



UDK: 547.853.1+547-327

Shohzod OCHILOV,

O'zbekiston Milliy universiteti tayanch doktorant

E-mail: shahzodochilovnuu@gmail.com

Muxriddin YUSUF OV,

O'zbekiston Milliy universiteti o'qituvchisi

Zavqiddin NURBOBOYEV,

O'zbekiston Milliy universiteti talabasi

Azmiddin ABDUMALIKOV,

Toshkent viloyati Nurafshon shahri Prezident maktabi o'quvchisi

Ibrohim O'AVALIYEV,

Toshkent tumani 1- maktabi o'qituvchisi

Anvar ABDUSHUKUROV,

O'zbekiston Milliy universiteti professori

Habibullo TOJIMUHAMMEDOV,

O'zbekiston Milliy universiteti professori

Alimjon MATCHANOV,

Akademik A.S.Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo instituti professori

O'zMU dotsenti v.b. PhD F.Sapayev taqrizi asosida.

SYNTHESIS AND STUDY OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF A NEW DERIVATIVE OF 5-FLUOROURACIL BASED ON 3-FLUORO 4-NITRO N-CHLOROACETYL ANILINE

Annotation

In this work, a novel product was synthesized by the reaction of the chloroacetylation product of 3-fluoro 4-nitro aniline with 5-fluorouracil. The process was carried out in 2 steps, firstly, the chloroacetylation reaction of 3-fluoro 4-nitro aniline and in the second step, the synthesis of a new product with 5-fluorouracil from the intermediate compound. The structure of the product was confirmed using ^1H , ^{13}C NMR, IR and Mass spectrometry methods. The liquefaction temperature, reaction yield, solubility of the obtained product were determined and the biological activity was tested in 2 cancer cells: HT-29 (colon cancer cell) and MCF-7 (breast cancer cell).

Key words: 5-fluorouracil, chloroacetyl chloride, 3-fluoro 4-nitroaniline.

СИНТЕЗ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО 5-ФТОРУРАЦИЛА НА ОСНОВЕ 3-ФТОР-4-НИТРО N-ХЛОРАЦЕТИЛ АНИЛИНА И ИЗУЧЕНИЕЕГО БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Аннотация

В данной работе синтезировано новое соединение в результате реакции продукта хлорацетилирования 3-фтор-4-нитроанилина с 5-фторурацилом. Процесс осуществлялся в две стадии: сначала проведена реакция хлорацетилирования 3-фтор-4-нитроанилина, а на второй стадии – проведен синтез нового продукта в реакции 3-фтор-4-нитро-N-хлорацетилас 5-фторурацилом. Строение продукта подтверждено методами ЯМР ^1H , ^{13}C , ИК и масс-спектрометрии. Определены температуру плавления, выход и растворимость полученного продукта, и изучена его биологическая активность на 2 раковых клетках: HT-29 (клетка рака толстой кишки) и MCF-7 (клетка рака молочной железы).

Ключевые слова: 5-фторурацил (5-ФУ), хлорацетилхлорид, 3-фтор-4-нитроанилин.

5-FTORURATSILNING 3-FTOR 4-NITRO N-XLORATSETIL ANILIN ASOSIDAGI YANGI HOSILASINI SINTEZ QILISH VA BIOLOGIK FAOLLIGINI O'RGANISH

Annotatsiya

Ushbu maqolada 3-фтор 4-нитро anilinning xloratsetillash mahsulotining 5-ftoruratsil bilan reaksiyasi yordamida yangi birikma sintez qilindi. Jarayon 2-bosqichda amalga oshirilgan bo'lib, dastlab 3-фтор 4-нитро anilinning xloratsetillash reaksiyasi o'tkaziladi va ikkinchi bosqichda olingan birikmaning 5-ftoruratsil bilan reaksiyasi asosida yangi mahsulot sintez qilindi. Mahsulotning tuzilishi ^1H , ^{13}C YaMR, IQ va Mass spektrometriya usullari yordamida tasdiqlandi. Olingan mahsulotning suyuqlanish harorati, reaksiya unumi, eruvchanligi aniqlandi va biologik faolligini tekshirish uchun 2 ta saraton hujayrasi: HT-29 (yo'g'on ichak saraton hujayrasi) va MCF-7 (ko'krak saratoni hujayrasi)larda o'rganildi.

