

Вельчинская Елена Васильевна

1,1-БИС-[БЕНЗИМИДАЗОЛИЛ-1'-ИЛ]-2-БРОМО-2'-ХЛОРОЭТИЛЕНЬ: СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ

Ключевые слова: бензимидазол, 5-фторурацил, галотан, опухоль, лектин.

Синтезирован и исследован ряд потенциальных преформированных аналогов пуринов – бис-производных бензимидазола, в молекулах которых два гетероциклических фрагмента связаны остатком молекулы галотана; их комплексы с бактериальным лектином *Bacillus polymyxa* 102 KGU. Показано, что значения острой токсичности (LD50) полученных соединений находятся в пределах от 282 мг/кг до 235 мг/кг. Для синтезированного бис-производного бензимидазола отмечена значительная противоопухолевая активность относительно гетеротрансплантата глиомы человека (43,8%). Молекулярный комплекс бис-производного бензимидазола и *Bacillus polymyxa* 102 KGU обладает сильным противоопухолевым действием на Лимфосаркоме Плисса (83,01%).

Keywords: benzimidazole, 5-fluorouracile, halothane, tumour, lectine.

*A series of potential of preformed analogs of pyrimines – bis-derivatives of benzimidazole, which molecules contains two heterocyclic fragments which connected by the remainder of molecule of halothane; their complexes with bacterial lectine *Bacillus polymyxa* 102 KGU were synthesized and investigated. It was showed the critical toxicity (LD50) of compounds which obtained are from 282 mg/kg to 235mg/kg. Bis-derivative of benzimidazole has a strong antitumour action on the geterotransplantate of gliome of human (43,8%). Molecular complex of bis-derivative of benzimidazole and *Bacillus polymyxa* 102 KGU has a strong antitumour action on LS Plissa (83,01%).*

Введение

Одним из наиболее успешных направлений поиска новых противоопухолевых средств является исследование антиметаболитов пуринового обмена, которые выступают в качестве преформированных соединений в цепочке биосинтетических процессов (ДНК, РНК, специфические белки), тормозят рост опухоли [1, с. 150–200; 2, с. 100–150; 6, с. 107–114; 11, с. 265–277].

В арсенале современных противоопухолевых средств значительное место занимают вещества, которые относятся к азотсодержащим гетероциклическим системам и являются биоизостерными аналогами ряда природных соединений [8, с. 12–18; 12, с. 1025–1032].

Однако, сегодня указанное направление не является достаточно развитым и нуждается в более системном подходе в решении вопросов обоснованного отбора перспективных веществ, в изучении возможностей создания на их основе лекарственных форм, а также дизайна фармакологических исследований и анализа рациональной терапии.

В связи с этим, работа, посвященная проблемам создания противоопухолевых препаратов на основе производных соединений пуринового ряда, представляет собой значительный научный интерес.

Как известно, новые антиметаболиты пуринового и пиримидинового ряда способны воздействовать на структуру и функции нуклеиновых кислот, малых активных молекул [2, с. 100–150; 12, с. 1025–1032].

Известно, что раковые клетки используют молекулы урацила активнее, чем нормальные клетки.

Кроме того, молекулы замещенных урацилов или пуринов способны выполнять роль галогенсодержащих синтонов в органическом синтезе, (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 [3, с. 18–23; 10, с. 183–200].

Авторами работы [4, с. 2020–2021] предложен метод введения фармакофорных групп, содержащих галогены, в молекулы аренов в условиях межфазного катализа.

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.

Целью данной работы является получение преформированных пуринов, изучение их химических и физико–химических характеристик, конструирование их молекулярных комплексов (молекулярных смесей) с противоопухолевыми бактериальными лектинами, изучение биологических свойств, а именно–противоопухолевой активности.

Материалы и методы

Объектами исследований были: новые производные бензимидазола, синтезированные на основе бензимидазола и фторотана; бактериальный лектин сапрофитного штамма *Bacillus polymyxa* 102 KDU (далее лектин 102); молекулярные комплексы новых производных бензимидазола и лектина 102.

Индивидуальность синтезированных соединений контролировали методом тонкослойной хроматографии на пластинах Silufol–254 в системе растворителей ацетонитрил–гексан, 2:1.

