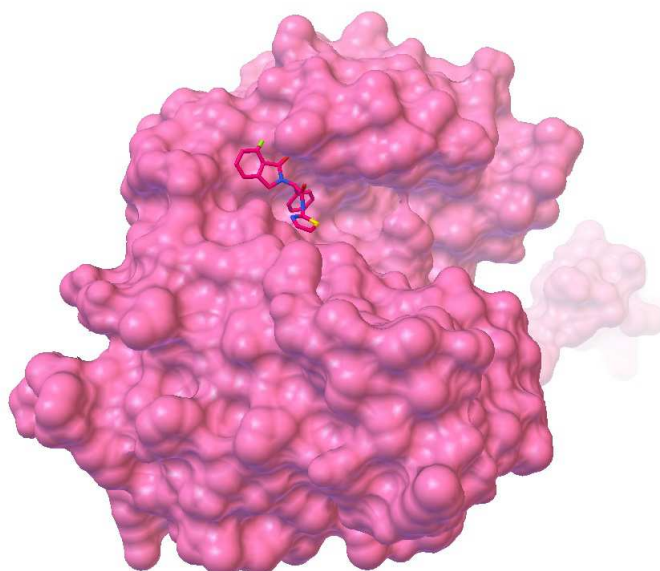


Рис. 22. Докинг EGFR - Фенинтен А

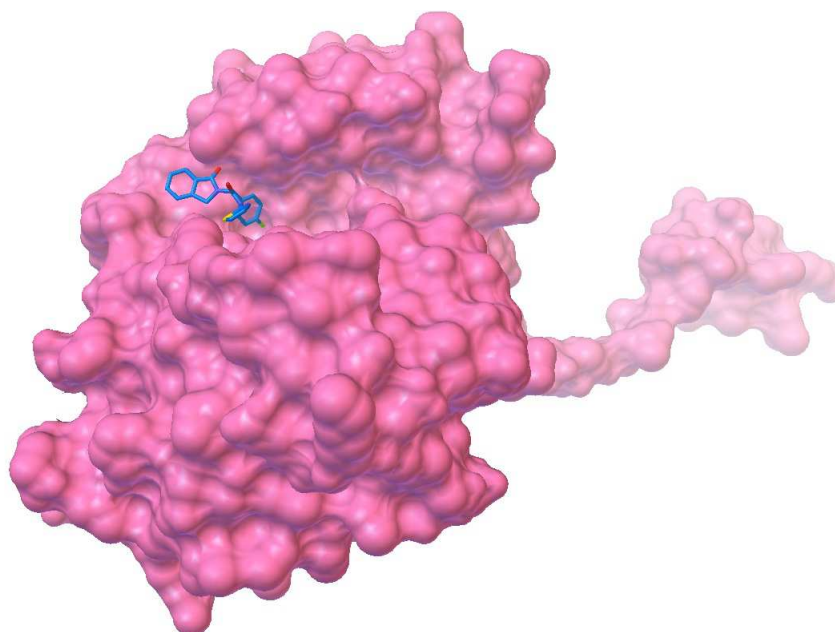


Рис. 23. Докинг EGFR - Фенинтен В

Константу связывания можно выразить из уравнения Гиббса

$$\Delta G = -RT \ln K_b \quad (23)$$

$$K_b = K_0 * e^{-\frac{\Delta G}{RT}} \quad (24)$$

Для исключения константы K_0 вычислим отношение констант связывания нативного лиганда к константе связывания меченного фтором фенинтена.

$$\frac{K_b^{ABC}}{K_b^N} = \frac{K_0 * e^{-\frac{\Delta G_{ABC}}{RT}}}{K_0 * e^{-\frac{\Delta G_N}{RT}}} = e^{-\frac{\Delta \Delta G}{RT}} \quad (25)$$

