

ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ ТА ПРОТИПУХЛИННОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ УРАЦИЛУ НА ГЕТЕРОТРАНСПЛАНТАТАХ ЗЛОЯКІСНОЇ ГЛІОМИ ЛЮДИНИ

¹О.В. Вельчинська, к.хім.н.; ²Н.І. Шарикіна, д.мед.н., професор;

³І.Г. Кудрявцева, д.фарм.н.; ⁴Н.Є. Чумак, ст.наук.с.

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

²Інститут фармакології та токсикології НАМН України, м. Київ

³Державний експертний центр МОЗ України, м. Київ

⁴Інститут екогієни і токсикології ім. Л.І. Медведя, м. Київ

РЕЗЮМЕ. Синтезовано та досліджено ряд потенційних преформованих аналогів піримідинів — моно- та біс-похідних 5-метилурацилу, в молекулах яких один або два гетероциклічних фрагменти пов'язані залишком молекули фторотану. Показано, що токсичність (LD_{50}) синтезованих сполук у 1,27-1,515 разів нижча, ніж у препарату порівняння 5-фторурацилу. Значення LD_{50} їх знаходяться в межах від 479 мг/кг до 568 мг/кг. Для синтезованого біс-похідного 5-метилурацилу виявлено значну протипухлинну активність відносно гетеротрансплантату гліоми людини (29,8%).

Ключові слова: пухлина, 5-метилурацил, 5-фторурацил, фторотан, гліома.

РЕЗЮМЕ. Синтезированы и исследованы ряд потенциальных преформированных аналогов пириимидинов — моно- и бис-производных 5-метилурацила, в молекулах которых один или два гетероциклических фрагмента связаны остатком молекулы фторотана. Показано, что токсичность (LD_{50}) синтезированных соединений в 1,27-1,515 раз ниже, чем у препарата сравнения 5-фторурацила. Значения LD_{50} их находятся в пределах от 479 мг/кг до 568 мг/кг. Для синтезированного бис-производного 5-метилурацила отмечена значительная противоопухолевая активность относительно гетеротрансплантата глиомы человека (29,8%).

Ключевые слова: опухоль, 5-метилурацил, 5-фторурацил, фторотан, глиома.

SUMMARY. A series of potential of preformed analogs of pyrimidines — mono- and bis-derivatives of 5-methyluracile, which molecules contains one or two heterocyclic's fragments, which connected by the remainder of molecule of fluorotan, were synthesized and investigated. It was showed the toxicity (LD_{50}) of compounds, which synthesized, is in 1,27-1,515 times a lower then one of preparation of comparing 5-fluorouracile. Data of its LD_{50} are at the limit from 479 mg/kg to 568 mg/kg. Bis derivative of 5-methyluracile has a strong antitumour action on the heterotransplantate of gliome of man (29,8%).

Key words: tumor, 5-methyluracile, 5-fluorouracile, fluorotan, gliome.

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 [1]. Наявність цих речовин в організмі людини й обумовила актуальність дослідження їхньої ролі у фізіології макроорганізму. Вивчається використання малих активних молекул для фармакопейних форм медичних біологічних препаратів з метою інгібіції пухлинного росту. Актуальність досліджень підтверджується чисельними роботами вітчизняної та світової літератури [1-3].

Пошуки шляхів елімінації пухлинних клітин із множинною лікарською стійкістю продовжуються. Розвивається сучасна концепція імунотерапії пухлин. Сучасні імунотерапевтичні агенти впливають як на пухлину, так і на різні регуляторні системи організму (в тому числі й на

імунну систему) і справляють протипухлинний ефект.

Останнім часом значно зросла кількість досліджень щодо синтезу нових похідних 5-фторурацилу та його хімічних аналогів, вивчення їхньої біологічної активності. Оскільки ван-дер-ваальсові радіуси водню та фтору близькі, можна очікувати, що 5-фторурацил, або його похідні, виконуватимуть роль субстрату та/або інгібітору ферментів і переважно поглинатися тканинами пухлини.

