



НАУКОВИЙ ВІСНИК

НАЦІОНАЛЬНОГО
МЕДИЧНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ
ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

РОКІВ

591

№ 4 | 2006



ПЕРЕДОВА СТАТТЯ	ЗМІСТ
ТЕОРЕТИЧНА МЕДИЦИНА	<p><i>Москаленко В.Ф., Грузева Т.С.</i> Кадрові ресурси охорони здоров'я – важливий чинник ефективного функціонування медичної галузі 19</p>
	<p><i>Благодаров В.М., Черкасов Е.В., Куфтирева Т.П.</i> Кровоносні мікросудини слизової оболонки дванадцятипалої кишки при дуоденіті та виразковій хворобі дванадцятипалої кишки, асоційованих з <i>Helicobacter pylori</i>..... 31</p>
	<p><i>Грабовий О.М., Бошицька Н.В., Іващенко О.А., Прилуцкий Е.В.</i> Хімічна стійкість багатостінкових залізвуглецевих нанотрубок у модельному розчині, що відтворює кислотні властивості шлункового соку 37</p>
	<p><i>Максимчук О.О., Шермолович А.Ю., Лозинський М.О., Горчакова Н.О., Чекман І.С.</i> Дослідження фізико-хімічних властивостей і просторової будови молекули похідного янтарної кислоти - яктону 42</p>
	<p><i>Загородний М.І., Пашковський О.А., Пузиренко А.М., Дудченко О.А., Горчакова Н.О.</i> Квантово-хімічні аспекти взаємодії пентоксифіліну з амінокислотами 48</p>
	<p><i>Вельчинська О.В.</i> Вивчення фізіологічної активності, токсичності біс-адукту бензімідазолу та його молекулярного комплексу з бактерійним лектином 54</p>
	<p><i>Максютіна Н.П., Чолак І.С., Бурмака О.В.</i> Порівняльне дослідження екстракції флавоноїдів з пуп'янків та плодів софори японської..... 59</p>
	<p><i>Іщенко М.В.</i> Вплив біологічно активних речовин з суцвіть липи на клітинний та гуморальний імунітет. Експериментальне дослідження..... 64</p>
	<p><i>Трунова С.В., Никула Т.Д., Чоботько Г.М.</i> Корекція мінеролом змін периферичної крові щурів, спричинених зовнішнім дозованим іонізуючим опроміненням 68</p>
	<p><i>Мінченко Д.О., Ковтун О.О., Мінченко О.Г., Биць Ю.В.</i> Родина альтернативних сплайс-варіантів мРНК 6-фосфофрукто-2-кінази/фруктозо-2,6-бісфосфатази-4..... 72</p>

О.В. Вельчинська

ВИВЧЕННЯ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ, ТОКСИЧНОСТІ БІС-АДУКТУ БЕНЗІМІДАЗОЛУ ТА ЙОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ З БАКТЕРІЙНИМ ЛЕКТИНОМ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м.Київ)

Автор висловлює подяку за допомогу у виконанні медико-біологічних досліджень професору,
д.м.н. Н.І. Шарикіній
(Інститут фармакології та токсикології АМН України, м. Київ),
д.б.н. Е.О. Коваленко
(Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, м. Київ)

Резюме. З метою продовження вивчення особливостей синтезу нових похідних бензімідазолу та фторотану, дослідження їх токсичності та фізіологічної активності, синтезована оригінальна сполука I, I' - (2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(бензімідазол). Отримано молекулярний комплекс синтезованої сполуки наступного складу: бактерійний лектин штаму *Bacillus poyutuxa* 102 КДУ – I, I' - (2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(бензімідазол) простим механічним змішуванням двох компонентів у співвідношенні 1 : 1 в фізіологічному розчині. Сполука I, I' - (2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(бензімідазол) та її молекулярний комплекс з бактерійним лектином штаму *Bacillus poyutuxa* 102 КДУ, який має високу протипухлинну активність на деяких штаммах пухлин та значно перевищує протипухлинну активність препарату порівняння – 5-фторурацилу на даних штаммах, відноситься до менш токсичних, ніж відомий препарат 5-фторурацил, що дозволяє розглядати їх як фізіологічно активні середньо токсичні сполуки з протипухлинною активністю.

