

ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 547.963.3:001.8

ОПТИМИЗАЦИЯ СИНТЕЗА 2'-О- α -D-РИБОФУРАНОЗИЛ-АДЕНОЗИНА ПО МЕТОДУ СИМПЛЕКСНОГО ПЛАНИРОВАНИЯ

*В.Е. Ословский, аспирант, *М.С. Дреничев, младший научный сотрудник,

*С.Н. Михайлов, заведующий лабораторией, **Э.Ю. Булычев, доцент

* Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991 Россия

** кафедра Химии и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119571 Россия

e-mail: vladimiroslovsky@gmail.com

С помощью метода симплексного планирования оптимизирован синтез 2'-О- α -D-рибофуранозиладенозина – мономерного звена поли(ADP-рибозы). Подбор оптимальных соотношений катализатора (SnCl_4), нуклеозида и углеводной компоненты позволил повысить выходы на стадии гликозилирования с 35 до 64%.

Ключевые слова: дисахаридные нуклеозиды, поли(ADP-рибоза), гликозилирование, оптимизация.

Дисахаридные нуклеозиды – важная группа природных соединений. Эти соединения являются структурными элементами биополимеров, таких как тРНК и поли(ADP-рибоза), входят в состав антибиотиков и других биологически активных соединений, проявляя широкий спектр биологической активности – антибактериальные, противогрибковые, гербицидные, инсектицидные, противоопухолевые и антивирусные свойства [1]. В этих соединениях имеется дополнительный моносахаридный остаток, присоединенный к одной из гидроксильных групп нуклеозида О-гликозидной связью. Наличие дисахаридного остатка и гетероциклического основания определяет свойства соединений, родственные свойствам углеводов и нуклеозидов.

2'-О- α -D-Рибофуранозиладенозин – мономерное звено поли(ADP-рибозы), которая вовлечена в процессы модуляции структуры хроматина, репликации, транскрипции, репарации ДНК и дифференцировки клеток [2, 3]. Поли(ADP-рибозил)ирование белков катализируется несколькими полимеразми. Поли(ADP-рибозо)полимераза-1 отвечает за синтез 90% поли(ADP-рибозы) в клетке [2] и является ферментом-мишенью для создания новых лекарственных препаратов [4].

Результаты и их обсуждение

Ранее в нашей лаборатории был впервые синтезирован 2'-О- α -D-рибофуранозиладенозин – мономерное звено поли(ADP-рибозы) [5]. Сложность синтеза данного соединения заключается в том, что нуклеозид и дополнительный рибозный остаток должны быть связаны 1'' \rightarrow 2'-гликозидной связью, имеющей α -конфигурацию. Ключевыми стадиями синтеза являются гликозилирование и удаление бензоильных защит (схема). Гликозилирование нуклеозида **1** проводили согласно ранее разработанной методике с использованием 1-О-ацетил-2,3,5-

три-О-бензоил- α/β -D-арабинофуранозы **3** и тетраоксида олова [6]. Выход дисахаридного нуклеозида **4** на стадии гликозилирования составляет 62% [5]. Удаление бензоильных защитных групп в присутствии MeONa/MeOH протекает с образованием N^6 -бензоил-производного **6** с выходом 47% [5], побочным процессом является частичное расщепление 1,1,3,3-тетраизопропилдисиоксан-1,3-диил-защитной группы (TIPDS) [7]. Замена метилата натрия на раствор метиламина в этаноле позволяет существенно повысить выход на стадии деблокирования бензоильных защитных групп до 77–87% [7]. Однако применение алкиламинов для удаления бензоильных защит предполагает протекание как О-, так и N-дебензоилирования с образованием продукта **7**, содержащего свободную аминогруппу в 6-м положении гетероциклического основания. Таким образом, получается, что стадия защиты N^6 -аминогруппы аденина оказывается лишней и лишь увеличивает общую стадийность синтеза. В связи с этим было решено не проводить предварительную защиту гетероциклического остатка в нуклеозиде и вводить в реакцию гликозилирования производное аденозина **2** со свободной аминогруппой (см. схему), что позволит повысить общий выход путем сокращения стадийности синтеза.

