

SINTEZA DHE KARAKTERISTIKAT STRUKTURETË DISA INHIBITORËVE TË RINJ TË PURINË NUKLEOZID FOSFORILAZËS DHE FUNKSIONI BIOLOGJIK I TYRE SYNTHESIS AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF SOME NIVEL INHIBITORS OF PURINE NUCLEOSIDE PHOSPHORYLASE AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY

HAMIT ISMAILI*^a, BISERKA ZINIC^b, MUHAMET BICAJ^a, RAMIZ HOTI^a, FLORINA KARANEZI^a

^aFakulteti i Shkencave Matematike Natyrore-Departamenti i Kimisë, Universiteti i Prishtinës, rruga “Nëna Terezë”, 10000 Prishtinë.

^bInstituti Rudjer Boskovic, Laboratori i kimisë supramolekulare dhe nukleozideve, Bjenicka 54, Zagreb, Kroaci.

PËRMBLEDHJE

Mbrojtja e ribozës në poziten 2, 3 dhe 5 është bërë duke përdorur 2,2-dimetoksiopropan, aceton në prani të HCl, dhe klorurin e toluen sulfonilit në prani të piridinës (17). (skema 1). Nga riboza e mbrojtur kemi fituar produktin (19) duke përdorur ftalimidin, K₂CO₃ dhe DMF, pastaj produkti (21) duke përdorur Na₃N, DMF dhe më pastaj me H₂Pd/C, EtOH/CHCl₃, kurse produkti (18) është fituar duke përdorur NaI, DMF dhe ClCH₂CH₂Cl. (skema 2). Kondensimi i 9-deazaguaninës me ribozën e mbrojtur është bërë duke përdorur NaH/DMF për të dhënë (22). Deprotektimi i plotë i komponimit (22) nga substituentet është bërë duke përdorur Amberlit Resin IR-120 (H) në prani të metanolit. (skema 3). Karakterizimi strukturor i produkteve të sintetizuara është bërë nga spektrat IR, UV-VIS, ¹H-NMR dhe ¹³C-NMR.

Fjalët kyçe: PNP, 9-deazaguaninë, refluktim, nukleozide, nukleotide, ADN, ARN.

ABSTRACT

Protection 2, 3, 5 position of ribose was done by using 2,2-dimethoxypropane, aceton in presence of HCl, and toluene sulfonyl chloride in presence of pyridine (17) (scheme 1). The product (19) was obtained by using phthalimide, K₂CO₃ and DMF, the product (21) was obtained by using Na₃N, DMF and H₂Pd/C, EtOH/CHCl₃. The product (18) was obtained by using NaI, DMF and ClCH₂CH₂Cl (scheme 2). Condensation of 9-deazaguanine with protected ribose was done by using NaH/DMF giving (22) and finally deprotection was done by using Amberlit Resin IR-120 (H) in

presence of methanol (scheme 3). The structural characterisation of synthesized products were done by IR, UV-VIS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectra.

Key words: PNP, 9-deazaguanine, reflux, nucleoside, nucleotide, DNA, RNA.

1. HYRJJE

Nukleozidet shfaqin një spektër të gjerë të aktivitetit biologjik i cili përgjithësisht rezulton nga aftësia e tyre për të inhibuar enzimet specifike. Ky aktivitet ka qenë arsye në përdorimin e tyre në zhvillimin e agjentëve të ndryshëm farmaceutikë për përdorimin e trajtimit të kancerit dhe luftimin e viruseve të dëmshëm, baktereve dhe parazitëve.

Aktiviteti biologjik i agjentëve antikancer siç janë 5-fluoro-2'-deoksiuridina (FUDR), arabinozilcitudina (ara-C), 8-azainozina, më tej me zbulimin e patentave të nukleozideve antivirale, arabinoziladenozini (ara-A), dhe agjenti antitumor, toiocamicin kan nxjerr në pah vlerën potenciale të analogëve të modifikuar të nukleozideve si agjentë kemoterapeutikë¹⁻².

