



СИНТЕЗ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ УГЛЕВОДНЫХ МИМЕТИКОВ ГЕПАРИНА

© 2011 г. В. Б. Крылов, Н. Е. Устюжанина, Н. Э. Нифантьев*

Лаборатория химии гликоконъюгатов, Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, 119991, Москва, Ленинский проспект 47

Поступила в редакцию 10.05.2011 г.

Принята к печати 24.05.2011 г.

Наиболее широко используемым антикоагулянтным препаратом в современной медицинской практике является природный гексозаминогликан гепарин. К сожалению, его применение может сопровождаться рядом побочных процессов, включая тромбоцитопению и кровотечения. Это определяет актуальность разработки альтернативных антикоагулянтных средств на основе модифицированного гепарина и полианионных производных олиго- и полисахаридов, таких как сульфатированные глюконы, фосфоманнаны и фукоиданы. В настоящем обзоре рассматриваются работы по синтезу олигосахаридов, отвечающих низкомолекулярным фрагментам гепарина и их производным, а также олигосахаридов, имитирующих участки цепи гепарина, определяющих биологическое действие. Работы проводились с целью создания фармацевтических препаратов, лишенных отмеченных выше недостатков гепарина.

Ключевые слова: углевод, гексозаминогликан, гепарин, антикоагулянт, миметик гепарина.

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее широко используемым антикоагулянтным препаратом в современной медицинской практике является природный гексозаминогликан гепарин [1–4]. Гепарин и структурно родственный ему гепарансульфат, относящиеся к высокосульфатированным гексозаминогликанам (GAG), представляют собой линейные цепи, построенные из чередующихся остатков гексуроновой кислоты и α -D-глюкозамина, которые связаны между собой (1 \rightarrow 4)-гликозидными связями (рис. 1) [5]. Высокая гетерогенность этих полисахаридов обусловлена наличием двух изомерных гексуроновых кислот, β -D-глюкуроновой и α -L-идуруновой, а также частичным O,N-сульфатированием и N-ацетилированием полисахаридной цепи. Гепарин отличается от

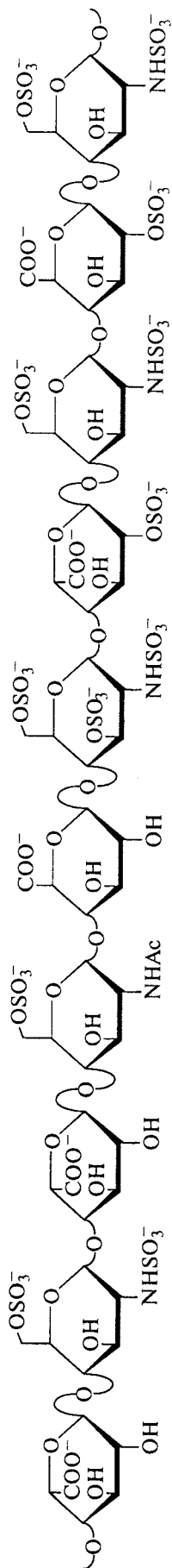
гепарансульфата большим содержанием остатков α -L-идуруновой кислоты и N- и O-сульфатов. Учитывая структурное подобие гепарина и гепарансульфата, их принято объединять термином “гепариноиды”.

За счет структурного разнообразия и высокого отрицательного заряда эти биополимеры способны связываться со многими белками, в том числе и с рецепторами, проявляя тем самым разнообразную биологическую активность [2, 4]. Наиболее хорошо изученным примером взаимодействия гепариноидов с белком является специфическое связывание ключевого пентасахаридного фрагмента (2) [6] с антитромбином III (АТIII), белком крови, выполняющим важную регуляторную функцию в процессе гемостаза. Комплекс гепарина с антитромбином III (АТIII) способен блокировать ряд ключевых факторов коагуляции крови, обуславливающих образование фибринового сгустка [7]. Из-за этого эффекта гепарин уже более 70-ти лет применяется в качестве антикоагулянтного препарата для предотвращения тромботических состояний.

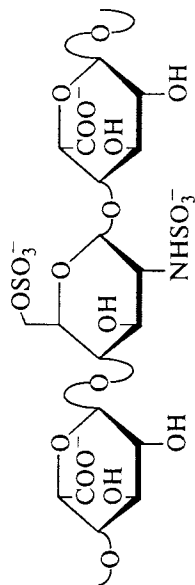
Кроме того, в 1991 г. было обнаружено, что гепариноиды необходимы для связывания факторов роста фибробластов (FGF-1, FGF-2 и др.) со своими высокоаффинными рецепторами (FGFR-1, FGFR-2 и др.) [8]. Это взаимодействие играет важную роль в процессах пролиферации, дифференциации и миграции клеток, а также ангиогенезе при развитии раковой опухоли. С помощью

Сокращения: обозначения углеводных остатков приведены в соответствии с рекомендациями номенклатурной комиссии IUPAC-IUB; АТIII – антитромбин III; CAN (аммоний-церий (IV)-нитрат), CSA – (\pm)-камфор-10-сульфоновая кислота; DBU – 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен; DMAP – 4-диметиламинопиридин, GAG – гликозаминогликан, FGF-1,2 – факторы роста фибробластов 1,2, FGFR-1,2 – рецепторы факторов роста фибробластов 1,2; Lev – левулиноил ($\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$), NBS – N-бромсукцинимид, NIS – N-иодсукцинимид; pMVP – пара-метоксibenзил; Py – пиридин, TBAF – тетрабутиламмонийфторид; TBS – трет-бутилдиметилсилил; TES – триэтилсилан; TFA – трифторуксусная кислота; Tf – трифторметилсульфонил; TMS – триметилсилил; Tol – толил, Ts – n-толуолсульфонил, Z – бензилоксикарбонил; толилтриазол – метилбензотриазол.

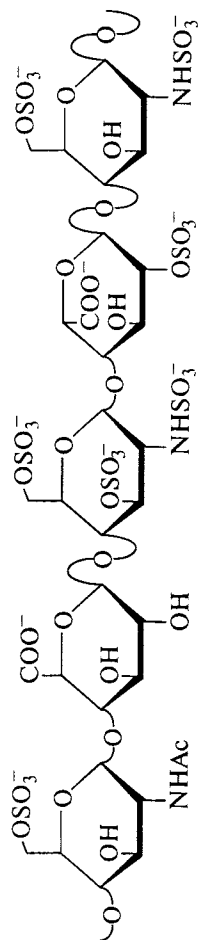
* Автор для связи (тел./факс: (499)135-8784; эл. почта: nen@ioc.ac.ru).



