

دراسة التأثير التثبيطي لثلاث من مشتقات البريميدين في نمو خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) خارج جسم الكائن الحي.

حميد حسين علي رشيد محمد رشيد

جامعة الانبار - كلية العلوم

تاريخ القبول: 2009/5/3

تاريخ الاستلام: 2008/10/7

الخلاصة: تضمن البحث الحالي دراسة التأثير التثبيطي لثلاث مركبات من مشتقات البريميدين 6-amino 1,3dimethyl uracil (admu) و 2'-deoxythmidine (dthy) و 6-(phenylazo)-cytidine (phazocyt) مقارنةً بالمركب الدوائي 6-مركبتو بيورين (6-MP) كمضاد سرطاني قياسي في تثبيط نمو الخط الخلوي السرطاني لسرطان الحنجرة البشري Hep-2 خارج جسم الكائن الحي (In vitro), بينت النتائج وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($p < 0.001$) مقارنةً بالمركب (6-MP) للمركبين (6-admu) و (phazocyt) بينما لم يظهر المركب (dthy) فروقاً معنوية عند المستوى ($p > 0.001$), وعند مقارنة التأثير التثبيطي للتركيز ضمن المركب الواحد يلاحظ وجود فروقاً معنوية عند ($p < 0.001$) ابتداءً من المعاملة الأولى (62.5 مايكروغرام / مل) للمركبين (dthy) و (phazocyt) بينما أظهر المركب (6-admu) تأثيراً معنوياً عند المعاملة الأخيرة (500 مايكروغرام / مل), وبينت النتائج إن المركبين (dthy) و (phazocyt) يمتلكان تأثيراً أعلى من المركب (6-MP) ضمن التركيز (125 مايكروغرام / مل), كذلك تم استخراج قيمة التركيز التثبيطي القاتل لنصف عدد الخلايا (IC_{50}) والتركيز القاتل (90%) من الخلايا (IC_{90}) ووجد إن أفضل فعالية كانت للمركب (dthy).

كلمات مفتاحية: مشتقات البريميدين , التأثير التثبيطي , سرطان الحنجرة.

المقدمة

وتشير الإحصاءات للمدة ما بين عام (1990-2002) إلى أن هناك تزايداً ملحوظاً في الإصابة بالسرطان لا سيما عند الأطفال الذين تقل أعمارهم عن (15) سنة⁵. هناك العديد من الطرائق العلاجية التقليدية وغير التقليدية في علاج السرطان ومع أنها لا تستطيع القضاء عليه بشكل نهائي إلا أنها استطاعت أن تتجح في إقامة استمرارية حياة المريض , ولقد أدى التطور الحاصل في طرائق علاج هذا المرض إلى فتح أبواب جديدة للشفاء منه ومنها العلاج الكيميائي Chemical therapy , العلاج الجراحي Surgical therapy , العلاج الإشعاعي Radiotherapy والعلاج الأحيائي Biotherapy⁶.

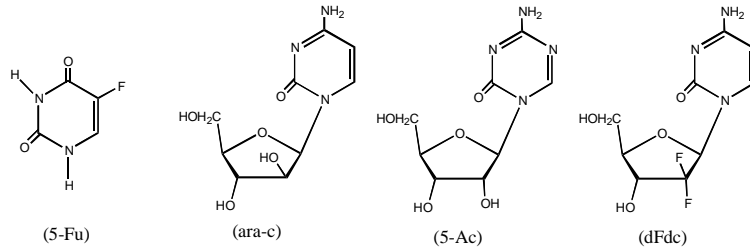
يعد العلاج الكيميائي أحد أكثر العلاجات تأثيراً في الصراع ضد السرطان ويقصد به عملية تصنيع مركبات كيميائية تعمل على إيقاف أو كبح نمو الخلايا السرطانية من خلال التأثير على فعاليتها

