

УДК 615.277.3

Г. М. СТЕПАНЯН, Б. Т. ГАРИБДЖАНЫН, К. А. КАЗАРЯН, М. В. ТАТЬЯН

ВЛИЯНИЕ ДВУХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ГРУППЫ ДИЭТИЛЕНИМИДОВ АЛКОКСИБЕНЗИЛПИРИМИДИЛ- АМИДОФОСФОРНЫХ КИСЛОТ НА НОРМАЛЬНОЕ КРОВЕТВО- РЕНИЕ И ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКУЮ РЕАКТИВНОСТЬ ОРГАНИЗМА

Изучено влияние диэтиленимидов 2,4-диметил-5-(п-изопропоксибензил)- и 5-(п-бутоксibenзил) пиримидил-6-амидофосфорных кислот (соединение I и II) на нормальное кроветворение и иммунобиологическую реактивность организма.

Установлено, что соединение I не оказывает на кроветворение интактных мышей и крыс угнетающего действия, а соединение II вызывает выраженное угнетение лейкоцитопоза, который восстанавливается через 15—20 дней после прекращения инъекций. Оба препарата не угнетают иммунобиологическую реактивность организма.

В литературе имеются многочисленные сведения о том, что известные противоопухолевые препараты, в том числе и производные этилен-имины, оказывают выраженное угнетающее действие на нормальное кроветворение и иммунобиологическую реактивность организма [1, 4, 6—9, 13—15], значительно ухудшая конечные результаты терапии. В этой связи в настоящее время при изучении новых антибластических агентов первостепенную важность приобретают исследования их иммунодепрессивных свойств.

В настоящем сообщении приведены результаты изучения влияния диэтиленимидов 2,4-диметил-5-(п-изопропоксибензил)- и 5-(п-бутоксibenзил) пиримидил-6-амидофосфорных кислот (соединение I и II соответственно) на морфологический состав периферической крови животных, фагоцитарную активность лейкоцитов, скорость заживления кожных ран, изменение веса иммунокомпетентных органов и иммунный ответ организма на введение бараньих эритроцитов. Результаты экспериментального изучения противоопухолевых свойств указанных веществ изложены в предыдущих наших работах [5, 11].

Материал и методы

Влияние препаратов I и II на морфологический состав периферической крови изучали на белых беспородных мышцах-самцах весом 18—20 г и белых беспородных крысах-самцах весом 110—120 г. Каждый

препарат испытывали в трех дозах (МПД, 1/2МПД и 1/4МПД), каждую дозу на трех животных. Препараты вводили ежедневно внутривентриально мышам (100, 50 и 25 мг/кг) в течение 6, крысам (50, 25 и 12,5 мг/кг)—8 дней. Исследование крови проводили до введения препаратов и 10 раз в течение опыта (на 3-, 5-, 7-, 9-, 11-, 14-, 17-, 21-, 25-, 31-е сутки). Кровь у животных брали утром (до кормления) из хвостовой вены. В счетной камере Горяева подсчитывали общее количество лейкоцитов и эритроцитов в 1 мм³ крови, а для определения лейкоформулы готовили мазки, окрашивали по Романовскому-Гимза и изучали микроскопически.

Действие препаратов на фагоцитарную активность лейкоцитов крови, скорость заживления кожных ран и вес органов лимфопоеза (вилочковая железа, селезенка) определяли при многократном внутривентриальном их введении (ежедневно, один раз в день, в течение 8 дней) в МПД. Фагоцитарную активность лейкоцитов определяли по методу В. К. Берзина и М. Л. Блумберга [3]. Кожные раны наносили по методу Л. З. Пономаревой-Астраханцевой [10].

Проведены две серии опытов на крысах-самцах весом 100—120 г. В обеих сериях животные были разделены на 3 подгруппы (по 5 крыс в каждой). I серию экспериментов провели на интактных животных. Крысам первых двух подгрупп вводили препараты, а третья служила контролем. В первый день опыта у всех животных были вызваны кожные раны размером 10×10 мм. До введения препаратов и на 3-, 5-, 7-, 9- и 11-й день опыта у крыс брали кровь для определения фагоцитарной активности лейкоцитов, одновременно измеряли размеры ран. На 13-е сутки опыта крыс забивали и определяли общий вес животного, вилочковой железы и селезенки.

