

Heksofuranosidinukleosidit

Synteesi ja sovellutukset

LuK -tutkielma
Bio-organisen kemian tutkimusryhmä
Turun Yliopisto

Laatija:
Pihla Peltomäki

3.5.2024
Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kandidutkielma

Oppiaine: Kemia

Tekijä(t): Pihla Peltomäki

Otsikko: Heksofuranosidinukleosidit

Ohjaaja(t): Prof. Pasi Virta

Sivumäärä: 15 sivua

Päivämäärä: 3.5.2024

Heksofuranosidinukleosidit ovat sokeriosasta modifioituja biologisesti aktiivisia nukleosidianalogeja, jotka muistuttavat rakenteeltaan luonnollisia ribo- ja deoksiribonukleosideja. Fysiologisia nukleosideja muistuttavan rakenteensa vuoksi heksofuranosidinukleosidit voivat osallistua solujen aineenvaihduntaan, mikä tekee niistä potentiaalisia lääkekehityksen kohteita.

Nukleosidit koostuvat emäsosasta ja sokeriosasta. Emäsosa on joko adeniini (A), guaniini (G), sytosiini (C), urasiili (U) tai tymiini (T). Sokeriosa on joko viisihiilinen riboosi tai 2'-deoksiriboosi. Allo- ja talofuranoosit ovat lääkekehityksen kannalta merkittäviä heksofuranooseja, sillä niiden rakenteen osana on luonnollisissa nukleosideissa esiintyvä riboosi.

Allo- ja talofuranoosien synteesissä avainprekursorina toimii 1,2;5,6- α -D-allofuranoosi, josta voidaan valmistaa sekä allo- että talofuranooseja useammalla eri synteesimenetelmällä. Kyseistä avainprekursoria on kaupallisesti saatavilla, mutta sitä voidaan myös syntetisoida glukosista. Nukleosidisynteesissä heksofuranooisisokeri liitetään emäkseen Vorbrüggenin glykosylaatiolla. Nukleosidianalogien biologista aktiivisuutta voidaan muokata erilaisilla emäs- ja sokeriosaan tehtävillä modifikaatioilla, kuten sokerin OH-ryhmien sekä emäksen NH-ryhmien substituutiolla.

Lääkeainetutkimuksissa heksofuranosidinukleosidien on havaittu osoittavan potentiaalia kiinteitä kasvaimia sekä useaa ihmisillä esiintyvää syöpäsolulinjaa vastaan. Etenkin heksofuranosidianalogien puriinijohdannaiset ovat osoittaneet merkittävää sytotoksista aktiivisuutta. Lisäksi allofuranosidinukleosidien hydroksifosfonaattianalogit ovat osoittaneet potentiaalia syöpälääkkeiden tehostamisessa. Heksofuranosidinukleosidien liittäminen oligonukleotidisekvenssiin vaikuttaa kaksoiskiererrakenteen pysyvyyteen.

Avainsanat: nukleosidi, heksofuranooosi, nukleosidianalogit, syöpälääkkeet

Sisällysluettelo

1	Johdanto	4
2	Heksofuranosidinukleosidien rakenteelliset ominaisuudet.....	5
3	Analogien synteesimenetelmät.....	6
3.1	Sokeriprekursorien synteesimenetelmät.....	6
3.1.1	1,2;5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-allofuranosin valmistaminen.....	6
3.1.2	6-deoksi-D-nukleosidien valmistaminen	7
3.1.3	Hydroksifosfonaattianalogien valmistaminen	9
3.2	Emäksen liittäminen sokeriprekursoriin.....	10
4	Sovellukset.....	11
4.1	Rakennevuorovaikutukset nukleiinihappokaksoiskierteessä	11
4.2	Heksofuranosidinukleosidit syövän hoidossa	12
4.2.1	Sytotoksiset puriininukleosidit	12
4.2.2	cN-II entsyymien inhibiitio syöpähoitojen tehostamisessa	14
5	Yhteenveto	16
6	Viitteet.....	17

1 Johdanto

Nukleosidianalogit eli modifioidut nukleosidit ovat lääkeaineina hyödynnettyjä synteettisiä bioaktiivisia yhdisteitä, jotka muistuttavat rakenteeltaan luonnollisia ribo- ja deoksiribonukleosideja. Nukleosidianalogit ovat lääkekehitykselle merkittävä yhdisteryhmä, sillä ne voivat osallistua solujen aineenvaihduntaan ja niitä voidaan liittää osaksi elimistön nukleiinihappojen, DNA:n ja RNA:n, rakennetta. [1] Heksofuranosidinukleosidit ovat sokeriosasta modifioituja nukleosidianalogeja, jotka ovat potentiaalisia yhdisteitä muun muassa syövän hoitomuotojen kehittämisessä [2], [3]. Heksofuranosidianalogien on myös tutkittu vaikuttavan oligonukleotidien sekä nukleiinihappojen rakenteen pysyvyyteen [4], [5].

Heksofuranosidinukleosidit koostuvat emäs- ja sokeriosasta. Lääkekehityksen tarkoituksiin valmistetuissa nukleosidianalogeissa emäsosa on useimmiten jokin luonnollisissa nukleosideissa esiintyvistä emäksistä. Heksofuranosidinukleosidien sokeriosa on kuusihiilinen heksoosisokeri. Käsittelen tutkielmassani lääkekehityksen kannalta merkittävien heksofuranosidien nukleosidianalogeja sekä analogien synteesimenetelmiä. Näihin sokereihin kuuluvat allo- ja talofuranosidit. Kyseiset sokerikonfiguraatiot ovat lääkekehitykselle olennaisia siksi, että niiden rakenne pitää sisällään luonnollisissa nukleosideissa esiintyvän sokerin, riboosin [6].

