

## Хімія та біологічні властивості 5-бромурацилу

О.В.Вельчинська

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця  
Київ, Україна

Описано нові препаративні методи синтезу в умовах каталізу ДБ-18-краун-6-ефіром оригінальних похідних на основі 5-бромурацилу та синтонів — фторотану та 1,1-діетилкарбокси-2-хлор-2-трифлуорометилетилену. Встановлено, що синтезовані моно- та біс-похідні 5-бромурацилу відносяться до малотоксичних: значення  $LD_{50}$  їх знаходяться в інтервалі від 415 мг/кг до 396 мг/кг. Виявлено значний протипухлинний ефект біс-похідного 5-бромурацилу на гетеротрансплантатах злоякісної гліоми людини з відсотком гальмування росту пухлини 43,8% (критерій  $\geq 25\%$ ).

**Ключові слова:** 5-бромурацил, фторотан, пухлина, токсичність.

### ВСТУП

Проблема лікування хворих на злоякісні новоутворення та пошук ефективних малотоксичних протипухлинних лікарських засобів є однією з найважливіших у сучасній медицині та інших хіміко-біологічних науках, у тому числі в фармацевтичній хімії.

Знання особливостей ракової клітини, її метаболізму дозволяє прогнозувати напрям хімічних і біологічних досліджень, проводити цілеспрямований синтез потенціальних ліків, оцінювати можливість їх застосування в онкологічній практиці в якості протипухлинних засобів.

Одним з найбільш успішних напрямів пошуку нових протипухлинних засобів є антиметаболіти піримідинового та пуринового обміну, які беруть участь в якості преформованих сполук у біосинтетичних процесах (ДНК, РНК, специфічні білки), гальмуючи пухлинний ріст [1-4].

В арсеналі протипухлинних засобів значне місце займають ліки, що відносяться до гетероциклічних систем (рак кишково-шлункового тракту та ін. [4-6]).

Пошук, вивчення та клінічне використання таких сполук у клінічній практиці не втрачає своєї інтенсивності до теперішнього часу.

Означена проблема пошуку нових протипухлинних засобів серед пуринових і піримідинових систем є вкрай актуальною, однак напрями пошуку, згідно з аналізами банку інформації, не є достатньо розвинутими згідно із сучасних вимог.

Молекули 5(6)-фторо(галогено)заміщених урацилів та їх похідних, здатні виконувати роль галогеновмісних синтонів в органічному синтезі, тому їх активно використовують для створення оригінальних біологічно активних молекул. Крім того, введення вказаних фармакофорів у гетероциклічну молекулу призводить до підвищення розчинності сполук у ліпідах та робить лікарські засоби ефективнішими у зв'язку з легкістю їх транспортування в організмі [7]. При цьому зазначена увага до фторо(галогено)вмісних фрагментів у нових молекулах передбачає підсилення антиметаболітних властивостей сполук.

Мета дослідження полягає в хімічній модифікації молекули 5-бромурацилу з подальшим вивченням біологічної активності нових синтезованих похідних 5-бромурацилу, а саме: після конструювання потенційно активних структур розроблено нові препаративні методи синтезу оригінальних гетероциклів на основі 5-бромурацилу, а також фторовмісних синтонів — загального анестетика фторотану (2-бром-1,1,1-трифтор-2-хлоретану) або 1,1-діетилкарбокси-2-хлор-2-трифторметилетилену; досліджена токсичність та протипухлинна активність отриманих сполук.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами дослідження стали нові гетероциклічні моно- та біс-похідні, які синтезовано на основі 5-бромурацилу та фторотану або 1,1-діетилкарбокси-2-хлор-2-трифторметилетилену в якості фторовмісних синтонів. Абсолютні

розчинники отримували перегонкою над  $P_2O_5$  або металевим натрієм, перегонкою у вакуумі або простою перегонкою; сушили над сульфатом магнію безводним. Індивідуальність синтезованих сполук контролювали методом ТШХ на пластинках Silufol-254 в системі ацетонітрил-гексан 2:1. ГРХ виконували на газорідинному хроматографі «Perkin Elmer» з УФ-детектором (виробник «Perkin», Germany). ІЧ спектри записували на спектрофотометрі UR-20 (виробник «Charles Ceise Hena», 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 в  $DMSO-d_6$  з використанням тетраметилсилану як внутрішнього стандарту.

