

ПОИСК ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СРЕДСТВ СРЕДИ НОВЫХ ПРЕФОРМИРОВАННЫХ ГЕТЕРОЦИКЛОВ

Е. В. Вельчинская

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца

Поступила в редакцию: 13.06.2013

Аннотация. В условиях межфазного катализа дибензо-18-краун-6-эфиром синтезированы новые бис-производные урацилов. Созданы молекулярные комплексы на основе синтезированных бис-производных урацилов и бактериальных лектинов: *Bacillus subtilis* 668 IMV и *Bacillus polymyxa* 102 KGU. Определение одного из основных фармакологических индексов бис-производных и их молекулярных комплексов – острой токсичности показало, что бис-производные урацилов и их молекулярные комплексы относятся к малотоксичным соединениям: значения их ЛД₅₀ от 635 до 125 мг/кг. Ближайшим аналогом синтезированных бис-производных урацилов является противоопухолевый препарат 5-фторурацил, что позволяет рассматривать их и соответствующие молекулярные комплексы с бактериальными лектинами как физиологически активные соединения с перспективой дальнейшего изучения согласно требований к потенциальным противоопухолевым препаратам для лечения человека.

Ключевые слова: фторотан, 5-фторурацил, токсичность, противоопухолевая активность.

Abstract: Under phase-transfer conditions in alkaline medium catalysed by the 18-crown-6-complex new bis-adducts of uraciles were synthesised. New their molecular complexes with bacterial lectines: *Bacillus subtilis* 668 IMV и *Bacillus polymyxa* 102 KGU were obtained. The main pharmacological index of the bis-adducts and their molecular complexes – toxicity were obtained. These investigations shown that bis-adducts and their molecular complexes has a not high level of toxicity - LD₅₀ are from 635 to 125 mg/kg. The nearest analogical compound of the bis-adducts which synthesized are antitumour preparation 5-fluorouracile. Therefore the bis-adducts and their molecular complexes are potential phisiological active compounds has a perspective future as potential antitumour preparations for medicines.

Key words: halothane, 5-fluorouracile, toxicity, antitumoure activity.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из перспективных путей поиска средств лечения раковых заболеваний является создание новых антиметаболитов пуринового и пиримидинового ряда, способных воздействовать на структуру и функции нуклеиновых кислот, малых активных молекул [1-5]. Известно, что раковые клетки используют молекулы урацила активнее, чем нормальные клетки. Молекулы 5(6)-фтор(галоген)замещенных урацилов способны выполнять роль галогенсодержащих синтонов в органическом синтезе, фтор(галоген)содержащие заместители повышают растворимость гетероциклических молекул в липидах и делают лекарственные препараты более эффективными, поэтому их активно используют для создания новых оригинальных биологически активных молекул [2, 3, 6-8]. Метод получения новых производных

гетероциклов в условиях межфазного катализа, описанный в данной работе, позволяет определить новую стратегию для синтеза селективно полифункциональных молекул с ранее не описанными в литературе фармакофорами.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Целью данной работы является получение преформированных пиримидинов, изучение их химических и физико-химических характеристик, конструирование их молекулярных комплексов с противоопухолевыми бактериальными лектинами, изучение их биологических свойств. Объектами исследований были: новые производные урацилов, синтезированные на основе 5(6)-замещенных урацилов и фторотана; бактериальные лектины сапрофитных штаммов *Bacillus subtilis* 668 IMV и *Bacillus polymyxa* 102 KDU (далее лектин 668 и лектин 102); молекулярные комплексы