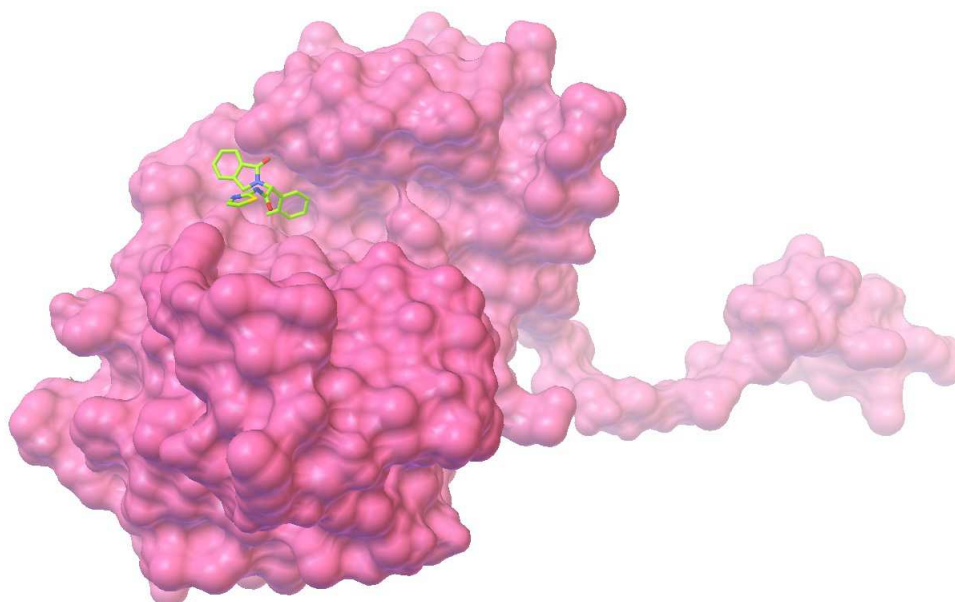


Рис. 24. Докинг EGFR - Фенинтен С

Коферменты, для которых отношение константы связывания к кон-
 станте связывания больше единицы имеют лучшую аффинность. Данные
 по разнице энергий связывания лиганда и отношения констант связывания
 приведены в таблице 3.

| | $\Delta\Delta G_{\text{ккал/моль}}$ | K_B^A/K_B^N |
|------------|-------------------------------------|---------------|
| Фенинтен | 0 | 1 |
| Фенинтен А | 0,3 | 0,89 |
| Фенинтен В | 0,2 | 0,925 |
| Фенинтен С | 1 | 0,678 |

Таблица 4. Оценка аффинности квантово-химических моделей меченного фенинтена к
 EGFR

3.2.2 Активность препарата

Для расчета удельной поглощенной дозы и активности меченного
 ^{18}F фенинтена необходимо применить закон радиоактивного распада

$$A(t) = \frac{dN}{dt} = A_0 2^{-t/T_{1/2}} \quad (26)$$

Удельная активность рассчитывается как

$$a = \frac{A}{m} = \frac{N_A \ln 2}{\mu T_{1/2}} \quad (27)$$

| Фенинтен | |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| Период полураспада, $T_{1/2}$, мин | 109.771 |
| Молярная масса, μ г/моль | 338 |
| Удельная активность, МБк* 10^{11} /грамм | 1.87 |
| Дозовый коэффициент, мЗв/МБк | $19 \cdot 10^{-3}$ |
| Предельная диагностическая доза (норматив взрослый человек), МБк | 550 |
| Предельная вводимая масса РФП (взрослый человек), мкг | 1,3 |
| Диагностическая доза ПЭТ исследовании головного мозга, норматив МБк/м ² | 100-120 |

Таблица 5. Радиологические параметры фенинтена

3.2.3 Проницаемость ГЭБ

Фенинтен необходимо проверить на проницаемость ГЭБ. Основные пути попадания препарата представлены на рисунке. Основные требования к препарату для прохождения барьера - молекулярная масса менее 500кДа и низкая полярность [44], молекулой фенинтена удовлетворяются.

