

УДК 577.112.824

К. Р. ГРИГОРЯН

ГИДРОДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АЛЬБУМИНА В
ПРИСУТСТВИИ ДИХЛОРОДИМЕТ ИЛСУЛЬФОКСИДНОГО
КОМПЛЕКСА ПЛАТИНЫ

В статье представлены результаты гидродинамических исследований водных растворов альбумина в присутствии цис-диметилсульфоксидного комплекса платины (II). Методами вискозиметрии и денситометрии изучено поведение этой системы в температурном интервале 20–50⁰С. Для объяснения полученных результатов использована модель компактного сфероида.

Препараты, синтезированные на основе координационных соединений платины, находят широкое применение для лечения ряда опухолей. Наиболее известным представителем этого класса является цис-диаминодихлороплатина (цис-ДДП, цис-Pt[(NH₃)₂Cl₂]) [1]. Однако клиническое применение этого препарата ограничено из-за появления побочных эффектов (тошнота, рвота, высокая нефротоксичность, нейротоксичность, ототоксичность, алопеция), а также возникновения резистентности организма к препарату после долгого лечения. Причиной этих явлений, в частности, считается инактивация некоторых внеклеточных и внутриклеточных белков вследствие их связывания с цис-платиной [2]. Биотрансформация цис-платины в биологических жидкостях сопровождается связыванием платины с сывороточным альбумином. Исследования показали, что при внутривенном введении препарата через 24 часа 65–98% платины находится в связанном состоянии с сывороточными белками [3]. Несмотря на распространенное мнение о терапевтической инактивности платино-альбуминового аддукта, некоторые клинические и экспериментальные наблюдения доказывают обратное [4].

Неизбирательность действия и токсичность цис-ДДП ставит проблему синтеза новых, более эффективных и менее токсичных комплексов. Согласно классической теории координационных соединений, активны те нейтральные цис-комплексы, которые содержат две аминные, а также «уходящие» группы. Положительные результаты достигнуты при использовании серосодержащих соединений (тиолов, тиокарбаматов) [5]. Нами в качестве серосодержащих соединений выбраны диалкилсульфоксиды. Интерес к ним вызван уникальными биологическими, фармакологическими свойствами этих соеди-

нений [6–8]. Как было показано в [9], диметилсульфоксид (ДМСО) стимулирует иммунную систему и нейтрализует свободные радикалы, тем самым снижая побочные эффекты химио- и радиотерапии.

Человеческий сывороточный альбумин является глобулярным белком, состоящим из трех гомологичных доменов, свернутых в сердцеобразную форму. Поразительна лабильность этой макромолекулы в растворах. Особенно это ощутимо при комплексообразовании с металлами [10].

В данной работе представлены результаты гидродинамических исследований водных растворов альбумина в температурном интервале 20–50⁰С в присутствии цис-дихлородиметилсульфоксидного комплекса платины (II) (цис-Pt[(ДМСО)₂Cl₂]).

Экспериментальная часть. Использовали человеческий сывороточный альбумин фирмы «Sigma Chemical Co» (США). Дихлородиметилсульфоксидный комплекс платины синтезировали и идентифицировали согласно работе [11]. Для приготовления растворов использовали физраствор фирмы «LIQVOR Pharmaceuticals».

Предельное значение вязкости определяли по уравнению Симха:

$$[\eta] = V^0 \psi,$$

где V^0 – парциальный молярный объем альбумина, ψ – фактор Симха [12].

Денситометрические измерения проводили на приборе DMA–4500 фирмы «Anton Paar», который дает возможность измерять плотность растворов с точностью $\pm 5 \cdot 10^{-5} \text{ г} \cdot \text{см}^{-3}$. Так как при температуре выше 50⁰С происходят необратимые изменения вторичной структуры альбумина, вискозиметрические и денситометрические измерения проводили в температурном интервале 20–50⁰С. Из данных денситометрических измерений вычисляли парциальный молярный объем (V^0) альбумина в растворах по уравнению [13]:

$$V^0 = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{1}{C} \left[1 - \frac{d - C}{d_0} \right],$$

где C – концентрация альбумина, d, d_0 – плотности раствора и растворителя соответственно.

Результаты и обсуждение. В таблице приведены физико-химические характеристики систем альбумин–вода, альбумин–вода–цис-Pt[(ДМСО)₂Cl₂] в температурном интервале 20–50⁰С.

Альбумин–вода				Альбумин–вода–цис-Pt[(ДМСО) ₂ Cl ₂]		
T, ⁰ С	d, г·см ⁻³	V ⁰ , см ³ ·моль ⁻¹	[η], см ³ ·моль ⁻¹	d, г·см ⁻³	V ⁰ , см ³ ·моль ⁻¹	[η], см ³ ·моль ⁻¹
20	1,00496	0,98487	2,89	1,00492	0,98497	2,89
30	1,00225	0,98779	2,90	1,00214	0,98807	2,90
40	0,99872	0,99145	2,91	0,99868	0,99155	2,91
50	0,99447	0,99582	2,92	0,99440	0,99599	2,92

Как видно из полученных данных, с повышением температуры плотность обоих растворов уменьшается, а парциальный молярный объем белка увеличивается. Объемные изменения в водных растворах этой макромолекулы

кулы связаны с конформационными изменениями, вызванными повышением температуры. Как принималось в [12], если макромолекулы принимают форму эллипсоида, то независимо от их размеров с повышением температуры плотность раствора не меняется. Не меняется также и предельная вязкость раствора. В нашем случае такие закономерности не наблюдаются.