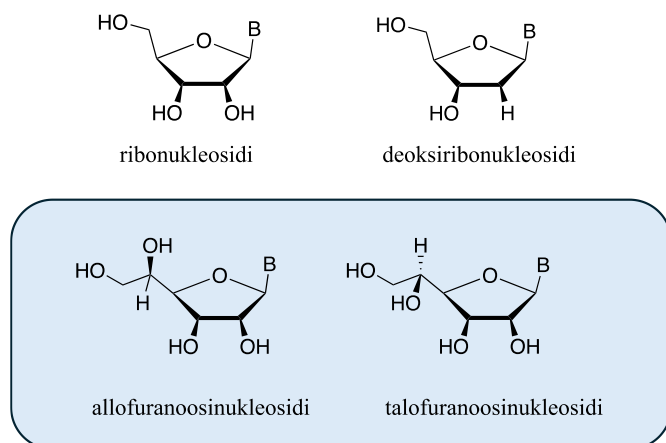
Lääkeainetutkimuksissa heksofuranosidinukleosidit ovat osoittautuneet potentiaalisiksi yhdisteiksi syöpälääkkeinä. Puriinianalogit, etenkin adeniinijohdannaiset, ovat antaneet lupaavia tuloksia *in vitro* ja *in vivo* -tutkimuksissa [2], [3], sillä niiden on osoitettu hidastavan kasvainten kasvua sekä aiheuttavan apoptoosia eli ohjelmoitua solukuolemaa syöpäsolulinjoissa. Sytotoksisuuden lisäksi heksofuranosidinukleosidit voisivat myös tehostaa nykyisten syöpälääkkeiden vaikutusta [7].

2 Heksofuranosidinukleosidien rakenteelliset ominaisuudet

Heksofuranosidinukleosidit muistuttavat rakenteeltaan luonnollisia nukleosideja ja niiden metaboliitteja [8]. Heksofuranosidinukleosidien rakenne voidaan jakaa emäs- ja sokeriosaan. Lääkeaineina hyödynnettävissä nukleosideissa emäsosa on useimmiten jokin luonnollisissa nukleosideissa eli ribo- ja deoksiribonukleosideissa esiintyvistä emäksistä. Kyseessä voi olla siis puriiniemäs, joihin kuuluvat adeniini ja guaniini, tai pyrimidiiniemäs, joita ovat sytosiini, tymiini ja urasiili.

Sokeriosana nukleosidianalogeissa on kuusihiilinen heksofuranooisisokeri. Heksofuranooisien rakenteeseen kuuluu neljästä hiiliatomista ja yhdestä happi-atomista koostuva furanoosirengas ja 5'-hiiliatomiin on kiinnittynyt hydroksimetyyliryhmä. Tämä modifikaatio tuo nukleosidianalogien sokeriosalle uusia rakenteellisiä ominaisuuksia, kuten reaktiivisen 6'-OH-ryhmän sekä optisesti aktiivisen 5'-hiilen, joita voidaan hyödyntää analogien aktiivisuuden muokkaamisessa [6]. Allo- ja talofuranooisit (kaava 1) muistuttavat rakenteeltaan luonnollisissa nukleosideissa esiintyviä sokereita, riboosia ja deoksiriboosia (kaava 1), minkä takia kyseiset heksoosiosokerit ovat herättäneet kiinnostusta lääkeainetutkimuksissa.

Heksofuranosidinukleosidien ominaisuuksia voidaan muokata sekä sokeri- että emäsosaan tehtävillä modifikaatioilla. Sokeriosan OH-ryhmiin sekä emäsosan aminoryhmiin (NH₂) voidaan liittää erilaisia substituentteja, joiden avulla voidaan muokata nukleosidin kemiallisia ja fysikaalisia ominaisuuksia. Lisäksi modifikaatioita voidaan tehdä myös emäsosan aromaattiseen renkaaseen. Nukleosideja muokkaamalla voidaan vaikuttaa esimerkiksi oligonukleotidin tai potentiaalisen lääkeaineen fysikaalisiin ja kemiallisiin ominaisuuksiin, kuten rakenteen pysyvyyteen ja yhdisteen biologiseen aktiivisuuteen [4], [9].



Kaava 1. Luonnolliset ribo- ja deoksiribonukleosidit sekä allo- ja talofuranosidinukleosidit

3 Analogien synteesisimenetelmät

Heksofuranosidinukleosideja voidaan syntetisoida usealla eri menetelmällä ja nukleosidisynteesin vaiheet ja siinä käytettävät reagenssit vaihtelevat halutun lopputuotteen mukaan. Heksofuranosidinukleosidien synteisivaiheisiin kuuluvat sokeriprekursorin valmistaminen ja muokkaaminen nukleosidisynteesiin sopivaksi. Tähän kuuluu emäksen liittäminen sokeriosaan Vorbrüggenin glykosylaatiolla ja lopulta vielä suojaryhmien poistaminen sekä mahdollisten substituenttien liittäminen nukleosidiin.