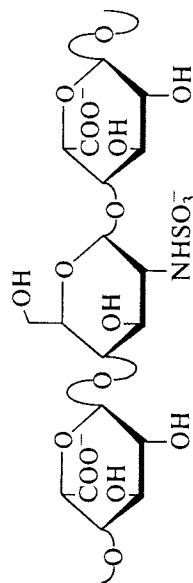
(1) Гипотетический фрагмент полисахаридной цепи гепарина



(3) Трисахаридный фрагмент полисахаридной цепи, связывающийся с FGF-1



(2) Ключевой пентасахаридный фрагмент полисахаридной цепи, связывающийся с АТIII



(4) Трисахаридный фрагмент полисахаридной цепи, связывающийся с FGF-2

Рис. 1. Структурные фрагменты полисахаридной цепи гепарина. Здесь и далее структурные формулы гепариноидов и их производных приведены в формулах Хеуорса. Это связано с тем, что присутствующие в них остатки идиуроновой кислоты обладают аномальной конформационной подвижностью и могут быть представлены смесью двух креслообразных конформеров (1C_4 , 4C_1), а также конформеров свернутой ванны (2S_0) [7].

рентгеноструктурного анализа тройного комплекса FGF-FGFR-гепарин были выявлены сайты связывания полисахарида как с фактором роста (FGF), так и с его рецептором (FGFR) [9]. Анализ библиотеки различных фрагментов гепариноидов позволил выявить минимально необходимые трисахаридные фрагменты (3) и (4), ответственные за связывание с FGF-1 и FGF-2, соответственно (рис. 1) [10]. Помимо специфичного взаимодействия выделяют и неспецифичные связывания крупных отрицательно заряженных гепариноидов с широким рядом белков. Отмечено, что благодаря таким взаимодействиям, гепариноиды играют ключевую роль в процессах развития воспаления, метастазирования раковых клеток, заражения вирусами и др. [2, 3].

Такой разнообразный спектр физиологической активности накладывает существенные ограничения на применение природного гепарина и гепарансульфата в качестве терапевтических средств. При использовании гепарина в качестве антитромботического средства часто наблюдается развитие побочных процессов, таких как геморрагия и тромбоцитопения [11, 12]. Кроме того, сильный антикоагулянтный эффект нативных гепариноидов не позволяет использовать их в качестве противовоспалительных, противоопухолевых, противовирусных препаратов. Создание низкомолекулярных миметиков гепарина со строго определенной структурой позволяет получить высокоэффективные препараты более специфичного биологического действия, снизив тем самым риски побочных процессов [4]. Поиск таких миметиков среди синтетических сульфатированных олигосахаридов является интенсивно развивающимся направлением биохимии углеводов. Рассмотрению основных типов структур и подходов к их синтезу посвящен настоящий обзор.

1. СИНТЕЗ ОЛИГОСАХАРИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ ГЕПАРИНА

1А. Синтез пентасахаридных цепей, ответственных за связывание АТIII

В начале 80-ых годов XX столетия было установлено точное строение минимального фрагмента гепарина, связывающегося с АТIII [6] и обладающего активностью, достаточной для разработки лекарственного препарата на его основе. Фактически, это открытие создало основу для всех дальнейших исследований, направленных на поиск низкомолекулярных аналогов и миметиков гепарина. Было показано, что обсуждаемый фрагмент является пентасахаридным и состоит из трех сульфатированных остатков глюкозамина, остатка глюкуроновой кислоты и остатка 2-О-сульфатированной идуроновой кислоты (рис. 1).

Позднее, в середине 80-х годов, исследовательскими группами Синаи и ван Бёкеля независимо друг от друга был осуществлен синтез соединения (5) [13, 14], отвечающего обсуждаемому структурному фрагменту гепарина.

Схемы сборки целевого пентасахариды (5) в обеих работах, базирующиеся на результатах проведенного ретросинтетического анализа (схема 1), были схожи и предполагали использование одного и того же защищенного предшественника (6). Гидроксильные группы, которые планировалось сульфатировать, были защищены ацетильными заместителями, остальные — бензильными. Использование 2-азидосахаров в качестве предшественников остатка глюкозамина связано с необходимостью присутствия несоучаствующего заместителя при С2 для построения α -гликозидных связей. Для сборки целевого пентасахариды (5) в обеих работах была использована схема [1 + 4], то есть на ключевой стадии синтеза осуществлялось сочетание моносахаридного донора (7) с тетрасахаридным гликозил-акцептором (8). В свою очередь, фрагмент (8) получали по схеме [2 + 2] гликозилированием дисахаридного блока (10) дисахаридным гликозилбромидом (9). Синтез, осуществленный параллельно в группе ван Бёкеля [14], отличался от вышеописанного только использованием защитной группы при О4' в гликозил-донорном аналоге блока (9) (левулиновой вместо хлорацетильной), а также применением 2-азидо-2-дезоксидеокси аналога *N*-бензилоксикарбонильного производного (10).

Сочетание избирательно защищенных дисахаридных блоков (9) и (10) осуществлялось в присутствии $AgOTf$ и приводило к тетрасахариду (11), в котором затем удаляли временную хлорацетильную защиту при О4 остатка глюкуроновой кислоты с образованием тетрасахаридного акцептора (8) (схема 2). Взаимодействие моносахаридного бромида (7) с тетрасахаридом (8) в присутствии $AgOTf$ приводило к требуемому пентасахариду (6) с выходом 89%. Схема, позволяющая перевести защищенный предшественник в целевое сульфатированное производное, была разработана также в этих первых работах и принципиально не изменилась до самых современных синтезов. На первой стадии проводили омыление ацильных защитных групп, после чего сульфатировали свободные гидроксильные группы. Далее гидрогенолизом в присутствии катализатора Pd/C удаляли бензильные заместители, одновременно восстанавливая азидные группы до аминных. Финальное селективное *N*-сульфатирование в водных условиях приводило к целевому продукту (5).

