ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՌ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

Էքսպեր. և կլինիկ. բժշկ. հանդես

IV, № 3, 1964

Журн. экспер. и клинич. медицины

С. А. ВАРДАНЯН

О ПРОТИВООПУХОЛЕВОМ ДЕЙСТВИИ ХЛОРЭТИЛАМИННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТИРОЗИНА И 3,4-ДИОКСИФЕНИЛАЛАНИНА

За последние 10—15 лет стала успешно развиваться новая отрасль онкологии—химиотерапия рака. Эмпиризм в ней при создании противоопухолевых препаратов уступает место рациональному подходу. Этому способствует более глубокое изучение особенностей биохимизма опухолей. Последовательные рациональные поиски привели к синтезу активных противоопухолевых агентов (сарколизина, допана, эндоксана, нитромина и др.). В Советском Союзе Л. Ф. Ларионовым [3, 4] была выдвинута идея создания сложных алкилирующих метаболитов путем присоединения цитотоксических хлорэтиламинных групп к «природному носителю»—аминокислотам, витаминам, биологически активным веществам, играющим большую роль в обмене веществ различных опухолей. Не только сарколизин, но и ряд пентидов его (асалин, асафан и др.) обладают значительной противоопухолевой активностью [5,6]. При этом спектр действия сарколизина и его пептидов различается в зависимости от структуры конечной аминокислоты.

Учитывая значительную роль, которую играют аминокислоты тирозин и 3,4-диоксифенилаланин в метаболизме пигментных опухолей-меланом [2, 10, 11], по предложению Л. Ф. Ларионова, О. Ф. Гинзбургом с сотрудниками были синтезированы хлорэтиламинное производное О-фенил-тирозина и пептиды сарколизина с тирозином и 3,4—диоксифенилаланином: 1) О-[п-/ди-/2-хлорэтил/аминофенил]-D,L тирозин, условно названный фентирином, 2) этиловый эфир N-ацетил-DL-сарколизил-L тирозина, условно названный астироном L, 3) этиловый эфир N-ацетил-DL сарколизил-D тирозина, названный астироном D, 4) этиловый эфир N-ацетил-DL сарколизил-3,4-диокси DL-фенилаланина, названный асдофаном.

Нами были изучены токсические свойства, противоопухолевая активность (в первую очередь на меланомах) и действие на кровотворение вышеуказанных препаратов в эксперименте.

Материал и методика. Вследствие плохой растворимости изученных препаратов в воде и спирте, их вводили в виде суспензии в крахмальном клейстере (фентирин, астирон) и в растительном масле (асдофан), с помощью зонда через рот.

Токсичность изучали на беспородных крысах и мышах—гибридах C_{57} x CBA, которым вводили различные дозы препаратов. Определяли процент гибели животных и следили за сроками гибели и клинической картиной отравления. С помощью пробит-анализа по методу Литчфильда—Уилкоксона находили интерполяцией $ЛД_{50}$ препаратов [1].

Противоопухолевое действие препаратов исследовали в опытах на мышах, крысах и хомяках с перевиваемыми опухолями (меланомами, саркомами, карциномами). Препараты вводили в максимально переносимых дозах, в течение 12—20 дней. Критерием противоопухолевой активности служил процент торможения роста опухолей, вычисляемый по формуле $\frac{M_k - M_0}{M_k}$ 100. Определяли статистическую достоверность противоопухолевого эффекта в подопытных группах с помощью P критерия при уровне вероятности $P \leq 0{,}05$.

Исследование влияния препаратов на гемопоэз проводили на мышах и крысах с опухолями (меланомой Клаудмана, саркомой 45) и интактных крысах. Подсчитывали общее количество лейкоцитов в периферической крови к концу лечения и затем с интервалами в 5 и 7—10 дней, а также лейкоцитарную формулу. С помощью методики Жерарда в модификации Ю. И. Раудсеппа определяли число ядросодержащих клеток костного мозга в целой бедренной кости подопытных крыс (8).