Analog të ndryshëm të nukleozideve të përfshirë në inhibimin e HIV-1 transkriptazës reverse, të quajtur ddC, ddI, d4T dhe 3TC, kanë treguar rendësi më të madhe për përdorimin e analogëve të nukleozideve si agjentë kemoterapeutikë³⁻⁵ të efektshëm.

Nukleozidet e modifikuar dhe bazat e acideve nukleike kanë qenë subjekt i shumë studimeve për aktivitetin potencial të tyre si inhibitorë enzimesh që rezultojnë në aktivitet antitumor⁶ dhe antiviral⁷. Derivatet e reja të njohura si agjentë citotoksik “molekula të vogla” në një të ardhme të afërt do të

arrijnë të jenë pjesë esenciale e terapisë ndaj kancerit. Nisur nga ky fakt, ekziston kërkesë e vazhdueshme për sinteza të agjentëve të tillë me veti të përmirësuara^{8,9}, të njohur si “molekula të vogla”.

Objektivi ynë kryesor ishte dizajnimi i një molekule inhibitore e enzimës purinë nukleozidë fosforilazës (PNP). Si një pjesë e programit tonë drejtë sintezave të reja të nukleozideve¹⁰⁻¹⁵ dhe aktivitetit biologjikë të tyre, ne hulumtuam një rrugë më efikase për sintezën e derivateve të 9-deazaguaninës.

2. METODAT DHE MATERIALET

Sintezat e produkteve janë bërë me reaksione në kushte refluktimi. Monitorimi i reaksioneve është bërë me TLC në lastra plastike DC- Kieselgel 60 F₂₅₄. Pastrimi i produkteve është bërë me kromatografi në kolonë duke përdorë silikagel Merck 0.040-0.063 mm. Pikat e shkrires janë përcaktuar me aparaturën e Kofler-it, në pllakë të nxehët dhe janë të pakorrigjuara. Spektrat UV [λ_{max} /nm, log ϵ /dm³ mol⁻¹ cm⁻¹] janë bërë spektrofotometrin Philips PU8700 UV/VIS. Spektrat IR janë fituar nga disqet e KBr në spektrofotometrin Perkin-Elmer 297. Spektrat e ¹H dhe ¹³C RBM, janë incizuar në DMSO-*d*₆ në spektrometret Bruker AV 300 dhe 600 MHz duke përdorur TMS ose DMSO-*d*₆ si standard të brendshëm.

Metil 2,3-O-isopropilidene-5-O-p-toluenesulfonil-β-D-ribofuranozide (17)

Kloruri *p*-toluenesulfonil (4.093 g) është shtuar në pjesë të vogla përzierjes së ftohtë të metil 2,3-O-isopropilidene-β-D-ribofuranozidit (16) (4.090 g), në piridinë të tharë 43.2 mL. Përzierja e reaksionit është përzier gjatë natës në temperaturë dhome. Tretësi është avulluar dhe koavulluar me toluen (3 x 20 mL). Produkti është treturë në ujë (100 mL) dhe ekstraktuar me etër (3x50 mL). Shtresa organike është tharë në prani të Na₂SO₄ dhe avulluar nën presion për të dhënë derivatin e tosilit 17 (5.460 g, 73.7%) kristale të bardha: p.sh 66-69 °C;

Metil 5-deoksi-5-(1-benziloksimetil-9-deazaguaninë-7-il)-2,3-O-isopropiliden-β-D-ribofuranozidi (22)

Kripa e natriumit e 2-amino-3-benziloksimetil-3H-pirrollo[3,2-*d*]pirimidinë-4(5H)-onit (14) është përgatitur duke e përzier suspensionin e komponimit 14 (0.4 g, 1.48 mmol) dhe hidrur natriumi (80% i disperguar në vajin mineral, 44.4 mg) në DMF anhidër (6 mL) në 50-60 °C për 1 h. Këtij suspensionin i është shtuar pika pika në temperaturë dhome tretësira e metil 2,3-O-isopropiliden-5-O-*p*-toluenesulfonil-β-D-ribofuranosidit (17) (0.530 g, 1.48 mmol) në DMF (4 mL). Përzierja e reaksionit është përzier dhe nxehur në 100 °C, duke e mbrojtur nga

lagështia e ajrit, për 30 h, pastruar në flesh kromatografinë në kolonë në silikagel duke dhënë nukleozidin reverz 22 (0.3309 g, 49%) produkt i ngurt i bardhë: p.sh. 125-128 °C;