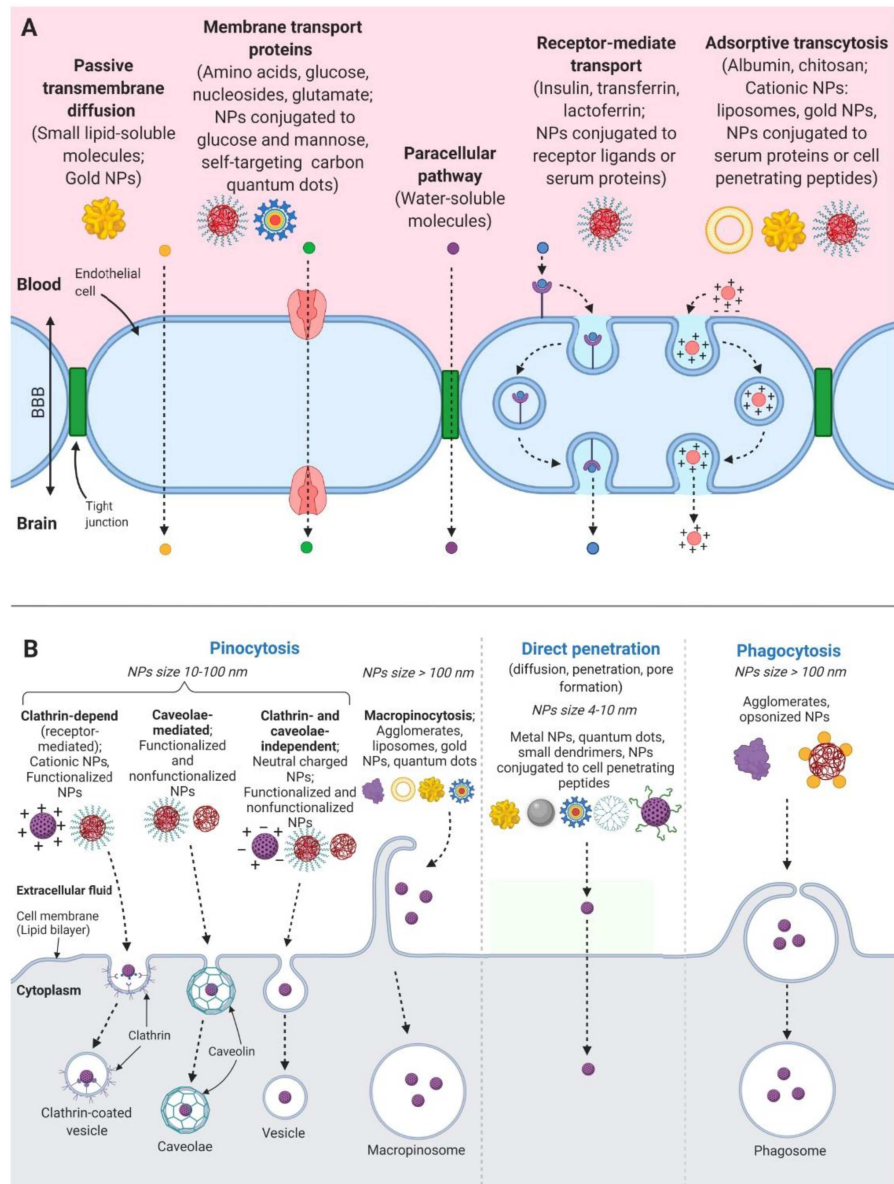


Рис. 25. Молекулярный транспорт через гематоэнцефалический барьер [44]

4 Заключение

В ходе исследования были рассчитаны три квантово-химических модели лиганда к рецептору EGFR на основе трипептида инозидол-фенил-тиазолиамида, меченного фтором. Расчеты квантово-химических моделей проводились в программе HyperChem 8.0. Используя динамику Ланжевена в приближении наличия сольватной оболочки были рассчитаны энтальпия образования, дипольный момент, силовой среднеквадратичный градиент. На основе проведенных вычислений были выбраны три конформации фенинтена для докинга. Докинг проводился в программе Autodock Vina где была установлена аффинность всех трех выбранных молекул Рецептору Эпидермального Фактора Роста (EGFR). Были рассчитаны основные характеристики фенинтена как радиофармпрепарата. На основании полученных данных можно рекомендовать препарат к лабораторным испытаниям *in vivo* в роли радиофармпрепарата для визуализации глиобластомы и иных форм онкологических заболеваний, основанных на гиперэкспрессии EGFR.

