ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ. ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
т. XXIX, № 12, 1976

УДК 575.24

Г. М. ПАРОНИКЯН, М. А. КАЛДРИКЯН, Г. А. ДАРБИНЯН, Э. А. ТУМАСЯН

МУТАГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ N′-ЗАМЕЩЕННЫХ ДИГИДРОУРАЦИЛОВ И ТИОУРАЦИЛОВ

Приводятся результаты изучения мутагенного действия 22 новых производных дигидроурацилов и тиоурацилов, синтезированных в качестве лечебных препаратов.

Среди исследованных веществ обнаружены соединения, обладающие заметным мутагенным действием. Выявлена зависимость между структурой соединений и их мутагенной активностью.

Производные оснований и нуклеозидов изучены на различных объектах, и у многих из них выявлено четкое мутагенное действие. Среди этих соединений широко известны 5-бромурацил, 5-фторурацил, 5-аминопурин, 2,6-диаминопурин и др. [1—5]. Исходя из этого, а также из того, что некоторые дигидропиримидины подавляют рост опухолей у животных [6, 7], мы обратились к изучению мутагенного действия производных дигидропиримидинов—N′-замещенных дигидроурацила и тиоурацила, синтезированных в нашем институте [8], имея также цель выявить связь между строением соединений и их генетическим действием.

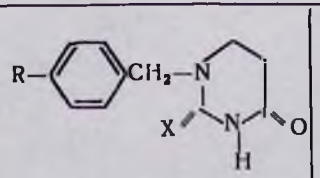
Материал и методика. Исследуемые соединения синтезированы в виде четырех гомологических рядов. К первому ряду относится N′-(4-алкоксибензил)-5,6-дигидроурацил, ко второму—N′-(4-алкоксибензил)-5,6-дигидротиоурацил, к третьему—N′-(4-алкоксибензил)-5-метил-5,6-дигидроурацил, к четвертому—N′-(4-алкоксибензил)-5-метил-5,6-дигидротиоурацил. Общая формула и значение радикалов приведены в таблицах.

Генетическая активность новых соединений сравнивалась с урацилом и 5-бромурацилом, исследованными в идентичных условиях. Объектом для изучения служили биохимические мутанты: Escherichia coli P-678, нуждающийся в треонине, лейцине и витамине B_1 и Actinomyces rimosus 222, нуждающийся в лизине и чувствительный к стрептомицину. Активность мутагенов определялась по частоте встречаемости обратных мутаций от ауксотрофного к прототрофному состоянию по локусам, ответственным за синтез треонина и лизина. Методика изучения мутагенной активности соединений описана ранее [9].

Результаты и обсуждение. Результаты изучения летального и мутагенного действия N′(4-алкоксибензил)-5,6-дигидроурацила и N′-(4-алкоксибензил)-5,6-дигидроурацила приведены в табл. 1. Как видно из этой таблицы, соединения первого гомологического ряда на треониновый локус кишечной палочки оказывают заметное мутагенное действие, начиная с пропокси-радикала. В этом ряду более выраженное действие оказывает соединение с изобутокси-радикалом (№ 6), индуцирующее мутации с частотой в 400 раз больше контроля (спонтанной

Таблица 1

Мутагенное и летальное действие N′-(4-алкоксибензил)-5,6-дигидроурацила и N′(4-алкоксибензил)-5-6-дигидротиоурацила

