

Тернопільський національний
педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

Наукові записки

Серія: біологія



**1 (35)
2008**

ЕКОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 547.854.4 + 547.431.4 + 547.96

О.В. ВЕЛЬЧИНСЬКА¹, Н.І. ШАРИКІНА², Е.О. КОВАЛЕНКО³

¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
бульвар Т. Шевченка, 13, Київ, 01601

²Інститут фармакології та токсикології АМН України
вул. Е. Потьє, 14, Київ, 03057

³Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143

ПОШУК ЗАСОБІВ ЛІКУВАННЯ ПУХЛИННОЇ ХВОРОБИ ШЛЯХОМ СТВОРЕННЯ НОВИХ АНТИМЕТАБОЛІТІВ ПРИМІДИНОВОГО ОБМІНУ - БІС-ПОХІДНИХ 5(6)- ЗАМЩЕНИХ УРАЦИЛІВ ТА ЇХ МОЛЕКУЛЯРНИХ КОМПЛЕКСІВ З БАКТЕРІЙНИМИ ЛЕКТИНАМИ

Ключові слова: бактерійні лектини, урацили, фторотан, пухлини

Одним з перспективних шляхів пошуку засобів лікування пухлинної хвороби є створення нових антиметаболітів пуринового та піримідинового обміну, здатних впливати на структуру та функції нуклеїнових кислот, малих активних молекул, з метою інгібіції пухлинного росту [14]. Актуальність досліджень цієї спрямованості підтверджується чисельними роботами вітчизняної та світової літератури [10]. Після синтезу похідних урацилу, а особливо, 5-фторурацилу та фторафуру, які продемонстрували високу протипухлинну активність, значно зросла кількість досліджень з цього напрямку. 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) буде виконувати роль субстрату та/або інгібітору ферментів і буде переважно поглинатися тканинами пухлини.

Молекули 5 (6) – фтор(галоген)заміщених урацилів та їх похідних, здатні виконувати роль фтор(галоген) вмісних синтонів в органічному синтезі, тому їх активно використовують для створення оригінальних біологічно активних молекул. З іншого боку, введення фтор(галоген) вмісних фармакофорів в гетероциклічну молекулу призводить до підвищення розчинності сполук в ліпідах та робить лікарські засоби ефективнішими у зв'язку із легкістю їх транспортування в організмі [9].

При цьому зазначена увага до фторвмісних фрагментів в нових молекулах передбачає посилення антиметаболітних властивостей сполук.

Авторами роботи [10] описано метод введення до аліфатичного ланцюгу або ароматичного кільця фармакофорної групи $-CF_2CH_2Cl$ при використанні доступного реагенту та лікарського засобу фторотану з метою синтезу біологічно активних сполук з поліфторалкоксигрупами. Як описано в літературних джерелах, взаємодія фторотану (I) з основою супроводжується елімуванням фтористого водню та генеруванням проміжного продукту 2-бром-1,1-дифтор-2-хлоретилену (II), який безпосередньо реагує з молекулами

спиртів при каталізі основою [10]. Даний метод введення фармакофорних груп в молекули було досліджено нами на молекулах поліфторвмісних ацетиленових спиртів, заміщених піримідинах, імідазолах, бензімідазолах [1, 6]. Дана реакція дозволяє виявити нову стратегію для синтезу селективно поліфункціональних молекул, хімічна будова яких дозволяє введення в молекулу нових фармакофорних фрагментів.

Мета даної роботи полягає в означенні преформованих піримідинів, їх синтезі та вивченні хімічних, фізико-хімічних та біологічних властивостей, а саме: після конструювання потенційно активних структур розроблено новий препаративний метод синтезу оригінальних гетероциклів на основі 5(6)-заміщених урацилів з одного боку та фторзаміщеного загального анестетика фторотану (2-бром-1,1,1-трифтор-2-хлоретану) (I), досліджена їх протипухлинна активність та токсичність, створено молекулярні комплекси на основі відібраних за рівнем протипухлинної активності деяких із синтезованих сполук та бактерійних лектинів *Bacillus subtilis* 668 IMV та *Bacillus polymyxa* 102 KGU з вираженими протипухлинними властивостями, досліджена їх токсичність та протипухлинна активність.