гетероциклов и лектинов. Индивидуальность синтезированных соединений контролировали методом тонкослойной хроматографии на пластинах Silufol-254 в системе растворителей ацетонитрил-гексан 2:1. ИК-спектры записывали на спектрофотометре UR-20 ("Charles Ceise Hena", Germany). ГЖХ проводили на газожидкостном хроматографе "Perkin Elmer" с УФ-детектором ("Perkin", Germany). Спектры ^1H ЯМР записывали на приборах "Bruker WP-200" ("Bruker", Switzerland), "Varian T-60" ("Varian", USA) с рабочей частотой 200-132 МГц в DMSO-d_6 с использованием тетраметилсилана в качестве внутреннего стандарта. $N_{(1)}, N_{(1')}$ -(2-бром-2-хлорэтилен)-бис-(урацил) (III). *Приготовление раствора №1.* 0.25 г калий гидроксида (0.0044 моль), 0.025 г дибензо-18-краун-6-эфира в 20 мл сухого бензола перемешивали при температуре 60°C около 15 мин до образования на стенках химического реактора белого полимерного налета (калиевого комплекса с дибензо-18-краун-6-эфиром). Полученный раствор охлаждали до комнатной температуры, добавляли к нему каплями раствор 0.87 г (0.0044 моль) фторотана (I) в 20 мл сухого эфира. *Приготовление раствора №2.* 1.0 г (0.0089 моль) урацила растворяли в 40 мл сухого диметилформамида при температуре 60°C. Горячий раствор №2 прикапывали через делительную воронку к раствору №1, перемешивали при температуре 60–80°C 1 час, фильтровали, охлаждали, отгоняли растворители. Остаток – осадок промывали 30 мл смеси диэтиловый эфир – гексан (1:1), сушили в вакууме водоструйного насоса. Аналогично синтезировали соединения IV–VIII. Для создания молекулярных комплексов на основе синтезированных соединений и бактериальных лектинов были отобраны наиболее активные продуценты внеклеточных лектинов: сапрофитные культуры *Bacillus subtilis* 668 IMV и *Bacillus polymyxa* 102 KGU из Украинской коллекции микроорганизмов ИМВ НАНУ. Культивирование бактерий проводили в модифицированной среде Гаузе, лектины получали из культуральной жидкости, как описано ранее [8]. Молекулярные комплексы бис-производных гетероциклов с бактериальными лектинами получали простым механическим перемешиванием компонентов в физиологическом растворе в соотношении 1:1. Для определения среднетоксичной дозы LD_{50} синтезированных соединений, бактериальных лектинов и их молекулярных комплексов использовали экспресс-метод В.Б. Прозоровского [7]. Исследования проводили на белых нелиней-

ных мышках-самцах массой тела 22.0 ± 2.0 г; путь введения растворов – подкожный.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По новому, разработанному нами методу синтеза, взаимодействием фторотана в качестве фторсодержащего синтона и 5(6)-замещенных урацилов в молярном соотношении 1:2, в системе растворителей (бензол-диметилформамид-диэтиловый эфир) в условиях межфазного катализа дибензо-18-краун-6-эфиром в щелочной среде синтезированы новые бис-производные урацилов с фармакофорной группой $=\text{C}=\text{CBrCl}$, (III – VIII) (схема 1).

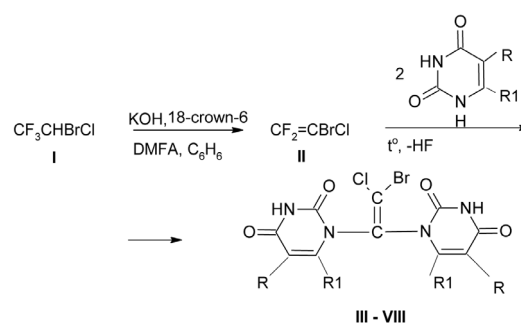


Схема 1. Синтез бис-производных III-VIII. Обозначения: R= R1 = H (III); R= H, R1 = CH_3 (IV); R = CH_3 , R1 = H (V); R= F, R1 = H (VI); R= Br, R1 = H (VII); R= NO_2 , R1 = H (VIII)

Для дальнейших исследований биологических свойств новых соединений отобраны бис-производные 5-метилурацила (IV), 5-фторурацила (VI) и 5-бромурасила (VII). Определение одного из главных фармакологических индексов новых бис-производных – острой токсичности показало, что соединения IV и VII относятся к малотоксичным: значения LD_{50} их 515 мг/кг и 415 мг/кг, соответственно. Соединение VI относится также к малотоксичным (LD_{50} 125 мг/кг), что превышает токсичность соединений IV и VII в 4.12 и 3.32 раза, соответственно. Поскольку структурные аналоги синтезированных соединений в литературе не описаны, препаратом сравнения был известный противоопухолевый препарат 5-фторурацил (среднетоксичная доза 372 мг/кг). При введении вышеуказанных химических веществ у подопытных животных наблюдались тонические и клонико-тонические судороги в течении 1-2 часов, рвота, после 3-5 часов – тремор. Препараты бактериальных лектинов проявили более высокую токсичность в сравнении с соединениями IV и VII; и за показателями среднетоксичной

