Доклады Академии наук СССР
1976. Том 229, № 2

УДК 581.14.23

БИОХИМИЯ

В. Б. ИВАНОВ, П. А. ЧЕЛЬЦОВ, Р. Н. ЩЕЛОКОВ

ПОДАВЛЕНИЕ РОСТА КОМПЛЕКСАМИ ПЛАТИНЫ(II) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ СТРОЕНИЯ

(Представлено академиком И. В. Обреимовым 9 III 1976)

Биологическое действие комплексных соединений платины привлекает все большее внимание. После открытия в 1965 году способности соли Пейроне цис-$[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ избирательно подавлять деления, а не рост Escherichia coli ([1]) было показано, что это соединение и ряд его аналогов избирательно угнетают рост опухолей у млекопитающих in vivo. Оказалось, что антиканцерогенным действием обладают только комплексы-неэлектролиты цис-строения, у которых ацидолиганды не слишком прочно связаны с платиной (способны замещаться на амины), а аминная часть представлена аммиаком или первичными моно- или диаминами с небольшим размером заместителя при азоте. Наибольшей активностью из всех изученных соединений обладает соль Пейроне. Ингибирование роста опухоли обусловлено торможением синтеза ДНК, тогда как синтез белка и РНК ингибируется значительно слабее ([2–4]).

Задачей настоящей работы является изучение зависимости ростингибирующего действия комплексных соединений платины(II) от их строения. Для исследования были выбраны корни проростков, на которых действие этих соединений ранее не изучалось, хотя корни были объектом для изучения биологического действия большинства других соединений, избирательно подавляющих деления клеток. Корни являются исключительно удобным объектом для исследования, который позволяет по сравнительно простым тестам оценить избирательность действия ингибитора на деления клеток ([5]). Эти опыты могут быть проведены за короткое время и требуют небольших затрат испытываемого вещества.

Синтез большинства соединений, использованных в работе, проводили по общепринятым методикам ([6]). Комплексы 9, 14, 16 получены по методикам, приведенным в работах ([7–9]); 6 и 17 — по методикам, рекомендованным для синтеза пиридинового и этилендиаминового аналогов соответственно ([6]). Все соединения, кроме нескольких весьма трудно растворимых, очищались перекристаллизацией из воды. Биологическое действие соединений 3, 6, 9 и 17 ранее не исследовалось.

Работа проводилась на корнях проростков кукурузы сорта Стерлинг Днепропетровский по ранее использованной методике ([5]). Семена проращивали на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой, при 27°. Двухдневные проростки с длиной корней 2–3 см раскладывали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную раствором изучаемого соединения в дистиллированной воде. Чашки помещали в термостат при 27° в темноте. Длина корней измерялась раз в сутки на протяжении трех дней. Использовали серии растворов каждого вещества с концентрациями 1, 0,1, 0,01, 0,001, 0,0001 и 0,00001 мг/мл, за исключением нескольких соединений, у которых растворимость не позволяла получить растворы с концентрацией 1 мг/мл. Все опыты были повторены 2–5 раз. Для оценки ингибирующего действия определяли степень ингибирования роста (I) по формуле $I=[(\Delta l_к-\Delta l_и)/\Delta l_к]\cdot 100$, где $\Delta l_к$ — прирост корней, растущих в дистиллированной воде, $\Delta l_и$ — в растворе ингибитора.

На рис. 1 и 2 показаны результаты опытов с двумя соединениями. Аналогичные кривые построены для всех изученных соединений. По этим кривым определены концентрации, при которых скорость роста корней в разное время после начала опыта составляла 10% от скорости роста контрольных корней (C_{90}) (рис. 3); для нескольких соединений значения