3.1 Sokeriprekursorien synteesisimenetelmät

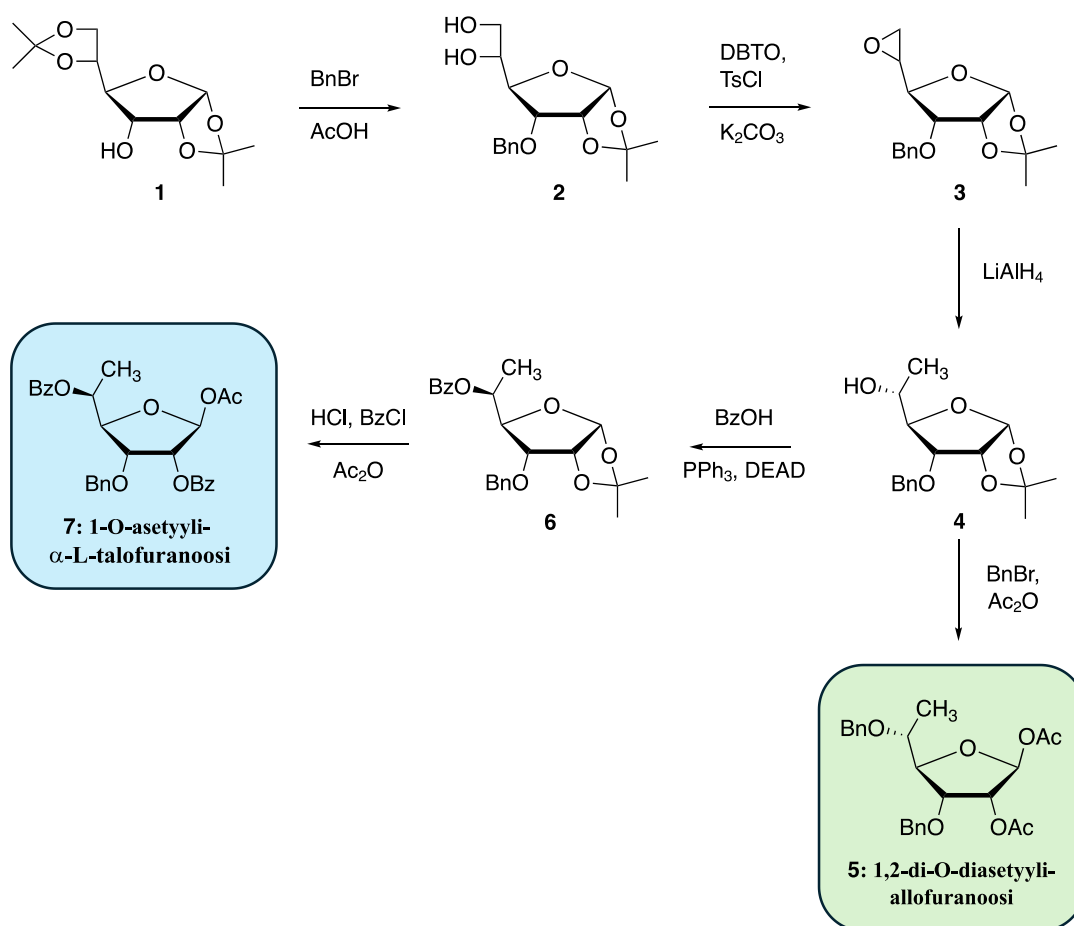
Kirjallisuudessa esitellyissä menetelmissä sekä allo- että talofuranoosien synteessin lähtöaineena on usein käytetty 1,2,5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-allofuranosia [10], [11], [12]. Kyseistä yhdistettä voidaan käyttää prekursorina allofuranosinukleosidien valmistuksessa, mutta siitä voidaan myös syntetisoida talofuranooseja muokkaamalla 5'-hiilen konfiguraatiota. Useimmissa kirjallisuudessa esitellyissä synteesisimenetelmissä on käytetty kaupallista 1,2,5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-allofuranosia, mikä nopeuttaa ja helpottaa nukleosidisynteesin toteuttamista. Tätä prekursoria voidaan myös syntetisoida glukoosista.

3.1.1 1,2,5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-allofuranosin valmistaminen

Allofuranosianalogien valmistuksessa hyödynnetään usein kaupallista 1,2,5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-allofuranosia, mutta kyseistä lähtöainetta voidaan syntetisoida muun muassa glukofuranosista [10], [11], [12]. Christensen et al. [11] ovat esitelleet kaksi synteesisimenetelmää, joissa 1,2,5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-allofuranosia (**1**) valmistetaan 1,2,5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-glukofuranosista (**2**) hapetus-pelkistysreaktiolla. Glukofuranosii **2** hapetetaan dimetyylisulfoksidin (DMSO) ja etikkahappoanhydridin seoksessa tai DMSO-fosforipentoksidiseoksessa, jolloin välituotteeksi muodostuu 1,2,5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-ribofuranosid-3-uloosia (**3**). Välituote **3** pelkistetään natriumboorihydridikäsitteilyllä 1,2,5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-allofuranosiksi **1**. [11]

Tutkimuksen mukaan reaktion saanto oli suurempi, kun hapettimena käytettiin fosforipentoksidia. Fosforipentoksidilla reaktion saannoksi raportoitiin 65–75 %, kun puolestaan etikkahappoanhydridillä suoritettuna reaktion saannoksi saatiin 50–60 %. [11] Menetelmissä hyödynnettävät kemikaalit ovat edullisia, joten molemmat menetelmät ovat

Yhdisteestä **4** voidaan myös valmistaa isopropylideenillä suojattua 6-deoksi-D-talofuranoosia **6**. Allofuranoosin 5'-OH-ryhmän inversio talo-konfiguraatioon tapahtuu Mitsunobun reaktiolla, kun sokeria käsitellään bentsoehapolla (BzOH), trifenyylifosfiinilla (PPh₃) ja dietyyliatsidokarboksyllaatilla (DEAD) [3]. Muodostunutta talofuranoosia **6** käsitellään suolahapolla (HCl) ja bentsyylikloridilla (BzCl) ja tämän jälkeen vielä etikkahappoanhydridillä (Ac₂O), jolloin saadaan glykosidaatioon soveltuvaa 6-deoksi-1-O-asetyyli- α -L-talofuranoosia **7**. 6-deoksi-allo- ja talofuranosidinukleosideja on käytetty muun muassa hiirillä tehtävissä *in vivo* -syöpälääketutkimuksissa [3].

