

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ИОДИДОВ ЦИНКА И КАДМИЯ С АНТИПИРИНОМ, КОФЕИНОМ И ФЕНАНТРОЛИНОМ

И.С. Голубева¹, А.Е. Бармашов¹, А.А. Рудакова¹, М.А. Барышникова¹,
Н.С. Рукк², А.Ю. Скрыбина², Г.Н. Апрышко¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГБОУ ВО «Московский технологический университет»; Россия, 119571 Москва, проспект Вернадского, 86

Контакты: Александр Евгеньевич Бармашов alba0686@gmail.com

Цель работы — исследование цитотоксической активности *in vitro* комплексов иодидов цинка и кадмия с органическими лигандами — антипирином (AP), кофеином (caf) и 1,10-фенантролином (phen) — в сравнении с исходными соединениями: незакомплексованными лигандами, а также иодидами цинка (II) и кадмия (II).

Материалы и методы. Изучена цитотоксичность комплексов иодидов цинка и кадмия с органическими лигандами AP, caf и phen в МТТ-тесте на 5 линиях клеток опухолей человека в сравнении с исходными соединениями: иодидами цинка и кадмия, AP, caf и phen.

Результаты. Все 3 комплекса кадмия оказывали цитотоксическое действие на клетки всех 5 линий с концентрацией ингибирования роста 50 % клеток 5,5–84,0 мкМ. Активность наиболее цитотоксичного диiodo(1,10-фенантролин)кадмия несколько превышала активность лиганда. Один комплекс цинка — диiodo(1,10-фенантролин)цинк — оказывал цитотоксическое действие на клетки 3 линий. Наиболее чувствительными к изученным соединениям были клетки лейкоза Jurkat.

Заключение. Предполагается, что комплексы кадмия и цинка с органическими лигандами перспективны в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов для исследований *in vitro* и *in vivo*.

Ключевые слова: кадмий, цинк, антипирин, кофеин, цитотоксичность

DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-3-75-78

CYTOTOXICITY OF ZINC (II) AND CADMIUM (II) IODIDE COMPLEXES WITH ANTIPYRINE, CAFFEINE AND PHENANTROLINE

I.S. Golubeva¹, A.E. Barmashov¹, A.A. Rudakova¹, M.A. Baryshnikova¹, N.S. Rukk², A.Yu. Skryabina², G.N. Apryshko¹

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²Moscow Technological University; 86 Vernadskogo Prospect, Moscow 119571, Russia

Objective: to study the cytotoxic activity of the zinc (II) and cadmium (II) iodide complexes with antipyrine (AP), caffeine (caf) and 1,10-phenantroline (phen) in comparison with that of free ligands, zinc (II) and cadmium (II) iodides *in vitro*.

Materials and methods. The cytotoxic activity of the zinc (II) and cadmium (II) iodide complexes with AP, caf and phen in comparison with that of free ligands, zinc (II) and cadmium (II) iodides was investigated by methylthiazole tetrazolium assay using 5 human tumor cell lines.

Results. It has been found that all 3 cadmium complexes demonstrate cytotoxic activity towards all 5 cell lines with concentration of inhibition of 50 % cell growth 5.5–84.0 мкМ. Cytotoxicity of the most active diiodo(1,10-phenantroline)cadmium was slightly above than that of the respective ligand. One zinc-containing complex (diiodo(1,10-phenantroline)zinc) demonstrated significant activity towards 3 cell lines. The Jurkat cells were the most sensitive to studied compounds.

Conclusion. It seems that zinc (II) and cadmium (II) iodide complexes with organic ligands are promising ones as potential antitumor drugs for further investigations both *in vitro* and *in vivo*.

Key words: cadmium, zinc, antipyrine, caffeine, cytotoxicity

Введение

Один из интенсивно изучающихся в качестве потенциальных противоопухолевых лекарств химических классов — комплексные соединения металлов. Кроме проявляющих нейро-, гепато- и нефротоксичность производных платины

исследуется значительное количество соединений металлов других групп Периодической системы Д.И. Менделеева. Комплексные соединения переходных металлов перспективны как потенциальные противоопухолевые препараты широкого спектра действия.

Металлсодержащие комплексные соединения представляют большой интерес, поскольку широкий диапазон степеней окисления, координационных чисел и координационных полиэдров позволяет им лучше встраиваться в различные молекулы-мишени [1].