Полученные результаты. При изучении токсичности препаратов на мышах и крысах было установлено (табл. 1), что фентирин, астирон L и асдофан являются малотоксичными соединениями, в 10—20 раз менее токсичными в молярном отношении, чем сарколизин ($ЛД_{50}$=17 мг/кг). При этом токсичность астирона L и асдофана для крыс и мышей одинакова, тогда как фентирин для мышей менее токсичен, чем для крыс.

Таблица 1

Данные о токсичности препаратов

Препараты	Мыши		Крысы	
	$ЛД_{50}$ в мг/кг	границы доверия	$ЛД_{50}$ в мг/кг	границы доверия
Фентирин	720	(800÷640)	460	(560÷380)
Астирон L	700	(1070÷600)	460	
Асдофан	440	(590÷320)	460	

Что же касается астирона D, то он оказался практически нетоксичным соединением и не вызывал гибели мышей и крыс даже в очень высоких дозах (1—1,5 г/кг).

Гибель животных при введении токсических доз фентирина, астирона L и асдофана наступала на 4—6-й день с развитием типичной картины отравления хлорэтиламинами.

Изучение противоопухолевого действия препаратов на мышах и хомяках с перевиваемыми меланомами показало, что несмотря на близость гистогенеза и морфологии различные штаммы меланом обладают неодинаковой чувствительностью к препаратам (табл. 2).

Так, наибольший противоопухолевый эффект был получен на меланоме Гардинга-Пасси мышей и пигментной меланоме хомяков под действием фентирина (77 и 88% торможения соответственно). Это дей-

ствие превышает эффект сарколизина (57 и 77% торможения), разница статистически достоверна, P=0,015.

Таблица 2

Данные о противоопухолевом действии препаратов на животных с перевиваемыми меланомами (в процентах торможения)

Препараты	Общая доза	Меланома Гардинга-Пасси мышей	Общая доза	Меланома Клаудмана мышей	Общая доза	Пигментная меланома хомяков
Фентирин	50 мг/кг × 20	77	50 мг/кг × 12	64	10 мг/кг × 15 45 мг/кг × 7	73 88
Астирон L	30 мг/кг × 20	59	30 мг/кг × 12	90	30 мг/кг × 15 60 мг/кг × 7	27 26
Асдофан	30 мг/кг × 20	52	30 мг/кг × 12	96	20 мг/кг × 15 50 мг/кг × 7	66 62

Наибольшей противоопухолевой активностью на меланоме Клаудмана обладают астирон L и асдофан (90 и 96% торможения), вызывающие стойкое рассасывание опухоли у 20—30% мышей. Противоопухолевый эффект сарколизина несколько ниже—83% торможения, разница статистически достоверна, P=0,02—0,04.

Что же касается чрезвычайно злокачественной, вследствие раннего метастазирования в легкие, беспигментной меланомы хомяков, то она оказалась резистентной к действию препаратов. Ни один из них не препятствовал процессу метастазирования и не вызвал увеличения продолжительности жизни подопытных животных. Фентирин тормозил рост первичной опухоли на 33%, тогда как астирон и асдофан не влияли на рост первичной опухоли.

Результаты исследования спектра противоопухолевого действия препаратов в отношении перевиваемых сарком и карцином представлены в табл. 3.

Таблица 3

Данные о противоопухолевом действии препаратов на животных с перевиваемыми саркомами и карциномами (в процентах торможения)

Препарат	Общая доза	Саркома крыс			Общая доза	Саркома мышей			Карцинома мышей	
		С—45	С—Иенсена	К—С—Уокера		С—298	С—37	С—180	МАП	РМЖ
Фентирин	50 мг/кг × 15	78	99	88	50 мг/кг × 12	80	64	50	27	31
Астирон L	30—40 мг/кг × 15	95	99	95	30 мг/кг × 12	97	76	30	38	75
Асдофан	20—30 мг/кг × 15	96	99	95	30 мг/кг × 12	100	52	76	55	37

Как видно из приведенных данных, изученные препараты являются активными противоопухолевыми агентами в отношении перевиваемых сарком (60—100% торможения) и менее эффективными в отношении карцином мышей. При этом различия между спектром противоопухолевого действия фентирина, с одной стороны, и астирона L и асдофана, с другой, выражены значительно сильнее, чем между спектром астирона L и асдофана. Это, вероятно, объясняется тем, что астирон L и асдофан, будучи пептидами сарколизина, отличаются друг от друга лишь присутствием одной гидроксильной группы, тогда как различия между химической структурой фентирина и пептидов сарколизина (астирона и асдофана) выражены сильнее.