Ключові слова. Бактерійний лектин, гетероциклічні біс-аддукти, фізіологічна активність.

За останній час значно зросла кількість досліджень щодо синтезу нових похідних бензімідазолу та вивчення їх біологічної активності. Так, для піридо[1, 2-а]-бензімідазолів описана їх анксиолітична активність, а нові 2-піперазинілбензімідазоли проявили властивості антагоністів 5-НТЗ рецепторів [1, 2].

Для ефірів 1-оксиметил- та 1-(2-оксипетил)-бензімідазолів був відкритий їх вплив на центральну нервову систему (слабка депримируюча дія), на артеріальний тиск, вегетативні реакції [3]. Армянські вчені виявили, що сам бензімідазол є інгібітором пуринів, має протисудомну дію. Бензімідазол гальмує ріст бактерій, дріжджів, мікробів кишково-тифозної групи [4].

Стало відомо, що при введенні в положення I молекули бензімідазолу замісників ароматичної, аліфатичної будови, галогеналкілів, можна отримати сполуки з антибактеріальною, протівірусною або протизапальною дією [5].

Введення галогенвмісних фармакофорів в гетероциклічну молекулу призводить до підвищення розчинності сполук в ліпідах та робить лікарські засоби ефективнішими у

зв'язку із легкістю їх транспорту в організмі [6, 7].

Метою даного дослідження є синтез нової сполуки 1,1'-(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(бензімідазол) з потенційною протипухлинною активністю, хімічна будова якої оснований на молекулах бензімідазолу та фторотану, відпрацювання методики синтезу вищевказаної сполуки та отримання підтвердження будови за допомогою елементного аналізу, методів ТШХ, УФ, ІЧ, ПМР спектроскопії; дослідження токсичності та фізіологічної активності означеної синтезованої сполуки та її молекулярного комплексу з бактерійним лектином.

Сполука 1,1'-(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(бензімідазол) (далі, сполука I), отримана шляхом взаємодії відомого реагенту та складової лікарських засобів бензімідазолу з фторотаном у молярному співвідношенні 2 : 1,5 [8].

Реакції проводилися у системі розчинників (бензол-диметилформамід) в умовах міжфазного каталізу дибензо-18-краун-6-ефіром в лужному середовищі (схема 1).

Для створення молекулярного комплексу сполуки (I) з бактерійним лектином було віді-

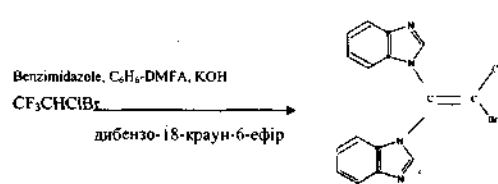
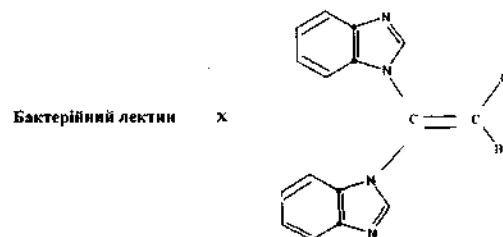


Схема 1.



Малюнок 1.

брано один з найбільш активних продуцентів позаклітинних лектинів: сапрофітний штам *Bacillus polymyxa* 102 КДУ.

Раніше з культуральної рідини одержано препарати позаклітинних лектинів з високою питомою активністю (13232-16845 ГАО), виходом по активності до 97% та ступеню очистки від 20,7 до 28,8 раз.

Препарати лектинів представляють собою глікопротеїни з характерним N-глікозидним типом зв'язку в молекулі, в якій білкова частина зв'язується з вуглеводною через аспарагін [9]. Препарати позаклітинних сіалоспецифічних лектинів сапрофітних культур бацил з високою гемаглютинуючою активністю, вузькою вуглеводною специфічністю та здатністю розпізнають не тільки типи і форми сіалових кислот, але й їх ізомери та зв'язки з субтермінальним вуглеводом, що дозволяє використовувати їх в якості базисних речовин для конструювання медико-біологічних препаратів направленої дії.