برزت الأمراض السرطانية بوصفها احد المسببات الرئيسة للوفيات في الدول المتطورة والنامية على حد سواء, إذ تعد من الأمراض الخطيرة التي تقضي على حياة الملايين من البشر سنوياً ولهذا أحدثت هذه الأمراض تطوراً واسعاً في برامج البحوث العلمية¹. تشير البحوث إلى أن رجلاً واحداً من بين كل اثنين وامرأة واحدة من بين كل ثلاثة منهن لهم الاستعداد للإصابة بالسرطان في حين سبب وفاة امرأة واحدة من بين كل أربع منهن², لذلك بذل الباحثون جهوداً كبيرة من أجل تطوير أساليب وأنواع العلاج محاولةً منهم للقضاء عليه وإنقاذ حياة الملايين سنوياً في العالم³. وفي العراق فقد تضاعفت نسبة المصابين بهذا المرض إلى ما يقارب عشرة أضعاف وأكثر خلال الخمسة عشر سنة الماضية لتصل إلى (10888) حالة في العام (2000)⁴.

ذلك على شكل آثار جانبية⁸.

السرطانية ومنها المركب (5-FU) 5-fluorouracil الذي يستعمل في علاج أنواع عديدة من السرطانات وخاصة سرطان الثدي والرأس والرقبة وهو أكثر الأدوية انتشاراً في علاج السرطان 12-14، وقدم المركب Cytosine arabinoside (ara-c) دواءً في الطب السريري عام (1963) وهو من أهم الأدوية لمعالجة أنواع مختلفة من سرطان الدم (ابيضاض الدم) 15,16.

أما المركب (5-AC) 5-azacytidine فيستعمل في علاج أنواع من السرطان ولوحظ وجود استجابة في حالة مرضى الأورام الصلبة^{17,18}، ويمتلك مركب Gemcitabine (dFdc) فعالية بطيف واسع ضد الأورام والفابروسات¹⁹⁻²¹، ودرست حركيته الدوائية في مرضى سرطان الرئة²².



مكون من (50 مل) ماء مقطر و (2.5 مل) حامض الهيدروكلوريك المركز، سخن المزيج حتى الحصول على محلول رائق. برد إلى درجة (0-5 م) وأضيف له محلول مكون من (14 ملي مول، 0.96 غم) نترت الصوديوم مذابة في (10 مل) ماء مقطر حيث تمت الإضافة قطرة قطرة مع التحريك المستمر وملاحظة عدم ارتفاع درجة الحرارة فوق (5 م)، ترك المحلول ليستقر في الحمام الثلجي مع التحريك المستمر لمدة (30) دقيقة أعقبها إضافة السيتيدين (10 ملي مول، 2.43 غم) المذاب في محلول حامض الهيدروكلوريك بالتدريج إلى ملح الديازونيوم المبرد المحضر في أعلاه، ترك المزيج بعدها ليستقر ورفع الـpH لحين تغير لون المحلول ترك المزيج الناتج في التحريك بدرجة (0-5 م) لمدة (60) دقيقة بعدها رفعت درجة حرارته إلى درجة حرارة الغرفة ورشح الراسب المتكون تحت الضغط المخلخل وأعيدت بلورته من محلول (Ethanol:H2O 1:1) وشخص المركب باستخدام طيف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية وطيف الأشعة تحت الحمراء (IR) فضلاً عن استعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC).

هدف البحث الحالي إلى دراسة التأثير التثبيطي لثلاث من

الأيضية⁷، ويعد العلاج الكيميائي علاجاً واثماً يقوم بتدمير الخلايا السرطانية وإيقاف نموها ويؤثر على بعض الخلايا السليمة ويظهر إن الغرض من العلاج الكيميائي هو محاولة التخلص من الخلايا الورمية الخبيثة غير الطبيعية وصولاً إلى مرحلة الشفاء التام⁹، يتضمن العلاج الكيميائي مواداً كيميائية عديدة ومن ضمنها مجموعة من المركبات المسماة بمضادات الاستقلاب Antimetabolites وهي مركبات مشابهة بالبنية والخصائص الكيميائية مع المركبات الطبيعية اللازمة لتركيب قواعد البريميدين والبيورين إذ تثبط هذه المركبات الإنزيمات التي تدخل في تفاعلات بناء البريميدين والبيورين أو إنها تمنع تكوين الحامض النووي الدنا DNA^{10,11}، ومن هذه المضادات المركبات المسماة بمشابهات البريميدين Pyrimidine Analogs والتي استعملت كأدوية مضادة للسرطان والأورام وتتضمن هذه المجموعة عدد واسع من المركبات التي أظهرت فعالية تثبيطية ضد نمو الخلايا

وفي العام (2006) حضر مشتق البريميدين 3-β-Carbonylmethylcytidine (CAMC) واختبرت فعاليته في تثبيط نمو الخلايا السرطانية خارج جسم الكائن الحي (In vitro)²³. وفي السنوات القليلة الماضية حضرت العديد من مشتقات البريميدين كمضادات للبكتريا والفابروسات والأورام²⁴⁻²⁸. (MP).

