

ISSN 0367-3057

# ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

*Щиро вітаємо з професійним святом —  
Днем фармацевтичного працівника!*



4•2010

analyses of drugs prescribing are conducted. The experts' estimation of conformity of prescribed drugs to the standards of treatment and clinical protocols is carried out.

The results of the researches, harmonized with evidence-based medicine data or experts' estimation toward effectiveness of analyzed drugs, can be used as the basis for the rational use of drugs by patients with acute CVP, and also for forming of local and regional formularies.



## ПРАКТИЧНА ФАРМАЦІЯ

---

УДК 547.854.4 + 547.431.4 + 547.96

*О.В.ВЕЛЬЧИНСЬКА, канд. хім. наук, доц. І.В.НІЖЕНКОВСЬКА, д-р мед. наук, Н.І.ШАРИКІНА, д-р мед. наук, професор*

*Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця,  
Інститут фармакології та токсикології АМН України*

### ХІМІЯ 6-МЕТИЛУРАЦИЛУ ТА ПРОТИПУХЛИННА АКТИВНІСТЬ ЙОГО НОВИХ ПОХІДНИХ

**Ключові слова:** 6-метилурацил, фторотан, пухлина, краун-ефір

Одним із перспективних шляхів пошуку засобів лікування пухлинної хвороби є створення нових антиметаболітів піримідинового обміну, здатних впливати на структуру та функції нуклеїнових кислот. Наявність цих речовин в організмі людини зумовила актуальність дослідження їхньої ролі у фізіології макроорганізму. Вивчається також використання малих активних молекул для фармакопейних форм медичних біологічних препаратів з метою інгібіції пухлинного росту [2, 6, 9–11].

Експериментально встановлено, що ряд сполук — похідних піримідину (метилурацил, пентоксил та інші) виявляють анаболічну та антикатаболічну активність. Ці препарати прискорюють процеси клітинної регенерації, сприяють загоєнню ран, стимулюють клітинні та гуморальні фактори імунітету. Так, відомий лікарський засіб «Метилурацил» справляє протизапальну дію, є стимулятором лейкопоезу [1]. Модифікація молекул 5(6)-заміщених урацилів за допомогою введення галоген(фтор)вмісних фармакофорів веде до підвищення їх розчинності в ліпідах та робить лікарські засоби ефективнішими у зв'язку з легкістю їх транспорту в організмі, а також наближає їх за хімічною будовою до відомого протипухлинного препарату «5-Фторурацилу» [5]. Метод введення фармакофорних груп до молекули було досліджено нами на молекулах поліфторвмісних ацетиленових спиртів, заміщених піримідинів [12].

Мета даної роботи полягає в хімічній модифікації молекули 6-метилурацилу з подальшим вивченням біологічної активності нових синтезованих похідних 6-метилурацилу, а саме: після конструювання потенційно активних структур розроблено нові препаративні методи синтезу оригінальних гетероциклів на основі 6-метилурацилу, а також фторвмісних синтонів — загального анестетика фторотану (2-бром-1,1,1-трифтор-2-хлоретану) або 1,1-діетилкарбокси-2-хлор-2-трифторметилетилену, досліджено протипухлинну активність та токсичність похідних 6-метилурацилу.

### Матеріали та методи дослідження

Об'єкти дослідження: нові гетероциклічні моно- та біс-похідні, синтезовані на основі 6-метилурацилу та фторотану або 1,1-діетилкарбокси-2-хлор-2-трифторметилетилену в якості фторвмісних синтонів. Абсолютні розчинники одержують у такий спосіб: ацетонітрил переганяють над  $P_2O_5$ , діетиловий ефір — над металевим натрієм. Диметилформамід, бензол, дихлоретан переганяють у вакуумі. Гексан,



метанол, ацетон переганяють простою перегонкою, сушать над сульфатом магнію безводним.