5 Список сокращений

1. БНЗТ — Бор-нейтрон захватная терапия
2. ВОЗ — Всемирная Организация Здравоохранения;
3. ГЭБ — гематоэнцефалический барьер
4. ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота;
5. КПА — коэффициент проницаемости аналита;
6. КТ — компьютерная томография;
7. МРТ — магнитно-резонансная томография;
8. ПЭТ — позитрон-эмиссионная томография;
9. РНК — рибонуклеиновая кислота;
10. РФП — радиофармакологический препарат;
11. ФП — фармакологический препарат;
12. EGFR — рецептор эндотелиального фактора роста;
13. MNDO — Modified Neglect of Diatomic Overlap
14. RF — Random forest
15. RCSB — Research Collaboratory for Structural Bioinformatics
16. RMS — Средне-квадратичное отклонение;
17. SVM — Support vector machines;

Таблица 6. Группы мембранных рецепторов астроцитов и их лиганды

| Рецептор | Лиганд(ы) | Функция | Источник |
|-------------|-----------|------------------|----------|
| CRYAB | | Шаперон | [45] |
| HSPB1/HSP27 | | шаперон | [45] |
| Lcn2 | | Транспорт железа | [45] |
| NTRK2 | | BDNF рецептор | [45] |
| IL17R | | рецептор | [45] |
| TrkB | | рецептор | [45] |
| IL17R | | рецептор | [45] |
| AQP-4 | TGN-073 | транспорт воды | [46] |
| Hes5 | | рецептор | [45] |
| Aldh1 | | рецептор | [45] |
| IL17R | | рецептор | [45] |
| [45] | | | |

Таблица 7. Радиоизотопы используемые в Позитрон-эмиссионной томографии

| Изотоп | $T_{1/2}$, мин | Тип излучения | Макс энергия, МэВ |
|------------------|-----------------|------------------------------|-------------------|
| ^{11}C | 20.3 | $+\beta$ | 0.97 |
| ^{13}N | 10 | $+\beta$ | 1.20 |
| ^{15}O | 2 | $+\beta$ | 1.74 |
| ^{18}F | 110 | $+\beta$ | 0.64 |
| ^{64}Cu | 762 | $+\beta$ /электронный захват | 0.66 |
| ^{68}Ga | 68.1 | $+\beta$ /электронный захват | 1.9 |
| ^{76}Br | 972 | $+\beta$ /электронный захват | 4 |
| ^{124}I | 60192 | $+\beta$ /электронный захват | 2.14 |

Таблица 8. Результаты докинга

| Положение | Аффинность ккал/моль | RMSD, Ангстрем |
|-------------------|-------------------------|----------------|
| Нативный фенинтен | | |
| 1 | -6.9 | 0.000 |
| 2 | -6.7 | 8.340 |
| 3 | -6.5 | 7.945 |
| 4 | -6.4 | 5.543 |
| 5 | -6.3 | 7.369 |
| 6 | -6.2 | 6.403 |
| 7 | -6.1 | 18.710 |
| 8 | -6.1 | 22.491 |
| 9 | -6.0 | 8.661 |
| Фенинтен А | | |
| 1 | -6.9 | 0.000 |
| 2 | -6.8 | 7.168 |
| 3 | -6.7 | 8.220 |
| 4 | -6.6 | 26.694 |
| 5 | -6.6 | 6.736 |
| 6 | -6.5 | 9.065 |
| 7 | -6.0 | 8.021 |
| 8 | -6.0 | 7.604 |
| 9 | -5.9 | 28.806 |

