

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ХИНОНСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Жуковская К. Г., Костюк В. А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Актуальность. Хиноны широко используются в качестве противораковых, антибактериальных или противомаларийных препаратов, а также в качестве фунгицидов. Результаты многочисленных исследований, выполненных в последние годы, свидетельствуют, что тимохинон – наиболее фармакологически активный ингредиент семян *Nigella sativa* (черные семена), проявляет противоопухолевую активность и обладает противовирусным действием, защищая от бактериальных коинфекций, действуя как антиоксидант и противовоспалительный агент, ослабляющий цитокиновый шторм [2]. Одним из механизмов цитотоксического действия хинонов, в том числе синтетических производных п-бензохинона триметил-п-бензохинона (кумохинон) и тетраметил-п-бензохинона (дурохинон), является инициирование в клетках окислительного стресса в результате их восстановления редуктазами до семихинонового радикала, взаимодействие которого с кислородом ведет к образованию анион-радикала кислорода. Кроме того, хиноны образуют конъюгаты с GSH, которые также подвергаются окислительно-восстановительным превращениям, ведущим к активации кислорода [1].

Цель исследования. Оценить эффективность цитотоксического действия хинонсодержащих соединений (рисунок 1) в отношении клеток аденокарциномы молочной железы.

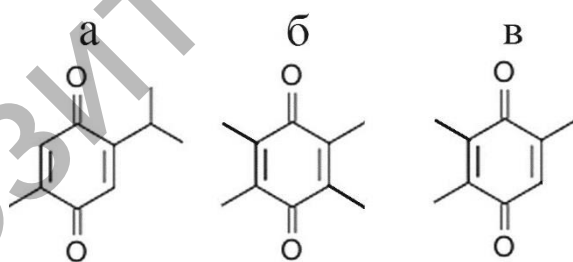


Рисунок 1 - Структура исследованных п – бензохинонов:

а – тимохинон, б - дуροхинон, в – кумохинон

Материалы и методы. В работе использовались тимохинон и синтетические аналоги фирмы *Sigma-Aldrich* (Германия). Объектом исследования являлись клеточные линии аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 и MDA-MB-231. Клетки растили в полной среде ДМЕМ с добавлением 10 % эмбриональной бычьей сыворотки, 2 ммоль/л L-глутамина и антибиотиков (100 МЕ/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина) при стандартных условиях (37 °C, 5 % CO₂). Действие препаратов на клетки определяли в среде инкубации без сыворотки. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью реагента PrestoBlue™, повреждение – по выходу

лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и методом двойного окрашивания (акридиновый оранжевый/этидиум бромид).

Результаты и обсуждение.

Используя для оценки жизнеспособности клеток реагент PrestoBlue, установлено, что исследуемые соединения в диапазоне концентраций 25–200 мкмоль/л вызывают через 24 ч инкубации дозозависимое снижение количества жизнеспособных клеток как линии MCF-7 (таблица 1), так и клеток MDA-MB-231 (таблица 2).

Таблица 1 - Количество жизнеспособных клеток линии MCF-7 (в % к контролю), оцениваемое с помощью реагента PrestoBlue™ через 24 ч совместной инкубации

Препарат	Концентрация п-бензохинонов, мкмоль/л				
	25	50	75	100	200
Тимохинон	93,2±11,2	66,1±10,4 ^{**}	45,3±6,8 ^{**}	н/о	н/о
Кумохинон	н/о	80,8±6,0 [*]	61,7±7,0 ^{**}	53,6±3,4 ^{**}	н/о
Дурохинон	н/о	92,1±7,2	н/о	80,0±6,3 [*]	41,8±10,0 ^{**}

^{*} - $p \leq 0,001$; ^{**} - $p \leq 0,0001$ vs контроль

Таблица 2 - Количество жизнеспособных клеток линии MDA-MB-231 (в % к контролю), оцениваемое с помощью реагента PrestoBlue™ через 24 ч совместной инкубации

Препарат	Концентрация п-бензохинонов, мкмоль/л		
	50	100	200
Тимохинон	75,3±8,4 ^{**}	34,1±3,6 [§]	н/о
Кумохинон	92,4±7,4	58,0±8,9 [§]	7,7±4,2 [§]
Дурохинон	95,5±8,7	93,5±11,9	88,3±10,8 [*]

^{*} - $p \leq 0,01$; ^{**} - $p \leq 0,0005$; [§] - $p \leq 0,00001$ vs контроль

Используя зависимость «доза-эффект» были рассчитаны концентрации препаратов в среде, при которых количество жизнеспособных клеток через 24 ч инкубации снижалось на 50 % (ЭД₅₀) (таблица 3).