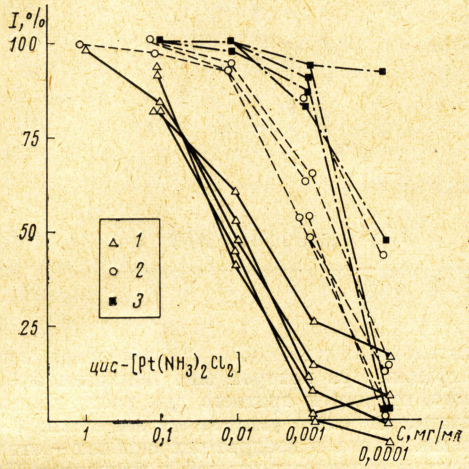


Рис. 1

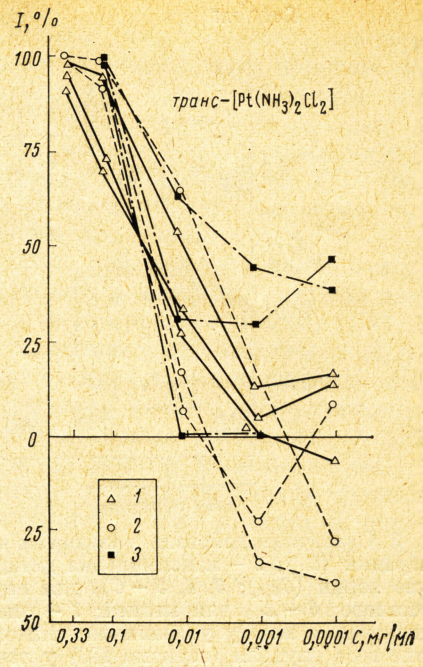


Рис. 2

Рис. 1. Зависимость ростингибирующего действия (*I*) цис-$[(Pt(NH_3)_2Cl_2]$ от концентрации раствора и длительности роста корней в нем. *1* — 0—24, *2* — 24—48, *3* — 48—72 часа. Разными кривыми даны результаты разных опытов

Рис. 2. Зависимость ростингибирующего действия (*I*) транс-$[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ от концентрации раствора и длительности роста корней в нем. Обозначения см. рис. 1

C_{90} не были найдены, так как они лежат выше 1 мг/мл — предельной использованной концентрации. Кроме того на рис. 3 нанесены значения летальной концентрации C_L, при которых корни погибали в течение опыта, обычно на второй или первый день с явными признаками далеко зашедшего повреждения (побурение кончика корня и потеря тургора), а также значения концентраций $C_{б.ж}$, выше которых на частях корня, закончивших рост после начала опыта, не появлялись боковые корни.

Для всех изученных соединений, кроме двух, значения C_L — между 1 и 0,1 мг/мл. Для цис-$[Pt(NH_3)_2(NO_2)_2]$ величина C_L выше 1 мг/мл, а цис-$[Pt(C_6H_5CH_2NH_2)_2Cl_2]$, плохо растворимое в воде, практически не ингибировало рост даже при концентрации насыщенного раствора, которая много меньше 1 мг/мл. Токсическое и антимитотическое действия комплексов явно по-разному связаны с их строением. Для цис- и транс-$[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ значения C_L были одинаковыми. Они не отличались также для электролитов и неэлектролитов и соединений с разными заместителями в аминной части молекулы. Значения C_L (мкг/мл) были выше, чем значения L_{50} (мг/кг) для мышей ([2]). Однако значения L_{50} близко совпали с C_{90}. Величины концентраций комплексов платины, при которых они остротоксичны, т. е. вызывают быструю гибель животных, не приводятся в известных нам работах. Вероятно, эти значения были бы более близки к C_L. Совпадение значений L_{50} и C_{90} показывает, что токсическое действие соединений платины на животных по своему механизму близко к механизму ингибирования роста клеток растений.

Зависимость C_{90} для ингибирования роста в первые сутки от строения комплекса была такой же, как и зависимость для C_L. Однако при сравнении C_{90} для вторых и третьих суток наблюдается четкая зависимость подавления роста от строения комплекса. Резкое усиление ингибирующего действия со временем типично для разных по химической природе соеди-