Індивідуальність синтезованих сполук контролюють методом тонкошарової хроматографії на пластинках «Silufol-254» у системі ацетонітрил-гексан 2:1. ГРХ проводять на газорідинному хроматографі «Perkin Elmer» з УФ-детектором (виробник «Perkin», Germany). ІЧ-спектри записують на спектрофотометрі «UR-20» (виробник «Charles Ceise Hena», Germany). Спектри  $^1\text{H}$  ЯМР записують на приладах «Bruker WP-200» (виробник «Bruker», Switzerland), «Varian T-60» (виробник «Varian», USA) з робочою частотою 200–132 МГц в  $\text{DMSO-d}_6$  з використанням тетраметилсилану як внутрішнього стандарту.

$N_{(1)}, N_{(1')}$ -(2'-бром-2'-хлоретеніл)-біс-(6-метилурацил) (I). Приготування розчину № 1. 0,25 г гідроксиду калію (0,0044 моль); 0,025 г дибензо-18-краун-6-ефіру в 20 мл сухого бензолу перемішують при температурі 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 (0,0089 моль) 6-метилурацилу розчиняють в 40 мл сухого диметилформаміду при температурі 60 °С в окремому хімічному посуді. Гарячий розчин № 2 додають краплями через ділильну лійку до розчину № 1, перемішують при температурі 60 °С 6 год, фільтрують у гарячому стані, охолоджують, відганяють простою перегонкою розчинники. Залишок — осад промивають 30 мл суміші діетиловий ефір — гексан (1:1) та сушать у вакуумі водострумного насосу. Сполука I — кристалічний порошок кремового забарвлення, нестійкий до дії гарячого органічного розчинника; при перекристалізації розкладається до вихідного урацилу. Вихід — 1,05 г (43 %). Т. топл. — 286–289 °С. Знайдено, %: С 38,80; Н 3,2; N 14,8.  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{BrClN}_4\text{O}_4$ . Обчислено, %: С 37,1; Н 2,58; N 14,38. ІЧ-спектр (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 515, 550, 690, 850 (C-C1, C-Br); 960–970 (trans -C=C-); 1710, 1750 (C=O); 2800–3000 ( $\text{CH}_3$ ).  $^1\text{H}$  ЯМР: 2,004(6H, с.,  $2\text{CH}_3$ ); 5,313 (2H, с.,  $2\text{C}_{(5)}\text{H}$ ); 10,832 (2H, д.,  $2\text{N}_{(3)}\text{H}$ ,  $\text{J}_{\text{H,H}}^4$  9,6 Гц).

Аналогічно синтезують сполуки:  $N_{(1)}$ -(1',1'-дифтор-2'-бром-2'-хлоретеніл)-6-метилурацил (II),  $N_{(1)}$ -(2'-бром-1'-гідрокси-2'-хлоретеніл)-6-метилурацил (III) із 1,54 г (0,84 мл; 0,0079 моль) фторотану та 1,0 г (0,0079 моль) 6-метилурацилу. Сполука II — кристалічний осад кремового забарвлення. Вихід — 0,73 г (31 %). Т. топл. — 280–283 °С. Знайдено, %: С 27,5; Н 1,9; N 9,3; Br 26,25.  $\text{C}_7\text{H}_6\text{BrClF}_2\text{N}_2\text{O}_2$ . Обчислено, %: С 27,7; Н 1,99; N 9,23; Br 26,32. ІЧ-спектр (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 550–690 (C-Hal); 1710, 1750 (C=O); 2820–3000 ( $\text{CH}_3$ ).  $^1\text{H}$  ЯМР: 1,74 (3H, с.,  $\text{CH}_3$ ); 7,26 (H, с.,  $\text{C}_{(5)}\text{H}$ ); 10,620 (H, с.,  $2\text{N}_{(3)}\text{H}$ ). Сполука III — кристалічний осад кремового забарвлення. Вихід — 0,16 г (15 %). Т. топл. — 274–277 °С. Знайдено, %: С 30,12; Н 2,08; N 9,87.  $\text{C}_7\text{H}_6\text{BrClN}_2\text{O}_3$ . Обчислено, %: С 29,9; Н 2,2; N 10,0. ІЧ-спектр (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 550–690 (C-Hal); 1710, 1750 (C=O); 2820–3000 ( $\text{CH}_3$ ); 3200–3400 (OH).  $^1\text{H}$  ЯМР: 1,74 (3H, с.,  $\text{CH}_3$ ); 7,26 (H, с.,  $\text{C}_{(5)}\text{H}$ ); 10,62 (H, с.,  $2\text{N}_{(3)}\text{H}$ ); 11,03 (H, с., OH).