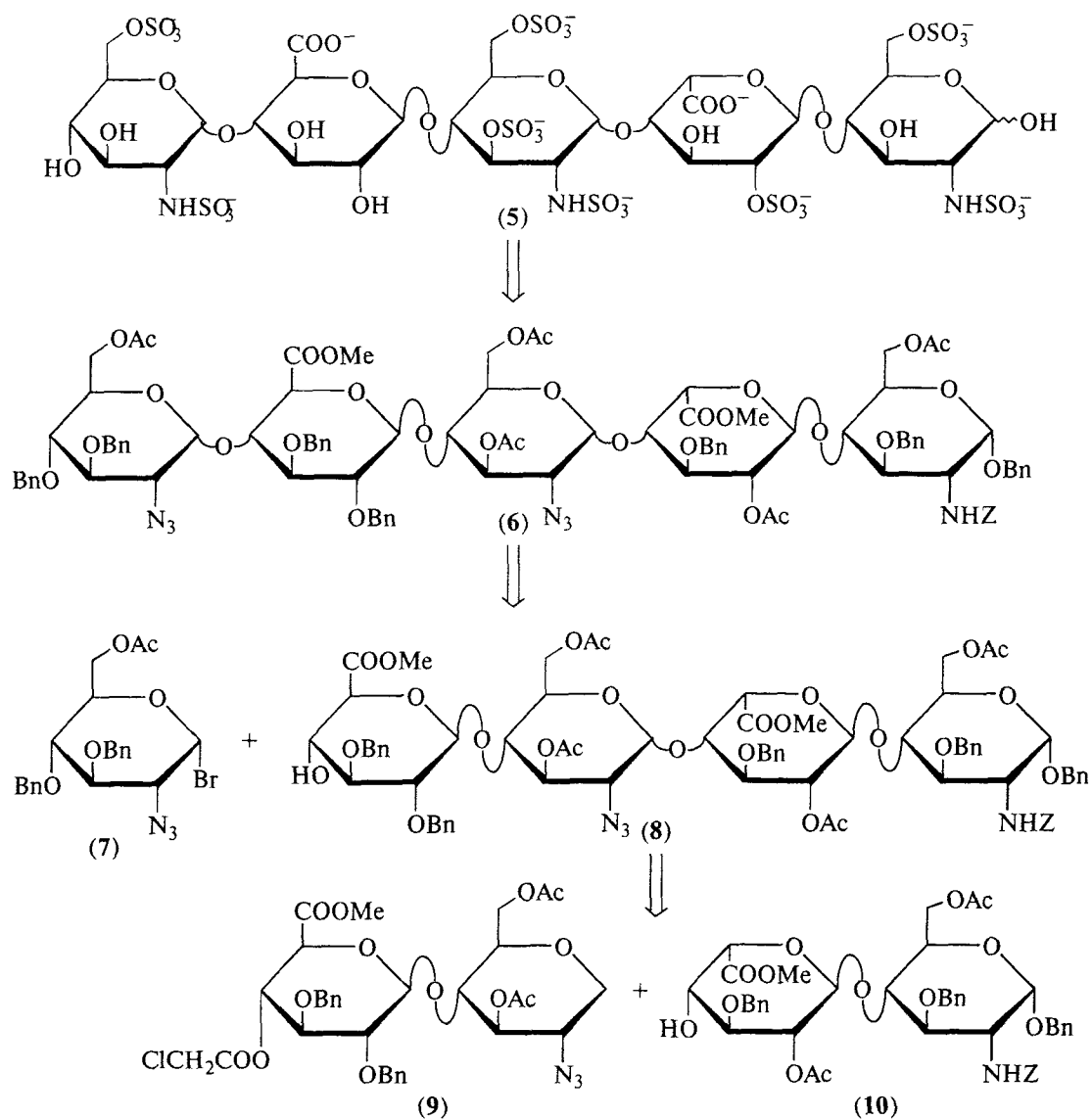


Схема 1. Ретросинтетический анализ пентасахаридного фрагмента гепарина (5) [7].

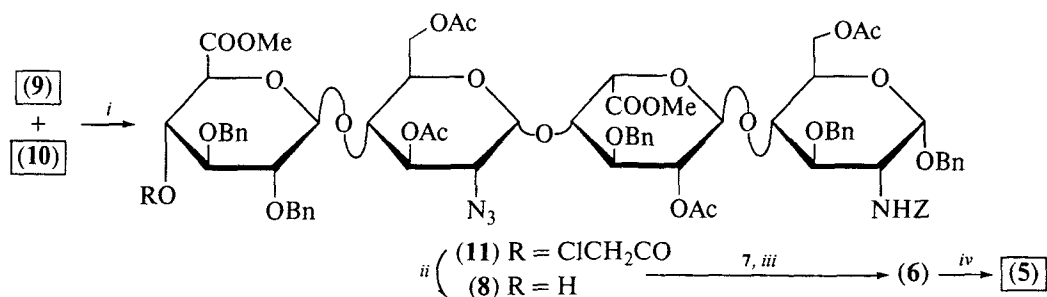


Схема 2. Синтез пентасахарид (5) по Синаï [13]. Реагенты и условия: i : AgOTf , 2,4,6-триметил- Py , $-20 \rightarrow 20^\circ\text{C}$, 18 ч, 33%; ii : NH_2CSNH_2 , 2,4,6-триметил- Py , MeOH , 50°C , 90%; iii : как i , 89%; iv : 1) NaOH , $\text{DMF} - \text{MeOH}$, 2) $\text{Me}_3\text{N} \cdot \text{SO}_3$, DMF , 50°C 20 ч 3) H_2 , Pd/C ; 4) $\text{Me}_3\text{N} \cdot \text{SO}_3$, H_2O , $\text{pH } 9$.

Как и ожидалось, синтезированный пентасакхарид (5) проявлял высокую биологическую активность. Однако это соединение представляет собой смесь двух изомеров, которые быстро подвергаются разложению в живом организме. Кроме того, во время деблокирования производного

(6) возможно взаимодействие полуацетала со свободной аминогруппой, что существенно снижает выход целевого соединения [15]. Перечисленные недостатки отсутствуют у производного пентасакхарид (5) - его α -метилгликозида (12) (схема 3) [15].