ГЖХ проводили на газожидкостном хроматографе «Perkin Elmer» с УФ–детектором («Perkin», Germany).

ИК–спектры записывали на спектрофотометре UR–20 («Charles Ceise Nena», Germany).

Спектры ¹H ЯМР записывали на приборах «Bruker WP–200» («Bruker», Switzerland), «Varian T–60» («Varian», USA) с рабочей частотой 200–132МГц в DMSO–d₆ с использованием тетраметилсилана в качестве внутреннего стандарта.

1,1–Бис–[бензимидазол–1’–ил]–2–бромо–2’–хлорэтилен (III).

Приготовление раствора №1. 0,25 г калий гидроксида (0,0044 моль); 0,025 г дибензо–18–краун–6–эфира в 20 мл сухого бензена 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 1,67 г (0,012 моль) фторотана (I) в 20 мл сухого эфира.

Приготовление раствора №2. 2,83 г (0,024 моль) бензимидазола растворяли в 40 мл сухого диметилформамида при температуре 60°C. Горячий раствор №2 прикапывали через делительную воронку к раствору №1, перемешивали при температуре 80–90°C 11 часов, фильтровали, охлаждали, отгоняли растворители. Остаток – осадок кипятили с 30 мл ацетонитрила, промывали водой, ацетонитрилом, диэтиловым эфиром, сушили в вакууме водоструйного насоса. Продукт – кристаллический порошок кремового цвета,

Аналогично синтезировали соединения:

1,1-*bis*-[2'-метилбензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (IV),

1,1-*bis*-[5'-метилбензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (V),

1,1-*bis*-[2'-хлоробензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (VI).

Для создания молекулярных комплексов на основе синтезированных соединений и бактериального лектина был отобран наиболее активный продуцент внеклеточных лектинов: сапрофитная культура *Bacillus polymyxa* 102 KGU из Украинской коллекции микроорганизмов ИМВ НАНУ.

Культивирование бактерий проводили в модифицированной среде Гауэ. Лектины получали из культуральной жидкости, как описано ранее [5, с. 44–48; 7, с. 30–158].

Бактериальные клетки отделяли центрифугированием при 6000g на протяжении 20 минут. Лектины получали из освобожденной от клеток культуральной жидкости (КЖ) путем высаливания аммония сульфатом при насыщении 70%.

Молекулярные комплексы новых бис-производных гетероциклов с бактериальным лектином получали растворением компонентов в физиологическом растворе в соотношении 1:1.

Для определения среднетоксической дозы ЛД₅₀ синтезированных соединений, бактериального лектина и их молекулярных комплексов использовали экспресс-метод В.Б. Прозоровского [9, с. 407–509].

Согласно фармакологическим подходам к изучению биологически активных веществ, стартовые исследования начинаются с определения их токсичности.

Поскольку структурные аналоги синтезированных соединений в литературе не описаны, препаратом сравнения был известный противоопухолевый препарат 5-фторурацил (5-FU). Он относится к малотоксичным соединениям и имеет значение ЛД₅₀ 375 мг/кг.

В качестве подопытных животных использовались белые нелинейные мыши-самцы с массой тела 17,0±2,0 г и 22,0±2,0 г.

Путь введения растворов – подкожный.

Определение противоопухолевой активности синтезированных соединений, их молекулярных смесей с бактериальными лектинами выполнялось на моделях экспериментального опухолевого роста разного гистогенеза:

- глиобластоме мозга человека,
- лимфосаркоме Плисса.

Путь введения растворов – внутрибрюшинный.

Общепринятым критерием значения для веществ с противоопухолевой активностью считался процент торможения роста опухоли – более 50% [9, с. 407–509].

Обсуждение результатов

По новому, разработанному автором методу синтеза, взаимодействием фторотана в качестве фторсодержащего синтона и замещенными бензимидазолами в молярном соотношении 1:2, в системе растворителей (бензен-диметилформамид-диэтиловый эфир) в условиях межфазного катализа дибензо-18-краун-6-эфиром в щелочной среде синтезированы новые бис-производные бензимидазолов с фармакофорной группой =C=CBrCl, (III – VI) (схема 1).

