研究简报

环已二胺铂(Ⅱ)类配合物跨人红细胞膜动力学研究

安 芳*,[1] 王书华[1] 邹 娟[2] 陈宝卫[2]
([1] 张家口医学院化学教研室,张家口 075000)
([2] 北京医科大学无机化学教研室,北京 100083)

关键词: 铂类配合物 人红细胞膜 动力学
分类号: O614·826

60 年代末,Rosenberg 和 Van Camp 首先发现了顺式二氯二氨合铂(Ⅱ)具有抗肿瘤活性[1]。虽然顺铂用于抗癌药疗效很高,但它的毒副作用也较大。因此寻找高效、低毒的铂类抗癌药,进行了数千种铂配合物的合成,但目前用于临床的仅有几个。顺铂的抗癌机制已进行了大量研究。普遍认为它的靶分子是 DNA,它能抑制 DNA 的合成[2]。然而顺铂在临床上的毒副作用已经表明它作用的靶分子不仅仅是 DNA。细胞膜是铂类配合物进入细胞内的第一道屏障,因此研究不同铂类配合物与细胞膜的作用不仅对进一步认识这类抗癌药物的药理和毒性机制具有重要意义,而且可能为合成高效、低毒的金属抗癌药物提供一些有价值的信息。我们选用人红细胞膜为研究对象,研究具有相同保留基团不同离去基团铂(Ⅱ)类配合物跨人红细胞膜动力学,为进一步寻找研究二类抗癌药物提供依据。

1 实验及其结果

1.1 物料和仪器

人红细胞从北京红十字中心血液中心得到;实验所用硫酸根环已二胺合铂(Ⅱ) (sulfato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ)简记为 DACHPtSO$_4$)、硒酸根环已二胺合铂(Ⅱ) (selenato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ)简记为 DACHPtSeO$_4$)、方酸根环已二胺合铂(Ⅱ) (squarato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ)简记为 DACHPtSQ)、去甲基斑蝥酸根环已二胺合铂(Ⅱ) (demethylcantharato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ)简记为 DACHPtDEME)、草酸根环已二胺合铂(Ⅱ) (oxalato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ)简记为 DACHPtOX)、丙二酸根环已二胺合铂(Ⅱ)(malonato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ)简记为 DACHPtMALO)和丁二酸根环已二胺合铂(Ⅱ) (butanedioicato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ) 简记为 DACHPtBUTA) 均由北京医科大学制药厂研究室提供,所用水为去离子水。

原子吸收分光光度计 (AA40p)是 Varian 产品。

1.2 血浆等渗液(PIB 液)

参照文献[3]方法,配制 pH 为 7.4 的缓冲溶液。

收稿日期:1999-10-31。收修改稿日期: 2000-01-31。

*通讯联系人。
第一作者:安 芳,男,33 岁,讲师;研究方向:生物无机化学。

1.3　铂类配合物溶液的配制

精确称取铂类配合物,配成浓度为 0.1mol·L^{-1} 的溶液各 50.00mL。

1.4　人红细胞摄入铂类配合物动力学研究

取新鲜红细胞离心分离,吸出上清液弃去。加入 PIB 缓冲液至近 80ml,摇匀,离心,弃去上清液。重复上述操作至上清液澄清。吸取红细胞按 1:1 稀释作为红细胞反应液。分别吸取系列铂溶液 4.0mL 加入 1.0mL 血浆稀释液并立即记时。反应在 37℃振荡下进行。反应以冰冻终止进行。终止反应后在 3500rpm 下离心 4min,以 PIB 洗涤,并重复两次。

取红细胞膜加入 3~4mL 水溶血,10000rpm 离心 15min,用相同的方法水洗细胞膜两次,合并所有溶液加入王水,在 90℃预消化 2 天。高温消化至溶液澄清,定溶至 5.00mL。原子吸收测铂的含量 C_t (C_t 为 t 时刻胞内总浓度)。计算出 $-\ln(C_0-C_t)/C_0$ (C_0 为反应起始时总铂浓度),结果见表 1。

表 1　具有不同离去基团的环已二胺铂(Ⅱ)类配合物在不同时间下的 $-\ln(C_0-C_t)/C_0$ 值

Table 1　$-\ln(C_0-C_t)/C_0$ of Platinum (Ⅱ) Complexes with the Different Leaving Ligands in Differen Times (37℃)

t/h	DACHPtDEME	DACHPtSQ	DACHPtBUTA	DACHPtMALO	DACHPtOX	DACHPtSeO$_4$	DACHPtSO$_4$
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.25	0.003	0.004	0.004	0.006	0.008	0.013	0.014
0.50	0.007	0.009	0.010	0.013	0.016	0.025	0.027
0.75	0.011	0.012	0.015	0.017	0.024	0.038	0.041
1.00	0.014	0.016	0.020	0.024	0.032	0.051	0.050
2.00	0.025	0.034	0.039	0.049	0.065	0.099	0.100
3.00	0.041	0.051	0.056	0.073	0.095	0.149	0.160
4.00	0.055	0.069	0.076	0.096	0.128	0.196	0.210