II серию опытов провели на крысах с перевивной саркомой 45. Опухоль животным трансплантировали по известной методике [12]. На 5-е сутки трансплантации у крыс были вызваны кожные раны, после чего их начали лечить препаратами. Фагоцитарную активность лейкоцитов крови определяли до перевивки опухоли и на 5-, 7-, 9-, 11- и 13-е сутки после перевивки опухоли. В указанные дни измеряли также размеры ран. На 15-й день опыта животных забивали с целью выявления противоопухолевого эффекта, общего действия препаратов на организм [12] и влияние их на органы лимфопоеза.

Влияние препаратов на иммунореактивность организма изучали на мышах весом 20—25 г методом Ерне и Нордина [17]. В качестве основной экспериментальной модели была избрана иммунизация животных эритроцитами барана с последующей регистрацией иммунного ответа и титрования циркулирующих в крови антител (гемагглютининов). Препараты вводили двукратно в МПД (100 мг/кг) внутривентриально в разные сроки до и после иммунизации мышей. Через 4 суток после иммунизации мышей забивали, подсчитывали число антителообразующих клеток (АТОК) в селезенке и определяли титр гемагглютининов в крови.

Цифровой материал подвергали статистической обработке по методу Стьюдента-Фишера (по [2]). В иммунологических исследованиях в качестве основных показателей использовали среднее геометрическое. Титр антител вычисляли в логарифмах с основанием 2.

Результаты и обсуждение

Данные, представленные на рис. 1, показывают, что соединение I в использованных дозах вызывало незначительное угнетение лейкоцитопоеза у мышей. Следует указать, что лейкопеническое действие указанного соединения в основном выражается в уменьшении количества лимфоцитов, в то время как гранулоцитопоез, даже в некоторой степени, стимулируется. Указанные сдвиги в крови сразу же после прекращения инъекций препарата за короткие сроки восстанавливаются.

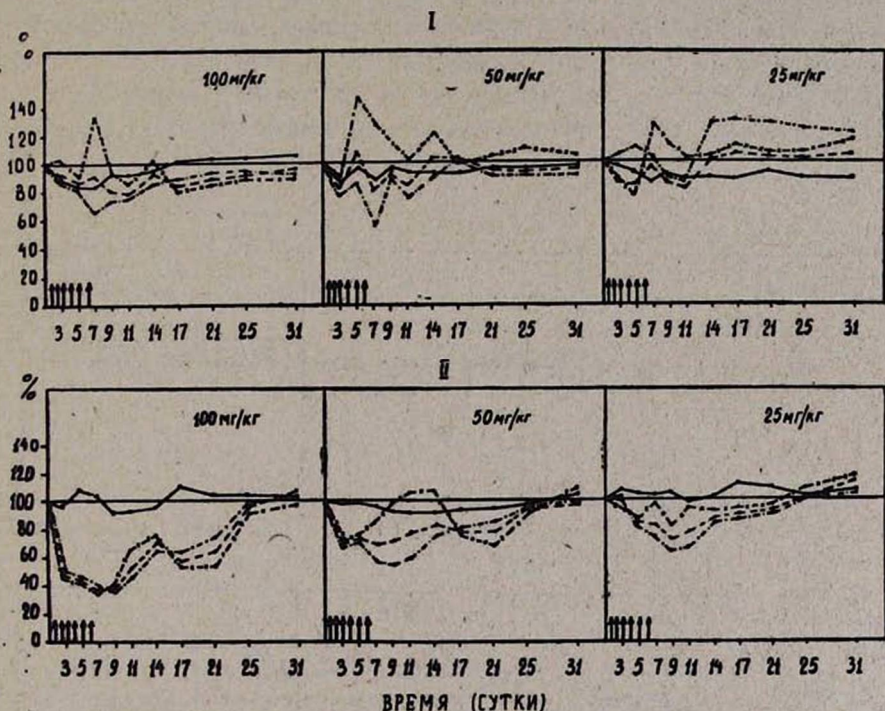


Рис. 1. Влияние препаратов I и II на содержание форменных элементов в периферической крови intactных мышей в зависимости от дозы. Условные обозначения: $\uparrow$ введение препарата, — эритроциты, — общее количество лейкоцитов, — лимфоциты, —х—х—гранулоциты.