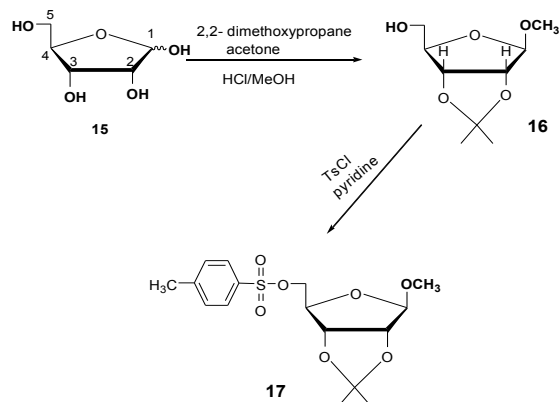
Metil 5-deoksi-5-(1-benziloksimetil-9-deazaguaninë-7-il)-α,β-D-ribofuranosidi (23)

Tretësirës së metil 5-deoksi-5-(1-benziloksimetil-9-deazaguaninë-7-il)-2,3-O-isopropiliden-β-D-ribofuranosidës (22) (0.1613 g, 0.35 mmol) në metanol (4 mL) është shtuar rrëshir jonkëmbyese Amberlite IR-120 (H⁺) (1.16 g), e cila është shpërlarë disa herë me metanol absolut. Përzierja është refluktuar për 5 h, është ftohur dhe filtruar nëpërmes vatës së Celitit dhe rrëshira është shpërlarë me metanol (20 mL). Përzierja e mbetur ishte pastruar me kromatografi preparative duke përdorur CH₂Cl₂/MeOH (9:1 v/v) si tretës, duke dhënë 23; 18.8 g (19%), kristale me ngjyrë hiri: t.sh. 68-71 °C;

3. REZULTATET DHE DISKUTIMI

Për sintezat e planifikuara të nukleozideve purinë dhe reaksionet e kondenzimit, ne përdorëm derivatin 5-tosil ribozës së mbrojtur si material kiral fillestar.

Metil 2,3-O-isopropiliden-5-O-*p*-toluenesulfonil-β-D-ribofuranozidi (17) është sintetizuar duke përdorur, D-ribozën (15) si material fillestar. Metoda përfshin përdorimin e grupit izopropiliden për të mbrojtur pozitën C-2 dhe C-3 të D-ribozës (15) dhe aktivizimin e grupit OH në pozitën C-5 me klorur *p*-toluenesulfonil.



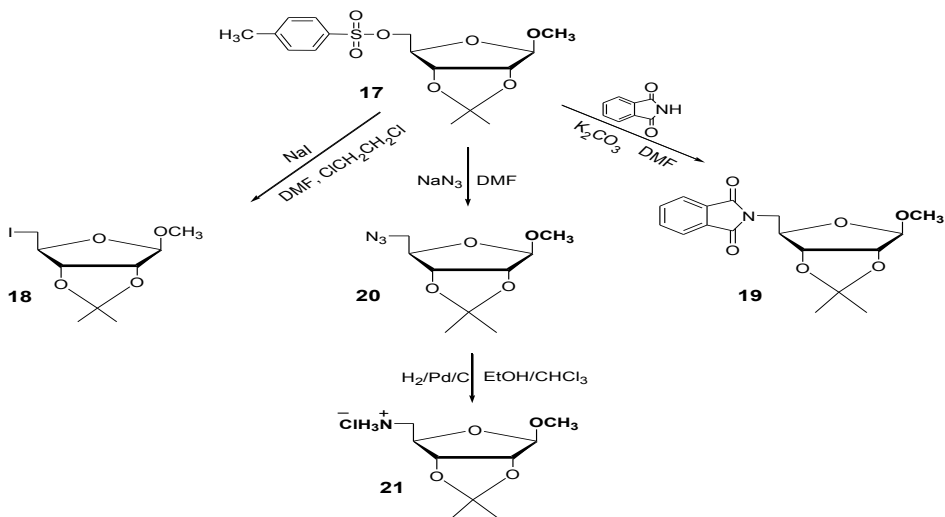
Skema 1.