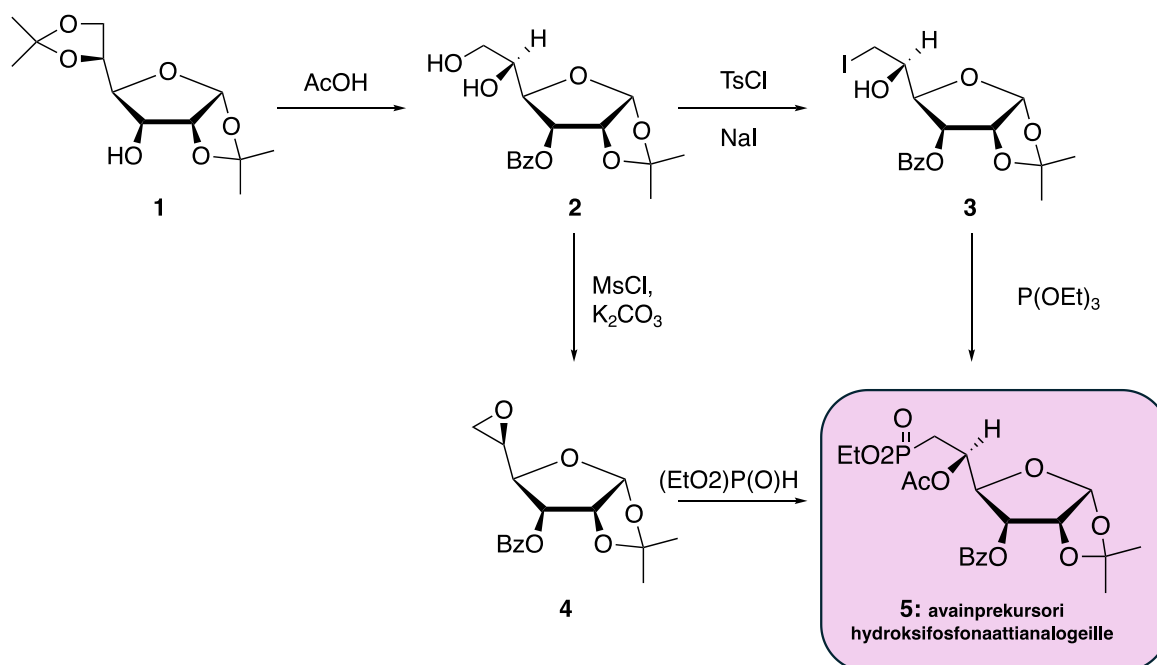


Kaavio 2. 6-Deoksi-allo- ja -talofuranosidinukleosidien prekursorien valmistaminen 1,2,5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-allofuranoosista

3.1.3 Hydroksifosfonaattianalogien valmistaminen

6-deoksi-nukleosidianalogien lisäksi myös hydroksifosfonaattinukleosidianalogit ovat olleet tutkimuksen kohteena syöpälääkkeiden kehittämisessä [7], [9], [12]. Hospital et al. [9] sekä Gallier et al. [12] ovat esitelleet kaksi erilaista synteesimenetelmää allofuranoosinukleosidien hydroksifosfonaattianalogeille. Gallier et al. esittelemässä menetelmässä (Kaavio 3) 1,2,5,6-isopropylideeni- α -D-allofuranoosin **1** 6'-OH-ryhmä substituoidaan jodiatomilla käsittelemällä sitä ensin tolueenisulfonyylikloridilla (TsCl) ja sen jälkeen natriumjodidilla (NaI). Reaktiossa muodostunutta sokerihalidia **3** käsitellään vielä trietyylifosfiitilla $P(OEt)_3$. Trietyylifosfiitin reagoimissa allofuranoosihalidin **3** kanssa syntyy allofuranoosinukleosidien β -(S)-hydroksifosfonaattianalogien synteesissä käytettävä prekursori **5**. [12]

Toisen tavan hydroksifosfonaattien avainprekursorin valmistamiselle ovat esitelleet Hospital et al. [9]. Synteesimenetelmässä (Kaavio 3) hydroksifosfonaattianalogi **5** valmistetaan epoksidintermediaatin **4** kautta. Allofuranoosin **2** 6'-OH-ryhmä mesyloidaan ja mesylaatiovaihetta seuraava intramolekulaarinen nukleofiilinen substituutio johtaa epoksidin **4** muodostumiseen. Epoksidirengas avataan dietyylifosfiittikäsittelyllä $((EtO)_2P(O)H)$, jolloin tuotteeksi saadaan prekursori **5**. [9]



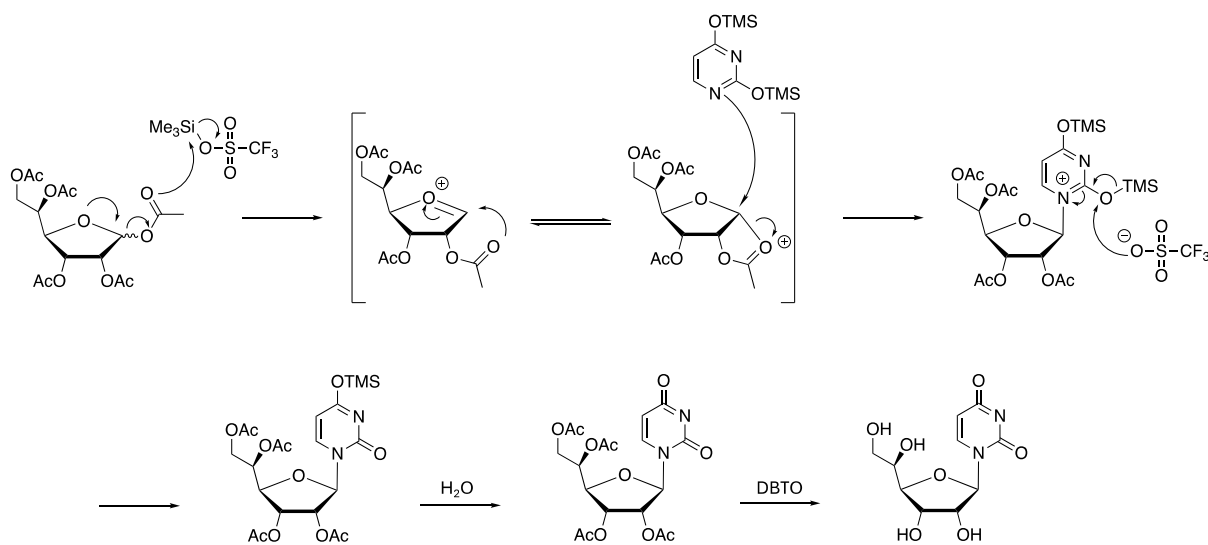
Kaavio 3. β -(S)-hydroksifosfonaattianalogien avainprekursorin valmistaminen 1,2,5,6-di-O-isopropylideeni- α -D-allofuranoosista

3.2 Emäksen liittäminen sokeriprekursoriin

Nukleosidisynteesin aikana sokerien hydroksyyliiryhmät suojataan suojaryhmillä, kuten asetyyli-, bentsyyli- tai bentsoyyliiryhmillä, jotta sivutuotteiden syntyminen voitaisiin välttää. Sokeriosan sopivan modifioinnin jälkeen se liitetään emäkseen N-glykosylaatiomenetelmällä, jota kutsutaan Vorbrüggenin glykosylaatioksi.