Матеріали та методи дослідження

Молекулярний комплекс: бактерійний лектин штаму *Bacillus polymyxa* 102 КДУ – 1, 1' - (2''-бром-2''-хлоретеніл)-біс-(бензімідазол) отримували простим механічним перемішуванням двох компонентів у співвідношенні 1 : 1 у фізіологічному розчині (малюнок 1).

Експерименти щодо дослідження токсичності сполуки (I) проведені на білих нелінійних мишах - самцях з масою тіла 22 + 2 г. Вивчення параметрів гострої токсичності проводилось у дослідах на білих нелінійних мишах. Результати досліду обраховувались у альтернативній формі на 14 добу після введення. Статистична обробка проведена за В.Б. Прозоровським та ін. [10].

Дослідження протипухлинної активності молекулярного комплексу: бактерійний лектин штаму *Bacillus polymyxa* 102 КДУ – 1, 1' - (2''-бром-2''-хлоретеніл)-біс-(бензімідазол) проводилися на моделях експериментального пухлинного зросту різного гістогенезу: Лімфосаркоми Пліса, Карциномі Герена, Саркомі 45. Гальмування росту пухлин при застосуванні молекулярного комплексу сягало 80.0% за

масою, а препарату порівняння – 5-фторурацилу відповідно 55.0% (критерій значущості ≥ 50.0% гальмування пухлинного росту).

Експерименти проведені на білих нелінійних мишах та щурах з масою тіла 22 + 2 та 160 + 20 г відповідно. Зазначений молекулярний комплекс, розчинений у фізіологічному розчині, вводився одноразово, підшкірно.

Вивчення параметрів гострої токсичності молекулярного комплексу проводилось у дослідах на білих нелінійних мишах. Результати досліду обраховувались у альтернативній формі на 14 добу після введення. Статистична обробка проведена за В.Б. Прозоровським та ін. [10].

Результати та їх обговорення

Експерименти показали, що сполука (I) відноситься до середньо токсичних сполук, ЛД₅₀ її становить 282 мг/кг. Оскільки структурних аналогів сполуки в літературі не описано, препаратом порівняння став відомий протипухлинний лікарський засіб 5-фторурацил.

5-Фторурацил відноситься до токсичних сполук та характеризується наступними значеннями токсичності: ЛД₅₀ 5-фторурацилу складає 372 мг/кг (підшкірно) [10, 11], (табл.1).

Експерименти показали, що молекулярний комплекс відноситься до середньо-токсичних сполук, ЛД₅₀ її становить 235 мг/кг. Оскільки структурних аналогів молекулярного комплексу в літературі не описано, препаратом порівняння став відомий протипухлинний лікарський засіб 5-фторурацил. 5-Фторурацил характеризується наступними значеннями зросту пухлин: гальмування росту Лімфосаркоми Пліса – 55%; гальмування росту Саркоми 45 – 18,4%; ЛД₅₀ 5-фторурацилу складає 372 мг/кг (підшкірно) [10]. Прийнятий критерій значення для досліджуваної речовини з протипухлинною активністю – гальмування зросту пухлини – понад 50% [11], (табл.2):

ТАБЛИЦЯ 1

ПАРАМЕТРИ ТОКСИЧНОСТІ СПОЛУКИ 1, 1' - (2"-БРОМ- 2"- ХЛОРЕТЕНІЛ)-БІС-(БЕНЗІМІДАЗОЛ) В ПОРІВНЯННІ З 5-ФТОРУРАЦИЛОМ.

Назва сполуки, препарат порівняння	Спосіб введення	LD ₅₀ (миші, мг/кг)
1, 1' - (2"-бром- 2"- хлоретеніл)-біс-(бензімі-дазол)	Підшкірно	282
5-Фторурацил	Підшкірно	372

ТАБЛИЦЯ 2

ПАРАМЕТРИ ТОКСИЧНОСТІ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ: БАКТЕРІЙНИЙ ЛЕКТИН ШТАМУ *BACILLUS POLYMUХА* 102 КДУ – 1, 1' - (2"-БРОМ- 2"- ХЛОРЕТЕНІЛ)-БІС-(БЕНЗІМІДАЗОЛ) В ПОРІВНЯННІ З 5-ФТОРУРАЦИЛОМ.

Назва сполуки, препарат порівняння	Спосіб введення	LD ₅₀ (миші, мг/кг)
Молекулярний комплекс: бактерійний лектин штаму <i>Bacillus polyмуха</i> 102 КДУ – 1, 1' - (2"-бром- 2"- хлоретеніл)-біс-(бензімі-дазол)	Підшкірно	235
5-Фторурацил	Підшкірно	372

Як показали досліди (табл.3) молекулярний комплекс має виражену здатність гальмувати експериментальний пухлинний ріст, перевищуючи за протипухлинною дією у проведених дослідах препарат порівняння – 5-фторурацил.

Виражена протипухлинна активність молекулярного комплексу та високий відсоток первинного вилікування тварин (80,0 %) зареєстровані на Лімфосаркомі Пліса.

Вивчення токсичності сполуки 1, 1' - (2"-бром- 2"- хлоретеніл)-біс-(бензімідазол), токсичності та протипухлинної активності молекулярного комплексу: бактерійний лектин штаму *Bacillus polyмуха* 102

КДУ – 1,1' - (2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(бензімідазол) проводилося у відділі онкофармакології Інституту фармакології та токсикології АМН України.

Експериментальна частина

Методика синтезу 1,1'-(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(бензімідазол)-у.

Приготування розчину № 1.

2.0 г гідроксиду калію (0,035 моль), 0.2 г дибензо-18-краун-6-ефіру, 40 мл сухого бензолу перемішують при температурі 60о С біля 15 хвилин 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

ТАБЛИЦЯ 3

ПРОТИПУХЛИННА АКТИВНІСТЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ: БАКТЕРІЙНИЙ ЛЕКТИН ШТАМУ *BACILLUS POLYMUХА* 102 КДУ – 1, 1' - (2"-БРОМ- 2"- ХЛОРЕТЕНІЛ) -БІС- (БЕНЗІМІДАЗОЛ) НА ЛІМФОСАРКОМІ ПЛІСА.

Назва речовини	Доза	Середня вага пухлин, контроль	Середня вага пухлин, дослід	Гальмування росту	Критерій значущості гальмування пухлинного росту
	мг/кг	г	г	%	%
Молекулярний комплекс	35	13.9 + 1.93	2.5 + 1.3	80.0	≥ 50.0
5-фторурацил	35	13.9 + 1.93	2.5 + 1.3	55.0	≥ 50.0

до нього краплями розчин 3.74 г (0,018 моль) фторотану в 30 мл діетилового ефіру.

Приготування розчину № 2.

2.4 г (0,04 моль) бензімідазолу розчиняють в 20 мл диметилформаміду при температурі 60 оС в окремому хімічному посуді. Гарячий розчин № 2 додають краплями через ділильну лійку до розчину № 1, перемішують при температурі 80 –90° С 11 годин, фільтрують у гарячому стані, відганяють простою перегонкою розчинники. Залишок кип'яють з 30 мл ацетонітрилу, фільтрують. Кристалічний осад промивають водою, ацетонітрилом, ефіром. Отриманий осад сушать у вакуумі водострумного насосу.

Практичний вихід 2.00 г (53 %). Т. пл. 222-225° С.

Індивідуальність синтезованої сполуки (I) контролювали методом тонкошарової хроматографії, склад підтверджували даними елементного аналізу.

Спектр ПМР синтезованої сполуки I записували на приладах "Bruker WP-200" (виробник "Bruker", Switzerland), "Varian T-60" (виробник "Varian", USA) з робочою частотою 200-132 МГц у виді розчинів ДМСО-D6 та CFBr3 (внутрішні стандарти ТМС та ГМДС).