Në anën tjetër 5-tosil riboza e mbrojtur 17 ishte një material i mirë fillestar për sintezën e derivateve të ndryshme të sheqerit të substituuara në pozitën C-5. Ne sintetizuam derivatin e 5-jodo- 18, derivatin e 5-

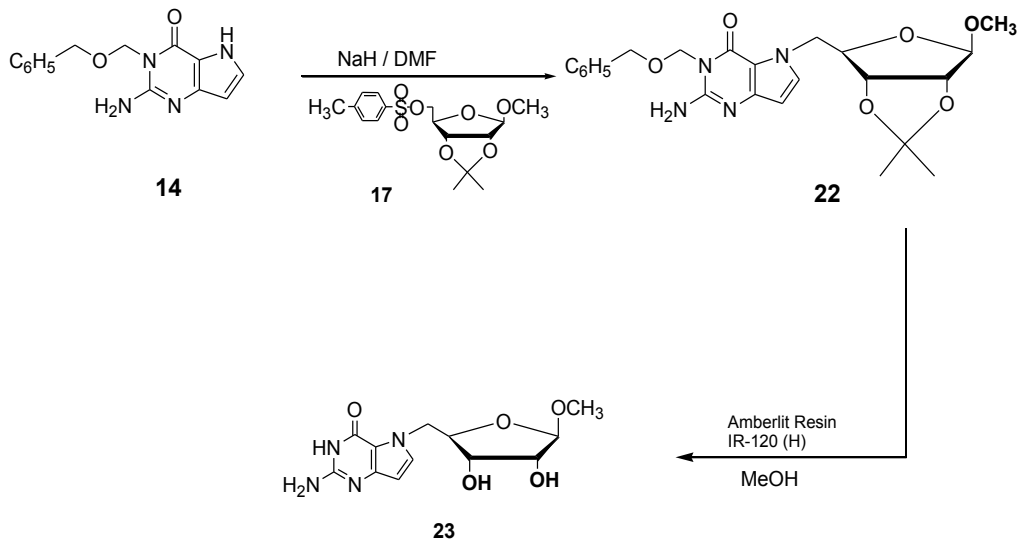
ftalimido- **19** dhe derivatin 5-azido **20** i cili është reduktuar në amino hidroklorurin korrespondues **21**. Glukolizimi i 2-amino-3-benziloksimetil-3H-pirrol[3,2-d] pirimidinë-4(5H)-onit (**14**), duke përdorur metodën me krip natriumi, me derivatin e sheqerit të aktivizuar metil 2,3-O -izopropiliden-5-O-p-toluen sulfonil-β-D-ribofuranozid (**17**) është përfituar 5-deoksi-5-(1-

benziloksimetil-9-deazaguaninë-7-yl)-2,3-O-izopropiliden-β-D-ribofuranozidi (**22**) si një regjoizomer i vetëm.

Deprotektimi i plotë i **22** është arritur me hidrogjenizim katalitik, dhe është izoluar produkti i dëshiruar 5-deoksi-5-(9-deazaguaninë-7-yl)-D-riboza (**23**), si përzirje anomerike ($\alpha:\beta \sim 1:1.5$).



Skema 2.



