

V.I. Belyakov – Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor
S.I. Pavlenko - Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor

УДК: 615.015.35

ХАРАКТЕРИСТИКА И ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ IN VITRO АЗАГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ НИДО-КАРБОРАНОВ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ БОР-НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ

Олеся Григорьевна Губина¹, Александра Дугаровна Балданшириева², Лидия Альфредовна Смышляева³, Владимир Леонидович Русинов⁴, Михаил Викторович Вараксин⁵, Олег Германович Макеев⁶

^{1,2,6}ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

³⁻⁵ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия

¹olesyagubina.1998@mail.ru

Аннотация

Введение. Новые водорастворимые азаетероциклические производные нидо-карборанов (соединения 1-3) являются кандидатами в агенты для бор-нейтронозахватной терапии онкологических заболеваний (далее – БНЗТ). **Цель исследования** - анализ цитотоксичности данных соединений и определении перспективы их дальнейших исследований. **Материалы и методы.** Для анализа уровня цитотоксичности борорганических соединений определили индексы цитотоксичности (IC₅₀) с помощью МТТ-теста на клетках глиобластомы человека А-172 и линии эмбриональных клеток легких человека. **Результаты.** IC₅₀ борсодержащих веществ для клеток глиобластомы человека А-172 составили 150-243 мкМ, для клеток легких эмбриона человека 424-944 мкМ. **Обсуждение.** Исследуемые карбораны 1-3 продемонстрировали значительно более выраженное токсическое действие в отношении опухолевых клеток. **Выводы.** Проведенные исследования цитотоксичности in vitro позволяют рассматривать синтезированные азаетероциклические производные нидо-карборанов в качестве перспективных агентов доставки бора.

Ключевые слова: бор-нейтронозахватная терапия, карбораны, цитотоксичность.

CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF IN VITRO CYTOTOXICITY OF AZAHETEROCYCLIC NIDO-CARBORANES – POTENTIAL AGENTS FOR BORON-NEUTRON CAPTURE THERAPY

Olesya G. Gubina¹, Alexandra D. Baldanshirieva², Lidiya A. Smyshlyayeva³, Vladimir L. Rusinov⁴, Mikhail V. Varaksin⁵, Oleg G. Makeev⁶

^{1,2,6}Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

³⁻⁵Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

¹olesyagubina.1998@mail.ru

Abstract

Introduction. New water-soluble azaheterocyclic derivatives of nido-carboranes are candidates for boron-neutron capture therapy agents. **The aim of the study** - to analyze the cytotoxicity of these compounds and determine the prospects for their further research. **Materials and methods.** To analyze the cytotoxicity level of these compounds, cytotoxicity indices (IC₅₀) were determined using an MTT-test on human glioblastoma A-172 cells and human embryonic lung cell lines. **Results.** IC₅₀ of boron-containing substances for human glioblastoma cells A-172 were 150-243 μM, for human embryonic lung cells were 424-944 μM. **Discussion.** The studied carboranes 1-3 demonstrated a significantly more pronounced toxic effect against tumor cells. **Conclusions.** The conducted cytotoxicity studies in vitro allow us to consider synthesized azaheterocyclic derivatives of nido-carboranes as promising boron delivery agents.

Keywords: boron neutron capture therapy, carboranes, cytotoxicity.

ВВЕДЕНИЕ

Бор-нейтронозахватная терапия – это экспериментальный метод лечения злокачественных опухолей, основанный на способности изотопа ¹⁰B захватывать тепловые нейтроны с последующей реакцией деления и образованием частиц с высокой линейной передачей энергии. Внутриклеточное выделение энергии в пределах 5-9 μм в конечном итоге приводит к селективному разрушению клеток, накопивших борсодержащий препарат [1]. Основным ограничением активного внедрения БНЗТ в клиническую практику является отсутствие оптимального агента для доставки терапевтической концентрации бора к опухолевым клеткам с высоким уровнем селективности, по сравнению с нормальными тканями. Только два борорганических препарата, боркапнат натрия (BSH) и борфенилаланин (BPA), в настоящее время одобрены для применения [2]. Несмотря на наличие положительных результатов использования этих борорганических соединений для БНЗТ [3], они демонстрируют умеренную избирательность накопления и эффективность.

Цель исследования – определить уровень цитотоксичности новых водорастворимых азаетероциклических нидо-карборанов и оценить перспективу дальнейших исследований данных соединений в качестве кандидатов в агенты для бор-нейтронозахватной терапии онкологических заболеваний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки уровня цитотоксичности полученных производных нидо-карборанов провели серию экспериментов на культурах клеток легких эмбриона человека и глиобластомы А-172 (как клетках клинически значимой опухоли для применения БНЗТ). В культуральные флаконы исследуемые агенты 1-3 (рис. 1) вносили в диапазоне концентраций от 80 μM до 3 mM, экспозиция составляла 3 ч в CO₂-инкубаторе (Sanyo, Япония) при 37°C. Индекс цитотоксичности (IC₅₀) определяли посредством МТТ-теста (TOX1, Sigma Aldrich), который основан на способности митохондриальных дегидрогеназ метаболически активных клеток восстанавливать 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолий бромид в формазан, кристаллизующийся внутри

клеток. Образовавшийся формазан извлекали из клеток в раствор с использованием смеси ДМСО/изопропанол (1:1), а затем определяли оптические плотности растворов как экспериментальных, так и контрольных групп при длине волны 570 нм (на вертикальном спектрофотометре Multiskan GO Thermo Scientific, Япония).