В отличие от своего структурного аналога соединение II существенно угнетало лейкоцитопоез, причем его лейкопеническое действие находилось в прямой зависимости от использованной дозы. Так, в максимально переносимой дозе (100 мг/кг) уже после 3-й инъекции отмечалось уг-

нетение общего количества лейкоцитов на 57, а после 6-й инъекции — на 63% (рис. 1). Следует отметить, что угнетающее действие препарата в равной степени распространялось как на лимфо-, так и на гранулоцитопоз. Через трое суток после прекращения инъекции препарата (9-е сутки опыта) наблюдалось медленное восстановление лейко-, лимфо- и гранулоцитопоза, достигающее на 25-е сутки опыта исходного уровня. В меньших дозах (50 и 25 мг/кг) препарат оказывал более слабое влияние на лейкоцитопоз, и, кроме того, отмечалось преимущественное подавление лимфоцитопоза. После прекращения инъекций лейкоцитопоз у животных постепенно восстанавливался и доходил до нормы несколько раньше, чем при большой дозе препарата. Оба препарата на эритроцитопоз мышей в испытанных дозах угнетающего действия не оказывали (рис. 1).

Результаты, полученные при изучении влияния указанных соединений на нормальное кроветворение крыс, в основном аналогичны данным, полученным на мышках. Так, соединение I в морфологическом составе периферической крови животных в использованных дозах (50, 25 и 12,5 мг/кг) существенных изменений не вызывало. Соединение же II в МПД (50 мг/кг) кратковременно угнетало лимфоцитопоз, а в меньших дозах (25 и 12,5 мг/кг) вызывало лимфо- и гранулоцитопоз (рис. 2).

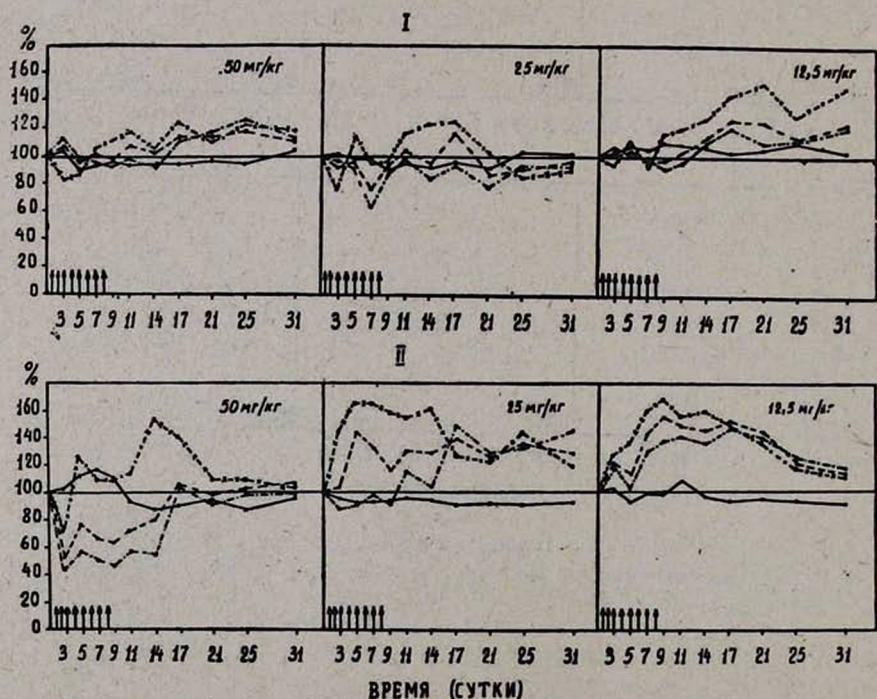


Рис. 2. Влияние препаратов I и II на содержание форменных элементов в периферической крови intactных крыс в зависимости от дозы. Условные обозначения те же, что и на рис. 1.

При изучении влияния вышеуказанных веществ на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови у интактных крыс и животных с перевивной саркомой 45 было установлено, что оба соединения в МПД (50 мг/кг) не вызвали угнетения фагоцитоза (рис. 3). Существенного уменьшения веса иммуокомпетентных органов (вилочковая железа, селезенка) или же ослабления скорости заживления кожных ран по сравнению с контролем также не было отмечено. Вместе с тем, оба соединения в использованных дозах вызвали значительное торможение роста трансплантированной саркомы 45 (на 90 и 96% соответственно). Полученные данные свидетельствуют о том, что указанные вещества в эффективных терапевтических дозах не ослабляют общую неспецифическую резистентность организма.

