

**НОВИЙ ХІМІКО-БІОЛОГІЧНИЙ АДДУКТ НА ОСНОВІ
1,1-БІС-(5-БРОМОПІРИМІДИН-2',4'-ДІОН-1'-ІЛ)-2-
БРОМО-2-ХЛОРОЕТИЛЕНУ ТА ПРОТИПУХЛИННОГО
БАКТЕРІЙНОГО ЛЕКТИНУ *VACILLUS POLYMYXA*****О.В. Вельчинська***Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (Київ)***Вступ**

Ліки, що відносяться до гетероциклічних систем вважаються найбільш ефективними протиопухлинними лікарськими засобами [2, 5–7]. 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 обумовила актуальність дослідження їхньої ролі у фізіології макроорганізму [1, 8–10]. Пошуки шляхів елімінації пухлинних клітин із множинною лікарською стійкістю продовжуються.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в межах плану науково-дослідних робіт Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, затверджених МОЗ України: “Вивчення квантово-хімічних та фізико-хімічних властивостей фізіологічно активних сполук з метою створення потенційних лікарських засобів з антиоксидантними властивостями” (№ державної реєстрації 0109U005029) та науково-дослідних робіт Інституту фармакології та токсикології НАМН України, затверджених МОЗ України: “Синтез потенційних протиопухлинних речовин в ряду фосфорильованих карбамоїлурацилів з метою вивчення їх механізму дії у якості лікарських засобів” (№ державної реєстрації УА01000170Р).

Метою нашої роботи стало отримання нового хіміко-біологічного аддукту на основі 1,1-біс-(5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бром-2-хлороетилену та протиопухлинного бактерійного лектину *Bacillus polymyxa*, вивчення параметрів його гострої токсичності (ЛД₅₀) у порівнянні із параметрами токсичності гетероциклічної та лектинової компоненти аддукту, дослідження його протиопухлинної активності на Саркомі 45, індексу ефективності та селезінкового ефекту.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження став хіміко-біологічний аддукт 1,1-біс-(5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бromo-2-хлороетилену (біс-похідне 5-броморацілу) та бактерійного лектину *Bacillus polymyxa* 102 КГУ з Української колекції мікроорганізмів ІМБ НАНУ (далі лектин 102). Температури плавлення (Т.пл.) одержано на приладі фірми "Buchі" модель В-520. Аналітичну ТШХ проводили на шарі силікагелю на алюмінієвих плівках Silufol UV₂₅₄ (5 см × 15 см) "Kavalier" (Czech. Republic) у системі розчинників: ацетонітрил-гексан 2:1.

ІЧ-Спектри вимірювали на спектрофотометрі UR-20 ("Charles Ceise Hena", Germany) в таблетках KBr. ГРХ проведено на газорідинному хроматографі "Perkin Elmer" з УФ-детектором ("Perkin", Germany). Спектри ¹H-ЯМР і ¹³C-ЯМР синтезованих речовин записані на приладах "Bruker WP-200 SY" ("Bruker", Switzerland), "Varian T-60" ("Varian", USA) з робочою частотою 132-200 МГц у ДМСО-*d*₆, CDBr₃, CDCl₃, CF₃COOH, D₂O, внутрішній стандарт – ТМС або ГМДС. Хімічні зсуви наведено в шкалі δ (м.ч.). Газо-рідинну хроматографію проводили на газорідинному хроматографі "Perkin Elmer" з УФ-детектором ("Perkin", Germany). Хіміко-біологічний аддукт отримували механічним перемішуванням двох компонентів у співвідношенні 1:1 у фізіологічному розчині. Основні серії експериментальних досліджень проведені на дорослих білих нелінійних мишах-самцях (маса тіла 17,0±2,0г та 22,0±2,0г) та щурах-самцях (маса тіла 160,0±20,0г), які утримувалися у віварії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Утримання та досліди на тваринах проводили відповідно до правил "Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовують в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, 1986). Визначення протипухлинної активності здійснено згідно рекомендацій Державного Фармакологічного центру МОЗ України на моделі експериментального пухлинного росту - Саркомі 45. Шлях введення розчинів – внутрішньочеревний. Загальноприйнятим критерієм значення для речовин з протипухлинною активністю вважався відсоток гальмування росту пухлини – понад 50% [3, 4]. Кров та пухлина піддослідного щура-пухлиноносія були відібрані через 30 хв після введення сполук в терапевтичній дозі [4, 9]. Препарат порівняння - 5-фторурацил (5-ФУ). Статистичну обробку проводили по В.Б. Прозоровському та ін. [3]. 1,1-Біс-(5'-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бromo-2-хлороетилен. В 20 мл сухого бензену при температурі 60°C перемішують 0.25 г (0.0044

