ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA
VOL. XXXII, 40 SECTIO D 1977

Zakład Botaniki Farmaceutycznej. Instytut Analizy i Technologii Farmaceutycznej.
Wydział Farmaceutyczny. Akademia Medyczna w Lublinie
P.o. Kierownik: dr Tadeusz Krzaczek

Kazimiera GRZYCKA, Jadwiga MIŁKOWSKA

Badania aktywności cytostatycznej związków pochodnych rutyny i kwercetyny oraz hydroksychinolin

Исследование цитостатической активности соединений, производных рутина, кварцетина и гидроксихолинов

Research on the Cytostatic Compound Activity of Rutin, Quercite and Hydroxyquinoline Derivatives

Zainteresowanie inhibitorami mitozy, wywołującymi zakłócenia w przebiegu podziałów komórkowych oraz zaburzenia w strukturze chromosomów, jest coraz większe z uwagi na ich znaczenie praktyczne. Zmiany tego typu mogą być wynikiem działania substancji naturalnych (5) oraz związków syntetycznych (2, 3).

W Zakładzie Chemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej w Lublinie zsyntetyzowano szereg aminometylowych pochodnych rutyny i kwercetyny oraz hydroksychinolin, o spodziewanym działaniu leczniczym. Celem naszej pracy było zbadanie aktywności cytostatycznej niektórych z tych związków.

MATERIAŁ I METODYKA

Badania przeprowadzono na korzeniach pszenicy *Triticum vulgare* Vill. W doświadczeniach stosowano test *Triticum* (6), który pozwala na ilościowe przedstawienie efektów działania badanych związków. Preparaty przygotowywano zgodnie z metodyką (8, 9) i poddano obserwacjom cytologicznym w mikroskopie świetlnym, a uzyskane wyniki opracowano statystycznie (4).

WYNIKI BADAŃ

W badaniach naszych stosowano roztwory wyjściowe 0,1%, sporządzane bezpośrednio przed użyciem. Jako substancji standardowej używano 0,1% wodnego roztworu Vercytu, którego CM_A obliczone w warunkach naszego doświadczenia wynosiło 0,0294%. Ogółem przeanalizowano 7 związków stanowiących dwie grupy: 1) pochodne aminometylowe rutyny i kwercetyny, i 2) pochodne aminometylowe hydroksychinolin. Z grupy pierwszej przebadano następujące związki: I — rutyna, II — 8-N-dwu-

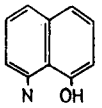
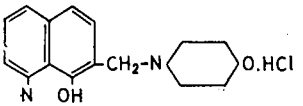
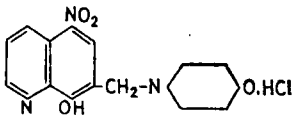
etyloaminometylorutyna, III — 8-N-morfolinometylorutyna i IV — 8-N-morfolinometylokwercetyna. Związki te wywołały niewielkie zaburzenia w przebiegu podziałów mitotycznych, ale bez wyraźnego efektu cytostatycznego. Wyniki ilościowe zestawiono w tab. 1.

Tab. 1. Procent mitoz zmienionych
Percentage of changed mitosis

Lp.	Ilość roztworu w cm^3	I	II	III	IV
		roztwory 0,1%			
1	7,5	78,2	18,6	46,5	78,8
2	6,0	71,1	12,4	29,7	72,4
3	5,0	62,7	9,5	21,8	68,3
4	4,0	59,4	—	12,5	62,0
5	3,0	55,0	—	—	56,8
6	2,0	46,2	—	—	54,2
7	1,0	28,3	—	—	40,6
	CM_A	0,0522%			0,0511%

Występujące pod wpływem omawianych związków zmiany mitotyczne nie osiągały przyjętego dla cytostatyków kryterium działania, a wartości CM_A tych związków znacznie odbiegały od wartości CM_A substancji wzorcowej. Silnym natomiast działaniem odznaczały się aminometylowe pochodne hydroksychinolin. Z grupy tej przeanalizowano działanie związków zestawionych w tab. 2.

Tabela 2

Nr związku	Budowa chemiczna	Nazwa związku
I		8-Hydroksychinolina
II		Chlorowodorek 7-morfolino metylo 8-chinolilolu
III		Chlorowodorek 5-nitro 7-morfolino-metylo 8-chinolilolu

0,1% roztwory wyjściowe tych związków okazały się cytotoksyczne, hamowały bowiem zarówno wzrost korzeni na długość, jak i podziały komórkowe. W związku z tym przygotowano roztwory o stężeniach niższych,

a mianowicie: 0,025% i 0,001%. Wyniki ilościowe zaburzeń mitotycznych występujących przy odpowiednich stężeniach przedstawiono w tab. 3.

