

ОДЕРЖАННЯ НОВОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ХІМІКО-БІОЛОГІЧНОГО АДДУКТУ 1,1-БІС-[5-БРОМОПІРИМІДИН-2',4'-ДІОН-1'-ІЛ]-2-БРОМО-2'-ХЛОРОЕТИЛЕНУ ТА БАКТЕРІЙНОГО ЛЕКТИНУ, ВИВЧЕННЯ ЙОГО АКТИВНОСТІ НА САРКОМІ 45

Ключові слова: 5-бромоурацил, протипухлинна активність, фторотан, бактерійний лектин

Ліки, які відносять до гетероциклічних систем, вважають найефективнішими протипухлинними лікарськими засобами [1–5]. Одним з перспективних шляхів пошуку засобів лікування пухлинної хвороби є створення нових антиметаболітів піримідинового обміну, здатних впливати на структуру та функції нуклеїнових кислот та малих активних молекул. Наявність цих речовин в організмі людини і зумовила актуальність дослідження їх ролі у фізіології макроорганізму [6–9]. Пошуки шляхів елімінації пухлинних клітин із множинною лікарською стійкістю продовжуються.

Завданням нашої роботи було одержання нового хіміко-біологічного аддукту на основі 1,1-біс-[5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилену та протипухлинного бактерійного лектину *Bacillus polymyxa*, вивчення параметрів його гострої токсичності (ЛД₅₀) порівняно із параметрами токсичності гетероциклічної та лектинової компоненти аддукту, дослідження його протипухлинної активності на Саркомі 45, індексу ефективності та селезінкового ефекту.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження був хіміко-біологічний аддукт 1,1-біс-[5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилену (біс-похідне 5-бромоурацилу) та бактерійного лектину *Bacillus polymyxa* 102 KGU з Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України (далі лектин 102). Хіміко-біологічний аддукт одержували механічним перемішуванням двох компонентів у співвідношенні 1:1 у фізіологічному розчині. Основні серії експериментальних досліджень здійснювали на дорослих білих нелінійних мишах-самцях (маса тіла $17,0 \pm 2,0$ г та $22,0 \pm 2,0$ г) та щурах-самцях (маса тіла $160,0 \pm 20,0$ г), яких утримували у віварії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Утримання та досліди на тваринах виконували відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). Визначення протипухлинної активності здійснено згідно з рекомендаціями Державного Експертного центру МОЗ України на моделі експериментального пухлинного росту – Саркомі 45. Шлях введення розчинів – внутрішньоочеревинний. Загальноприйнятим критерієм значення для речовин з протипухлинною активністю вважали відсоток гальмування росту пухлини – понад 50% [10, 11]. Кров та пухлина дослідного щура-пухлиноносія були відібрані через 30 хв після введення сполук в терапевтичній дозі [9, 10]. Препарат порівняння – 5-фторурацил (5-ФУ).

Статистичну обробку виконували по В. Б. Прозоровському та ін. [11].

1,1-Біс-[5'-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилен. 20 мл сухого бензену за температури 60 °С перемішують із 0,25 г (0,0044 моль) калій гідроксиду і

0,025 г ДБ-18-краун-6 (близько 15 хв) до утворення на стінках хімічного реактора білого нальоту. Одержану суміш охолоджують до кімнатної температури, до неї додають по краплям розчин 0,87 г (0,0044 моль) фторотану в 20 мл сухого етеру. Додають 1,67 г (0,0088 моль) 5-бромоурацилу, перемішують за температури 80–90 °С протягом 12 год. Синтезовану сполуку – кристалічний порошок кремового забарвлення – промивають 30 мл метилового спирта, 10 мл етилового етеру, висушують у вакуумі водострунного насосу. $T_{пл}$ з осмоленням 270 – 275 °С, вихід – 30% (3,69 г).

Результати дослідження та обговорення

За розробленим автором методом синтезу одержано новий 1,1-*bis*-[5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилен з фармакофорною групою C=СBrCl, який синтезовано за взаємодії 5-бромоурацилу із 2-бромо-1,1,1-трифлуоро-2-хлороетаном (фторотаном) у молярному співвідношенні реагентів 2:1, в системі розчинників диметилформамід–бензен в умовах міжфазного каталізу ДБ-18-краун-6 в лужному середовищі. Хімічну будову сполуки наведено на рисунку.