моль) калій гідроксиду і 0.025 г ДБ-18-краун-6 (близько 15 хвилин) до утворення на стінках хімічного реактора білого нальоту. Отриману 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-броморацілу, перемішують при температурі 80-90°C протягом 12 годин. Синтезовану сполуку - кристалічний порошок кремового забарвлення промивають 30 мл метилового спирту, 10 мл етилового етеру, сушать у вакуумі водострунного насосу. Т.пл. з осмоленням 270-275°C, вихід 30% (3.69 г).

Отримані результати та їх обговорення

За розробленим автором методом синтезу отримано новий 1,1-біс-(5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бromo-2-хлороетилен з фармакофорною групою C=CB₂Cl, який синтезовано при взаємодії 5-броморацілу з 2-бromo-1,1,1-трифлуоро-2-хлороетаном (фторотаном) у молярному співвідношенні реагентів 2:1, в системі розчинників (ДМФА-бензен) в умовах міжфазного каталізу ДБ-18-краун-6 в лужному середовищі, хімічної будови (схема 1).

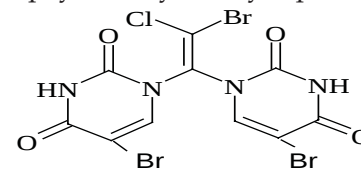


Схема 1. 1,1-біс-(5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бromo-2-хлороетилен.

Дані елементного аналізу синтезованого біс-похідного 5-броморацілу відповідають обчисленим значенням. Віднесення сигналів в ІЧ та ¹H-ЯМР-спектрах сполуки наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Дані елементного аналізу та спектральні характеристики біс-похідного 5-броморацілу

Сполука	Знай- дено, N, %	Бруто- формула, М.м.	Ви- рах., N, %	ІЧ-спектр: KBr, см ⁻¹	Спектр ¹ H-ЯМР: ДМСО- <i>d</i> ₆ , ТМС, δ, м.ч., J, Гц
біс- похідне 5-бromo- урацилу	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 біс-похідного 5-броморацілу ідентифіковано сигнали валентних коливань зв'язків C-Hal при 550-695 см⁻¹ інтенсивні сигнали карбонільних груп νC=O при 1710, 1750 см⁻¹. Співвідношення інтегральних інтенсивностей сигналів в ¹H-ЯМР-спектрах біс-похідного 5-броморацілу підтверджує від-

сутність протону при атомі N⁽¹⁾ молекул урацилу, та наявність протонів в положенні –C⁽⁶⁾H фрагментів урацилу в області δ 7.66 м.ч., та протонів в положенні N⁽⁶⁾H гетероциклічних ядер при δ 4.04 м.ч., які частково знаходяться в дейтерообміні.

Отримані параметри токсичності хіміко-біологічного аддукту 1,1-біс-(5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бромо-2-хлороетилену та лектину **102**, а також гетероциклічної та лектинової компоненти аддукту, показали, 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).

