

Вивчення протипухлинної активності основ Манніха флавоноїдів

М.С. Фрасинюк^{1*}, Г.П. Мруг¹, С.П. Бондаренко²,
В.П. Хиля², В.С. Броварець¹

¹ Інститут біоорганічної хімії і нафтохімії НАН України
вул. Мурманська, 1, Київ, 02094, Україна

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, Київ, 01601, Україна

Резюме. Синтезовано ряд основ Манніха 7-гідрокси-5-метоксизофлавонів, 5,7-дигідроксизофлавонів і хризину. Досліджено їх протипухлинну активність на 60 лініях ракових клітин. За результатами скринінгових досліджень встановлено певні закономірності зв'язку «структура — активність».

Ключові слова: основи Манніха, флавоноїд, ізофлавон, хризин, протипухлинна дія.

Вступ. Останнім часом особливий інтерес викликають деякі представники флавоноїдів, що виявляють естрогенні властивості. Велику групу серед фітоестрогенів складають ізофлавоноїди [1], які характеризуються вираженими профілактичними і терапевтичними властивостями щодо багатьох захворювань. Велика кількість публікацій присвячена ролі природних ізофлавонів як протекторів, які перешкоджають розвитку гормонозалежних пухлинних процесів. Цілком імовірно, що протипухлинний ефект може бути обумовлений не лише естрогеноподібними властивостями цих сполук, але і їх здатністю інгібувати активність ряду ферментів та антиоксидантними властивостями [2–4]. Так, ізофлавоноїди не тільки компенсують недостатній рівень ендогенних статевих гормонів, але й знижують ризик пов’язаних з естрогенами злоякісних процесів, наприклад, раку простати та молочної залози [5, 6].

Серед природних нітрогеновмісних похід-

них хромонів найбільш відомим є алкалоїд рохітукін, вилучений із *Dysoxylum binectariferum* [7]. Його синтетична похідна («Флавопридол») знаходить застосування в терапії ракових захворювань як інгібітор циклінзалежних кіназ (CDKs) [8]. Варто зазначити, що амінометильні похідні флавонів також інгібують CDK-1, а деякі їх представники виявляютьвищу активність у порівнянні з «Флавопридолом» [9].

Виходячи з цього, метою нашої роботи був синтез основ Манніха флавоноїдів і вивчення їх протипухлинної активності.

Результати й обговорення. Амінометильні похідні 7-гідрокси-5-метоксизофлавонів **1–6** було синтезовано з 5,7-дигідроксизофлавонів шляхом попереднього регіоселективного захисту гідроксильної групи в положенні 7 ізофлавону, метилуванням гідроксильної групи в положенні 5 хромонового циклу та депротекцією 7-гідроксигрупи. Як нами показано, амінометильування 7-гідрокси-5-метоксизофлавонів передбігає регіоселективно під дією аміналів вторинних амінів з утворенням 8-амінометильних похідних **1–6** [10]. В аналогічних умовах при введенні в реакцію 5,7-дигідроксизофлавонів [11, 12] і хризину (5,7-дигідроксифлавону) [13] було одержано 6,8-бісамінометильні похідні **7–12**.

* Corresponding author.

Tel.: +38050-5450828

E-mail address: mykhaylo.frasinyuk@ukr.net

Таблиця 1

Цитотоксичність основ Манніха 7-гідрокси-5-метоксизофлавонів у концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Спо-луга	Формула	Середня мітотична активність 60 ліній, %	Діапазон мітотичної активності 60 ліній, %	Найбільш чутливі лінії клітин і мітотична активність, %
1		102,56	85,06÷119,13	UO-31 (рак нирок): 85,06 MDA-MB-468 (рак молочної залози): 86,72
2		94,40	40,35÷128,60	NCl-H522 (рак легень): 40,35 HOP-92 (рак легень): 59,85 MDA-MB-468 (рак молочної залози): 60,75 UO-31 (рак нирок): 60,86 CCRF-CEM (лейкемія): 63,73
3		103,91	86,25÷134,21	SNB-75 (рак ЦНС): 86,25 MOLT-4 (лейкемія): 88,80 NCl-H226 (рак легень): 88,99 MDA-MB-468 (рак молочної залози): 89,76
4		101,06	61,54÷120,66	NCl-H522 (рак легень): 61,54 UO-31 (рак нирок): 78,28 MDA-MB-468 (рак молочної залози): 79,42
5		103,61	84,45÷116,95	NCl-H522 (рак легень): 84,45 UO-31 (рак нирок): 87,10
6		101,67	78,59÷122,83	NCl-H522 (рак легень): 78,59 UO-31 (рак нирок): 79,05 SNB-75 (рак ЦНС): 82,73

Контроль за перебіgom реакцій та чистотою одержаних сполук проводили методом ТШХ на пластинах «Sorbfil UV-254» (Росія) та «Merck» (Німеччина). Структуру синтезованих сполук підтверджено за допомогою спектрів ЯМР ^1H , виміряних на приладі «VXR-300» («Varian», 300 МГц) у CDCl_3 відносно ТМС (внутрішній стандарт), δ шкала.