В качестве противоопухолевых веществ исследуются комплексные соединения элементов VIIIВ группы Периодической системы Д.И. Менделеева (платины, рутения, железа, кобальта, никеля, родия), золота, галлия, олова, элементов IIIВ группы [1–5].

В работе [6] описаны синтез и строение комплексов иодидов цинка и кадмия с антипирином (AP), а также данные об их действии на мышинные фибробласты линии NCTN L929 с концентрацией полумаксимального ингибирования 300–400 мкМ. Однако не было поставлено экспериментов, связанных с воздействием указанных комплексов на опухолевые клеточные линии.

Целью работы явилось исследование цитотоксической активности в отношении опухолевых клеточных линий *in vitro* комплексов иодидов цинка и кадмия с органическими лигандами — AP, кофеином (caf) и 1,10-фенантролином (phen) — в сравнении с исходными соединениями: незакомплексованными лигандами, а также иодидами цинка (II) и кадмия (II). Соединения были синтезированы в Московском технологическом университете (МИТХТ).

Материалы и методы

Исследовали цитотоксическую активность координационных соединений цинка и кадмия, содержащих в качестве органических лигандов AP, caf или phen:

- трииодо(антипирин)кадмат (II) гексакис(антипирин)кадмия (II), $[\text{Cd}(\text{AP})_6] [\text{Cd}(\text{AP})\text{I}_3]_2$;
- дигидрат-(кофеин)ди(μ-иодо)диаквакадмий, $\{[\text{Cd}(\text{H}_2\text{O})_2(\mu\text{-I})_2](\text{caf})2\text{H}_2\text{O}\}_n$;
- диiodo(1,10-фенантролин)кадмий, $[\text{Cd}(\text{phen})\text{I}_2]$;
- диiodobис(антипирин)цинк, $[\text{Zn}(\text{AP})_2\text{I}_2]$;
- диiodoаква(кофеин)цинк, $[\text{Zn}(\text{caf})(\text{H}_2\text{O})\text{I}_2]$;
- диiodo(1,10-фенантролин)цинк, $[\text{Zn}(\text{phen})\text{I}_2]$.

Кроме того, изучили цитотоксичность входящих в состав этих соединений лигандов: caf, phen, а также иодида кадмия (II) (CdI_2), иодида цинка (II) (ZnI_2).

Исследование проводили в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» под редакцией А.Н. Миронова с помощью МТТ-теста [7, 8].

Использовали клеточные линии 5 опухолей человека различного гистогенеза: карцинома толстой кишки НСТ116; аденокарцинома предстательной железы РС3; аденокарцинома легкого А549; аденокарцинома молочной железы МСF-7; Т-клеточный лимфобластный лейкоз Jurkat, полученные из Банка клеточных линий НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Для постановки МТТ-теста клеточные линии культивировали в 96-луночных плоскодонных планшетах (Costar, США) в течение суток в среде RPMI-1640, содержащей 10 % телячьей эмбриональной сыворотки, L-глутамин, пенициллин-стрептомицин, аминокислоты, пируват натрия и раствор витаминов («ПанЭко», Россия), при 37 °С в атмосфере 5 % CO_2 . Затем в каждую лунку добавляли исследуемые соединения в концентрациях от 1 до 100 мкМ. Клетки инкубировали в присутствии изучаемых соединений 72 ч в 5 % CO_2 при 37 °С. Водорастворимые соединения растворяли в воде, нерастворимые или плохо растворимые — в диметилсульфоксиде (ДМСО), так, чтобы концентрация ДМСО или воды в лунке не превышала 1 %. В качестве контроля использовали лунки с клетками, содержащие 1 % ДМСО или воды в полной ростовой среде.

После 72 ч инкубации в лунки добавляли МТТ и оставляли на 4 ч в 5 % CO_2 при 37 °С. Образовавшиеся в течение этого времени кристаллы формазана растворяли в ДМСО и определяли оптическую плотность раствора на фотометрическом анализаторе Multiskan EX (Thermo Labsystems, Финляндия) при длине волны 540 нм.

Процент ингибирования роста клеток (И, %) рассчитывали по формуле

$$\text{И} = (1 - (\text{O}_\text{o}/\text{O}_\text{к})) \times 100 \%,$$

где $\text{O}_\text{к}$ и O_o — оптическая плотность в контрольных и опытных лунках соответственно.

