

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА
І КЛІНІЧНА
*МЕДИЦИНА***



2009 № 1





ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА І КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

2009. № 1

Експериментальна
і клінічна медицина
Засновник —
*Харківський національний
медичний університет*

Україна, 61022, Харків,
просп. Леніна, 4

Свідоцтво про державну реєстрацію
КВ № 3339 від 06.07.98
Додаток до постанови президії ВАК
України від 9.06.1999 р. № 1-05/7
(Бюлетень ВАК. 1999. № 4)

Періодичність видання —
4 рази на рік

Рекомендовано до друку
Вченою радою ХНМУ.
Протокол № 1 від 15.01.09

Редактор *В.М. Ходоревська*
Коректор *М.Ю. Мартинова*
Комп'ютерна верстка *О.М. Козицька*

Підписано до друку 16.01.09.
Ум. друк. арк. 10,56
Обл.-вид. арк. 13,25
Формат 60x84 1/8. Папір офс.
Друк. офс. Тираж 500 прим.
Замовл. № 0320-01

Адреса редакції: Україна, 61022,
Харків, просп. Леніна, 4. ХНМУ.
Тел. (057) 707-73-00
e-mail: ekm.kharkiv@mail.ru

Надруковано у ВПЦ «Контраст»
Україна, 61166, Харків,
просп. Леніна, 40, к. 231.
Свідоцтво ВПЦ «Контраст» Дк № 178
від 15.09.2000

© Експериментальна і клінічна
медицина. ХНМУ. 2009. № 1

Головний редактор *В.М. ЛІСОВИЙ*

Почесний редактор *А.Я. ЦИГАНЕНКО*

Редакційна колегія

Заступники головного редактора:

М.О. Клименко
В.В. М'ясоєдов
В.О. Сипливий

Відповідальний секретар
О.Ю. Степаненко

М.П. Воронцов
І.А. Григорова
В.І. Грищенко
В.М. Козько
В.І. Куцевляк
С.Ю. Масловський
Ю.В. Одинець
Ю.С. Парашук
В.С. Приходько

Редакційна рада

О.Я. Бабак (Харків)
О.М. Біловол (Харків)
В.В. Бобін (Харків)
В.В. Бойко (Харків)
П.А. Бездітко (Харків)
О.Ф. Возіанов (Київ)
Б.О. Волос (Харків)
П.В. Волошин (Харків)
О.Я. Гречаніна (Харків)
В.І. Жуков (Харків)
О.М. Ковалева (Харків)
М.О. Корж (Харків)
П.Г. Кравчун (Харків)
В.І. Лупальцов (Харків)
В.М. Лупир (Харків)
М.І. Пилипенко (Харків)
Г. П. Рузін (Харків)
О.М. Хвисяк (Харків)
В.М. Хворостінка (Харків)
Ю.Б. Чайковський (Київ)
В.П. Черних (Харків)
А.Ф. Яковцова (Харків)