المواد وطرائق العمل

أولاً:- المواد الكيميائية Chemicals جميع المواد الكيميائية المستعملة مجهزة من شركات عالمية معروفة وذات درجات عالية من النقاوة حيث تم الحصول على المركب 6-amino 1,3dimethyluracil (6-admu) من شركة (Alderch) والمركبات (dthy) deoxythymidine و-6 mercaptopurine (6-MP) من شركة (BDH) والاثيلين Aniline والسيتيدين Cytidine من شركة (Fluka). ثانياً:- تحضير المركب 6-(phenyl azo)- (Phazocyt) 29 cytidine

أذيب (10 ملي مول، 0.93 غم) من الاثيلين المقطر في مزيج

الحاضنة ليحضن ساعتين بعدها أخرج الطبق وأزيلت محتوياته وغسلت الخلايا بمحلول (PBS) دارئ الفوسفات الملحي لحين زوال الصبغة الزائدة، إذ أن الخلايا الحية تأخذ الصبغة أما الميتة فلا تأخذها. أضيف لكل حفرة (50 مايكرو لتر) من محلول دارئ الفوسفات الملحي المحض بالايثانول المطلق بنسبة (1:1) إذ يقوم هذا المحلول باستخراج الصبغة من الخلايا الحية التي كانت قد أخذتها. قرئت النتائج باستخدام جهاز الأليزا (ELISA) بطول موجي (492 نانومتر). من رسم العلاقة بين النسبة المئوية للتثبيط والتركيز لكل مركب تم استخراج التركيز المثبط لنمو نصف عدد الخلايا (IC50) والتركيز المثبط لنمو (90%) من الخلايا (IC90)، وتم في هذه الدراسة حساب النسبة المئوية للتثبيط للمركبات لكل تركيز من العلاقة:-

النتائج والمناقشة

تنتمي المركبات قيد الدراسة إلى مجموعة المركبات الكيميائية المسماة بمضادات الاستقلاب (الأبيض) Antimetabolites وهذه المركبات من مشتقات البريميدين جدول (1).

حضر المركب (Phazocyt) بطريقة الازدواج coupling لملاح الديازونيوم Diazonium salt للانيلين مع السيتيدين Cytidine. شخص المركب باستخدام طيف الأشعة فوق البنفسجية- المرئية وطيف الأشعة تحت الحمراء (IR) حيث أظهر طيف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية لمركب (phazocyt) في مذيب الايثانول المطلق وبتركيز (4-10 مولاري) حزمة امتصاص عند (225 نانوميتر) ناتجة عن الانتقالات الالكترونية ($\pi \leftarrow \pi^*$) للحلقات الاروماتية والحلقة غير المتجانسة والمقتزنة من خلال مجموعة الأزو ($N \equiv N$ -) والحزمة الثانية عند (265 نانوميتر) ناتجة عن الانتقالات الالكترونية ($\pi \leftarrow \pi^*$) بسبب الإثارة الموضعية لحلقة البريميدين فضلاً عن حزمة ثالثة عند (325 نانوميتر) تعزى إلى الانتقالات من نوع ($n \leftarrow \pi^*$) لمجموعة الأزو ($N \equiv N$ -).

بينما أظهر طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) حزمة امتصاص قوية وعريضة ضمن المدى (3100-3500 سم-1) تعود للتردد الاهتزازي للأصرتين $\nu(O-H)$ و $\nu(N-H)$ ، وحزمة امتصاص عند (2995 سم-1) تعود إلى اهتزاز مط الاصرة $\nu(C-H)$ الاروماتية وحزم امتصاص واقعة ضمن المدى المحصور بين (1430-1510 سم-1) تعود إلى مجموعة الأزو $\nu(N \equiv N)$ وحزمتي امتصاص عند (1525-1570 سم-1) تعودان للاصرة $\nu(C=C)$ الاروماتية بالإضافة إلى حزمة متوسطة عند (1710 سم-1) تعود لمجموعة الكاربونيل $\nu(C=O)$ وحزم أخرى تقع ضمن المدى (1080-1310 سم-1) تعود معظمها إلى الترددات الامتطاطية لمجاميع $\nu(C-O)$ و $\nu(C-N)$.