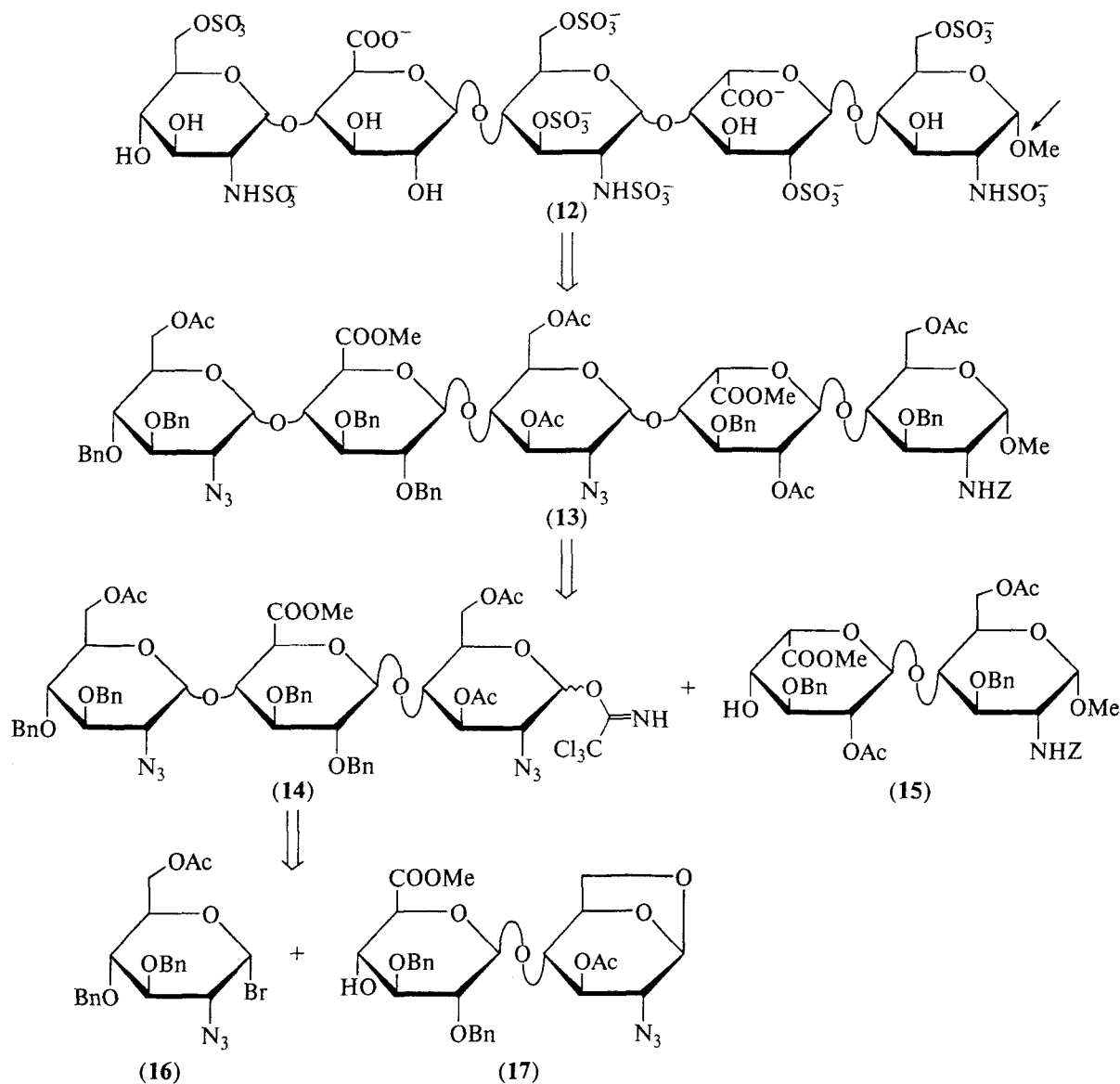


Схема 3. Ретросинтетический анализ пентасакхарид (12) по схеме [3 + 2] [15].

Первоначально пентасакхарид (12) был синтезирован согласно стратегии, предложенной для сборки соединения (5) (схема 2), однако позднее из-за потребности в больших количествах пентамера (12) синтетическая схема была пересмотрена. Ретросинтетический анализ соединения (12) показал, что целесообразно его получать по схеме [3 + 2] с использованием трисахаридного трихлорацетимидата (14) [16] и дисахаридного блока (15) (схема 3). Данная стратегия позволила увеличить выход пентасакhari-

да (12) из защищенного предшественника (15), содержащего наиболее синтетически труднодоступный остаток α -L-идуроновой кислоты [7].

Соединение (12), как и пентасакхарид (5), проявляло высокую биологическую активность. Поэтому в 2001 г. после успешных клинических испытаний пентасакхарид (12) был зарегистрирован в качестве антитромботического средства под торговым названием Арикстра® [17].