ЗМІСТ

ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

- Н.А. Клименко, Е.А. Павлова, И.В. Сорокина. Морфофункциональные особенности тканей легкого при гипостатической пневмонии, возникшей на фоне хронической сердечной недостаточности*
- Е.В. Кузьменко. Роль индивидуальной реактивности в восстановлении кроветворения у крыс после облучения*
- Н.А. Клименко, Е.Ю. Литвиненко. Роль опиоидных σ -рецепторов в реакциях системы крови при воспалении*
- Е.Р. Грабовецкая, В.В. Давыдов. Возрастная динамика активности ферментов метаболизма альдегидов в сердце крыс*
- И.В. Завгородний, Р.О. Бачинский, Я.А. Бачинская, Н.И. Завгородняя. Морфологическое и гистохимическое исследование внутренних органов экспериментальных животных, подвергавшихся действию нитробензола в условиях холодового стресса*
- Н.А. Клименко, С.В. Татарко, И.В. Сорокина. Морфофункциональное состояние селезенки в динамике хронического иммунного воспаления*
- О.Л. Кухарчук, А.Б. Кебкало. Влияние трансплантации стовбуровых клеток кордовой крови на интенсивность плазматического протеолиза у морских свинок с панкреонекрозом*
- Т.А. Рижкова, С.М. Бабиц, С.В. Калініченко, Н.І. Скляр, Н.Ю. Шкодовська, Л.М. Дубова, С.С. Даниліна, Д.М. Матюніна. Прояв антагоністичних властивостей мікроорганізмів при аеробних і мікроаерофільних умовах їх культивування*
- І.І. Мавров, С.К. Джораєва. Регуляція апоптозу в клітинній культурі L929, інфікованій штамом хламідій UGS, в залежності від умов культивування*
- В.І. Русин, В.В. Авдєєв, Н.В. Пошегорова. Прояви гепатогенної енцефалопатії в залежності від ступеня печінкової недостатності та дисбіозу*
- О.Д. Боягіна. Дослідження давності утворення кров'яних слідів, сформованих з крові живої та померлої особи*
- Н.О. Карпенко. Корекція радіоіндукованих сексуальних розладів адаптогенами рослинного та тваринного походження*
- И.В. Болтина. Использование культуры лимфоцитов периферической крови при исследовании фармакологических препаратов*
- І.А. Палагіна, М.Я. Кудря, Н.В. Устенко, В.В. Козар, Н.В. Мельниківська, О.В. Кудря, М.В. Жураковська, Т.О. Павленко. Токсичні ефекти і гігієнічне регламентування протипротозойного препарату Орнідазол*
- Ю.І. Губський, О.В. Вельчинська, Н.І. Шаркіна. Нові антиметаболіти піримідинового обміну – гетероциклічні біс-похідні урацилів. Синтез і дослідження*
- О.А. Наконечна. Влияние простых полиэфиров на фосфолипидный состав эритроцитов и гепатоцитов щурів*
- М.К. Адейшвили-Сыромятникова. Влияние лазеротерапии на регуляцию перекисных процессов в крови больных подагрой*

НОВІ АНТИМЕТАБОЛІТИ ПІРИМІДИНОВОГО ОБМІНУ – ГЕТЕРОЦИКЛІЧНІ БІС-ПОХІДНІ УРАЦИЛІВ. СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ

*Ю.І. Губський, О.В. Вельчинська, Н.І. Шарикіна**

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

**Інститут фармакології та токсикології АМН України, м. Київ*

Описано новий препаративний метод синтезу гетероциклических біс-аддуктів 5(6)-заміщених урацилів із фторотаном при каталізі 18-краун-6-комплексом. Будову та склад синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу, УФ-, ІЧ-, ЯМР¹H-спектроскопії, а індивідуальність – методами тонкошарової та газорідної хроматографії. Встановлено, що синтезовані сполуки відносяться до малотоксичних.

Ключові слова: 5-фторурацил, фторотан, краун-ефір, токсичність.

Створення нових антиметаболітів пуринового та піримідинового обміну, здатних впливати на структуру та функції нуклеїнових кислот і малих активних молекул, є одним із перспективних шляхів пошуку засобів лікування пухлинної хвороби [1–3]. Відомо, що пухлини використовують молекули урацилу активніше, ніж нормальні клітини. Оскільки ван-дер-ваальсові радіуси водню та фтору близькі, можна очікувати, що 5-фторурацил або його похідні будуть виконувати роль субстрату та/або інгібітора ферментів і переважно поглинатися тканинами пухлини.

Молекули 5(6)-фтор(галоген)заміщених урацилів і їх похідних здатні виконувати роль фтор(галоген)вмісних синтонів в органічному синтезі, тому їх активно використовують для створення оригінальних біологічно активних молекул. Крім того, введення фтор(галоген)вмісних фармакофорів у гетероциклическу молекулу призводить до підвищення розчинності сполук в ліпідах і робить лікарські засоби ефективнішими внаслідок легкості їх транспортування в організмі [4]. Зазначена увага до фторвмісних фрагментів у нових молекулах викликана також підсиленням антиметаболітних властивостей цих сполук.