Skema 3

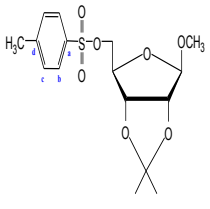
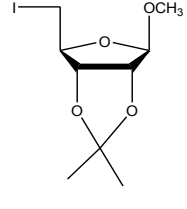
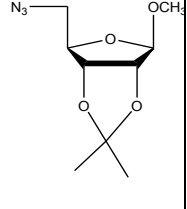
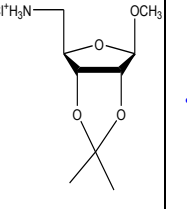
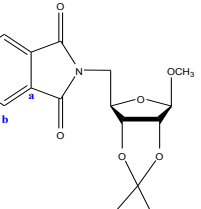
¹ H					
	17	18	20	21	19
Ph-b	7.81 (d, 2H, J _{b,c} = 8.0 Hz)				7.86 (dd, 2H, J = 3.1; 5.4 Hz)
Ph-c	7.54 (d, 2H, J _{c,b} = 8.0 Hz)				7.73 (dd, 2H, J = 3.1; 5.4 Hz)
H-1	4.93 (s, 1H)	5.01 (s, 1H)	5.0 (s, 1H)	5.0 (s, 1H)	4.99 (s, 1H)
H-2	4.60 (d, 1H, J _{2,3} = 5.9 Hz)	4.71 (d, 1H, J _{2,3} = 6 Hz)	H-2 + H-3 4.60 (s, 2H)	H-2 + H-3 4.61 (s, 2H)	4.79 (d, 1H, J _{2,3} = 5.9 Hz)
H-3	4.53 (d, 1H, J _{3,2} = 5.9 Hz)	4.61 (d, 1H, J _{3,2} = 6 Hz)	with H-2	with H-2	4.69 (d, 1H, J _{3,2} = 5.9 Hz)
H-4	4.31 (t, 1H, J _{4,5} = 7.0 Hz)	4.30 (t, 1H, J _{4,5} = 7.0 Hz)	4.30 (t, 1H, J _{4,5} = 7.2 Hz)	4.30 (t, 1H, J _{4,5} = 7.2 Hz)	4.48 (m, 1H)
OH-5					
2H-5	4.02 (d, 2H, J _{5,4} = 7.0 Hz)	H-5_a 3.45 (dd, 1H, J _{a,b} = 12.6 Hz, J _{5,4} = 7.6 Hz) H-5_b 3.27 (dd, 1H, J _{b,a} = 12.6 Hz, J _{5,4} = 6.8 Hz)	H-5_a 3.45 (dd, 1H, J _{a,b} = 12.6 Hz, J _{5,4} = 7.7 Hz) H-5_b 3.27 (dd, 1H, J _{b,a} = 12.6 Hz, J _{5,4} = 6.8 Hz)	H-5_a 3.45 (dd, 1H, J _{a,b} = 12.6 Hz, J _{5,4} = 7.7 Hz) H-5_b 3.27 (dd, 1H, J _{b,a} = 12.5 Hz, J _{5,4} = 6.8 Hz)	3.86 (m, 2H)
O-CH ₃	3.23 (s, 3H)	3.39 (s, 3H)	3.39 (s, 3H)	3.38 (s, 3H)	3.38 (s, 3H)
Ph-CH ₃	2.46 (s, 3H)				
C-CH ₃	1.46 (s, 3H)	1.48 (s, 3H)	1.48 (s, 3H)	1.49 (s, 3H)	1.44 (s, 3H)
C-CH ₃	1.29 (s, 3H)	1.32 (s, 3H)	1.32 (s, 3H)	1.32 (s, 3H)	1.29 (s, 3H)

Tabela 1.