Таблица 9. Результаты докинга 2

| Положение | Аффинность ккал/моль | RMSD, Ангстрем |
|------------|-------------------------|----------------|
| Фенинтен В | | |
| 1 | -6.9 | 0.000 |
| 2 | -6.7 | 8.737 |
| 3 | -6.7 | 6.234 |
| 4 | -6.6 | 8.690 |
| 5 | -6.5 | 10.012 |
| 6 | -6.3 | 28.623 |
| 7 | -6.0 | 15.077 |
| 8 | -5.9 | 7.035 |
| 9 | -5.9 | 7.729 |
| Фенинтен С | | |
| 1 | -6.8 | 0.000 |
| 2 | -6.5 | 8.994 |
| 3 | -6.4 | 8.841 |
| 4 | -6.3 | 10.071 |
| 5 | -6.2 | 6.452 |
| 6 | -6.1 | 7.462 |
| 7 | -5.9 | 2.152 |
| 8 | -5.8 | 28.984 |
| 9 | -5.7 | 5.727 |

Список литературы

- [1] *Wadowska, Katarzyna*. Genetic Markers in Lung Cancer Diagnosis: A Review / Katarzyna Wadowska, Iwona Bil-Lula, Mariola Trembecki // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2020. — Vol. 21, no. 13. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/13/4569>.
- [2] *Hassanpour, Seyed Hossein*. Review of cancer from perspective of molecular / Seyed Hossein Hassanpour, Mohammadamin Dehghani // *Journal of Cancer Research and Practice*. — 2017. — Vol. 4, no. 4. — Pp. 127–129. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2311300617300125>.
- [3] Microfluidic organ-on-chip technology for blood-brain barrier research / Marinke W van der Helm, Andries D van der Meer, Jan C T Eijkel et al. // *Tissue Barriers*. — 2016. — Vol. 4, no. 1. — P. e1142493. — PMID: 27141422. <https://doi.org/10.1080/21688370.2016.1142493>.
- [4] Candidate miRNAs in human breast cancer biomarkers: a systematic review / Masoumeh Adhami, Ali Akbar Haghdoost, Balal Sadeghi, Reza Malekpour Afshar // *Breast cancer (Tokyo, Japan)*. — 2018. — March. — Vol. 25, no. 2. — Pp. 198–205. <https://doi.org/10.1007/s12282-017-0814-8>.
- [5] CyberKnife for Recurrent Malignant Gliomas: A Systematic Review and Meta-Analysis / Lucio De Maria, Lodovico Terzi di Bergamo, Alfredo Conti et al. // *Frontiers in Oncology*. — 2021. — Vol. 11. — P. 1059. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2021.652646>.
- [6] An analysis of the accuracy of the CyberKnife: a robotic frameless stereotactic radiosurgical system / Steven D Chang, William Main, David P Martin et al. // *Neurosurgery*. — 2003. — January. — Vol. 52, no. 1. — P. 140; discussion 1467. <https://doi.org/10.1097/00006123-200301000-00018>.
- [7] Cyberknife; stereotactic radiation therapy for stage I lung cancer and pulmonary metastases: evaluation of local control at 24 months / Myriam Khadige, Julia Salleron, Vincent Marchesi et al. // *Journal of tho-*

racic disease. — 2018. — August. — Vol. 10, no. 8. — Pp. 4976–4984.
<https://europepmc.org/articles/PMC6129868>.

