



ČESKO-SLOVENSKÁ
BIOLOGICKÁ SPOLEČNOST, z.s.

Ústav
experimentální
medicíny AV ČR, v.v.i.
EU Centre of Excellence

BEZPEČNOSTNĚ
TECHNOLOGICKÝ
KLASTR

HAIE

NANO
ENVICZ · CZ

eatris-cz

TUBE

JPND
research

PROGRAM A ABSTRAKTY

konference s mezinárodní účastí

GENETICKÁ TOXIKOLOGIE A PREVENCE RAKOVINY

Termín konání: 2. – 5. 5. 2022

Místo konání: **Univerzitní centrum Masarykovy univerzity Telč**

Česká a slovenská společnost pro mutagenezi zevním prostředím
při Česko-slovenské biologické společnosti, z.s.

Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i.

Bezpečnostně technologický klastr, z. s.

HAIE

NanoEnviCZ

EATRIS.CZ

TUBE

ADAIR

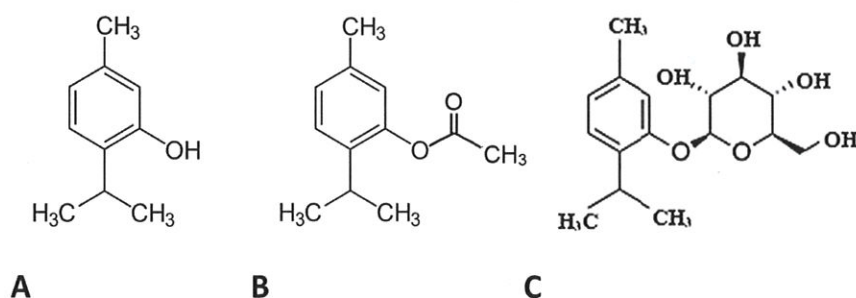
Účinnok novosyntetizovaných derivátov tymolu na *in vitro* modeli čreva

M. Blažíčková, K. Kozics

Oddelenie nanobiológie, Ústav experimentálnej onkológie, Biomedicínske centrum, SAV, Bratislava

Email prezentujúceho: exonblaz@savba.sk

Kolorektálny karcinóm, ktorý postihuje oblasť hrubého čreva a konečníka, predstavuje jedno z najrozšírenejších nádorových ochorení vo svete. Liečba je založená na invazívnych chirurgických zákrokoch, chemoterapii či rádioterapii, pričom sú častokrát prítomné aj vážne nežiadúce účinky. Liečba vo vyšších štádiách ochorenia je komplikovanejšia. V súčasnosti sa výskum zameriava na prírodné látky. V rastlinách čeľade *Lamiaceae* sa vo väčšej či menšej miere vyskytuje tymol - fenolový derivát cyménu. Tymol má široké spektrum pozitívnych účinkov, vrátane antiseptických, antimikrobiálnych, antibakteriálnych či antiepileptických (Nagoor et al., 2017). Výskumy v systémoch *in vitro* a *in vivo* preukázali jeho schopnosť inhibovať rast a metastázovanie nádorových buniek kolorektálneho karcinómu (Zeng, et al., 2020). Americký úrad pre bezpečnosť potravín a liečiv (FDA) považuje tymol za bezpečnú látku. Hlavnou nevýhodou tymolu je však jeho hydrofóbnosť, čo ovplyvňuje jeho efektívne prenikanie cez cytoplazmatickú membránu buniek. Preto boli v spolupráci s Prírodovedeckou fakultou UK syntetizované nové, hydrofilné deriváty tymolu: tymol ester kyseliny octovej (DT1) a tymol α -D-glukozid (DT2), pri ktorých sme predpokladali zvýšenú účinnosť v porovnaní so štandardnou látkou. Chemická štruktúra tymolu a nových derivátov je uvedená na obrázku 1. Boli stanovené ich bioaktívne účinky na nádorové bunkové línie kolorektálneho karcinómu HT-29 a HCT-116. Ako štandard bol použitý tymol.



Obrázok 1: Porovnanie chemických štruktúr tymolu - štandardu (A) a dvoch derivátov: tymol ester kyseliny octovej (B) a tymol α -D- glukozid (C)

Metódou MTT (Meerloo, et al., 2017) sa stanovila cytotoxicita skúmaných látok po 24 hodinovom vplyve. V porovnaní so štandardom, sa DT1 prejavil oveľa účinnejšie, vykazoval cytotoxické vlastnosti už pri oveľa nižších koncentráciách pre obe nádorové bunkové línie. Hodnota IC_{50} (inhibičná koncentrácia, ktorá spôsobuje zníženie životaschopnosti buniek na 50%) pre tymol - štandard bola 65 μ g/ml pre líniu HCT-116 a 52 μ g/ml pre líniu HT-29. V prípade derivátu DT1 bola hodnota IC_{50} pre obe bunkové línie 0,08 μ g/ml. Druhý derivát DT2 pôsobil cytotoxicky pri vyšších hodnotách a IC_{50} sme stanovili na 1300 μ g/ml pre HCT-116 a 2100 μ g/ml pre HT-29. Oba testované deriváty teda pôsobili na nádorové bunky cytotoxicky. Pomerne veľký rozdiel medzi účinnými koncentraciami derivátov pravdepodobne vychádza z odlišnosti ich chemických štruktúr.

