

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

Kazimiera GRZYCKA, Elżbieta KOT

Fitobiologiczne oznaczanie aktywności cytostaticznej pochodnych ftalimidu

Фитобиологическое определение цитостатической активности
производных фтольмида

The Phytobiological Determination of the Cytostatic Activity of Phthalamide
Derivatives

Poszukiwanie nowych leków przeciwnowotworowych prowadzi do intensywnego rozwoju badań nad działaniem antymitotycznym związków naturalnych pochodzenia roślinnego (4, 7, 8, 9, 10, 11), których dokładny przegląd został opracowany przez Bukowieckiego i Furmanową (3), a także nowosyntetyzowanych związków chemicznych (2).

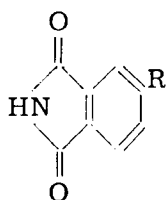
W naszej pracy przeprowadzono wstępną ocenę własności cytostaticznych aminoacetamidowych pochodnych ftalimidu, zsyntetyzowanych przez Domagalinę i Ochylską (6) w Zakładzie Chemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej w Lublinie. Niektóre z tych związków poddane badaniom farmakologicznym wykazały słabe działania przeciwbólowe i deprymujące na ośrodkowy układ nerwowy (12).

MATERIAŁ I METODYKA

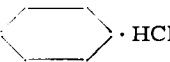

Badania prowadzono na ziarniakach *Triticum vulgare* Vill., odmiany „Ostka Popularna” uzyskanej ze zbioru r. 1973 z Instytutu Uprawy i Hodowli Roślin Akademii Rolniczej w Lublinie. Stosowano test „*Triticum*” opracowany przez Constantinescu i wsp. (5), który pozwala na ilościowe oznaczenie efektu cytostaticznego. Jako substancji wzorcowej do celów porównawczych używano Vercytu. Roztwory badanych substancji i cytostatyku standardowego przygotowywano bezpośrednio przed użyciem w stężeniach 0,1%. Materiał utrwalano w płynie Carnoya (3:1), hydrolizowano w 1N HCl o temp. 60°C przez 8 min. i barwiono w odczynniku Schiffa. Po przepłukaniu w wodzie z SO₂ dobarwiano roztworem aceto-karminu i sporządzano preparaty gniecione (Broda, 1). Preparaty poddano obserwacjom w mikroskopie świetlnym, określając sumę wszystkich mitoz i jednocześnie liczbę mitoz zmienionych, które następnie obliczano w procentach. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie (1, 2).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Stwierdzenie działania cytostatycznego nowych związków chemicznych wymaga przeprowadzenia prób ze związkiem o znanym działaniu antymitycznym, służącym jako standard. W pracy naszej jako substancji standardowej używano 0,1% wodnego roztworu Vercytu, którego CM_A , czyli najmniejsze stężenie aktywne, wynosiło 0,0294%. W badaniach przeanalizowano działanie trzech pochodnych aminoacetamidowych ftalimidu, których budowę chemiczną przedstawiono w tab. 1.



Tab. 1. Pochodne ftalimidu
Phthamide derivatives

| Związek | R | Nazwa związku |
|---------|---|--|
| I | $-\text{NH}_2$ | 4-aminoftalimid |
| II | $-\text{NHCOCH}_2\text{-N}$  $\cdot \text{HCl}$ | Chlorowodorek 4-piperidyno-acetamidofthalimidu |
| III | $-\text{NHCOCH}_2\text{-N}$  $\text{O} \cdot \text{HCl}$ | Chlorowodorek 4-morfolino-acetamidofthalimidu |

Do badań sporządzano roztwory o wyjściowym stężeniu 0,1%. Wyniki ilościowe zaburzeń mitotycznych i anomalii chromosomowych występujących przy odpowiednich stężeniach analizowanych związków przedstawiono w tab. 2.

Tab. 2. Procent mitoz zmienionych
Percentage of changed mitosis

| Ilość substancji w cm^3 | Roztwory 0,1% | | |
|----------------------------------|---------------|------|------|
| | I | II | III |
| 7,5 | 72,6 | 51,4 | 34,9 |
| 6,0 | 71,0 | 45,0 | 32,0 |
| 5,0 | 62,6 | 41,6 | 30,5 |
| 4,0 | 53,4 | 39,2 | 27,4 |
| 3,0 | 50,8 | 34,5 | 24,1 |
| 2,0 | 46,5 | 20,2 | 18,3 |
| 1,5 | 34,1 | — | — |
| 1,0 | 28,2 | — | — |
| CM_A | 0,0504% | — | — |

Uzyskane wyniki liczbowe pozwalają na stwierdzenie, że przebadane pochodne aminoacetamidowe ftalimidu wywołują zaburzenia w przebiegu po-

działów mitotycznych komórek merystematycznych korzeni *Triticum vulgare* Vill. W obrazach mikroskopowych występują obok zmienionych mitozy normalne. Procent zmienionych mitoz wzrasta wraz ze wzrostem stężenia badanego związku, nie daje jednak wyraźnego efektu cytostatycznego.

