

М. М. Марченко, Г. П. Копыльчук, И. А. Шмараков,  
О. В. Кеца, В. Н. Кушнир

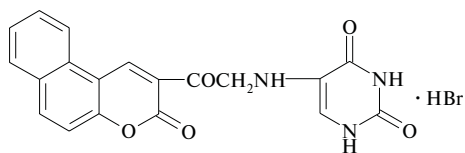
## СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРОБРОМИДА 5-(5',6'-БЕНЗОКУМАРОИЛ-3')МЕТИЛАМИНОУРАЦИЛА И ЕГО ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ

Черновицкий национальный университет имени Юрия Федьковича, Украина

Работа посвящена изучению противоопухолевой активности 5-(5',6'-бензокумароил-3')метиламиноурацила (БКУ) и его липосомальной формы. Для сравнения противоопухолевой активности исследуемого препарата с уже известным и широко используемым в онкологической практике производным урацила использовали 5-фторурацил. Показано, что полулетальной дозой БКУ является  $14,8 \pm 4,2$  мг/кг. При этом оптимальная эффективная доза препарата составляет 6 мг/кг, так как наряду с проявлением противоопухолевой активности обладает наиболее низкой токсичностью, что демонстрируется уменьшением темпов роста опухоли и увеличением продолжительности жизни на 19 %. Противоопухолевая активность липосомальной формы 5-(5',6'-бензокумароил-3')метиламиноурацила (лБКУ) количественно и качественно преобладает над цитостатическим действием не модифицированного БКУ и 5-фторурацила, что выражается наивысшими показателями торможения роста опухоли и увеличением продолжительности жизни подопытных животных.

Известно, что производные урацила обладают противоопухолевой активностью [1, 2]. Ближайшими по своей структуре и действию к данным соединениям являются гетероциклические соединения, объединяющие в себе структуры кумарина, 5,6-бензокумарина и гетероциклов с узловым атомом азота, проявляющие высокую противоопухолевую активность, а также антибактериальное действие [3].

Нами синтезировано производное 5,6-бензокумарина, содержащее в своей структуре фрагменты урацила (БКУ), и получена его липосомальная форма (лБКУ).



### Экспериментальная химическая часть

Гидробромид 5-(5',6'-бензокумароил-3')метиламиноурацила (БКУ) получен взаимодействием 5-аминоурацила с 3-(бромацетил)-5,6-бензокумарином в среде органических растворителей при 100 °С, строение БКУ подтверждено данными элементного анализа, ИК и ПМР спектров. К раствору 0,35 г (0,0025 моль) 5-аминоурацила в 100 мл диметилформамида (ДМФА) при температуре 100 °С прибавляли раствор 0,8 г (0,0025 моль) 3-(бромацетил)-5,6-бензокумарина в 50 мл толуола. Реакционную смесь выдерживали при температуре 120 °С 0,5 ч и оставляли на ночь. Оранжево-коричневые кристаллы фильтровали, промывали спиртом и высушивали при температуре 80–90 °С. Выход: 0,7 г (60 %) (т. пл. 265–267 °С). Диметилсульфоксид (ДМСО) – вода, 1:6. Вещество хорошо растворимо в ДМСО, ДМФА, водных растворах оснований.

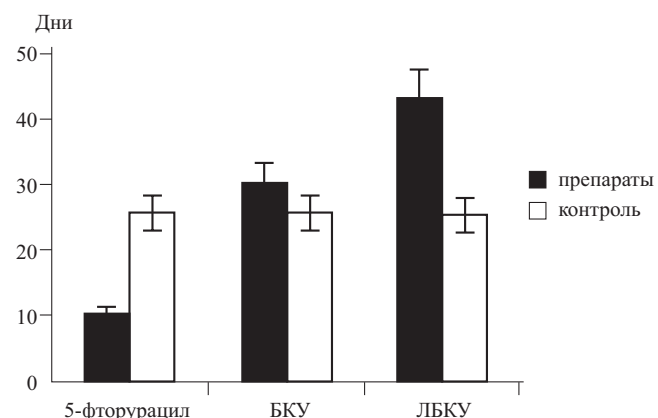
Спектры ЯМР <sup>1</sup>H сняты на приборе Gemini-300 в дейтерированном диметилсульфоксиде. ИК-спектры