- [8] *Barth, Rolf F.* A realistic appraisal of boron neutron capture therapy as a cancer treatment modality / Rolf F Barth, Zizhu Zhang, Tong Liu // *Cancer communications (London, England)*. — 2018. — June. — Vol. 38, no. 1. — P. 36. <https://europepmc.org/articles/PMC6006699>.
- [9] *Udomprasert, Anuttara.* DNA origami applications in cancer therapy / Anuttara Udomprasert, Thaned Kangsamaksin // *Cancer Science*. — 2017. — Vol. 108, no. 8. — Pp. 1535–1543.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/cas.13290>.
- [10] *Yinlong Zhang Suping Li, Qiao Jiang Chunzhi Di.* An intelligent DNA nanorobot for tumor vascular occlusion / Qiao Jiang Chunzhi Di Yinlong Zhang, Suping Li // *Chinese Science Bulletin*. — 2019. — Vol. 64, no. 25. — Pp. 2625–2632. <https://www.sciengine.com/publisher/Science China Press/journal/Chinese Science Bulletin/64/25/10.1360/N972019-00257>.
- [11] Imaging signatures of glioblastoma molecular characteristics: A radiogenomics review / Anahita Fathi Kazerooni, Spyridon Bakas, Hamidreza Saligheh Rad, Christos Davatzikos // *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. — 2020. — Vol. 52, no. 1. — Pp. 54–69.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jmri.26907>.
- [12] *Altaner, C.* Glioblastoma and stem cells-Minireview / C Altaner // *Neoplasma*. — 2008. — Vol. 55, no. 5. — P. 369.
- [13] *Claes, An.* Diffuse glioma growth: a guerilla war / An Claes, Albert J Idema, Pieter Wesseling // *Acta neuropathologica*. — 2007. — November. — Vol. 114, no. 5. — Pp. 443–458. <https://europepmc.org/articles/PMC2039798>.
- [14] *Khakh, Baljit S.* The Emerging Nature of Astrocyte Diversity / Baljit S. Khakh, Benjamin Deneen // *Annual Review of Neuroscience*. — 2019. — Vol. 42, no. 1. — Pp. 187–207. — PMID: 31283899.
<https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-070918-050443>.

- [15] Correlative STED and Atomic Force Microscopy on Live Astrocytes Reveals Plasticity of Cytoskeletal Structure and Membrane Physical Properties during Polarized Migration / Nathan Curry, Gregory Ghzali, Gabriele S. Kaminski Schierle et al. // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. — 2017. — Vol. 11. — P. 104. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2017.00104>.
- [16] *Harada, Kazuki*. Gliotransmitter Release from Astrocytes: Functional, Developmental, and Pathological Implications in the Brain / Kazuki Harada, Taichi Kamiya, Takashi Tsuboi // *Frontiers in Neuroscience*. — 2016. — 01. — Vol. 9.
- [17] *Santello, Mirko*. Astrocyte function from information processing to cognition and cognitive impairment / Mirko Santello, Nicolas Toni, Andrea Volterra // *Nature neuroscience*. — 2019. — February. — Vol. 22, no. 2. — Pp. 154–166. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0325-8>.
- [18] Long Noncoding RNA NEAT1, Regulated by the EGFR Pathway, Contributes to Glioblastoma Progression Through the WNT/OI-Catenin Pathway by Scaffolding EZH2 / Qun Chen, Jinqun Cai, Qixue Wang et al. // *Clinical Cancer Research*. — 2018. — Vol. 24, no. 3. — Pp. 684–695. <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/24/3/684>.
- [19] Segmentation, Tracing, and Quantification of Microglial Cells from 3D Image Stacks / Abdolhoseini Mahmoud, Kluge Murielle G., Walker Frederick R., Sarah J Johnson // *Scientific Reports*. — 2019. — Vol. 9, no. 12. — Pp. 2045–2322. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44917-6>.
- [20] *Lee, Jae Sung*. A Review of Deep-Learning-Based Approaches for Attenuation Correction in Positron Emission Tomography / Jae Sung Lee // *IEEE Transactions on Radiation and Plasma Medical Sciences*. — 2021. — Vol. 5, no. 2. — Pp. 160–184.
- [21] Subsecond total-body imaging using ultrasensitive positron emission tomography / Xuezhu Zhang, Simon R. Cherry, Zhaoheng Xie et al. // *Pro-*