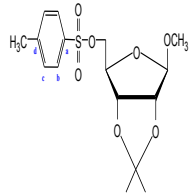
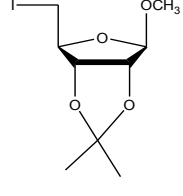
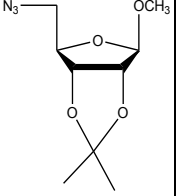
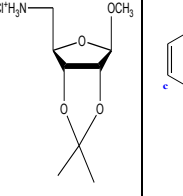
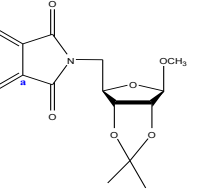
¹³ C					
	17	18	20	21	19
C=O					168.36 (s)
Ph-d	145.28 (s)				
Ph-a	132.90 (s)				Ph-c 134.31 (d)
Ph-c	130.12 (d)				Ph-a 132.10 (s)
Ph-b	128.16 (d)				Ph-b 123.57 (d)
O-C-O	112.88 (s)	112.87 (s)	112.89 (s)	113.07 (s)	112.66 (s)
C-1	109.62 (d)	110.03 (d)	110.01 (d)	110.24 (d)	109.92 (d)
C-4	85.05 (d)	85.61 (d)	85.58 (d)	85.81 (d)	85.53 (d)
C-2	83.74 (d)	85.34 (d)	85.32 (d)	85.54 (d)	84.40 (d)
C-3	81.53 (d)	82.25 (d)	82.24 (d)	82.25 (d)	82.47 (d)
C-5	69.39 (t)	53.98 (t)	53.96 (t)	54.18 (t)	41.06 (t)
O-CH ₃	55.21 (q)	55.48 (q)	55.44 (q)	55.68 (q)	56.52 (q)
C-CH ₃	26.50 (q)	26.62 (q)	26.59 (q)	26.81 (q)	26.58 (q)
C-CH ₃	25.02 (q)	25.13 (q)	25.11 (q)	25.32 (q)	25.18 (q)
Ph-CH ₃	21.84 (q)				

Tabela 2

4.KONKLUZIONET

Duke pasur parasysh rëndësinë e derivateve të 9-deazaguanines ne kemi fituar 5-Deoxy-5-(9-deazaguanin-7-yl)-D-ribose (**23**) (të cilat derivate mund të përdoren si inhibitor potencial të PNP-së). 5-Deoxy-5-(9-deazaguanin-7-yl)-D-ribose (**23**) sintetizuar me një

rendiment të përgjithshëm prej 58%. Produkti (**17**) është përfutur me rendiment 86%, produkti (**18**) me rendiment 70%, produkti (**19**) me rendiment 75%, produkti (**21**) me rendiment 92%, produkti (**22**) me rendiment 49%, dhe produkti perfundimtar (58%).

¹ H		
NH-7		
NH-1		11.05 (brs, 1H)
HC=N		
Ph	Ph +H-8 7.30 (m, 6H)	
H-8	with Ph	7.18β (d, J = 2.8 Hz) + 7.10α (t, J = 2.3 Hz) = 1H
NH ₂ -2	6.32 (brs, 2H)	OH-1 6.14 (brs, 1H), NH ₂ -2 6.37α (brs) + 6.10β (brs) = (2H)
H-9	5.95 (d, 1H, J = 2.7 Hz)	55.96α (brd) + 5.86β (d, J = 2.8 Hz) = 1H
O-CH ₂ -N	5.54 (s, 2H)	
OH		2 x OH 4.94 (m, 2H)
H-1	4.94 (s, 1H)	5.02α (d) + 4.94β (s) = (1H)
H-2	4.73 (d, 1H, J = 6 Hz)	
CH ₂ -Ph	4.58 (s, 2H)	
H-3	4.64 (d, 1H, J = 6 Hz)	H-2, H-3, H-4, 2H-5: 4.71-3.36 (m, 5H)
H-4	H-4+H-5a 4.42 (m, 2H)	
H-5a	with H-4	
H-5b	4.21 (dd, 2H, J _{a,b} = 13 Hz, J _{5,4} = 6.4, Hz)	
O-CH ₃	3.30 (s, 3H)	
N-CH ₃		
N-CH ₃		
C-CH ₃	1.32 (s, 3H)	
C-CH ₃	1.19 (s, 3H)	