مشتقات البريميدين في نمو خلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) خارج جسم الكائن الحي مقارنةً بالمركب الدوائي 6- مركبتوبيورين .

ثالثاً:- دراسة التأثير التثبيطي للمركبات في نمو الخط الخلوي السرطاني (Hep-2)

Human epidermoid larynx carcinoma Hep-2

تم الحصول على الخط الخلوي السرطاني (Hep-2) وهي خلايا سرطان الحنجرة لرجل يبلغ من العمر (57) سنة وهذا الخط تم تطعيه للنمو على وسط RPMI-1640 المجهز بـ (10%) مصل العجل البقري في المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة

$$\% \text{ التثبيط} = \frac{\text{امتصاصية نموذج السيطرة} - \text{امتصاصية النموذج}}{\text{امتصاصية نموذج السيطرة}} \times 100$$

الطبية / الجامعة المستنصرية-بغداد.

وتم تحضير المحاليل الخاصة بالزرع النسيجي وفقاً لطريقة 30Freshney وحضر وفقاً لطريقة 32Mahony et al. و 31Abdul-Majeed كل من المركبات قيد الدراسة عن طريق إذابة (0.02 غم) من كل مركب في (10 مل) من المذيب (الوسط DMSO + SFM) الوسط الزراعي الخالي من المصل والداي ميثيل سلفوكسايد ثم عقم باستعمال مرشح ذي ثقوب (0.22 مايكرون) وحضرت منه أربعة تراكيز مخففة بشكل ثنائي لكل مركب (62.5, 125, 250, 500 مايكروغرام / مل) واستخدمت جميع التراكيز المحضرة مباشرة بعد إكمال عملية التحضير. جهز عالق الخلايا عن طريق معاملة قنبنة الزرع النسيجي حجم (25 مل) بمحلول التريسين/فوسين ثم أضيف له (20 مل) من الوسط الزراعي الجديد الخالي من المصل (SFM) ثم مزج عالق الخلايا جيداً وتم نقل (0.2 مل) إلى حفر طبق معايرة الزرع النسيجي بحيث احتوت كل حفرة على عدد معلوم من الخلايا الحية بعد أن تم عد الخلايا الحية من الميتة بوساطة صبغة التريبان الزرقاء Trypan blue.

ترك الطبق في الحاضنة بدرجة حرارة (37^oم) لمدة تتراوح ما بين (12-18) ساعة إلى حين التصاق الخلايا في الحفرة بعدها تم التخلص من الوسط الزراعي القديم وتم إضافة (0.2 مل) من التراكيز المحضرة للمركبات وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز كما تم عمل ثلاث مكررات لنموذج السيطرة، وحضنت الأطباق بدرجة حرارة (37^oم) في حاضنة مزودة بـ (5%) من غاز ثاني أكسيد الكربون.

بعد انتهاء مدة التعريض (Exposure time) المحددة للحضن (48) ساعة، أخرج الطبق من الحاضنة أضيف إليه (50 مايكرو لتر) من محلول صبغة الأحمر المتعادل وأعد مرة ثانية إلى

Thymine الضروري لنمو الخلايا السرطانية من خلال تثبيط إنزيم Thymidylate Synthetase وبالتالي إيقاف دورة حياة الخلية Cell Cycle إذ تعد المضادات الأيضية عوامل متخصصة لدورة حياة الخلية وهو ما يحث الخلية على الدخول في مسار الموت المبرمج apoptosis 33,34.

