СИНТЕЗ НЕЛАРАБИНА

SYNTHESIS OF NELARABINE

Е. И. Квасюк¹, А. И. Зинченко², С. Н. Шахаб¹, А. Г. Сыса¹
E. Kvasyuk¹, A. Zinchenko², S. Shahab¹, A. Sysa¹

¹Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь

²Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь
ekvasyuk@inbox.ru

¹Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Разработан эффективный способ получения 2-амино-6-метокси-9-(β-D-арабинофуранозил) пурина (неларабина) (**3**) путём ряда последовательных химических трансформаций арабинофуранозилгуанина (**19**) без выделения и очистки промежуточных продуктов реакций (**20**, **21** и **22**). Полученный в результате неларабин был выделен методом адсорбционной колоночной хроматографии на силикагеле. Структура неларабина была подтверждена на основании данных УФ-, ¹H ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

An effective method for preparation of 2-amino-6-methoxy-9-(β-D-arabinofuranosyl) purine (nelarabine) (**3**) by transformation of arabinofuranosylguanine (**19**) without isolation and purification of intermediates (**20**, **21** and **22**) was developed. The synthesized nelarabine was isolated by SiO₂ column chromatography. The structure of synthesized nelarabine was confirmed by UV-, NMR-spectroscopy and mass-spectrometry.

Ключевые слова: арабинофуранозилгуанин, неларабин, химический синтез, адсорбционная хроматография.

Keywords: arabinofuranosylguanine, nelarabine, chemical synthesis, column chromatography.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-73-76>

Возникновение резистентности к действию лекарственных препаратов требует их постоянного обновления для обеспечения эффективности процесса лечения различных заболеваний. В результате постоянно проводимых научных исследований по поиску биологически активных соединений и появляются препараты нового поколения. Одним из таких соединений является модифицированный нуклеозид 2-амино-6-етокси-9-(β-D-арабинофуранозил) пурин (неларабин). Это соединение, обладающее противоопухолевой и противовирусной активностью, наряду с флударабином и кладрибином, пополнило арсенал противолейкозных соединений нового поколения [1-3]. Неларабин относится к антиметаболитам пуринового ряда и является аналогом дезоксигуанозина. По механизму своего действия неларабин можно отнести к про-лекарствам, а его активной формой является продукт дезаминирования – арабинофуранозилгуанин (araG), который, превращаясь в клетках в соответствующий 5'-трифосфат, ингибирует синтез ДНК, оказывая цитотоксическое действие. Преимуществом неларабина, как противоопухолевого препарата, в сравнении с araG, является его большая (в ~10 раз) растворимость [2, 3]. К недостаткам следует отнести более сложный синтез соединения. К настоящему времени другие биологические свойства неларабина изучены недостаточно, и их дальнейшее изучение является весьма перспективным.

Упомянутый впервые в печати в 1981 году, неларабин уже в 2005 году был введён в США, а 2007 году в европейских странах в качестве орфанного препарата для лечения лейкоза. Ввиду эффективности действия и перспективности практического использования для синтеза неларабина были предложены разнообразные химические и химико-энзиматические методы. В связи с появляющимися возможностями в использовании новых исходных соединений для синтеза неларабина число реализованных схем его получения постоянно растёт. Оба фрагмента молекулы неларабина (2-амино-6-метоксипурин и D-арабинофураноза) не являются компонентами природных нуклеозидов, поэтому использование только микробиологического подхода к синтезу неларабина пока не представляется возможным.

Традиционная для синтеза модифицированных нуклеозидов схема с использованием реакции гликозилирования была реализована и для получения неларабина (смотри литературу в [4]). Она включает реакцию взаимодействия 2-амино-6-метоксипурина (**1**) с хлорпроизводным **2** (рис. 1). Продуктом реакции является неларабин **3** и его α-аномер, разделение которых с помощью хроматографии является сложной проблемой. Многостадийность химического получения исходных соединений и необходимость разделения аномеров неларабина не позволяет использовать данный метод для синтеза неларабина **3** в препаративных количествах.

