

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.04.01 (ОКСО 020400.62) – биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Дипломная работа

**ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ
ПРОИЗВОДНЫХ ДОКСОРУБИЦИНА И КУРКУМИНА**

Работа завершена:

"06" июня 2019 г.

 (Р. Карут)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель:

к.б.н., н.с.

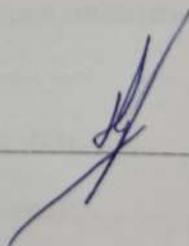
"06" июня 2019 г.

 (О.В. Бондарь)

Заведующая кафедрой

д.б.н., с.н.с.

"06" июня 2019 г.

 (В.М. Чернов)

Казань–2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	7
1.1 Апоптоз и метастазирование опухолевых клеток.....	10
1.2 Роль окислительного стресса в канцерогенезе.....	13
1.3 Природные вещества в химиотерапии и лечении рака	15
1.4 Куркумин	18
1.5 Дегидрозингерон	21
1.6 Доксорубицин.....	23
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	23
2.1 Оборудование	23
2.2 Реактивы и материалы	24
2.3 Культивирование клеток животных	25
2.4 Проллиферативный МТТ-тест	25
2.5 Колониеобразующий тест	26
2.6 Конфокальная микроскопия.....	26
2.7 Оценка пролиферации и миграционной активности опухолевых клеток в реальном времени.....	27
2.8 Обнаружение индукции апоптоза.....	28
2.9 Сканирующая электронная микроскопия.....	28
2.10 Оценка степень экспрессии маркеров апоптоза и молекул адгезии методом вестерн блота	33
2.11 Исследование антиоксидантных свойств.....	33
2.11.1 Определение восстановительной силы	33
2.11.2 Нейтрализация радикала ДФПГ(DPPH).....	34
2.11.3 Нейтрализация радикала ABTS	35
2.11.4 Нейтрализация активных форм кислорода в тесте ORAC	

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	36
3.1 Исследование противоопухолевых свойств новых производных доксорубицина.....	36
3.1.1 Определение цитотоксичности производных доксорубицина в отношении опухолевых клеток	36
3.1.2 Оценка влияния производных доксорубицина на пролиферацию и миграционную активность опухолевых клеток	38
3.1.3 Определение внутриклеточной локализации производных доксорубицина	40
3.2 Исследование противоопухолевых свойств новых производных дегидрозингерона	42
3.2.1 Оценка влияния производных дегидрозингерона на пролиферацию и миграционную активность опухолевых клеток	42
3.2.2 Исследование индукции апоптоза опухолевых клеток	44
3.2.3 Оценка уровня экспрессии в обработанных опухолевых клетках маркеров апоптоза и молекул адгезии.....	47
3.2.4 Влияния производных дегидрозингерона на морфологию опухолевых клеток	49
3.2.5 Оценка антиоксидантной активности производных дегидрозингерона и ряда других перспективных соединений с использованием тестов <i>in situ</i>	51
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	60
ВЫВОДЫ	61
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	62
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	64

ВВЕДЕНИЕ

Рак является ведущей причиной смерти в Соединенных Штатах, уступая только болезням сердца (Murphy *et al.*, 2017). По оценкам 2018 года около 1.7 миллиона раковых заболеваний было диагностировано у мужчин и женщин, около 609 000 смертей связаны с онкологией (Siegel *et al.*, 2018). Каждый год число случаев заболевания раком продолжает расти во всем мире. Ожидается, что к 2020 году число ежегодно диагностируемых случаев рака возрастет до 15 миллионов (Stewart, Kleihues, 2003).

Варианты лечения рака обычно представляют собой сочетание хирургической резекции, химиотерапии и облучения, которые обычно сопровождаются тяжелыми побочными эффектами. Кроме того, развитие резистентности приводит к относительно низким перспективам восстановления и является одним из наиболее ярких вопросов требующих решения. Поэтому существует необходимость разработки новых вариантов противоопухолевого лечения. В связи с этим было разработано много новых противораковых соединений, которые продемонстрировали перспективную активность *in vitro*. Однако их дальнейшее развитие часто ограничено в связи с низкой биодоступности (Klimpel *et al.*, 2019).

