

НОВЫЕ ПРЕФОРМИРОВАННЫЕ ПИРИМИДИНЫ: ИХ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Вельчинская Е.В.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца

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 физиологично активные соединения с перспективой дальнейшего изучения согласно требований к потенциальным противоопухолевым препаратам для лечения человека.

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

Постановка проблемы. 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, с. 265–277; 2, с. 18–23; 5, с. 1025–1032]. Известно, что раковые клетки используют молекулы урацила активнее, чем нормальные клетки.

Анализ последних исследований и публикаций. 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, с. 18–23; 3, с. 2020–2021; 6, с. 15–43].

Выделение нерешенных ранее частей общей проблемы. 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.

Цель статьи. 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)-заещенных 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 (ТСХ) 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-d₆ с использованием тетраметилсилана в качестве внутреннего стандарта.

N₍₁₎, *N*₍₁₎-(2»-бром-2»-хлорэтенил)-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 ИМБ НАНУ. Культивирование бактерий проводили в модифицированной среде Гаузе, лектины получали из культуральной жидкости, как описано ранее [8, с. 183–200]. Молекулярные комплексы бис-производных гетероциклов с бактериальными лектинами получали простым механическим перемешиванием компонентов в физиологическом растворе в соотношении 1:1. Для определения

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				

среднетоксичной дозы ЛД₅₀ синтезированных соединений, бактериальных лектинов и их молекулярных комплексов использовали экспресс-метод В.Б. Прозоровского [7, с. 407-509].

Исследования проводили на белых нелинейных мышах-самцах массой тела 22,0±2,0 г; путь введения растворов – подкожный.

Изложение основного материала. 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 =C=CBrCl, (**III-VIII**) (схема 1).

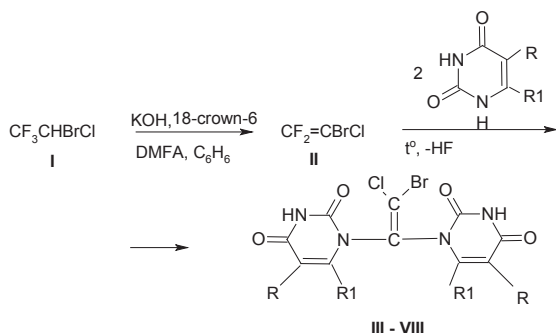


Схема 1. Синтез бис-производных III-VIII

где 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**)

Для дальнейших исследований биологических свойств новых соединений отобраны бис-производные 5-метилурацила (**IV**), 5-фторурацила (**VI**) и 5-бромурцила (**VII**). Определение одного из главных фармакологических индексов новых бис-производных – острой токсичности показало, что соединения **IV** и **VII** относятся к малотоксичным: значения ЛД₅₀ их 515 мг/кг и 415

мг/кг, соответственно. Соединение **VI** относится также к малотоксичным (ЛД₅₀ 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, препаратам сравнения был известен 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 лектинами 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 снижалась (в 2,07 раза для **VII** + лектин 102).

Выводы и предложения. 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:

- 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.
- 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.
- Герус И.И. 1-Алкокси (арилокси)-1,1-дифтор-2-хлор-2-бромэтаны / И.И. Герус, М.Т. Колычева, Ю.Л. Ягупольский, В.П. Кухарь // Журнал органической химии. – 1989. – Т. 25. – Вып. 9. – С. 2020-2021.
- 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 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.
6. Подгорский В.С. Бактериальные лектины / В.С. Подгорский [и др.]. – Киев: Наукова думка, 1992. – С.15-43.
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. Исигава]. – М.: Мир, 1990. – С. 183-200.

Вельчинська О.В.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

НОВІ ПРЕФОРМОВАНІ ПІРИМІДИНИ: ЇХ СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ

Резюме

В умовах міжфазного каталізу дибензо-18-краун-6-ефіром синтезовано нові біс-похідні урацилів. Створено молекулярні комплекси на основі синтезованих біс-похідних урацилів та бактерійних лектинів *Bacillus subtilis* 668 IMV та *Bacillus polymyxa* 102 KGU. Визначення одного з основних фармакологічних індексів біс-похідних та їх молекулярних комплексів – гострої токсичності показало, що біс-похідні урацилів та їх молекулярні комплекси відносяться до малотоксичних сполук: значення їх ЛД₅₀ від 635 до 125 мг/кг. Найближчим аналогом синтезованих біс-похідних урацилів є протипухлинний препарат 5-фторурацил, що дозволяє розглядати їх та відповідні молекулярні комплекси з бактерійними лектинами як фізіологічно активні сполуки з перспективою подальшого вивчення згідно до вимог до потенційних протипухлинних препаратів для лікування людини.

Ключові слова: фторотан, 5-фторурацил, токсичність, протипухлинна активність.

Welchinska O.V.

National Medical University named after A.A. Bogomoltsa

NEW PREFORMED PYRIMIDINES: THEIR SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY

Summary

Under phase-transfer conditions in alkaline medium catalysed by the 18-crown-6-complex a 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 physiological active compounds has a perspective future as potential antitumour preparations for medicines.

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