Нами описаний метод введення до структури гетероциклических молекул фармакофорної групи $-CF_2CHBrCl$ при використанні доступного реагенту та лікарського засобу фторотану з метою синтезу біологічно активних сполук [5]. Дана реакція дозволяє ужити нову стратегію для синтезу селективно поліфункціональних молекул, хімічна будова яких дозволяє вводити в молекулу нові фармакофорні фрагменти.

Мета роботи – означення преформованих піримідинів, їх синтезу, вивчення їх хімічних і фізико-хімічних характеристик, біологічних властивостей, а саме гострої токсичності.

Матеріал і методи. Досліджували нові гетероциклическі біс-похідні, синтезовані на основі 5(6)-заміщених урацилів і фторотану. Абсолютні розчинники одержують наступним способом: ацетонітрил переганяють над P_2O_5 , діетиловий ефір – над металевим натрієм, диметилформамід і бензол – у вакуумі. Індивідуальність синтезованих сполук контролюють методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol-254 у системі ацетонітрил-гексан 2:1. ІЧ-спектри записують на спектрофотометрі UR-20 виробництва «Charles Ceise Hena» (Germany).

Газорідну хроматографію проводять на хроматографі «Perkin Elmer» з УФ-детектором (виробник «Perkin», Germany). Спектри ¹H ЯМР записують на приладах «Bruker WP-200» виробництва «Bruker» (Switzerland), «Varian T-60» виробництва «Varian» (USA) з робочою частотою 200–132 МГц у DMSO-d₆ з використанням тетраметилсилану як внутрішнього стандарту.

N₍₁₁₎,N_(11')-(2''-бром-2''-хлоретеніл)-біс-(6-метилурацил)(I). Приготування розчину № 1. 0,25 г (0,0044 моль) гідроксиду калію і 0,025 г дибензо-18-краун-6-ефіру в 20 мл сухого бензолу перемішують при 60 °С близько 15 хв до утворення на стінках хімічного реактора білого полімерного нальоту, тобто утворення калієвого комплексу з дибензо-18-краун-6-ефіром. Отриманий розчин охолоджують до кімнатної температури, додають до нього краплями розчин 0,87 г (0,0044 моль) фторотану в 20 мл сухого ефіру.

Приготування розчину № 2. 1,11 г (0,0088 моль) 6-метилурацилу розчиняють в 40 мл сухого диметилформаміду при 60 °С в окремому хімічному посуді і гарячим додають краплями через ділильну лійку до розчину № 1, перемішують при 60–80 °С 1 год (реакційна суміш мутніє та при нагріванні

стає червоно-коричневою), фільтрують у гарячому стані, охолоджують, відганяють простою перегонкою розчинники. Залишок – осад промивають 30 мл суміші діетиловий ефір – гексан (1:1) і сушать у вакуумі водострумного насоса.

Сполука I – кристалічний порошок жовтого забарвлення, нестійкий до дії гарячого органічного розчинника; при перекристалізації розкладається до вихідного урацилу. Вихід 1,85 г (43 %). $T_{\text{топл.}}$ 286–287 °C. Знайдено, %: C=38,80; H=3,2; N=14,8; $C_{12}H_{10}BrClN_4O_4$. Обчислено, %: C=37,1; H=2,58; N=14,38; ІЧ-спектр (KBr), cm^{-1} : 515, 550, 690, 850 (C-C1, C-Br); 960–970 (trans-C=C-); 1710, 1750 (C=O); 2800–3000 (CH_3). 1H ЯМР: 2,004 (6H, с., $2CH_3$), 5,313 (2H, с., $2C_{(6)}-H$), 10,832 (2H, д., $2N_{(3)}-H$, $J_{H,H}^2$ 9,6 Гц). Аналогічно синтезують сполуки: $N_{(1)}, N_{(1')}$ -(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(5-метилурацил) (II) із 0,87 г (0,0044 моль) фторотану та 1,11 г (0,0088 моль) 5-метилурацилу; $N_{(1)}, N_{(1')}$ -(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(5-фторурацил) (III) із 0,87 г (0,0044 моль) фторотану та 1,15 г (0,0088 моль) 5-фторурацилу; $N_{(1)}, N_{(1')}$ -(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(5-бромуррацил) (IV) із 0,87 г (0,0044 моль) фторотану та 1,67 г (0,0088 моль) 5-бромуррацилу; $N_{(1)}, N_{(1')}$ -(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(5-нітроурацил) (V) із 0,87 г (0,0044 моль) фторотану та 1,38 г (0,0088 моль) 5-нітроурацилу.

