

ПРОТИПУХЛИННА АКТИВНІСТЬ ХІМІКО-БІОЛОГІЧНИХ АДДУКТІВ 1,1-БІС-[МЕТИЛПІРИМІДИН-2',4'-ДІОН-1'-ІЛ]-2-БРОМО-2'- ХЛОРОЕТИЛЕНІВ

Дослідження антиметаболітів піримідинового обміну, які відіграють роль преформованих сполук у низці біосинтетичних процесів та гальмують пухлинний ріст, є найбільш успішним напрямком пошуку нових протипухлинних засобів. З метою отримання нових потенційних протипухлинних засобів створено хіміко-біологічні аддукти на основі 1,1-біс-[5(6)-метилпіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетиленів та бактерійного лектину *Bacillus polytuxa*. Встановлено, що хіміко-біологічні аддукти біс-похідних піримідинів та бактерійного лектину є малотоксичними (LD_{50} від 338 до 335 мг/кг) та проявляють значущий протипухлинний ефект до 62,8 % на Лімфосаркомі Пліса. Це свідчить про те, що нові хіміко-біологічні аддукти перспективні для подальшого вивчення як малотоксичні речовини з високою протипухлинною активністю.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: піримідин, 5(6)-метилурацил, протипухлинна активність, бактерійний лектин.

ВСТУП. Хіміко-біологічні аддукти з прогнозованою біологічною активністю, що утворюються на основі біологічних структур – бактерійних лектинів та гетероциклічної компоненти, не описано в літературі. В арсеналі протипухлинних засобів значне місце займають ліки, що належать до гетероциклічних систем (рак шлунково-кишкового тракту та ін.) [7–10]. Пошук, вивчення та клінічне використання таких сполук у клінічній практиці досі не втрачають своєї інтенсивності. Протипухлинна активність бактерійних лектинів та їх вузька вуглеводна специфічність дозволяють застосовувати їх як базисні речовини для конструювання медико-біологічних препаратів направленої дії. У попередніх дослідженнях було показано, що бактерійні лектини означених штамів бацил проявляють виражений та вибірковий протипухлинний ефект відносно пухлин різного виду [4]. Тому певний інтерес становили створення та дослідження біологічної активності, а саме протипухлинної активності хіміко-біологічних аддуктів синтезованих гетероциклічних біс-похідних з бактерійним лектином **102**.

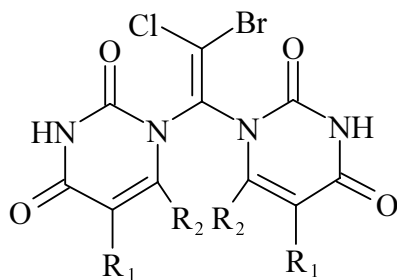
Мета роботи полягала у створенні та вивченні протипухлинної дії нових препаратів хіміко-біологічної будови з протипухлинною дією на основі 1,1-біс-[5(6)-метилпіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетиленів та

бактерійного лектину *Bacillus polytuxa*, який проявляє протипухлинну активність на коліштамів експериментальних пухлин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами дослідження були нові біс-похідні – 1,1-біс-[5(6)-метилпіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилені, синтезовані на основі 5- або 6-метилурацилу та фторотану. Для створення хіміко-біологічних аддуктів 1,1-біс-[5(6)-метилпіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетиленів з бактерійним лектином відібрали найбільш активний продуцент позаклітинних лектинів – бактерійний лектин сапрофітного штаму *Bacillus polytuxa* **102** КГУ з Української колекції мікроорганізмів ІМВ НАНУ (лектин **102**). Сапрофітну культуру *Bacillus polytuxa* **102** КГУ було ізольовано з ґрунту [4]. Основні серії експериментальних досліджень виконано на дорослих білих нелінійних мишах-самцях (маса тіла – $(17,0 \pm 2,0)$ 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”. Утримували тварин та проводили досліди на них відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Результати дослідів обраховували в альтернативній формі на 14 добу після введення. Статистичну обробку проводили за В. Б. Прозоровським та ін. [6].