К сожалению, гликозилирование производного **2** протекало с существенно меньшим выходом – 35%. Чтобы повысить выход на этой стадии, условия реакции были оптимизированы методом симплексного планирования, широко известным в математическом моделировании и инженерной практике [8, 9].

Движение к оптимуму в n -мерном пространстве независимых переменных x_i в этом методе осуществляется последовательным отражением вершин симплекса. В нашем эксперименте оптимизировались два параметра: количество углеводной компоненты (ммоль) и

количество тетраоксида олова (ммоль), поэтому нами использовался 2n-мерный симплекс, представляющий собой равносторонний треугольник. Начальная серия расчетов соответствует вершинам исходного симплекса. Сравнивая между собой значения критерия оптимальности в вершинах (1, 2, 3), находят среди них самую «неудачную» вершину с точки зрения экстремума исследуемой целевой функции. Эта точка заменяется новой, представляющей

собой «зеркальное отражение» относительно противоположной грани симплекса. После вычисления функции в дополнительной точке опять производится сопоставление результатов, снова выявляется наихудшая точка, которая также заменяется ее «зеркальным отражением», и т.д. Эта процедура шагового восхождения с последовательным отбрасыванием наихудших точек повторяется до тех пор, пока не достигается стационарная область [8].

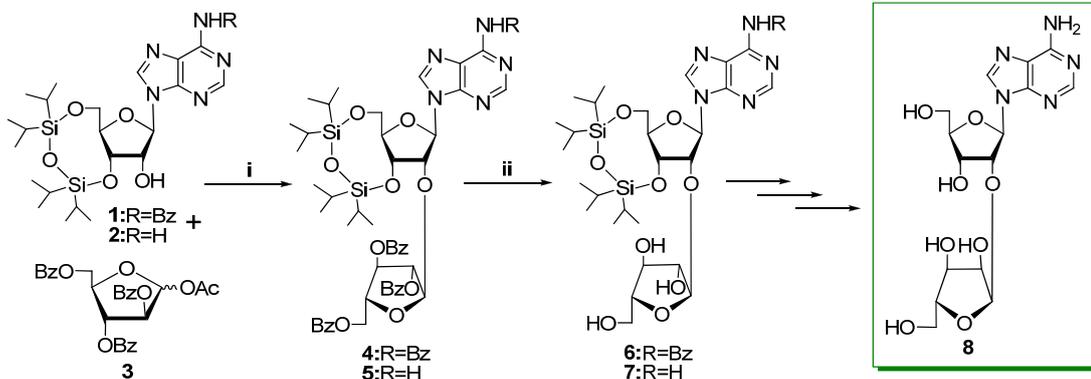


Схема. Реагенты и условия: i. SnCl₄/DCE, 0⁰C, 24 ч; ii. MeNH₂/EtOH, 48 ч.

В реакцию вводили нуклеозид **2**, моносахарид **3** и катализатор (SnCl₄). Количество нуклеозида **2** во всех опытах оставалось постоянным (0.392 ммоль). Количество углевода **3** варьировалось от 0.325 (0.8 экв. к нуклеозиду) до 0.65 ммоль (1.6 экв. к нуклеозиду). Количество тетраоксида олова варьировалось от

0.427 (1.1 экв. к нуклеозиду) до 0.856 ммоль (2.2 экв. к нуклеозиду). Данные количества были выбраны произвольно и использовались для нахождения основного уровня и интервала варьирования согласно формулам: $Z_j^0 = (Z_{max} + Z_{min}) / 2$ и $\Delta Z_j = (Z_{max} - Z_{min}) / 2$ соответственно [8]. Вычисленные значения представлены в табл. 1.

Таблица 1

	Z ₁ количество углеводной компоненты, ммоль	Z ₂ количество SnCl ₄ , ммоль
Z _i ⁰	0.488	0.640
ΔZ _j	0.163	0.213

Исходная матрица в безразмерных величинах представлена в табл. 2 [8].