Kalit so'zlar: 5-Ftoruratsil (5-FU), xloratsetilxlorid, 3-фтор 4-нитро anilin.

Kirish. 5-Ftoruratsil va uning hosilalari o'sma kasalliklar(oshqozon-ichak, ginekologik, bosh, bo'yin va ko'krak saratoni)jini davolashda uzoq yillardan buyon foydalanib kelinadi. 5-Ftoruratsil saraton kasalliklarga qarshi kuchli vosita bo'lib shu bilan bir vaqtda ko'plab salbiy xususiyatlarga ega. 5-Ftoruratsil qo'llanilgan bemorlarda og'iz va ichakning yallig'lanishi, ko'ngil aynishi, soch to'kilishi,markaziy nerv sistemasi shikastlanishi, oq qon hujayralari va trombositlar miqdori tushib ketishi kabi salbiy ta'sirlar keltirib chiqargan. Biroq, 5-Ftoruratsil asosida olingan hosilalarning biologik faolliklari dastlabki moddaga nisbatan salbiy xususiyatlari ancha kamligi aniqlangan. 5-Ftoruratsil organik sintez uchun pirimidin asosidagi geterosiklik aromatik birikma bo'lib,

5-Ftoruratsilning yangi, selektiv, metabolik barqaror va zararli xossalari kam bo'lgan hosilalarini sintez qilish, biologik faolliklarini o'rganish, tibbiyot sohasida foydalanishga tadbir qilish farmasevtika sohasining dolzarb vazifalaridan biri hisoblanadi.