Tab. 3. Procent mitoz zmienionych
Prcentage of changed mitosis

Lp.	Ilość roztworu w cm³	I		II		III		
		0,1%	0,025%	0,1%	0,025%	0,1%	0,025%	0,001%
1	7,5	0	0	0	0	0	0	77,79
2	6,0	0	86,36	0	94,80	0	0	72,92
3	5,0	0	70,18	0	90,04	0	0	69,18
4	4,0	0	63,90	0	86,46	0	0	54,55
5	3,0	0	54,30	0	69,25	0	0	49,00
6	2,0	0	40,54	0	65,20	0	0	20,75
7	1,0	0	22,36	0	46,85	0	0	14,05
	CM_A		0,0136%		0,0110%			0,0004%

Zarówno 8-hydroksychinolina (związek I) jak też jej aminometylowe pochodne (związki II i III) w stężeniach 0,1% wywierają wpływ toksyczny. W obrazach cytologicznych stwierdzono całkowity brak figur podziałowych. Związki I i II w stężeniach 0,025% powodują zaburzenia w przebiegu podziałów mitotycznych, które wynoszą od 22,36 do 86,36% dla związku I i od 46,85 do 94,80% dla związku II. CM_A — czyli najniższe stężenie aktywne tych związków wynosi 0,0136% i 0,0110%, a więc przekracza około 2-krotnie wartość CM_A substancji standardowej Vercytu (0,0294%).

Najsilniej działającym z trzech badanych związków okazał się związek III, który w kolejnych stężeniach 0,1 i 0,025% hamował zarówno wzrost liniowy korzeni, jak i podziały mitotyczne. W roztworze 0,001% mitozy zmienione stanowiły jeszcze od 14,05 do 77,79%, a CM_A tego związku równało się 0,0004%. Działanie cytostatyczne omawianego związku okazało się wielokrotnie silniejsze od działania substancji wzorcowej.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Dane liczbowe wskazują na to, że 0,1% roztwór rutyny wywołuje zmiany figur mitotycznych w granicach od 29,3 do 78,2%. Wyniki te są potwierdzeniem wcześniejszych badań (5) dotyczących wpływu 0,2% roztworu rutyny na strukturę chromosomów. Podobny do rutyny wpływ na przebieg podziałów komórkowych wywierał związek IV — 8-N-morfolinometylokwercetyna. Mitozy zmienione stanowiły tu bowiem do 78,8%. Wartości najmniejszego stężenia aktywnego tych związków (CM_A=0,0522 i 0,0511%) odbiegały jednak znacznie od wartości CM_A substancji standar-

dowej. Związki II i III (tab. 1) wykazywały prawie zupełny brak aktywności cytostatycznej.

Mimo stwierdzonych zaburzeń w przebiegu podziałów mitotycznych występujących pod wpływem rutyny (związek I) i 8-N-morfolinometylokwercetyny (związek IV) zaliczyć je należy do grupy cytostatycznie nieczynnych. Zgodnie bowiem z założeniami przyjętymi w tego typu badaniach (3) związki chemiczne, które przy 3 kolejnych stężeniach nie wywołują 80% zmian figur mitotycznych, ocenia się jako cytostatycznie nieczynne.

Zdecydowanie aktywne okazały się pochodne aminometylowe hydroksychinolin. 8-hydroksychinolina znana jest ze swoich własności antyseptycznych, stąd też nie stanowił zaskoczenia toksyczny wpływ 0,1% roztworu tej substancji. Stężenie niższe (0,025%) wywołuje zmiany figur mitotycznych w granicach od 22,36 do 86,36% (tab. 3). Do najczęściej spotykanych zaburzeń w obrazach figur podziałowych należały zmiany w meta- i anafazie. Obserwowano silne skrócenie i pogrubienie chromosomów oraz tworzenie się mostów chromosomowych w mniej lub bardziej regularnych anafazach. Bardzo często występowała fragmentacja chromosomów.