К альтернативным химическим способам получения неларабина можно отнести методы, основанные на трансформации природных или синтетических пуриновых нуклеозидов. Так, в результате пятистадийной трансформации коммерческого арабинофуранозиладенина (araA) **4** через промежуточные производные **5-8** был получен неларабин **3** (рис. 2) [4].

Рисунок 1 – Схема синтеза неларабина 3 методом гликозилирования

Рисунок 2 – Схема трансформации araA 4 в неларабин 3

Одной из стадий в синтезе неларабина является введение в положение C-6 гетероциклического пуринового основания метоксильной группы, что обычно осуществляется действием раствора метилата натрия в метаноле на соответствующее 6-хлорпроизводное, которое можно получить исходя из производных гуанозина. Поэтому природный нуклеозид гуанозин **9** был выбран в качестве исходного соединения для его трансформации в неларабин **3** согласно схеме, представленной на рисунке 3.

Ключевой стадией в этой схеме является стадия селективного 2'-деацетилирования соединения **11** под действием гидроксиламина, которая из-за недостаточной селективности реакции, протекает с образованием смеси продуктов. Обработка диацетата **12** ангидридом трифторметансульфоновой кислоты приводит к соединению **13**. Нуклеофильное замещение трифторметансульфогруппы действием уксусной кислоты даёт триацетат **14**, являющийся уже производным арабинозы – сахара, присутствующего у неларабина. Деацетилирование соединения **14** даёт неларабин **3**.

Оригинальный подход к синтезу неларабина, опубликованный сравнительно недавно [5], заключается в многостадийном превращении гуанозина **9** в 2-амино-8-гидразино-6-метокси-(β-D-арабинофуранозил) пурин (**15**), дегидразинолиз которого, катализируемый оксидом меди, даёт неларабин **3** (рис. 4).

Как видно из представленных ранее схем, химический синтез пуриновых арабинозидов является многостадийным, трудоёмким и требующим использования весьма токсичных реагентов. Существенный прогресс в синтезе пуриновых арабинозидов был достигнут благодаря использованию метода ферментативного трансгликозилирования с помощью бактериальных фосфорилаз [1]. Источником D-арабинозы в этом случае послужил арабинофуранозилурацил **16**, который сравнительно легко получается реакцией химического или ферментативного дезаминирования арабинофуранозилцитозина – коммерческого противолейкозного препарата. Под действием фермента уридинфосфорилазы арабинозид **16** превращается в D-арабинозо-1-фосфат (**17**) и урацил **18**. В присутствии другого фермента пуридиннуклеозидфосфорилазы, катализирующего реакцию гликозилирования, арабинозид **17** взаимодействует с добавляемым в инкубационную среду 2-амино-6-метоксипурином (**1**), давая неларабин **3** (рис. 5).

Рисунок 3 – Схема получения неларабина 3 из гуанозина 9

Рисунок 4 – Схема синтеза неларабина 3 реакцией гидразинолиза

Рисунок 5 – Схема ферментативного синтеза неларабина 3

Урацил **18**, образующийся в качестве побочного продукта реакции, не мешает выделению пуриновых арабинозидов, которые, из-за своей плохой растворимости, выпадают в осадок. Хотя субстратная специфичность пуриннуклеозидфосфорилазы зависит от структуры пуринового основания, этот метод синтеза пуриновых арабинозидов, несмотря на длительность процесса, можно считать универсальным и пригодным для препаративного получения практически значимых соединений. С помощью этого метода был синтезирован ряд биологически активных пуриновых арабинозидов, включая флударабин.

К модификации этого метода можно отнести способ синтеза неларабина (и других пуриновых арабинозидов), основанный на использовании в качестве донора арабинозы не нуклеозида **16**, а предварительно полученного химическим способом D-арабинозо-1-фосфата (**17**) и пуриннуклеозидфосфорилазы [6]. Однако, низкий выход продукта реакции и трудности в получении арабинозофосфата позволили авторам реализовать данный подход только для получения миллиграммовых количеств соединений.