Vorbrüggenin glykosylaatiossa silyloitu emäs liitetään asetyloituun sokeriin tai sokerihalidiin ja reaktiota katalysoi metallisuola tai Lewisin happo [14]. Emäksen silylointi parantaa sen liukoisuutta orgaanisiin liuottimiin, kuten asetonitriliin ja dikloorietaaniin, minkä ansiosta reaktioseokset ovat homogeenisia. Emäs voidaan silyloidä esimerkiksi heksametyylidisilatsaanilla (HMDS) tai N,O-bis(trimetyylisilyyli)asetamidilla (BSA). Sokeriasetaattien nukleosidisynteesin katalyyttinä käytetään usein Lewisin happoa, kuten trimetyylisilyylitriflaattia (TMSOTf) tai tinatetrakloridia [14]. Sokerihalidien glykosylaatiossa katalyyttinä toimivat puolestaan metallisuolat, kuten elohopean ja hopean suolat [14].

Glykosylaation jälkeen sokeriosan OH-suojaryhmät poistetaan. Asetyyliiryhmät voidaan poistaa esimerkiksi käsittelemällä nukleosidia metanolin ja ammoniakkin seoksella tai dibutyylitinaoksidilla (DBTO) [2]. Deasetylaatiossa käytettävää reagenssia valittaessa on otettava huomioon emäksen rakenne, sillä esimerkiksi klooria sisältävät emäkset voivat reagoida ammoniakkin kanssa muodostaen asetyloituja aminopuriineja. Tällöin DBTO soveltuu deasetylaatioon paremmin. [2] Suojaryhmien poiston jälkeen nukleosidiin voidaan liittää erilaisia substituentteja tai sitä voidaan hyödyntää sellaisenaan lääkeainetutkimuksissa.



Kaavio 4. Allofuranoosiurasiilin valmistaminen Vorbrüggenin glykosylaatiolla TMSOTf katalysoimana

4 Sovellutukset

4.1 Rakennevuorovaikutukset nukleiinihappokaksoiskierteessä

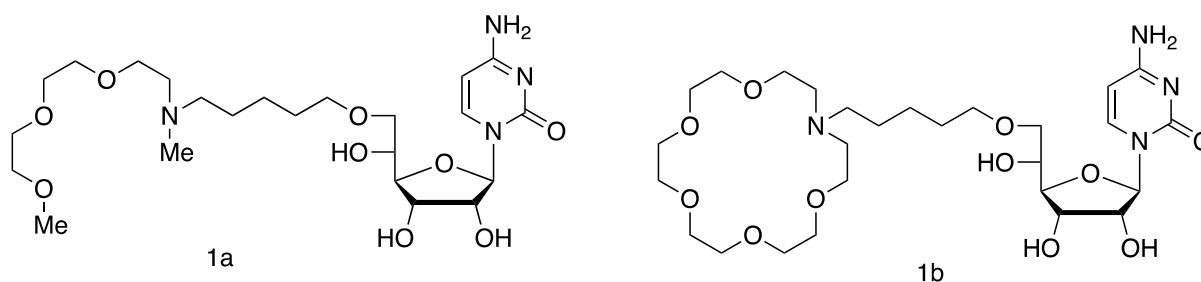
Heksofuranosidinukleosidien liittäminen nukleiinihapposekvenssiin vaikuttaa nukleiinihappojen ja oligonukleotidien kemiallisiin ja fysikaalisiin ominaisuuksiin. Etenkin oligonukleotidien kaksoisjuosterakenteen pysyvyydessä on havaittu merkittäviä muutoksia, kun sekvenssiin on liitetty modifioituja allofuranosidinukleosideja [4]. Kyseisiä rakennevuorovaikutuksia ovat tutkineet Wu ja Pitsch [4], [5]. He tutkivat vuorovaikutuksia RNA-oligonukleotidikaksoisjuosteissa, joissa toinen juosteista sisälsi ainoastaan luonnollisia nukleosideja ja toinen sisälsi yhden heksofuranosidisyysiiniin.

Tutkimuksessa L-talofuranoosia sisältävien nukleosidien havaittiin heikentävän A-tyypin RNA-oligonukleotidien kaksoisjuosteen pysyvyyttä huomattavasti, mutta D-allofuranooosilla samanlaista vaikutusta ei havaittu [4]. Wu ja Pitsch eivät ole julkaisseet tarkempaa tietoa ilmiön syystä, mutta kyseinen epästabiloiva vaikutus voisi johtua sokerin konfiguraatiosta. Kaksoiskierteessä talofuranoosin 6'-OH-ryhmä suuntautuu rakenteen keskelle, jolloin vastakkainen, negatiivisesti varautunut juoste mahdollisesti hylkisi kyseistä ryhmää ja rakenne hajoaisi helpommin. Allofuranooosin 6'-OH-ryhmä puolestaan suuntautuu ulospäin kaksoiskierteestä eikä hylkivää vuorovaikutusta havaita.

Sokerin konfiguraation lisäksi myös sokerirunkoon liitetyt ligandit vaikuttavat oligonukleotidien kaksoisjuosterakenteen ominaisuuksiin. Wu ja Pitsch [4], [5] tutkivat metallioneja sitovien ligandien vaikutusta oligonukleotidijuosteiden pariutumiseen. Tutkimuksessa allofuranooosin 6'-happiatomiin liitettiin metalleja sitovat trietyleeniglykoli- ja 1-aza-18-crown-6-ryhmät (Kaava 2, a ja b) [4]. Kyseiset ryhmät muodostavat kelaatteja elimistössä esiintyvien metalli-ionien, kuten Na^+ , K^+ ja Mg^{2+} -ionien kanssa, minkä takia ne valittiin tutkimuskohteeksi. Ligandien rakennevuorovaikutuksia tutkittiin allofuranooosinukleosideilla, sillä kuten aiemmin mainittiin, talofuranoosin konfiguraatio vaikuttaa kaksoisjuosteessa epästabiloivasti.