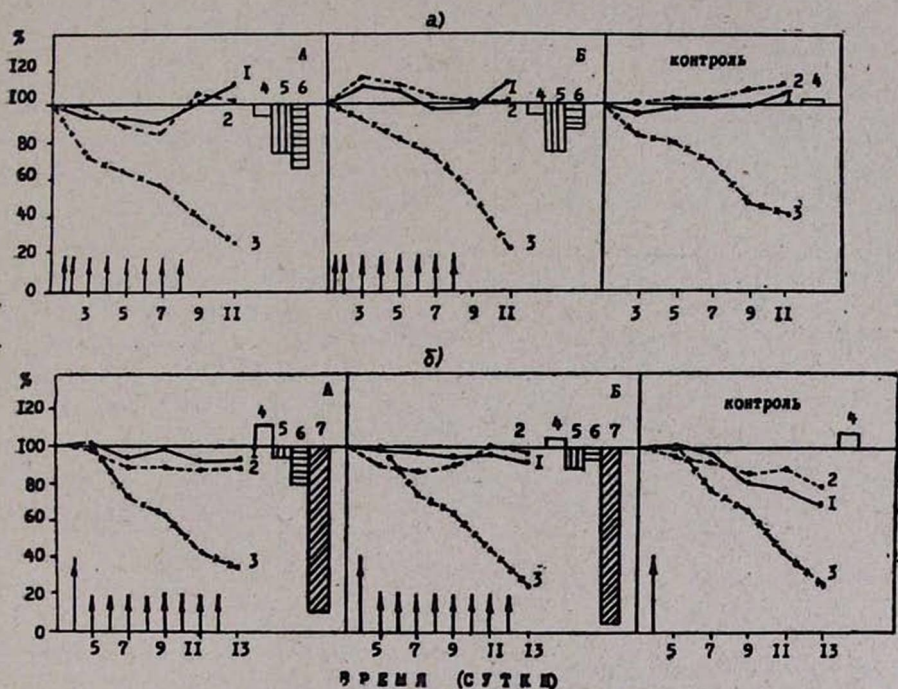


Рис. 3. Влияние препаратов I и II на фагоцитарную активность лейкоцитов крови интактных крыс (а) и животных с саркомой 45 (б). Условные обозначения: А—препарат I, Б—препарат II, 1—фагоцитарное число, 2—фагоцитарный индекс, 3—скорость заживления кожных ран, 4—вес животного, 5—вес вилочковой железы, 6—вес селезенки, 7—рост опухоли. Стрелки—введение препарата.

Результаты, представленные в таблице, показывают, что соединения I и II не оказывают также существенного влияния на интенсивность антителообразования.

При двукратном введении препаратов в разные дни до и после иммунизации мышей эритроцитами барана (500 млн) во всех группах животных гемагглютинины присутствовали в высоких титрах, незначительно отличаясь от уровня контроля. Исследование числа ядерных кле-

ток в паренхиме селезенки показало, что испытуемые вещества не проявили существенного цитостатического действия. Наблюдалась положительная корреляция между способностью препаратов ингибировать клетки и иммунологической активностью

Таблица
Влияние препаратов I и II на иммунную реакцию организма

Группы животных и схема опыта	Препарат	Количество мышей	Количество клеток в селезенке $\times 10^6$	Количество АТОК		Титры ге- магглю- тинов
				на 1 млн	на селезенку	
— 2 д препарат — 1 д препарат 0 д антиген	I	14	370,9	225,0	66900 (43550—103000)	5 (4—7)
	II	19	309,7	275,6	75510 (72110—79070)	6 (5—6)
— 1 д препарат 0 д препарат + 1 д антиген	I	24	272,3	212,0	50700 (46560—55210)	4 (2—8)
	II	12	279,7	218,6	59570 (47420—74820)	5 (3—7)
0 д препарат + антиген + 1 д препарат	I	15	288,4	207,0	56620 (45290—70790)	6 (4—8)
	II	13	321,3	322,4	36900 (82790—91200)	6 (5—8)
0 д антиген + 1 д препарат + 2 д препарат	I	12	188,9	153,1	25060 (13270—47320)	3 (2—6)
	II	11	235,5	296,1	54580 (30760—96830)	5 (4—7)
Контроль	—	22	268,7	312,7	68781 (44515—90825)	7 (5—8)

Условные обозначения: знак (—) обозначает, что препарат вводили до, (+) — после иммунизации мышей. АТОК — антителообразующие клетки.

Таким образом, диэтиленимиды 2,4-диметил-5-(п-изопропоксибензил)- и 5-(п-бутоксибензил)пиримидил-6-амидофосфорных кислот по влиянию на морфологический состав периферической крови интактных животных отличаются как между собой, так и от известного в литературе структурного их аналога диэтиленимида пиримидил-2-амидофосфорной кислоты (фосфемид). Как известно [13], фосфемид в МПД у животных вызывает более выраженную лейкопению без преимущественного угнетения лимфоцитопоза. Однако восстановление общего количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы в этом случае происходит гораздо быстрее (в течение 5 суток) после прекращения его введения.