В результате того, что пуриновые арабинозиды стали доступными коммерческими соединениями, в качестве исходного соединения для синтеза неларабина нами был выбран 9-(β-D-арабинофуранозил) гуанин (araG) (**19**). В результате четырёхстадийного синтеза, представленного на рисунке 6, araG был превращён в неларабин **3**.

Рисунок 6 – Схема получения неларабина **3** из araG **19**

Ацетилирование araG **19** укусным ангидридом в ацетонитриле, в присутствии триэтиламина и диметиламинопиридина в качестве катализаторов давало триацетат **20**, который выделяли в кристаллическом состоянии с выходом 90%. Обработка триацетата **20** хлорокисью фосфора в ацетонитриле в присутствии бензилтриэтиламмоний хлористого при 100-110°C и последующая стандартная обработка реакционной смеси (нейтрализация и обработка смесью хлороформ-вода) приводили к 6-хлорпроизводному (**21**), которое без дополнительной очистки деацетилировали действием раствора карбоната калия в метаноле при 50-60°C. Последующая обработка реакционной смеси ионообменной смолой Дауэкс 50х8 (H⁺-форма) и активированным углём приводили к деацетилированному 6-хлорпроизводному (**22**) в виде аморфного порошка. Действием раствора метилата натрия в метаноле на хлорпроизводное **22** получали неларабин **3**, который выделяли колоночной хроматографией на силикагеле и последующей перекристаллизацией из воды с суммарным выходом 50% в расчёте на исходный araG.

Структура синтезированного неларабина подтверждена данными УФ- и ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии и сравнением с образцом неларабина.

Разработанный химический метод синтеза получения неларабина не требует выделения промежуточных продуктов реакции в чистом виде, что упрощает процесс синтеза и позволяет получать продукт в препаративных количествах.

ЛИТЕРАТУРА

1. 6-Methoxypurine arabinoside as a selective and potent inhibitors of varicella-zoster virus / D. V. Averett [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 1991. – Vol. 35, № 5. – P. 851–857.
2. 2-Amino-6-methoxypurine arabinoside: an agent for T-cell malignancies / C. U. Lambe [et al.] // Cancer Res. – 1995. – Vol. 55. – P. 3352–3356.
3. Nelarabine: a novel purine antimetabolite antineoplastic agent / L. W. Buie [et al.] // Clinical Therapeutics. – 2007. – Vol. 29, № 9. – P. 1887–1899.
4. Xia, R. Synthesis of nelarabine with pure β -anomer through late-stage C-H nitration / nitro-reduction / R. Xia, Li-Ping Sun, Gui-Rong Qu // Heterocycles. – 2015. – Vol. 91, № 12. – P. 2386–2393.
5. Xia, R. Efficient and green synthesis of purine arabinosides via CuO catalyzed dehydrazination in tap water / R. Xia, Li-Ping Sun // ARKIVOC. – 2015. – (vii). – P. 284–292.
6. A chemo-enzymatic synthesis of β -D-arabinofuranosyl purine nucleosides / I. D. Konstantinova [et al.] // Synthesis. – 2011. – № 10. – P. 1555–1560.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПАРАМЕТРОВ ГИСТОГРАММ ДОЗА-ОБЪЕМ ДОЗИМЕТРИЧЕСКИХ ПЛАНОВ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ QUANTITATIVE ANALYSIS OF DOSE-VOLUME HISTOGRAMS' PARAMETERS OF THE PROSTATE CANCER RADIATION THERAPY

Е. П. Ковальская, М. Н. Петкевич, Е. В. Тумович
E. Kovalskaya, M. Piatkevich, E. Titovich

Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
kowskaya.ekaterina@yandex.ru

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

Оценка конформности и гомогенности дозового распределения по облучаемому объему мишени (в общем случае опухоли) является неотъемлемой процедурой анализа плана лучевой терапии и обязателен к проведению перед его одобрением радиационным онкологом. На сегодняшний день существует несколько методов расчета индексов конформности и гомогенности, применяемых специалистами в отделениях