Mavzuga oid adabiyotlar tahlili. Saraton kasalliklari dunyodagi o'limlarning asosiy sababidir. 2008 yilda 7,6 million inson saraton kasalligidan vafot etganligi qayd etilgan bo'lib bu esa o'sha yili barcha o'limlarning 13 foizini tashkil etdi. Saratonning turli xil ko'rinishlari: prostata, o'pka, yo'g'on ichak va ko'krak bezi saratoni kabi turlari bo'lib, ammo bular ichida yo'g'on ichak saratoni butun dunyo bo'ylab eng ko'p o'limga olib keladi [1]. 5-Ftoruratsil (5-Fu) birinchi marta 1957-yilda sintez qilingan bo'lib u yo'g'on ichak, oshqozon va ko'krak bezi saratoni kabi jiddiy o'sma kasalliklarni davolash uchun tez-tez ishlatiladigan saratonga qarshi vositalardan biridir [2]. 5-Fu aminokislotalar, peptidlar, fosfolipidlar va polimerlarga birlashtirilgan bir qator 5-Fu dori vositalarining ishlab chiqilganligi haqida ma'lumotlar bor [3]. Ushbu 5-Fu N-1 va N-3 o'rin almashgan hosilalarining farmakologik va farmakokinetik xususiyatlari yaxshilangani aniqlangan. Bular orasida yuqori biologik faollik, tanlovchanlik, metabolik barqarorlik, yaxshi so'riluvchanlik va past zaharlilik kabi xossalarga ega bo'lgan birikmalar mavjud [4]. Alfa-tokoferol- tabiiy E vitaminining eng faol komponenti bo'lib uning asosida yangi pH sezgir alfa-tokoferol-5-ftoruratsil birikmasi sintez qilingan. Buning uchun 5-Fu monoxlorsirka kislotasi bilan ishqoriy sharoitda 2 soat davomida reaksiya olib borildi va olingan 5-ftoruratsilning hosilasiga tetragidrofuran erituvchisida, argon gazi atmosferasida 50°C haroratda alfa-tokoferol qo'shilgan va 48 soat davomida magnitli aralastirgichda reaksiya olib borilgan[5]. Qing-Wei Wang va boshqa bir qator olimlar tomonidan 5-Ftoruratsilning pektin hosilasi sintez qilingan. Dastlab 5-Fu ning monoxlorsirka kislotasi o'rtasidagi reaksiya natijasida olingan oraliq mahsulotga pektinning DMSO dagi eritmasi qo'shib 50° C haroratda 96 soat davomida aralastirilib ustiga suvsiz etanol qo'shilgan va filtrlangan. Cho'kma yana suvsiz DMSOda eritilgan va suvsiz etanol qo'shilgan, so'ngra filtrlangan. Bu jarayon ikki marta takrorlangan. Olingan 5-FU-PT hosilasi 60° C da 24 soat davomida quritilgan YSSX tahlili 5-FU-PT tarkibida erkin 5-FU-sirka kislotali birikmasining yo'qligini ko'rsatgan[6]. Artur Jablonski tomonidan o'rtta simantrenning 5-ftoruratsilli hosilalari sintez qilingan, barcha birikmalar spektroskopik usullar bilan tavsiflangan va ikkita hosilaning kristall tuzilishi, rentgen kristallografiyalari aniqlangan[7]. Amerikalik olimlar tomonidan 2003 – yilda o'simta kasalliklarga ta'sirchanligi va effektivligini oshirish, xavfsiz preparatlar olish uchun birinchi marta yangi 5-Ftoruratsilning diazenumdiolat hosilasi sintez qilingan[8]. Keyingi zilanishlarda ikkita 5-FU qismi gemiaminal sifatida bisasetallarga birlashtirilgan, strukturaning har ikki uchida ikkita 5-ftoruratsil qismi va ikkita amid bog'lovchisi bo'lgan ikkita yangi o'sma kasalliklarga qarshi dori sintez qilingan[9]. 5-Ftoruratsilning mikroto'liqlikni nurlatish ta'sirida etilxloratsetat bilan suv erituvchisida, 105° C va 8 minut davomida trietilamindan foydalanib N-1/N-3 nukleofil almashinish reaksiyalarini olib borilgan, ammo maxsulot juda kam unumlarda hosil bo'lgan. Olingan izomerlarning tuzilishi tasdiqlanib biologik faolligi o'rganilgan [10]. 5 -Fu ning o'simtada selektivligi yuqori emasligi sababli , uni terapevtik qo'llash suyak ko'migi, oshqozon-ichak trakti va markaziy asab tizimining jiddiy zararlanishiga olib kelgan. Ushbu muammolarni hal qilish uchun 5-Fu strukturasi ko'plab modifikatsiyalari amalga oshirilgan. Mazkur ishda 3-ftor 4-nitro anilinning xloratsetillash mahsulotini 5-Ftoruratsil bilan reaksiyalari o'rganildi va tuzilishi ¹H, ¹³C YaMR ,IQ va Mass spektrometriya usullari yordamida tasdiqlandi. Bundan tashqari olingan mahsulotning suyuqlanish harorati, reaksiya unumi, eruvchanligi aniqlandi va biologik faolligini o'rganish uchun 2 ta saraton hujayrasi: HT-29 (yo'g'on ichak saraton hujayrasi) va MCF-7 (ko'krak saratoni hujayrasi) ga ta'siri tekshirildi.

Tajriba qismi

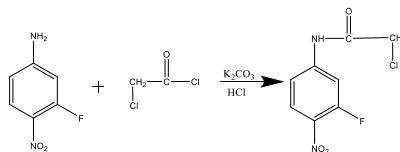
Olingan mahsulotning suyuqlanish haroratini o'lchash uchun M-560 jihozdan foydalanildi. ¹H va ¹³C YaMR spektrlari DMSO erituvchisida VARIAN MR 400 MHz spektrometrlarida olindi. Yuqori aniqlikdagi massa spektrometriyalari (HRMS) AB SCIEX QSTAR Elite yordamida mass analizi o'rganildi. IQ spektrlari Fure-spektrometr Bruker Invenio S-2021 4000–400 cm⁻¹ ATR jihozida KBr yordamida o'lchandi.