Test jednobunkovej gélovej elektroforézy (Collins, 2004) pre posúdenie genotoxicity zaznamenal iba čiastočné, ale štatisticky významné zvýšenie poškodenia DNA v porovnaní s kontrolnými vzorkami. Oxidačné poškodenie sme podľa očakávania v súlade s literatúrou (Thapa, et al., 2019) nezaznamenali v prípade tymolu - štandardu. Bunková línia

HCT-116 reagovala v prípade derivátu DT1 o niečo citlivejšie ako HT-29 aj pri necytotoxických koncentráciách. V prípade derivátu DT2 sa zaznamenalo čiastočné poškodenie pri vyšších testovaných koncentráciách. Pre posúdenie genotoxicity nových derivátov sa uskutočnil aj mikrojadrový test (Fenech, 2000), ktorý však nepreukázal žiadne významné zvýšenie mikrojadier u skúmaných látok alebo štandardu. Taktiež nebol pozorovaný významne vyšší výskyt nekrotických či apoptických buniek ani u jednej z testovaných línii.

Pre stanovenie reaktívnych kyslíkových častíc (ROS) bol využitý luminiscenčný kit ROS-Glo H₂O₂. V prípade štandardu sa nevyskytlo žiadne zvýšenie produkcie ROS. U oboch skúmaných derivátov sme však zaznamenali výrazné zvýšia u línie HT-29 aj HCT-116 pri najvyšších koncentráciách (0,08 µg/ml v prípade DT1 a 2000 µg/ml pre DT2).

Výsledky potvrdzujú predpoklad, že účinnosť novosyntetizovaných derivátov na nádorové bunkové línie závisí od ich chemickej štruktúry. Dokážu pôsobiť efektívnejšie ako štandardná látka a môžu tak nájsť uplatnenie pri ďalšom výskume kolorektálneho karcinómu, prípadne by mohli byť aplikovateľné v určitej protinádorovej liečbe alebo prevencii tohto ochorenia. Ich lepšie fyzikálne a chemické vlastnosti zase môžu mať dôležitý význam pre širšie priemyselné využitie.

PodĎakovanie: Táto práca vznikla za podpory Vedeckej grantovej agentúry SAV VEGA 2/0055/20. Tento dokument je podporovaný výskumným a inovačným programom Európskej únie Horizont 2020 v rámci grantovej dohody č. 857381, projekt VISION (Stratégie na posilnenie vedeckej excelentnosti a inovačnej kapacity pre včasnú diagnostiku rakoviny gastrointestinálneho traktu).

Literatúra:

- Collins, A. R. (2004). The comet assay for DNA damage and repair. *Molecular biotechnology*.
- Fenech, M. (2000). The *in vitro* micronucleus technique. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*.
- Meerlo, J. V., Kaspers, G. J., & Cloos, J. (2011). Cell sensitivity assays: the MTT assay. In *Cancer cell culture*. Humana Press.
- Nagoor, M.F., Javed, H., AlTae, H., Azimullah, S., Ojha, S. K. (2017). Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. *Frontiers in pharmacology*.
- Thapa, D., Richardson, A. J., Zweifel, B., Wallace, R. J., & Gratz, S. W. (2019). Genoprotective effects of essential oil compounds against oxidative and methylated DNA damage in human colon cancer cells. *Journal of food science*.
- Zeng, Q., Che, Y., Zhang, Y., Chen, M., Guo, Q., Zhang, W. (2020). Thymol Isolated from *Thymus vulgaris* L. inhibits colorectal cancer cell growth and metastasis by suppressing the Wnt/ β -catenin pathway. *Drug Design, Development and Therapy*.

Odborná garance konference:

RNDr. Pavel Rössner, PhD. (Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Praha),
místopředseda Společnosti

RNDr. Alena Gábelová, CSc. (Ústav experimentálnej onkológie SAV, Bratislava),
předsedkyně Společnosti

Ing. Jan Topinka, CSc. DSc. (Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Praha)

RNDr. Miroslav Machala, CSc. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno)

MUDr. Hana Lehocká, Ph.D. (Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě)

Organizační zajištění konference:

Bezpečnostně technologický klastr, z. s., Mgr. Simona Guzdková (e-mail: info@btklastr.cz)

Genetická toxikologie a prevence rakoviny

Kolektiv autorů

Vydavatel: Anna Vavrušová - Alisa Group

Grafika a předtisková příprava: Mgr. Jiří Kučatý, jirka@podvodnik.cz

Vyšlo: duben 2022

Vydání: první

Počet stran: 80

Vytiskl: Tisk agency s.r.o., Vinohradská 715/42, Hlučín 748 01

Tato publikace neprošla redakční ani jazykovou úpravou.

ISBN: 978-80-88038-10-8