Несколько эпидемиологических исследований сообщили об обратной зависимости между потреблением богатой фитохимическими веществами диеты и заболеваемостью раком молочной железы, толстой кишки, легких, поджелудочной железы и предстательной железы. Клеточные и молекулярные события, регулируемые этими химиопреентивными фитохимическими веществами, включают апоптоз, клеточный цикл, пролиферацию клеток, репарацию ДНК, дифференцировку, функциональную инактивацию/активацию онкогенов и генов-супрессоров, ангиогенез и образование метастаз. Наряду с этим, смягчение окислительного стресс-опосредованного опухолевого процесса является

одним из механизмов, с помощью которых фитохимические вещества проявляют свой противоопухолевый потенциал (Chikara et al., 2018).

По данным доклинических исследований куркумин в комбинации с паклитакселом продемонстрировал высокую эффективность при лечении резистентных форм опухолей (Wei et al., 2017). Дегидрозингерон или феррулоилметан, являющийся производным куркумина, по результатам недавних исследований, эффективно ингибирует рост злокачественных опухолей, в частности опухолей толстого кишечника (Yogosawa et al., 2012). Дегидрозингерон химически представляет собой половину молекулы куркумина и характеризуется в сравнении с ним существенно большей растворимостью и биодоступностью (Hampannavar et al., 2016).

Антрациклины представляют собой класс противоопухолевых препаратов с самым широким спектром активности при онкологических заболеваниях человека, и доксорубин является одним из самых эффективных его представителей (Minotti et al., 2004). Однако, доксорубин характеризуется высокой кардиотоксичностью и способствует развитию множественной лекарственной устойчивости.

Поэтому поиск и исследование новых аналогов доксорубина и дегидрозингерона, активно воздействующих на целевые клетки и не вызывающих побочных реакций, становится одной из самых актуальных задач фармакологии.

Целью работы является поиск молекулярных мишеней действия новых противоопухолевых соединений на основе производных дегидрозингерона и доксорубина.

В работе решались следующие **задачи**:

- 1) Определить цитотоксические концентрации новых производных доксорубина и дегидрозингерона, ингибирующие пролиферацию опухолевых и условно нормальных клеток человека на 50% - IC_{50} .

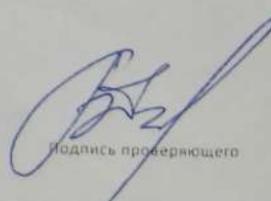
- 2) Оценить влияние новых производных дегидрозингерона и доксорубина на миграционную активность опухолевых клеток и индукцию апоптоза.
- 3) С помощью конфокальной и электронной микроскопии определить внутриклеточную локализацию доксорубина и морфологические изменения опухолевых клеток, обработанных производными дегидрозингерона.
- 4) Оценить степень экспрессии в опухолевых клетках, обработанных производными дегидрозингерона, маркеров апоптоза и молекул адгезии (BAX, Bcl-2, Bcl-XL, c-Myc, E-cadherin, Caspase-3) методом вестерн блота.
- 5) Оценить антиоксидантную активность производных дегидрозингерона и ряда других перспективных соединений с использованием тестов *in situ*.



СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	Карут Рауда
Подразделение	Кафедра Генетике
Тип работы	Магистерская диссертация
Название работы	ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ДОКСОРУБИЦИНА И КУРКУМИНА
Название файла	Карут Рауда.docx
Процент заимствования	1,15%
Процент цитирования	0,57%
Процент оригинальности	98,28%
Дата проверки	09:24:55 05 июня 2019г.
Модули поиска	Сводная коллекция ЭБС; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Модуль поиска Интернет; Модуль поиска "КПФУ"; Коллекция Медицина; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов
Работу проверил	Бабынин Эдуард Викторович ФИО проверяющего
Дата подписи	05.06.19 

Чтобы убедиться
в подлинности справки,
используйте QR-код, который
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.