Об'єктами дослідження були нові гетероциклічні біс-похідні, синтезовані на основі 5(6)-заміщених урацилів та фторотану, їх молекулярні комплекси з бактерійними лектинами *Bacillus subtilis* 668 IMV та *Bacillus polymyxa* 102 KGU. Абсолютні розчинники одержували в такій спосіб: ацетонітрил переганяли над P_2O_5 , діетиловий ефір – над металевим натрієм. Диметилформамід та бензол переганяли у вакуумі. Індивідуальність синтезованих сполук контролювали методом тонкошарової хроматографії на пластинах Silufol-254 в системі ацетонітрил-гексан 2:1. ІЧ спектри записано на спектрофотометрі UR-20 (виробник "Charles Ceise Hena", Germany).

ГРХ проводили на газорідному хроматографі "Perkin Elmer" з УФ-детектором (виробник "Perkin", Germany). Спектри 1H ЯМР записували на приладах "Bruker WP-200" (виробник "Bruker", Switzerland), "Varian T-60" (виробник "Varian", USA) з робочою частотою 200-132 МГц у $DMSO-d_6$ з використанням тетраметилсилану як внутрішнього стандарту.

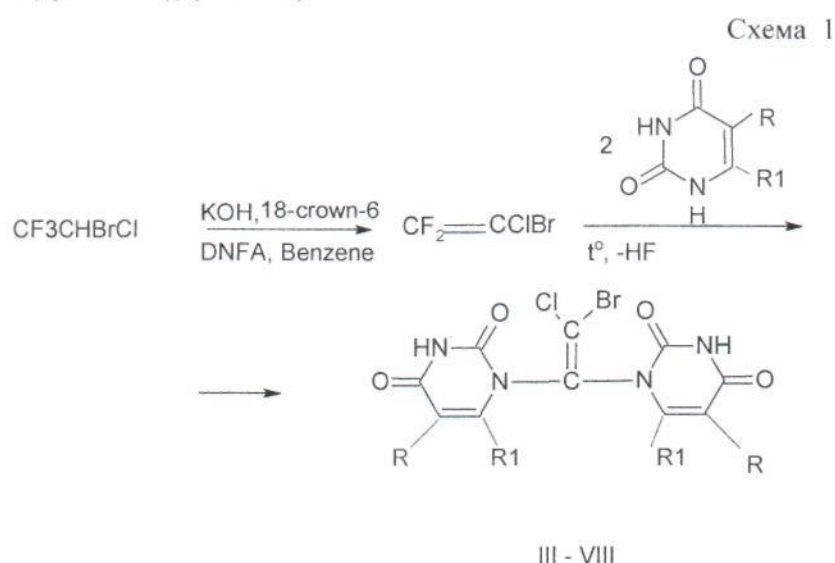
*N*_{(1),N}(1')-(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(урацил) (III). Приготування розчину № 1. 0.25 г гідроксиду калію (0,0044 моль), 0.025 г дибензо-18-краун-6-ефіру в 20 мл сухого бензолу перемішують при температурі 60° С біля 15 хвилин до утворення на стінках хімічного реактора білого полімерного нальоту, тобто утворення калієвого комплексу з дибензо-18-краун-6-ефіром. Отриманий розчин охолоджують до кімнатної температури, додають до нього краплями розчин 0.87 г (0,0044 моль) фторотану в 20 мл сухого ефіру. Приготування розчину № 2. 1.0 г (0,0089 моль) урацилу 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 –80° С 1 годину (реакційна суміш мутніла та при нагріванні ставала червоно-коричневою), фільтрують у гарячому стані, охолоджують, відганяють простою перегонкою розчинники. Залишок – осад промивають 30 мл суміші діетиловий ефір - гексан (1 : 1), сушать у вакуумі водострумного насосу. Кристалічний осад кремового забарвлення. Вихід 0.6 г (37,5 %). Т топл. 282-285 °С. Знайдено, %: С 32,80; Н 2,0; N 15,5, Br 21,85. $C_{10}H_6BrClN_4O_4$. Обчислено, %: С 33,21; Н 1,67; N 15,49, Br 22,0. ІЧ спектр (KBr), cm^{-1} : 550-690 (C- Hal), 1710, 1750 (C=O). 1H ЯМР: 5,422 (2H, д., 2 x C₍₅₎H), 7.403 (2H, д., 2 x C₍₆₎H), 8.542 (2H, с., 2 N₍₃₎H in D₂O). Аналогічно синтезують сполуку *N*_{(1),N}(1')-(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(6-метилурацил) (IV) із фторотану (0,011 моль) та 6-метилурацилу (0,022 моль) при перемішуванні та нагріванні реакційної суміші 6 годин при температурі 60 °С. Залишок – осад промивають 30 мл ацетонітрилу, 30 мл охолодженої води, 30 мл ацетонітрилу, 30 мл ефіру, потім сушать у вакуумі водострумного насосу. Синтезована сполука – це кристалічний порошок жовтого забарвлення, нестійкий до дії гарячого органічного розчинника; при перекристалізації він розкладається до вихідного урацилу. Вихід 1.05 г (43%). Т топл. 286-289 °С. Знайдено, %: С 38,80; Н 3,2; N 14,8. $C_{12}H_{10}BrClN_4O_4$. Обчислено, %: С 37,1; Н 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 (CH₃). 1H ЯМР: 2.004(6H, с., 2 CH₃), 5.313(2H, с., 2C₍₅₎-H), 10.832 (2H, д., 2 N₍₃₎ H, J_{H,H} 4 9.6 Гц). Аналогічно синтезують сполуку *N*_{(1),N}(1')-(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(5-метилурацил) (V) із фторотану (0,0044 моль) та 5-