كما إن تفاوت نسب التثبيط بالنسبة للمركبات تجاه الخط الخلوي السرطاني (Hep-2) قد يعود إلى المقاومة التي تبديها الخلايا تجاه المؤثرات الخارجية إذ تمتلك الخلايا وسائل عديدة للدفاع عن نفسها ضد هذه المؤثرات وهي الظاهرة المسماة المقاومة المتعددة للأدوية (MDR) multi drug resistance إذ يزداد التعبير الجيني لبعض الجينات ومنها الجين (p-gp) p- glycoprotein والذي يوجد على سطوح الخلايا كأحد البروتينات التي تعمل كمضخة طاردة للعديد من الأدوية التي تعمل ضد الخلايا السرطانية فكلما ازداد التعبير الجيني لهذا البروتين ازدادت المقاومة الخلوية ضد الأدوية المستعملة في العلاج 35.

المصادر

1. Burnouf, D. Y. ; and Fuchs, R. P. P. (2000). The early detection of frame shift mutations induced by food-borne cancer in rates : a new tool for molecular epidemiology. Mutat. Res. 462: 281-291.
2. American Cancer Society (2002). Cancer Facts and Figures (2005). American Cancer Society, Atlanta.
3. الحسني, منى, (2000). التسجيل السرطاني ودوره في برنامج مكافحة السرطان. مجلة العلوم, 110, 17-19.
4. Ministry of Health (1999) , (2001). Results of Iraq Cancer Registry. (1992-1997) , (1998-2001). Iraqi Cancer Boarder.
5. Jemal , A.; Tiwari, R. C. ; Murray, T.; Chafoor, A.; Samuels, A.; Ward, E.; Feuer, E. and Thun, M. (2004). Cancer Statistics. CA Cancer J. Clin., 54: 8-29.
6. Tattersal M. H. N. and Thomas, H. (1999) Clinical Review, Recent Advances, Oncology. BMJ, 318: 445-448.
7. Sporn, M. B. and Lippman, S. M.; Chemoprevention of Cancer In: Baste, R. C.; Kufe, D. W.; Pollock, R. F.; Weichselbom, R. R.; Holland, J. F.; Ferri III, E. and Ganster, T. E. (eds). (2000). Cancer Medicine (5th ed). BC. Decker Inc., Canada.
8. Skeel, R. T. (1999). Hand Book of Cancer Chemotherapy. (5th ed.). 3, Lippincott Williams and Wilkens, Philadelphia, USA.
9. Chessells, J. M.; Bailey, C. and Richards, S. M. (1995). Intensification of treatment and survival in all children

درس تأثير هذه المشتقات في تثبيط نمو الخط الخلوي السرطاني لخلايا سرطان الحنجرة البشري (Hep-2) مقدرةً بدلالة الانخفاض الحاصل في كثافة الخلايا النامية وقدرت بقياس الامتصاصية بجهاز الأليزا (ELISA) بطول موجي (492 نانومتر) , حيث عومل بأربعة تراكيز (62.5 , 125 , 250 , 500 مايكروغرام / مل) لكل مركب وبمدة تعريض (48 ساعة مقارنةً بالمركب الدوائي 6-مركبتو بيورين (6-MP) كمضاد سرطاني قياسي.

وقد أظهرت هذه المركبات تأثيراً واضحاً في تثبيط نمو الخط الخلوي السرطاني خارج جسم الكائن الحي (In vitro) , وتشير النتائج المبينة في الجدول (2) شكل (1) أن التأثير السمي لتلك المركبات قد ابتدأ من المعاملة الأولى (62.5 مايكروغرام / مل) واستمر هذا التأثير يتزايد تدريجياً مع ازدياد التراكيز حتى المعاملة الأخيرة (500 مايكروغرام / مل) وإن أفضل تأثير تثبيطي تحقق في الجرعة الأخيرة بالمقارنة مع قيمة السيطرة control فيما تبينت شدة هذا التأثير ما بين تركيز وآخر لكل مركب , وتشير النتائج الإحصائية جدول (2) إلى عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($p > 0.001$) لمركب الداى أوكسي ثايميدين (dthy) مقارنةً بالمركب القياسي (6-MP) بينما أظهر المركبان (6-admu) و (phazocyt) فروق معنوية عند المستوى ($p < 0.001$) مقارنةً بالمركب (6-MP) , وعند مقارنة التأثير التثبيطي للتراكيز ضمن المركب الواحد يلاحظ وجود فروقاً معنوية عند المستوى ($p < 0.001$) ابتداءً من المعاملة الأولى (62.5 مايكروغرام / مل) بالنسبة للمركبين (dthy) و (phazocyt) بينما أظهر المركب (6-admu) تأثيراً معنوياً عند المعاملة الأخيرة (500 مايكروغرام / مل).

