

АНОТАЦІЯ

Жукова Д.А. Біологічні властивості куркуміну, адсорбованого на протеїнах. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія і біохімія». - Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ, 2024.

Куркумін (диферулоилметан) – це поліфенольна сполука природного походження з низкою терапевтичних властивостей, а саме антипроліферативною, проапоптотичною та протипухлинною властивостями, але низкою біодоступністю. Одним зі способів підвищення біодоступності куркуміну є його взаємодія з протеїновими носіями. Дифтерійний токсин (ДТ) є одним із найбільш вивчених природних цитотоксичних агентів зі специфічністю до асоційованого з пухлинними клітинами рецептора proHB-EGF (гепарин-зв'язувальний EGF-подібний фактор росту). Використання CRM197 в якості носія для куркуміну є як способом підвищення біодоступності останнього, так і шляхом специфічності доставки куркуміну в клітини. Таким чином, дослідження утворення комплексів куркуміну з протеїновими носіями, зокрема з CRM197, є одним з перспективних підходів для створення нових препаратів з протипухлинними властивостями.

Метою роботи було одержання комплексів куркуміну з протеїнами BSA та CRM197 для підвищення біодоступності та специфічної доставки куркуміну в клітини та характеристика отриманих комплексів.

Відповідно до мети було сформульовано 6 завдань:

1. Отримати комплекси куркуміну з протеїнами BSA та CRM197 та охарактеризувати їх фізико-хімічні властивості;
2. Дослідити цитотоксичний вплив отриманих комплексів щодо малігнізованих клітин;
3. Оцінити дію куркуміну, протеїнових носіїв та протеїн-куркумінових комплексів щодо немалігнізованих клітин;

4. Вивчити механізми взаємодії куркуміну та його протеїнових комплексів з поверхнею малігнізованих клітин;
5. З'ясувати механізми цитотоксичного впливу отриманих комплексів на малігнізовані клітини;
6. Дослідити імуногенність протеїнових носіїв куркуміну.

Отримання комплексів куркуміну з протеїнами BSA та CRM197 та характеристика їх властивостей. Дослідження *in silico* можливих сайтів з'єднання молекули куркуміну та двох досліджуваних протеїнів – CRM197 та BSA за допомогою молекулярного докінгу показало наявність щонайменше двох сайтів зв'язування в молекулі BSA та принаймні одного в молекулі CRM197. Згідно таких розрахунків, в першому сайті зв'язування куркуміну з BSA він утворює водневі зв'язки з залишками Tyr138, Tyr161 і His146. Другий сайт зв'язування куркуміну з BSA характеризувався водневими зв'язками між Ser202, Ile290 і взаємодіями молекулярних π -орбіталей (π - π зв'язком) з Trp214. Комплекс CRM197 з куркуміном стабілізується шляхом утворення водневих зв'язків із взаємодіями Lys20, Gly18 і π - π між ароматичними частинами куркуміну та His17 і Tyr61 CRM197. Спектрометричне дослідження показало, що обидва протеїни виявили здатність підвищувати розчинність куркуміну в водних буферах, що можна було зафіксувати по збільшенню поглинання на хвилі 420нм для утворених комплексів, що є характерним максимумом поглинання куркуміну. При насиченні протеїнів куркуміном подальшого збільшення ефективності поглинання не спостерігається. На основі цих даних молярне співвідношення становило 1:2,5 для BSA і куркуміну та 1:3 для CRM197 і куркуміну відповідно. Спектральна поведінка комплексів може бути доказом стехіометрії утворення комплексів куркуміну з BSA або CRM197. Отже, що більше ніж одна молекула куркуміну може взаємодіяти з однією молекулою протеїну.

Отримані комплекси характеризувалися стабільністю та підвищеною розчинністю куркуміну. Згідно моделювання *in silico* та спектрофотометричних досліджень молекула CRM197 має не менше одного

сайту з'єднання з куркуміном, а молекула BSA має щонайменше два сайти з'єднання з молекулою куркуміну.

Оцінка цитотоксичного впливу отриманих комплексів щодо малігнізованих клітин та їх безпечності для умовно нормальних клітин in vitro. Дослідження впливу куркуміну на малігнізовані клітини було визначено за його *індексом цитотоксичності 50% (IC_{50})* на малігнізованих клітинах лінії MDA-MB231, що показала низьку цитотоксичність вільного куркуміну. ($IC_{50}=0,012$ мг/мл).