Таблица 2

X =	0.5	0.289
	-0.5	0.289
	0	-0.578

Для построения стартового симплекса через

исходную матрицу используются формулы кодирования в безразмерные величины и перехода к натуральным значениям [8].

Формула кодирования:

$$X_j = (Z_i - Z_j^0) / \Delta Z_j$$

Переход к натуральным значениям:

$$Z_i = Z_j^0 + \Delta Z_j X_j$$

Получаем первый стартовый симплекс (табл. 3):

Таблица 3

№ опыта	Z ₁ количество углеводной компоненты, ммоль	Z ₂ количество SnCl ₄ , ммоль	Выход, %
1	0.569	0.702	17
2	0.406	0.702	24
3	0.488	0.517	10

После проведения трех экспериментов точку со значением наименьшего выхода (опыт № 3) отбрасывали и строили ее зеркальное отображение. Для этого находили:

1) координату центра грани треугольника:

$$Z_1^{(c)} = \text{оставшиеся значения } Z_1 / 2 = (0.569 + 0.406) / 2 = 0.488 \text{ ммоль}$$

$$Z_2^{(c)} = \text{оставшиеся значения } Z_2 / 2 = (0.702 + 0.702) / 2 = 0.702 \text{ ммоль}$$

2) Координату новой точки:

$$Z_1^{(4)} = 2 \cdot Z_1^{(c)} - Z_1 \text{ отбрасываемой точки} = 2 \cdot 0.488 - 0.488 = 0.488 \text{ ммоль}$$

$$Z_2^{(4)} = 2 \cdot Z_2^{(c)} - Z_2 \text{ отбрасываемой точки} = 2 \cdot 0.702 - 0.517 = 0.886 \text{ ммоль}$$

Получаем новый симплекс (табл. 4):

Таблица 4

№ опыта	Z_1		Z_2		Выход, %
	количество углеводной компоненты, ммоль		количество SnCl_4 , ммоль		
1	0.569		0.702		17
2	0.406		0.702		24
4	0.488		0.886		43

Аналогично были посчитаны все последующие точки и построены симплексы.

Таким образом, нами было проведено

9 опытов и построено 7 симплексов, в результате чего наблюдали повышение выходов и достижение области оптимума (табл. 5).

Таблица 5

№ опыта	Z_1		Z_2		Выход, %
	кол-во углеводной компоненты		количество SnCl_4		
	ммоль	эквивалент	ммоль	эквивалент	
1	0.569	1.4	0.702	1.8	17
2	0.406	1.0	0.702	1.8	24
3	0.488	1.2	0.517	1.3	10
4	0.488	1.2	0.886	2.3	43
5	0.325	0.8	0.886	2.3	27
6	0.408	1.0	1.071	2.7	33
7	0.571	1.4	1.071	2.7	52
8	0.651	1.7	0.886	2.3	61
9	0.734	1.9	1.071	2.7	64

Из табл. 5 видно, что увеличение концентрации гликозилирующего агента и катализатора в реакционной смеси способствует увеличению выходов стадии, что находится в соответствии с принципом Ле Шателье. Однако целью данного исследования являлось нахождение минимально возможных избытков, дающих максимальный выход целевого продукта. Серия экспериментов показывает, что выход 64% был достигнут при избытке арабинозы 1.87 экв. к нуклеозиду и избытке тетрахлорида олова 2.7 экв. к нуклеозиду. Дальнейшее увеличение концентрации гликозил-донора приводило к близким значениям выходов целевого продукта, не превышающим 64%. По методу симплексного планирования, область оптимума считается достигнутой, когда дальнейшая серия экспериментов приводит к близким значениям искомого параметра (в нашем случае, выхода). Таким образом, определены минимально возможные избытки реагентов, дающие максимально возможный выход.