$N_{(1)}$ - $(1',1'$ -дифлуоро-2'-бромо-2'-хлороетил)-5-бромурацил (1),  $N_{(1)}$ - $(2'$ -бромо-1'-гідрокси-2'-хлороетил)-5-бромурацил (2). Приготування розчину №1 проводять на основі 0,44 г (0,0079 моль) калію гідроксиду, 0,044 г ДБ-18-краун-6 в 20 мл сухого бензену та розчину 1,57 г (0,84 мл, 0,0079 моль) фторотану в 20 мл сухого етеру. Приготування розчину №2: 1,51 г (0,0079 моль) 5-бромурацилу розчиняють в 40 мл сухого ДМФА при температурі 60°C в окремому хімічному посуді. Гарячий розчин №2 додають краплями через ділильну лійку до розчину №1, перемішують при температурі 60-80°C сім годин (реакційна суміш мутніла та при нагріванні ставала коричневою), фільтрують у гарячому стані, охолоджують, відганяють простою перегонкою розчинники. Залишок-осад промивають 30 мл суміші діетиловий етер-гексан (1:1), сушать у вакуумі водострумного насоса. Кристалічний осад кремового забарвлен-

ня (1). Т пл. – 282-285°C, вихід – 42% (1,22 г). Знайдено, %: С – 19,44; Н – 0,80; N – 7,53.  $C_6H_3Br_2ClF_2N_2O_2$ . Обчислено, %: С – 19,56; Н – 0,82; N – 7,60. Охолоджений фільтрат залишають стояти на ніч, відганяють розчинники. Залишок – масло кристалізують із суміші діетиловий етер-гексан (1:1). Осад, що випадає, сушать на повітрі (2). Т пл. – 274-277°C, вихід – 10,5% (0,28 г). Знайдено, %: С – 20,33; Н – 0,89; N – 7,88.  $C_6H_3Br_2ClN_2O_3$ . Обчислено, %: С – 20,80; Н – 0,87; N – 8,08.

Аналогічно синтезують сполуку  $N_{(1)}$ ,  $N_{(1)}$ - $(2''$ -бромо-2''-хлороетил)-біс-(5-бромурацил) (3) із 0,87 г (0,0044 моль) фторотану та 1,67 г (0,0088 моль) 5-бромурацилу при перемішуванні реакційної суміші при температурі 80-90°C 12 годин. Синтезовану сполуку – кристалічний порошок кремового забарвлення – промивають 30 мл метилового спирту, 10 мл етилового етеру, сушать у вакуумі водострумного насоса. Т пл. з осмоленням – 270-275°C, вихід – 30% (3,69 г). Знайдено, %: С – 22,8; Н – 1,02; N – 10,75; Br – 45,96.  $C_{10}H_4Br_3ClN_4O_4$ . Обчислено, %: С – 23,13; Н – 0,77; N – 10,78; Br – 46,1.

1,1-діетилкарбоксі-2-трифлуорометил-2-хлороетилен (4). 1,1-діетилкарбоксі-2-трифлуорометил-2-(5'-бромуридин- $N_{(1)}$ -)-етилен (5). Приготування розчину №1 (I стадія реакції). 6,13 г (0,268 моль) натрію металічного розчиняють у 250 мл метанолу безводного, додають краплями через ділильну лійку 43,0 г (40 мл, 0,268 моль) діетилового естеру малінової кислоти та 62,0 г (40 мл, 0,543 моль) трифлуороцтової кислоти при перемішуванні реакційної суміші та нагріванні. Кип'ятять суміш протягом 6 год., охолоджують до кім-