Визначення IC_{50} демонструє безпеку використання нетоксичного рекомбінантного похідного ДТ (CRM197) та його В-фрагменту (SbB) на відміну від дифтерійного токсину для досліджуваних клітин. Для дифтерійного токсину IC_{50} становила 0,048 мкг/мл для клітин лінії MDA-MB231 і 0,018 мкг/мл для клітин лінії A431. Клітинна лінія A431 демонструвала вищу чутливість до дифтерійного токсину через вищий рівень експресії proHB-EGF як місця зв'язування з ДТ. IC_{50} для CRM197 і SbB був на два порядки вищим, ніж для ДТ для обох перевірених клітинних ліній. Це свідчить про те, що використання CRM197 і SbB є більш безпечним, ніж природного ДТ.

Нижчий рівень цитотоксичності CRM197 відносно нативного ДТ не виключає впливу CRM197 на клітину шляхом формування пор в мембрані. Для перевірки даної гіпотези було проведено визначення провідності фосфатидилетаноламін-вміщуювальної бішарової ліпідної мембрани під дією різних блокаторів утворення пор – солей тіазолію з різною довжиною бічного ланцюга та вплив кон'югатів CRM197 з блокаторами на пухлинні клітини. Три найефективніші блокатори за результатами експериментів зі зниження електропровідності фосфатидилетаноламін-вміщуювальної бішарової ліпідної мембрани були обрані для тестування на культурах клітин. Результати показали підвищення життєздатності на 30% клітин, оброблених CRM197 (10^{-7} мкг/мл), під впливом блокатору на клітинах A431.

З метою визначення ефективності застосування комплексів куркуміну з протеїнами щодо малігнізованих клітин ми протестували клітинну лінію MDA-MB-231. IC_{50} комплексів куркуміну становила 0,0015 мг/мл для CRM197 і 0,0008 мкг/мл для SbB щодо клітин MDA-MB-231. Це свідчить про те, що комплекси протеїнів з куркуміном можуть бути ефективними засобами доставки для покращення специфічності доставки та підвищення біодоступності куркуміну для малігнізованих клітин.

Життєздатність клітин MDA-MB-231, оброблених комплексами куркумін-BSA та куркумін-SbB, зменшується в 1,5 рази порівняно з впливом вільного куркуміну. Комплекс SbB з куркуміном знижував життєздатність MDA-MB-231 і A431 клітин на 49% і 71% відповідно. Малігнізовані суспензійні клітини Jurkat та немалігнізовані клітини 4BL продемонстрували відсутність чутливості до всіх протестованих комплексів ймовірно за рахунок низького рівня експресії proHB-EGF на їх поверхні.

Утворення комплексів куркуміну з нетоксичними похідними дифтерійного токсину значно підвищило біодоступність куркуміну щодо малігнізованих клітин. IC_{50} для комплексів куркуміну з CRM197 та SbB і становили 4,2мкМ та 2,2мкМ відповідно.

Дослідження взаємодії отриманих комплексів з клітинами та визначення механізмів їх цитотоксичного впливу на малігнізовані клітини.

За допомогою протокової цитофлуориметрії було продемонстроване збільшення ефективності взаємодії з поверхнею клітин флуоресціюючого куркуміну принаймні в 6 і 10 разів для комплексів BSA з куркуміном та SbB з куркуміном відносно вільного куркуміну для клітин A431. Для клітиної лінії MDA-MB-231 рівень взаємодії з комплексами збільшувався в 5 та 7 разів для BSA з та SbB відповідно.

Дослідження часу інтерналізації куркуміну клітинами A431 показало, що вільний куркумін потрапляє в середину клітин впродовж 15 хвилин, тоді як комплекси куркуміну з протеїновими носіями стають повністю інтерналізованими впродовж 90 хвилин. Сповільнене транспортування

протеїново-куркумінового комплексу до клітини можна пояснити взаємодією SbB і CRM197 з proHB-EGF, що, ймовірно, приводить до їх затримки на клітинній поверхні.