Данные элементного анализа синтезированных соединений III–VI соответствуют вычисленным значениям (табл. 1).

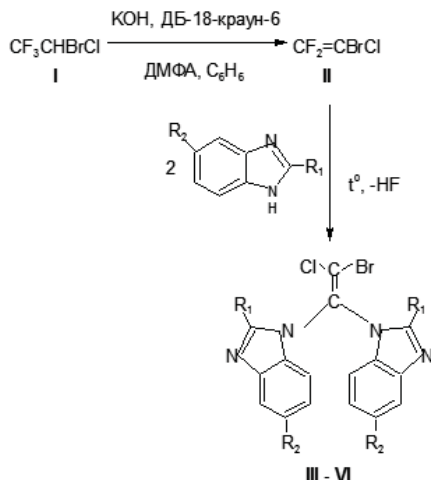


Схема 1. Синтез бис-производных III-VI,
 где R1 = R2 = H (III); R1 = CH3, R2 = H (IV); R1 = H, R2 = CH3 (V);
 R1 = Cl, R2 = H (VI)

Таблица 1
 Данные элементного анализа, брутто-формула, т.пл., выход синтезированных соединений III-VI

Соединение	R ₁	R ₂	Выход, %	Т.пл., °С	Найдено, N, %	Брутто-формула, М.м.	Расчитано, N, %
III	H	H	53	222–225	14.85	C ₁₆ H ₁₀ BrClN ₄ 373.64	14.90
IV	CH ₃	H	51	220–223	13.92	C ₁₈ H ₁₄ BrClN ₄ 401.70	13.94
V	H	CH ₃	45	221–224	13.89	C ₁₈ H ₁₄ BrClN ₄ 401.70	13.94
VI	Cl	H	32	228–231	12.58	C ₁₆ H ₈ BrCl ₃ N ₄ 442.53	12.65

Сполуки III-VI – кристаллические осадки от кремового до желтого цвета. С целью очистки продуктов реакции их кипятят в ацетонитриле, фильтруют, промывают водой, ацетонитрилом, диэтиловым эфиром.

В ИК-спектрах синтезированных соединений III-VI идентифицированы сигналы связей C-NaI при 550–850 см⁻¹.

Соотношение интегральных интенсивностей сигналов в ¹H-ЯМР-спектрах соединений III-VI подтверждают отсутствие протона при атоме N⁽¹⁾ молекулы бензимидазола (около δ 11.00 м.ч.). В спектрах идентифицированы сигналы протонов гетероциклических ядер в интервале δ 7.29–8.91 м.д.

Отнесение сигналов в ИК- и ¹H-ЯМР-спектрах соединений III-VI приве-

дено в таблице 2.

Таблица 2

Спектральные характеристики соединений III–VI

Со-едине-ние	Данные ИК-спектров: KBr, см ⁻¹	Данные спектров ¹ H-ЯМР: ДМСО-D ₆ , TMC, δ, м.ч., J, Гц
III	550–850 (C–C1, C–Br); 650–900 (Ph); 1450 (cis –C=C–); 1600–1680 (trans– C=C–); 3000–3100 (CH)	7.30 (4H, т., J ² _{H,H} = 8.4 Гц, 2H–3,5–Ph); 7.51 (4H, т., J ² _{H,H} = 8.4 Гц, 2H–2,6–Ph); 8.34 (2H, д., 2CH)
IV	550–850 (C–C1, C–Br); 650–900 (Ph); 1450 (cis –C=C–); 1600–1680 (trans– C=C–); 2800–3000 (CH)	2.13 (6H, с., 2CH ₃); 7.30 (4H, т., J ² _{H,H} = 8.4 Гц, 2H–3,5–Ph); 7.51 (4H, т., J ² _{H,H} = 8.4 Гц, 2H–2,6–Ph)
V	550–850 (C–C1, C–Br); 650–900 (Ph); 1450 (cis –C=C–); 1600–1680 (trans– C=C–); 2800–3000 (CH)	2.43 (6H, с., 2CH ₃); 7.30 (2H, т., J ² _{H,H} = 8.4 Гц, H–3–Ph); 7.51 (4H, т., J ² _{H,H} = 8.4 Гц, 2H–2,6–Ph); 8.34 (2H, д., 2CH)
VI	550–850 (C–C1, C–Br); 650–900 (Ph); 1450 (cis –C=C–); 1600–1680 (trans– C=C–); 3000–3100 (CH)	7.30 (4H, т., J ² _{H,H} = 8.4 Гц, 2H–3,5–Ph); 7.51 (4H, т., J ² _{H,H} = 8.4 Гц, 2H–2,6–Ph)