метилурацилу (0,0089 моль) при перемішуванні та нагріванні реакційної суміші 11,5 годин при температурі 60 °С. Синтезована сполука – це кристалічний порошок кремового забарвлення, яка кристалізується з суміші розчинників етанол-гексан (1 : 1). Вихід 1,2 г (36,8 %). Т топл. з осмоленням 265-268 °С. Знайдено, %: С 37,60; Н 3,08; N 14,53. $C_{12}H_{10}BrClN_4O_4$. Обчислено, %: С 37,1; Н 2,58; N 14,38. ІЧ спектр (KBr), cm^{-1} : 515, 615(C-Hal), 1710, 1750(C=O), 2800,3000 (CH₃). ¹H ЯМР: 1,712 (6H, д., J_{H,H} 5 Гц, 2 x CH₃), 7,229 (2H, д., J_{H,H} 5 Гц, 2 x C₍₆₎H), 10,7 (2H, уш. с., 2 x N₍₃₎H). Аналогічно синтезують сполуку $N_{(1)},N_{(1')}$ -(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(5-фторурацил) (VI) із фторотану (0,0044 моль) та 5-фторурацилу (0,0089 моль) при перемішуванні та нагріванні реакційної суміші 14 годин при температурі 60 °С. Синтезовану сполуку – кристалічний порошок кремового забарвлення промивають безводним метанолом, діетиловим ефіром, сушать у вакуумі водострумного насосу. Вихід 2,98 г (50%). Т топл. 238-240 °С. Знайдено, %: С 30,08; Н 1,15; N 13,78. $C_{10}H_4BrF_2ClN_4O_4$. Обчислено, %: С 30,21; Н 1,13; N 14,09. ІЧ спектр (KBr), cm^{-1} : 510,550,690 (C-Cl, C-Br); 1150, 1210 (C-F); 1735, 1750 (C=O). ¹H ЯМР: 4,532(2H, уш.с., 2 N₍₃₎H), 7,447 (2H, д., 2C₍₆₎-H). Аналогічно синтезують сполуку $N_{(1)},N_{(1')}$ -(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(5-бромурцил) (VII) із фторотану (0,0044 моль) та 5-бромурцилу (0,0089 моль) при перемішуванні та нагріванні реакційної суміші 12 годин при температурі 60 °С. Синтезовану сполуку – кристалічний порошок кремового забарвлення промивають 30 мл метанолу, 10 мл етилового ефіру, сушать у вакуумі водострумного насосу. Вихід 3,69 г (30%). Т топл. з осмоленням 270-275 °С. Знайдено, %: С 22,8; Н 1,02; N 11,01; Br 45,96. $C_{10}H_4Br_3ClN_4O_4$. Обчислено, %: С 23,13; Н 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., 2 N₍₃₎H in H₂O), 7,66 (2H, с., 2 x C₍₆₎H). Аналогічно синтезують сполуку $N_{(1)},N_{(1')}$ -(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(5-нітроурцил) (VIII) із фторотану (0,0044 моль) та 5-нітроурцилу (0,0089 моль) при перемішуванні та нагріванні реакційної суміші 7 годин при температурі 60 °С. Залишок – осад промивають дистильованою водою, 30 мл ацетонітрилу, 10 мл етилового ефіру, сушать на повітрі. Кристалічний осад кремового забарвлення. Вихід 2,16 г (56,5 %). Т топл. з осмоленням 290-295 °С. Знайдено, %: С 26,8; Н 1,02; N 17,79. $C_{10}H_4BrClN_6O_8$. Обчислено, %: С 26,6; Н 0,9; N 18,61. ІЧ спектр (KBr), cm^{-1} : 550-690 (C-Hal), 1710, 1750 (C=O). ¹H ЯМР: 8,861 (2H, с., 2 x C₍₆₎H), 10,226 (2H, с., 2 N₍₃₎H).