1,1-діетилкарбоксі-2-трифторметил-2-(6'-метилуридил- $N(1')$ )-етилен (IV). Приготування розчину № 1. 6,13 г натрію металевого (0,268 моль) розчиняють в 250 мл метанолу безводного, додають краплями через ділильну лійку 43,0 г діетилового ефіру малонової кислоти (40 мл; 0,268 моль) та 62,0 г трифтороцтової кислоти (40 мл; 0,543 моль) при перемішуванні реакційної суміші та нагріванні. Кип'ятять суміш протягом 6 год, охолоджують до кімнатної температури, відганяють простою перегонкою розчинник. Залишок — склоподібну масу білого кольору заливають діетиловим ефіром. Осад білого кольору (продукт А), що випадає, відфільтровують та використовують на наступній стадії реакції.

Приготування розчину № 2. 8,0 г (0,0287 моль) продукту А розчиняють в 55 мл сухого дихлоретану при кімнатній температурі, додають 6 г (0,0287 моль)



п'ятихлористого фосфору. Реакційна суміш нагрівалася та набувала молочного забарвлення. Гарячий розчин перемішують з кип'ятінням 5 год, охолоджують, осад, що утворився, відфільтровують та промивають дихлоретаном, відганяють розчинник простою перегонкою. Залишок — масло очищають перегонкою у вакуумі (продукт В). Вихід — 6,31 г (80 %). Т. кип. — 56–59 °С (25 мм рт. ст.),  $n_{D}^{25}$  1,3010. Знайдено, %: С 39,36; Н 3,67; F 20,75.  $C_9H_{10}ClF_3O_4$ . Обчислено, %: С 39,37; Н 3,64; F 20,76.

*Приготування розчину № 3.* До суміші 0,87 г (0,0069 моль) 6-метилурацилу в 30 мл диметилформаміду безводного та 0,71 г (0,94 мл; 0,0069 моль) триетиламіну безводного додають по краплям 1,92 г (0,0069 моль) продукту В у 10 мл діетилового ефіру безводного при перемішуванні реакційної суміші та нагріванні до температури 60–70 °С. Кип'ятять суміш протягом 2 год, фільтрують гарячий розчин та відділяють осад  $N(C_2H_5)_3 \cdot HCl$ , розчинники відганяють у вакуумі. Залишок — масло жовтого забарвлення заливають гексаном та кип'ятять, зливають гексан декантацією, заливають ацетоном, осад блідо-кремового забарвлення випадає із ацетону (продукт С — IV). Вихід — 0,80 г (33 %). Т. топл. — 270–273 °С. Знайдено, %: С 46,13; Н 4,08; N 7,59.  $C_{14}H_{15}N_2F_3O_6$ . Обчислено, %: С 46,18; Н 4,15; N 7,68. ІЧ-спектр (KBr),  $cm^{-1}$ : 400, 415, 470, 560 ( $CF_3$ ); 600–800 (Heterocycl.); 905, 995, 1180, 1230, 1295 ( $CF_3$ ); 1050–1150 ( $OCH_3$ ,  $OC_2H_5$ ); 1300–1600 (Heterocycl.); 1315, 1600 (C=C); 1710, 1715, 1735 (C=O); 3010–3080 (Heterocycl.).  $^1H$  ЯМР: 1,18 (6H, т.,  $J_{H,H}^3$  7,0 Гц,  $2CH_3$ ); 1,87 (3H, с.,  $CH_3$  при  $C_{(6)}H$ ); 3,737–4,315 (4H, м.,  $J_{H,H}^3$  7,0 Гц,  $2OCH_2$ ); 6,26 (1H, д.,  $J_{H,H}^2$  10,0 Гц,  $C_{(5)}H$ ); 8,59 (1H, с.,  $N_{(3)}H$ ).