Tadqiqot natijalari va muhokamalar

Sintez metodi

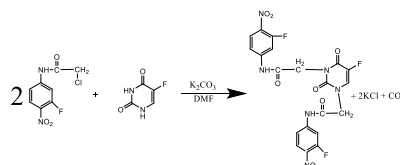
5-Ftoruratsil (5-Fu) ning 3-ftor 4-nitro N-xloratsetil anilin asosida yangi hosilasini sintez qilish jarayoni ikki bosqichda amalga oshirildi. Birinchi bosqichda 3-ftor 4-nitro anilinning N- xloratsil mahsulotini olish uchun dastlab aromatik aminning (0,01 mol) miqdori 100 ml li tubi yumaloq kolbada atsetonitrilda eritildi, ustiga K₂CO₃ tuzi (0,01 mol, 1.38 gr) qo'shildi va haroratni -1-3 C° gacha pasaytirib 30 min davomida magnitli aralastirgichda xloratsilxlorid (0,01 mol, 0.8 ml) tomchilatib qo'shildi. So'ngra 2 soat davomida ultra tovushli jihozda qoldirildi va aralashma YQQX yordamida (geksan:atseton, 1-1.5) tekshirildi va tozalanib qurultildi.

Sxema-1

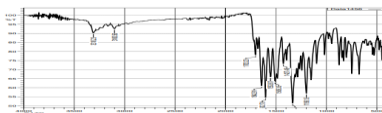


Reaksiyaning ikkinchi bosqichida 5-Ftoruratsil (5-FU) (0.000625 mol, 0.081 gr) 2 ml DMFA da xona haroratida eritildi va ustiga K₂CO₃ (0.00125 mol, 0.1725 gr) tuzi qo'shildi. So'ngra aralastirilgan holda olingan 3-ftor 4-nitro N-xloratsetil anilin (0.00125 mol) ta'sir ettirildi va reaksiya 10-12 soat davomida ultra tovushli suv hammomida xona haroratida olib borildi. Reaksiyon aralashma YQQX yordamida (geksan:atseton, 1-1.5) har ikki soatda tekshirildi va tozalandi.

Sxema-2



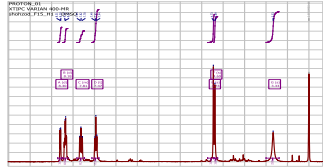
Sariq rangli, kukunsimon mahsulot unumi 66%, suyuqlanish harorati 310-312°C, Rf=0.64 (sistema atseton-geksan 2-3 nisbat). Tuzilishi IQ, ¹H, ¹³C YaMR spektroskopiya va mass spektrometriya usullaridan foydalanib aniqlandi.



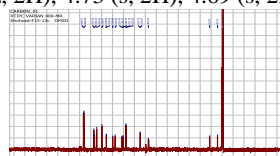
1-rasm. Mahsulotning IQ spektri. (KBr): $\nu=3310$ (NH), 3100 (Ar-H), 1703, 1642, 1602 (C=O), 1553 (aromatik C=C), 1427 (CH₂-C=O), 1199 (C-F) cm⁻¹.



2-rasm. Mahsulotning Mass spektri. HR-ESI-MS m/z 521.07 [M - H]⁻ (umumiy formula C₂₀H₁₃F₃N₆O₈, 522.22).



3-rasm. Mahsulotning ¹H YaMR (400 MHz, dms) δ 8.30 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H), 8.18 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.91 – 7.73 (m, 2H), 7.47 (t, $J = 9.7$ Hz, 2H), 4.73 (s, 2H), 4.69 (s, 2H), 3.33 (s, 2H).



4-rasm. Mahsulotning ¹³C YaMR spektri (101 MHz, dms) δ 166.51, 166.09, 157.00, 156.33, 154.42, 149.67, 145.66, 145.55, 139.80, 137.54, 131.43, 130.52, 130.19, 127.70, 127.65, 114.73, 114.67, 107.27, 51.35, 44.19.

Biologik faolligi

Mahsulotning biologik faolligi 2 ta saraton hujayralariga ta'siri asosida o'rganildi (50 mmol/l). Natijalar shuni ko'rsatdiki olingan mahsulot HT-29 (yo'g'on ichak saraton hujayrasi) uchun ingibirlash ko'rsatkichi 75.30% (5-FU=40.75%) va IC₅₀=21.48±1.07. MCF-7 (ko'krak saraton hujayrasi) uchun mahsulotning ingibirlash ko'rsatkichi 23.05% 5-FU uchun esa 41.49% natijani qayd etdi.