ويلاحظ من الشكل (1) أن المركب (dthy) يمتلك تأثيراً أعلى من المركب (6-MP) ضمن تركيز أقل من (250 مايكروغرام / مل) بينما يمتلك المركب (phazocyt) تأثيراً أعلى ضمن تركيز أقل من (125 مايكروغرام / مل).

يلاحظ من الجدول (3) أن أعلى نسبة تثبيط عند أعلى تركيز كانت للمركب (dthy) وأقل نسبة تثبيط عند أعلى تركيز كانت للمركب (6-admu) مقارنةً بمركب (6-MP) , ولأجل إظهار التركيز الفعال للمركبات ومقارنتها مع المركب الدوائي (6-MP) أعتمد أساس استخراج قيم (IC50) و (IC90) حيث كانت أفضل قيمة للـ (IC50) للمركب (dthy).

إن هذا التأثير السمي التثبيطي لنمو الخلايا السرطانية ربما يعود إلى قدرة هذه المركبات على التنافس مع القواعد النتروجينية الطبيعية كاليوراسيل Uracil وبالتالي إيقاف عملية بناء الثايمين

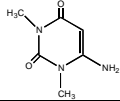
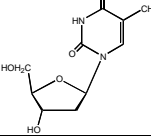
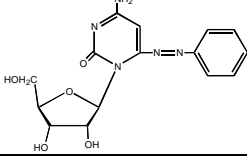
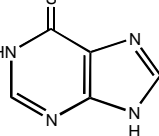
23. Inchikawa, S.; Minakawa, N.; Shuto, S.; Tanaka, M.; Sasaki, T. and Matsuda, A. (2006). Synthesis of 3'- β carbomyl methylcytidine (CAMC) and its derivatives as potential antitumor agents. *Org. Biomol. Chem.* 4: 1284-1296.
24. Sayed, H. H.; Shamroukh, A. H. and Rashed, A. E. (2006). Synthesis and biological activity of some pyrimidine , pyrimido [2,1-b][1,3]thiazine and thiazolo [3,2-a]pyrimidine derivatives. *Acta. Pharm.* 56: 231-244.
25. Nita, M. E.; Nagawa, H.; Tominaga, O. and Tsuno, N. (1998). 5-fluorouracil induced apoptosis in human colon cancer cell lines with modulation of Bcl-2 family proteins. *Br. J. Cancer* 78: 986-992.
26. Sharma, R.; Adam, E. and U. Schumacher, (1997). The action of 5-fluorouracil on human HT29 colon cancer cells grown in SCID mis:mitosis, apoptosis and cell differentiation. *Br. J. Cance* 76: 1011-1016.
27. Gorneva, G.; Matev, R.; Gugova, R. and E. Golovinsky, (2005). The study of the apoptogenic effect of pyrimidine derivatives on Murine leukemia cells. *Arch. Oncol.* 13(2): 62-64.
28. Sridhar, J.; Akula, N. and N. Pattabriman, (2006). Selectivity and potency of cycline-dependent kinase inhibitors. *The AAPSJ* 8(1): 204-221.
29. Furniss, B. S.; Hannoferd, A. J.; Smith, P. W. G. and A. R. Tatchell, (1996). *Vogel's Text Book of Practical Organic Chemistry*, Addison Wesley Longman Limited, England.
30. Freshney, R. I. (2000). *A. Manual for Basic Technique*, 4th ed., Wiley-Liss, John Wiley & Sons. New York.
31. Abdul-Majeed, M. R. (2000). Indication and characterization of CU99 plasmacytoma cell line and it is effect on mice Immune response. ph. D. Thesis Nahrain Univ.
32. Mahony, D. E.; Gilliatt, E.; Dawson, S.; Stockdale, E. and Lee, S. H. S. (1989). Vero cell assay for rapid detection of clostridium perfringins entrotoxin. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 2141-2143.
33. Seiple, L.; Jaruga, P.; Dizdarolgu, M. and Stiver, J. T. (2006). Linking uracil base excision repair and 5-fluorouracil toxicity in yeast. *Nucleic Acid Res.*, 34, No.1: 140-151.
