

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): 06.04.01 – Биология

Профиль (магистерская программа): Микробиология и вирусология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ
**БИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ НОВЫХ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ
КОМПЛЕКСОВ МЕДИ (I) И ЗОЛОТА (I) И ВОДОДИСПЕРГИРУЕМЫХ
НАНОЧАСТИЦ НА ИХ ОСНОВЕ ДЛЯ АНТИМИКРОБНОЙ
ХИМИОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**

Обучающийся 2 курса
группы 01-240-2



Сабилова З.Р.

Научный руководитель
канд. биол. наук, доцент



Карамова Н.С.

Заведующий кафедрой микробиологии
д-р биол. наук, профессор



Ильинская О.Н.

Казань – 2024

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Антимикробная активность соединений металлов	9
1.1.1 Антимикробные свойства соединений меди	10
1.1.1.1 Механизмы антимикробного действия соединений меди	15
1.1.1.1.1 Повреждение клеточной мембраны бактерий соединениями меди	15
1.1.1.1.2 Действие соединений меди на ДНК	16
1.1.1.1.3 Воздействие соединений меди на клеточные биомолекулы	17
1.1.2. Антимикробные свойства соединений золота	19
1.1.2.1. Механизм действия соединений золота	22
1.2 Химиодинамическая терапия – альтернативный способ лечения инфекций	22
1.2.1. Химиодинамическая терапия, опосредованная железом	24
1.2.2. Химиодинамическая терапия на основе меди	25
1.2.3 Химиодинамическая терапия на основе золота	27
1.3 Применение наноматериалов как средств доставки металлов	28
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	30
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	30
2.1 Исследуемые соединения	30
2.2 Используемые штаммы тест-микроорганизмов	31
2.3 Используемые клеточные линии	32
2.4 Препараты сравнения, используемые в работе	33

2.5 Изучение антимикробных свойств комплексов Au (I) и Cu (I) и вододиспергируемых наночастиц на их основе в отношении тест-штаммов.....	33
2.6 Оценка воздействия тестируемых соединений на клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану бактерий.....	34
2.6.1 Воздействие соединений на клеточную стенку бактерий.....	34
2.6.2 Изучение влияния тестируемых комплексов на проницаемость цитоплазматической мембраны бактерий.....	35
2.6.3 Оценка изменения мембранного потенциала бактерий.....	35
2.7 Оценка потенциала новых люминесцентных комплексов золота (I) и меди (I) для антимикробной химиодинамической терапии.....	36
2.8 Изучение цитотоксических свойств комплексов Au (I) и Cu (I).....	37
2.8.1 Изучение гемолитической и гемоагглютинационной активности...37	
2.8.2 Оценка цитотоксичности с помощью МТТ теста.....	37
2.9 Статистическая обработка результатов.....	38
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	39
3.1 Изучение антимикробных свойств новых люминесцентных комплексов Au (I), Cu (I) и наночастиц на их основе.....	39
3.2 Воздействие золотых и медных комплексов на целостность клеточной стенки бактерий.....	43
3.3 Изучение влияния тестируемых комплексов на проницаемость цитоплазматической мембраны	44
3.4 Оценка изменения мембранного потенциала бактерий	46
3.5 Оценка потенциала новых люминесцентных комплексов золота (I) и меди (I) для антимикробной химиодинамической терапии.....	47
3.6 Изучение цитотоксических свойств комплексов золота (I) и меди (I).....	49

3.6.1	Определение гемоагглютинационной активности исследуемых золотых и медных комплексов.....	49
3.6.2	Определение гемолитической и цитотоксической активности исследуемых золотых и медных комплексов.....	50
	ВЫВОДЫ.....	54
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	55

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время бактериальные инфекции являются распространенной причиной заболеваемости и смертности, что делает их актуальной проблемой во всем мире. Ко всему прочему, бактерии обладают способностью к формированию сообществ - биопленок, которые могут повышать устойчивость бактерий к лекарственным препаратам и тем самым способствовать развитию резистентности к антибиотикам и появлению бактерий с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ).