Сполука II – кристалічний порошок кремового забарвлення, кристалізується з суміші розчинників етанол–гексан (1:1). Вихід 1,58 г (36,8 %). $T_{\text{топл.}}$ з осмоленням 265–268 °C. Знайдено, %: C=37,60; H=3,08; N=14,53. $C_{12}H_{10}BrClN_4O_4$. Обчислено, %: C=37,1; H=2,58; N=14,38. ІЧ-спектр (KBr), cm^{-1} : 515, 615 (C-Hal), 1710, 1750 (C=O), 2800–3000 (CH_3). 1H ЯМР: 1,712 (6H, д., $J_{H,H}^2$ 5 Гц, $2CH_3$), 7,229 (2H, д., $J_{H,H}^2$ 5 Гц, $2C_{(6)}-H$), 10,7 (2H, уш. с., $2N_{(3)}-H$).

Сполука III – кристалічний порошок кремового забарвлення. Вихід 1,75 г (50 %). $T_{\text{топл.}}$ 238–240 °C. Знайдено, %: C=30,08; H=1,15; N=13,78. $C_{10}H_4BrF_2ClN_4O_4$. Обчислено, %: C=30,21; H=1,13; N=14,09. ІЧ-спектр (KBr), cm^{-1} : 510, 550, 690 (C-C1, C-Br); 1150, 1210 (C-F); 1735, 1750 (C=O). 1H ЯМР: 4,532 (2H, уш. с., $2N_{(3)}-H$), 7,447 (2H, д., $2C_{(6)}-H$).

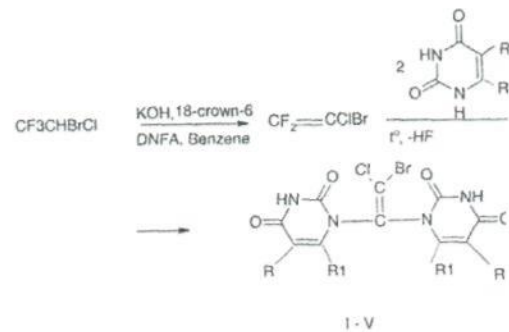
Сполука IV – кристалічний порошок кремового забарвлення. Вихід 1,36 г (30 %). $T_{\text{топл.}}$ з осмоленням 270–275 °C. Знайдено, %: C=22,8; H=1,02; N=11,01; Br=45,96. $C_{10}H_4Br_3ClN_4O_4$. Обчислено, %: C=23,13; H=0,77; N=10,78; Br=46,1. ІЧ-спектр (KBr), cm^{-1} : 550–695 (C-Br), 1710, 1750 (C=O). 1H ЯМР: 4,048 (2H, с., $2N_{(3)}-H$ in H_2O), 7,66 (2H, с., $2C_{(6)}-H$).

Сполука V – кристалічний осад кремового забарвлення. Вихід 2,24 г (56,5 %). $T_{\text{топл.}}$

з осмоленням 290–295 °C. Знайдено, % C=26,67; H=1,02; N=17,79. $C_{10}H_4BrClN_4O$. Обчислено, %: C=26,59; H=0,89; N=18,61. ІЧ-спектр (KBr), cm^{-1} : 550–690 (C-Hal), 1710, 1750 (C=O). 1H ЯМР: 8,861 (2H, с $2 \times C_{(6)}-H$), 10,226 (2H, с., $2 N_{(3)}-H$).