дозы они относятся к умереннотоксичным (лектин **668**, ЛД₅₀ 89мг/кг) и малотоксичным (лектин **102**, ЛД₅₀ 200мг/кг) (табл.1). При изучении клинической картины влияния лектинов в токсичных дозах на организм животных отмечались тонические и клонические судороги, парез задних конечностей.

Молекулярные комплексы гетероциклических бис-производных с бактериальными лек-

тинами относятся к малотоксичным: значения их ЛД₅₀ находятся между 635 и 137 мг/кг. Так, при объединении более токсичных веществ (**VI** и лектин 668) токсичность их молекулярного комплекса несколько (в 1,06 раза) уменьшалась, а у комплексов с менее токсичными компонентами ЛД₅₀ или возрастала (в 1,28 раза для **IV**+лектин 102), или понижалась (в 2,07 раза для **VII** + лектин 102).

Таблица 1.

Параметры токсичности гетероциклических бис-производных, бактериальных лектинов и молекулярных комплексов

№ п/п	Бис-производное	ЛД ₅₀ , мг/кг	Бактериальный лектин	ЛД ₅₀ , мг/кг	Молекулярный комплекс	ЛД ₅₀ , мг/кг
1.	IV	515	Лектин 102	248	IV +лектин 102	335
2.	VI	125	Лектин 668	89	IV +лектин 668	137
3.	VII	415	Лектин 102	248	VII +лектин 102	635
4.	5-фторурацил	375				

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, близость химического строения синтезированных бис-производных урацилов и противоопухолевого препарата 5-фторурацила позволяет рассматривать эти соединения и их молекулярные комплексы с бактериальными лектинами (которые проявляют выраженную противоопухолевую активность) в качестве потенциальных лекарственных противоопухолевых препаратов и открывает новые перспективы для дальнейших работ в направлении онкофармакологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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.
2. Голубев В.А. Селективное электрофильное замещение по положению 5 молекул незамещенных урацилов / В.А. Голубев, А.Н. Розенберг // Известия АН СССР. Серия «химия». — 1984. — № 8. — С. 18-23.
3. Герус И.И. 1-Алкокси (арилокси)-1,1-дифтор-2-хлор-2-бромэтаны / И.И. Герус [и др.]

// Журнал органической химии. — 1989. — Т. 25. — Вып. 9. — С. 2020-2021.

4. Коваленко Э.А. Поиск продуцентов лектинов среди некоторых видов дрожжей / Э.А. Коваленко [и др.] // Мікробіологічний журнал. — 2001. — Т.63, № 5. — С. 44-48.

5. Noordhuis P. /5-fluorouracil incorporation info RNA and DNA in relation to thymidilate synthetase inhibition human colorectal cancer / P. Noordhuis, U. Holwerda // Annals. of oncol. — 2004. – Vol. 15. — P. 1025-1032.

6. Подгорский В.С. Бактериальные лектины / В.С. Подгорский [и др.]. — Киев: Наукова думка, 1992. — 203 с.

7. Прозоровский В.Б. Экспресс метод определения средней эффективности дозы и ее ошибки / В.Б. Прозоровский, В.П. Прозоровский, В.М. Демченко // Фармакология и токсикология. — 1978. — Т. 41, № 4. — С. 407-509.

8. Соединения фтора. Синтез и применение / [Под ред. Н. Исикава]. — М.: Мир, 1990. — С. 183-200.

Вельчинская Елена Васильевна — доктор фармацевтических наук, доцент кафедры биоорганической, биологической и фармацевтической химии, Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца; e-mail: elena_wwu@ukr.net

Welchinskaya Elena V. — PhD, Dsci., associate professor, Department of bioorganic, biological and pharmaceutical chemistry, A.A. Bogomolet's National medical university; e-mail: elena_wwu@ukr.net