Таблиця 2

Параметри токсичності сполук у порівнянні з 5-ФУ

Сполука	ЛД ₅₀ мг/кг
лектинова компонента аддукту: лектин 102	248
гетероциклічна компонента аддукту: 1,1-біс-(5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бромо-2-хлороетилен	415
хіміко-біологічний аддукт 1,1-біс-(5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бромо-2-хлороетилену та лектину 102	635
5-ФУ (препарат порівняння)	375

Вивчення протипухлинної активності на Саркомі 45 виявило виражений ефект препарату 1,1-біс-(5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бромо-2-хлороетилену та лектину **102** (82,0%) у дозі 35 мг/кг, в той час, як % гальмування росту пухлини при дії препарату порівняння 5-FU - 18,4%. Здатність гальмувати експериментальний пухлинний ріст Саркоми 45 аддукту перевищує за протипухлинною дією у проведених досліджах препарат порівняння 5-FU у 4,46 рази. 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 вказаних 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 напрямком, розвиток якого передбачає можливість одержання нових ліків з вираженою протипухлинною дією.

Висновки

1. З метою отримання нових потенційних протипухлинних засобів створено оригінальний хіміко-біологічний аддукт на основі

1,1-біс-(5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бромо-2-хлороетилену та лектину *Bacillus polymyxa*.

2. Хіміко-біологічний аддукт біс-похідного піримідину та лектину є малотоксичним (ЛД₅₀: 635 мг/кг), проявляє значущий протипухлинний ефект на Саркомі 45 з % гальмування пухлинного росту 82,0.

3. Отримані результати свідчать про те, що новий хіміко-біологічний аддукт є перспективним для подальшого вивчення як малотоксичної речовини з високою протипухлинною активністю на Саркомі 45.

Література

1. Клецкий М.Е. Структура и реакционная способность производных урацила / М.Е. Клецкий, Е.Б. Цупак, Д.А. Назаров // ХГС. – 2002. – № 8. – С. 1106-1108.
2. Кудрявцева І.Г. Сучасний стан пошуку і вивчення ФАР з проти пухлинною дією серед похідних кислот фосфору / І.Г. Кудрявцева, Н.І. Шарикіна // Ліки. – 2004. – № 1-2. – С. 31-40.
3. 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. – Т. 41, № 4. – С. 407-509.
4. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / Под ред. Софьиной З.П., Сыркина А.Б., Голдина А., Кляйна А. – М.: Медицина, 1979. – 296 с.
5. Adjei A.A. Review of pharmacology and clinical activity of new chemotherapy agents for the treatment of colorectal cancer / A.A. Adjei // Clin. Pharmacol. – 1999. – Vol. 48. – P. 265-277.
6. Anderson N. Controversial issues in 5-fluorouracil infusion use. Dose intensity, treatment duration, and cost comparisons / N. Anderson, J. Lokich // Cancer. – 1992. – Vol. 70. – P. 998-1002.
7. Anttila M. I. Pharmacokinetics of ftorafur after intravenous and oral administration / M.I. Anttila, E.A. Sotaniemi, M.I. Kairaluoma // Cancer Chemother. and Pharmacol. – 1983. – Vol. 10. – P. 150-153.
8. Baba H. State of the treatment for gastrointestinal cancer / H. Baba, S. Kohno, K. Endo // Gan To Kagaku Ryoho. – 2000. – Vol. 27. – P. 1233-1246.
9. Longley D.B. Mechanisms of action of 5-fluorouracil / D.B. Longley, D.P. Harkin // Nature Rev. Cancer. – 2004. – Vol. 4. – P. 230-238.
10. 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.

Резюме

Вельчинська О.В. Новий хіміко-біологічний аддукт на основі 1,1-біс-(5-бромопіримідин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бромо-2-хлороетилену та протипухлинного бактерійного лектину *Bacillus polymyxa*.

Дослідження антиметаболітів піримідинового обміну, які виступають у якості преформованих сполук в низці біосинтетичних процесів та гальмують пухлинний ріст, є найбільш успішним напрямком пошуку нових протипухлинних засобів. З метою отримання нових потенційних протипухлинних засобів синтезовано нове *bis*-похідне 5-бромоурацилу, створено оригінальний хіміко-біологічний аддукт на основі 1,1-*bis*-(5-бромопіримидин-2',4'-діон-1'-іл)-2-бромо-2-хлороетилену та протипухлинного бактерійного лектину *Bacillus polymyxa*. Встановлено, що хіміко-біологічний аддукт *bis*-похідного 5-бромоурацилу та бактерійного лектину, є малотоксичним (LD_{50} : 635 мг/кг) та виявляє значний протипухлинний ефект на Саркомі 45 (% гальмування пухлинного росту 82,0). Це свідчить про те, що новий хіміко-біологічний аддукт є перспективним для подальшого вивчення як малотоксична речовина з високою протипухлинною активністю на Саркомі 45.