Для створення молекулярних комплексів на основі бактерійних лектинів та синтезованих сполук було відібрано найбільш активні продуценти позаклітинних лектинів: сапрофітні культури *Bacillus subtilis* 668 IMV та *Bacillus polymyxa* 102 KGU з Української колекції мікроорганізмів ІМВ НАНУ, які були ізольовані з кишково-шлункового тракту здорового новонародженого теляти та ґрунту, відповідно. 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 [7, 3]. 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 їх ізомери та зв'язки з субтермінальним вуглеводом, що дозволяє використовувати їх в якості базисних речовин для конструювання медико-біологічних препаратів направленої дії. Культивування бактерій проводили періодичним способом на качалках при температурі 37⁰С в колбах Ерленмейера з робочим об'ємом 100 мл на оптимізованому для спрямованого біосинтезу лектинів середовищі Гаузе відповідного складу, г/л: бульон Хоттінгера – 30 мл; пептон – 5,0; NaCl – 5,0; галактоза –10,0; початкове рН середовища – 6,0; час культивування – 18-20 год. Бактерійні клітини відділяли центрифугуванням при 6000 g протягом 20 хв. Лектини виділяли зі звільненої від клітин культуральної рідини (КР) шляхом висолювання сірчанокислим амонієм при насичені 70%, як описано раніше [7, 3]. Одержані осад центрифугували при 6000 g протягом 20 хв., розчиняли в мінімальному об'ємі дистильованої води, діалізували проти останньої і прогрівали на водяній бані при температурі 65⁰С тричі протягом 30 хв. Термолабільні білки відділяли центрифугуванням при 5000 g протягом 20 хв.; супернатант висушували і використовували для подальших досліджень. Молекулярні комплекси: бактерійний лектин–біс-похідне гетероциклу

отримували простим механічним перемішуванням двох компонентів у співвідношенні 1 : 1 у фізіологічному розчині. Дослідження параметрів гострої токсичності та протипухлинної активності сполук та їх молекулярних комплексів з бактерійними лектинами проводилися в Інституті фармакології та токсикології АМН України. Вивчення параметрів гострої токсичності проводилося у дослідах на білих нелінійних мишах - самцях з масою тіла 22 ± 2 г та щурах-самцях з масою тіла 160 ± 20 г при внутрішньочеревному шляху введення. Результати досліду обраховувались у альтернативній формі на 14 добу після введення. Статистична обробка проведена по В.Б. Прозоровському та ін. [4,5]. Оскільки структурних аналогів синтезованих сполук в літературі не описано, препаратом порівняння став відомий протипухлинний лікарський засіб 5-фторурацил. При вивченні протипухлинної активності синтезованих сполук та їх молекулярних комплексів прийнятим критерієм значення для речовини з протипухлинною активністю вважалося гальмування росту пухлини – понад 50%[5]. У якості моделей було застосовано перевивні моделі експериментального пухлинного росту різного гістогенезу: Саркома 180, Саркома 45, Лімфосаркома Пліса та Карцинома Герена. Курс лікувальних впливів становив 6 введень через добу при внутрішньочеревному шляху введення, згідно із правилами введення речовин до організму піддослідних тварин, які рекомендовано Фармакологічним Центром МОЗ України, у інтервалі доз $1/4 - 1/5$ ЛД₅₀. Результати обраховувались через 24 години після закінчення лікування. Критерієм оцінки вважався відсоток гальмування росту пухлини. Під час вивчення специфічної протипухлинної активності молекулярних комплексів, зазначені молекулярні комплекси розчиняли у фізіологічному розчині та вводилися одноразово, підшкірно.

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



де, R= R1 = H (III); R= H, R1 = CH₃ (IV); R = CH₃, R1= H (V); R= F, R1 = H (VI); R= Br, R1 = H (VII); R= NO₂, R1 = H (VIII).