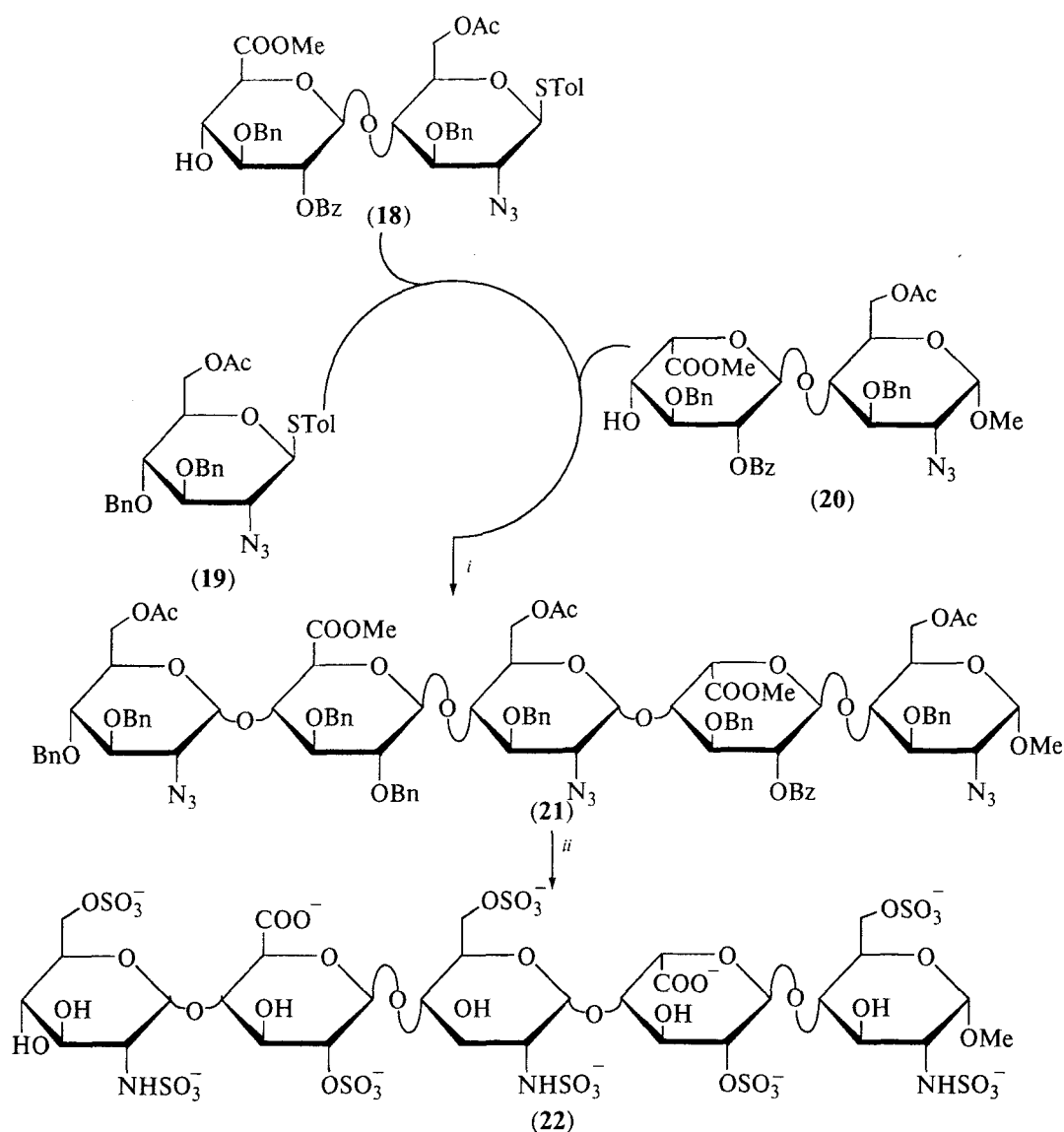


Схема 4. "One pot" – сборка пентасахаридной последовательности [18]. Реагенты и условия: *i*: NIS–TfOH, CH₂Cl₂, –45 → 20°C, 20%; *ii*: 1) LiOH, THF, 2) Et₃N · SO₃, DMF, 3) H₂, Pd/C; 4) Py · SO₃, H₂O, 33%.

В 2007 г. для синтеза пентасахарида (22) (схема 4), родственного АТIII-связывающей структуре, была использована стратегия последовательного гликозилирования в одном реакционном сосуде (*one pot*), основанная на различной реакционной способности тиогликозидных доноров [18]. Относительная скорость реакции гликозилирования донором (19) примерно в три раза выше, чем бифункциональным дисахаридом (18), содержащим свободную гидроксильную группу. Поэтому, при взаимодействии соединений (19) и (18) первый выступает преимущественно как гликозил-донор, а второй как гликозил-акцептор. После прохождения первой стадии гликозилирования к реакционной смеси добавляют дисахаридный акцептор (20), в результате чего об-

разуется защищенный пентасахарид (21) с суммарным выходом 20%.

Превращение синтона (21) в целевой пентасахарид (22) было осуществлено по стандартной для синтеза гепариноидов схеме. На первом этапе под действием основания удаляли сложноэфирные защитные группы и высвободившиеся гидроксильные группы далее сульфатировали при обработке комплексом Et₃N · SO₃. Последующие удаление бензильных защитных групп с помощью каталитического гидрогенолиза, сопровождающегося восстановлением азидных групп до свободных аминных, а также избирательное *N*-сульфатирование, как показано на схеме 4, приводили к целевому соединению (22) с общим выходом 33% на 4 стадии.

1Б. Блочный синтез олигосахаридов-гепариноидов

Создание обширных библиотек синтетических гепариноидов, необходимых для изучения углевод-белковых взаимодействий, требовало разработки высокоэффективных конвергентных методов синтеза олигосахаридов заданного строения. В группе Зеебергера был разработан подход, заключающийся

в использовании шести избирательно защищенных моносахаридных блоков: четырёх глюкозаминных (32)–(35), глюкуронового (39) и идуронового (42) [19] (схемы 5, 6). Схемы их синтеза исходили из общих предшественников и включали, главным образом, стадии, не требующих хроматографического разделения.