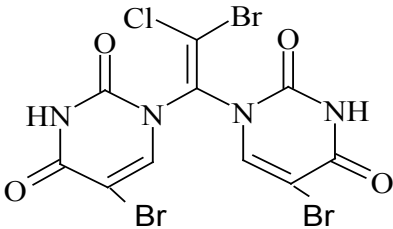


Рис. Хімічна будова 1,1-*bis*-[5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилен

Дані елементного аналізу синтезованого *bis*-похідного 5-бромоурацилу відповідають обчисленим значенням. Віднесення сигналів в ІЧ- та ¹Н-ЯМР-спектрах сполуки наведено в табл. 1.

Т а б л и ц я 1

Елементний аналіз та спектральні характеристики *bis*-похідного 5-бромоурацилу

Сполука	Знайдено, N, %	Брутто-формула, М. м.	Обчислено, N, %	ІЧ-спектр: KBr, см ⁻¹	Спектр ¹ Н-ЯМР: ДМСО- <i>d</i> ₆ , ТМС, δ, м. ч., J, Гц
<i>bis</i> -похідне 5-бромоурацилу	10,75	C ₁₀ H ₄ Br ₃ ClN ₄ O ₄ , 519,33	10,78	550–695 (C–Br); 1710, 1750(C=O)	4,04 (2H, с., 2N ₍₃₎ H in H ₂ O); 7,66 (2H, с., 2C ₍₆₎ H)

В ІЧ-спектрах синтезованого *bis*-похідного 5-бромоурацилу ідентифіковано сигнали валентних коливань зв'язків C–Hal за 550–695 см⁻¹ інтенсивні сигнали карбонільних груп νC=O за 1710, 1750 см⁻¹. Співвідношення інтегральних інтенсивностей сигналів в ¹Н-ЯМР-спектрах *bis*-похідного 5-бромоурацилу підтверджує відсутність протону при атомі N⁽¹⁾ молекул урацилу, наявність протонів в положенні –C⁽⁶⁾H фрагментів урацилу в області δ 7,66 м. ч. та протонів в положенні N⁽³⁾H гетероциклічних ядер за δ 4,04 м. ч., які частково знаходяться в дейтерообміні.

Одержані параметри токсичності хіміко-біологічного аддукту 1,1-*bis*-[5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилену та лектину 102, а також гетероциклічної та лектинової компоненти аддукту свідчать, що за показниками середньотоксичних доз сполуки належать до малотоксичних. Значення їх ЛД₅₀ коливаються в межах від 635 мг/кг до 248 мг/кг (табл. 2).

Параметри токсичності сполук порівняно з 5-фторурацилом

Сполука	ЛД ₅₀ , мг/кг
Лектинова компонента аддукту: лектин 102	248
Гетероциклічна компонента аддукту: 1,1- <i>bis</i> -[5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилен	415
Хіміко-біологічний аддукт 1,1- <i>bis</i> -[5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилену та лектину 102	635
5-Фторурацил (препарат порівняння)	375

Вивчення протипухлинної активності на Саркомі 45 виявило виражений ефект препарату 1,1-*bis*-[5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилену та лектину 102 (82,0%) у дозі 35 мг/кг, водночас гальмування росту пухлини за дії препарату порівняння 5-фторурацилу – 18,4%. Здатність гальмувати експериментальний пухлинний ріст Саркоми 45 аддукту перевищує за протипухлинною дією препарат порівняння 5-фторурацил у 4,46 раз. Індекс ефективності досліджуваного аддукту на Саркомі 45 дорівнював 5,56. Що стосується селезінкового ефекту, то вищезазначений показник у тварин-носіїв пухлин знаходився в межах 0,71–0,77. Це пояснює відносно м'яку дію зазначених препаратів на систему кровотворення в умовно-лікувальних дозах. В цілому, пошук протипухлинних засобів на основі комбінацій ряду гетероциклічних сполук з бактерійними лектинами слід вважати перспективним новим напрямом, розвиток якого передбачає можливість одержання нових ліків з вираженою протипухлинною дією.

