


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

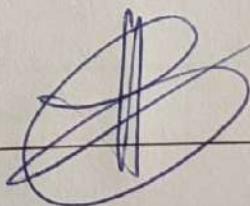
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ПАРАЦИКЛОФАНОВ В ОТНОШЕНИИ
КЛЕТОК ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ФИБРОБЛАСТОВ КОЖИ
ЧЕЛОВЕКА

Обучающийся 4 курса
группы 01-904
"13" сентябрь 2023 г.



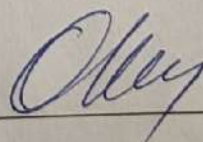
Вепрева П. Д.

Научный руководитель
канд. биол. наук, доцент
"13" сентябрь 2023 г.



Зеленихин П. В.

Заведующий кафедрой
микробиологии
д-р биол. наук, профессор
"13" сентябрь 2023 г.



Ильинская О.Н.

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Особенности парациклофанов из группы пиллар[п]аренов	6
1.2 Макроциклические соединения как элементы для создания средств доставки	8
1.2.1 Пиллар[п]арены в качестве основы супрамолекулярных гелей	9
1.2.2 Пиллар[п]арены как элементы для создания средств доставки терапевтических препаратов	11
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	15
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	15
2.1 Используемые в экспериментальной работе материалы	15
2.1.1 Клеточные культуры	16
2.2 Колориметрическое определение выживаемости клеток при помощи МТТ – теста	18
2.3 Определение апоптозиндуцирующего действия пиллараренов при помощи проточной цитометрии	19
2.4 Статистическая обработка результатов	21
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	22
3.1 Получение первичной культуры фибробластов кожи человека	22
3.2 Цитотоксическая активность пиллараренов	23
3.2.1 Характеристика действия пиллараренов на жизнеспособность клеток A549 и HSF при помощи МТТ-теста	23
3.2.2 Характеристика апоптозиндуцирующего действия пиллараренов на клетки A549 и HSF при помощи проточной цитофлуориметрии	26
ВЫВОДЫ	29
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	30

ВВЕДЕНИЕ

Пиллар[*n*]арены представляют собой класс макроциклических соединений, впервые описанный Огоши и его коллегами в 2008 году в качестве пиллар[5]аренов [Ogoshi *et al.*, 2008]. Данные вещества являются 1,4-дизамещенными парациклофанами, которые получены из гидрохинонов, связанных метиленовыми мостиками в положениях 2 и 5 [Ogoshi *et al.*, 2010]. В 2009 году Мейер с соавторами впервые сообщили о пиллар[6]аренах [Meier *et al.*, 2009]. Из-за их жесткой пяти- или шестиугольной формы с гидрофобными полостями диаметром 4.7–7.5 Å, пиллар[5]арены и пиллар[6]арены уже нашли перспективу широкого практического применения [Ogoshi *et al.*, 2013]. Они способны инкапсулировать широкий спектр катионных и нейтрально заряженных «гостей» [Xia *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2016]. Эти надмолекулярные свойства пиллараренов можно модулировать за счет соответствующей функционализации обоих концов макроциклической полости, чтобы обеспечить, например, лучшую растворимость в воде или амфифильный характер молекулы [Wu *et al.*, 2022; Guo *et al.*, 2016].

Пилларарены можно широко использовать во многих областях исследований, создавая на их основе стимул-чувствительные супрамолекулярные системы доставки «хозяин-гость» [Joseph, 2021], пористые материалы [Zhang *et al.*, 2021], материалы для хранения/разделения газа [Yao *et al.*, 2022], молекулярные устройства и машины [Kato *et al.*, 2022], флуоресцентные материалы [Zhu *et al.*, 2022] и другое.

Применение пиллараренов в качестве носителей для систем адресной доставки лекарств представляет особый интерес, так как в зависимости от структуры носителей на основе этих веществ, типа заболевания и природы лекарственного средства может быть использована различная стратегия активации/высвобождения лекарств, например, высвобождение лекарств при химической реакции с межклеточными соединениями, например, тиолами, аминами, активными формами кислорода и другими [Zhu *et al.*, 2021].

Пиллар[н]арены с потенциалом для использования в биомедицинских приложениях должны быть охарактеризованы в контексте их биосовместимости и стабильности в физиологических условиях. В связи с вышесказанным, целью настоящей работы стала оценка цитотоксического действия пиллар[5]аренов – потенциальных носителей терапевтических агентов на клетки аденокарциномы легкого человека A549 и фибробласты кожи человека (HSF).

В связи с поставленной целью решались следующие задачи:

- 1) Получить первичную культуру фибробластов кожи человека;
- 2) Оценить антипролиферативное и токсическое действие набора пиллараренов по отношению к клеткам A549 и HSF в МТТ-тесте;
- 3) Охарактеризовать апоптозиндуцирующее действие пиллараренов на клетки A549 и HSF при помощи проточной цитофлуориметрии.

ВЫВОДЫ

1) Получена жизнеспособная первичная линия фибробластов кожи человека из кожи здорового донора. Морфология клеток культуры позволила заключить, что она представлена фибробластами папиллярного слоя кожи.

2) Пилларарен AUI-298 не обладал способностью ингибировать пролиферацию клеток аденокарциномы легких человека A549 и первичной культуры фибробластов кожи человека HSF, в диапазоне исследованных концентраций 1 мкг/мл – 150 мкг/мл. Пилларарен AUI-250 ингибировал пролиферацию клеток A549 и HSF в концентрации 50 мкг/мл и более для обеих клеточных линий. При этом полумаксимальная ингибирующая концентрация IC_{50} AUI-250 составила 47.85 для клеток A549 и 54.67 для клеток HSF.

3) Пилларарен AUI-298 обладал слабым апоптозиндуцирующим действием на клетки A549 и HSF в концентрации 100 мкг/мл. Пилларарен AUI-250 обладал выраженным апоптозиндуцирующим действием на клетки A549 и HSF. Апоптозиндуцирующее действие AUI-250 проявлялось сильнее в отношении опухолевых клеток A549, чем в отношении нормальных клеток HSF.