Molempien ligandien havaittiin stabiloivan juosteiden pariutumista erityisesti Mg^{2+} -ionien läsnä ollessa, kun modifioidut nukleosidit sijoitettiin lähelle juosteen 3'-päästä. [4] Lähemmäs 5'-päästä liitetyt modifioidut nukleosidit eivät kuitenkaan stabiloineet pariutumista. Erot johtuvat siitä, että 3'-päähän liitettyjen nukleosidien metallikelaatit suuntautuvat

kaksoisjuosteen keskelle ja 5'-päässä olevat kelaatit puolestaan suuntautuvat rakenteen ulkopuolelle. 3'-päästä modifioidun juosteen positiivisesti varautunut metallikelaatti ja vastakkaisen juosteen negatiivisesti varautunut fosfaattirunko ovat lähellä toisiaan, minkä seurauksena niiden välille syntyy juosteiden pariutumista stabiloiva elektrostaattinen vuorovaikutus. 5'-päästä modifioidun juosteen kelaatti on liian kaukana vastaavasta juosteesta eikä niiden välillä siksi havaita vuorovaikutusta. [4]



Kaava 22. (a) trietyleeniglykoliallofuranosisytyosiini, (b) 1-aza-18-crown-6-allofuranosisytyosiini

4.2 Heksofuranosidinukleosidit syövän hoidossa

Rakennevuorovaikutusten lisäksi heksofuranosidinukleosideja on hyödynnetty myös syöpälääkkeiden tutkimuksessa. Nukleosidianalogit ovat lääkekehityksen kannalta merkittäviä tutkimuskohteita, sillä ne pystyvät osallistumaan solujen aineenvaihduntaan sekä häiritsemään syöpäsolujen kasvua ja lisääntymistä [1], [8]. Useat käytössä olevat syöpälääkkeet ovatkin nukleosidianalogeja ja myös heksofuranosidinukleosidien on havaittu osoittavan sytotoksista ja antituumorista aktiivisuutta erilaisia syöpätyyppejä, kuten leukemiaa, kohdunkaulansyöpää ja rintasyöpää aiheuttavia solulinjoja kohtaan [2], [3].

4.2.1 Sytotoksiset puriininukleosidit

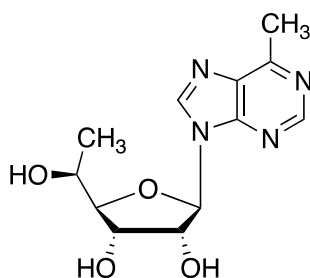
Heksofuranosidinukleosideista etenkin puriinijohdannaisten on havaittu osoittavan sytotoksista aktiivisuutta [3], [10]. Puriinianalogien aktiivisuus perustuu nukleiinihappojen synteesiin osallistuvien entsyymien toiminnan rajoittamiseen. Puriininukleosidit voivat täten inhiboida nukleiinihappojen synteesiä ja juosteiden korjaamista sekä aiheuttaa katkoksia juosteisiin [2], [15].

6-metyylipuriini (MeP) on adeniinista johdettu puriinianalogi, jonka on havaittu ilmentävän antituumorista aktiivisuutta kiinteitä kasvaimia vastaan, kun se aktivoidaan sopivan entsyymin

kanssa [3]. Hassan et al. [3], [10] julkaisemissa tutkimuksissa 6-metyylipuriinille etsittiin uusia sokeriprekursoreja ja tutkittiin valmistettujen analogien antituumorista aktiivisuutta.

Lupaavia tutkimustuloksia antoi heksofuranosidianalogi 9-(6-deoksi- α -L-talofuranosyyli)-6-metyylipuriini (methyl(talo)-MeP-R) (kaava 3). Kyseinen analogi osoitti hiirillä tehdyissä *in vivo* -tutkimuksissa hyvää antituumorista aktiivisuutta D54-kasvaimia vastaan, kun sen hajoaminen aktivoitiin M64V-entsyymien avulla. Kokeissa osoitettiin, että kyseinen 6-metyylipuriinin talofuranoosianalogi inhiboi D54-kasvainten kasvua pitkäaikaisesti kolmen päivän kuluttua annostelun aloituksesta. Tutkimuksessa käytössä oli korkein mahdollinen annostus nukleosidianalogia. [3]

6-metyylipuriini ei kuitenkaan ole selektiivisesti toksinen syöpäsoluille, joten se voi aiheuttaa solukuolemaa myös terveissä kudoksissa, jos sitä vapautuu elimistöön syöpäkudoksen ulkopuolelle [10]. Tämän takia 6-metyylipuriinianalogien hyödyntäminen mahdollisina syöpälääkkeinä vaatii edelleen tutkimusta.

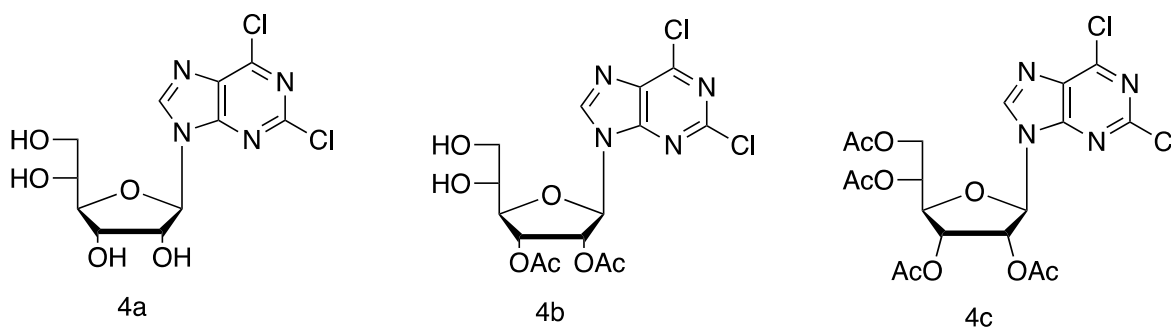


Kaava 33. 9-(6-deoksi- α -L-talofuranosyyli)-6-metyylipuriini (methyl(talo)-MeP-R)

6-metyylipuriinin lisäksi myös emäsosasta halogenoitujen ja sokeriosasta asetyloitujen puriin nukleosidianalogien on osoitettu olevan aktiivisia ihmisellä esiintyviä syöpäsolulinjoja kohtaan. Besada et al. [2] tutkivat klooriatomien sekä asetyyliryhmien vaikutusta allofuranosidipuriinianalogien sytotoksiseen aktiivisuuteen.