Визначення рівня куркумін-індукованого апоптозу показало, що використання комплексів BSA-куркумін або SbB-куркумін підвищило рівень загибелі клітин A431 у 3,14 та 4,97 разів відповідно, тоді як життєздатність клітин MDA-MB-231 знизилася в 2 рази порівняно з контролем для обох використаних білкових носіїв. Отже, ефективність апоптозу зумовлена в першу чергу молекулою куркуміну, тоді як BSA та SbB виконують роль переносників.

Було показано, що вплив куркуміну та його комплексів викликав загибель клітин в першу чергу апоптозом, тоді як вміст некротичних клітин був на рівні контролю.

Аналіз вмісту основних сигнальних протеїнів показав статистично достовірне зниження фосфорильованої форми EGFR, що призводить до збільшення ймовірності переходу малігнізованих клітин до апоптичного шляху через зниження рівня активації Akt-1.

Дослідження імуногенності окремих субодиниць нетоксичного рекомбінантного дифтерійного токсину. Оцінку імуногенності рекомбінантних протеїнів проводили для визначення можливості їх використання при створенні на їх основі лікарських засобів, в тому числі комплексів з куркуміном. Найсильніші імуногенні властивості характерні для CRM197, тоді як SbB проявив нижчий рівень імуногенності, що є підґрунтям для використання саме В-субодиниці як носія куркуміну, оскільки він не буде викликати активної імунної відповіді та є більш безпечним при використанні *in vivo*.

Таким чином, в ході дисертаційної роботи було створено комплекси куркуміну з протеїнами BSA, CRM197 та його В-фрагментом, досліджено та проаналізовано їх фізико-хімічні властивості та вплив на малігнізовані та немалігнізовані клітини, що дозволило створити підходи до підвищення

біодоступності та специфічності доставки куркуміну до пухлинних клітин. Отримані результати дозволили зробити наступні висновки:

1. Куркумін утворює стійкі комплекси з BSA та CRM197 за рахунок існування щонайменше двох сайтів з'єднання з молекулою BSA та з молекулою CRM197;
2. Рівень цитотоксичності та антипроліферативної активності куркумін-протеїнових комплексів був більше ніж на порядок вищим відносно вільного куркуміну;
3. Протеїн-куркумінові комплекси не проявляють вираженого цитотоксичного впливу щодо немалігнізованих клітин;
4. Біодоступність куркуміну у складі комплексів з куркуміном збільшується за рахунок підвищення розчинності, тоді як специфічність доставки куркуміну до малігнізованих клітин у складі комплексів з нетоксичним рекомбінантним похідним дифтерійного токсину збільшується за рахунок взаємодії з рецептором pro-HB-EGF на цих клітинах, що було визначено за збільшенням ефективності взаємодії куркуміну з поверхнею клітин та за рівнем інтерналізації комплексів;
5. Переважаючим шляхом загибелі малігнізованих клітин під дією куркумін-протеїнових комплексів був апоптоз;
6. Імуногенність нетоксичних похідних дифтерійного токсину зменшуються з їх розміром, що дозволяє пропонувати меншу субодиницю SbV в якості носія куркуміну при створенні комерційних препаратів.

В роботі вперше отримано та охарактеризовано комплекси куркуміну з дифтерійним токсином CRM197 та його В-фрагментом та продемонстровано вищий рівень пригнічення клітинних ліній A431 та MDA-MB-231 отриманими комплексами у порівнянні з комплексом куркуміну з BSA, вільним куркуміном та вільним CRM197 або його В-фрагментом. Доведена стабільність комплексів у водних середовищах та ефективність впливу на

малігнізовані клітини робить їх перспективною базою для створення нових терапевтичних препаратів.

За матеріалами дисертації опубліковано 3 роботи (еквівалентні 5 роботам згідно Положення про Порядок проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 06 березня 2019 року № 167), з них 2 статті у міжнародних виданнях першого квартилю Q1, що входять до міжнародної бази даних SCOPUS, та 1 стаття у вітчизняному виданні, що належить до фахових видань, визнаних МОН України; 2 тез у матеріалах міжнародних та вітчизняних конгресів і конференцій.

Ключові слова: куркумін, пухлинні захворювання, протипухлинна дія, цитотоксичний вплив, клітинний сигналінг, малігнізовані клітини, рак грудної залози, протеїнові носії, протеїни крові, молекулярний докінг, хроматографія, специфічна доставка, наноконплекси, полімерні носії, апоптоз.