Высокая противоопухолевая активность испытуемых нами веществ

в отличие от многих известных канцеролитиков [4, 6—9, 14] не сопровождается иммунодепрессивным действием на организм животных.

Институт тонкой органической химии
им. А. Л. Миджояна АН Арм. ССР

Поступила 24/V 1977 г.

Հ. Մ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ, Բ. Տ. ՂԱՐԻՐՋԱՆՅԱՆ, Կ. Ա. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Մ. Վ. ԹԱԹՅԱՆ

ԱԿՈՔՍԻԲԵՆԶԻԼՊԻՐԻՄԻԴԻԼ ԱՄԻՆՈՅՈՅՈՒՆՈՒՄՈՒՆՈՒՆԵՐԻ
ԴԻԷԹԻԼԵՆԻՄԻԴԵՆԵՐԻ ԽՄԲԻՑ ԵՐԿՈՒ ՀԱԿԱՌԻՈՒՅՖԱՅԻՆ
ՄԻԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆ ՕՐԳԱՆԻԶՄԻ ՆՈՐՄԱԼ
ԱՐՅՈՒՆԱՍՏԵՂՄԱՆ ԵՎ ԻՄՈՒՆՈՐԵԿՏԻՎԻԹԵՏԱՆ ՌԵԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ք փ ո լ մ

Առողջ ռիկների և առնետների մոտ ուսումնասիրվել է 2,4-դիմեթիլ-5-պ-իդրոպրոպոքսիբենզիլ) և 5-(պ-բուքսիբենզիլ)պիրիմիդիլ-6-ամիդոֆոսֆորաթթվաների դիէթիլէնիմիդների (I և II միացություն) ազդեցությունն արյան մորֆոլոգիական կազմի և օրգանիզմի իմունորեկտիվական ռեակտիվության վրա:

Պարզվել է, որ I միացությունը կենդանիների նորմալ արյունաստեղծման վրա էնշոդ ազդեցություն չի թողնում, իսկ II-ը զգալիորեն պակասեցնում է էրիթրոցիտների ընդհանուր քանակը, որի վերականգնումը տեղի է ունենում պրեպարատի ներարկումը դադարեցնելուց 15—20 օր անց:

Պարզվել է նաև, որ երկու միացություններն էլ չեն թուլացնում ինչպես էրիթրոցիտների ֆագոցիտար ակտիվությունը, այնպես էլ օրգանիզմի հակամարմիններ առաջացնելու ընդունակությունը օտար սպիտակուցի (ոչխարի էրիտրոցիտների) նկատմամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Балицкий К. П., Векслер И. Г. Реактивность организма и химиотерапия опухолей. Киев, 1975.
2. Бельский М. П. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига, 1959.
3. Берзин В. К., Блумберг М. Л. ЖМЭИ, 1958, 1, стр. 124.
4. Гарибджанян Б. Т. Вopr. онкологии, 1964, 12, стр. 49.
5. Гарибджанян Б. Т., Степанян Г. М. Биол. журнал Армении, 1973, 26, 6, стр. 27.
6. Гарибджанян Б. Т., Чернов В. А. Фармакология и токсикология, 1969, 4, стр. 434.
7. Ишханян А. Ш., Айвазян Г. Х., Гарибджанян Б. Т. Ж. exper. и клинич. мед. АН Арм ССР, 1970, 10, 2, стр. 96.
8. Ковалев И. Е., Чернов В. А., Майская Л. М. Вopr. онкологии, 1969, 6, стр. 62.
9. Лященко В. А. Вестник АМН СССР, 1965, 7, стр. 72.
10. Пономарёва-Астраханцева Л. З. В кн.: Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований. Л., 1954, стр. 666.
11. Степанян Г. М., Гарибджанян Б. Т. Биол. журнал Армении, 1977, 3, стр. 46.
12. Чернов В. А. В кн.: Методы экспериментальной химиотерапии. М., 1971, стр. 357.

13. Чернов В. А., Грушина А. А., Лыткина Л. Г. Фармакология и токсикология, 1963, 1, стр. 102.
14. Bernbaum M. C. Nature, 1960, 185, 4707, 167.
15. Gerhartz H. Blut, 1959, 5, 6—7, 360.
16. Johnson R. K., Garibjanian B. T., Houchens D. P., Kline J. et al. Cancer Treatment Reports, 1976, 60, 9, 1335.
17. Jerne N. K., Nordin A. A. Science, 1963, 140, 405, 3565.