Исследование острой токсичности лектина 102 в виде пастеризованных физиологических растворов было проведено на мышах в диапазоне доз от 20 мг/кг до 1000 мг/кг массы тела подопытного животного.

Полученные параметры токсичности лектина 102 показали, что при разных путях введения значения ЛД₅₀ являются близкими, что подтверждает способность лектина быстро проникать через гистогематические барьеры (табл.3).

Таблица 3

Параметры острой токсичности лектина рода *Bacillus*

Путь введения	Лектин 102, ЛД ₅₀ , мг/кг
Мыши	
Внутримышечный	294 (210–318)
Подкожный	248 (195–301)
Внутрибрюшинный	200 (154–246)
Крысы	
Внутрибрюшинный	60 (52–68)

По показателям среднетоксических доз при внутрибрюшинном пути введения он относится к малотоксичным (ЛД₅₀ 200 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.

Определение одного из главных фармакологических индексов гетероциклических бис–производных, их молекулярных комплексов с лектином 102–

острой токсичности показало, что соединения III–VI относятся к малотоксичным: их значения ЛД₅₀ колеблются в пределах между 282 мг/кг и 235 мг/кг.

Полученные производные бензимидазола и их молекулярные комплексы с лектином токсичнее препарата сравнения 5-FU в 0,68 раз (ЛД₅₀ 375 мг/кг).

Таким образом, при объединении менее токсичных компонентов: соединения 1,1-бис-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилена III и лектина 102 общая токсичность молекулярной смеси несколько (в 1,1 раза) увеличилась (табл. 4).

Таблица 4

Параметры острой токсичности 1,1-бис-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилена III, бактериального лектина и их молекулярной смеси

Гетероциклическое производное	ЛД ₅₀ , мг/кг	Бактериальный лектин	ЛД ₅₀ , мг/кг	Молекулярная смесь	ЛД ₅₀ , мг/кг
 <p>III</p>	282	лектин 102	248	III + лектин 102	235

Молекулярные комплексы: лектин – гетероциклическое бис-производное III–VI получены смешением компонентов в соотношении 1:1 в физиологическом растворе. Образование подобных аддуктов в данном случае базируется на способности биологического компонента аддукта – лектина адсорбировать на своей поверхности химические вещества, а именно – гетероциклические молекулы. Состав полученных молекулярных комплексов представлен в таблице 5.

Таблица 5

Молекулярные комплексы: лектин – гетероциклическое бис-производное III–VI

Состав молекулярных комплексов (смесей)
Лектин 102 – 1,1-бис-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (III)
Лектин 102 – 1,1-бис-[2'-метилбензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (IV)
Лектин 102 – 1,1-бис-[5'-метилбензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (V)
Лектин 102 – 1,1-бис-[2'-хлоробензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (VI)

Для оптимизации поиска соединений с противоопухолевой активностью среди синтезированных гетероциклических бис-производных бензимидазола был использован QSAR подход на основе симплексного представления молекулярной структуры.

В результате реализации научной программы «ОРАКУЛ» с использованием PASS-системы бис-производное 1,1-бис-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (III) было идентифицировано в первую очередь как структура-лидер и вошло в базу данных «структура – противоопухолевая активность».

Оценка противоопухолевой активности синтезированных гетероциклических *bis*-производных проведена по следующим показателям:

- % торможения роста опухоли;
- % гибели подопытных животных;
- % относительного изменения массы селезенки подопытных животных;
- % относительного изменения массы тела подопытных животных.