Гомологический ряд	№ п/п	 R	X	Доза: молярность	Доза: время, мин	E. coli P—678 (thr⁻ → thr⁺): выживаемость, %	E. coli P—678 (thr⁻ → thr⁺): частота встречаемости ревертантов на 10⁶ выживших клеток: число	E. coli P—678 (thr⁻ → thr⁺): частота встречаемости ревертантов на 10⁶ выживших клеток: % к контролю	Доза: молярность	Доза: время, час	Act. rimosus 222 (lys⁻ → lys⁺): выживаемость, %	Act. rimosus 222 (lys⁻ → lys⁺): частота встречаемости ревертантов на 10⁵ выживших спор: число	Act. rimosus 222 (lys⁻ → lys⁺): частота встречаемости ревертантов на 10⁵ выживших спор: % к контролю
1	1	CH_3O	O	0,1	20	90	8	100	0,2	4	46	14	280
	2	C_2H_5O	O	0,1	30	100	9	110	0.2	4	40	8	160
	3	C_3H_7O	O	0,1	120	1	264	3300	0,2	4	44	18	360
	4	изо-C_3H_7O	O	0,01	60	0,5	600	7500	0,2	4	11	38	750
	5	C_4H_9O	O	0,05	60	0,3	666	8330	0,2	24	2	165	3300
	6	изо-C_4H_9O	O	0,1	90	0,1	3200	40000	0,2	24	4	76	1500
2	7	CH_3O	S	0,2	120	11	24	300	0,2	4	57	6	120
	8	C_2H_5O	S	0,1	120	17	24	300	0,2	4	83	5	100
	9	C_3H_7O	S	0,1	120	1,1	388	4850	0,2	4	18	31	620
	10	изо-C_3H_7O	S	0,1	40	0,5	912	11400	0,2	4	30	20	400
	11	C_4H_9O	S	0,025	60	0,05	4568	57100	0,2	4	0,32	1920	38400
	12	изо-C_4H_9O	S	0,05	120	0,2	4000	50000	0,2	24	1,5	165	3300

мутации). Эти же соединения, изученные в отношении лизинового локуса актиномицетов, оказались менее активными.

Соединения второго гомологического ряда в отношении треонинового локуса оказались активнее соединений первого ряда. И в этом ряду соединений активность возрастает начиная с пропокси-радикала. Наиболее активным среди них оказался препарат с бутокси-радикалом (№ 11). Последний индуцировал ревертанты в 571 раз больше контроля. Исследуемый ряд в отношении лизинового локуса, как и предыдущий ряд, оказался менее активным, за исключением препарата № 11, который индуцировал обратные мутации в 384 раза больше контроля.

В табл. 2 представлены данные о летальном и мутагенном действии соединений третьего и четвертого гомологических рядов. Соединения третьего ряда, как видно из табл. 2, в целом обладают мутагенным действием только в отношении треонинового локуса. Заметное возрастание активности наблюдается также с пропокси-радикала. Соединения № 15, 16 и 17 оказывают примерно одинаковое действие и индуцируют мутации в среднем в 250 раз больше контроля.

Исследуемые соединения четвертого гомологического ряда оказывают заметное мутагенное действие и по генетическому действию превосходят соединения третьего ряда. Наиболее активными в этом ряду оказались соединения с этокси- (№ 19) и бутокси- (№ 22) радикалами, они индуцировали реверсии соответственно в 937 и 476 раз больше контроля. В то же время соединения этого ряда оказывают слабое действие на лизиновый локус актиномицетов.

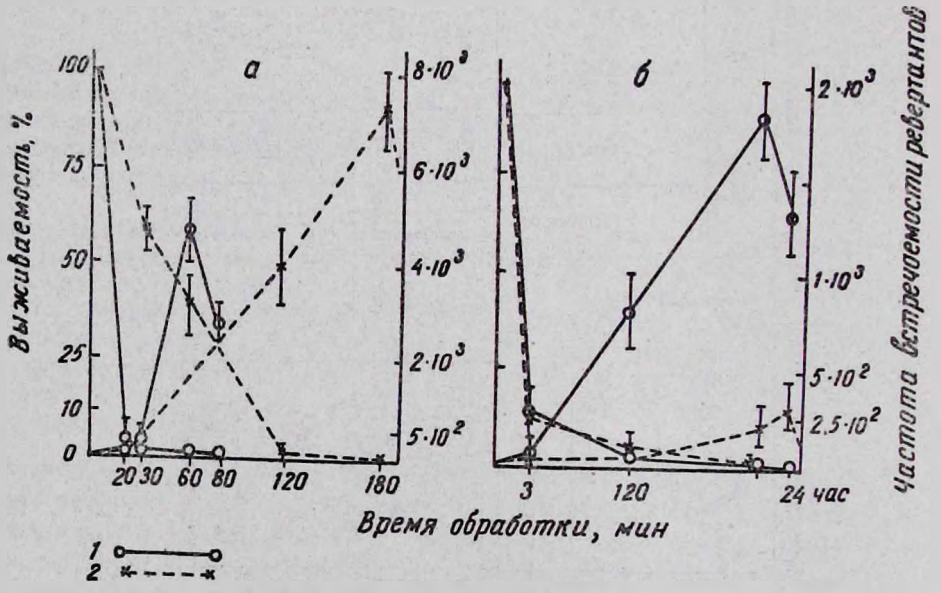
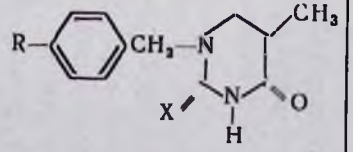