С целью более точной оценки выходов целевого продукта в опытах 1–9 хроматографическое разделение проводили в стандартизованных условиях: на колонках одинакового диаметра, содержащих равные объемы силикагеля, вещества элюировали в системах состава

метилхлорид–этанол в одинаковых соотношениях (см. Экспериментальную часть). Материальные балансы колонок приведены в табл. 6. Делимую смесь предварительно высушивали и взвешивали. Фракции, содержащие непрореагировавшие исходные компоненты и дисахаридный нуклеозид **5**, упаривали в вакууме, высушивали и взвешивали. Чистоту фракций определяли методом ЯМР. Чистота фракции 1 (углеводный компонент **3**) – не менее 95% мол., фракций 2 (продукт **5**) и 3 (нуклеозид **2**) – не менее 98% мол. Уменьшение суммарной массы фракций на выходе из колонки по сравнению с массой делимой смеси связано с сорбцией исходных веществ и продуктов реакции на силикагеле. В ходе гликозилирования также образуются продукты апуринизации и осмоления, отделяемые от целевого продукта на колонке, что снижает выход дисахаридного нуклеозида **5**.

Таким образом, в ходе работы был существенно увеличен выход стадии гликозилирования 3',5'-*O*-(тетраизопропилдисилоксан-1,3-дил)-аденозина с 35 до 64%, что позволило повысить общий выход 2'-*O*- α -*D*-рибофуранозиладенозина – мономерного звена поли(ADP-рибозы) с 13 [5] до 21%.

№ опыта	Делимая смесь, мг	Масса фракций на выходе из колонки, мг			
		Фракция 1 Моносахарид 3	Фракция 2 Продукт 5	Фракция 3 Нуклеозид 2	Сорбировалось
1	487	241	64	149	33
2	404	149	90	136	29
3	446	217	37	158	34
4	446	151	161	104	30
5	364	104	101	132	27
6	406	134	123	118	31
7	488	176	194	86	32
8	528	198	228	67	35
9	570	231	239	63	37

Экспериментальная часть

ЯМР-спектры регистрировали на спектрометре Bruker AMX 400 (Германия) при 300 К. Химические сдвиги (δ) приведены в миллионных долях относительно внутреннего стандарта – тетраметилсилана (δ 0 м.д.). Величины констант спин-спинового взаимодействия (КССВ, J) измерены в Герцах (Гц). При описании спектров ^1H -ЯМР приняты следующие сокращения: с – синглет, уш. с – уширенный синглет, д – дублет, дд – дублет дублетов, ддд – дублет дублетов дублетов, т – триплет, дт – дублет триплетов, м – мультиплет. Хроматографию проводили на колонках с силикагелем Kieselgel 60 (0.040–0.063 мм, Merck), тонкослойную хроматографию – на алюминиевых пластинах с сорбентом Kieselgel 260 F (Merck). Обнаружение веществ вели в УФ-свете (λ 254 нм) и нагреванием до 150–200°C. Нуклеозиды **1** и **4** получали согласно методам, описанным в литературе [5, 10].

3',5'-O-(Тетраизопропилдисиоксан-1,3-диил)аденозин (2). Аденозин (2 г, 7.48 ммоль) упаривали с пиридином (2×20 мл), к остатку добавляли 30 мл пиридина. К полученной суспензии при перемешивании добавляли 2.7 мл (8.6 ммоль) 1,3-дихлор-1,1,3,3-тетраизопропилдисиоксана. Реакцию проводили в течение 20 ч при комнатной температуре и перемешивании, затем реакционную смесь упаривали, остаток растворяли в метиленхлориде и переносили в делительную воронку. Органический слой промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (80 мл), насыщенным водным раствором NaCl (2×25 мл), сушили Na_2SO_4 и упаривали в вакууме. Продукт осаждали из смеси этанол–гексан, 1:1. Выход соединения **2**: 3 г (79%) в виде белого плотного порошка. R_f 0.26 (метиленхлорид–этанол, 95:5). ^1H -ЯМР-спектр (DMSO- d_6): 8.21 с (1H, Н-2), 8.08 с (1H, Н-8), 7.33 с (2H, NH₂), 5.87 с (1H, Н-1'), 5.62 д (1H, $J_{2',\text{OH}} = 4.6$, 2'-OH), 4.80 дд (1H, $J_{3',2'} = 4.9$, $J_{3',4'} = 8.5$, Н-3'), 4.52 дд (1H, Н-2'),