сняты на спектрометре UR-20 в таблетках KBr. Контроль за чистотой и индивидуальностью полученных соединений осуществляли методом ТСХ на пластинках Silufol-254, проявляли парами йода. C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> · HBr. ИК-спектр (табл. KBr),  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 1730, 1720<sub>(с)</sub> (C=O); 3400, 3090 (NH).

Спектр ПМР (ДМСО-d<sub>6</sub>),  $\delta$  м.д.: 4,48 с (2H, N-CH<sub>2</sub>), 4,82 с (1H, NH), 6,41 д (1H, J 6 Гц), 7,66 м (2H, H<sub>аром</sub>), 7,8 т (1H, H<sub>аром</sub>, J 8 Гц), 9,4 с (1H, H<sub>аром</sub>), 10,21 д (1H, NH, J 5 Гц), 11,24 с (1H, NH<sub>имид</sub>).

Для приготовления лецитин-холестериновых липосом использовали кристаллический холестерин (фирмы "Синбиас", Россия) и яичный лецитин-стандарт (фирмы "Біолік", Харьков) в мольном соотношении 7:3. Липосомы получали методом замораживания-оттаивания, позволяющим ввести в липосомы 80 % лекарственного препарата [4]. Для этого брали лецитин-стандарт, холестерин и водный раствор манита в концентрации 0,15 моль/л.

Смесь липидов высушивали на роторном испарителе до образования пленки. К пленке липидов добавля-



Влияние различных форм производных урацила на среднюю продолжительность жизни крыс с карциномой Герена

Таблица 1  
Противоопухолевая активность различных форм производных урацила

Препарат	Доза, мг/кг	Т% (день)					УПЖ, %	Гибель от токсичности, %	Регрессия опухоли, %
		10	14	17	21	26			
БКУ	6	29	30	31	30	28	19	0	10
лБКУ	6	37	38	62	74	89	71	0	50
5-Фторурацил	7,5	95	—	—	—	—	—60	100	100

ли 10 % раствор БКУ в ДМСО и смесь диспергировали на механической мешалке. Суспензию липосом обрабатывали на ультразвуковом диспергаторе УЗДН 2Т с погруженным излучателем в режиме 44 кГц 20 – 30 мкА на протяжении 3 мин.

Полученные бислойные липосомы в закрытой пробирке быстро замораживали в жидком азоте (–195 °С) и сразу помещали пробирку на водяную баню (20 – 25 °С). Размороженную смесь снова замораживали и процедуру повторяли 5 раз. После последнего замораживания смесь размораживали при комнатной температуре. После ультрафильтрации образцы липосом просматривали под микроскопом.

#### Экспериментальная биологическая часть

Объектом исследования были белые беспородные крысы массой 110 – 130 г с трансплантированной карциномой Герена. Начиная с 7 дня после перевивки опухоли, животные были разделены на группы, которым вводили исследуемые препараты. Первой группе животных вводили ежедневно перорально липосомальный БКУ (лБКУ) в эффективной дозе 6 мг/кг. Второй группе вводили БКУ, растворенный в физиологическом растворе, в аналогичной к первой группе дозе. Третьей группе вводили препарат сравнения 5-фторурацил в дозе 7,5 мг/кг [2].