ABSTRACT

Zhukova D.A. Biological properties of curcumin adsorbed on proteins. - Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 091 "Biology and Biochemistry" - Institute of Biochemistry named after O.V. Palladina of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2024.

Curcumin (diferuloylmethane) is a natural polyphenolic compound origin with a number of therapeutic properties, namely antiproliferative, proapoptotic and antitumor properties, but low bioavailability. One of the ways to increase bioavailability of curcumin is its interaction with protein carriers. Diphtheria toxin (DT) is one of the most studied natural cytotoxic agents with specificity for the proHB-EGF (heparin-binding EGF-like growth factor) receptor associated with tumor cells. The use of CRM 197 as a carrier for curcumin is both a way to increase the bioavailability of the latter and a way to specifically deliver curcumin to cells. Thus, the study of the formation of complexes of curcumin with protein carriers, in particular with CRM 197, is one of the promising approaches for the creation of new drugs with antitumor properties.

To achieve the goal, the following tasks were set:

1. Obtain curcumin complexes with BSA and CRM 197 proteins and characterize their physical and chemical properties;
2. Investigate the cytotoxic effect of the obtained complexes on malignant cells;
3. To assess the effect of curcumin, protein carriers and protein-curcumin complexes on non-malignant cells;
4. To study the mechanisms of interaction of curcumin and its protein complexes with the surface of malignant cells;
5. Determine the mechanisms of the cytotoxic effect of the obtained complexes on malignant cells;
6. To investigate the immunogenicity of curcumin protein carriers.

Preparation of curcumin complexes with BSA and CRM197 proteins and characterization of their properties. Research in *in silico* of the possible binding sites of the curcumin molecule and the two investigated proteins - CRM197 and BSA using molecular docking showed the presence of at least two binding sites in the BSA molecule and at least one in the CRM197 molecule. According to such calculations, in the first binding site of curcumin with BSA, it forms hydrogen bonds with residues Tyr138, Tyr161 and His146. The second binding site of curcumin with BSA was characterized by hydrogen bonds between Ser202, Ile290 and interactions of molecular π -orbitals (Pi-Pi bond) with Trp214. The complex of CRM197 with curcumin is stabilized by the formation of hydrogen bonds with Lys20, Gly18 and Pi-Pi interactions between the aromatic moieties of curcumin and His17 and Tyr61 of CRM197. A spectrometric study showed that both proteins showed the ability to increase the solubility of curcumin in aqueous buffers, which could be recorded by increasing the absorption at 420 nm for the formed complexes, which is the characteristic maximum of curcumin absorption. When proteins are saturated with curcumin, no further increase in absorption efficiency is observed. Based on these data, the molar ratio was 1:2.5 for BSA and curcumin and 1:3 for CRM197 and curcumin, respectively. The spectral behavior of the complexes may be evidence of the stoichiometry of curcumin complex formation with BSA or CRM197. So more than one curcumin molecule can interact with one protein molecule.

The obtained complexes were characterized by stability and increased solubility of curcumin. According to modeling in *in silico* and spectrophotometric studies, the CRM197 molecule has at least one curcumin binding site, and the BSA molecule has at least two curcumin binding sites.

Assessment of the cytotoxic effect of the obtained complexes on malignant cells and their safety for conditionally normal cells in vitro. The study of the effect of curcumin on malignant cells was determined by its *cytotoxicity index of 50% (IC₅₀)* on malignant cells of the MDA-MB231 line, which showed a low cytotoxicity of free curcumin. ($IC_{50}=0.012$ mg/ml).

Determination of IC_{50} demonstrates the safety of using a non-toxic recombinant DT derivative (CRM 197) and its B-fragment (SbB) in contrast to diphtheria toxin for the tested cells. For diphtheria toxin IC_{50} was 0.048 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for MDA-MB231 cells and 0.018 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for A431 cells. Cell line A431 showed a higher sensitivity to diphtheria toxin due to a higher level of expression of proHB-EGF as a binding site for DT. The IC_{50} for CRM197 and SbB was two orders of magnitude higher than for DT for both cell lines tested. This suggests that the use of CRM197 and SbB is safer than natural DT.