Молекули 5(6)-фтор(галоген) заміщених урацилів та їх похідних здатні виконувати роль фтор(галоген) вмісних синтонів у органічному синтезі, тому їх активно використовують для створення оригінальних біологічно активних молекул. Крім того, введення фтор (галоген) вмісних фармакофорів у гетероциклічну молекулу призводить до підвищення розчинності сполук у ліпідах та робить лікарські засоби

ефективнішими у зв'язку із легкістю їх транспортування в організмі [4, 5]. При цьому зазначена увага до фтормістких фрагментів у нових молекулах передбачає посилення анти-метаболічних властивостей сполук.

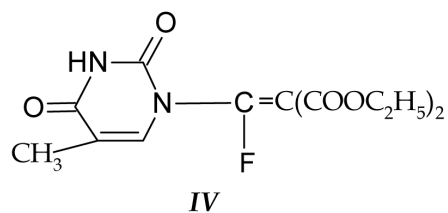
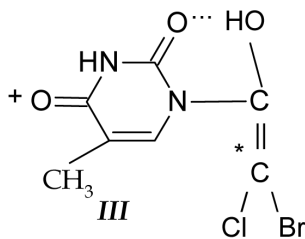
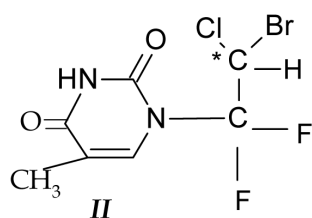
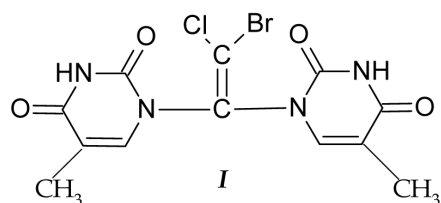
Метою даної роботи було створення нових похідних 5-метилурацилу, вивчення їх токсичності та протипухлинної активності.

Під час проведення хіміко-біологічних досліджень серед значної кількості синтезованих преформованих піримідинів нами були відібрані та досліджені сполуки із значущою протипухлинною дією [6].

Слід зазначити, що в молекулах більшості цих сполук гетероциклічні фрагменти пов'язані залишком молекули загального анестетика фторотану, який широко використовується в хірургічній онкологічній практиці [7, 8].

Гостру токсичність (LD_{50}) вивчено у порівнянні з препаратом 5-фто-

рурацил. Протипухлинну активність нових сполук $N_{(1)}, N_{(1')}$ -(2''-бром-2''-хлоретеніл)-біс-(5-метилурацил) (I), $N_{(1)}$ -(1',1'-дифтор-2'-бром-2'-хлоретил)-5-метилурацил (II), $N_{(1)}$ -(2'-бром-1'-гідрокси-2'-хлоретеніл)-5-метилурацил (III), 1,1-діетилкарбоксі-2-трифторметил-2-(5'-метилуридил- $N_{(1')}$)-етилен (IV) наступної формули:



нелінійних мишах — самцях з масою тіла 22 + 2 г при підшкірному шляху введення. Результати дослідження оброблено в альтернативній формі на 14 добу після введення. Статистична обробка проведена за [9]. Оскільки структурних аналогів синтезованих сполук в літературі не описано, препаратом порівняння був відомий протипухлинний лікарський засіб 5-

5-метилурацилу I менш токсичні (у 1,27-1,515 раза), ніж 5-фторурацил. Значення їх ЛД₅₀ знаходяться в межах від 479 мг/кг до 568 мг/кг.

Протипухлинна дія синтезованих сполук I-IV досліджена в експериментах з використанням пухлини головного мозку людини (операційний та біопсійний матеріал) в підкапсульному тесті за методом Богдана. При лікуванні гліобластоми людини критерієм значущості був відсоток гальмування росту гетеротрансплантату гліоми людини понад 25%. Курс лікувальних впливів становив 6 введень через добу при внутрішньоочеревинному шляху введення, в інтервалі доз 1/4- 1/5 ЛД₅₀. Результати оброблено через 24 години після закінчення лікування 10.