Для визначення середньотоксичної до: LD_{50} синтезованих сполук використовувал експрес-метод В.Б. Прозоровського [6]. Д слідження проводили на білих нелінійні мишах-самцях вагою (22,0±2,0) г; шл: введення – підшкірний.

Результати та їх обговорення. За нові розробленим нами методом синтезу, взаєм дією фторотану в якості фторвмісного си тону та урацилів у молярному співвідношк ні 1:2, у системі розчинників (бензол – ди тилформаїд – діетиловий ефір) в умов міжфазного каталізу дибензо-18-краун ефіром у лужному середовищі синтезова нові біс-похідні урацилів з фармакофорн групою = C= CBrCl, (I–V) (рисунок).



Біс-похідні урацилів: R = H, R1 = CH_3 (I)
R = CH_3 , R1 = H (II); R = F, R1 = H (III); R = 1
R1 = H (IV); R = NO_2 , R1 = H (V)

В ІЧ-спектрах сполук (I–V) ідентифік но сигнали зв'язків C-Hal при 510–1210, інтенсивні сигнали карбонільних груп і гетероциклічних фрагментів молекули 1710, 1735, 1750 cm^{-1} , сигнали CH_3 -груп сполук I, II при 2800–3000 cm^{-1} . Співві шення інтегральних інтенсивностей си лів у ЯМР 1H -спектрах сполук I–V підте жує відсутність протону при атомі $N_{(1)}$, і спостерігається в молекулах вихідних ур лів при 11,00–11,25 м.д., а також наяви протонів у положеннях $C_{(5)}-H$ (I) та $C_{(6)}-H$ (I гетероциклічних ядер при 5,313 м.д. 7,229–8,861 м.д. відповідно, протонів у і женні $N_{(3)}-H$ гетероциклічних ядер при 4, 10,832 м.д., які частково дейтерують:

5-фторурацил з його властивостями в цесі метаболізму утворювати інтермед що включаються до структури ДНК, і гальмують активність тимідилатсинте яка забезпечує синтез ДНК та РНК його передниками, стоїть у центрі уваги по:

нових сполук із зазначеною спрямованістю дії. Для подальших досліджень біологічних властивостей відібрано біс-похідні 5-метилурацилу (сполука II), 5-фторурацилу (сполука III) та 5-бромурацилу (сполука IV), які за хімічною будовою та наявністю фармакофорних груп є найбільш близькими до відомого лікарського засобу – 5-фторурацилу. Практичний інтерес до потенційних лікарських засобів зумовлений їх постійною дією на макроорганізм. Дослідження глибоких перетворень чутливих клітин під впливом цих речовин є важливим аспектом фармакології.

Визначення одного з головних фармакологічних індексів гетероциклічних біс-похідних – гострої токсичності – показало, що сполуки II та IV відносяться до малотоксичних: LD_{50} їх дорівнює 515 та 415 мг/кг відповідно. Сполука III відноситься також до малотоксичних сполук, LD_{50} її становить 125 мг/кг, що перевищує токсичність попередніх сполук у 4,12 та 3,32 рази відповідно. Оскільки структурні аналоги синтезованих сполук в літературі не описані, препаратом порівняння був відомий протипухлинний лікарський засіб 5-фторурацил. Препарат порівняння відноситься до малотоксичних сполук і має середньотоксичну дозу 375 мг/кг. При введенні вказаних хімічних речовин у дослідних тварин спостерігалися тонічні та

клоніко-тонічні судоми впродовж 1–2 годин, блювота і після 3–5 годин – тремор.