以 $-\ln(C_0-C_t)/C_0$ 对反应时间 t 作图见图 1。

根据图 1,求出不同离去基团的环已二胺铂(Ⅱ)类配合物跨人红细胞膜的速率常数(37℃)见表 2。

2　讨　论

实验结果表明,环已二胺类铂配合物被摄入人红细胞膜遵循一级反应动力学。对于具有相同保留基团不同离去基团的铂配合物而言,其跨人红细胞摄入速率:硫酸根环已二胺合铂(Ⅱ) > 硒酸根环已二胺合铂(Ⅱ) > 草酸根环已二胺合铂(Ⅱ)> 丙二酸根环已二胺合铂(Ⅱ) > 丁二酸根环已二胺合铂(Ⅱ)> 方酸根环已二胺合铂(Ⅱ)> 去甲基斑蝥酸根环已二胺合铂(Ⅱ)。可以解释为硫酸根环已二胺合铂(Ⅱ)、硒酸根环已二胺合铂(Ⅱ)由于有明显的水解作用,溶液中主要以带电荷的产物形式存在。而含螯合酸根的铂配合物几乎不水解,溶液中主

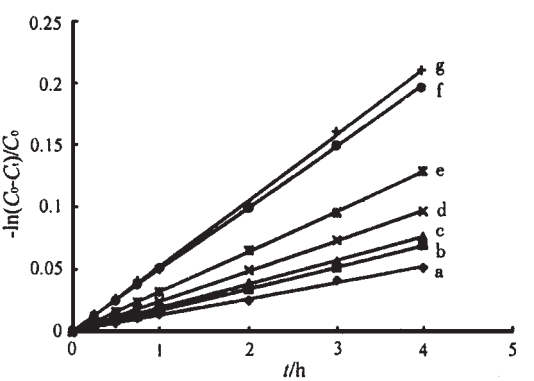

图 1　具有不同离去基团的环已二胺铂(Ⅱ)类配合物 $-\ln(C_0-C_t)/C_0$ 对反应时间 t 关系图

Fig. 1　Plot of $-\ln(C_0-C_t)/C_0$ against the reaction time(t) with different leaving ligands platinum (Ⅱ) complexes

a: DACHPtDEME b: DACHPtSQ c: DACHPtBUTA d: DACHPtMALO e: DACHPtOX f: DACHPtSeO$_4$ g: DACHPtSO$_4$

表 2 具有不同离去基团的铂(Ⅱ)类配合物跨人红细胞膜的速率常数

Table 2 Rate Constants of Platinum (Ⅱ) Complexes with the Different Leaving Ligands Across-Erythrocyte Membrane (37℃)

samples	DACHPtDEME	DACHPtSQ	DACHPtBUTA	DACHPtMALO	DACHPtOX	$DACHPtSeO_4$	$DACHPtSO_4$
k/h^{-1}	0.014	0.017	0.019	0.024	0.032	0.050	0.054

要以中性配合物形式存在。它们可能会通过膜的不同通道跨膜运动。保留基团为环已二胺的铂(Ⅱ)配合物跨膜传递速率明显高于保留基团为氨的铂(Ⅱ)配合物[4]。因而作为药物其跨膜速度优于保留基团为氨的铂配合物，易于吸收，可望成为第二代铂类抗癌药物，但其毒副作用及不同抗癌疗效有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Rosenberg B., Vancamp L., Trosko J. E. et al *Nature*, **1969**, **222**, 385.

[2] Roberts J. J. et al *Chem. Biochem.*, *ACS.*, **1983**, 1.

[3] Quan H. N. et al *Biological Trace Elemental Research*, **1989**, **22**, 121.

[4] DIN Wei-Gong(丁维功), ZHAO De-Shan(赵德山), JIANG Shi-Yi(江世益) *Progress in Medical Chemistry of China*(中国医学化学进展), Shanghai: Baijia Press, **1996**.

The Kinetic Studies of Across-Erythrocyte Membrane Transport of 1, 2-cyclohexanediamine Platinum (Ⅱ) Complexes

AN Fang WANG Shu-Hua

(*Department of Chemistry, Zhangjiakou Medical College, Zhangjiakou* 075000)

ZOU Juan CHEN Bao-Wei

(*Department of Inorganic Chemistry, Beijing Medical University, Beijing* 100083)

In the synthetic plasma, the uptake kinetics of sulfato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ), selenato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ), squarato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ), demethylcantharato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ), oxalato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ), malonato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ), butanedioicato 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ) across human erythrocyte membrane transport have been studied. The experiment results showed that the across-membrance transport of all the platinum (Ⅱ) complexes followed a first-order kinetic process. The rate constants of seven 1, 2-cyclohexanediamine platinum (Ⅱ) were determined. The uptake rates were related to the hydrolysis rate. The complexes of larger hydrolysis rate have the larger rate constant. The hydrolysis complexes with charge is considered to differ from the neutral complexes in the passages across-erythrocyte membranes.

Keywords: **platinum (Ⅱ) complexes** **human erythrocyte** **kinetic**