В ІЧ спектрах сполук (III–VIII) ідентифіковано сигнали зв'язків C-Ha1 при 515, 615, 550-695 см⁻¹, інтенсивні сигнали карбонільних груп C=O гетероциклічних фрагментів молекули при 1710, 1750 см⁻¹, сигнали CH₃-груп для сполук (IV,V) при 2800, 3000 см⁻¹. Співвідношення інтегральних інтенсивностей сигналів в ЯМР¹H спектрах сполук (III – VIII) підтверджує відсутність протону при атомі N₍₁₎ в молекулах вихідних урацилів при 11.00-11.25 м.д., а також наявність протонів в положеннях C₍₅₎H та C₍₆₎H гетероциклічних ядер при 5.422 м.д. та 7.229 - 8.861 м.д. відповідно, 2 протонів в положенні N₍₃₎H гетероциклічних ядер при 4.048 – 10.7 м.д., які частково дейтеруються.

5-фторурацил з його властивостями в процесі метаболізму утворювати інтермедіати, що включаються до структури ДНК, РНК, гальмують активність тимідилатсинтетази, яка забезпечує синтез ДНК та РНК його попередниками, стоїть в центрі уваги пошуку нових сполук з зазначеною спрямованістю дії [8, 7]. Саме на біс-похідних 5-фторурацилу (VI) та 5-бромурацилу (VII) ми зосередили наші біологічні дослідження серед синтезованого масиву БАР.

Досліджена токсичність сполук: $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(6\text{-метилурацил})$ (IV); $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-фторурацил})$ (VI), $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-бромурацил})$ (VII), а також їх молекулярних комплексів: бактерійний лектин *Bacillus polymyxa* 102 KGU- $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(6\text{-метилурацил})$ **1**; бактерійний лектин *Bacillus subtilis* 668 IMV- $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-фторурацил})$ **2**, бактерійний лектин *Bacillus polymyxa* 102 KGU- $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-бромурацил})$ **3**. Препарат порівняння - 5-фторурацил відноситься до середньотоксичних сполук та характеризується наступними значеннями токсичності: LD_{50} 5-фторурацилу складає 372 мг/кг (внутрішньочеревно). Доза введеної речовини внутрішньочеревним способом становила від 125 до 635 мг/кг. У дослідних тварин спостерігалися тонічні судоми, клоніко-тонічні судоми впродовж 1 - 2 годин, блювота, через 3 - 5 годин – тремор. Як показали досліди, сполуки (IV, VII) відносяться до середньотоксичних: LD_{50} їх становить 515 мг/кг та 415 мг/кг відповідно. Сполука (VI) відноситься до високотоксичних сполук, LD_{50} її становить 125 мг/кг. Встановлено, що молекулярні комплекси бактерійних лектинів з гетероциклічними біс-похідними **1**, **3** відносяться до середньотоксичних, LD_{50} їх коливається між 635 мг/кг та 335 мг/кг, молекулярний комплекс **2** відноситься до високотоксичних сполук, LD_{50} його становить 137 мг/кг, (табл.1).

Таблиця 1

Параметри токсичності сполук (IV, VI, VII) та їх молекулярних комплексів 1-3 у порівнянні з 5-фторурацилом

Сполука, препарат порівняння	LD_{50} (миші, мг/кг)	Молекулярний комплекс, препарат порівняння	LD_{50} (миші, мг/кг)
$N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(6\text{-метилурацил})$ (IV)	515	<i>Bacillus polymyxa</i> 102 KGU- $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(6\text{-метилурацил})$ 1	335
$N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-фторурацил})$ (VI)	125	<i>Bacillus subtilis</i> 668 IMV- $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-фторурацил})$ 2	137
$N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-бромурацил})$ (VII)	415	<i>Bacillus polymyxa</i> 102 KGU- $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-бромурацил})$ 3	635
5-фторурацил	372	5-фторурацил	372

Під час вивчення протипухлинної активності значний інтерес становило похідне загального анестетика фторотану та 5-фторурацилу (VI). 5-фторурацил виявляє активність при іноперабельній та рецидивній пухлині шлунку, товстої та прямої кишки, пухлині молочної залози, підшлункової залози, яєчників [8]. Згідно зауваженням клініцистів, фторотан є найбільш зручним лікарським засобом, який дає позитивні результати при операційних втручаннях у онкологічних хворих [7,11]. Саме ця сполука $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-фторурацил})$ (VI) була вивчена в онкофармакологічних експериментах. Для порівняння протипухлинної дії сполуки (VI) та 5-фторурацилу були відмічені параметри протипухлинної дії останнього: гальмування росту Лімфосаркоми Пліса – 5%, гальмування росту Саркоми 45 – 18,4% [10], (табл. 2).