Рис. Летальное действие и частота встречаемости ревертантов у биохимических мутантов E. coli P-678 (а) и A. rimosus 222 (б) при обработке N′-(4-бутоксибензил)-5,6-дигидротиоурацилом (1) и N′-(4-этоксибензил)-5-метил-5,6-дигидротиоурацилом (2).

Таблица 2

Мутагенное и летальное действие N′-(4-алкоксибензил)-5-метил-5-6-дигидроурацила и N′-(4-алкоксибензил)-5-метил-5,6-дигидротиоурацила

Гомологический ряд	№ п/п			Доза		E. coli P—678 (thr⁻ → thr⁺)			Доза		Act. rimosus 222 (lys⁻ → lys⁺)		
						выживаемость, %	частота встречаемости ревертантов на 10^8 выживших клеток				выживаемость, %	частота встречаемости ревертантов на 10^5 выживших спор	
		R	X	молярность	время, мин		число	% к контролю	молярность	время, час		число	% к контролю
3	13	CH_3O	O	0,2	180	2	312	3900	0,1	4	100	5	100
	14	C_2H_5O	O	0,1	180	1,5	312	4150	0,2	4	70	5,6	110
	15	C_3H_7O	O	0,025	60	0,05	2128	26600	0,2	4	73	5	100
	16	изо-C_3H_7O	O	0,1	120	0,2	2000	25000	0,2	4	50	7,5	150
	17	C_4H_9O	O	0,025	40	0,3	1704	21300	0,2	4	2,5	200	4000
4	18	CH_3O	S	0,05	80	0,8	832	10400	0,2	4	52	7,5	150
	19	C_2H_5O	S	0,025	180	0,04	7500	93700	0,2	24	0,5	265	5300
	20	C_3H_7O	S	0,025	120	0,1	3332	41650	0,2	4	18	25	500
	21	изо-C_3H_7O	S	0,05	60	0,2	2208	27600	0,2	4	20	25	500
	22	C_4H_9O	S	0,025	180	0,1	3808	47600	0,1	4	2,3	215	4300
		урацил		0,2	24 ч.	23	38,4	480	0,2	24 ч.	52	12	240
		5-бромурацил		0,2	24 ч.	33	33,6	420	0,2	24 ч.	66	10	200
		контроль		—	—	100	8	100	—	—	100	5	100

В этой таблице для сравнения приведены результаты изучения мутагенного действия урацила и его аналога—5-бромурацила. Не трудно заметить, что эти основания, изучаемые даже при жестком режиме обработки (высокая доза и продолжительная обработка), оказывают слабое ингибирующее действие на клетки и споры. При высоком проценте выживаемости они индуцируют обратные мутации всего лишь в 4,2—4,8 раза больше контроля.

На рисунке показано летальное и мутагенное действие двух соединений, оказывающих наиболее сильное действие (в зависимости от времени обработки объектов). Из кривых рисунка видно, что по мере увеличения экспозиции обработки мутагенных штаммов N′-(4-бутоксибензил)-5,6-дигидротиоурацилом (№ 11) и N′(4-этоксибензил)-5-метил-5,6-дигидротиоурацилом (№ 19) снижается процент выживаемости клеток и спор и одновременно увеличивается частота встречаемости ревертантов. Следует, однако, отметить, что увеличение частоты встречаемости ревертантов наблюдается до определенного предела времени обработки и зависит от объекта и мутагена. Более продолжительная экспозиция, как видно из рисунка, приводит к заметному снижению процента выживаемости и к уменьшению активности мутагена.

Рассматривая полученные результаты с точки зрения связи строения исследуемых N′-замещенных дигидроурацилов и тиоурацилов с их генетическим действием, можно прежде всего отметить избирательность действия их. Эти соединения, как показали опыты, оказывают более сильное мутагенное действие на треониновый локус, чем на лизиновый локус актиномицетов. Введение в пятое положение пиримидинового кольца метильной группы приводит к заметному усилению мутагенного эффекта в отношении треонинового локуса у соединений третьего и четвертого гомологических рядов по сравнению с теми, у которых подобное замещение не сделано.