В и с н о в к и

1. З метою одержання нових потенційних протипухлинних засобів створено оригінальний хіміко-біологічний аддукт на основі 1,1-*bis*-[5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилену та лектину *Bacillus polymyxa*.

2. Хіміко-біологічний аддукт *bis*-похідного піримідину та лектину є малотоксичним (ЛД₅₀ = 635 мг/кг), проявляє значущий протипухлинний ефект на Саркомі 45 із гальмуванням пухлинного росту 82,0%.

3. Одержані результати свідчать, що новий хіміко-біологічний аддукт є перспективним для подальшого вивчення як малотоксична речовина з високою протипухлинною активністю на Саркомі 45.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Карацуба Т. А., Шарикіна Н. І., Щеглов В. І. та ін. Сучасні можливості лікарської дії на ріст та процеси метастазування злоякісних пухлин // Ліки. – 2002. – Т. 2, № 3–6. – С. 32–37.
2. Карацуба Т. А., Шарикіна Н. І., Щеглов В. І. та ін. Сучасні можливості впливу фармакотерапії на ріст та процеси метастазування злоякісних пухлин // Там само. – 2002. – Т. 1, № 3–4. – С. 3–6.
3. Кудрявцева І. Г., Шарикіна Н. І. Сучасний стан пошуку і вивчення ФАР з протипухлинною дією серед похідних кислоти фосфору // Там само. – 2004. – № 1–2. – С. 31–40.
4. Aschele C., Debermardis D. et al. Thymidilate synthase protein expression in colorectal cancer metastases predicts for clinical outcome to leucovorinmodulated lobus or infusional 5-fluorouracil but not methotrexate – modulates lobus 5-fluorouracil // Ann. Oncol. – 2002. – V. 13. – P. 1882–1892.
5. Twelves C., Boyer M., Findlay M. et al. Capecitabine (Xeloda) improves medical resource use compared with 5-fluorouracil plus leucovorin in a phase III trial conducted in patients with advanced colorectal carcinoma // Eur. J. Cancer. – 2001. – V. 37. – P. 597–604.

6. Baba H., Kohnoe S., Endo K. (Eds.) State of the treatment for gastrointestinal cancer // Gan To Kagaku Ryoho. – 2000. – V. 27. – P. 1233–1246.
7. Клецкий М. Е., Цупак Е. Б., Назаров Д. А. Структура и реакционная способность производных урацила // ХГС. – 2002. – № 8. – С. 1106–1108.
8. Noordhuis P., Holwerda U. 5-fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidilate synthetase inhibition human colorectal cancer // Ann. Oncol. – 2004. – V. 15. – P. 1025–1032.
9. Longley D. B., Harkin D. P. Mechanisms of action of 5-fluorouracil // Nat. Rev. Cancer. – 2004. – V. 4. – P. 230–238.
10. Софьина З. П., Сыркин А. Б., Голдин А., Кляйн А. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. – М.: Медицина, 1979. – 296 с.
11. Прозоровский В. Б., Прозоровский В. П., Демченко В. М. Экспресс метод определения средней эффективности дозы и ее ошибки // Фармакол. токсикол. – 1978. – Т. 41, № 4. – С. 407–509.

Надійшла до редакції 28. 10. 2014.

Е. В. Вельчинская

Національний медичний університет імені А. А. Богомольця, г. Київ

ПОЛУЧЕНИЕ НОВОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АДДУКТА 1,1-БИС-[5-БРОМОПИРИМИДИН-2',4'-ДИОН-1'-ИЛ]-2-БРОМО-2'-ХЛОРОЭТИЛЕНА И БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛЕКТИНА, ИЗУЧЕНИЕ ЕГО АКТИВНОСТИ НА САРКОМЕ 45

Ключевые слова: 5-бромораурил, противоопухолевая активность, фторотан, бактериальный лектин

АННОТАЦИЯ

С целью получения новых потенциальных противоопухолевых средств разработан метод синтеза нового бис-производного 5-бромораурила, создан оригинальный химико-биологический аддукт на основе 1,1-бис-[5-бромопиримидин-2',4'-дион-1'-ил]-2-бromo-2'-хлороэтилена и противоопухолевого бактериального лектина *Bacillus polymyx*.