Дослідження параметрів гострої токсичності та протипухлинної активності похідних 6-метилурацилу проводили в Інституті фармакології та токсикології АМН України. Для визначення середньотоксичної дози  $LD_{50}$  синтезованих сполук використовують експрес-метод В.Б. Прозоровського [3]. Дослідження проводять на білих нелінійних мишах-самцях масою тіла  $22,0 \pm 2,0$  г; шлях введення — підшкірний. Результати досліду обраховують в альтернативній формі на 14-ту добу після введення. Оскільки структурних аналогів синтезованих сполук у літературі не описано, препаратом порівняння був відомий протипухлинний лікарський засіб «5-Фторурацил». При вивченні протипухлинної активності біс-похідного 6-метилурацилу прийнятим критерієм значення для речовини з протипухлинною активністю вважають відсоток гальмування росту пухлини — понад 50 % [4]. Як модель застосовували перевивну модель експериментального пухлинного росту — лімфосаркому Пліса. Під час вивчення специфічної протипухлинної активності біс-похідного 6-метилурацилу зазначену речовину розчиняли у фізіологічному розчині.

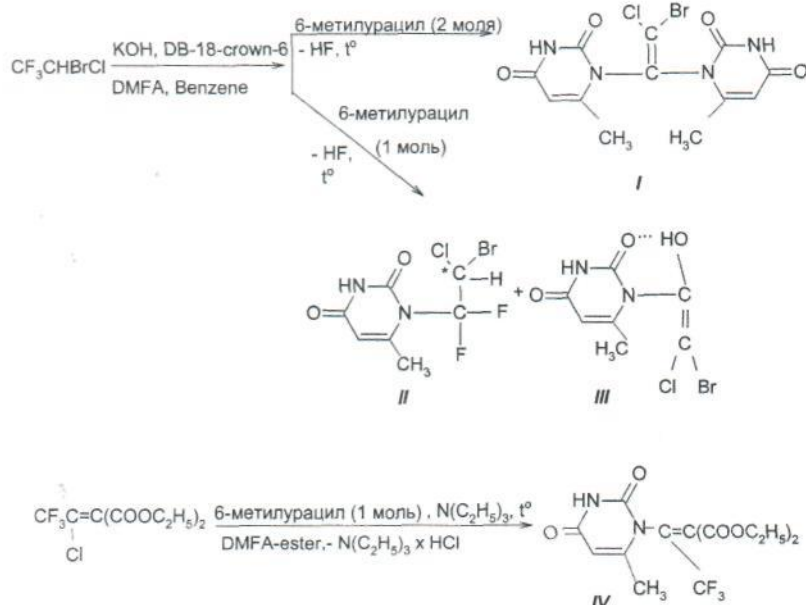
## Результати дослідження та їх обговорення

За новими, розробленими нами методами синтезу, взаємодією фторотану в якості фторвмісного синтону з 6-метилурацилом у молярному співвідношенні 1:2 та 1:1 в системі розчинників (бензол—диметилформамід—діетиловий ефір) в умовах міжфазного каталізу дибензо-18-краун-6-ефіром (лужне середовище) синтезовано нові моно- та біс-похідні з фармакофорними групами (I–III), а при взаємодії іншого фторвмісного синтону 1,1-дітилкарбоксі-2-хлор-2-трифторметилетилену з 6-метилурацилом в еквімолярних кількостях у системі розчинників (діетиловий ефір—диметилформамід—гексан—ацетон) синтезовано оригінальне похідне IV (схема).