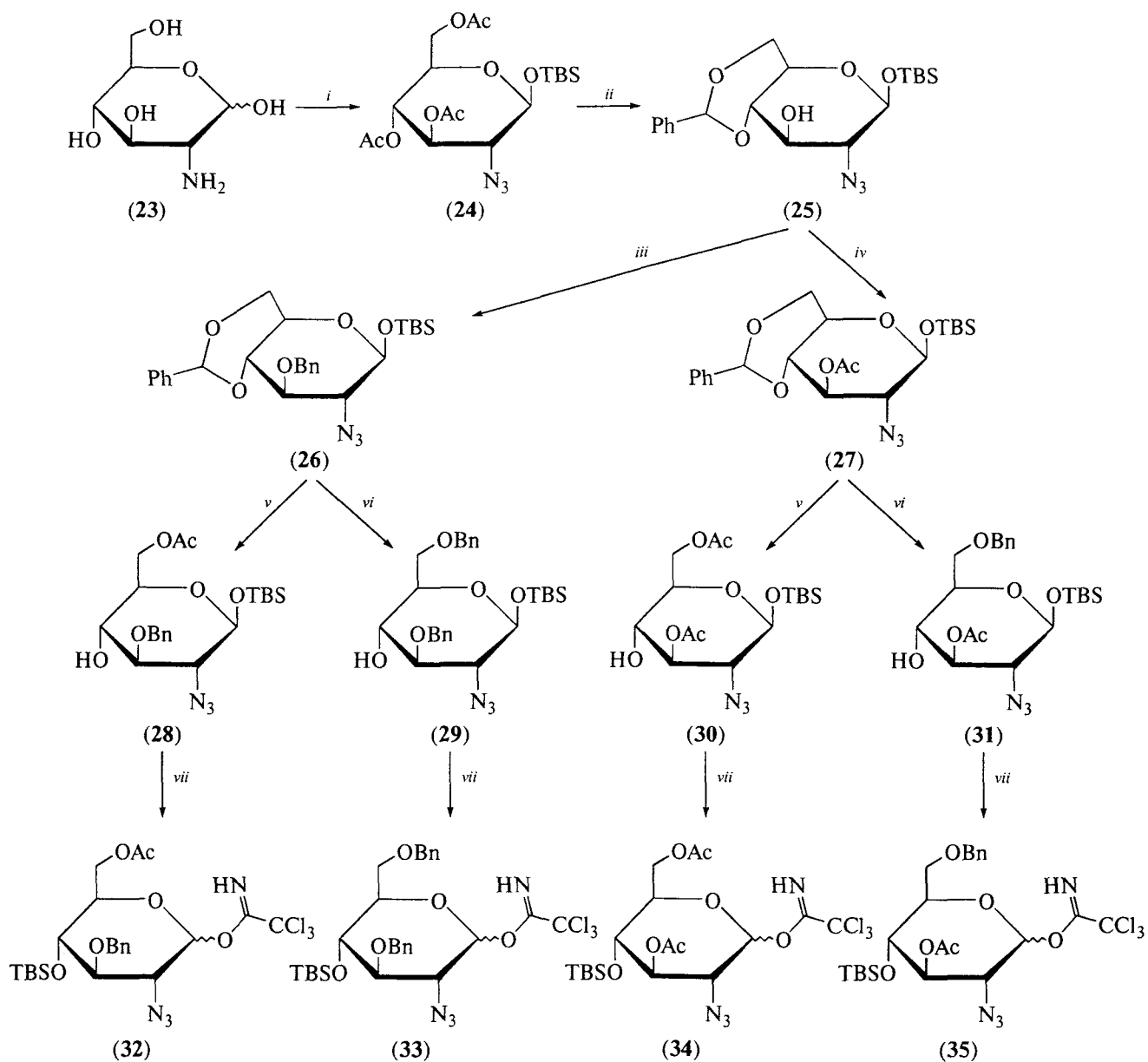


Схема 5. Синтез избирательно защищенных глюкозаминных блоков (32)–(35) [19]. Реагенты и условия: *i*: 1) TiN_3 , H_2O , K_2CO_3 , CH_2Cl_2 , MeOH , CuSO_4 ; 2) Ac_2O , Py , DMAP ; 3) NH_3 , MeOH , THF ; 4) TBS-Cl , имидазол, CH_2Cl_2 , 57% на 4 стадии; *ii*: 1) NaOMe , MeOH ; 2) $\text{PhCH}(\text{OMe})_2$, pTsOH , CH_3CN , 86% на 2 стадии; *iii*: BnBr , Ag_2O , CH_2Cl_2 , 95%; *iv*: Ac_2O , DMAP , Py , 95%; *v*: 1) TFA (60% aq.), CH_2Cl_2 ; 2) AcCl , колидин, -40°C ; *vi*: TES , TFA , CH_2Cl_2 ; *vii*: 1) TBS-OTf , лутидин, CH_2Cl_2 ; 2) TBAF , AcOH , THF ; 3) CCl_3CN , DBU , CH_2Cl_2 .

Набор глюкозаминовых блоков (32)–(35) был получен из общего предшественника (23) (схема 5). На первом этапе аминогруппу в соединении (23) переводили в азидную, ацелировали гидроксильные группы, а затем заменяли аномерную ацетильную группу на силильную, в результате чего с общим выходом 57% был получен кристаллический продукт (24). Дезацелилирование и последующее 4,6-бензилиденирование приводили к моногидроксилированному производному (25). Его 3-*O*-бензилирование ((26)) и ацелилирование ((27)) с последующим удалением 4,6-бензилиденной группы и региоизбирательным

6-*O*-ацелилированием приводило к продуктам (28) и (30), соответственно. Региоизбирательное восстановительное раскрытие бензилиденного цикла в моносахаридах (26) и (27) позволило получить 6-*O*-бензилированные производные (29) и (31). Необходимый набор избирательно защищенных глюкозаминовых блоков (32)–(35) был получен из моносахаридов (28)–(31) 4-*O*-силилированием и заменой силильного агликона на легко уходящую трихлорацетимидоэфильную группу, что обеспечивает дальнейшее эффективное применение соединений типа (32)–(35) в качестве гликозилирующих агентов.