4.06 дд (1H, $J_{5'a,4'} = 3.1$, $J_{5'a,5'b} = -12.3$, Н-5'a), 3.99 ддд (1H, $J_{4',5'b} = 2.1$, Н-4'), 3.93 дд (1H, Н-5'b), 1.12–0.92 м (28H, i -Pr). ^{13}C -ЯМР-спектр (DMSO- d_6): 156.09 (С-6), 152.48 (С-2), 148.62 (С-4), 139.20 (С-8), 119.25 (С-5), 89.33 (С-1'), 80.75 (С-4'), 73.64 (С-2'), 69.81 (С-3'), 60.80 (С-5'), 17.36, 17.16, 17.00, 16.91, 16.82, 12.73, 12.44, 12.23, 12.06 (i -Pr).

1-O-Ацетил-2,3,5-три-O-бензоил- α,β -D-арабинофураноза (3)

Стадия 1: получение 1-O-метил-2,3,5-три-O-бензоил- α -D-арабинофуранозы. К метанолу (260 мл) порциями добавляли ацетилхлорид (5 мл), при этом происходит нагревание реакционной смеси. После охлаждения полученного раствора до комнатной температуры добавляли D-арабинофуранозу (10 г, 66.6 ммоль). Суспензию перемешивали 5 ч при комнатной температуре до полного растворения арабинофуранозы и упаривали в вакууме. Остаток соупаривали с пиридином (30 мл), растворяли в 70 мл сухого пиридина, добавляли 1,2-дихлорэтан (100 мл), охлаждали до 0°C и добавляли по каплям бензоилхлорид (31 мл, 266.67 ммоль). Суспензию оставляли на 16 ч при комнатной температуре, затем охлаждали до 0°C, добавляли воду (10 мл) и выдерживали 30 мин при 20°C. К смеси добавляли метиленхлорид (150 мл) и воду (150 мл). Органический слой отделяли, водный экстрагировали метиленхлоридом (2×30 мл). Объединенные органические слои промывали последовательно водой (100 мл), насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (70 мл), водой (2×50 мл), сушили безводным Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали в вакууме досуха. Остаток упаривали с толуолом (3×30 мл) и с этиловым спиртом (30 мл). Вещество перекристаллизовывали из этилового спирта (80 мл). Выход: 18.55 г (58%) в виде белых кристаллов. R_f 0.65 (метиленхлорид). Т.пл. 97–98°C (лит. 101–103°C). ^1H -ЯМР-спектр (400 МГц, CDCl_3): 8.12–7.25 м (15H, Bz), 5.58 дд (1H, $J_{2,3'} = 1.0$ Гц, $J_{3',4'} = 4.9$ Гц,

H-3'), 5.51 д (1H, H-2'), 5.18 с (1H, H-1'), 4.85 дд (1H, $J_{5'a,4'} = 3.6$ Гц, $J_{5'a,5'b} = -12.1$ Гц, H-5'a), 4.69 дд (1H, $J_{5'b,4'} = 4.9$ Гц, H-5'b), 4.57 дт (1H, H-4'), 3.49 с (3H, OMe).