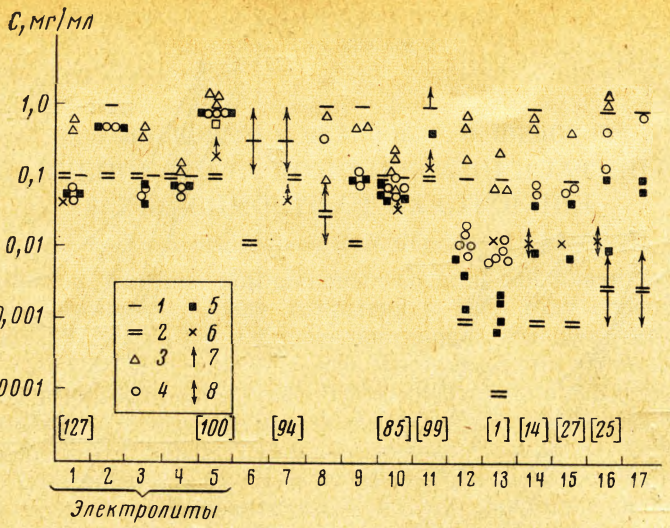


Рис. 3. Сравнение действия различных комплексов платины(II). *1* – летальная концентрация (C_L); *2* – максимальная концентрация, при которой еще появляются боковые корни ($C_{б.к}$); *3*, *4*, *5* – C_{90} для первого, второго и третьего дня роста корней в растворе; *6* – L_{50} для мышей; *7* – концентрация выше указанного значения; *8* – концентрация между указанными значениями. Числа в квадратных скобках – отношение веса опухоли (саркома 180) у леченых и нелеченых мышей в процентах (²).
1 – $K_2[PtCl_4]$, 2 – $K_2[Pt(NO_2)_4]$, 3 – $K[PtNH_3Cl_3]$, 4 – $[Pt(NH_3)_3Cl]Cl$, 5 – $[Pt(NH_3)_4]Cl_2$, 6 – цис-$[Pt(C_6H_5CH_2NH_2)_2Cl_2]$, 7 – цис-$[Pt(C_5H_5N)_2Cl_2]$, 8 – цис-$[Pt(н\text{-}C_3H_7NH_2)_2Cl_2]$, 9 – цис-$[Pt(NH_2OH)_2Cl_2]$, 10 – транс-$[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, 11 – цис-$[Pt(NH_3)_2(NO_2)_2]$, 12 – цис-$[Pt(NH_3)_2NO_2Cl]$, 13 – цис-$[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, 14 – цис-$[Pt(CH_3NH_2)_2Cl_2]$, 15 – $[Pt(NH_2(CH_2)_2NH_2)Cl_2]$, 16 – $[Pt(CH_3NH(CH_2)_2NHCH_3)Cl_2]$, 17 – $[Pt((CH_3)_2(NH_2)CC(NH_2)(CH_3)_2)Cl_2]$

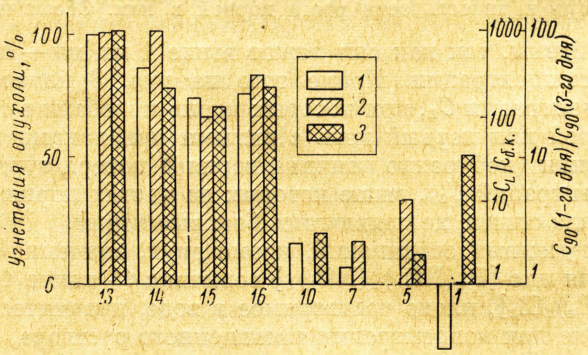


Рис. 4. Сравнение противоопухолевой и ростингибирующей активности. *1* – угнетение роста опухоли $(100 - T/C)$ %, *2* – $C_L/C_{б.к}$, *3* – C_{90} (1-го дня)/C_{90} (3-го дня). Обозначение соединений 1–13 то же, что и на рис. 3. Для соединения 5 угнетение роста опухоли равно 0, для соединений 1 и 10 отношение $C_L/C_{б.к}=1$

нений, избирательно подавляющих деления клеток (⁵). Среди соединений, изученных в данной работе, у одних значения C_{90} в течение опыта не менялись более, чем в 10 раз, тогда как у других (комплексы 12–16) падали в 100 раз, что свидетельствует об избирательности действия этой второй группы комплексов на деления клеток. Характерно, что, как и другие типы соединений с антимитотической активностью, комплексы с резко усиливающимся во времени ингибированием роста подавляли образование боковых корней при концентрациях, далеких от C_L, тогда как большинство других комплексов — при концентрациях, лишь близких к C_L.