Оскільки структурних аналогів синтезованих сполук у літературі не описано, препаратом порівняння був відомий протипухлинний лікарський засіб 5-фторурацил (5-ФУ). Кров та пухлину піддослідного щура-пухлиноносія відібрано через 30 хв після введення сполук у терапевтичній дозі. З крові одержано сироватку шляхом центрифугування, а подрібнену пухлину екстрагували ізоаміловим спиртом та ізотонічним розчином (центрифугування суспензії протягом 40 хв при 8000 об./хв).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За розробленим автором методом синтезу отримано нові 1,1-біс-[5(6)-метилпіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бromo-2'-хлороетилені з фармакофорною групою C=CBrCl, які синтезовано при взаємодії 5(6)-метилурацилів з 2-бromo-1,1,1-трифлуоро-2-хлороетаном (фторотаном) у молярному співвідношенні реагентів 2:1, в системі розчинників (ДМФА–бензен) за умов міжфазного каталізу ДБ-18-краун-6 у лужному середовищі. У літературі описано синтез галогенопохідних аліфатичних сполук з використанням міжфазного каталізу та коло хімічних перетворень молекул урацилу [1, 3]. Однак метод синтезу нових галогенопохідних піримідинів, які синтезовано при міжфазному каталізі, раніше в літературі не було описано. З використанням вищенаведеної методики синтезовано 1,1-біс-[піримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бromo-2'-хлороетилені, для яких характерне розташування метил-радикала в 5-му або 6-му положенні молекул вихідних урацилів, **I, II** (схема).

**I, II**

де $R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{H}$ (**I**); $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{CH}_3$ (**II**)
Схема.

Синтезовані біс-похідні **I, II** було використано для створення хіміко-біологічних аддуктів з бактерійним лектином **102** як найбільш активним продуцентом позаклітинних лектинів. Хіміко-біологічні аддукти **III, IV**: лектин – гете-

роциклічне біс-похідне **I, II** отримували шляхом простого механічного перемішування двох компонентів у співвідношенні 1:1 у фізіологічному розчині (табл. 1).

Встановлено, що хіміко-біологічні аддукти **III, IV**: лектин **102** – гетероциклічне біс-похідне **I, II** належать до малотоксичних речовин (LD_{50} між 338 та 335 мг/кг). Значення LD_{50} лектину **102** дорівнює 248 мг/кг. Піддослідні тварини – білі нелінійні миші-самці, маса тіла становить ($17,0 \pm 2,0$) та ($22,0 \pm 2,0$) г. Препарат порівняння – 5-ФУ (LD_{50} 375 мг/кг).

При аналізі значень LD_{50} лектину **102** та його хіміко-біологічних аддуктів **III, IV** виявлено такі закономірності:

- хіміко-біологічні аддукти з лектином **102** **III, IV** менш токсичні, ніж лектин **102**;

- в аддуктів з менш токсичними гетероциклічними компонентами зростала їх токсичність (значення LD_{50} змінювалися в 1,46–1,5 раза);

- розташування метил-радикала в 5-му або 6-му положенні молекул вихідних урацилів **I, II** не впливає на токсичність відповідних аддуктів **III, IV** (табл. 2).

Певний інтерес становило дослідження протипухлинної активності аддуктів **III, IV**. Препаратом порівняння був 5-ФУ [2, 5]. 5-ФУ є найближчим аналогом за типом дії (прототип) сполук **I, II**, на основі яких створено аддукти **III, IV**. Для порівняння протипухлинної дії аддуктів **III, IV** та 5-ФУ було відмічено параметр протипухлинної дії останнього – гальмування росту Лімфосаркоми Пліса (55 %) [2]. Прийнятий критерій значущості для речовини з протипухлинною активністю – гальмування росту пухлини (понад 50 %). Кількість тварин у досліді – 6. Протипухлинну активність отриманих аддуктів **III, IV** оцінювали за такими показниками, як відсоток гальмування росту пухлини, відсоток загибелі піддослідних тварин.

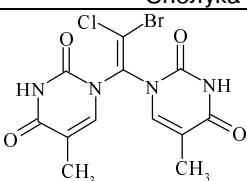
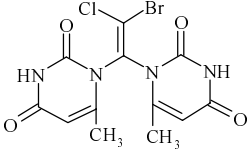
Дослідження щодо специфічної протипухлинної активності аддуктів **III, IV** проведено на моделі експериментального пухлинного росту – Лімфосаркома Пліса в дозах 20 і 24,0 мг/кг (табл. 3).