Стадия 2: ацетоллиз 1-*O*-метил-2,3,5-три-*O*-бензоил- α -*D*-арабинофуранозы. К смеси 1-*O*-метил-2,3,5-три-*O*-бензоил- α -*D*-арабинофуранозиды (15.8 г, 33.2 ммоль) и уксусного ангидрида (15 мл) в 120 мл уксусной кислоты порциями приливали концентрированную серную кислоту (7.8 мл) (ОСТОРОЖНО! При добавлении серной кислоты происходит сильный нагрев реакционной смеси). Смесь выдерживали 16 ч при комнатной температуре, разбавляли метиленхлоридом (300 мл) и ледяной водой (150 мл). Органический слой отделяли, промывали последовательно водой (100 мл), насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (5×50 мл), водой (50 мл). Водные слои экстрагировали метиленхлоридом (50 мл). Органические слои после экстракции объединяли, сушили безводным Na₂SO₄, фильтровали, упаривали в вакууме досуха. Остаток подвергали хроматографической очистке на силикагеле (150 г). Продукт элюировали метиленхлоридом. Выход 16.4 г (98%), смесь аномеров $\alpha : \beta \approx 6 : 1$ (сироп). R_f 0.46 – α -аномер, 0.29 – β -аномер (метиленхлорид). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃): 8.15-7.20 м (15H, Bz), 6.64 д (1/6H, $J_{1,2} = 4.8$ Гц, H-1' β), 6.48 с (5/6H, H-1' α), 5.99 дд (1/6H, $J_{3',2'} = 6.6$ Гц, $J_{3',4'} = 5.5$ Гц, H-3' β), 5.80 дд (1/6H, H-5' β), 5.65 с (5/6H, H-2' α), 5.63 д (5/6H, $J_{3',4'} = 3.5$ Гц, H-3' α), 4.82-4.50 м (3H, H-4', 5'a, 5'b), 2.13 с (15/6 H, β -Ac), 1.88 с (3/6H, α -Ac). ¹³C ЯМР (CDCl₃): 169.14, 166.01, 165.81 и 165.34 (C=O), 133.69, 133.65, 133.14, 129.89, 129.86, 129.79, 128.56 и 128.33 (Bz), 93.71 (C-1'), 79.98 (C-4'), 76.07 (C-2'), 75.52 (C-3'), 64.75 (C-5'), 20.85 (Ac).

9-[2-*O*-(Три-*O*-бензоил- α -*D*-арабинофуранозил)-3,5-*O*-тетраизопропилдисилоксан-1,3-диил- β -*D*-рибофуранозил]аденин (5). Смесь нуклеозида **2** (200 мг, 0.392 ммоль) и углеводной компоненты **3** (количество варьировалось от 0.8 до 2 экв. к нуклеозиду) сушили под вакуумом над P₂O₅ в течение суток. Смесь продували азотом и растворяли в 3 мл 1,2-дихлорэтана (растворитель добавляли через резиновую насадку при помощи стальной иглы). Раствор охлаждали до 0°C и добавляли SnCl₄ (количество варьировалось от 1.3 до 2.7 экв. к нуклеозиду) через резиновую насадку при помощи стальной иглы. Гликозилирование проводили при 0°C в инертной атмосфере азота в течение 20 ч. Реакционную смесь нейтрализовывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (30 мл), перемешивая в течение 20 мин при комнатной температуре до

полного прекращения выделения углекислого газа. Реакционную массу фильтровали через целит (Super-Cel Нуфло, 30-40 мл), целит промывали системой метиленхлорид–этанол, 97:3 (2×25 мл) и переносили фильтрат в делительную воронку. Органический слой отделяли, промывали водой (2×30 мл), сушили безводным Na₂SO₄ и упаривали в вакууме. Остаток наносили на колонку с силикагелем для разделения (диаметр колонки 15 мм, объем силикагеля 25 мл). Колонку промывали метиленхлоридом и системой метиленхлорид–этанол, 98.5:1.5, продукт элюировали системой метиленхлорид–этанол, 98:2. Выходы чистого продукта (объемная белая пена): 17–64% (приведены в табл. 5). R_f 0.42 (метиленхлорид–этанол, 98:2). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃): 8.25 с (1H, H-8), 8.18 с (1H, H-2), 8.10 дд (2H, $J_{ortho-meta} = 8.6$, $J_{ortho-para} = 1.2$, *o*-Bz), 8.05 дд (2H, $J_{ortho-meta} = 8.4$, $J_{ortho-para} = 1.1$, *o*-Bz), 8.00 дд (2H, $J_{ortho-meta} = 8.4$, $J_{ortho-para} = 1.2$, *o*-Bz), 7.62-7.56 м (2H, *p*-Bz), 7.51-7.22 м (7H, *m*-Bz, *p*-Bz), 6.17 с (1H, H-1' Ado), 5.82 с (1H, H-1' Ara), 5.79 уш. с (2H, NH₂), 5.71 с (1H, H-2' Ara), 5.62 д (1H, $J_{2',3'} = 5.0$, H-2' Ado), 4.84 ддд (1H, $J_{3',4'} = 8.1$, $J_{4',5'a} = 3.3$, $J_{4',5'b} = 4.5$, H-4' Ado), 4.78 дд (1H, $J_{5'a,5'b} = -12.0$, H-5'a Ado), 4.68 дд (1H, H-5'b Ado), 4.67-4.61 м (2H, H-3' Ara, H-3' Ado), 4.30 д (1H, $J_{5'a,5'b} = -13.5$, H-5'a Ara), 4.26 дд (1H, $J_{3',4'} = 8.2$, $J_{5'b,4'} = 2.3$, H-4' Ara), 4.01 дд (1H, H-5'b Ara), 1.17-0.78 м (28H, *i*-Pr). ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 166.29, 165.91, 165.70 (C=O, Bz), 155.31 (C-6), 152.84 (C-2), 149.04 (C-4), 138.56 (C-8), 133.70, 133.61, 133.14, 130.09, 129.86, 128.69, 128.54, 128.38 (Bz), 120.41 (C-5), 104.89 (C-1' Ara), 89.03 (C-1' Ado), 82.14 (C-4' Ara), 81.80 (C-4' Ado), 81.45 (C-2' Ara), 79.14 (C-2' Ado), 78.05 (C-3' Ara), 67.89 (C-3' Ado), 63.65 (C-5' Ara), 59.74 (C-5' Ado), 17.59, 17.47, 17.43, 17.39, 17.17, 17.04, 16.99, 16.86, 13.51, 13.08, 13.00, 12.73 (*i*-Pr).