Tutkimuksessa sytotoksisesti aktiivisimmiksi yhdisteiksi osoittautuivat 2,9-klooripuriinien analogit **4a–c** (kaava 4). Analogi **4a**, 2,9-klooripuriiniallofuranooosi, osoitti tutkimuksessa kohtalaista aktiivisuutta rintasyöpää aiheuttavaa MCF-7-solulinjaa sekä kohdunkaulansyöpää aiheuttavaa Hela-229-linjaa kohtaan. 2,3-diasetoksi-klooripuriiniallofuranooosi **4b** ja 2,3;5,6-tetra-asetoksi-klooripuriiniallofuranooosi **4c** osoittivat hyvää aktiivisuutta edellä mainittujen linjojen lisäksi myös promyelosyyttistä leukemiaa aiheuttavia HL-60-soluja kohtaan. Analogin **4c** aktiivisuus HL-60-soluja kohtaan osoittautui merkittäväksi, sillä se vastasi jo käytössä

olevan syöpälääkkeen, sisplatiinin, aktiivisuutta. Analogien **4a–c** rakenteita tarkastelemalla voidaan päätellä, että sokeriosan asetylointi lisää näiden allofuranoosinukleosidien sytotoksista aktiivisuutta. Tämä voisi johtua siitä, että asetyyliryhmät kasvattavat yhdisteen lipofiilisyyttä, jolloin se myös läpäisee solukalvon helpommin [2].



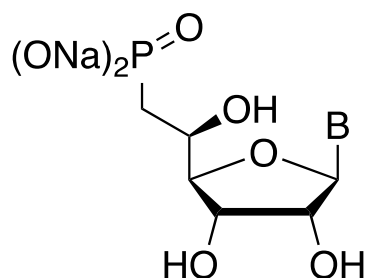
Kaava 44. 2,9-klooripuriiniallofuranoosit

4.2.2 Heksofuranosidinukleosidit syöpälääkkeiden tehostajina

Sytotoksisten puriinijohdannaisten lisäksi heksofuranosidinukleosideja voitaisiin hyödyntää myös käytössä olevien syöpälääkevalmisteiden tehostamisessa [8], [16]. Sytosolissa esiintyvä 5'-nukleotidaasi II (cN-II) on entsyymi, joka katalysoi ribo- ja deoksiribonukleosidifosfaattien hydrolyyttistä hajoamista nukleosideiksi ja fosfaatiksi. cN-II-entsyymillä on tutkittu olevan yhteys syöpähoidoissa käytettävien nukleosidianalogien tehokkuuteen mutta sen toimintamekanismia ei vielä täysin tunneta. [7], [16] On kuitenkin havaittu, että akuuttia myeloomista leukemiaa sairastavien potilaiden hoitoon käytettävät analogit, kuten sytarabiini ja 6-merkaptopuriini, toimivat paremmin, kun cN-II-entsyymien pitoisuus syöpäsolukossa on matala. Korkeampia cN-II-pitoisuuksia ilmentävillä potilailla syöpähoitojen tulos on ollut huonompi. [8]

Jordheim et al. [16], Gallier et al. [7] sekä Meurillon et al. [8], [9] ovat tutkineet hydroksifosfonaattinukleosidianalogeja cN-II-entsyymien inhibiittoreina ja mahdollisina syöpälääkkeiden tehostajina. Hydroksifosfonaattianalogeista potentiaalisia cN-II inhibiittoreita tekee 6'-hiilen ja fosforiatomin välinen sidos. Fosforiatomi on suoraan liittynyt sokerin 6'-hiiliatomiin toisin kuin luonnollisissa nukleotideissa, joissa fosfori on liittynyt sokeriosaan hapen välityksellä fosfodiesterisidoksella. Hydroksifosfonaattianalogien P-C-sidos ei siis hydrolysoitu cN-II-entsyymien vaikutuksesta toisin kuin fosfodiesterisidos, minkä takia hydroksifosfonaatit toimisivat hyvinä substraatteina entsyymille. [7]

Tutkimusryhmien toteuttamissa *in silico* -tutkimuksissa [7], [16] kaksi allofuranosin natrium- β -(S)-hydroksifosfonaattianalogia, natrium- β -D-(S)-allofuranosisytyosiini ja -hypoksantiini (Kaava 5, 5a ja 5b) osoittautuivat parhaiksi cN-II-inhibiittoreiksi, sillä ne pystyivät estämään cN-II-entsyymin toiminnan täysin. Kyseisiä hydroksifosfonaattianalogeja voitaisiin käyttää yhdessä syöpälääkkeinä toimivien nukleosidianalogien kanssa, jolloin ne voisivat tehostaa lääkkeiden antituumorista aktiivisuutta ja parantaa syöpähoitojen lopputulosta. [16] cN-II-entsyymin toimintamekanismia ei kuitenkaan vielä täysin tunneta, joten hydroksifosfonaattianalogien käyttöönotto edellyttäisi vielä laajaa tutkimusta entsyymiin liittyen.



5a: B=C

5b: B=Hyp

Kaava 55. Natrium- β -(S)-hydroksifosfonaattianalogit: a) natrium- β -D-(S)-allofuranosisytyosiini ja b) natrium- β -D-(S)-allofuranosihypoksantiini

5 Yhteenveto

Heksofuranosidinukleosidit ovat lääkekehityksen kannalta lupaavia nukleosidianalogeja, jotka ovat osoittaneet potentiaalia syöpälääkkeinä. Hyvästä sytotoksisesta aktiivisuudestaan huolimatta osa tässä tutkielmassa käsitellyistä analogeista on kuitenkin osoittautunut teholtaan heikommiksi yhdisteiksi käytössä oleviin nukleosidilääkkeisiin verrattuna. Merkittävää aktiivisuutta osoittavien nukleosidianalogien, kuten 2,9-klooripuriinien tai allofuranosyylihydroksifosfonaatten käyttöönotto edellyttäisi vielä jatkotutkimuksia.