Xulosa. Ilk bor 5-Ftoruratsilning 3-ktor 4-nitro N-xloratsetil anilin asosidagi yangi hosilasi sintez qilindi. Olingan birkmaning tuzilishi IQ, Mass va H¹,C¹³ YaMR spektrometriya usullari yordamida tasdiqlandi. Mahsulotning suyuqlanish harorati,reaksiya unumi,eruvchanligi aniqlandi va biologik faolligini o'rganish uchun 2 ta saraton hujayrasi: HT-29 (yo'g'on ichak saraton hujayrasi) va MCF-7 (ko'krak saraton hujayrasi)ga tekshirildi.Natijalar shuni ko'rsatdiki mahsulotning HT-29 hujayrasidagi faolligi 5-FU ga qaraganda kuchliroq biroq MCF-7 hujayrasiga ta'siri 5-FU ga nisbatan kuchsiz faollikga ega.

ADABIYOTLAR

- Sharma R. et al. Design, synthesis and ex vivo evaluation of colon-specific azo based prodrugs of anticancer agents //Bioorganic & medicinal chemistry letters. – 2013. – T. 23. – №. 19. – C. 5332-5338.
- Cunningham, D.; James, R. D. Integrating the oral fluoropyrimidines into the management of advanced colorectal cancer. Eur. J. Cancer 2001, 37, 826-834.
- Zhang, F. M.; Yao, X. J.; Tian, X.; Tu, Y. Q. Synthesis and Biological Evaluation of New 4β-5-Fu substituted 4'-Demethylepipodophyllotoxin Derivatives. Molecules 2006, 11, 849-857.
- Tian Z. Y., Du G. J., Xie S. Q., Zhao J., Gao W.Y., and Wang Ch. J. Synthesis and bioevaluation of 5-fluorouracil derivatives //Molecules. – 2007. – T. 12. – №. 11. – C. 2450-2457.
- Li D. W., Tian F.F., Ge Y.Sh., Ding X.L.,J.H.Li, Xu Z.Q., Zhang M.F., Han X.L., Li R., Jianga F. L. and Liu Y. A novel pH-sensitive (±)-α-tocopherol-5-fluorouracil adduct with antioxidant and anticancer properties //Chemical Communications. – 2011. – T. 47. – №. 38. – C. 10713-10715.
- Wang Q. W., Liu X.Y., Liu L., Feng J., Li Y.H., Guo Z.J.and Mei Q.B. Synthesis and evaluation of the 5-fluorouracil-pectin conjugate targeted at the colon //Medicinal Chemistry Research. – 2007. – T. 16. – C. 370-379.
- Jablonski A., Matczak K., Koceva-Chyla A., Durka K., Steverding D., Jakubiec-Krzesniak K., Solecka J., Trzybinski D.,Wozniak K., Andreu V., Mendoza G., Arruebo M., Kochel K., Krawczyk B., Szczukocki D., and Kowalski K. Cymantrenyl-nucleobases: Synthesis, anticancer, antitrypanosomal and antimicrobial activity studies //Molecules. – 2017. – T. 22. – №. 12. – C. 2220.
- Cai T. B., Tang X., Nagorski J., Brauschweigerb P.G. and Wanga P.G. Synthesis and cytotoxicity of 5-fluorouracil/diazoniumdiolate conjugates //Bioorganic & medicinal chemistry. – 2003. – T. 11. – №. 23. – C. 4971-4975.
- Dominguez J. F., Marchal J.A.,Correa A., Carrillo E.,Boulaiz H., Aranega A., Galloa M.A. and Espinosaa A. Synthesis and evaluation of new 5-fluorouracil antitumor cell differentiating derivatives //Bioorganic & medicinal chemistry. – 2003. – T. 11. – №. 3. – C. 315-323.
- Morales F., Ramirez A., Conejo-Garcia A., Morata C., Marchal J.A., Campos J.M. Anti-proliferative activity of 2, 6-dichloro-9-or 7-(ethoxycarbonylmethyl)-9H-or 7H-purines against several human solid tumour cell lines //European Journal of Medicinal Chemistry. – 2014. – T. 76. – C. 118-124.
- 18-124.