Протипухлинну активність синтезованих сполук вивчали в рамках міжнародної наукової програми Національного інституту здоров'я США — DTP Національного інституту раку (США). Скринінгові дослідження проводили *in vitro* на 60 культурах ракових клітин

— раку легень, нирок, ЦНС, яєчників, простати, молочної залози, епітеліального раку, а також лейкемії та меланоми — при дії речовини в концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ М, у результаті яких визначали відсоток росту (GP) клітин ліній раку в порівнянні з контролем (контроль — 100 %) [14-17].

Варто зауважити, що амінометильні похідні 7-гідрокси-5-метоксизофлавонів (табл. 1), 5,7-дигідроксизофлавонів (табл. 2) та природного флавону хризину (табл. 3) не виявили значної протипухлинної активності, проте результати проведених скринінгових досліджень дали змогу встановити деякі закономір-

Таблиця 2

Цитотоксичність основ Манніха 5,7-дигідроксиізофлавонів концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Спо-лука	Формула	Середня мітотична активність 60 ліній, %	Діапазон мітотичної активності 60 ліній, %	Найбільш чутливі лінії клітин і мітотична активність, %
7		105,60	86,19÷131,00	MOLT-4 (лейкемія): 86,19 K-562 (лейкемія): 86,24 NCl-H522 (рак легенъ): 86,84
8		106,22	86,71÷123,85	SR-4 (лейкемія): 86,71 MOLT-4 (лейкемія): 86,77 K-562 (лейкемія): 87,84
9		109,46	80,96÷31,95	NCl-H522 (рак легенъ): 80,96 HCT-15 (епітеліальний рак): 88,62

ності зв'язку «структур — дія». Так, дослідженувані основи Манніха **1–12** виявляють протимітотичну активність відносно пухлинних клітин раку легень. При цьому найбільш чутливою є лінія NCl-H522 (GP=40,35 % для **2**, GP=61,54 % для **4**).

У випадку 8-амінометильних похідних 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонів **1–6** спостерігається інгібування росту ракових клітин молочної залози, особливо лінії MDA-MB-468. Разом з тим основи Манніха **7–9**, які містять по два амінометильних залишки, виявляють цитостимулюючу дію.

Крім того, сполуки **1–6** виявляють протимітотичну активність відносно пухлинних клітин раку нирок, а для 5,8-біс-амінометильних похідних ізофлавонів **7–9** така дія не характерна.

Заслуговує уваги й той факт, що для основ Манніха природного флавону хризину спостерігається більш виразна протипухлинна дія. Так, на відміну від сполук **1–9** ізофлавонового ряду, 5,8-біс-амінометильні похідні хризину **10–12** виявляють протимітотичну активність відносно пухлинних клітин лейкемії, найбільш чутливими є лінії CCRF-CEM і MOLT-4. Крім

того, основи Манніха флавонового ряду інгібують рост клітин ліній епітеліального раку. Найбільш чутливою є лінія HT29 (GP=47,35 % для **11**, GP=63,92 % для **12**).

Серед досліджуваних нітрогеномісних похідних флавоноїдів найвищий відсоток інгібування росту ракових клітин спостерігався для 6,8-біс{[4-(2-гідроксиетил)піперазин-1-іл]метил}-5,7-дигідрокси-2-феніл-4Н-хромен-4-ону **12** на лінію клітин лейкемії CCRF-CEM: GP=25,71% (середня мітотична активність 60 ліній 95,63 %), а також для 7-гідрокси-8-[(4-метилпіперазин-1-іл)метил]-5-метокси-3-(4-хлорофеніл)-4Н-хромен-4-ону **2** на лінію клітин недрібноклітинного раку легенъ NCl-H522: GP=40,35 % (середня мітотична активність 60 ліній 94,40 %) та для 6,8-біс[(4-метилпіперазин-1-іл)метил]-5,7-дигідрокси-2-феніл-4Н-хромен-4-ону **11** на лінію клітин HT29 епітеліального раку, GP=47,35 %, середня мітотична активність 60 ліній 95,47 %.

Висновок. Таким чином, синтезовано ряд основ Манніха 7-гідрокси-5-метоксиізофлавонів, 5,7-дигідроксиізофлавонів і хризину. Досліджено їх протипухлинну активність на 60

Таблиця 3

Цитотоксичність основ Манніха хризину в концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Спо- луга	Формула	Середня міtotична активність 60 ліній, %	Діапазон міtotичної активності 60 ліній, %	Найбільш чутливі лінії клітин і міtotична активність, %
10		94,04	60,56÷145,26	UO-31 (рак нирок): 60,56 A549/ATCC (рак легені): 64,26 LOX IMVI (меланома): 72,89 HCT-116 (епітеліальній рак): 74,28 MOLT-4 (лейкемія): 75,92
11		95,47	47,35÷129,60	HT29 (епітеліальний рак): 47,35 SR-4 (лейкемія): 50,54 MOLT-4 (лейкемія): 76,69 UO-31 (рак нирок): 77,68 CCRF-CEM (лейкемія): 78,62 LOX IMVI (меланома): 79,09 K-562 (лейкемія): 79,21
12		95,63	25,71÷117,19	CCRF-CEM (лейкемія): 25,71 MOLT-4 (лейкемія): 61,63 HT29 (епітеліальний рак): 63,92 K-562 (лейкемія): 70,34 PC-3 (рак простати): 74,41

культурах ракових клітин під час дії речовини в концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ М. За результатами скри-

нігових досліджень встановлено певні закономірності зв'язку «структура — дія».