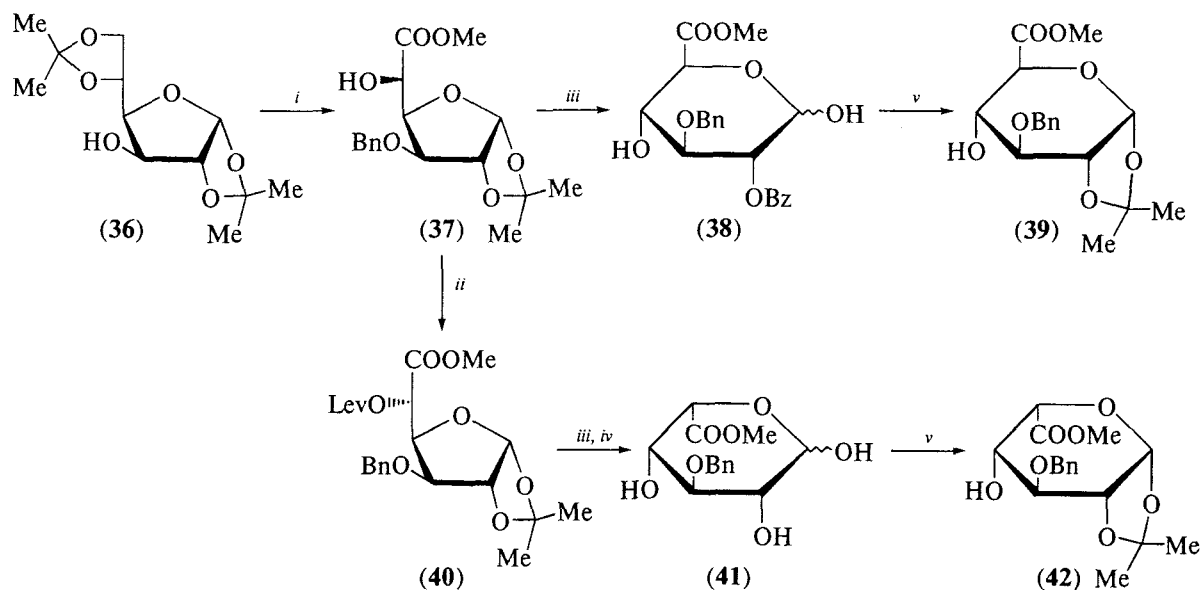


Схема 6. Синтез избирательно защищенных блоков уроновых кислот (39) и (42) [19]. Реагенты и условия: *i*: 1) NaH, BnBr, THF, Bu₄NI; 2) aq. AcOH (66%), 40°C; 3) TBS-Cl, DMAP, CH₂Cl₂, Py; 4) Ac₂O, DMAP, Py; 5) HF/Py, THF; 6) TEMPO (2,2,6,6-тетраметилпиперидин-*N*-оксил), KBr, Bu₄NBr, NaHCO₃, NaOCl, CH₂Cl₂/H₂O; 7) 4M NaOH, MeOH; 8) MeI, KHCO₃, DMF, 65% на восемь стадий; *ii*: 1) Tf₂O, Py, CH₂Cl₂; 2) LevONa, DMF, 80°C, 82% на две стадии; *iii*: TFA (90% aq.); *iv*: N₂H₄, HOAc, Py, 91%; *v*: CH₂=C(OMe)CH₃, DMF, CSA.

Для синтеза моносахаридных блоков гексурановых кислот (39), (42) была разработана эффективная схема, исходным соединением в которой являлся ацетонид (37) (схема 6). Моносахарид (37) получали из коммерчески доступной диацетонглюкозы (36) в восемь стадий с общим выходом 65%. Обращение стереохимической конфигурации при C5 в фуранозиде (37) через промежуточное образование 5-*O*-трифторметансульфоильного производного позволило получить идуронофуранозу (40). Избирательное удаление защитных групп в фуранозидах (37) и (40) приводило к триолам (38) и (41), которые затем переводили в необходимые 1,2-ацетониды глюконовой и идуроновой кислот (39) и (42).

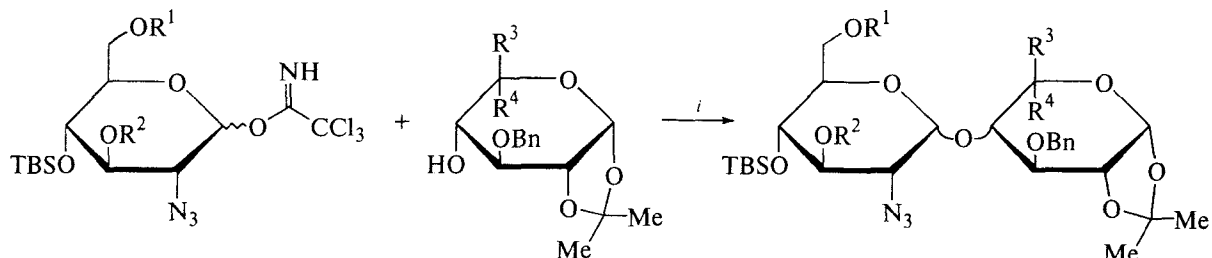
Сочетание глюкозаминовых гликозил-доноров (32)–(35) с уроновыми гликозил-акцептора-

ми (39) и (42) проходило α -стереоспецифично и приводило к восьми различным дисахаридным блокам (43)–(50) с хорошими выходами (схема 7). Такой стереохимический результат реакции объяснялся авторами эффектом 1,2-*O*-изопропилиденной защиты в структуре гликозил-акцептора, которая фиксирует оптимальную конформацию пиранозного цикла [19].

Полученные дисахариды переводили либо в гликозил-акцепторные, либо в гликозил-донорные блоки, которые затем использовали для синтеза защищенных предшественников гепариновых цепей. Например, удаление 1,2-*O*-изопропилиденной защиты в дисахаридах (43) и (49), ацилирование свободных гидроксильных групп и последующий перевод в 1-*O*-трихлорацетимидо-

ильное производное приводили к гликозил-донорам (51) и (52) (схема 8). Гликозилирование соединением (51) пентенилового спирта и последующее удаление силильной защиты из глюкозаминового остатка позволили получить акцептор (53). Сочетание акцептора (53) и донора (52) осуществляли в присутствии TMSOTf, в результате чего с выходом 91% был получен тетрасахарид

(54). Однако проводившиеся авторами [19] попытки дальнейшего удлинения олигосахаридной цепи оказались неудачными. Полученный после удаления силильной защиты в соединении (54) тетрасахаридный акцептор (55) оказался совершенно неактивен в реакции гликозилирования. Более того, авторам не удалось осуществить даже его бензилирование.