Статистическую обработку данных проводили в программе RStudio (Version 0.99.903 © 2009-2016 RStudio Inc.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 2 показаны графики изменений жизнеспособности клеток легких эмбриона человека после экспозиции с исследуемыми азагетероциклическими ницо-карборанами в полулогарифмической системе координат. Выявили, что соединения 1-3 практически не проявляют цитотоксического действия в диапазоне концентраций до 300 μM .

Карбораны 1-3 менее токсичны в отношении интактных клеток (клеток легких эмбриона человека), а большая цитотоксичность отмечается у соединения 1. На опухолевые клетки наблюдается более выраженное токсическое действие исследуемых агентов. Как показано на рис. 3, даже при концентрации около 300 μM действие всех трех веществ 1-3 сопровождается гибелью большинства культивируемых клеток.

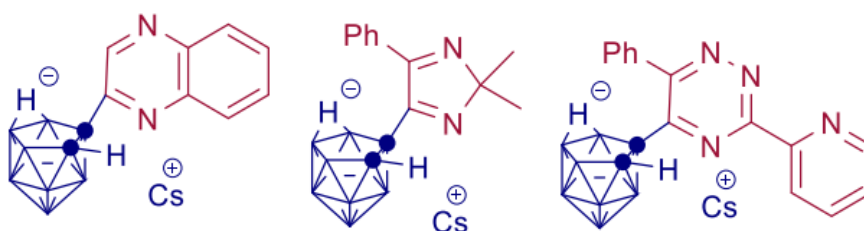


Рис. 1. Структура исследуемых карборанов 1-3 (слева направо)

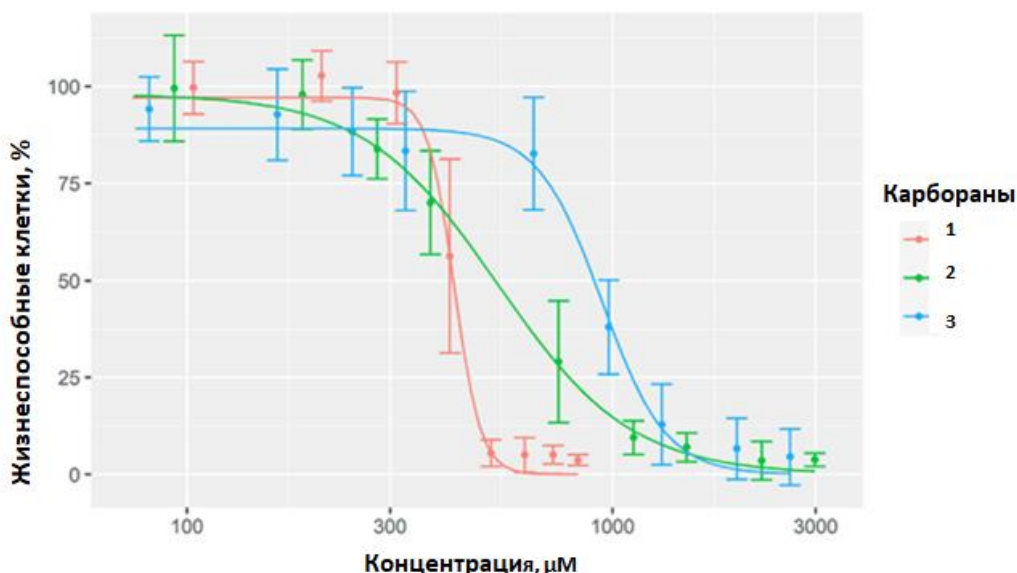


Рис. 2. Оценка цитотоксического действия азагетероциклических ницо-карборанов 1-3 на клетки легкого эмбриона человека, среднее значение \pm SD