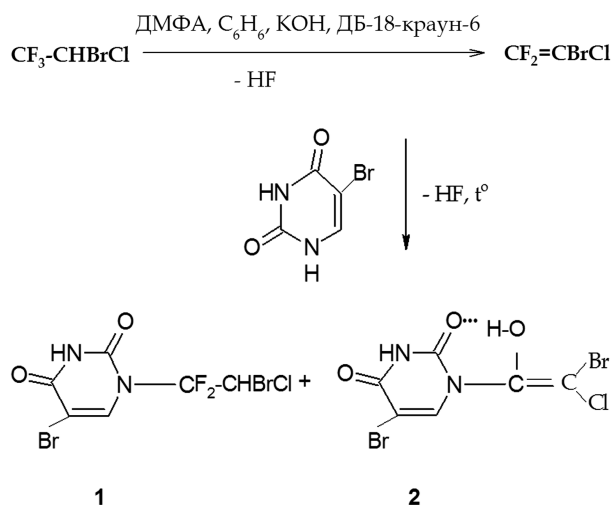


Схема 1

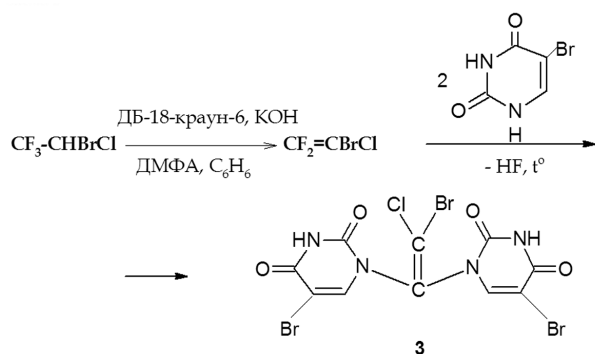


Схема 2

натної температури, відганяють простою перегонкою розчинник. Залишок — скловидну масу білого кольору — заливають діетиловим етером. Осад білого кольору (продукт А), що випадає, відфільтровують та використовують на наступній стадії реакції. *Приготування розчину №2 (II стадія реакції)*. 8,0 г (0,0287 моль) продукту А розчиняють в 55 мл сухого дихлоретану при кімнатній температурі, додають 6 г (0,0287 моль) фосфору пентахлориду. Реакційна суміш при нагріванні набуває молочного забарвлення. Гарячий розчин перемішують з кип'ятінням 5 годин, охолоджують, осад, що утворився, відфільтровують, промивають дихлоретаном, відганяють розчинник. Залишок — масло очищують перегонкою у вакуумі. Масло (продукт В) розчинне у ДМФА, діетиловому етері. Т кип. — 56-59°C (25 мм рт.ст.),  $n_D^{25}$  1,3010, вихід — 80% (6,31 г) (4). Знайдено, %: С — 39,36; Н — 3,67; F — 20,75.  $C_9H_{10}ClF_3O_4$ . Обчислено, %: С — 39,37; Н — 3,64; F — 20,76. *Приготування розчину №3 (III стадія реакції)*. До суміші 0,34 г (0,001 моль) 5-бромурацилу в 30 мл ДМФА безводного та 0,18 г (0,24 мл, 0,001 моль) триетиламіну безводного додають по краплям 0,5 г (0,001 моль) продукту В у 15 мл етеру діетилового безводного при перемішуванні реакційної суміші та нагріванні до 60-

70°C. Кип'ятять суміш протягом 16 год. (реакційна суміш яскраво-червоного забарвлення), фільтрують гарячий розчин та відділяють осад  $N(C_2H_5)_3 \cdot xHCl$ , відганяють розчинники у вакуумі. Залишок — масло жовтого забарвлення — заливають гексаном та кип'ятять, заливають гексан декантацією, заливають ацетон. Осад рожевого забарвлення випадає із ацетону. Т пл. — 255-260°C, вихід — 33% (0,25г) (5). Знайдено, %: С — 7,03; Н — 2,40; N — 6,48; Br — 19,0.  $C_{13}H_{12}BrF_3N_2O_6$ , Обчислено, %: С — 36,4; Н — 2,8; N — 6,50; Br — 18,64.

Під час проведення хіміко-біологічних досліджень нами було відібрано серед значної кількості синтезованих преформованих піримідинів та досліджено сполуки із значущою протипухлинною дією [8]. Слід зазначити, що в молекулах більшості із цих сполук гетероциклічні фрагменти пов'язані залишком молекули загального анестетика фторотану, який широко використовується в хірургічній онкологічній практиці [9, 10].

Дослідження параметрів гострої токсичності та протипухлинної активності моно- і біс-похідних 5-бромурацилу виконано в Інституті фармакології та токсикології АМН України. Вивчення гострої токсичності ( $LD_{50}$ ) проведено на білих нелінійних мишах-самцях з масою

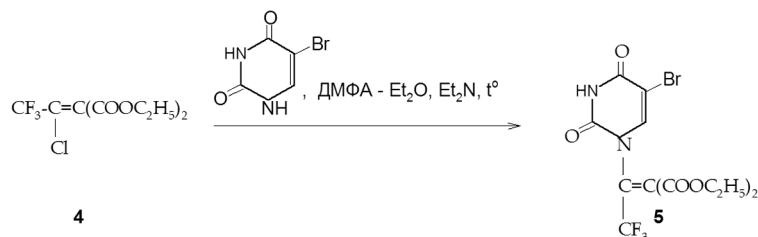


Схема 3

тіла  $17,0 \pm 2,0$  г при підшкірному шляху введення. Результати дослідження обраховано в альтернативній формі на 14 добу після введення. Проведена статистична обробка [11]. Оскільки структурних аналогів синтезованих сполук у літературі не описано, препаратом порівняння був відомий протипухлинний лікарський засіб 5-фторурацил. Доза речовини становила від 600 до 250 мг/кг. У піддослідних тварин спостерігалися тонічні судоми впродовж 1-2 годин, блювання.