Tabela 3

¹³ C		
HC=N		
C-6	154.32 (s)	154.39 (s)
C-2	151.04 (s)	151.02 (s)
C-4	146.54 (s)	144.89 (s)
Ph	137.66 (s)	
Ph (C-8)	C-8 132.85 (d)	C-8 132.33 (d)
Ph (C-8)	128.21 (d)	
Ph (C-8)	127.64 (d)	
Ph (C-8)	127.61 (d)	
C-5	111.49 (s)	111.96 (s)
O-C-O	110.69 (s)	
C-1	109.07 (d)	101.79 (d)
C-9	99.89 (d)	100.74 (d)
C-4	85.64 (d)	81.33 (d)
C-3	84.66 (d)	75.51 (d)
C-2	80.93 (d)	72.10 (d)
N-CH ₂ -O	69.92 (t)	
O-CH ₂ -Ph	with N-CH ₂ -O	
O-CH ₃	54.66 (q)	
C-5	50.60 (t)	51.33 (t)
N-CH ₃		
N-CH ₃		
C-CH ₃	26.15 q	
C-CH ₃	24.57 q	

Tabela 4

BIBLIOGRAFIA

- 1.C. K. Chu, D. C. Baker, *Nucleosides and Nucleotides as Antitumor and Antiviral Agents*; Plenum Press: New York, 1993.
- 2.J. A. Montgomery *Medicinal Research Reviews* **2** (1982) 271-308.
- 3.H. Mitsuya, *Anti-HIV Nucleosides: Past, Present and Future*; R. G. Landes: New York, 1997.
- 4.X.-F. Zhu, *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **19** (2000) 651-690.
- 5.C. Simons, *Nucleoside Mimetics: Their Chemistry and Biological Properties*; Gordon and Breach: Amsterdam, 2001.
- 6.(a) M. MacCoss, M. J. Robins, *Chemistry of Antitumor Agents*; D. E. V. Wilman, Ed., Blackie and Son: U. K. 1990; p. 261.
- 7.R. K. Robins, G. R. Revankar, *Antiviral Drug Development*; E. De Clercq, R. T. Walker, Eds., Plenum Press: New York, 1988; p. 11.
- 8.C. K. Chu in: *Recent Advances in Nucleosides: Chemistry and Chemotherapy*; Academic Press Elsevier, 2002.
- 9.R. B. Silverman in: *The Organic chemistry of Drug Design and Drug Action*; Academic Press Elsevier, 2004.
10. Synthesis of the Sulfonylpyrimidine Derivatives with Anticancer Activity, Inventors: B. Žinić, Mladen Žinić, Irena Krizmanić, **EP 0 877 022 B1** (Bulletin 1003/16; 16.04.2003).
11. Lj. Glavaš-Obrovac, I. Karner, B. Žinić and K. Pavelić, *Anticancer Res. vëllimi* **21** (2001) 1979-1986.
12. I. Krizmanić, A. Višnjevac, M. Luić, Lj. Glavaš-Obrovac, M. Žinić and B. Žinić, *Tetrahedron. vëllimi* **59** (2003) 4047-4057.
13. J. Kašnar-Šamprec, Lj. Glavaš-Obrovac, M. Pavlak, N. Štambuk, P. Konjevoda and B. Žinić, *Croat. Chem. Acta* **78** (2005) 261-267
14. M. Pavlak, R. Stojković, M. Radačić-Aumiler J. Kašnar-Šamprec, J. Jerčić, K. Vlahović, B. Žinić and M. Radačić, *J. Cancer. Res. Clin. Oncol.* **131** (2005) 829-836.
15. Lj. Glavaš-Obrovac, I. Karner, M. Pavlak, M. Radačić, J. Kašnar-Šamprec and B. Žinić, *Nucleosid. Nucleotid. Nucl. Acid. vëllimi* **24** (2005) 557-569.
16. E. S. Gibson, K. Lesiak, K. A. Watanabe, L. J. Gudas, K. W. Pankiewicz, *Nucleosides & Nucleotides, vëllimi* **18** (1999) 363-367.
17. M- C. Liu, M- Z. Luo, D. E. Mozdiesz and A. C. Sartorelli, *Synthetic Comm. vëllimi* **32** (2002) 3797-3802.