Широкое распространение инфекций, вызванных бактериями с МЛУ, является глобальной проблемой здравоохранения. За последние несколько лет она усугубилась из-за усиления адаптивных свойств бактерий и отсутствия передовых стратегий лечения. Из-за низкой биодоступности и ограниченного проникновения в инфицированные участки существующие антибиотики часто не способны противостоять росту бактерий. Для лечения инфекций, вызванных патогенами с МЛУ иногда требуется применение от 6 до 7 различных препаратов [Levy, Marshall, 2004]. Поэтому совершенно очевидно, что необходимо разработать методы лечения, не зависящие от приема антибиотиков. Таким новым альтернативным подходом для лечения опасных инфекционных заболеваний бактериальной природы может стать химиодинамическая терапия (ХДТ), которая была предложена в качестве новой терапевтической стратегии в 2016 году и в последнее время успешно применяется в антибактериальных целях. ХДТ основана на использовании реакции Фентона и / или фентоноподобной реакции, инициирующей разложение пероксида водорода (H_2O_2) солями металлов (железа, меди, золота, марганца, кобальта, молибдена, платины, вольфрама, никеля, серебра, рутения и цинка) для получения гидроксильного радикала ($\bullet OH$), который является разновидностью активных форм кислорода (АФК) и может убивать клетки-мишени в зоне поражения [Jia *et al.*, 2022; Tang *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2016].

Данная антимикробная терапия имеет преимущества по сравнению с другими методами - низкий уровень побочных эффектов, простота использования терапевтического оборудования или вовсе его отсутствие.

В тоже время, некоторые металлы и наноматериалы на их основе, которые вводятся в процессе химиодинамической терапии, также могут быть токсичными для бактерий за счет других механизмов, реализуя тем самым синергический антибактериальный эффект. Эти механизмы включают нарушение функции клеточной стенки и мембраны бактерий, дисфункцию белка, нарушение ассимиляции питательных веществ и другое.

В соответствии с вышеизложенным, целью настоящей работы явилась оценка антимикробного потенциала новых люминесцентных комплексов меди (I), золота (I) и вододиспергируемых наночастиц на их основе для антимикробной химиодинамической терапии.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

1) Определить антимикробную активность комплексов меди (I), золота (I) и вододиспергируемых наночастиц на их основе в отношении типовых штаммов грамположительных, грамотрицательных бактерий и грибов.

2) Оценить воздействие исследуемых комплексов металлов на клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану бактерий.

3) Охарактеризовать цитотоксичность соединений на условно-нормальных клеточных линиях человека, определить гемолитическую и гемоагглютинационную способность исследуемых комплексов меди и золота.

4) Определить потенциал новых люминесцентных комплексов золота (I) и меди (I) для антимикробной химиодинамической терапии.

ВЫВОДЫ

1) Новые комплексы Au (I) и Cu (I) обладают высокой антимикробной активностью в отношении грамположительных бактерий на уровне препаратов сравнения хлорамфеникола и норфлоксацина. Среди комплексов золота наиболее активным является соединение **1** (МИК/МБК = 31,3 мкМ). Среди комплексов меди наилучший антимикробный эффект демонстрируют соединения **5, 6, 10, 11, 14** (МИК/МБК=1,9-125 мкМ). Вододиспергируемые наночастицы на основе комплексов Au (I) и Cu (I) значительно улучшают их антимикробные свойства против грамположительных и грамотрицательных бактерий. Все исследованные комплексы не обладают противогрибковым действием.

2) Исследованные новые комплексы меди и золота обладают мембраноповреждающим действием на грамположительные бактерии, обусловленным деполяризацией цитоплазматической мембраны.

3) Протестированные вещества проявляют низкую гемолитическую и агглютинационную активность и умеренный цитотоксический эффект. Наночастицы на основе комплексов Au (I) и Cu (I) проявляют цитотоксичность на том же уровне, что и индивидуальные соединения.

4) Комплекс Cu (I) генерирует внутриклеточные АФК в концентрациях, близких к его минимальной бактерицидной концентрации (МБК \geq 3.9 мкМ) и может представлять интерес в качестве нового антимикробного агента для химиодинамической терапии.