- ceedings of the National Academy of Sciences*. — 2020. — Vol. 117, no. 5. — Pp. 2265–2267. <https://www.pnas.org/content/117/5/2265>.
- [22] *Sala, Arianna*. Brain Molecular Connectivity in Neurodegenerative Diseases: Recent Advances and New Perspectives Using Positron Emission Tomography / Arianna Sala, Daniela Perani // *Frontiers in neuroscience*. — 2019. — Vol. 13. — P. 617. <https://europepmc.org/articles/PMC6587303>.
- [23] *Pandey, Mukesh K*. Cyclotron Production of PET Radiometals in Liquid Targets: Aspects and Prospects / Mukesh K Pandey, Timothy R DeGrado // *Current radiopharmaceuticals*. — 2020. — August. <https://doi.org/10.2174/1874471013999200820165734>.
- [24] Recent developments in radiolabelled peptides for PET imaging of cancer / Carlie L. Charron, Ashleigh L. Farnsworth, Peter D. Roselt et al. // *Tetrahedron Letters*. — 2016. — Vol. 57, no. 37. — Pp. 4119–4127. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040403916309522>.
- [25] Fluorine-18-Labeled Antibody Ligands for PET Imaging of Amyloid-OI in Brain / Stina Syvnen, Xiaotian T Fang, Rebecca Faresj et al. // *ACS chemical neuroscience*. — 2020. — December. — Vol. 11, no. 24. — Pp. 4460–4468. <https://europepmc.org/articles/PMC7747219>.
- [26] *Goldstein, Richard A*. Chrisantha T. Fernando / Richard A Goldstein, Phil Husbands, Steckel // Pacific Symposium on Biocomputing. — Vol. 15. — 2010. — Pp. 477–480.
- [27] *Himo, Fahmi*. Recent trends in quantum chemical modeling of enzymatic reactions / Fahmi Himo // *Journal of the American Chemical Society*. — 2017. — Vol. 139, no. 20. — Pp. 6780–6786.
- [28] Generalized Valence Bond Perfect-Pairing Made Versatile Through Electron-Pairs Embedding / Ewa Pastorczak, Hans JFørgen Aagaard Jensen, Piotr H Kowalski, Katarzyna Pernal // *Journal of chemical theory and computation*. — 2019. — August. — Vol. 15, no. 8. — Pp. 4430–4439. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.9b00384>.

- [29] *Sánchez, Rafael*. Cooling by Cooper pair splitting / Rafael Sánchez, Pablo Burset, Alfredo Levy Yeyati // *Phys. Rev. B*. — 2018. — Dec. — Vol. 98. — P. 241414. <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevB.98.241414>.
- [30] *Reich, Samuel Lewis*. The Difference in Mass between Relativity and Quantum Mechanics, Also Novel Effects of the Axial Doppler Shift / Samuel Lewis Reich, Winston G Perera // *Journal of High Energy Physics*. — 2019. — Vol. 5. — Pp. 629–637.
- [31] *Jones, Garth A*. Resonance energy transfer: from fundamental theory to recent applications / Garth A Jones, David S Bradshaw // *Frontiers in Physics*. — 2019. — Vol. 7. — P. 100.
- [32] Solubility modelling, solvent effect, preferential solvation and solution thermodynamic of thymine form AH A° in ten mono solvents and two solvent mixtures / Yang Cong, Cunbin Du, Ying Zhang et al. // *Journal of Molecular Liquids*. — 2020. — Vol. 300. — P. 112257.
- [33] *Mehrabi, Mehdi*. Electrical conductivity and pH modelling of magnesium oxide–ethylene glycol nanofluids / Mehdi Mehrabi, Mohsen Sharifpur, Joshua P Meyer // *Bulletin of Materials Science*. — 2019. — Vol. 42, no. 3. — P. 108.
- [34] Tubulin response to intense nanosecond-scale electric field in molecular dynamics simulation / Paolo Marracino, Daniel Havelka, Jiří Prša et al. // *Scientific reports*. — 2019. — Vol. 9, no. 1. — Pp. 1–14.
- [35] Decomposition of nuclear symmetry energy based on Lorentz-covariant nucleon self-energies in relativistic Hartree-Fock approximation / Tsuyoshi Miyatsu, Myung-Ki Cheoun, Chikako Ishizuka et al. // *Physics Letters B*. — 2020. — Vol. 803. — P. 135282. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0370269320300861>.
- [36] Simulation Models for Materials and Biomolecules / Carlton Anthony Taft, Jose Gabriel Solano Canchaya, Jose Divino dos Santos, Junio Cesar Fran-


cisco Silva // Functional Properties of Advanced Engineering Materials and Biomolecules. — Springer, 2021. — Pp. 27–82.