Przykłady podobnych zaburzeń w strukturze i układzie chromosomów przytaczają badania (1, 7) dotyczące wpływu 8-hydroksychinoliny na przebieg podziałów mejotycznych u *Vicia faba* i *Sequoia sempervirens*. Wysoka wartość CM_A (0,0136%), przekraczająca wartość CM_A Vercytu, potwierdza aktywność cytostatyczną tego związku. Na podstawie obrazów cytologicznych można stwierdzić, że działanie pochodnych 8-hydroksychinoliny (związki II i III) wywiera efekt podobny, a wpływ ich nasila się w miarę wzrostu stężenia (tab. 3).

Wyjątkowo silnym działaniem odznaczał się związek III (chlorowodorek 5-nitro-7-morfolinometylo-8-chinolilolu), co wydaje się być uwarunkowane zastąpieniem jednego wodoru grupą nitrową. Zastosowanie omawianych związków jako cytostatyków wymaga naturalnie dalszych szczegółowych badań.

PIŚMIENNICTWO

1. Amer Soheir M.: Biol. plant. Acad. scient. bohemosl. **10**, 15—19, 1968.
2. Broda B., Andrzejewska-Golec E.: Farmacja Polska, **30**, 417—422, 1974.
3. Broda B., Kocik H.: Acta Pol. Pharm. **29**, 191—199, 1972.
4. Broda B., Wendorff W.: Obliczenia statystyczne w biologii. AM Łódź, 1968.
5. Bukowiecki H., Furmanowa M.: Farmacja Polska, **28**, 585—591, 1972.
6. Constantinescu D. G., Retezeanu M., Oteleanu R., Constantinescu M.: Die Pharmazie, **10**, 699, 1963.
7. Fozdar B. S., Libby W. J.: Stain Technol., **43**, 97—100, 1968.

8. Grzycka K., Kot E.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio D, **30**, 205—208, 1975.
9. Grzycka K.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio D., **32**, 135—138, 1977.

Otrzymano 15 XI 1976.

РЕЗЮМЕ

Исследование цитостатической активности некоторых новосинтезированных соединений проводилось при помощи фитобиологического теста *Triticum*. Полученные результаты дают возможность сделать вывод о цитостатической неактивности аминометиловых производных рутина и кварцетина. Высокую цитостатическую активность проявили следующие производные гидроксихолинов: 1) 8-гидроксихолин (CM_A=0,0136%); 2) хлористоводородный 7-морфолинметил-8-хинолилол (CM_A=0,0110%); 3) хлористоводородный 5-нитро-7-морфолинметил-8-хинолилол (CM_A=0,0004%).

SUMMARY

Research was carried out on the cytostatic activity of some newly synthesized compounds by applying the phytobiological *Triticum* test. On the basis of the obtained results it was ascertained that aminomethyl derivatives of rutin and quercite are inactive cytostatically. The following compounds of aminomethyl hydroxyquinoline derivatives indicate a high cytostatic activity: 1) 8-hydroxyquinoline (CM_A=0.0136%), 2) 7-morpholinomethyl-8-quinoline hydrochloride (CM_A=0.0110%), 3) 5-nitro-7-morpholinomethyl-8-quinoline hydrochloride (CM_A=0.0004%).

ANNALES UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA

Nakład 600+25 egz., ark. wyd. 28, ark. druk. 22,25+16 str. wkl. kred.+3 wkl. Papier druk. sat. chamois III kl. B1, 80 g. Oddano do składu w styczniu 1977 r., podpisano do druku i wydrukowano w listopadzie 1977 r.
Cena zł 84,—

Tłoczono w Drukarni UMCS w Lublinie, zam. nr 48/77, J-4

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA
VOL. XXXI SECTIO D 1976

18. Z. Kleinrok, E. Jagiełło-Wójtowicz, Z. Borzęcki: Influence of LSD_{25} and Deseril on the Behaviour and Level of Biogenic Amines in a Rat's Brain.

19. G. Szurska: The Influence of a High Salted Diet on the Content of Total Kinionogen, its Plasmic and Urine Fractions on the Level of Prekallikreine in Rat Plasma.

20. M. Krasowska: Study on the Usefulness of Polyvinyl Chloride Containers (PCW) for Injection Solutions.

21. G. Szurska: The Influence of Reserpine, Phentolamine and Propranolol on some Parameters of the Kininogen System in the Plasma of Rats Fed on a High Salted Diet.

22. F. W. Kudrzycka-Biełoszabska, D. Szaniawska-Dekundy, W. Pikula: Preliminary Investigation on Sterols and Triterpens in the *Nepeta nuda* L. Herb.