Цитотоксическую активность оценивали по концентрации, при которой происходит ингибирование роста 50 % клеток (ИК_{50}). ИК_{50} определяли по графику зависимости выживаемости клеток от концентрации того или иного соединения. Для этого соединения, вызывающие ингибирование роста больше 50 % опухолевых клеток при концентрации 100 мкМ, тестировали также при концентрациях 1 и 10 мкМ. По данным 3 концентрациям строили график для определения ИК_{50} . Соединение считали активным при $\text{ИК}_{50} \leq 100$ мкМ [7].

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены значения (в %) ингибирования роста клеточных линий под действием изученных соединений в концентрации 100 мкМ. Активные в данной концентрации соединения были исследованы также и в меньших концентрациях — 1 и 10 мкМ при том же сроке инкубации (данные не представлены). В табл. 2 приведены значения ИК_{50} для цитотоксически активных соединений.

Из табл. 1 следует, что цитотоксической активностью в отношении клеточных линий опухолей человека обладают как иодид кадмия, так и его комплексные

Таблица 1. Цитотоксическая активность исследованных соединений в концентрации 100 мкМ

Соединение	Ингибирование роста клеток, %				
	A549	PC3	Jurkat	HCT116	MCF-7
[Cd(AP) ₆] [Cd(AP)I ₃] ₂	82	69	77	85	80
[Zn(AP) ₂ I ₂]	4	–15	–12	–2	–12
AP*	4	10	2	17	12
[Cd(phen)I ₂]	86	92	92	90	85
[Zn(phen)I ₂]	40	74	77	29	65
phen	54	62	80	45	63
{[Cd(H ₂ O) ₂ (μ-I) ₂](caf)2H ₂ O} _n	79	82	85	81	68
[Zn(caf)(H ₂ O)I ₂]	5	–8	–15	–9	–4
caf	–26	–12	–22	–11	–39
CdI ₂	75	63	71	76	70
ZnI ₂	–51	13	43	–2	–41

*Данные из публикации [9].

Таблица 2. ИК₅₀ активных соединений

Соединение	ИК ₅₀ , мкМ				
	A549	PC3	Jurkat	HCT116	MCF-7
CdI ₂	79,3	79,5	14	72,5	87,5
phen	78,6	58,3	8,2	>100	56,5
{[Cd(H ₂ O) ₂ (μ-I) ₂](caf)2H ₂ O} _n	79,2	66,5	6,8	74,1	84,1
[Cd(phen)I ₂]	40	10	5,5	41	9,2
[Zn(phen)I ₂]	>100	47,4	10	>100	72,5
[Cd(AP) ₆] [Cd(AP)I ₃] ₂	74	67,8	16	69,5	48

соединения: [Cd(AP)₆] [Cd(AP)I₃]₂, [Cd(phen)I₂], {[Cd(H₂O)₂(μ-I)₂](caf)2H₂O}_n, в то время как иодид цинка и комплексные соединения на его основе, за исключением [Zn(phen)I₂], не активны. В статье [9] авторами настоящей работы было показано, что один из лигандов — AP — не обладал цитотоксическим действием. В нашем исследовании была изучена цитотоксичность других лигандов, входящих в состав комплексных соединений. Не обнаружено цитотоксического действия у caf. Интересные результаты получены для phen. Он сам обладал цитотоксической активностью, и при его взаимодействии с иодидом кадмия получалось комплексное соединение с более высокой цитотоксичностью. Но в случае взаимодействия phen

с неактивным иодидом цинка полученное комплексное соединение на большинстве клеточных линий было менее активно, чем сам phen.

В целом комплексные соединения иодида кадмия как с неактивными лигандами (caf и AP), так и с активным phen обладают более выраженной цитотоксичностью, чем исследованный отдельно CdI₂ (в среднем 79; 89 и 78,6 % у {[Cd(H₂O)₂(μ-I)₂](caf)2H₂O}_n, [Cd(phen)I₂] и [Cd(AP)₆] [Cd(AP)I₃]₂ соответственно против 71 % у CdI₂). Об этом также свидетельствует тот факт, что значения ИК₅₀ этих комплексных соединений меньше, чем у CdI₂.