ІЧ-спектр записували на спектрофотометрі UR-20 (виробник "Charles Ceise Hena", Germany).

ТШХ виконували на пластинках Silufol-254.

ГРХ визначали на газорідинному хроматографі "Perkin Elmer" з УФ-детектором (виробник "Perkin", Germany).

Хроматограма, ІЧ-, ПМР-спектри кінцевого продукту ідентифікували у порівнянні з

хроматограмами, ІЧ-, ПМР-спектрами вихідних сполук.

Синтезована сполука (I) - це кристалічний порошок кремового забарвлення, нестійкий до дії гарячого органічного розчинника; при перекристалізації він розпадається до вихідного бензімідазолу. Дані елементного аналізу на С, Н, N синтезованої сполуки відповідають розрахованим значенням.

В ІЧ-спектрі синтезованої сполуки ідентифіковано сигнали галогенів (Br, Cl) при 550-850 см⁻¹

Співвідношення інтегральних інтенсивностей сигналів в ПМР-спектрі синтезованої сполуки підтверджує відсутність протонів у атомів N(1) молекули бензімідазолу при 11.00-11.25 м.д., а також наявність протонів ароматичних та гетероциклічних ядер при 7.29-8.91 м.д.

Фізико-хімічні характеристики та дані елементного аналізу синтезованої сполуки наведено в таблиці 4.

Висновок

Сполука (I) та її молекулярний комплекс з бактерійним лектином штаму *Bacillus polytuxa* 102 КДУ, який має високу протипухлинну активність на деяких штаммах пухлинної хвороби та значно перевищує протипухлинну активність препарату порівняння 5-фторурацилу на вказаних штаммах пухлин, відносяться до менш токсичних, ніж відомий препарат 5-фторурацил, що дозволяє розглядати їх як фізіологічно активні середньо токсичні сполуки з перспективою подальшого вивчення за вимогами до потенційних протипухлинних засобів для лікування людини.

ТАБЛИЦЯ 4

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТА ДАНІ ЕЛЕМЕНТНОГО АНАЛІЗУ СПОЛУКИ (I)

Знайдено, у % С Н N	Брутто-формула	Обчислено, у %, С Н N	ІЧ-спектр (KBr), см ⁻¹ γ C-Hal, Ph, C=C	Спектр ПМР (ДМСО-D6), δ, м.д. (J, Гц)
51.5 3.0 14.65	C ₁₆ H ₁₀ N ₄ BrCl	51.43 2,7 14,9	550-850 (C-C1, C-Br), 650-900 (Ph), 1450 (cis -C=C-), 1600-1680 (trans- C=C-), 3000-3100 (Ph)	7.301-8.96(10H, м., 2 Ph, 2 Heterocycles, -N=CH-).

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ, ТОКСИЧНОСТИ БИС-АДДУКТА БЕНЗИМИДАЗОЛА И ЕГО МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА С БАКТЕРИАЛЬНЫМ ЛЕКТИНОМ

Е. В. Вельчинская

Резюме. С целью продолжения изучения особенностей синтеза новых производных бензимидазола и фторотана, исследования их токсичности и физиологической активности, синтезировано оригинальное соединение 1, 1' - (2''-бром-2''-хлорэтиленил)-бис-(бензимидазол). Для подтверждения строения синтезированного соединения использованы методы элементного анализа и данные УФ-, ИК- и ПМР-спектроскопии. Получен молекулярный комплекс синтезированного соединения следующего состава: бактериальный лектин штамма *Bacillus polymyxa* 102 КГУ - 1, 1' - (2''-бром-2''-хлорэтиленил)-бис-(бензимидазол) простым механическим перемешиванием двух компонентов в соотношении 1:1 в физиологическом растворе. Соединение 1, 1' - (2''-бром-2''-хлорэтиленил)-бис-(бензимидазол) и его молекулярный комплекс с бактериальным лектином штамма *Bacillus polymyxa* 102 КГУ, который имеет высокую противоопухолевую активность на некоторых штаммах опухолей и значительно превышает противоопухолевую активность препарата сравнения - 5-фторурацила на указанных штаммах, относится к менее токсичным, чем известный препарат 5-фторурацил, что позволяет рассматривать их как физиологически активные среднетоксичные соединения с противоопухолевой активностью.