Певний інтерес становило дослідження протипухлинної активності створених нами молекулярних комплексів сполук з бактерійними лектинами, які мають виражену протипухлинну активність: *Bacillus polymyxa* 102 KGU- $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(6\text{-метилурацил})$ **1**, *Bacillus subtilis* 668 IMV- $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-фторурацил})$ **2**, *Bacillus polymyxa* 102 KGU- $N_{(1),N_{(1')}}-(2''\text{-бром-}2''\text{-хлоретеніл)-біс-(5\text{-бромурацил})$ **3** на моделях експериментального пухлинного зросту - Лімфосаркомі Пліса та Саркомі 45, (табл.3).

Таблиця 2

Протипухлинна активність сполуки N₍₁₎, N_(1')-(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(5-фторурацил)(VI) в порівнянні з 5-фторурацилом при внутрішньочеревному шляху введення у мишей-носіїв пухлин

№	Назва сполуки	Доза, мг/кг	Середня ма-са пухлини (г)	Гальмування росту пухлин, %
Саркома 180				
1.	Контроль	-	2,22	
2.	(VI)	30,0	1,07	51,7*
Саркома 45				
1.	Контроль	-	62,7	
2.	(VI)	30,0	52,12	16,9
Лімфосаркома Пліса				
1.	Контроль	-	27,66	
2.	(VI)	50,0	6,83*	75,3**
Карцинома Герена				
1.	(VI)	25,0	6,3 ± 0,3	60,6*

Примітки: *- різниця порівняно з контролем достовірна; ** - загибель однієї тварини у дослідній групі

Таблиця 3

Специфічна протипухлинна активність молекулярних комплексів 1-3 в порівнянні з 5-фторурацилом на Лімфосаркомі Пліса та Саркомі 45.

Молекулярний комплекс, №	Доза, мг/кг	Середня вага пухлини, контроль, г	Середня вага пухлин, дослід, г	Гальмування росту пухлин, %	Індекс ефективності	Селезінковий коефіцієнт
Лімфосаркомі Пліса						
<i>Bacillus polytuxa</i> 102 KGU-N ₍₁₎ , N _(1') -(2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(6-метил-урацил) 1	24	13,9 ± 1,93	1,8 ± 0,09	62,0	2,67	0,71
<i>Bacillus subtilis</i> 668 IMV-N ₍₁₎ , N _(1') -(2"-бром-2"-хлор-етеніл)-біс-(5-фторурацил) 2	24	13,9 ± 1,93	1,8 ± 0,09	62,50	2,67	0,71
5-фторурацил				55		
Саркома 45						
<i>Bacillus polytuxa</i> 102 KGU-N ₍₁₎ , N _(1') - (2"-бром-2"-хлоретеніл)-біс-(5-бром-урацил) 3	35	13,9 ± 1,93	2,5 ± 1,3	82,01	5,56	0,71
5-фторурацил	35	13,9 ± 1,93	2,5 ± 1,3	18,4	-	-

Таким чином, значення токсичності сполук (VI, VII) вище, ніж значення токсичності їх молекулярних комплексів. Навпаки, токсичність сполуки (IV) нище, ніж токсичність її молекулярного комплексу. Отриманий протипухлинний ефект сполуки (VI) – значущий, вона має значну протипухлинну активність на моделях: Саркома 180 – 51,7%, Карцинома Герена – 60,6% та Лімфосаркома Пліса – 75,3%. Як показали досліді, молекулярні комплекси 1, 2 мають виражену здатність гальмувати експериментальний пухлинний рост (Лімфосаркома Пліса), а молекулярний комплекс 3 - гальмувати експериментальний пухлинний рост (Саркома 45), перевищуючі за протипухлинною дією у проведених дослідіх препарат порівняння – 5-фторурацил. Таким чином, нові синтезовані сполуки (IV, VI, VII) та їх молекулярні комплекси 1-3 мають виражену здатність гальмувати експериментальний пухлинний рост, що дозволяє розглядати їх як фізіологічно активні з перспективою подальшого вивчення за вимогами до потенційних протипухлинних засобів для лікування людини.

ЕКОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ

1. Вельчинская Е. В., Кузьменко И.И., Ильченко А.Я. Гетероциклические соединения с фармакофорной галогензамещенной группой I. 2-бром-1,1-дифтор-2-хлорэтилирование гетероциклических соединений с двумя гетероатомами // ХГС. – 1997, №7. – С. 967-971.
2. Герус И.И., Колычева М.Т., Ягупольский Ю.Л., Кухарь В.П. 1-Алкокси (арилокси)-1,1-дифтор-2-хлор-2-бромэтаны // Журн. орг. хим. - 1989.-Т. 25. - С. 2020-2021.
3. Коваленко Э.А. Внеклеточные лектины бактерий // Микробиол. журн. – 1990. – Т.52, № 3. - С. 92-99.
4. Подгорский В.С., Коваленко Э.А., Симоненко И.А. Лектины бактерий. – К.: Наук. думка, 1992. - 203 с.
5. Прозоровський В.Б., Прозоровський В.П., Демченко В.М. Експрес метод визначення середньої ефективності дози та її помилки. // Фармакол. и токсикол. - 1978.- Т. 41, № 4.- С. 407 - 509.
6. Радченко О.А., Прошакова Е.В., Ильченко А.Я. 2-Бром-1,1 –дифтор-2-хлорэтилирование ацетиленовых спиртов. // Журн. орг. хим. – 1991. – Т.27. – С. 2231-2232.
7. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний/Под ред. Н.И. Переводчиковой.2-ое изд. доп. - М.: Практическая медицина, 2005. - 704 с.
8. 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.
9. Ягупольский Л.М.// Ароматические и гетероциклические соединения с фторсодержащими заместителями. – Киев: Наукова думка, 1988. - С. 90-105.
10. Adjei A. A review of pharmacology and clinical activity of new chemotherapy agents for the treatment of colorectal cancer//Clin.Pharmacol. – 1999. -Vol. 48. P. 265-277.
11. Brody G.L., Sweet R.B. Halothane anesthesia as a possible cause of massive hepatic necrosis // Anesthesiology. – 1963. – Vol. 24. – P. 29-37.
12. Brown B.R., Sipes I.G. Biotransformation and hepatotoxicity of halothane.// Biochemical Pharmacology.- 1977.-Vol. 26.- P. 2091-2094.
13. Longey D.B., D.Paul Harkin, Patrick G. Jonson. 5-fluorouracil -mechanisms of action and clinical strategies. Nature Reviews//Cancer - 2003. – Vol. 3. – P. 330-338.
14. Noordhuis P., Holwerda U. et al. 5-fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidilate synthetase inhibition human colorectal cancer// Annals of oncology – 2004. – Vol.15. – P. 1025-1032.

O.V. Vel'chyns'ka, N.I. Sharykina, E.O. Kovalenko

O.O. Bogomolec national medical university, Ukraine, Kyiv

Institute of pharmacology and toxicology of AMS of Ukraine, Kyiv

D.K. Zabolotnyj institute of microbiology and virology NAS of Ukraine, Kyiv

SEARCH OF ANTITUMOUR MEDICAL DRUGS BY WAY OF CREATION OF NEW ANTI-METABOLITES OF PYRIMIDINES CHANGE – BIS-DERIVATIVES OF 5(6)-SUBSTITUTED URACILES AND THEIR MOLECULAR COMPLEXES WITH BACTERIAL LECTINS

A new convenient method for the preparation of heterocyclic bis-adducts of 5(6)-substituted uraciles with florotan (2-bromo-1,1,1-trifluoro-2-chloroethane) is described. The reactions are catalysed by the 18-crown-6-complex. The critical toxicity and antitumour activity of the new heterocyclic bis-adducts which synthesized, their molecular complexes with saprophytic strains *Bacillus* genus (*B. subtilis* 668 IMV and *B. polymyxa* 102 KGU) extracellular lectins were studied. It was discovered that these substances apply to a few toxic preparations and have an expression antitumour action on the tumours: Carcinosarcoma Gerena, Lymphosarcoma Plisa, Sarcoma 45 and Sarcoma 180. A strongly antitumour effect of the new molecular complex (*Bacillus polymyxa* 102KGU–N₍₁₎N_{(1)'}-(2"-bromo-2"-chloroethenyl)-bis-(5-bromouracile)) has been discovered: growth relaxation of Sarcoma 45 tumour mass was 82,01%.