- [37] *Welling, Max*. Bayesian Learning via Stochastic Gradient Langevin Dynamics / Max Welling, Yee Whye Teh // Proceedings of the 28th International Conference on International Conference on Machine Learning. — ICML'11. — Madison, WI, USA: Omnipress, 2011. — P. 681–688.
- [38] *Shang, Xiaocheng*. Time Correlation Functions of Equilibrium and Nonequilibrium Langevin Dynamics: Derivations and Numerics Using Random Numbers / Xiaocheng Shang, Martin Krüger // *SIAM Review*. — 2020. — Vol. 62, no. 4. — Pp. 901–935. <https://doi.org/10.1137/19M1255471>.
- [39] The Feynman dispersion correction for MNDO extended to F, Cl, Br and I / Maximilian Kriebel, Andreas Heßelmann, Matthias Hennemann, Timothy Clark // *Journal of molecular modeling*. — 2019. — Vol. 25, no. 6. — P. 156.
- [40] A Polak-Ribière-Polyak conjugate gradient-based neuro-fuzzy network and its convergence / Tao Gao, Jian Wang, Bingjie Zhang et al. // *IEEE Access*. — 2018. — Vol. 6. — Pp. 41551–41565.
- [41] *Ziadi, Raouf*. Global optimization through a stochastic perturbation of the Polak–Ribière conjugate gradient method / Raouf Ziadi, Rachid Elliaia, Abdelatif Bencherif-Madani // *Journal of Computational and Applied Mathematics*. — 2017. — Vol. 317. — Pp. 672–684.
- [42] *Morris, Garrett M*. Molecular docking / Garrett M Morris, Marguerita Lim-Wilby // Molecular modeling of proteins. — Springer, 2008. — Pp. 365–382.
- [43] *Pinzi, Luca*. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery / Luca Pinzi, Giulio Rastelli // *International journal of molecular sciences*. — 2019. — Vol. 20, no. 18. — P. 4331.

- [44] Nano Carrier Drug Delivery Systems for the Treatment of Neuropsychiatric Disorders: Advantages and Limitations / Yana Zorkina, Olga Abramova, Valeriya Ushakova et al. // *Molecules*. — 2020. — Vol. 25, no. 22. <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/22/5294>.
- [45] M, Colonna. Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration / Colonna M, Butovsky O // *Annual review of immunology*. — 2017. — Vol. 35, no. 12. — Pp. 441–468. 10.1146/annurev-immunol-051116-052358.
- [46] Aquaporin-4 facilitator TGN-073 promotes interstitial fluid circulation within the blood-brain barrier: [17O]H₂O JJVCPE MRI study / Vincent J Huber, Hironaka Igarashi, Satoshi Ueki et al. // *Neuroreport*. — 2018. — June. — Vol. 29, no. 9. — Pp. 697–703. <https://europepmc.org/articles/PMC5965936>.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ:
заведующий кафедрой

 В. А. Кратасюк
«16» июня 2021 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ
ИНОЗИДОЛ-ФЕНИЛ-ТИАЗОЛАЦЕТАМИДА В КАЧЕСТВЕ
ПЭТ РФП ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

03.04.02 Физика 03.04.02.09 Технологическое сопровождение ядерной
медицины и медицинского оборудования

Научный руководитель:


15.06.21
дата, подпись

к.ф.-м.н., доцент
уч.степень, должность

А. Н. Шуваев

Выпускник:


15.06.21
дата, подпись

А. В. Кечин

Рецензент:


15.06.21
дата, подпись

к.биол.наук, доцент
уч.степень, должность

Л.В. Степанова

Красноярск 2021