

Шевченко И.К.¹, Аникина Л.В.^{1,2}

¹Пермский государственный технический университет

²Институт технической химии УрО РАН

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ТРИТЕРПЕНОИДОВ В ТЕСТЕ *IN VITRO*.

В настоящее время наблюдается повышенный интерес к соединениям, выделенным из природного сырья и соединениям, синтезированным на их основе. Среди соединений растительного происхождения пентациклические тритерпеноиды представляют собой наиболее перспективную основу для построения комбинаторных библиотек биологически активных соединений. Одним из наиболее перспективных для практического использования представителей данной группы является бетулин, а так же его производное аллобетулон. Предыдущие исследования показывают, что тритерпеноиды имеют противовирусную, антибактериальную, противогрибковую и противовоспалительную активность.

Цель работы – определение цитотоксичности *in vitro* синтетически модифицированных бетуллона и аллобетуллона на мышинных тимоцитах.

Мышинные тимоциты были выделены в виде первичной культуры из беспородных белых мышей-самцов. Объектами исследования служили вновь синтезированные соединения производных бетуллона и аллобетуллона, проявившие в предварительных тестах иммуномодулирующее действие. Соединения были синтезированы в лаборатории биологически активных соединений Института технической химии УрО РАН. Цитотоксичность определяли культивированием тимоцитов с исследуемыми веществами в полной питательной среде (среда 199 с добавлением 2 мМ L-глутамин и 10 мМ HEPES). В лунку 96-луночного круглодонного планшета вносили 190 мкл суспензии тимоцитов в полной питательной среде в концентрации $5 \cdot 10^6$ клеток в 1 мл и добавляли исследуемые вещества, растворенных в 10 мкл ДМСО в концентрациях 10^{-4} (10^{-3} , 10^{-5}) М. В контрольную лунку было добавлено 10 мкл ДМСО. Через 1 час после термостатирования при 37°C был определен процент мертвых и живых клеток общепринятым методом с использованием окраски трипановым синим.

Эксперименты проводили в 3-5-кратной повторности. Согласно данным, полученным в ходе исследования, производные бетулоновой кислоты и аллобетуллона проявили достоверный цитотоксический эффект в концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ М. Наибольшую активность проявили: А-4, В-3, Т-9, Т-10, Т-17, Т-18, Т-19, и Т-20. Среди них наиболее активными являются А-4 и Т-9, вызвавшие выживание соответственно 47,33% и 44,6% клеток при концентрации 10^{-4} М. Определение цитотоксичности наиболее активных соединений в дополнительных концентрациях 10^{-3} М и 10^{-5} М позволило вычислить их ингибирующие

концентрации (ИК): ИК₅₀(А-4) = 7·10⁻⁵М, ИК₅₀(В-3) = 1,2·10⁻³М, ИК₅₀(Т-17) = 1·10⁻³М, ИК₅₀(Т-18) = 7,3·10⁻⁵М, ИК₅₀(Т-19) = 5,3·10⁻⁵М, ИК₅₀(Т-20) = 5,6·10⁻⁵М, ИК₅₀(Т-9) = 4,9·10⁻⁵М, ИК₅₀(Т-10) = 1,8·10⁻⁵М.

По найденным значениям ИК₅₀, можно сравнить группы веществ по наибольшей активности. В этом случае наибольшее влияние на тимоциты оказали **Т-19** (Метилловый эфир 2,3-секо-2-гидрокси-2-циано-19β,28-эпоксиолеан-3-овой кислоты) и **Т-20** (Метилловый эфир 2,3-секо-2-циано-3-гидрокси-луп-20(29)-ен-28-овой кислоты), **Т-9** (2,3-секо-2-циано-луп-20(29)-ен-3-аль-28-овая кислота) и **Т-10** (2,3-секо-2-циано-луп-20(29)-ен-3,28-диовая кислота).

Это влияние на Т-лимфоциты можно связать со структурой активных соединений. По литературным данным наибольший эффект на цитотоксичность и апоптотическую активность оказывают заместители на С3 и С28. Это подтверждается экспериментальными данными. Разрыв между С₂ и С₃, а также CN-группа введенная в положение С₂ и -COOH, -ОН, и эфирная группа в положении С₃ имеют наибольшее влияние на активность исследуемых соединений.

Выявленная в результате проведенного исследования цитотоксичность по отношению к мышинным тимоцитам производных бетулоновой кислоты и аллобетулона в условиях целого организма должна приводить к угнетению реакций клеточного иммунитета. Кроме того, следует протестировать данные вещества на других клеточных линиях, чтобы установить специфичность цитотоксического действия.

Научный руководитель – канд.биол. наук Аникина Л.В.