34. Peter, O.; Yingzhuo, Y.; Sihoag, Z. and Richard, A. (2003). Identification of the Anti Neoplastic Agent 6- with lymphoblastic leukemia: Result of U. K. Medical Research Council Trial UKALLX . *Lancet.* 345: 143-148.
10. Wilman, D. E. V. (1990). *The Chemistry of Antitumor Agents.* 3. Chapman and Hall, New York.
11. Burger, (1970). *Medicinal Chemistry.* (3rd ed.). 740. Wiley-Int., New York.
12. Duschinsky, R.; Plevin, E. and Heidelberger, C. (1957). The synthesis of 5-fluoropyrimidines. *J. Am. Chem. Soc.* 79: 4559.
13. Malet-Martino, M. and Martino, R. (2002). Clinical studies of three oral prodrugs of 5-fluorouracil (capecitbine, UFT, S-1): A Review *Oncologist.* 7: 288-323.
14. Rich, T. A.; Shepard, R. C. and Molsey, S. T. (2004). Four decades of continuing innovation with fluorouracil : Current and future approaches to fluorouracil chemoradiation therapy. *J. Clin. Oncol.* 22: 2214-2232.
15. Talley, R. W. and Vaitkevicius, V. K. (1963). Megaloblastosis procedure by a cytosine antagonist 1-D-arabinofuranosylcytosine. *Blood.* 21: 252.
16. Chabner, B. A. (1990). *Cytidine Analogues In: Chabner, B. A. and Coolins, J. M. Editors. Cancer Chemotherapy: Principles and Practice.* 154. Philadelphia, PA: Lippincott.
17. Sorm, F.; Piskala, A.; Cihak, A. and Vesely, J. (1964). 5-azacytidine. A new highly effective cancerostatic. *Experientia.* 20: 202-203.
18. Adams, R. L. and Burdan, R. H. (1982). DNA methylation in eukaryotes. *CRC Crit. Rev. Biochem.* 13: 349-384.
19. Delong, D. C. Hertel, L. W. and Tang, J. (1986). Antiviral activity of 2',2'-difluorodeoxycytidine. Washington, DC: American Society of Microbiology.
20. Hertel, L. W.; Boder, G. B. and Kroin, J. S. (1990). Evaluation of the antitumor activity of 2',2'-difluoro-2'-deoxycytidine. *Cancer Res.* 50: 4417-4422.
21. Lund, B. P.; Kristjansen, E. G. and Hanson, H. H. (1993). Clinical and preclinical activity of 2',2'-difluorocytidine. (gemcitabine). *Cancer Treat Rev.* 19: 45-55.
22. Wang, L.; Huang, M.; XU, N.; Shentu, J.; Liu, J. and Cai, J. (2005). Pharmacokinetics of gemcitabine in Chinese patient with non-small-cell lung cancer. *J. Zhejiang. Univ. SCI.* 6B(5): 445-450.

permeability in Chinese hamsters
ovary cell Mutants. Biochem.
Biophys. Acta. 455: 152-162.

Mercaptopurine as an Activator of the
Orphan Nuclear Hormone Receptor
Nurr 1.

35. Juliano, R. L. and Ling, V. (1976). A surface
glycoprotein modulating drug

جدول (1) تراكيب وتسمية المركبات المستعملة في البحث

CPD No.	Abbrev.	Structure	Name
1	6-admu		6-amino 1,3 dimethyl uracil
2	dthy		2-deoxythymidine
3	phazocyt		6- (phenylazo)-cytidine
4	6-MP		6-Mercaptopurine

جدول (2) قيم الامتصاص لخلايا الخط الخلوي السرطاني (Hep-2) بوجود المركبات و 6-MP وخلال مدة تعريض (48) ساعة بطول موجي (492 نانومتر).