Таблица 3 - Значения величин ЭД₅₀ исследованных п-бензохинонов

Препарат	ЭД ₅₀ , мкмоль/л	
	MCF-7	MDA-MB-231
Тимохинон	70	70
Кумохинон	101	120
Дурохинон	190	>>200

Цитотоксическое действие п-бензохинонов в отношении клеток аденокарциномы молочной железы подтверждено также по выходу ЛДГ (таблица 4) и методом двойного окрашивания (рисунок 2).

Таблица 4 - Степень повреждения п-бензохинонами клеток линии MCF-7 (в % к контролю), оцениваемая по выходу ЛДГ через 24 ч инкубации

Препарат	Концентрация п-бензохинонов, мкмоль/л			
	50	75	100	200
Тимохинон	4±4	13±9	н/о	64±9 ^{**}
Кумохинон	7±8	н/о	11±3	69±11 ^{**}
Дурохинон	1±4	н/о	3±1	33±5 ^{**}

* - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,001$ vs контроль

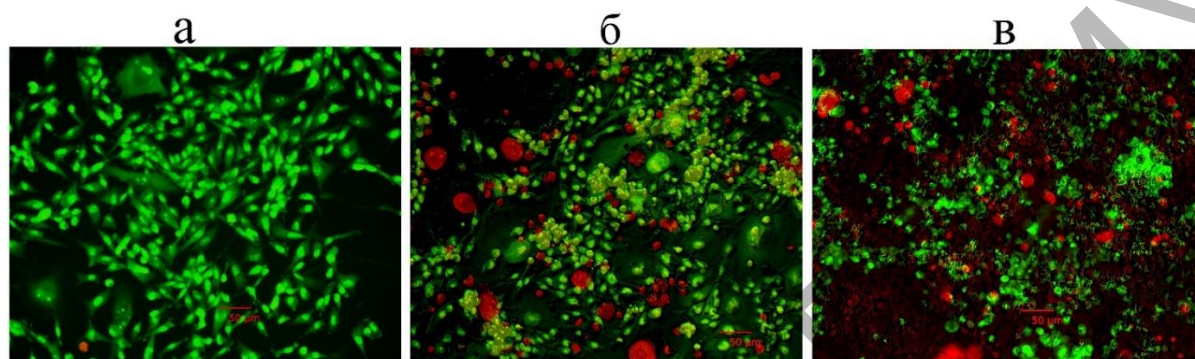


Рисунок 2 - Флуоресцентные микрофотографии клеток линии MCF-7, окрашенных системой акридиновый оранжевый/этидиум бромид (а) контрольные клетки; (б) клетки через 24 ч инкубации с тимохиноном (50 мкмоль/л); (в) клетки через 24 ч инкубации с кумохиноном (75 мкмоль/л)

Выводы.

Цитотоксическое действие тимохинона подтверждено в отношении клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7, экспрессирующих рецепторы эстрогена, так и гормон-независимых клеток MDA-MB-231. Установлено, что среди исследованных синтетических производных п-бензохинона дурухинон проявил в отношении раковых клеток низкую цитотоксическую активность, тогда как кумохинон по эффективности близок к тимохинону и представляет интерес как фармакологически перспективное соединение.

ЛИТЕРАТУРА

1. O'Brien, P.J. Molecular mechanisms of quinone cytotoxicity / P.J. O'Brien // Chem. Biol. Interact. – 1991. – Vol. 80, No 1. – P. 1–41.
2. Schneider-Stock, R. Thymoquinone: Fifty years of success in the battle against cancer models / R. Schneider-Stock, I.H. Fakhoury, A.M. Zaki, C.O. El-Baba, H.U. Gali-Muhtasib // Drug Discov. Today. – 2014. – Vol. 19. – P. 18–30.