

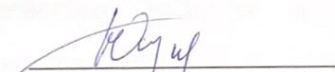
Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего  
образования «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»  
Институт фундаментальной медицины и биологии  
Кафедра микробиологии

Направление подготовки (специальность): 06.03.01 – Биология

Профиль (специализация): Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БЕТАИНОВЫХ  
ПРОИЗВОДНЫХ ПИЛЛАР[5]АРЕНОВ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ  
СОРБЕНТОВ ПЕСТИЦИДОВ

Обучающийся 4 курса  
группы 01– 001



Юсупов Г.Р.

Научный руководитель  
канд. биол. наук, доцент



Зеленихин П.В.

Заведующий кафедрой  
микробиологии  
д-р биол. наук, профессор



Ильинская О.Н.

Казань – 2024

## СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	3
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	4
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	6
1.1 Парациклофаны и их применение в биотехнологиях	6
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	16
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ</b>	16
2.1 Используемые в экспериментальной работе материалы	16
2.2 Культуры клеток	18
2.3 Колориметрическое определение выживаемости клеток при помощи МТТ – теста	19
2.4 Оценка апоптогенных свойств при помощи проточной цитометрии	20
2.5 Статистическая обработка результатов	21
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b>	22
3.1 Характеристика действия ASN-358 и глифосата на жизнеспособность клеток A549	22
3.2 Характеристика действия ASN-370 и параквата на жизнеспособность клеток A549 и LEK	24
3.3 Характеристика сочетанного действия ASN-370 и параквата на жизнеспособность опухолевых клеток A549 и клеток эпителия эмбрионов лёгкого коровы LEK	27
3.4 Характеристика сочетанного апоптоз-индуцирующего действия ASN-370 и параквата на клетки эпителия эмбрионов лёгкого коровы LEK	30
<b>ВЫВОДЫ</b>	32
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	33

## ВВЕДЕНИЕ

Достигнув к 2023 году численности 8 миллиардов, человечество продолжит расти и дальше, увеличившись еще на 2 миллиарда к 2050 году по оценкам ООН [Population. United Nation]. Такой популяционный рост должен быть поддержан увеличением производства сельскохозяйственной продукции на 60% по сравнению с 2005 годом. При этом поддержание продовольственной безопасности в мире в целом осложняется уменьшением доступности новых площадей сельскохозяйственных угодий, воды, а также усилением экологических проблем, связанных с интенсивным сельским хозяйством [Korittke *et al.*, 2019; Hossain *et al.*, 2020]. Применение современных стимуляторов роста растений и пестицидов лишь отчасти решают задачу увеличения количества производимой сельскохозяйственной продукции, одновременно отягощая проблему антропогенного загрязнения окружающей среды.

На долю гербицидов приходится до 40 % от всех пестицидов, используемых в современном сельском хозяйстве [Duke, Dayan, 2021]. При применении гербициды быстро проникают в почву и грунтовые воды, нанося ущерб окружающей среде [Mehdizadeh *et al.*, 2021]. Глифосат (N-(фосфометил)глицин и паракват (N,N'-диметил-4,4'-дипиридилий дихлорид) – одни из самых широко используемых гербицидов. Несмотря на низкую токсичность для животных, у глифосата и его производных обнаружены генотоксические свойства [Wozniak *et al.*, 2018; Congur, 2021], паракват же является высокотоксичным соединением для животных и человека, что обосновывает необходимость контроля содержания этих соединений в сельскохозяйственной продукции. Одним из способов решения данной проблемы является использование агентов, способных связывать молекулы гербицида и предотвращать его генотоксическое действие. Подобной активностью потенциально обладают макроциклические соединения из группы пиллар[n]аренов [Tang *et al.*, 2020; Tang *et al.*, 2023].

Любые соединения, планируемые к применению в области медицины и биологии должны соответствовать требованиям биосовместимости, поэтому, в связи с вышесказанным, целью настоящей работы стала оценка цитотоксического действия пиллараренов ASN-358 и ASN-370, способных образовывать комплексы с глифосатом и паракватом, соответственно, на клетки аденокарциномы лёгких человека A549 и эпителия лёгкого эмбриона коровы LEK..

В связи с поставленной целью решались следующие задачи:

- 1) Оценить токсическое действие пилларарена ASN-358 и глифосата на клетки A549 в МТТ-тесте;
- 2) Оценить токсическое действие пилларарена ASN-370 и параквата на клетки A549 и LEK в МТТ-тесте;
- 3) Оценить сочетанное цитотоксическое действие пилларарена ASN-370 и параквата на клетки A549 и LEK в МТТ-тесте;
- 4) Оценить сочетанное апоптозиндуцирующее действие пилларарена ASN-370 и параквата на клетки LEK методом проточной цитометрии.

## ВЫВОДЫ

1) Определена цитотоксичность пиллар[5]арена ASN-358. Во всем диапазоне исследованных концентраций пиллар[5]арен не обладал выраженной цитотоксической активностью в отношении клеток A549. Охарактеризована цитотоксичность изопропиламинной соли глифосата. Показано, что исследованное вещество значительно ингибирует жизнеспособность клеток A549 в концентрациях выше  $5,6 \cdot 10^{-2}$  М.  $IC_{50}$  глифосата составила 10.18 мг/мл.

2) Охарактеризована цитотоксичность пиллар[5]арена ASN-370. Показано, что исследованное вещество значительно ингибирует жизнеспособность клеток A549 в концентрациях выше  $2 \cdot 10^{-4}$  М, а клеток LEK в концентрациях выше  $1 \cdot 10^{-4}$  М.  $IC_{50}$  ASN-370 по отношению к клеткам A549 составила  $1.68 \cdot 10^{-4}$  М, по отношению к клеткам LEK составила  $0.56 \cdot 10^{-4}$  М, соответственно. Показано, что паракват значительно ингибирует жизнеспособность как клеток A549, так и клеток LEK в концентрациях выше  $3.8 \cdot 10^{-5}$  М.  $IC_{50}$  параквата по отношению к клеткам A549 составила  $3.63 \cdot 10^{-4}$  М, по отношению к клеткам LEK -  $2.93 \cdot 10^{-4}$  М.

3) Охарактеризованы комбинационные эффекты пиллар[5]арена ASN-370 и параквата на линии клеток аденокарциномы лёгких человека A549 и клеток эпителия эмбрионов лёгкого коровы LEK. Установлено, что во всех исследованных комбинациях паракват и ASN-370 проявили антагонистический характер взаимодействий, что свидетельствует о снижении цитотоксической активности параквата при совместном внесении агентов в среду культивирования.

4) Установлено, что пиллар[5]арен ASN-370 снижает апоптоз-индуцирующую активность параквата при сочетанном применении. Наибольшее снижение наблюдалось при молярном соотношении гербицид : макроцикл 1 : 2.