Протипухлинну активність нових сполук  $N_{(p)}$ - $(1',1'$ -дифлуоро-2'-бромо-2'-хлороетил)-5-бромурацил (1),  $N_{(p)}$ - $(2'$ -бромо-1'-гідрокси-2'-хлороетеніл)-5-бромурацил (2),  $N_{(p)}, N_{(r)}$ - $(2''$ -бромо-2''-хлороетеніл)-біс-(5-бромурацил) (3), 1,1-діетилкарбоксі-2-трифлуорометил-2-(5'-бромуридин- $N_{(r)}$ -)етилен (5) досліджено з використанням операційного та біопсійного матеріалу з пухлиною мозку людини. При лікуванні гліобластоми людини в підкапсульному тесті за методом Богдена критерієм значення був відсоток гальмування росту гетеротрансплантату гліоми людини понад 25% [9, 11]. Курс лікувальних вливань становив 6 введень через добу при внутрішньоочеревинному шляху введення, згідно із правилами введення речовин до організму піддослідних тварин в інтервалі доз  $1/4 - 1/5$  ЛД<sub>50</sub>. Результати обраховано через 24 години після закінчення лікування. Для вивчення специфічної протипухлинної активності досліджуваних сполук їх розчиняли у фізіологічному розчині.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За новими розробленими нами методами синтезу, взаємодією фторотану в якості фторовмісного синтону з 5-бромурацилом у молярному співвідношенні 1:2 та 1:1 в системі

розчинників (бензин-ДМФА-діетиловий етер) в умовах міжфазного каталізу ДБ-18-краун-6-ефіром (лужне середовище); іншого фторовмісного синтону 1,1-діетилкарбоксі-2-хлор-2-трифторметилетилену в еквімолярних кількостях у системі розчинників (діетиловий етер-ДМФА-гексан-ацетон) синтезовано нові моно- та біс-похідні з фармакофорними групами  $=C=CBrCl$ ,  $-CF_2-CHBrCl$ ,  $-(HO)C=CBrCl$ ,  $-(CF_3)C=C(COOC_2H_5)_2$  (1-5) (схеми 1-3). Дослідження гострої токсичності синтезованих сполук (1-5) (табл. 1) показало, що монопохідні 5-бромурацилу (1, 2) та біс-похідне 5-бромурацилу (3) менш токсичні (в 1,05-1,11 разу), ніж 5-фторурацил (ЛД<sub>50</sub> становить 375 мг/кг). Значення їх ЛД<sub>50</sub> знаходяться в межах від 415 мг/кг до 396 мг/кг.

Виявлено, що протипухлинна активність біс-похідного 5-бромурацилу (3) значно перевищує прийнятий критерій значущості (>25,0% гальмування пухлинного росту). Після лікування тварин сполукою (3) маса гетеротрансплантатів злоякісної гліоми зменшувалася з  $2,68 \pm 0,102$  мг до  $1,51 \pm 0,102$  мг, що складає 43,8% гальмування росту пухлини. Це в 1,75 разу більше прийнятого критерію активності при лікуванні гліобластоми 25%, що підтверджено при проведенні морфологічного контролю.

При порівняльному гістологічному дослідженні клітинно-тканинних реакцій пухлини при лікуванні потенційною протипухлинною сполукою (3) в умовах субклітинного тестування встановлено залежність між вираженими регресивними змінами пухлин та рівнем гальмування їх росту. Зазначений ефект вважається вираженим щодо подальшого вивчення біс-похідного (3) при пухлинах головного мозку.

Таким чином, можна зробити висновок, що біс-похідне (3) має високу протипухлинну активність на злоякісній гліобластомі людини, значно перевищує протипухлинну активність препарату порівняння 5-фторурацилу, що дозволяє розглядати її як фізіологічно активну з перспективою подальшого вивчення за вимогами до потенційних протипухлинних засобів для лікування людини.

## ВИСНОВКИ

1. За новими розробленими нами методами синтезу, взаємодією фторотану або 1,1-діетилкарбоксі-2-хлор-2-трифторметилетилену з 5-бромурацилом в молярному співвідношенні 1:2 або еквімолярних кількостях в умовах міжфазного каталізу ДБ-18-краун-6-ефіром синтезовано нові моно- та біс-похідні 5-бромурацилу.