Сравнительное изучение противоопухолевой активности L и D изомеров астирона обнаружило преимущество L изомера перед D при малой эффективности последнего. Так, в максимально переносимой дозе (400 мг/кг×12) астирон D тормозил рост меланомы Клаудмана на 52% при высокой эффективности астирона L на этом штамме (90% торможения). Четкая разница в противоопухолевом действии выявлена и на другом штамме—саркоме 45. В максимально переносимой дозе (200 мг/кг×15) астирон D тормозил рост опухоли на 57%, тогда как L астирон—на 95%. Полученные нами результаты о более высокой эффективности L изомера астирона находятся в соответствии с данными ряда авторов [7, 9, 12 и др.]. Они служат подтверждением гипотезы о роли природного носителя в механизме действия алкилирующих агентов.

Исследование действия препаратов на кровотворение мышей с меланомой Клаудмана показало, что фентирин, обладая невысоким противоопухолевым действием на этот штамм, не оказывал угнетающего действия на гемопоэз мышей, тогда как астирон L и асдофан, будучи эффективными в противоопухолевом отношении, значительно угнетали лейкопоэз мышей. При этом в основном страдал лимфопоэз. Число лимфоцитов к концу лечения уменьшалось под действием максимально переносимой дозы асдофана в 5 раз (с 4700 до 900), а под действием астирона L—в 13 раз (с 8600 до 600) и очень медленно восстанавливалось в последующие 2 недели после окончания лечения, все еще не достигая нормы. Гранулоцитопоэз повреждался незначительно, число нейтрофилов к концу лечения уменьшалось в подопытных группах в 1,5—2 раза и быстро восстанавливалось после прекращения лечения.

В опытах на крысах с саркомой 45 фентирин, астирон L и асдофан оказывали примерно одинаковое угнетающее действие на лейкопоэз, поражая, как и у мышей, в основном лимфопоэз. Общее число лимфоцитов уменьшалось под действием максимально переносимой дозы фентирина в 5 раз (с 11400 до 2400), L—астирона—в 2 раза (с 12100 до 6400), асдофана—в 5 раз (с 12900 до 2300) к концу терапевтического курса и медленно восстанавливалось в последующие 2 недели. Гранулоцитопоэз значительно не повреждался. Изученные препараты вызывали более глубокое угнетение лимфопоэза интактных крыс, чем крыс с саркомой 45; число лимфоцитов в крови последних к концу лечения уменьшалось

в 5—8 раз с медленным последующим восстановлением. Миелоидное кровотворение интактных крыс существенно не затрагивалось. Число нейтрофилов периферической крови в подопытных группах уменьшалось незначительно. Число ядросодержащих клеток костного мозга крыс снижалось в 1,5—2 раза к концу курса введений препаратов (с 114,5 млн. до 89,2 млн. под действием фентирина, до 82,5 млн.—под действием астирона L и до 68, 5 млн.—под действием асдофана) и быстро восстанавливалось до исходного уровня в течение двухнедельного срока.

Выводы

1. Изученные препараты: 1)0 —[п-ди] 2 хлорэтил (аминофенил)—DL тирозин (фентирин), 2) этиловый эфир N-ацетил-DL-сарколизил-L тирозина (астирон L), 3) этиловый эфир N-ацетил-DL сарколизил-3,4-диокси-DL-фенилаланина (асдофан) — являются активными в противоопухолевом отношении препаратами, вызывающими 60—100% торможения роста перевиваемых меланом и сарком животных.

2. Наибольшей противоопухолевой активностью в отношении меланомы мышей Гардинга-Пасси и пигментной меланомы хомяков обладает фентирин (77 и 88% торможения), в отношении меланомы Клаудмана мышей—астирон L (90% торможения) и асдофан (96% торможения).

3. Спектр противоопухолевого действия фентирина, с одной стороны, и пептидов сарколизина (астирона, асдофана), с другой, различны в отношении определенных штаммов меланом, сарком и карцином.