Мутагенное действие указанных соединений усиливается и в тех случаях, когда во втором положении пиримидинового кольца кислород замещен серой.

Удлинение алкокси-радикала у испытуемых соединений, начиная с пропокси-радикала, приводит к усилению мутагенного эффекта у первых трех рядов. В четвертом ряду наблюдается отклонение от этого правила, здесь существенное увеличение активности наблюдается начиная с этокси-радикала.

Таким образом, изучение мутагенного действия N′-замещенных дигидроурацилов и тиоурацилов на биохимических мутантах показало, что многие из них обладают в той или иной степени мутагенным действием и значительно превосходят урацил и 5-бромурацил. Выраженное мутагенное действие выявлено у N′-(4-бутоксибензил)-5,6-дигидротиоурацила и N′(4-этоксибензил)-5-метил-5,6-дигидротиоурацила, которые генетически опасны в качестве лечебных средств, но могут быть полезны в селекционной работе.

Институт тонкой органической химии
им. А. Л. Мнджояна АН Арм. ССР

Поступило 28.VI 1976 г.

Գ. Մ. ՊԱՐՈՆԻԿՅԱՆ, Մ. Հ. ԿԱԼԴՐԻԿՅԱՆ, Գ. Ա. ԴԱՐԲԻՆՅԱՆ,
Է. Հ. ԹՈՒՄԱՍՅԱՆ

N′-ՏԵՂԱԿԱԼՎԱԾ ԴԻՀԻԴՐՈՈՒՐԱՑԻԼՆԵՐԻ ԵՎ ԹԻՈՈՒՐԱՑԻԼՆԵՐԻ ՄՈՒՏԱԳԵՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ո ւ մ

Ուսումնասիրվել է N′-տեղակալված դիհիդրոուրացիլների և թիոուրացիլների 22 նոր ածանցյալների մուտագեն ազդեցությունը։ Իբրև օբյեկտ ծառայել են կենսաքիմիական մուտանտներ՝ Escherichia coli P—678 (thr⁻) *և* Actinomyces rimosus 222 (lys⁻): *Միացությունների մուտագեն ազդեցությունը որոշվել է ինդուկցված ռեվերտանտների հաճախականությամբ՝ դոզա-էֆեկտ մեթոդով։ Առավելապես ակտիվ գտնվեցին N′-(4-բութօքսիբենզիլ)-5,6-դիհիդրոթիոուրացիլ և N′-(4-էթօքսիբենզիլ)-5-մեթիլ-5,6-դիհիդրոթիոուրացիլ, որոնք ինդուկցում են մեծ հաճախականությամբ մուտացիաներ և իրենց ակտիվությամբ գերազանցում են ուրացիլին և 5-բրոմուրացիլին։*

Ուսումնասիրվել է նաև քիմիական միացությունների կառուցվածքի և նրանց մուտագեն ազդեցության միջև եղած կապը։

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гудкова Э. В., Митрофанов Ю. А., Шавельсон Р. А.* Изв. АН СССР, сер. биол., 4, 508—514, 1970.
2. *Простакова Р. А.* Экспериментальный мутагенез у микроорганизмов и его практическое использование, М., 1966.
3. *Скавронская А. Г.* Мутация у бактерий, М., 1967.
4. *Тимаков В. Д., Скавронская А. Г., Андреева И. В., Борисова Н. Б.* Экспериментальный мутагенез у микроорганизмов и его практическое использование, М., 1966.
5. *Фриз Э.* Молекулярная генетика. 1, М., 1964.
6. *Аксамитная И. А.* Вопросы онкологии, 10, 29—35, 1963.
7. *Вольфсон Н. И.* Вопросы онкологии, 4, 235—244, 1963.
8. *Калдрикян М. А., Ароян А. А.* Арм. хим. журн., 27, 1031—1036. 1974.
9. *Пароникян Г. М., Акопян Л. Г., Тумасян Э. А., Дарбинян Г. А.* Генетика, 11, 10, 105—110, 1975.