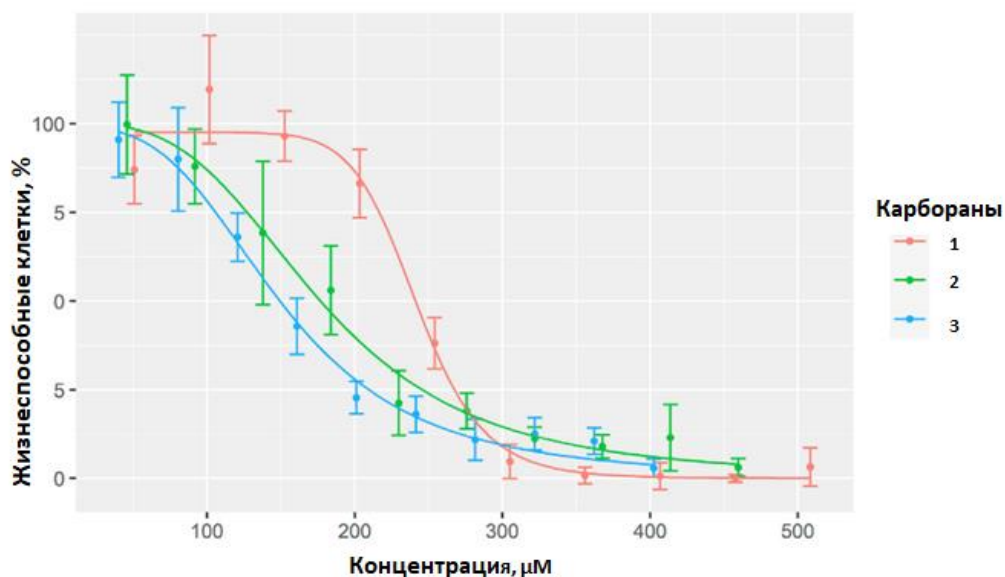


Рис. 3. Оценка цитотоксического действия азагетероциклических нидо-карборанов 1-3 на клетки глиобластомы человека А-172, среднее значение \pm SD

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам экспериментов, полученные азагетероциклические карбораны 1-3 демонстрируют значительно более выраженное токсическое действие на клетки глиобластомы, по сравнению с интактными клетками. Также стоит отметить, что соединение 3, проявляющее наименьшую токсичность в отношении интактных клеток, напротив, обладает большим токсическим действием на опухолевые клетки (в сравнении с веществами 1 и 2) и поэтому особенно перспективно для дальнейших исследований.

ВЫВОДЫ

Таким образом, индексы цитотоксичности (IC₅₀) новых водорастворимых азагетероциклических производных нидо-карборанов определили на клеточных линиях глиобластомы человека А-172 (IC₅₀ = 150-243 мМ) и легких эмбриона человека (IC₅₀ = 424-944 мМ) с помощью МТТ-теста. Проведенные эксперименты *in vitro* позволяют рассматривать синтезированные соединения (и в особенности соединение 3) в качестве перспективных кандидатов в агенты БНЗТ для дальнейших исследований.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Boron neutron capture therapy: Current status and future perspectives / Dymova M.A., Taskaev S.Y., Richter V.A. et al. // *Cancer Commun (Lond)*. – 2020; 40(9): 406-421.
2. Boron agents for neutron capture therapy / Hu K., Yang Z., Lingling Zhang L. et al. // *Coordination Chemistry Reviews*. – 2020; 405: 213139.
3. Azaheterocyclic derivatives of ortho-carborane: synthetic strategies and application opportunities / Smyshliaeva L.A., Varaksin M.V., Charushin V.N. et al. // *Synthesis*. – 2020; 52: 337-352.

Сведения об авторах

О.Г. Губина – студент

А.Д. Балданшириева – ординатор

Л.А. Смышляева – кандидат химических наук

В.Л. Русинов – доктор химических наук, профессор

М.В. Вараксин – кандидат химических наук, доцент

О.Г. Makeev – доктор медицинских наук, профессор

Information about the authors

O.G. Gubina – student

A.D. Baldanshirieva – postgraduate student

L.A. Smyshlyeva – Candidate of Sciences (Chemistry)

V.L. Rusinov – Doctor of Science (Chemistry), Professor

M.V. Varaksin – Candidate of Sciences (Chemistry), Docent

O.G. Makeev – Doctor of Science (Medicine), Professor

УДК: 577.218

РАЗРАБОТКА ПОТЕНЦИАЛЬНОГО МЕТОДА КОРРЕКЦИИ ДЕРМАТИТОВ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Мария Анатольевна Десятова¹, Александр Игоревич Пономарев², Всеволод Викторович Мелехин³, Артем Владимирович Коротков⁴, Олег Германович Makeev⁵

¹⁻⁵ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

¹⁻⁵ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург, Россия

³ЛПБКиГТ, ИЦ ХФТ ХТИ ФГАОУ ВО «Уральский Федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия

¹mardesyatova@yandex.ru

Аннотация

Введение. Ген Klotho способствует подавлению возрастных изменений и обладает противовоспалительным действием при наличии его экспрессии. Поэтому может быть использован в качестве альтернативного подхода предупреждения и лечения атопического дерматита (АД) на молекулярном уровне. Современные терапевтические подходы, сосредоточенные на поверхностном воздействии на пораженные участки кожи и противовоспалительной терапии не всегда эффективны. В настоящем исследовании мы разработали новый подход, который с помощью экзосом, сверхэкспрессирующих Klotho, потенциально позволит обратить вспять апоптоз и предупредить АД. **Цель исследования** - разработка метода таргетной доставки для коррекции нарушений барьеров кожи с применением ранее разработанного алгоритма, позволяющего вызвать гиперэкспрессию Klotho в клетках- мишенях. **Материалы и методы.** Проведена постановка методики, позволяющей вызывать гиперэкспрессию гена Klotho путем адаптации уже отработанной нами ранее технологии трансфекции целевых клеток с использованием генного конструкта, несущего дополнительные копии данного