

Zakład Botaniki Farmaceutycznej. Instytut Analizy i Technologii Farmaceutycznej.
Wydział Farmaceutyczny. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Tadeusz Szyal

Kazimiera GRZYCKA

**Wstępna ocena aktywności cytostatycznej niektórych hydrazydów
i ich pochodnych**

Предварительная оценка цитостатической активности некоторых гидразидов
и их производных

An Introductory Evaluation of the Cytostatic Activity of Some Hydrazines and their
Derivatives

Występowanie zaburzeń w cyklu życiowym komórek, zachodzących pod wpływem związków antymitotycznych, jest wykorzystywane w poszukiwaniu środków hamujących podziały komórek nowotworowych. Stosowane w badaniach (1, 2) testy roślinne pozwalają na szybkie oznaczenie aktywności cytostatycznej związków na podstawie zmiany w obrazie figur mitotycznych.

W badaniach nad nowymi związkami (10) podjęto doświadczenie w celu wstępnej oceny aktywności cytostatycznej niektórych hydrazydów i ich aminometylowych pochodnych, zsyntetyzowanych przez Domagalinę i wsp. (7, 8).

MATERIAŁ I METODYKA

Aktywność cytostatyczną związków określano poddając ich działaniu wierzchołki korzeni pszenicy w czasie 24 godz., zgodnie z testem *Triticum* wprowadzonym do badań przez Constatinescu i wsp. (3). Po 24 godz. obcinano wierzchołki korzeni i utrwalano w płynie Carnoya (3:1) przez 45 minut, po kilkakrotnym przemyciu etanolem 70% przechowywano w alkoholu o tym samym stężeniu aż do czasu barwienia.

Do obserwacji cytologicznych przygotowywano preparaty gniecione, barwione wg Feulgena i dobarwiane na szkiełkach aceto-karminem (10). W każdym preparacie obliczano sumę wszystkich mitoz oraz liczbę mitoz zmienionych, którą wyrażano w procentach. Wyniki obliczano jako średnie z 10 preparatów.

Najmniejsze stężenie aktywne (CM_A) badanych związków obliczano według Brody i wsp. (1).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Do badań sporządzano roztwory o wyjściowym stężeniu 0,1%, w wypadku silniejszego działania — roztwory 0,025%. Ogółem przeanalizowano 6 następujących związków: A₁ — hydrazyd maleinowy, A₂ — hydrazyd chinolinowy, A₃ — hydrazyd kwasu 3-aminofталowego, A₄ — 1-N-piperydyncmetylo-3-chloropirydazon-6, A₅ — 8-hydroksy-6-N-piperazynometylo-1-azafталazon, A₆ — chlorek ftalazyno-1,4-diono-5-karbamylometylo-pirydyniowy.

Wyniki dotyczące aktywności cytostatycznej badanych związków, wyrażającej się zmienionymi mitozami, zestawiono w tab. 1.

Tab. 1. Procent mitoz zmienionych
Percentage of changed mitosis

Ilość subst. w cm ³	A ₁		A ₂		A ₃	A ₄	A ₅	A ₆
	0,1%	0,025%	0,1%	0,025%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
7,5	0	0	0	58,6	56,0	28,4	30,2	44,2
6,0	0	100	0	39,0	52,4	16,8	24,6	31,5
5,0	0	100	97,3	30,4	39,0	10,5	16,0	29,8
4,0	0	100	95,5	25,3	30,4	—	6,2	25,2
3,0	0	91,2	80,4	19,1	23,0	—	—	18,4
2,0	0	86,5	52,2	9,5	15,1	—	—	—
1,5	0	75,3	38,2	—	—	—	—	—
1,0	100	62,0	24,0	—	—	—	—	—
CM _A	—	0,0069	0,0268	—	—	—	—	—

Jak wskazują dane procentowe, najsilniejszym działaniem odznaczały się związki A₁ i A₂. Związki te wpływały hamująco zarówno na wzrost liniowy korzeni, jak również na podziały mitotyczne.

Hydrazyd maleinowy (A₁) w stężeniu 0,1% wykazywał działanie cytotoksyczne, co przejawiało się całkowitym brakiem figur podziałowych w preparatach. Podobny wpływ wywierały wyższe dawki stężenia 0,025%. Dawki niższe odznaczały się wysoką aktywnością cytostatyczną. Procent mitoz zmienionych wynosił dla tego stężenia od 62 do 100, a wartość CM_A czyli najniższego stężenia aktywnego wynosiła 0,0069%. Działanie hydrazidu maleinowego było więc silniejsze od działania znanego związku alkilującego Vercytu, którego CM_A wynosiło 0,0294% (10).

Hydrazyd maleinowy jest znanym inhibitorem wzrostu roślin (11), a jego wpływ na przebieg podziałów mitotycznych i na chromosomy jest podobny do działania czynników alkilujących (13). W dotychczasowych badaniach (4) stwierdzono jednak, że wpływ hydrazidu maleinowego jest nieco odmienny od wpływu innych związków chemicznych. W stężeniach niskich powoduje on bowiem wyraźne zmniejszenie aktywności mitotycz-

nej, przy zachowanym normalnym wzroście korzeni na długość, a dopiero stężenia wyższe dają zahamowanie wzrostu liniowego korzeni. W przypadku działania innych związków chemicznych, np. hydrazidu kwasu izonikotynowego (5), zahamowanie wzrostu korzeni na długość poprzedza zmniejszenie aktywności mitotycznej.