Противоопухолевый эффект исследуемых препаратов оценивали по степени торможения роста опухоли (Т%) (на 7, 10, 14, 17, 21, 26 дни эксперимента) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ) по отношению к нелеченому контролю. Объем опухоли определяли по формуле  $V = 0,4ab^2$ , где  $a$  — больший диаметр опухоли,  $b$  — меньший диаметр опухоли. При этом активными в противоопухолевом отношении считали вещества, обуславливающие торможение роста карциномы Герена более чем на 70 % и увеличива-

Таблица 2  
Влияние производных урацила на рост карциномы Герена ( $M \pm m, n = 6$ )

День	Контроль (объем, см <sup>3</sup> )	5-Фторурацил (объем, см <sup>3</sup> )	БКУ (объем, см <sup>3</sup> )	лБКУ (объем, см <sup>3</sup> )
7	0,32 ± 0,056	0,331 ± 0,092	0,348 ± 0,102	0,369 ± 0,103
10	2,59 ± 0,38	0,121 ± 0,036*	1,86 ± 0,28	1,62 ± 0,21
14	6,72 ± 0,66	—	4,71 ± 0,57*	4,21 ± 0,65*
17	9,61 ± 1,42	—	6,61 ± 0,68*	3,72 ± 0,46*
21	9,86 ± 1,63	—	6,82 ± 0,93*	2,52 ± 0,31*
26	10,32 ± 1,84	—	7,44 ± 1,32*	1,17 ± 0,23*
28	—	—	7,68 ± 1,43*	0,734 ± 0,092*
30	—	—	7,44 ± 1,38*	0,592 ± 0,064*
35	—	—	—	0

\* —  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

ющие продолжительность жизни опытных животных на 25 % [2].

Установлено, что лБКУ обладает более высокой противоопухолевой активностью по сравнению с БКУ и 5-фторурацилом (рисунок, табл. 1).

Высокий уровень цитостатической активности лБКУ проявляется в прогрессирующем увеличении Т% до 89 % на 26-й день эксперимента (табл. 2), а также полной регрессией карциномы Герена в 50 % экспериментальных животных.

Нелипосомальный БКУ обладает низкой противоопухолевой активностью (Т% составляет 28 – 31 %, полная регрессия новообразования наблюдается в 10 % случаев).

Торможение роста опухоли (90 %) наблюдается и при введении 5-фторурацила, однако высокая токсичность препарата приводила к гибели подопытных животных, в то время как лБКУ, наряду с высоким уровнем цитостатической активности, не обуславливал гибели организма опухоленосителя.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Е. А. Парфенов, Л. Д. Смирнов, *Хим.-фарм. журн.*, **22**(12), 1438 – 1448 (1988).
2. *Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США*, З. П. Софьина, А. Б. Сыркин (СССР), А. Голдин, А. Кляйн (США) (ред.), Медицина, Москва (1979).
3. И. В. Орленко, С. Н. Коваленко, И. А. Журавель и др., *Фізіологічно активні речовини*, № 3, 25 – 28 (2001).
4. В. Г. Будкер, Т. Е. Вахрушева, Е. В. Кеселева, Н. Б. Христолюбова, *Хим.-фарм. журн.* **21**(1), 347 – 352 (1987).

Поступила 14.02.05.

## SYNTHESIS AND ANTITUMOR ACTIVITY OF 5-(5',6'-BENZOCOUMARO-3'-YL)-METHYLAMINORACIL AND ITS LIPOSOMAL MEDICINAL FORM

M. M. Marchenko, G. P. Kopyl'chuk, I. A. Shmarakov, O. V. Ketsa, and V. N. Kushnir

Chemivtsy National University, Chemivtsy, Ukraine

The antitumor activity of 5-(5',6'-benzocoumaro-3'-yl)methylaminouracil (AUBC) and its liposomal medicinal form was studied in comparison to 5-fluorouracil, the well-known antitumor drug widely used in the oncological practice. A halflethal dose of AUBC is  $14.8 \pm 4.2$  mg/kg. At the same time, the effective dose of the drug is 6 mg/kg. AUBC combines low toxicity with significant antitumor activity, which is manifested by a decrease in the model tumor growth rate (TGR) at a 19 % increase in the lifetime (LT) of experimental animals. The antitumor activity of the liposomal form (L-AUBC) is quantitatively and qualitatively superior to that of the nonmodified compound and 5-fluorouracil, which is manifested by the maximum values of TGR inhibition and LT increase.