Для сравнения противоопухолевой активности 1,1-*bis*-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлорэтилена (III) и препарата сравнения 5-FU были отмечены параметры противоопухолевой активности последнего:

– торможения роста опухоли лимфосаркомы Плисса – 55% [9, с. 407–509].

Принятый критерий значения для соединений с противоопухолевой активностью – торможения роста опухоли – более 50%. Количество животных в опыте – 6.

При исследовании противоопухолевой активности соединения 1,1-*bis*-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлорэтилен (III) на опухолях головного мозга человека (операционный и биопсийный материал) в подкапсульном тесте по методу Богдена критерием активности считался % торможения роста гетеротрансплантата глиомы человека более 25% [9].

Масса гетеротрансплантатов злокачественной глиомы человека после лечения соединением 1,1-*bis*-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлорэтилен (III) уменьшалась с 2,68±0,102 мг до 1,51±0,102 мг, что составляет 43,8% торможения роста опухоли (табл. 6).

Таблица 6

Противоопухолевая активность 1,1-*bis*-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлорэтилен (III) на гетеротрансплантатах злокачественной глиомы человека

Соединение	Масса гетеротрансплантата опухоли, мг (контроль)	Масса гетеротрансплантата опухоли, мг (опыт)	Торможение роста опухоли, %
III	2,68±0,102	1,51±0,102	43,8
Критерий активности			>25,0

На основании результатов экспериментальных морфологических исследований в условиях субкапсулярного тестирования в сравнительном аспекте установлен наиболее выраженный противоопухолевый эффект на раковую клетку соединения 1,1-*bis*-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлорэтилен (III) с высоким % торможения роста раковых клеток – 43,8%. Указанный эффект считается выраженным и перспективным для дальнейшего изучения противоопухолевой активности соединения 1,1-*bis*-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлорэтилен (III) при опухолях головного мозга.

Определенный интерес представляли исследования биологической активности, а именно противоопухолевой активности молекулярных комплексов синтезированных автором гетероциклических *bis*-производных III–VI с бактериальным лектином 102.

Молекулярные комплексы с прогнозированной биологической активностью, которые созданы на основе биологических структур – бактериального лектина и гетероциклической компоненты ранее не описаны в литературе источников. В ранее проведенных исследованиях показано, что бактериальные лектины указанных штаммов бактерий проявляют выраженный и избиратель-

ный противоопухолевый эффект относительно опухолей разного вида [5, с. 44–48; 7, с. 30–158].

Известная противоопухолевая активность этих биологически активных соединений и их узкая углеводная специфичность позволяют использовать бактериальные лектины в качестве базисных веществ для конструирования медико-биологических препаратов направленного действия.

Оценка противоопухолевой активности полученных молекулярных комплексов на модели опухоли – лимфосаркоме Плисса проведена по следующим показателям: % торможения роста опухоли; % гибели подопытных животных.

Исследования специфической противоопухолевой активности молекулярных комплексов успешно проведены, например, на модели опухоли – лимфосаркоме Плисса в дозах 24,0 мг/кг, 31 мг/кг, 35 мг/кг.

Однако, не все молекулярные комплексы проявили противоопухолевую активность на указанной модели опухоли на уровне препарата сравнения 5-FU.

Наиболее позитивные результаты были получены для молекулярного комплекса лектин 102 – 1,1-бис-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (III) (табл. 7).

Таблица 7

Противоопухолевая активность смеси бис-производное III и лектина 102

Молекулярная смесь (комплекс)	Доза, мг/кг	Средняя масса опухоли, г		Торможение роста опухоли, %
			опыт	
лимфосаркома Плисса				
Лектин 102 – 1,1-бис-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (III)	35,0	13,9 + 1,93	2,36 + 1,3	83,01
Лектин 102	20,0	42,0 + 2,77	21,0 + 0,18	50,0
5-FU (контроль)				55,0

Для молекулярной смеси: лектин 102 – 1,1-бис-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (III) установлена стабильная и выраженная противоопухолевая активность, наиболее высокий среди исследуемых смесей индекс эффективности (5,88); высокий процент первичного излечения животных: % торможения роста опухоли лимфосаркома Плисса составил 83,01% и превысил противоопухолевый эффект 5-FU в 1,49 раз для лимфосаркомы Плисса.