Key words: bacterial lectins, uraciles, florotan, tumours

Рекомендує до друку

В.В. Грубінко

Надійшла 21.10.2007

ЗМІСТ

БОТАНІКА	3
Л.С. БАРНА КРЕМЕНЕЦЬКИЙ БОТАНІЧНИЙ САД – НАУКОВА ТА НАВЧАЛЬНА БАЗА ОСВІТНІХ ЗАКЛАДІВ ВОЛИНО-ПОДІЛЛЯ	3
І.В. ГОНЧАРЕНКО ВИДІЛЕННЯ ГЕОЕЛЕМЕНТІВ НА ОСНОВІ КІЛЬКІСНИХ КРИТЕРІЇВ	7
ЗООЛОГІЯ	16
М.Л. КУЗЬМОВИЧ НАЗЕМНИЙ МОЛЮСК БУРШТИНІВКА ЗВИЧАЙНА– <i>SUCCINEA PUTRIS</i> І ЙОГО ПАРАЗИТ <i>LEUCOSCHLORIDIUM PARADOXUM</i> (SPOROCYSTA) В ПАРКОВОМУ СЕРЕДОВИЩІ М. ТЕРНОПОЛЯ.....	16
ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН І ГЕНЕТИКА	21
І.Д. ГУМЕНІЮК, Н.П. ВЕДЕНІЧЕВА, Л.І. МУСАТЕНКО ЦИТОКІНИНИ В ОРГАНАХ <i>PERSICARIA AMPHIBIA</i> (L.) DELARBRE РІЗНИХ УМОВ ЗРОСТАННЯ.....	21
В.Г. КУР'ЯТА, Т.І. РОГАЧ ДІЯ ХЛОРМЕКВАТХЛОРИДУ НА ВИКОРИСТАННЯ РЕЗЕРВНИХ ЛІПІДІВ ПРИ ПРОРОСТАННІ НАСІННЯ СОНЯШНИКУ (<i>HELIANTHUS ANNUUS</i> L.).....	26
О. С.ПАВЛОВА АЛЕЛОПАТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КОРЕНЕВИХ ВИДЛЕНЬ ГАЗОННИХ ТРАВ... 31	
ФІЗІОЛОГІЯ ЛЮДИНИ І ТВАРИН	35
М.І. БОРИС, М.С. ГНАТЮК МОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА СТРУКТУРНОЇ ПЕРЕБУДОВИ ПЕЧІНКИ ДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ НАТРИЮ НІТРИТОМ	35
Ф.А. ПРИБИЧ, В.В. ГРУБІНКО ВМІСТ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕМОГЛОБІНІВ КОРОПА ЗА ДІЇ АМІАКУ ТА ІОНІВ ЦИНКУ І СВИНЦЮ	39
Л. Н. РИВЦЬКА, М. С. ГНАТЮК ІНФОРМАЦІЙНИЙ АНАЛІЗ СТРУКТУРНОЇ ПЕРЕБУДОВИ М'ЯЗОВОЇ ОБОЛОНКИ УРАЖЕНОЇ ТОВСТОЇ КИШКИ ПІД ВПЛИВОМ ОЛІГОПЕПТИДНИХ ЗАСОБІВ	44
ЗАГАЛЬНА БІОЛОГІЯ І ВАЛЕОЛОГІЯ	49
О.В. ГУЛЬКА ОЦІНКА ФІЗІОЛОГІЧНОЇ АДАПТАЦІЇ ОРГАНІЗМУ СТУДЕНТІВ- ПЕРШОКУРСНИКІВ ДО УМОВ НАВЧАННЯ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ВАРІАЦІЙНОГО РИТМУ СЕРЦЯ	49
В.П. СТЕФУРАК, Т.В. БАНДЯК, Л.Я. КОВАЛЕВИЧ, М.В. МАМЧУРА БІОЕКОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ СТАНУ ЗДОРОВ'Я ДІТЕЙ, ЯКІ ПРОЖИВАЮТЬ НА ТЕХНОГЕННО ТРАНСФОРМОВАНИХ ТЕРИТОРІЯХ ПРИКАРПАТТЯ.....	54
ЕКОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ	62
О.В. ВЕЛЬЧИНСЬКА, Н.І. ШАРИКІНА, Е.О. КОВАЛЕНКО ПОШУК ЗАСОБІВ ЛІКУВАННЯ ПУХЛИННОЇ ХВОРОБИ ШЛЯХОМ СТВОРЕННЯ НОВИХ АНТИМЕТАБОЛІТІВ ПІРИМІДИНОВОГО ОБМІНУ - БІС- ПОХІДНИХ 5(6)-ЗАМІЩЕНИХ УРАЦИЛІВ ТА ЇХ МОЛЕКУЛЯРНИХ КОМПЛЕКСІВ З БАКТЕРІЙНИМИ ЛЕКТИНАМИ	62
Н.М.КОРНІЙЧУК ФІТОМІКРОЕПІЛІТОН АНТРОПОГЕННО ЗМІНЕНИХ ТА ПРИРОДНИХ ДІЛЯНОК РІЧКИ ГНИЛОП'ЯТЬ.	69