Наблюдаемое избирательное подавление делений клеток корня и антиканцерогенная активность комплексов имеют совершенно аналогичные

зависимости от строения соединений. Об этом свидетельствует сравнение полученных данных (рис. 4) со значениями отношения веса перевиваемых опухолей у леченых и нелеченых животных T/C (для тех случаев, когда этот показатель имелся в литературе ([2])). Если соединение обладает антиканцерогенным действием, значение T/C меньше 100% (по мнению ([2]), достоверным действием обладают соединения со значениями T/C, меньшими 50%). В отличие от соли Пейрона, ее транс-аналог и все комплексы-электролиты не ингибируют избирательно митозы в корне.

Цис-$[Pt(NH_3)_2NO_2Cl]$ (соединение 12) действовало очень сходно с солью Пейроне. Этот результат представляет большой интерес для выяснения механизма биологической активности комплексов платины(II). По мнению ряда исследователей ([2–4, 10, 11]), механизм антимитотического действия соли Пейроне состоит в образовании сшивок в молекуле ДНК вследствие замещения цис-атомов хлора стерически удобно расположенными N-донорными атомами пуриновых и пиримидиновых оснований. Отсутствие подобного действия у транс-изомера объясняют неспособностью его к образованию сшивок вследствие большего расстояния между транс-лигандами. Различие в реакционной способности хлоролигандов в цис- и транс-комплексах вряд ли может быть причиной неактивности транс-комплекса, поскольку именно в транс-соединении хлор более лабилен вследствие большего транс-влияния хлора по сравнению с аммиаком. Однако замена в соли Пейроне одного хлора весьма инертной к замещению нитрогруппой приводит лишь к частичному снижению антимитотической активности и только замена обоих хлоров на нитрогруппы (соединение 11) приводит к полной ее потере. Следует отметить также полную потерю антимитотической активности при замене в соли Пейроне аммиака на гидроксиламин (соединение 9).

Таким образом, полученные данные показывают, что среди комплексных соединений платины(II) существуют соединения, подавляющие деления клеток в корне, не затрагивая растяжения. Антимитотическое действие комплексов на клетки корня и микроорганизмы и их антиканцерогенная активность одинаково зависят от строения комплексов, что позволяет предполагать во всех случаях один и тот же молекулярный механизм первичного действия ингибитора. Интересно отметить, что для наиболее активных соединений C_{90} для третьего дня или $C_{б.к.}$ составляет всего 0,001 мг/мл ($3 \cdot 10^{-6}$ M), что близко к соответствующим значениям для наиболее активных ингибиторов других классов и много ниже, чем токсические концентрации для токсичных неорганических соединений. Совпадение данных, полученных на разных системах, показывает, что корни можно использовать как удобный объект при исследовании зависимости биологического действия комплексных соединений платины(II) от их строения.

Авторы считают приятным долгом выразить благодарность О. Н. Адриановой и И. В. Обреимову за интерес и помощь в проведении работы, Ю. В. Жемаркиной и Л. П. Лариной — за помощь в постановке опытов.

Институт общей и неорганической химии
им. Н. С. Курнакова
Академии наук СССР
Москва

Поступило
18 II 1976

ЛИТЕРАТУРА

[1] *B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas,* Nature, v. 205, № 4972, 698 (1965). [2] *M. J. Cleare,* Coord. Chem. Rev., v. 12, 349 (1974). [3] *M. J. Cleare, J. D. Hoeschele,* Plat. Met. Rev., v. 17, № 1, 2 (1973). [4] *В. В. Белогородский, Н. Р. Мюллер,* Вопр. онкол., т. 21, № 8, 95 (1975). [5] *В. Б. Иванов,* Клеточные основы роста растений, М., 1975. [6] Синтезы комплексных соединений металлов платиновой группы, М., 1964. [7] *А. В. Бабаева, М. А. Мосягина, М. А. Шинкина,* Изв. Сектора платины АН СССР, в. 26, 48 (1951). [8] *Х. И. Гильденгершель,* ЖНХ, т. 1, 1745 (1959). [9] *М. М. Якшин, Л. И. Баранова,* ЖНХ, т. 4, 1979 (1959). [10] *I. A. Howle, G. R. Gale,* Biochem. Pharmacol., v. 19, № 10, 2757 (1970). [11] *S. Mansy, B. Rosenberg, A. J. Thomson,* J. Am. Chem. Soc., v. 95, № 5, 1633 (1973).