Полученные в данной работе значения ИК₅₀ активных координационных соединений иодидов кадмия ([Cd(H₂O)₂(μ-I)₂](caf)2H₂O}_n, [Cd(phen)I₂] на клетках Jurkat и [Cd(phen)I₂] на клетках MCF-7) сопоставимы с представленными в базе данных по биологически активным соединениям ChEMBL значениями ИК₅₀ используемого в онкологической клинической практике координационного соединения платины и цисплатина на линиях клеток HCT116 — 4,1 мкМ, PC3 — 5,0 мкМ, MCF-7 — 3,0 мкМ, A549 — 3,07 мкМ [10].

По результатам изучения цитотоксической активности можно сделать вывод о том, что соединения CdI₂, phen, {[Cd(H₂O)₂(μ-I)₂](caf)2H₂O}_n, [Cd(phen)I₂], [Zn(phen)I₂], [Cd(AP)₆] [Cd(AP)I₃]₂ перспективны для дальнейших исследований. Судя по ИК₅₀, наиболее цитотоксичным соединением является [Cd(phen)I₂], в котором сочетание 2 активных компонентов — иодида кадмия и phen — дает усиление цитотоксического эффекта.

Заключение

Обнаружена цитотоксическая активность у 6 из 10 исследованных соединений: CdI₂, phen, {[Cd(H₂O)₂(μ-I)₂](caf)2H₂O}_n, [Cd(phen)I₂], [Zn(phen)I₂], [Cd(AP)₆] [Cd(AP)I₃]₂ в концентрации 100 мкМ. При изучении активности в меньших концентрациях (данные не представлены) оказалось, что наиболее выраженную токсичность все указанные соединения продемонстрировали на клетках Jurkat (ИК₅₀ 5,5–16,0 мкМ). Соединение [Cd(phen)I₂] было наиболее цитотоксично и имело самую низкую ИК₅₀ в отношении всех исследуемых клеточных линий.

Комплексы иодида кадмия, в отличие от комплексных соединений на основе иодида цинка (кроме [Zn(phen)I₂]), оказывают ингибирующее действие на рост опухолевых клеток, причем большее, чем исходные иодид кадмия или свободные лиганды.

Все указанные 6 соединений в силу выраженной цитотоксической активности перспективны для дальнейших исследований по поиску потенциальных противоопухолевых соединений.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Alama A., Tasso B., Novelli F., Sparatore F. Organometallic compounds in oncology: implications of novel organotin as antitumor agents. *Drug Discov Today* 2009;14(9–10):500–8. DOI: 10.1016/j.drudis.2009.02.002. PMID: 19429510.
2. Рукк Н.С., Апрышко Г.Н., Скрябина А.Ю. Перспективность создания противоопухолевых лекарств на основе координационных соединений элементов ПИВ группы. *Российский биотерапевтический журнал* 2014;13(2):47–50.
3. Boer D.R., Canals A., Coll M. DNA-binding drugs caught in action: the latest 3D pictures of drug-DNA complexes. *Dalton Trans* 2009; (3):399–414. DOI: 10.1039/b809873p. PMID: 19122895.
4. Bruijninx P.C.A., Sadler P.J. New trends for metal complexes with anticancer activity. *Curr Opin Chem Biol* 2008;12(2):197–206. DOI: 10.1016/j.cbpa.2007.11.013. PMID: 18155674.
5. Wang X., Guo Z. Towards the rational design of platinum (II) and gold (III) complexes as antitumor agents. *Dalton Trans* 2008;(12):1521–32. DOI: 10.1039/b715903j. PMID: 18335133.
6. Rukk N.S., Kuzmina L.G., Albov D.V. et al. Synthesis, X-ray crystal structure and cytotoxicity studies of zinc (II) and cadmium (II) iodide complexes with antipyrine. *Polyhedron* 2015;102:152–162. DOI: 10.1016/j.poly.2015.09.011.
7. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. А.Н. Миронова и др. М.: Гриф и К, 2012. С. 642–57.
8. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983; 65(1–2):55–63. PMID: 6606682
9. Голубева И.С., Яворская Н.П., Барышникова М.А. и др. Исследование потенциальной противоопухолевой активности некоторых координационных соединений редкоземельных элементов с антипирином. *Российский биотерапевтический журнал* 2016;15(4):89–95. DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-4-89-95.
10. ChEMBL. URL: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/bioactivity/> (дата обращения: 05.04.2017).