Najaktywniejszym z trzech badanych związków okazuje się związek I (4-aminofthalimid), który już przy najmniejszym stężeniu wywołuje zmiany u około 28,2% mitoz i procent ten wzrasta stopniowo wraz ze wzrostem stężenia do 72,6. Zdecydowanie słabszą aktywność wykazują związki II i III, gdzie przy najniższych stężeniach nie stwierdza się żadnego wpływu na przebieg podziałów jądrowych, a przy wzroście stężenia procent mitoz zmienionych wynosi od 20,2 do 51,4 (związek II) i od 18,3 do 34,9 (związek III).

Najczęściej spotykanymi zaburzeniami podziałów mitotycznych w naszych badaniach były aberracje chromosomowe w anafazie. Z aberracji metafazowych obserwowano jedynie skracanie i grubienie chromosomów, zależne od stopnia spiralizacji chromonem w chromatydach (10). W anafazie występowały liczne mostki chromosomowe oraz pseudoanafazy i tropokinezy, sporadycznie natomiast anafazy gwiaździste. Podobne obrazy figur mitotycznych wywołane działaniem innych substancji obserwowali Goleniowska-Furmanowa (10) oraz Broda i Kocik (2).

Mimo omówionych zaburzeń w przebiegu podziałów mitotycznych, dane liczbowe w tab. 2 upoważniają do stwierdzenia, że przebadane pochodne aminoacetamidowe ftalimidu są związkami cytostatycznie nieczynnymi. CM_A (najmniejsza ilość substancji cytostatycznie aktywnej) Vercytu wynosi bowiem 0,0294%, podczas gdy CM_A 4-aminofthalimidu, wywierający najsilniejszy wpływ, wynosi 0,0504%, co znacznie odbiega od wartości CM_A substancji wzorcowej. Ponadto 4-aminofthalimid nie osiąga przyjętego dla antymitotyków kryterium działania, za które przyjmuje się zjawisko, gdy przy trzech kolejnych stężeniach około 80% figur mitotycznych wykazuje zmiany aberracyjne (2). Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, należy podkreślić, że: 1) badane związki są cytostatycznie nieczynne, 2) nieco silniejszy wpływ na przebieg podziałów mitotycznych wywiera 4-aminofthalimid, ale bez wyraźnego efektu cytostatycznego, 3) nie mogą one mieć zastosowania praktycznego jako cytostatyki.

PIŚMIENNICTWO

1. Broda B.: Metody histochemii roślinnej. PZWL, Warszawa 1971.
2. Broda B., Kocik H.: Acta Pol. Pharm., 29, 191—199, 1972.
3. Bukowiecki H., Furmanowa M.: Farmacja Polska, 28, 585—591, 1972. sectio D, 26, 165—170, Lublin 1971.
4. Bukowiecki H., Michalska Z., Żołnierzak H.: Acta Pol. Pharm., 29, 489—492, 1972.
5. Constantinescu D. Gr., Retezeanu M., Oteleanu R., Constantinescu M., Grigorescu E.: Die Pharmacie, 10, 699, 1963.
6. Domagalina E., Ochyńska J.: Dissert. Pharm. Pharmacol., 24, 39—42, 1972.
7. Furmanowa M., Olędzka H.: Farmacja Polska, 27, 175—179, 1970.
8. Furmanowa M., Nikogosjan J.: Acta Pol. Pharm., 29, 195—200, 1971.
9. Furmanowa M., Rapczewska L.: Farmacja Polska, 27, 879—882, 1971.
10. Goleniowska-Furmanowa M.: Acta Pol. Pharm., 26, 389—407, 1969.
11. Kiersnowska B.: Farmacja Polska, 26, 903—908, 1970.
12. Kleinrok Z., Książek A., Przegaliński E.: Ann. Univ. Mariae Curie Skłodowska Sectio D, 26, 165—170, Lublin 1971.

Otrzymano 31 XII 1974.

РЕЗЮМЕ

Исследовано цитостатическое действие 3-х новосинтезированных аминоацетамидовых производных фтольмида.

Определено, что исследованные соединения не проявляют цитостатическую активность. Они незначительно влияли на ход митотичного разделения в корневой *Triticum vulgare* Vill.

SUMMARY

The cytostatic activity of 3 newly synthesized amino-acetamide phthalamide derivatives has been investigated. It has been ascertained that the investigated compounds do not reveal a cytostatic activity. Their influence on the course of the mitotic fission in the root meristem of the *Triticum vulgare* Vill. was insignificant.