9-[2-*O*-(α -*D*-Арабинофуранозил)-3,5-*O*-тетраизопропилдисилоксан-1,3-диил- β -*D*-рибофуранозил]аденин (7). Нуклеозид **5** (724 мг, 0.759 ммоль) растворяли в этаноле (4.7 мл) и добавляли 8 М MeNH₂/EtOH (4.7 мл, 37.6 ммоль). Смесь оставляли при комнатной температуре на 48 ч. Реакционную смесь упаривали под вакуумом, соупаривали с метиленхлоридом (4×15 мл). Остаток наносили на колонку с силикагелем (30 мл) для разделения. Колонку промывали системами метиленхлорид–этанол, 95:5 и метиленхлорид–этанол, 92:8, продукт элюировали системой метиленхлорид–этанол, 88:12. Фракции, содержащие продукт, объединяли, упаривали в вакууме. Выход: 423 мг (87%) в виде пены. R_f 0.17 (метиленхлорид–этанол, 90:10). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃): 8.57 с (1H, H-8), 8.25 с (1H, H-2), 6.39 уш. с (2H, NH₂), 6.14 с (1H, H-1' Ado), 5.72 с (1H, H-1' Ara), 4.63 дд (1H, $J_{3',4'}$

$J_{2'} = 5.0$, $J_{3',4'} = 9.0$, H-3' Ado), 4.60 д (1H, H-2' Ado), 4.31 уш. д (1H, $J_{5'a,5'b} = -13.4$, H-5'a Ado), 4.22-4.19 м (2H, H-2', H-4' Ara), 4.17 дд (1H, $J_{4',5'b} = 2.2$, H-4' Ado), 4.09-4.06 м (1H, H-3'Ara), 4.02 дд (1H, H-5'b Ado), 3.88 дд (1H, $J_{5'a,4'} = 2.3$, $J_{5'a,5'b} = -12.5$, H-5'a Ara), 3.79 дд (1H, $J_{5'b,4'} = 1.2$, H-5'b Ara), 1.17-0.87 м (28H, *i*-Pr). ^{13}C -ЯМР-спектр (CDCl_3): 155.52 (C-6), 153.27 (C-2), 148.70 (C-4), 138.53 (C-8), 120.00 (C-5), 105.71 (C-