The lower level of cytotoxicity of CRM197 relative to native DT does not exclude the effect of CRM 197 on the cell by forming pores in the membrane. To test this hypothesis , the phosphatidylethanolamine-containing conductivity was determined bilayer lipid membrane under the action of various blockers of pore formation - thiazolium salts with different side chain lengths and the effect of conjugates CRM 197 with tumor cell blockers. The three most effective blockers according to the results of experiments on reducing the electrical conductivity of phosphatidylethanolamine-containing bilayer lipid membrane were chosen for testing in cell cultures. The results showed a 30% increase in viability of cells treated with CRM197 ($10^{-7} \mu\text{g}/\text{ml}$) under the influence of the blocker on A431 cells.

In order to determine the effectiveness of curcumin complexes with proteins against malignant cells, we tested the MDA-MB-231 cell line. The IC_{50} of the curcumin complexes was 0.0015 mg/ml for CRM197 and 0.0008 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for SbB against MDA-MB-231 cells. This suggests that protein complexes with curcumin may be effective delivery vehicles to improve delivery specificity and increase bioavailability curcumin for malignant cells.

The viability of MDA-MB-231 cells treated with curcumin -BSA and curcumin-SbB complexes is reduced by 1.5 times compared to exposure to free curcumin . The complex of SbB with curcumin reduced the viability of MDA-MB-231 and A431 cells by 49% and 71%, respectively. Malignant Jurkat suspension cells and non-malignant 4BL cells showed a lack of sensitivity to all tested complexes probably due to low expression levels proHB-EGF on their surface.

The formation of complexes of curcumin with non-toxic derivatives of diphtheria toxin significantly increased bioavailability of curcumin against malignant cells. IS_{50} for curcumin complexes with CRM197 and SbB and were 4.2 μ M and 2.2 μ M, respectively.

Study of the interaction of the obtained complexes with cells and determination of the mechanisms of their cytotoxic effect on malignant cells. With the help of duct cytofluorimetry showed an increase in the efficiency of the interaction with the cell surface of fluorescent curcumin by at least 6 and 10 times for the complexes of BSA with curcumin and SbB with curcumin relative to free curcumin for A431 cells. For the MDA-MB-231 cell line, the level of interaction with the complexes increased by 5 and 7 times for BSA with and SbB , respectively.

internalization time of curcumin by A431 cells showed that free curcumin enters the cell interior within 15 minutes, while complexes of curcumin with carrier proteins become fully internalized within 90 minutes. The delayed transport of the protein-curcumin complex into the cell can be explained by the interaction of SbB and CRM197 with pro HB-EGF, which probably leads to their retention on the cell surface.

Determination of the level of curcumin -induced apoptosis showed that the use of BSA- curcumin or SbB-curcumin complexes increased the level of A431 cell death by 3.14 and 4.97-fold, respectively, while the viability of MDA-MB-231 cells decreased by 2-fold compared to the control for both protein carriers used. Therefore, the efficiency of apoptosis is determined primarily by the curcumin molecule , while BSA and SbB play the role of carriers.

It was shown that exposure to curcumin and its complexes caused cell death primarily by apoptosis , while the content of necrotic cells was at the control level.

Analysis of the content of the main signaling proteins showed a statistically significant decrease in the phosphorylated form of EGFR , which leads to an increase in the probability of the transition of malignant cells to the apoptotic pathway due to a decrease in the level of Akt-1 activation.

Study of immunogenicity of individual subunits of non-toxic recombinant diphtheria toxin. The evaluation of the immunogenicity of recombinant proteins was carried out to determine the possibility of their use in the creation of medicinal products based on them, including complexes with curcumin. The strongest immunogenic properties are characteristic of CRM197, while SbB showed a lower level of immunogenicity, which is the basis for the use of the B-subunit as a carrier of curcumin, since it will not cause an active immune response and is safer when used *in vivo*.