ТАБЛИЦЯ 1

Параметри токсичності сполук (1-3) у порівнянні з 5-фторурацилом

№ з/п	Сполука	ЛД <sub>50</sub> , мг/кг
1	$N_{(p)}$ - $(1',1'$ -дифлуоро-2'-бромо-2'-хлороетил)-5-бромурацил (1)	396
2	$N_{(p)}$ - $(2'$ -бромо-1'-гідрокси-2'-хлороетеніл)-5-бромурацил (2)	399
3	$N_{(p)}, N_{(r)}$ - $(2''$ -бромо-2''-хлороетеніл)-біс-(5-бромурацил) (3)	415
4	5-фторурацил (препарат порівняння)	375



2. Дослідження гострої токсичності синтезованих сполук показало, що вони малотоксичні: значення їх  $LD_{50}$  коливаються в межах від 415 мг/кг до 396 мг/кг.

3. При використанні пухлини головного мозку людини (операційний та біопсійний матеріал) в підкапсульному тесті за методом Богдена, на підставі результатів експериментально-морфологічних досліджень зареєстровано виражений протипухлинний ефект біс-похідного 5-бромурацилу з відсотком гальмування пухлинного росту 43,8% (критерій значущості  $\geq 25\%$ ).

## ЛІТЕРАТУРА

- Noordhuis P. 5-fluorouracil incorporation into 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.
- 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.
- Longley D.B. Mechanisms of action of 5-fluorouracil / D.B.Longley, D.P.Harkin // *Nature Rev. Cancer.* — 2004. — Vol. 4. — P. 230-238.
- Барлоу Р. Введение в химическую фармакологию. — М.: Изд. ин. лит., 1959. — С. 107.
- Brody G.L. Halothane anesthesia as a possible cause of massive hepatic necrosis / G.L.Brody, R.B. // *Sweet Anesthesiology.* — 1963. — Vol. 24. — P. 29-37.
- Brown B.R. Biotransformation and hepatotoxicity of halothane / B.R.Brown, I.G.Sipes // *Biochem. Pharmacol.* — 1977. — Vol. 26. — P. 2091-2094.
- Ягупольский Л.М. Ароматические и гетероциклические соединения с фторсодержащими заместителями / Л.М.Ягупольский. — К.: Наукова думка, 1988. — С. 90-105.
- Welchinska Hel.V. Biological activity of bacterial lectins and their molecular complexes with heterocyclic bis-adducts / Hel.V.Welchinska, B.Pieczuszek, E.A.Kovalenko and al. // *Мікробіол. журнал.* — 2003. — Т. 65, №6. — С. 20-25.
- Прозоровский В.Б. Экспресс-метод определения средней эффективности дозы и ее ошибки / В.Б.Прозоровский, В.П.Прозоровский, В.М.Де-мченко // *Фармакол. и токсикол.* — 1978. — Т. 41, №4. — С. 407-509.
- Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / Под ред. З.П.Софьиной, А.Б.Сыркина, А.Голдина, А.Кляйна. — М.: Медицина, 1979. — 296 с.
- Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Под ред. Н.И.Переводчиковой. 2-е изд. доп. — М.: Практическая медицина, 2005. — 704 с.

**Е.В. Вельчинская. Химия и биологические свойства 5-бромурацила. Киев, Украина.**

**Ключевые слова:** 5-бромурацил, фторотан, опухоль, токсичность.

*Описаны новые препаративные методы синтеза в условиях катализа ДБ-18-краун-6-эфиром оригинальных производных на основе 5-бромурацила и синтонов — фторотана и 1,1-диэтилкарбоксии-2-хлор-2-трифлуорометилэтилена. Установлено, что синтезированные моно- и бис-производные 5-бромурацила относятся к малотоксичным: значения  $LD_{50}$  их находятся в интервале от 415 мг/кг до 396 мг/кг. Обнаружен значительный противоопухолевый эффект бис-производного 5-бромурацила на гетеротрансплантах злокачественной глиомы человека с процентом торможения роста опухоли 43,8% (критерий  $\geq 25\%$ ).*

**E.V. Welchinska. Chemistry and biological properties of 5-bromouracile. Kyiv, Ukraine.**

**Key words:** 5-bromouracile, ftorotan, tumour, toxicity.

*A new convenient methods for the preparation with DB-18-crown-6-ether as catalyst of original derivatives on the base of 5-bromouracile and sintones — ftorotan and 1,1-diethylcarboxy-2-chloro-2-threefluoromethylethylene was described. It was discovered that mono- and bis-derivatives of 5-bromouracile which synthesized applies to a little toxic preparations: its  $LD_{50}$  are at the interval from 415 mg/kg to 396 mg/kg. A strongly antitumor effect of bis-derivative of 5-bromouracile on the heterotransplantates of mans glioma cancer with percents of growth relaxation of cancer 43,8% has been discovered (the criteria are  $\geq 25\%$ ).*

Надійшла до редакції 20.10.2012 р.