Ключевые слова. Бактериальный лектин, гетероциклические бис-аддукты, физиологическая активность.

INVESTIGATION OF PHYSIOLOGICAL ACTIVITY, TOXICITY OF BIS-ADDUT OF BENZIMIDAZOLE AND ITS MOLECULAR COMPLEX WITH BACTERIAL

Hel.V. Welchinska

Summary. To continue studies on the specialty of the synthesis of new derivatives of benzimidazole and fluorotane, investigations of their toxicity and physiological activity the original compound was synthesized 1, 1' - (2''- bromo - 2''- chloroethenyl) - bis - (benzimidazole). The methods of chemical analysis, UF, IR and PMR-spectroscopy have been used to study the structure of the new product. Molecular complex of the compound which synthesized next composition: bacterial lectin Stamm *Bacillus polymyxa* 102 KDU - 1, 1' - (2''- bromo - 2''- chloroethenyl) - bis - (benzimidazole) was obtained by the sample mechanical mixing of two components, 1:1, at the physiological solvent. Compound 1, 1' - (2''- bromo - 2''- chloroethenyl) - bis - (benzimidazole) and their molecular complex with bacterial lectin Stamm *Bacillus polymyxa* 102 KDU, which has strongly antitumour effect on some stamms of tumours (more than antitumour effect of compound for control - 5-fluorouracile in case these tumours too) are toxically less then 5-fluorouracile and physiological active compounds with middle-toxicity and antitumour activity.

Keywords. Bacterial lectins, heterocyclic bis-adducts, physiological activity.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Bruce E. Mar., Winston Ho. // J. Med. Chem. - 1995. - 38. - P.16-20.
2. Aurelio Orjales, Ramon M. // J. Med. Chem. - 1997. - 40. - P.586-593.
3. Печенина В.М., Мухина Н.А. // Хим.- фарм. журн. - 1971.- № 10.- Т.5.- С. 10-13.
4. Мнджоян А.Л., Тер-Захарян Ю.З. // Биологические свойства химических соединений. - Ереван: Изд. АН Арм.ССР, 1962. - Вып.1. - С.235-246.
5. Барлоу Р. // Введение в химическую фармакологию. - М.: Изд. ин. лит., 1959. - С. 107.
6. Соединения фтора. Синтез и применение. / Под ред. Н. Исикава. - М.: Мир, 1990. - Гл.5. - С.183-265.
7. Ягупольский Л.М. // Ароматические и гетероциклические соединения с фторо-содержащими заместителями. - Киев: Наукова думка, 1988. - С.90-105.
8. Вельчинська О.В. Спосіб отримання речовини з протипухлинною активністю 1, 1' - (2''-бром-2''-хлоретеніл)-біс-(бензімідазол). Декларативний патент на корисну модель. 6892. С07-D239/553, С07С21/18, 21/185, А61К33/16. Дата прийняття рішення 16.05.2005. Бюл. №5, С.1-6 (6892).
9. Welchinskaya Helena V., Kuzmenko Ivan I., Kudryavtseva Irine G., Sharykina Nadezda I., Kovalenko Emma A., Podgorsky V.S. // Intern. J. of Biolog. Macromol. - 1999. - 26. - P.243-248.
10. Прозоровський В.Б., Прозоровський В.П., Демченко В.М. Експрес метод визначення середньої ефективності дози та її помилки. // Фармакол. та токсикол. - 1978. - Т. 41, № 4. - С. 407 - 509.
11. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США (под ред. З.П.Софьиной, А.Б.Сыркина (СССР); А.Голдина, А. Кляйна (США)). - М.: Медицина, 1979. - 296 с.