Uudenlaisia modifioituja nukleosideja kuitenkin tutkitaan jatkuvasti, ja uusia modifikaatioita kehittämällä voitaisiin löytää lisää lääkeaineina potentiaalisempia ja tehokkaampia nukleosidianalogeja. Nukleosidianalogien tutkimuksella on siis tärkeä rooli biologisten lääkkeiden kehittämisessä ja sitä kautta myös sairauksien hoitamisessa.

6 Viitteet

- [1] L. P. Jordheim, D. Durantel, F. Zoulim, and C. Dumontet, 'Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases', *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 12, no. 6, pp. 447–464, Jun. 2013, doi: 10.1038/nrd4010.
- [2] P. Besada, T. Costas, M. Teijeira, and C. Terán, 'Synthesis and cytostatic activity of purine nucleosides derivatives of allofuranose', *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 45, no. 12, pp. 6114–6119, Dec. 2010, doi: 10.1016/j.ejmech.2010.09.046.
- [3] A. E. A. Hassan, R. A. I. Abou-Elkhair, W. B. Parker, P. W. Allan, and J. A. Secrist, '6-Methylpurine derived sugar modified nucleosides: Synthesis and in vivo antitumor activity in D54 tumor expressing M64V-Escherichia coli purine nucleoside phosphorylase', *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 108, pp. 616–622, Jan. 2016, doi: 10.1016/j.ejmech.2015.12.029.
- [4] X. Wu and S. Pitsch, 'Synthesis and pairing properties of oligoribonucleotide analogues containing a metal-binding site attached to β -D-allofuranosyl cytosine', *Nucleic Acids Res.*, vol. 26, no. 19, pp. 4315–4323, Jul. 1998, [Online]. Available: <https://academic.oup.com/nar/article/26/19/4315/1051924>
- [5] X. Wu and S. Pitsch, 'Functionalization of the sugar moiety of oligoribonucleotides on solid support', *Bioconjug. Chem.*, vol. 10, no. 6, pp. 921–924, 1999, doi: 10.1021/bc9900901.
- [6] E. J. Reist *et al.*, 'Potential Anticancer Agents. I IV. Synthesis of Nucleosides Derived from 6-Deoxy-D-Allofuranose', *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 80, no. 15, pp. 3962–3966, Aug. 1958. [Online]. Available: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- [7] F. Gallier *et al.*, 'Structural insights into the inhibition of cytosolic 5'-nucleotidase ii (cN-II) by ribonucleoside 5'-monophosphate analogues', *PLoS Comput. Biol.*, vol. 7, no. 12, 2011, doi: 10.1371/journal.pcbi.1002295.
- [8] M. Meurillon *et al.*, 'Structure-activity relationships of β -hydroxyphosphonate nucleoside analogues as cytosolic 5'-nucleotidase II potential inhibitors: Synthesis, *in vitro* evaluation and molecular modeling studies', *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 77, pp. 18–37, Apr. 2014, doi: 10.1016/j.ejmech.2014.02.055.
- [9] A. Hospital, M. Meurillon, S. Peyrottes, and C. Périgaud, 'An alternative pathway to ribonucleoside β -hydroxyphosphonate analogues and related prodrugs', *Org. Lett.*, vol. 15, no. 18, pp. 4778–4781, Sep. 2013, doi: 10.1021/ol402143y.
- [10] A. E. A. Hassan, R. A. I. Abou-Elkhair, W. B. Parker, P. W. Allan, and J. A. Secrist, '6-Methylpurine derived sugar modified nucleosides: Synthesis and evaluation of their substrate activity with purine nucleoside phosphorylases', *Bioorg. Chem.*, vol. 65, pp. 9–16, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.bioorg.2015.12.006.

- [11] S. M. Christensen, H. F. Hansen, and T. Koch, 'Molar-scale synthesis of 1,2:5,6-Di-O-isopropylidene- α -D- allofuranose: DMSO oxidation of 1,2:5,6-Di-O-isopropylidene- α -D-glucofuranose and subsequent sodium borohydride reduction', *Org. Process Res. Dev.*, vol. 8, no. 5, pp. 777–780, Sep. 2004, doi: 10.1021/op049903t.
- [12] F. Gallier, S. Peyrottes, and C. Périgaud, 'Ex-chiral-pool synthesis of β -hydroxyphosphonate nucleoside analogues', *Eur. J. Org. Chem.*, no. 6, pp. 925–933, 2007, doi: 10.1002/ejoc.200600562.
- [13] V. Zsoldos-Mfidy and E. Zbiral, 'A New Approach to 6-Deoxy-D-allofuranose-and 6-Deoxy-L-talofuranose Derivatives from 1,2:5,6-Di-O-isopropylidene- α -D-Glucofuranose', *Monatsh. Chem.*, vol. 117, pp. 1325–1338, Feb. 1986.
- [14] C. Maria and A. P. Rauter, 'Nucleoside analogues: N-glycosylation methodologies, synthesis of antiviral and antitumor drugs and potential against drug-resistant bacteria and Alzheimer's disease', *Carbohydr. Res.*, vol. 532, Oct. 2023, doi: 10.1016/j.carres.2023.108889.
- [15] 'C. Galmarini, J. Mackey and C. Dumontet, 'Nucleoside analogues and nucleobases targets involving DNA repair rather than replication and direct or indirect effects on mitochondria', *Lancet Oncol.*, vol. 3, pp. 415–424, Jul. 2002, [Online]. Available: <http://oncology.thelancet.com416>
- [16] L. P. Jordheim *et al.*, 'Identification and characterization of inhibitors of cytoplasmic 5'-nucleotidase cN-II issued from virtual screening', *Biochem. Pharmacol.*, vol. 85, no. 4, pp. 497–506, Feb. 2013, doi: 10.1016/j.bcp.2012.11.024.