1', Ara), 89.19 (C-1', Ado), 87.39 (C-4', Ara), 82.17 (C-4', Ado), 78.76 (C-2', Ado), 78.61 (C-2', Ara), 76.28 (C-3', Ara), 67.61 (C-3', Ado), 61.42 (C-5', Ara), 59.65 (C-5', Ado), 17.61, 17.49, 17.43, 17.20, 17.13, 17.08, 16.90, 13.66, 13.08, 13.01, 12.82 (*i*-Pr).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 12-04-32085).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Efimtseva E.V., Kulikova I.V., Mikhailov S.N. Disaccharide nucleosides and their incorporation into oligonucleotides // *Curr. Org. Chem.* 2007. V. 11. P. 337–354.
2. Hassa P.O., Haenni S.S., Elser M., Hottiger M.O. Nuclear ADP-ribosylation reactions in mammalian cells: Where are we today and where are we going? // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2006. V. 70. P. 789–829.
3. Ефимцева Е.В., Михайлов С.Н. Дисахаридные нуклеозиды // *Успехи химии.* 2004. Т. 73. № 4. С. 435–448.
4. Ferraris D.V. Evolution of poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibitors. From concept to clinic // *J. Med. Chem.* 2010. V. 53. P. 4561–4584.
5. Mikhailov S.N., Kulikova I.V., Nauwelaerts K., Herdewijn P. Synthesis of 2'-O- α -D-ribofuranosyl-adenosine, monomeric unit of poly(ADP-ribose) // *Tetrahedron.* 2008. V. 64. P. 2871–2876.
6. Mikhailov S.N., Efimtseva E.V., Rodionov A.A., Bobkov G.V., Kulikova I.V., Herdewijn P. Synthesis of 2'-O- β -D-ribofuranosyl nucleosides // *Curr. Protocols in Nucl. Acid Chem.* 2006. Suppl. 27. P. 1.14.1–1.14.19.
7. Drenichev M.S., Kulikova I.V., Bobkov G.V., Tararov V.I., Mikhailov S.N. A new protocol for selective cleavage of acyl protecting groups in 2'-O-modified 3',5'-O-(tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl)-ribonucleosides // *Synthesis.* 2010. V. 22. P. 3827–3834.
8. Кафаров В.В. Методы кибернетики в химии и химической технологии. – М.: Химия, 1971. С. 210–214.
9. Лисицын Н.В., Викторов В.К., Кузичкин Н.В. Химико-технологические системы: оптимизация и ресурсосбережение. – СПб.: Менделеев, 2007. С. 118–122.
10. Markiewicz W.T. Tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl a group for simultaneous protection of 3- and 5-hydroxy functions of nucleosides // *J. Chem. Res.* 1979. P. 24–25.

OPTIMIZATION OF 2'-O- α -D-RIBOFURANOSYLADENOSINE SYNTHESIS USING THE SIMPLEX PLANNING METHOD

V.E. Oslovsky[@], M.S. Drenichev, S.N. Mikhailov, *E.Yu. Bulychev

V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow, 119991 Russia

*M.V. Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, Moscow, 119571 Russia

[@]Corresponding author e-mail: vladimiroslvsky@gmail.com

Disaccharide nucleosides belong to an important group of natural compounds found in t-RNA and poly(ADP-ribose). They are also key elements in the structure of antibiotics and other physiologically active compounds. Poly(ADP-ribosylation) is a posttranslational modification of proteins in eukariotic cells catalyzed by poly(ADP-ribose)-polymerases. The importance of poly(ADP-ribose) has been established in many cellular processes such as DNA replication, recombination and repair and cellular differentiation. The development of the synthesis of poly(ADP-ribose) and its components is still a challenging problem. The synthesis of 2'-O- α -D-ribofuranosyladenosine, a monomeric unit of poly(ADP-ribose) reported earlier has been improved. An important step on this way is the formation of a 2'-O-glycosidic bond between the adenosine and carbohydrate moieties. A new strategy involving glycosylation of 3',5'-O-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl)adenosine has been suggested. Varying of the catalyst (SnCl_4), nucleoside and carbohydrate relations by the simplex method allowed improving the yields in the glycosylation step from 35 to 64%. As a result, it made possible to reach a higher overall yield of 2'-O- α -D-ribofuranosyladenosine in comparison with the literature data.

Key words: disaccharide nucleosides, poly(ADP-ribose), glycosylation, optimization.