Antitumor activity of flavonoid Mannich bases

M.S. Frasinyuk¹, G.P. Mrug¹, S.P. Bondarenko², V.P. Khilya², V.S. Brovarets¹

¹ Institute of Bioorganic and Petroleum Chemistry, NAS of Ukraine
1, Murmanska Str., Kyiv, 02094, Ukraine

² Taras Shevchenko Kyiv National University
64, Volodymyrska Str., Kyiv, 01033, Ukraine

Summary. The series of Mannich bases of 7-hydroxy-5-methoxyisoflavones, 5,7-dihydroxyisoflavones, and chrysin were synthesized. Antitumor activity of these compounds on 60 cancer cell lines at 10^{-5} M was evaluated. Some «structure — activity» patterns were found as result of screening.

Keywords: Mannich bases, flavonoid, isoflavone, chrysin, antitumor activity.

Перелік літератури

1. Harborne J.B., Mabry T.J. The Flavonoids: Advances in Research. — London, New York: Chapman and Hall, 1982. — 744 p.
2. Pollard M., Luckert P.H. Influence of isoflavones in soy protein isolates on development of induced prostate-related cancers in rats // Nutr. Cancer. — 1997. — Vol. 28. — P. 41-45.
3. Ito C., Itoigawa M., Tan H.T.W., Tokuda H. Antitumor-promoting effects of isoflavonoids on Epstein-Barr virus activation and two-stage mouse skin carcinogenesis // Cancer Lett. — 2000. — Vol. 152, No. 2. — P. 187-192.
4. Barnes S. Effects of genistein on *in vitro* and *in vivo* models of cancer // J. Nutr. — 2005. — Vol. 125. — P. 777-783.
5. Wang W., Tanaka Y., Han Z., Higuchi C.M. Proliferative response of mammary glandular tissue to formonetin // Nutr. Cancer. — 1995. — Vol. 23. — P. 131-140.
6. Denis L., Morton M.S., Griffiths K. Diet and its preventive role in prostatic disease // Eur. Urol. — 1999. — Vol. 35. — P. 377-387.
7. Naik R.G., Kattige S.L., Bhat S.V., Alreja B., N.J. de Souza, Rupp R.H. An anti-inflammatory and immuno-

- modulatory piperidinylbenzopiranone from *Dysosylum binectariferum*: Isolation, structure and total synthesis // *Tetrahedron*. — 1988. — Vol. 44. — P. 2081-2086.
8. Cohen P. Protein kinases — the major drug targets of the twenty-first century? // *Nature reviews. Drug discovery*. — 2002. — Vol. 1. — P. 309-315.
9. Liu T., Xu Z., Q. He, Chen Y., Yang B., Hu Y. Nitrogen-containing flavonoids as CDK1/Cyclin B inhibitors: Design, synthesis, and biological evaluation // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 2007. — Vol. 17. — P. 278-281.
10. Мруг Г.П., Хиля В.П., Бондаренко С.П., Фрасинюк М.С. Синтез и аминометилирование 7-гидрокси-5-метоксизофлавонов // *Химия природн. соед.* — 2013. — С. 203-208.
11. Бондаренко С.П., Фрасинюк М.С., Хиля В.П. Синтез аминометильных производных софорикозида // *Химия природн. соед.* — 2012. — С. 29-31.
12. Бондаренко С.П., Леевенец А.В., Фрасинюк М.С., Хиля В.П. Синтез аналогов природных изофлавонидов, содержащих флороглюциновый фрагмент // *Химия природн. соед.* — 2003. — С. 211-214.
13. Бондаренко С.П., Фрасинюк М.С. Синтез аминометильных производных хризина // *Химия природн. соед.* — 2013. — С. 724-727.
14. Alley M.C., Scudiero D.S., Monks P.A., Hursley M.L., Czerwinski M.J., Fine D.L., Abbott B.J., Mayo J.G., Shoemaker R.H., Boyd M.R. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay // *Cancer Research*. — 1988. — Vol. 48, No. 3. — P. 589-601.
15. Grever M.R., Schepartz S.A., Chabner B.A. The National Cancer Institute: cancer drug discovery and development program // *Seminars in Oncology*. — 1992. — Vol. 19, No. 6. — P. 622-638.
16. Boyd M.R., Paull K.D. Some practical considerations and applications of the National Cancer Institute in vitro anticancer drug discovery screen // *Drug Development Research*. — 1995. — Vol. 34, No 2. — P. 91-109.
17. Shoemaker R.H. The NC160 human tumour cell line anticancer drug screen // *Nature Reviews*. — 2006. — No. 6. — P. 813-823.