Виявлено, що протипухлинна активність біс-похідного 5-метилурацилу I значно перевищує прийнятий критерій значущості (>25,0% гальмування пухлинного росту). Маса гетеротрансплантату злоякісної гліоми після дії біс-похідного 5-метилурацилу I зменшилася до 1,85±0,091 мг, що відповідає за результатами морфологічного контролю 29,8% гальмування росту пухлини. Це в 1,2 раза більше прийнятого критерію активності при лікуванні гліобластоми 25%, що підтверджено при проведенні морфологічного контролю.

При порівняльному гістологічному дослідженні клітиннотканевих реакцій пухлини при лікуванні потенційною протипухлинною сполукою — біс-похідним 5-метилурацилом I в умовах субклітинного тестування встановлено залежність між вираженими регресивними змінами пухлин та рівнем гальмування їх росту. Зазна-

досліджено з використанням операційного та біопсійного матеріалу з пухлини мозку людини.

Дослідження параметрів гострої токсичності та протипухлинної активності моно- і біс-похідних 5-метилурацилу виконано в Інституті фармакології та токсикології АМН України. Вивчення гострої токсичності (ЛД₅₀) проведено на білих

фторурацил. Доза речовини при підшкірному шляху введення становила від 450 до 600 мг/кг. У піддослідних тварин спостерігалися тонічні судоми впродовж 1-2 годин, блювання.

Дослідження гострої токсичності синтезованих сполук I-IV (табл. 1) показало, що монопохідні 5-метилурацилу II-IV та біс-похідне

Таблиця 1

Параметри токсичності сполук I-IV у порівнянні з 5-фторурацилом

№ п/п	Сполука	ЛД ₅₀ , мг/кг
1.	$N_{(1)}, N_{(1')}$ -(2''-бром-2''-хлоретеніл)-біс-(5-метилурацил) (I)	515
2.	$N_{(1)}$ -(1',1'-дифтор-2'-бром-2'-хлоретил)-5-метилурацил (II)	485
3.	$N_{(1)}$ -(2'-бром-1'-гідрокси-2'-хлоретеніл)-5-метилурацил (III)	479
4.	1,1-діетилкарбоксі-2-трифторметил-2-(5'-метилуридил- $N_{(1')}$)-етилен (IV)	568
5.	5-фторурацил (препарат порівняння)	375

чений ефект вважається вираженням щодо подальшого вивчення біс-похідного 5-метилурацилу I при пухлинах головного мозку.

Висновок. Визначення одного з головних фармакологічних індексів моно- та біс-похідних 5-метилура-

цилу I-IV — гострої токсичності показало, що синтезовані сполуки відносяться до малотоксичних: значення ЛД₅₀ їх знаходяться в межах від 479 мг/кг до 568 мг/кг. Вони у 1,27-1,515 рази менш токсичні, ніж препарат порівняння 5-фторурацил.

Виявлено, що біс-похідне 5-метилурацилу I має значну протипухлинну дію відносно гетеротрансплантату гліоми людини (29,8%), що у 1,2 рази більше прийнятого критерію активності при лікуванні гліобластоми 25%.

ЛІТЕРАТУРА

1. 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.
2. 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.
3. Longley D.B. Mechanisms of action of 5-fluorouracil / D.B. Longley, D.P. Harkin // *Nature Rev. Cancer.* — 2004. — Vol. 4. — P. 230-238.
4. Барлоу Р. Введение в химическую фармакологию / Р. Барлоу — М.: Изд. ин. лит., 1959. — С. 107.
5. Ягупольский Л.М. Ароматические и гетероциклические соединения с фторсодержащими заместителями / Л.М. Ягупольский — Киев: Наукова думка, 1988. — С. 90 — 105.
6. Welchinska Hel.V. Biological activity of bacterial lectins and their molecular complexes with heterocyclic bis-adducts / Hel.V. Welchinska, B. Piecuszak, E.A. Kovalenko, N.I. Sharykina [et al.] // *Мікробіол. журн.* — 2003. — Т.65, №6. — С. 20-25.
7. 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.
8. Brown B.R. Biotransformation and hepatotoxicity of halothane // B.R. Brown, I.G. Sipes — *Biochem. Pharmacol.* — 1977. — Vol. 26. — P. 2091 — 2094.
9. 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.
10. 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.

Надійшла до редакції: 1.03.2011