В ранних работах Танфорда [14] было показано, что альбумин в растворе принимает форму компактного сфероида. Однако долгое время для интерпретации гидродинамического поведения растворов альбумина использовалась модель эллипсоида вращения [15]. Эти несопоставимые взгляды можно было совместить, если белок в растворе обладал бы достаточной лабильностью, чтобы изменить конформацию. Комбинацией методов фосфоресцентной деполяризации и гидродинамического моделирования выяснено, что идеализированная эллипсоидальная форма макромолекулы не соответствует действительности. На самом деле, в нейтральной среде макромолекула принимает жестко компактную структуру подобно кристаллу сердцеобразной формы. Данные, полученные нами, можно объяснить, если представить белок в виде компактного сфероида, который в присутствии диметилсульфоксидного комплекса платины сохраняет внешнюю форму, но становится более объемным. С помощью микроволновых диэлектрических измерений было показано, что размеры гидратной оболочки макромолекулы не меняются с повышением температуры [12]. Увеличение объема гидратированной молекулы связано с изменением внутренней структуры белка. Как было показано, местами связывания цис-платины с макромолекулой альбумина являются Cys-34, а также Met-298, Met-87, Met-446 [16]. В отличие от цис-ДДП, в случае цис-дихлородиметилсульфоксидного комплекса платины возможно образование дополнительных связей за счет кислорода группы S=O, так как в комплексе связывание ДМСО с металлом реализуется через атом S, что характерно для металлов платинового ряда. Это может привести к изменению внутренней упаковки белка, что и отражается на гидродинамическом поведении этой системы.

Работа выполнена в рамках проекта 0153 (Республика Армения).

Кафедра физической и коллоидной химии

Поступила 05.09.2006

ЛИТЕРАТУРА

1. **Lippert B.** Cisplatin-Chemistry and Biochemistry of Leading Anticancer Drug. WILEY-VCH, Weinheim 1999.
2. **Zhang J.G., Lindup W.E.** – Biochem Pharmacol., 1994, v. 47, p. 1127–1135.
3. **Tratz F.** Metal Complexes in Cancer Chemotherapy. WILEY-VCH, Weinheim 1993.
4. **Holding J.D., Lindup W.E., Van Laer C., Vreeburg G.C.M., Schiling V., Wilson J. A., Stell P.M.** – Br. J. Clin. Pharmacol., 1992, v. 33, p. 75–81.
5. **Kratochwill N.A., Bednarski P.J.** – J. Cancer. Res. Clin. Oncol., 1999, v.125, p. 690–696.
6. **Markarian S.A., Bagramyan K.A., Arakelyan V.B.** – Biophysics, 2002, v. 47, p. 303–304.
7. **Bonora S., Markarian S.A., Trincherо A., Grigorian K.A.** – Therochim Acta, 2005, v. 433, p. 19–26.

8. **Markarian S.A., Asatryan A.M., Grigoryan K.A., Sargsyan H.R.** – Biopolymers, 2006, v. 81, p. 1–5.
9. American Cancer Society. Unproven methods of cancer managment. Dimethylsulfoxide (DMSO). CA Cancer (J. Clin., 1983, v. 33, p. 122–125).
10. **He X.M., Carter D.C.** – Nature, 1992, v. 358, p. 209–215.
11. **Fernande D. Rochon, Pi-Chang Kong, Girard L.** – Can. J. Chem, 1986, v. 64, p. 1897–1902.
12. **Elias H.-G.** Makromol.: Band 1, Grundlagen, 5. Aufl., Hüthig&Wepf, 1990.
13. **Kamiyama T., Matsusita T., Kimura T.** – J. Chem. Eng. Data, 2003, v. 48, p. 1301.
14. **Tanford C., Buzzel J.G.** – J. Phys. Chem, 1956, v. 60, p. 225–231.
15. **Ferrer M.L., Duchowicz R., Carrasco B., Garcia de la Torre J., Acuna A.U.** – Biophys. J., 2001, v. 80, p. 2422–2430.
16. **Ivanov A.I., Christodoulov J., Parkinson A., Barnham K. J., Toker A., Woodrow J., Sadler P.J.** – J. Biochem. Chem., 1998, v. 273, p. 14721–14730.

Կ. Ռ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ

ԱԼԲՈՒՄԻՆԻ ՀԻԴՐՈԴԻՆԱՄԻԿԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳՐԵՐԸ ՊԼԱՏԻՆԻ
ԳԻՔԼՈՐԴԻՍԵԹԻԼՍՈՒԼՖՕՔՍԻԴԱՅԻՆ ԿՈՍՊԼԵՔՍԻ
ՆԵՐԿԱՅՈՒԹՅԱՄԲ

Ա մ փ ո փ ո մ

Աշխատանքում ներկայացված են արբումինի ջրային լուծույթների հիդրոդինամիկական հետազոտությունների արդյունքները պլատին (II)-ի ցիս-դիմեթիլսուլֆօքսիդային կոմպլեքսի ներկայությամբ: Մաժուցիկաչափության և խտաչափության մեթոդների օգնությամբ ուսումնասիրվել է այս համակարգերի վարքը 20–50⁰C ջերմաստիճանային տիրույթում: Ստացված արդյունքների բացատրության համար օգտագործվել է կոմպակտ գնդի մոդելը:

K. R. GRIGORIAN

HYDRODYNAMIC FEATURES OF ALBUMIN AT THE PRESENCE OF
PLATINUM DICHLORDIMETHYLSULFOXIDE COMPLEX

Summary

In this article the results of hydrodynamic studies of albumin aqueous solutions at the presence of cis-dimethylsulphoxide complex of platinum (II) are presented. By the viscosytmetric and densitometric methods behaviour of these systems is studied at 20–50⁰C temperature range. For the explanation of obtained results the model of compact spheroid is used.