Визначення одного з головних фармакологічних індексів синтезованих сполук — гострої токсичності свідчить, що сполуки (I–IV) відносяться до малотоксичних: їх значення  $LD_{50}$  перебувають в інтервалі від 580 мг/кг до 465 мг/кг. У наших дослідах у лабораторних тварин спостерігали тонічні судоми впродовж 1–2 год, блювання (таблиця). Препарат порівняння «5-Фторурацил» відноситься

Схема

Моно- та біс-похідні 6-метилурацилу



Параметри токсичності сполук I–IV порівняно з препаратом «5-Фторурацил»

Сполука	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг
Сполука I	495
Сполука II	480
Сполука III	465
Сполука IV	580
«5-Фторурацил» (контроль)	375

до малотоксичних сполук та характеризується таким значенням токсичності: ЛД<sub>50</sub> «5-Фторурацилу» становить 375 мг/кг.

Під час вивчення протипухлинної активності значний інтерес становило біс-похідне загального анестетика фторотану та 6-метилурацилу I, як найбільш близьке за хімічною будовою до препарату порівняння «5-Фторурацилу». Крім того, згідно із зауваженнями

клініцистів фторотан є найбільш зручним лікарським засобом, який дає позитивні результати при операційних втручаннях у онкологічних хворих [7, 8].

Біс-похідне I було досліджене нами в онкофармакологічних експериментах з використанням моделі експериментального пухлинного росту — лімфосаркома Пліса.

Гальмування росту пухлини при застосуванні вказаного біс-похідного I сягало 72,5% за масою, а препарату порівняння — «5-Фторурацилу» відповідно 55,0 % (критерій значущості  $\geq 50$  % гальмування пухлинного росту).

Таким чином, можна зробити висновок, що біс-похідне I має високу протипухлинну активність на моделі експериментального пухлинного росту — лімфосаркома Пліса і значно перевищує протипухлинну активність препарату порівняння «5-Фторурацилу», що дає змогу розглядати біс-похідне I як фізіологічно активну сполуку з перспективою подальшого вивчення за вимогами до потенційних протипухлинних засобів для лікування людини.

Висновки

1. За новими, розробленими нами методами синтезу, взаємодією фторотану або іншого фторвмісного синтону 1,1-діетилкарбокси-2-хлор-2-трифторметилетилену з 6-метилурацилом у молярному співвідношенні 1:2 або еквімолярних кількостях, у системах розчинників (бензол—диметилформамід—діетиловий ефір) або (діетиловий ефір—диметилформамід—гексан—ацетон) в умовах міжфазного каталізу дибензо-18-краун-6-ефіром, синтезовано нові моно- та біс-похідні 6-метилурацилу.

2. Установлено, що синтезовані похідні 6-метилурацилу відносяться до малотоксичних: значення їх ЛД<sub>50</sub> перебувають в інтервалі від 580 мг/кг та 465 мг/кг.



3. Для сполуки  $N_{(1)},N_{(1)}-(2\text{-бром-2-хлоретеніл})\text{-біс-(6-метилурацил)}$  виявлено значну протипухлинну дію відносно лімфосаркоми Пліса з відсотком гальмування пухлинного росту 72,5% (критерій значущості  $\geq 50\%$ ).