23. M. Krasowska: The Influence of Polyvinyl Chloride Containers (PCW) on the Quality of 5% Glucose Solutions for Injections. Part II.

24. F. W. Kudrzycka-Biełoszabska, D. Szaniawska-Dekundy: A Comparative Analysis of some Species of *Nepeta*.

25. K. Czerny, M. Kalasiewicz, K. Janiszewska: The Influence of Cyclophosphamide on the Cytochemical Picture of the Neutrophils in the Blood of Patients with Lung Carcinoma Planoepitheliale.

26. M. Chomiak, W. Studnicki, A. Bujak: A Contribution to the Investigation on Gastric Ulcerations.

27. K. Wójcik: Studies on Olfactory Excitability in Men.

28. N. Zarzycka, J. Osemlak: The Basic Body Measurements of the Lublin Province Peasants.

29. K. Czerny, M. Mitros: Experimental Investigations of the Effect of „Piasclédine" Pharmacological Preparation on Primary Renal Tubules.

30. E. Buczyński, A. Stępień: Morphological Changes in the Myocardium which Accompany an Infarct.

31. J. Staszyc: Experimental Studies on the Effect of Foschlor on a Primarily Damaged Liver.

32. J. Osemlak, I. Lize, M. Stelmasiak jun.: Morphology of Radius Bones in the *Macacus rhesus* and *Macacus cynomolgus*.

33. I. Królikowska-Prasał, W. Jabłońska: Histochemical Reactions of Dehydrogenases in the Myocardium of White Rat after Andiamin Application.

34. T. Krzaczek: Pharmacobotanical Research of the Sub-Species *Viscum album* L. I. Variability.

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA
VOL. XXXI SECTIO D 1976

35. A. Książek, J. Jusiak: The Paper Chromatographic Separation of Guanidine Derivatives.

36. T. Krzaczek: Pharmacobotanical Research on the Sub-Species *Viscum album* L. II. Saccharides.

37. H. Mastalerz-Bogucka: Investigations on the Concentration of Sodium, Potassium and Calcium in Eccrine Sweat and in the Blood Serum in Psoriasis.

38. H. Romanowski: The Influence of DDT on the Resorption and Excretion of Chloro-Choline Chloride (CCC) in Rats.

39. J. Klimek, J. Iskierko, I. Błaziak, M. Jędrych, S. Wawrzycki: Spectrophotometric Determination of DNS Amino Acids.

40. J. Hanzlik, J. Tomaszewski, M. Grzywa, A. Stępień: Research on the Chemical Composition of the Vascular Wall. XV. Collagen and Elastin of the Aorta Wall of Persons who Died of Vascular Complications in the Course of *diabetes mellitus*.

41. J. Hanzlik, J. Tomaszewski, T. Nicer, A. Stępień, J. Kozak: Research on the Chemical Composition of the Vascular Wall. XVI. Glycosoaminoglycans of the Aorta Wall of Persons who Died of Vascular Complications in *diabetes mellitus*.

42. H. Mastalerz-Bogucka: Investigations on the Quantity of Exuded Eccrine Sweat in Psoriasis.

43. H. Romanowski: The Influence of 2,4-dichlorphenoxyacetic Acid (2,4-D) on the Resorption and Excretion of Chlorocholine Chloride (CCC) in Rats.

44. M. Górski, A. Piotrowska: The Effect of the 0,0,-Dimethyl-2,2,2-Trichloro--1-Hydroxiethyl-Phosphate (Dipterex) on the Mitotic Activity of L-cells Culture.

45. M. Górski, D. Grzybek: The Effect of Trypsination and the Exchange of Nutrition Medium on the Survival of Tissue Cultures Intoxicated with Phosphoroorganic Compounds.

46. K. Głowniak, A. Gawron, B. Kwietniewska: Investigations on Coumarins of *Archangelica officinalis* Hoffm. Fruits.

47. H. Nerlo, A. Kosior, K. Pawlikowska: Estimation of the Degree of Comminution of Drugs in Anal and Vaginal Suppositories Prepared by Different Methods.

48. S. Grzycki, G. Rzeszowska, J. Romanowska, A. Zarębska: Experimental Research on the Influence of Antiasthmatic Drugs on Lung Tissue.

Adresse:

UNIWERSYTET MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ
BIURO WYDAWNICTW
Plac Litewski 5 20-080 LUBLIN POLOGNE

Cena zł 84,—