Roztwór 0,025% hydrazidu chinolinowego (A_2) powodował zmiany niewielkie, bowiem przy najwyższych dawkach występowało zaledwie 58,6% mitoz zmienionych, obok których obserwowano w preparatach liczne mitozy normalne. Roztwór zaś 0,1% przy wyższych dawkach działał trująco (brak podziałów mitotycznych), a przy niższych wykazywał zdecydowaną aktywność wywołując zmiany figur mitotycznych w granicach od 24,0 do 97,3%. CM_A tego związku wynosiło 0,0268%, a więc zbliżone było do wartości CM_A Vercytu.

Najczęściej występującymi zaburzeniami mitotycznymi, wywoływanymi działaniem hydrazydów maleinowego (A_1) oraz chinolinowego (A_2), była wyraźna aglutynacja chromosomów oraz fragmentacja chromosomów w metafazie i anafazie, a w stężeniach wyższych — występowanie jąder piknotycznych i mikrojąder. Obserwowane w preparatach zaburzenia mitotyczne i aberracje chromosomowe identyfikowano opierając się na mikrofotografiach mitoz zmienionych, zamieszczonych w piśmiennictwie (6, 9, 12).

Hydrazid kwasu 3-aminofalowego (A_3) okazał się cytostatycznie nieczynny. W dawkach niższych nie powodował żadnych zakłóceń w przebiegu podziałów mitotycznych, a w dawkach wyższych wywierał wpływ niewielki. Zmienione mitozy stanowiły zaledwie 15,1 do 56,0%.

Podobnie nieaktywne okazały się aminometylowe pochodne (A_4 , A_5 , A_6) hydrazydów maleinowego, chinolinowego i kwasu 3-aminofalowego. Nie mają one znaczenia cytostatycznego, przyjęto bowiem, że związki cytostatyczne aktywne przy 3 kolejnych dawkach tego samego stężenia powinny wywoływać zmiany u co najmniej 80% figur mitotycznych.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono:

1. Spośród 6 przebadanych związków wartość cytostatyczną posiadają jedynie: hydrazid maleinowy (A_1) i hydrazid chinolinowy (A_2).

2. Hydrazid maleinowy odznacza się wysoką aktywnością już w stężeniu 0,025%, podczas gdy hydrazid chinolinowy jest cytostatycznie aktywny dopiero w stężeniu 0,1%.

3. Hydrazid kwasu 3-aminofalowego jak też pochodne aminometylowe omawianych hydrazydów są cytostatycznie nieczynne.

PIŚMIENNICTWO

1. Broda B., Kocik H.: Acta Pol. Pharm. 29, 191—199, 1972.
2. Broda B., Andrzejewska-Golec E.: Farmacja Polska 30, 417—422, 1974.

3. Constantinescu D. G., Retezeanu M., Oteleanu R., Constantinescu M.: Die Pharmazie **10**, 699, 1963.
4. Deysson G., Rollen A.: Cpt. rend. Acad. Sci. **233**, 820—821, 1951.
5. Deysson M. G., Rollen A.: Annal. Pharmac. Franc. **11**, 268—272, 1953.
6. Deysson G.: Chemotherapia **2**, 138—162, 1961.
7. Domagalina E., Kurpiel I., Koktyś N.: Roczn. Chem. Ann. Soc. Chim. Pol. **43**, 775—781, 1969.
8. Domagalina E., Ochyńska J.: Pol. J. Pharmacol. Pharm. **26**, 473—477, 1974.
9. Goleniewska-Furmanowa M.: Acta Pol. Pharm. **26**, 389—407, 1969.
10. Grzycka K.: Annal. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Sec. D, **30**, 205—208, 1975.
11. Maciejewska-Potapczykowa W.: Substancje wzrostowe roślin PWRL, Warszawa 1967.
12. Mascré M., Deysson G.: Biol. medicale **40**, 323—376, 1951.
13. Żuk J., Świetlińska Z.: Genet. Pol. **14**, 173—177, 1973.

Otrzymano 30 VI 1976.

РЕЗЮМЕ

Изучалось влияние малеинатного (A_1), хинолинового (A_2) гидразидов, 3-аминофталевой кислоты (A_3) и их аминотетилловых производных (A_4 , A_5 , A_6) на митотическое деление в корнях.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о высокой активности малеинатного ($CM_A=0,0069\%$) и хинолинового ($CM_A=0,0294\%$) гидразидов.

Как гидразид 3-аминофталевой кислоты, так и аминотетилловые производные оказались цитостатически неактивными.

SUMMARY

The carried out research concerned the influence of hydrazines: maleic (A_1), quinic (A_2), 3-aminophtalic acid (A_3) and their aminometyl derivatives (A_4 , A_5 , A_6) on the mitotic division in the roots of the *Triticum vulgare* Vill.

On the basis of the obtained results a high activity of maleic hydrazine ($CM_M=0,0069\%$) and quinic hydrazine ($CM_A=0,0094\%$) was ascertained.

the levels of 5 hydroxyindolacetic acid (HIAA) were raised in the brain and kidneys whereas in other organs they were normal.