Виразений протипухлинний ефект з високим відсотком гальмування росту пухлини зареєстровано на Лімфосаркомі Пліса для хіміко-біологічних аддуктів: лектину **102** – біс-похідного 5-метилурацилу **III** (гальмування рос-

Таблиця 1 – Аддукти **III, IV**: лектин **102** – гетероциклічне біс-похідне **I, II**

№ аддукту	Склад аддукту
III	лектин 102 – 1,1-біс-[5'-метилпіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бromo-2'-хлороетилен (I)
IV	лектин 102 – 1,1-біс-[6'-метилпіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бromo-2'-хлороетилен (II)

Таблиця 2 – Параметри гострої токсичності речовин (I, II, III, IV), лектину 102

Сполука	ЛД ₅₀ , мг/кг	Хіміко-біологічний аддукт	ЛД ₅₀ , мг/кг
 I лектин 102	515	III (I+лектин 102)	5
 II лектин 102	495	IV (II+лектин 102)	8

Таблиця 3 – Протипухлинна активність лектину 102, аддуктів III, IV

Хіміко-біологічний аддукт	Доза, мг/кг	Середня маса пухлини, г		Гальмування росту пухлини, %
		контроль	дослід	
Лімфосаркома Пліса				
III	24,0	13,9±1,93	5,17±0,09	62,8
IV	24,0	13,9±1,93	5,21±0,09	62,5
Лектин 102	20,0	42,0±2,77	21,0±0,18	50,0
5-ФУ (контроль)				55,0

ту пухлини – 62,8 %); лектину **102** – *бис*-похідного 6-метилурацилу **IV** (гальмування росту пухлини – 62,5 %).

Індекс ефективності досліджуваних хіміко-біологічних аддуктів **III**, **IV** на Лімфосаркомі Пліса перебував у межах 2,66–5,88.

Таким чином, встановлено, що розташування метил-радикала в 5-му або 6-му положенні молекул вихідних урацилів **I**, **II** практично не впливає на виражений протипухлинний ефект аддуктів **III**, **IV**, оскільки відсоток гальмування росту пухлини на Лімфосаркомі Пліса при лікуванні вказаними речовинами має достатньо високі та близькі значення – 62,8 і 62,5 %.

У цілому пошук протипухлинних засобів на основі комбінацій ряду гетероциклічних сполук із бактерійними лектинами слід вважати перспективним новим напрямком, розвиток якого передбачає можливість одержання нових ліків з вираженою протипухлинною дією.

ВИСНОВКИ. 1. З метою отримання ефективних протипухлинних препаратів створено нові хіміко-біологічні аддукти: лектин **102** – 1,1-*бис*-[5'(6')-метилпіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилени.

2. Хіміко-біологічні аддукти: лектин **102** – 1,1-*бис*-[5'(6')-метилпіримідин-2',4'-діон-1'-іл]-2-бромо-2'-хлороетилени належать до малотоксичних речовин (ЛД₅₀ між 338 та 335 мг/кг).

3. Розташування метил-радикала в 5-му або 6-му положенні молекул вихідних урацилів не впливає на токсичність відповідних аддуктів.

4. Хіміко-біологічні аддукти з лектином **102** менш токсичні, ніж сам лектин **102**; також спостерігали незначне зростання токсичності аддуктів, до складу яких входили менш токсичні гетероциклічні компоненти.

5. Виразений протипухлинний ефект з високим відсотком гальмування росту пухлини зареєстровано на Лімфосаркомі Пліса для аддуктів: лектину **102** – *бис*-похідного 5-метилурацилу (гальмування росту пухлини – 62,8 %); лектину **102** – *бис*-похідного 6-метилурацилу (гальмування росту пухлини – 62,5 %).

6. Розташування метил-радикала в 5-му або 6-му положенні молекул вихідних урацилів практично не впливає на виражений протипухлинний ефект їх аддуктів з бактерійним лектином, оскільки відсоток гальмування росту пухлини на Лімфосаркомі Пліса при лікуванні вказаними речовинами має достатньо високі та близькі значення – 62,8 і 62,5 %.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. 1-Алкокси (арилокси)-1,1-дифтор-2-хлор-2-бромэтаны / И. И. Герус, М. Т. Колычева, Ю. Л. Ягу-

польский, В. П. Кухарь // Журн. орг. хим. – 1989. – 25. – С. 2020–2021.