1. *Машковський Д.С.* Засоби, які впливають на центральну нервову систему. — К.: Наукова думка, 1991. — С. 43–44.
2. *Миджоян А.Л., Тер-Захарян Ю.З.* Биологические свойства химических соединений. — Ереван: Изд. АН Арм. ССР, 1962. — Вып. 1. — 246 с.
3. *Прозоровский В.Б., Прозоровский В.П., Демченко В.М.* // Фармакол. и токсикол. — 1978. — Т. 41, № 4. — С. 407–509.
4. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / Под ред. *З.П. Софьиной, А.Б. Сыркина, А.Голдина, А.Кляйна*. — М.: Медицина, 1979. — 296 с.
5. *Ягупольский Л.М.* Ароматические и гетероциклические соединения с фторсодержащими заместителями. — К.: Наукова думка, 1988. — С. 90–105.
6. *Adjei A.* A review of pharmacology and clinical activity of new chemotherapy agents for the treatment of colorectal cancer / *A. Adjei* // Clin. Pharmacol. — 1999. — Vol. 48. — P. 265–277.
7. *Brody G.L.* Halothane anesthesia as a possible cause of massive hepatic necrosis / *G.L. Brody, R.B. Sweet* // Anesthesiol. — 1963. — Vol. 24. — P. 29–37.
8. *Brown B.R.* Biotransformation and hepatotoxicity of halothane / *B.R. Brown, I.G. Sipes* // Biochem. Pharmacol. — 1977. — Vol. 26. — P. 2091–2094.
9. *Longley D.B.* Mechanisms of action of 5-fluorouracil / *D.B. Longley, D.P. Harkin* // Nature Rev. Cancer. — 2004. — Vol. 4. — P. 230–238.
10. *Noordhuis P.* 5-fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidilate synthetase inhibition human colorectal cancer / *P. Noordhuis, U. Hoekstra* // Annals of oncol. — 2004. — Vol. 15. — P. 1025–1032.
11. *Orjales A.* New 2-piperazinylbenzimidazole derivatives as 5-HT<sub>3</sub> antagonists. Synthesis and pharmacological evaluation / *A. Orjales, R. Mosquera, L. Labeaga, R. Rodes* // J. Med. Chem. — 1997. — Vol. 40, N 4. — P. 586–593.
12. *Welchinska Hel.V., B. Piecuszak, E.A. Kovalenko, N.I. Sharykina and al.* // Мікробіол. журн. — 2003. — Т. 65, № 6. — С. 20–25.

Надійшла до редакції 04.06.2010.

*Е.В.Вельчинская, И.В.Ниженковская, Н.И.Шарыкина*

#### ХИМИЯ 6-МЕТИЛУРАЦИЛА И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ЕГО НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

**Ключевые слова:** 6-метилурацил, фторотан, опухоль, краун-эфир

Описаны новые препаративные методы синтеза в условиях катализа 18-краун-6-комплексом оригинальных гетероциклов на основе 6-метилурацила и фторсодержащих синтонов — общего анестетика фторотана и 1,1-диэтилкарбокси-2-хлор-2-трифторметилэтилена. Структура и состав синтезированных соединений подтверждены данными элементного анализа, ИК-, ЯМР <sup>1</sup>H-спектроскопии. Установлено, что синтезированные соединения — моно- и бис-производные 6-метилурацила относятся к малотоксичным: значения их ЛД<sub>50</sub> находятся в интервале от 580 мг/кг до 465 мг/кг. Обнаружен значительный противоопухолевый эффект бис-производного 6-метилурацила на модели опухоли — лимфосаркома Плисса: торможение роста опухоли достигало 72,5 % (критерий значимости  $\geq 50\%$ ).

*E.V. Welchinska, I.V. Nizenkovskaya, N.I. Sharykina*

#### CHEMISTRY OF 6-METHYLURACILE AND ANTITUMOUR ACTIVITY OF ITS NEW DERIVATIVES

**Key words:** 6-methyluracile, ftorotan, tumor, crown-ether

#### SUMMARY

A new convenient methods for the preparation with 18-crown-6-complex as catalyst of original heterocycles on the base of 6-methyluracile and fluoric containing sintones — common anesthetic ftorotan and 1,1-diethylcarboxy-2-chloro-2-threelfuoro-methylethylene were described. The structure and composition of synthesized compound has been confirmed by data of elemental analysis, IR- and NMR <sup>1</sup>H -spectra. It was discovered that compounds which synthesized — mono- and bis-derivatives of 6-methyluracile applies to a little toxic preparations: its LD<sub>50</sub> are at the interval from 580 mg/kg to 465 mg/kg. A strongly antitumour effect of bis-derivative of 6-methyluracile on Lymphosarcoma Plissa tumour with growth relaxation of tumor mass 72,5 % (the criteria of considerable are  $\geq 50\%$ ) has been registered.