Thus, in the course of the dissertation, complexes of curcumin with proteins BSA, CRM197 and its B-fragment were created, their physicochemical properties and effects on malignant and non-malignant cells were investigated and analyzed, which made it possible to create approaches to increase the bioavailability and specificity of curcumin delivery to tumor cells. The obtained results allow us to draw the following conclusions:

1. Curcumin forms stable complexes with BSA and CRM197 due to the existence of at least two connection sites with the BSA molecule and with the CRM197 molecule;
2. The level of cytotoxicity and antiproliferative activity of curcumin -protein complexes was more than an order of magnitude higher than that of free curcumin ;
3. Protein- curcumin complexes do not have a pronounced cytotoxic effect on non-malignant cells;
4. Bioavailability of curcumin as part of complexes with curcumin increases due to increased solubility, while the specificity of curcumin delivery to malignant cells as part of complexes with a non-toxic recombinant derivative of diphtheria toxin increases due to interaction with the pro - HB - EGF receptor on these cells, which was determined by increasing the efficiency interactions of curcumin with the surface of cells and the level of internalization of complexes;

5. Apoptosis was the predominant way of death of malignant cells under the influence of curcumin -protein complexes ;
6. The immunogenicity of non-toxic derivatives of diphtheria toxin decreases with their size, which allows offering a smaller subunit SbB as a carrier of curcumin in the creation of commercial preparations.

In the work, for the first time, complexes of curcumin with diphtheria toxoid CRM197 and its B-fragment were obtained and characterized, and a higher level of inhibition of A431 and MDA-MB-231 cell lines was demonstrated by the obtained complexes in comparison with the complex of curcumin with BSA , free curcumin and free CRM197 or its B- a fragment. The proven stability of the complexes in aqueous environments and the effectiveness of the effect on malignant cells make them a promising basis for the creation of new therapeutic drugs.

Based on the dissertation materials, 3 works were published (equivalent to 5 works according to the Regulation on the Procedure for Conducting an Experiment for Awarding the Doctor of Philosophy Degree, approved by Resolution No. 167 of the Cabinet of Ministers of Ukraine dated March 6, 2019), including 2 articles in international publications of the first quartile Q 1 included in the SCOPUS international database, and 1 article in a domestic publication belonging to professional publications recognized by the Ministry of Education and Science of Ukraine; 2 theses in materials of international and domestic congresses and conferences.

Key words: curcumin , tumor diseases, antitumor effect, cytotoxic effect, cell signaling , malignant cells, breast cancer, protein carriers, blood proteins, molecular docking, chromatography, specific delivery, nanocomplexes, polymeric carriers, apoptosis.

СПИСОК

Публікацій за темою дисертації

Жукової Дарії Андріївни

1. Dariia Zhukova, Daryna Katashynska, Andrii Siromolot, Svitlana Romaniuk, Denys Kolybo, Serhiy Komisarenko. Nontoxic diphtheria toxin derivatives CRM197 and B-fragment can serve as the means for targeted curcumin delivery into sensitive cancer cells. Journal of Drug Delivery Science and Technology. Volume 96, 2024, 105673, ISSN 1773-2247, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105673>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224724003423>)
2. Zhukova D.A., Hrabovskyi O.O. Complexation of curcumin with bovine serum albumin and diphtheria toxoid CRM197. Biothechnologia Acta T. 16, No. 6, 2023, p. 62-67. doi.org/10.15407/biotech16.06.076. https://biotechnology.kiev.ua/images/BTA/2023/6_2023/Atamanchuk6_2023.pdf
Zhukova D.A. – проведення спектрофотометричних досліджень, написання тексту статті;
Hrabovskyi O.O. – проведення молекулярного докінгу
3. Shatursky OY, Manoilo KY, Gorbatiuk OB, Usenko MO, Zhukova DA, Vovk AI, Kobzar OL, Triakash IO, Borisova TA, Kolibo DV, Komisarenko SV. The geometry of diphtheria toxoid CRM197 channel assessed by thiazolium salts and nonelectrolytes. Biophys J. 2021 Jun 15;120(12):2577-2591. doi: 10.1016/j.bpj.2021.04.028. Epub 2021 May 1. PMID: 33940022; PMCID: PMC8390859.
4. Каташинська Д.О., Жукова Д.А., Манойлов К.Ю., Колибо Д.В., Комісаренко С.В. Нековалентні комплекси куркуміну з рекомбінантними похідними дифтерійного токсину як засоби доставки куркуміну в клітини. Український біохімічний конгрес 30 вересня-4

жовтня 2019. Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського.

5. Каташинська Д., Манойлов К., Жукова Д., Колибо Д., Комісаренко С. Рекомбінантна субодиниця В дифтерійного токсину як засіб доставки куркуміну в ракові клітини. Біологічний факультет Львівського національного університету. квітень 9, 2019 – квітень 11, 2019