2. Блохин Н. Н. Химиотерапия опухолевых заболеваний / Н. Н. Блохин, Н. И. Переводчикова. – М. : Медицина, 1984. – С. 15–82.
3. Клецкий М. Е. Структура и реакционная способность производных урацила / М. Е. Клецкий, Е. Б. Цупак, Д. А. Назаров // ХГС. – 2002. – № 8. – С. 1106–1108.
4. Коваленко Э. А. Внеклеточные лектины бактерий / Э. А. Коваленко // Микробиолог. журн. – 1990. – 5, № 3. – С. 92–99.
5. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М. : Новая волна, 2006. – 1200 с.
6. Прозоровский В. Б. Экспресс метод определения средней эффективности дозы и ее ошибки / В. Б. Прозоровский, В. П. Прозоровский, В. М. Демченко // Фармакол. и токсикол. – 1978. – 41, № 4. – С. 407–509.
7. Adjei A. A. Review of pharmacology and clinical activity of new chemotherapy agents for the treatment of colorectal cancer / A. A. Adjei // Clinical Pharmacology. – 1999. – 48. – P. 265–277.
8. Anderson N. Controversial issues in 5-fluorouracil infusion use. Dose intensity, treatment duration, and cost comparisons / N. Anderson, J. Lokich // Cancer. – 1992. – 70. – P. 998–1002.
9. Anttila M. I. Pharmacokinetics of ftorafur after intravenous and oral administration / M. I. Anttila, E. A. Sotaniemi, M. I. Kairaluoma (Eds.) // Cancer Chemotherapy and Pharmacology. – 1983. – 10. – P. 150–153.
10. Baba H. State of the treatment for gastrointestinal cancer / H. Baba, S. Kohnoe, K. Endo (Eds.) // Gan To Kagaku Ryoho. – 2000. – 27. – P. 1233–1246.

Е. В. Вельчинская

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А. А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ АДДУКТОВ 1,1-БИС-[МЕТИЛПИРИМИДИН-2',4'-ДИОН-1'-ИЛ]-2-БРОМО-2'-ХЛОРОЭТИЛЕНОВ

Резюме

Исследование антиметаболитов пиримидинового обмена, которые выступают в качестве преформированных соединений в ряду биосинтетических процессов и тормозят рост опухоли, является наиболее успешным направлением поиска новых противоопухолевых средств. С целью получения новых потенциальных противоопухолевых средств создано химико-биологические аддукты на основе 1,1-бис-[5(6)-метилпиримидин-2',4'-дион-1'-ил]-2-бromo-2'-хлороэтиленов и бактериального лектина *Bacillus polymyxa*. Установлено, что химико-биологические аддукты бис-производных пиримидинов и бактериального лектина являются малотоксичными (LD_{50} от 338 до 335 мг/кг) и проявляют значительный противоопухолевый эффект до 62,8 % на Лимфосаркоме Плиса. Это свидетельствует о том, что новые химико-биологические аддукты перспективны для дальнейшего изучения как малотоксичные вещества с высокой противоопухолевой активностью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пиримидин, 5(6)-метилурацил, противоопухолевая активность, бактериальный лектин.

O. V. Velchynska

O. O. BOHOMOLETS NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, KYIV

ANTITUMOUR ACTIVITY OF CHEMICAL-BIOLOGICAL ADDUCTS OF 1.1-BIS-[METHULPYRIMIDINE-2'.4'-DIONO-1'-IL]-2-BROMO-2'-CHLOROETHYLENES

Summary

Investigations of the antimetabolites of pyrimidin's change which forwards as preformed compounds at the link of biosynthetic processes and brakes tumour's growth is more successful finding direction of new antitumour preparations. With a purpose of new potential antitumour preparation's obtaining chemical-biological adducts on the base of 1.1-bis-[5(6)-methylpyrimidine-2'.4'-diono-1'-il]-2-bromo-2'-chloroethylenes and bacterial lectin *Bacillus polymyxa* were produced. It was discovered that chemical-biological adducts of bis-derivatives of pyrimidines and bacterial lectin applies to a little toxic preparations (LD_{50} from 338 to 335 mg/kg) and demonstrates considerable antitumour effect upon to 62.8 % on Lymphosarcoma Plisa tumour. It confirms that new chemical-biological adducts are perspective for the future investigation as substances with a little toxicity and high antitumour activity.

KEY WORDS: pyrimidine, 5(6)-methyluracile, antitumour activity, bacterial lectin.

Отримано 20.03.14

Адреса для листування: О. В. Вельчинська, вул. А. Ахматової, 16 Г, 14, Київ, 02068, Україна, e-mail: elena_www@ukr.net.