Синтезированное соединение – 1,1-бис-[бензимидазол-1'-ил]-2-бромо-2'-хлороэтилен (III) отвечает требованиям к соединениям с выраженной противоопухолевой активностью, которая превышает активность препарата сравнения 5-FU, что позволяет рассматривать его, как физиологически активное соединение, перспективное для углубленного изучения его специфической активности с целью создания на его основе лекарственного средства для лечения онкологических заболеваний человека.

Заключение. Таким образом, разработан метод синтеза оригинальных гетероциклических производных бензимидазола с фармакофорными группами, среди которых, согласно результатов компьютерного прогнозирования биологической активности синтезированных соединений, отобрана группа наиболее перспективных в плане проведения биологических исследований.

Токсикологические исследования новых соединений, их молекулярных комплексов с бактериальными лектинами (лектин 102) показали, что в большинстве своем они относятся малотоксичным соединениям, их значения ЛД₅₀ колеблются в пределах между 282 мг/кг и 235 мг/кг.

Фармакологические исследования новых гетероциклических соединений, бактериальных лектинов и их молекулярных комплексов показали, что они характеризуются широким спектром противоопухолевой активности и проявляют значительную эффективность в опытах *in vitro* и *in vivo* на перевивных моделях экспериментального опухолевого роста разного гистогенеза: лимфосаркоме Плисса, глиобластоме мозга человека, которая значительно превышает критерии значеня. Поиск противоопухолевых препаратов на основе комбинаций ряда синтезированных соединений с бактериальными лектинами следует считать перспективным.

Таким образом, близость химического строения синтезированных бис-производных бензимидазола и препарата 5-FU 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

1. Балицкий К.П., Воронова А.Л., Липняк И.А. и др. Метастазирование опухолей: Патогенетические аспекты. Киев: Наукова думка, 1991. С. 150–200.
2. Белоусова А.К. Молекулярно-биохимические подходы к терапии опухолей. М.: Медицина, 1993. С. 100–150.
3. Голубев В.А., Розенберг А.Н. Селективное электрофильное замещение по положению 5 молекул незамещенных урацилов // Известия АН СССР. Серия «химия». 1984. № 8. С. 18–23.
4. Герус И.И., Колычева М.Т., Ягупольский Ю.Л., Кухарь В.П. 1-Алкокси(арилокси)-1,1-дифтор-2-хлор-2-бромэтаны // Журнал органической химии. 1989. Т. 25. Вып. 9. С. 2020–2021.
5. Коваленко Э.А. и др. Поиск продуцентов лектинов среди некоторых видов дрожжей // Мікробіологічний журнал (Microbiological journal). 2001. Т.63, № 5. С. 44–48.
6. Нижненьковская И.В. Свойства производных краун-эфиров. Сборник научных трудов «Актуальные проблемы профилактической медицины». Львов: ЛНМУ им. Данила Галицкого. 2012. Вип. 10. С. 107–114.(Украинский).
7. Подгорский В.С. и др. Бактериальные лектины. Киев: Наукова дум-ка, 1992. С.30–158.
8. Преображенская М.Н., Мельник С.Я. Аналоги компонентов нуклеиновых кислот – ингибиторы нуклеинового обмена // Итоги науки и техники. Сер. Биорг. хим. – М.: ВИНТИ, 1984. Т. 1. С. 12–18.
9. Прозоровский В.Б., Прозоровский В.П., Демченко В.М. Экспресс метод определения средней эффективности дозы и ее ошибки // Фармакология и токсикология. 1978. Т. 41, № 4. С. 407–509.
10. Соединения фтора. Синтез и применение; под ред. Н. Исакава. М.: Мир, 1990. С. 183–200.
11. Adjei A. A review of pharmacology and clinical activity of new chemotherapy agents for the treatment of colorectal cancer // Clin. Phar-macol. 1999. Vol. 48. P. 265–277.
12. Noordhuis P., Holwerda U. 5-fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidilate synthetase inhibition human colorectal cancer // Annals. of oncol. 2004. Vol. 15. P. 1025–1032.

Вельчинская Елена Васильевна – д-р фармацевт. наук, профессор, Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Украина, Киев.
