

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»  
Институт фундаментальной медицины и биологии  
Кафедра микробиологии


Направление подготовки: 06.03.01 – Биология

Профиль подготовки: Микробиология и вирусология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ПИЛЛАР[5]АРЕНОВ С  
АМИНОКИСЛОТНЫМИ И БЕТАИНОВЫМИ ФРАГМЕНТАМИ В  
ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО А549


Студент 4 курса  
группы 01-802

" 1 " июня 2022 г.

  
\_\_\_\_\_ (Хабибрахманова А.О.)

Научный руководитель  
к.б.н., доцент


" 1 " июня 2022 г.

  
\_\_\_\_\_ (Зеленихин П.В.)

Заведующий кафедрой  
микробиологии

д.б.н., профессор,

" 1 " июня 2022 г.

  
\_\_\_\_\_ (Ильинская О.Н.)

Казань – 2022

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	5
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	7
1.1 Хиноны и их биологическое значение	7
1.2 Применение пиллар[n]аренов	7
1.2.1 Искусственные трансмембранные транспортные системы	8
1.2.2 Связывание клеток и нуклеиновых кислот	8
1.2.3 Клеточные адгезивы	9
1.2.4 Связывание ДНК	10
1.2.5 Ингибирование размножения бактерий	11
1.2.6 Взаимодействие пиллар[n]аренов с капсидами вирусов	13
1.3 Системы контролируемой доставки лекарств	13
1.3.1 Использование макроциклических амфифилов как основы везикул	14
1.3.2 Конъюгация с аминокислотами	16
1.3.3 Конъюгирование с органическими и металлсодержащими катионами	16
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	19

<b>2</b>	<b>МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ</b>	<b>19</b>
2.1	Используемые в экспериментальной работе материалы	19
2.1.1	Клеточные культуры	21
2.2	Колориметрическое определение выживаемости клеток при помощи МТТ – теста	22
2.3	Цитометрическое определение апоптозиндуцирующих свойств макроциклических соединений	23
2.4	Статистическая обработка результатов	24
<b>3</b>	<b>РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b>	<b>25</b>
3.1	Цитотоксическая активность пиллараренов	25
3.1.1	Характеристика влияния пиллараренов на жизнеспособность клеток A549	25
3.1.2	Характеристика влияния пиллараренов на жизнеспособность клеток LEC	30
3.1.3	Определение способности пиллараренов индуцировать апоптоз клеток A549 и LEC	35

## **ВЫВОДЫ**

## **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ**

## ВВЕДЕНИЕ

Растущий интерес к супрамолекулярной химии объясняется ее применением во многих областях [Yuan *et al.*, 2014]. Молекулярное распознавание, включающее взаимодействие хозяин-гость, играет жизненно важную роль в биологических процессах, поддерживающих жизнь [Bissantz *et al.*, 2010]. Эти нековалентные взаимодействия могут возникать в результате водородной связи, переноса заряда и  $\pi$ - $\pi$  укладки между молекулами, которые демонстрируют молекулярную комплементарность [Sathiyajith *et al.*, 2016]. Примерами макроциклов являются криптанды [Zhang *et al.*, 2014], краун-эфиры [Kralij *et al.*, 2008], циклофаны [Ramaiah *et al.*, 2010], циклопептиды [Russo *et al.*, 2016], циклодекстрины [Davis *et al.*, 2006], резоркарены [Timmerman *et al.*, 1996], кукурбит[n]урилы [Barrow *et al.*, 2015], каликс[n]арены [Böhmer, 1995], пиллар[n]арены [Ogoshi *et al.*, 2008].

Терапия различных заболеваний препаратами, заключенными в производные пиллар[n]аренов, в настоящее время привлекает внимание исследователей. Пиллар[n]арены представляют собой новый класс синтетических супрамолекулярных макроциклов, оптимизированных благодаря их особой архитектуре в форме столба, которая состоит из богатой электронами полости и двух точно настраиваемых ободков. Простота и разнообразие функционализации двух ободков открывают возможности для проектирования новых архитектур, топологических изомеров и каркасов [Sathiyajith *et al.*, 2016].

Примечательно, что этот развивающийся класс макроциклических рецепторов предлагает уникальную платформу для биологических целей. Они являются чудесными носителями с отчетливыми полостями для улавливания и инкапсуляции биологически активных гостевых лекарств. Пиллар[n]арены и их

производные могут включать комплексы с различными типами лекарств и витаминов для их пролонгированного/целенаправленного высвобождения. Пиллар[н]арены и их производные используются в качестве носителей противораковых, противосудорожных, антигипертензивных, глистогонных, противовоспалительных, противомикробных и антипсихотических препаратов. Они являются важными биосовместимыми рецепторами для улучшения растворимости, химической реактивности и снижения цитотоксичности малорастворимых препаратов в супрамолекулярной химии [Chen *et al.*, 2018].

Любые соединения, которые имеют потенциал и могут быть использованы в науке и медицине должны быть безопасными и соответствовать утвержденным стандартам, поэтому, в связи с вышесказанным, целью настоящей работы стала оценка цитотоксического действия ряда пиллараренов, а также их апоптозиндуцирующей активности в отношении клеток аденокарциномы лёгких человека A549 и эпителия легкого эмбриона коровы LEC.

В связи с поставленной целью решались следующие задачи:

- 1) Оценить антипролиферативное и токсическое действие пиллараренов по отношению к клеткам A549 в МТТ- тесте;
- 2) Оценить антипролиферативное и токсическое действие пиллараренов по отношению к клеткам LEC в МТТ- тесте;
- 3) Охарактеризовать способность макроциклических соединений индуцировать апоптоз клеток линий A549 и LEC при помощи проточной цитофлуориметрии.

## ВЫВОДЫ

1) Охарактеризована цитотоксичность пиллараренов AsN-298, AsN-300, AsN-302, AIG-205, AsN-294, AsN-305, AsN-342, AsN-348 по отношению к клеткам A549. Значимой токсичностью обладали только пилларарены AsN-294 и AIG-205, показатель  $IC_{50}$  которых составил 17.27 мкг/мл и 29.67 мкг/мл, соответственно.

2) Влияние исследованных пиллараренов на клетки LEC соответствует показателям, определенным для клеток A549. Пилларарены AsN-298, AsN-300, AsN-302, AsN-305, AsN-342, AsN-348 достоверно не снижали жизнеспособности клеток LEC. Значения  $IC_{50}$  веществ AsN-294 и AIG-205 составили 19.94 мкг/мл и 28.16 мкг/мл, соответственно.

3) Пиллар[5]арены AIG-205 и AsN-294, функционализованные этиловыми эфирами фенилаланина и триптофана, соответственно, в концентрации 25 мкг/мл индуцировали апоптоз клеток A549 после обработки в течение 24 ч, снижая долю неапоптотических клеток в популяции до 74.8 % и 72.7 %, соответственно. Апоптозиндуцирующим действием на клетки LEC обладал лишь AIG-205, обработка которым в течение 24 ч приводила к повышению доли клеток в популяции в состоянии апоптоза до 37.3 %, в то время как в варианте без обработки значение данного показателя не превышало 1.7 %