4. D-изомер астирона (этилового эфира N-ацетил-DL сарколизил-D-тирозина) значительно уступает по своей противоопухолевой активности L изомеру.

5. Фентирин, астирон, асдофан оказывают угнетающее действие на лимфоидное кровотворение и значительно слабее действуют на костномозговое кровотворение животных.

Лаборатория экспериментальной химиотерапии,
Институт экспериментальной и клинической
онкологии АМН СССР

Поступило 20.II 1964 г.

Ս. Ա. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

ՏԻՐՈԶԻՆԻ ԵՎ 3,4—ԴԻՕՔՍԻՖԵՆԻԼԱԼԱՆԻՆԻ ՔԼՈՐԷԹԻԼԱՄԻՆԱՅԻՆ ԱԾԱՆՑՅԱԼՆԵՐԻ ՀԱԿԱՈՒՌՈՒՑՔԱՅԻՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ամփոփում

Ուսումնասիրվել են O-ֆենիլ-տիրոզինի քլորէթիլամինային ածանցյալի (ֆենտիրին) և սարկոլիզինի պեպտիդների (աստիրոն, ասդոֆան) տոքսիկականությունը, հակաուռուցքային ակտիվությունը և ազդեցությունը արյունաստեղծ օրգանների վրա։ Պարզվել է, որ հետազոտվող պրեպարատները օժտը-

ված են թույլ արտահայտված տոքսիկ հատկությամբ և ցուցաբերում են բավականին ուժեղ հակաուռուցքային ներգործություն կենդանիների վերապատվաստված մելանոմաների և սարկոմաների նկատմամբ (60—100% կասեցում)։ Պարզվել է նաև, որ մկների Գարդինգի-Պասսիի մելանոմայի և համստերների պիգմենտային մելանոմայի նկատմամբ առավելագույն բարձր հակաուռուցքային էֆեկտ ցուցաբերում է ֆենտիրինը (77—88% կասեցում), իսկ մկների Կլաուդման մելանոմայի նկատմամբ աստիրոնը և ասդոֆանը (90—96% կասեցում և 20-ից 30% մկների մոտ ուռուցքի լրիվ հետաճում)։

Աստիրոնի D իզոմերը ի տարբերություն L իզոմերի օժտված է շնչին հակաուռուցքային ազդեցությամբ։ Մի կողմից ֆենտիրինի և մյուս կողմից աստիտոնի ու ասդոֆանի հակաուռուցքային ներգործման սպեկտրները որոշակի ուռուցքային շտամների նկատմամբ (մելանոմա, սարկոմա, կարցինոմա) տարբեր են։

Ուսումնասիրված պրեպարատները օժտված են լիմֆոպոեզը արգելակող ներգործությամբ։

ЛИТЕРАТУРА

1. **Беленький М. Л.** Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. М., 1963 г.
2. **Ларионов Л. Ф.** Вестник Акад. мед. наук СССР, 1958, 2, стр. 8—14.
3. **Ларионов Л. Ф.** Вестник Акад. мед. наук СССР, 1959, 6, стр. 25—37.
4. **Ларионов Л. Ф.** Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 1961, 2, стр. 3—9.
5. **Ларионов Л. Ф., Софьина З. П.** Доклады АН СССР, 1957, 114,5, стр. 1070—1072.
6. **Софьина З. П.** Труды V Всесоюзной онкологической конференции, 1959, стр. 773—776.
7. **Трушейкина В. И.** Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1958, 46, 9, стр. 101—104.
8. **Gerarde H.** A. M. A. archives of industrial health 1956, 13, 4. 331—335.
9. **Haddow A.** Ann. Rev. Biochem. 1955, 24, 689—742.
10. **Lerner A. B.** a **Fitzpatrik T. B.** Physiol. Revs, 1950, 30, 1, 91—126.
11. **Seiji M., Shimao K., Birbek M. S., Fitzpatrik T. B.** Ann. N. I. acad. sci. 1963, 100, 2, 497—533.
12. **Stock C. C., Reilly H., Buckley S. M., Clarke A. D., Rhoade C. P.** Nature 1954, 173, 71—72.