Объектом исследования было новое бис-производное 5-бромораурила, синтезированное на основе замещенного пиримидина и фторотана. Исследование острой токсичности нового соединения проведено в ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины». Лектиновые препараты получены обработкой культуральной жидкости сапрофитных штаммов *Bacillus* из Украинской коллекции микроорганизмов Института микробиологии и вирусологии имени Д. К. Заболотного НАН Украины. Белые нелинейные мыши и экспериментальные модели опухолевого роста – опухоли Саркома 45 – использованы согласно описанным процедурам по Прозоровскому. Экспериментальные опухоли, используемые для исследований, получали из Банка штаммов онкологического центра Российской академии медицинских наук. Молекулярный комплекс бис-аддукта и бактериального лектина получен перемешиванием двух компонентов в физиологическом растворе в соотношении 1:1.

Установлено, что химико-биологический аддукт бис-производного 5-бромораурила и бактериального лектина является матотоксичным ($LD_{50} = 635$ мг/кг) и проявляет значительный противоопухолевый эффект на Саркоме 45 (процент торможения опухолевого роста – 82,0). Это свидетельствует о том, что новый химико-биологический аддукт является перспективным для дальнейшего изучения как малотоксичное вещество с высокой противоопухолевой активностью на Саркоме 45.

Противоопухолевая активность молекулярного комплекса бис-производного 5-бромораурила и *Bacillus polymyx* 102 KGU подтверждает, что вещество является перспективным для дальнейших исследований как потенциальный противоопухолевый препарат для лечения людей в будущем. Конструирование принципиально новых медицинских препаратов на основе сапрофитных культур бактериальных лектинов и гетероциклических бис-аддуктов является весьма перспективным.

NEW PREPARATION'S OBTAINING ON THE BASE OF THE CHEMICAL-BIOLOGICAL ADDUCT OF *BIS*-[5-BROMOPYRIMIDINE-2',4'-DIONO-1'-IL]-2-BROMO-2'-CHLOROETHYLENE AND BACTERIAL LECTIN, INVESTIGATION OF ITS ACTIVITY ON SARCOMA 45

Key words: 5-bromouracile, antitumour activity, halothane, bacterial lectin

ABSTRACT

With a purpose of new potential antitumour preparation's obtaining method of synthesis of new *bis*-derivative of 5-bromouracile was developed, the chemical-biological adduct on the base of 1,1-*bis*-[5-bromopyrimidine-2',4'-diono-1'-il]-2-bromo-2'-chloroethylene and antitumour bacterial lectin *Bacillus polymyxa* was produced.

Object of investigation is a new *bis*-derivative of 5-bromouracile which synthesised on the base of substituted pyrimidine and halothane. Investigation of critical toxicity of new compound was carried out at SO «Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine». The lectin's preparations were obtained by treatment of culture Liquid of saprophytic strain *Bacillus* from Ukrainian Collection of Microorganisms of Zabolotnyi Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine. The white imbredical mice and experimental model of tumor growth – cancer Sarcoma 45, were used following published procedures in Prozorovskiy. The experimental tumor used for our investigation were obtained from Strain Bank of Oncological Centre of Russian Academy of Medical Sciences. Molecular complex of *bis*-adduct and bacterial lectin was obtained by mixing two components at physiological solution, 1:1.

It was discovered that chemical-biological adduct of *bis*-derivative of 5-bromouracile and bacterial lectin applies to a little toxic preparation ($LD_{50} = 635$ mg/kg) and demonstrates considerable antitumour effect upon to 82,0% on Sarcoma 45 tumour. It confirms that new chemical-biological adduct is perspective for the future investigation as substance with a little toxicity and high antitumour activity on the Sarcoma 45.

Anti-tumor activity of molecular complexe of *bis*-derivative of 5-bromouracile and *Bacillus polymyxa* 102 KGU permits us to consider it as physiological active with a perspective investigation as a potential antitumor drug for future treatment in people. The construction of the principle of new medical preparations on the basis of the saprophytic strains bacterial lectins and heterocyclic *bis*-adducts is very possible.

Електронна адреса для листування з авторами: elena_www@ukr.net