Отже, синтезовані гетероциклічні біс-похідні відносяться до менш токсичних сполук, ніж відомий препарат 5-фторурацил, що дозволяє розглядати їх як фізіологічно активні сполуки з перспективою подальшого вивчення за вимогами до потенційних протипухлинних засобів для лікування людини.

Висновки

1. За новим, розробленим нами методом синтезу взаємодією фторотану в якості фторвмісного синтону та урацилів у молярному співвідношенні 1:2, у системі розчинників (бензол – диметилформамід – діетиловий ефір) в умовах міжфазного каталізу дибензо-18-краун-6-ефіром у лужному середовищі синтезовано нові біс-похідні урацилів з фармакофорною групою $=C=CBrCl$.

2. Будову синтезованих сполук (I–V) підтверджено даними елементного аналізу, УФ-, ІЧ-, ЯМР¹H-спектроскопії, а індивідуальність – методами тонкошарової та газорідної хроматографії.

3. Встановлено, що сполуки II та IV відносяться до малотоксичних ($LD_{50}=515$ та 415 мг/кг відповідно). Сполука III також відноситься до малотоксичних ($LD_{50}=125$ мг/кг), її токсичність перевищує токсичність попередніх сполук у 4,12 та 3,32 рази.

Література

1. Noordhuis P., Holwerda U. 5-fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidylate synthetase inhibition human colorectal cancer. *Annals. Oncology* 2004; 15: 1025–32.
2. Adjei A. A review of pharmacology and clinical activity of new chemotherapy agents for the treatment of colorectal cancer. *Clin. Pharmacol.* 1999; 48: 265–277.
3. Longey D.B., Harkin D. Paul, Patrick G. Jonson. 5-fluorouracil – mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews. Cancer* 2003; 3: 330–338.
4. Ягупольский Л.М. Ароматические и гетероциклические соединения с фторсодержащими заместителями. К.: Наук. думка, 2006: 90–105.
5. Welchinska H.V., Piecuszak B., Kovalenko E.A. et al. Biological activity of bacterial lectins and their molecular complexes with heterocyclic bis-adducts. *Мікробіол. журн.* 2003; 65, 6: 20–25.
6. Прозоровский В.Б., Прозоровский В.П., Демченко В.М. Экспресс-метод определения средней эффективности дозы и ее ошибки. *Фармакол. та токсикол.* 1978; 41, 4: 407–509.

НОВЫЕ АНТИМЕТАБОЛИТЫ ПИРИМИДИНОВОГО ОБМЕНА – ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИЕ БИС-ПРОИЗВОДНЫЕ УРАЦИЛОВ. СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЯ

Ю.И. Губский, Е.В. Вельчинская, Н.И. Шарыкина

Описан новый препаративный метод синтеза гетероциклических бис-аддуктов 5(6)-замещенных урацилов с фторотаном при катализе 18-краун-6-комплексом. Строение и состав синтезованных соединений подтверждены данными элементного анализа, УФ-, ИК-, ЯМР¹H-спектроскопии, а индивидуальность – методами тонкослойной и газожидкостной хроматографии. Установлено, что синтезированные соединения относятся к малотоксичным.

Ключевые слова: 5-фторурацил, фторотан, краун-эфир, токсичность.

NEW ANTIMETABOLITES OF PYRIMIDINES CHANGE – HETEROCYCLIC BIS-DERIVATIVES OF URACILES. SYNTHESIS AND INVESTIGATIONS

Y.I. Gubskiy, O.V. Welchinska, N.I. Sharykina

A new convenient method for the preparation of heterocyclic bis-adducts of 5(6)-substituted uraciles with ftorotan with 18-crown-6-complex as catalyst was described. The structure and composition of synthesized compounds has been confirmed by data of elemental analysis, UV-, IR- and NMR¹H-spectra. The purity has been tested by method of thin-layer and gas-liquid chromatography. It was discovered that compounds, which synthesized apply to little toxic preparations.

Key words: 5-fluorouracile, ftorotan, crown-ether, toxicity.

Поступила 30.09.08