6-MP	phazocyt	dthy	6-admu	التركيز (µg/ml)
0.171	0.171	0.171	0.171	0.0
0.141	0.132*	0.128*	0.152	62.5
0.119	0.112*	0.107*	0.147	125
0.101	0.105*	0.097*	0.128	250
0.038	0.098*	0.089*	0.102*	500
0.114	0.124*	0.118	0.140*	المعدل
0.0096	0.0189	0.0130	0.0455	LSD _{p<0.001}

6-MP و المركبات بين المقارنة LSD قيمة تمثل Comp LSD_{p<0.001} Comp=0.0068

* فرق معنوي

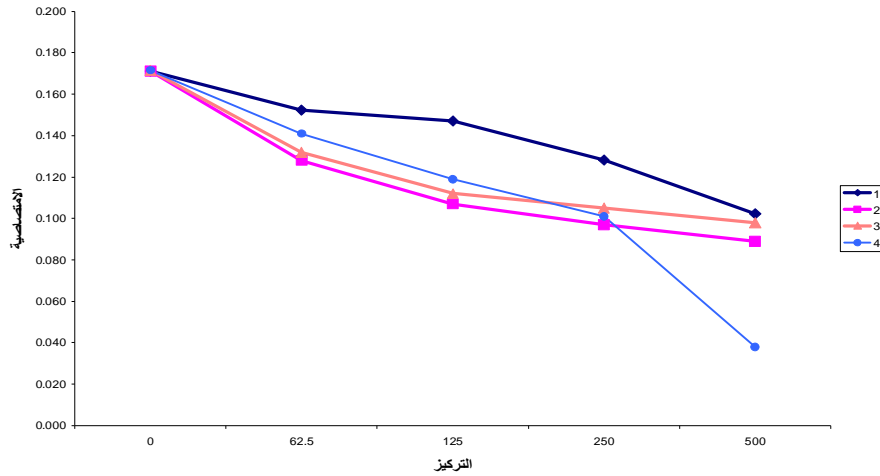
جدول (3) التأثير التثبيطي للمركبات في نمو خلايا الخط الخلوي السرطاني (Hep-2) مقارنةً بالمركب 6-MP.

Inhibition (%)				التركيز (µg/ml)
6-MP	phazocyt	dthy	6-admu	
17.76	23.01	25.35	11.20	62.5
30.59	34.68	37.59	14.16	125
41.09	38.76	43.43	25.20	250
77.84	42.84	48.09	40.36	500
283.71	671.73	434.56	676.32	(IC ₅₀)
594.51	1705.32	1380.19	1231.11	(IC ₉₀)

6-MP= 6-Mercaptopurine (Standard Drug)

IC50= Drug concentration that inhibited cell growth by 50%

IC90= Drug concentration that inhibited cell growth by 90%



شكل (1) تأثير المركبات مقارنةً بالمركب (6-MP) في تثبيط نمو الخط الخلوي السرطاني Hep-2 وخلال مدة تعريض 48 ساعة.

Study of Inhibition Effect of Three Pyrimidine Derivatives on Growth of Human Epidermoid Larynx Carcinoma Cell Line (Hep-2) (In vitro)

Hammed H. Ali Rashed M. Rashed

E.mail: scianb@yahoo.com

Abstract: The present paper included a study of the inhibitory effect of three pyrimidine derivatives (6-amino 1,3dimethyl uracil (6-admu), 2'-deoxythmidine (dthy) and 6-(phenylazo)-cytidine (phazocyt)) in comparison with the medical compound (6-MP) as a standard anti cancer on the inhibition of the growth of cancer cell line of Hep-2 (Human epidermoid larynx carcinoma) In vitro. Results have shown significant differences of a probability level ($p < 0.001$), compared with 6-MP compound of (phazocyt and 6-admu), while (dthy) compound did not show any significant differences at the same level of probability ($p > 0.001$). When comparing the inhibitory effect of concentrations within the single compound, we notice significant differences of the probability level ($p < 0.001$), starting from the first treatment ($62.5 \mu\text{g/ml}$) of (dthy) and (phazocyt) compounds. (6-admu) compound showed a significant effect in the last treatment. Result have revealed that the two compounds (dthy, phazocyt) have greater effect in comparison with 6-MP compound within ($125 \mu\text{g/ml}$) concentration. Also, values of lethal inhibition concentration of (IC50) and lethal concentration of 90% of cells (IC90) were extracted. It has been found that the best activity was for (dthy) compound.