Ключові слова: 5-бромоурацил, протипухлинна активність, лектин.

Резюме

Вельчинская Е.В. Новый химико-биологический аддукт на основе 1,1-бис-(5-бромопириимидин-2',4'-дион-1'-ил)-2-бромо-2-хлорэтилена и противоопухолевого бактериального лектина *Bacillus polymyxa*.

Исследования антиметаболитов пириимидинового обмена, которые выступают в качестве преформированных соединений в цепочке биосинтетических процессов и тормозят опухолевый рост, являются наиболее успешным направлением поиска новых противоопухолевых средств. С целью получения новых потенциальных противоопухолевых средств синтезировано новое *bis*-производное 5-бромоурацила, создан оригинальный химико-биологический аддукт на основе 1,1-*bis*-(5-бромопириимидин-2',4'-дион-1'-ил)-2-бромо-2-хлорэтилена и противоопухолевого бактериального лектина *Bacillus polymyxa*. Установлено, что химико-биологический аддукт *bis*-производного 5-бромоурацила и бактериального лектина, является малотоксичным (LD_{50} : 635 мг/кг) и проявляет значительный противоопухолевый эффект на Саркоме 45 (% 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.

Ключевые слова: 5-бромоурацил, противоопухолевая активность, лектин.

Summary

Welchinska E.V. New 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*.

Investigation 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 the new *bis*-derivative of 5-bromouracile was synthesised, 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. 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*.

Key words: 5-bromouracile, antitumour activity, lectin.

Рецензент: д.фарм.н., проф. М.М. Слободянюк

УДК 615.074: 615.454.12

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ СЕЧОВИНИ В КРЕМІ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ПРИ СИНДРОМІ ДІАБЕТИЧНОЇ СТОПИ

А.А. Гончарова, І.І. Баранова, М.Є. Блажеєвський
Національний фармацевтичний університет (Харків)

Вступ

Захворювання на цукровий діабет в останні роки у зв'язку зі стрімким зростанням кількості хворих в усьому світі набуває загрозливого масштабу. Підвищений вміст глюкози в крові є причиною виникнення та швидкого прогресування специфічних для діабету ускладнень, таких як патологія серця, ниркова недостатність, сліпота, ураження стоп тощо [1, 2]. В Україні за даними МОЗ щорічно синдром діабетичної стопи стає причиною близько 3370 ампутацій нижніх кінцівок. Смерть від гангрени нижніх кінцівок у хворих на цукровий діабет спостерігається в 40 разів частіше, ніж у загальній популяції [3].

Дія існуючих лікарських препаратів спрямована на усунення інфекційного процесу, а також на загоєння вже наявного виразкового дефекту. Саме тому розробка лікарського засобу для застосування при синдромі діабетичної стопи, який сприяв би правильній обробці ніг при щоденному догляді, є перспективною задачею.

На базі Національного фармацевтичного університету було розроблено крем для застосування при синдромі діабетичної стопи [4, 5]. До складу крему як активні компоненти були введені α -ліпоева кислота, сечовина, та етерна олія чайного дерева. Враховуючи патогенез синдрому діабетичної стопи, як лікарську форму було обрано емульсію І-го роду на основі натуральних емоментів (оливкової олії та масла ши).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана у відповідності з планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету та є фрагментом теми «Технологія одержання оригінальних та комбінованих фармацевтичних засобів у різних лікарських формах» (№ держреєстрації 0108U009174).

Метою даного етапу експерименту є розробка методу якісного (підтвердження тотожності і/або здійснення ідентифікації) та кількісного визначення сечовини в розробленому кремі для його стандартизації.

Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії