

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-метокси-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].

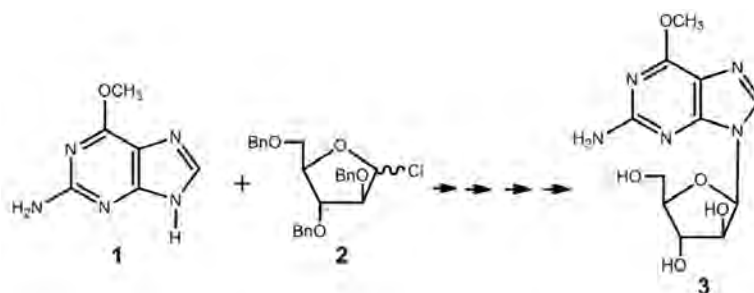


Рисунок 1 – Схема синтеза неларабина 3 методом гликозилирования

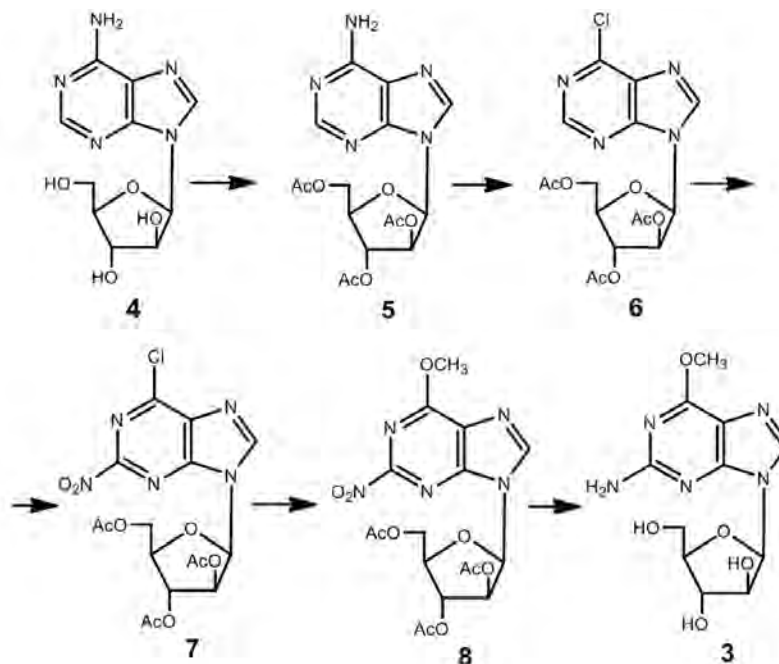


Рисунок 2 – Схема трансформации araA 4 в неларабин 3

Одной из стадий в синтезе неларабина является введение в положение С-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'-дезацетилирования 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 энзиматического трансгликозилирования с помощью бактериальных фосфорилаз [1]. Источником D-арабинозы в этом случае послужил арабинофуранозилурацил **16**, который сравнительно легко получается реакцией химического или энзиматического 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).

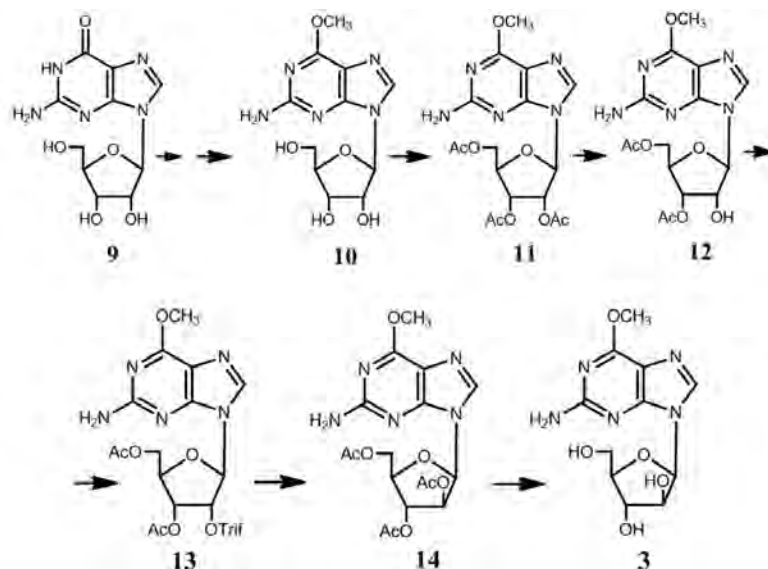


Рисунок 3 – Схема получения неларабина 3 из гуанозина 9

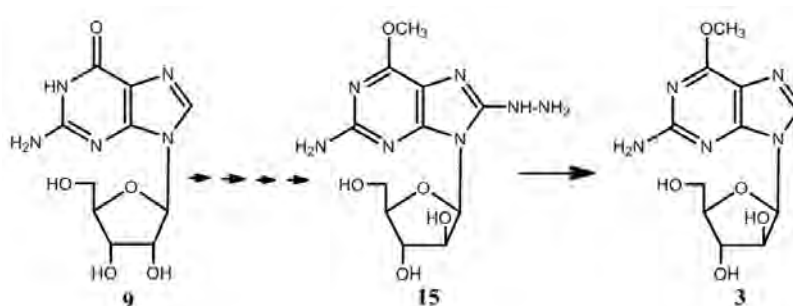


Рисунок 4 – Схема синтеза неларабина 3 реакцией гидразиолиза

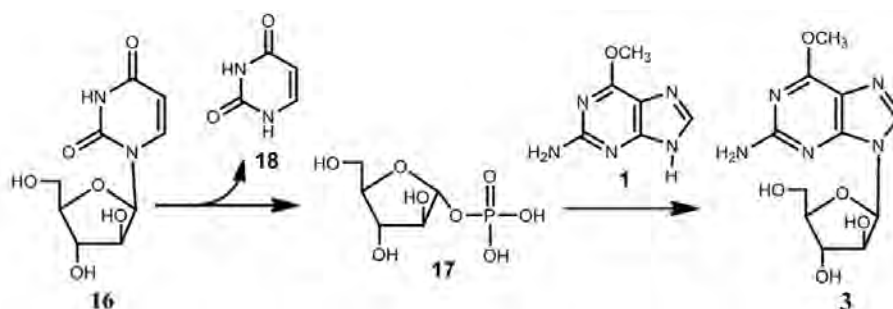


Рисунок 5 – Схема ферментативного синтеза неларабина 3

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 пуридинуклеозидфосфорилазы 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 пуридинуклеозидфосфорилазы [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**.

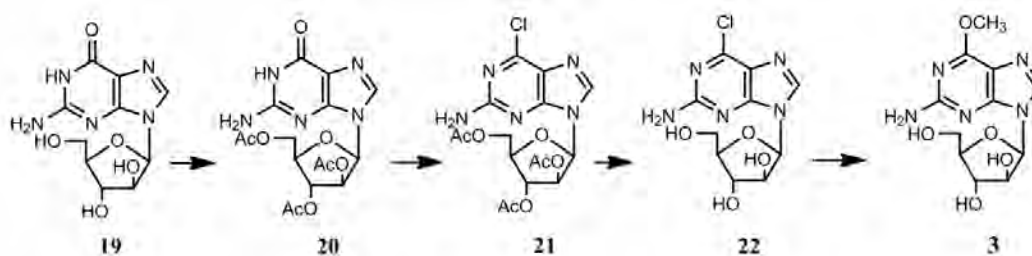


Рисунок 6 – Схема получения неларабина 3 из araG 19

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 дезацетилировали действием раствора карбоната калия в метаноле при 50-60°C. Последующая обработка реакционной смеси ионообменной смолой Дауэкс 50x8 (H⁺-форма) и активированным углём приводили к дезацетилированному 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. Титович
E. Kovalskaya, M. Piatkevich, E. Titovich

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
kovalskaya.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 лучевого лечения и обязателен к проведению перед его одобрением радиационным онкологом. На сегодняшний день существует несколько методов расчета индексов конформности и гомогенности, применяемых специалистами в отделениях