- (32) R¹ = Ac, R² = Bn
 (33) R¹ = Bn, R² = Bn
 (34) R¹ = Ac, R² = Ac
 (35) R¹ = Bn, R² = Ac

- (39) R³ = COOMe, R⁴ = H
 (42) R³ = H, R⁴ = COOMe

- (43) R¹ = Ac, R² = Bn, R³ = COOMe, R⁴ = H
 (44) R¹ = Bn, R² = Bn, R³ = COOMe, R⁴ = H
 (45) R¹ = Ac, R² = Ac, R³ = COOMe, R⁴ = H
 (46) R¹ = Bn, R² = Ac, R³ = COOMe, R⁴ = H
 (47) R¹ = Ac, R² = Bn, R³ = H, R⁴ = COOMe
 (48) R¹ = Bn, R² = Bn, R³ = H, R⁴ = COOMe
 (47) R¹ = Ac, R² = Ac, R³ = H, R⁴ = COOMe
 (48) R¹ = Bn, R² = Ac, R³ = H, R⁴ = COOMe

Гликозил-донор	Гликозил-акцепторы и продукты гликозилирования			
	Гликозил-акцептор (39)		Гликозил-акцептор (42)	
	Продукт	Выход, %	Продукт	Выход, %
(32)	(43)	86	(47)	91
(33)	(44)	77	(48)	92
(34)	(45)	92	(49)	90
(35)	(46)	71	(50)	88

Схема 7. α-Стереоселективный синтез защищенных блоков GlcN-GlcA и GlcN-IdoA [19].
 Условия гликозилирования: *i*: TBS-OTf, MS-4Å, CH₂Cl₂, -30 → 20°C.

Аналогично, на ряде других примеров была показана полная неэффективность акцептора, содержащего свободную гидроксильную группу при O4 концевом остатка глюкозамина, связанного с остатком идуроновой кислоты (схема 9). По-видимому, именно конформация последней ответственна за низкую активность гидроксила

соседнего остатка. Например, наличие 1,2-О-изопропилиденовой группировки в остатке идуроновой кислоты дисахаридного акцептора (58), приводящей к изменению его конформационной подвижности, существенно увеличивает эффективность реакции гликозилирования донором (56) [19].

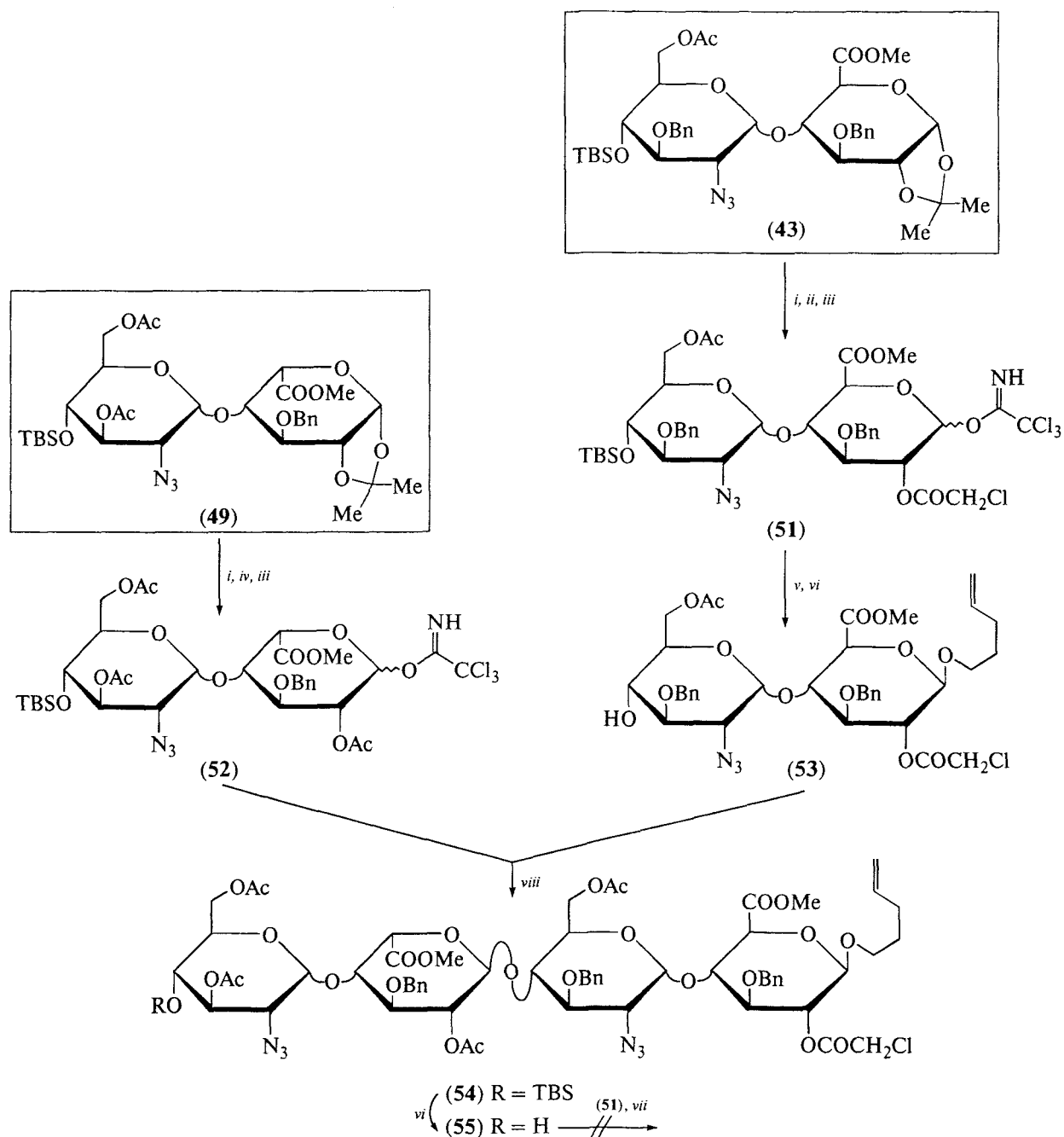


Схема 8. Блочный синтез с использованием дисахаридных предшественников [19]. Реагенты и условия: *i*: CHCl_2COOH , (60% аq.); *ii*: $(\text{CH}_2\text{ClCO})_2\text{O}$, CH_2Cl_2 , DMAP, Py; *iii*: 1) BnNH_2 , Et_2O , 0°C ; 2) CCl_3CN , DBU, CH_2Cl_2 , 0°C ; *iv*: Ac_2O , CH_2Cl_2 , DMAP, Py; *v*: 4-пентен-1-ол, TMS-OTf , CH_2Cl_2 , 0°C ; *vi*: HF/Py , AcOH , THF ; *vii*: TMS-OTf , CH_2Cl_2 , -25°C .

Невозможность эффективного гликозилирования блока GlcN-IdoA определила необходимость пересмотра стратегии синтеза, основанной на дисахаридных блоках. Измененная схема предполагала образование связи GlcN-IdoA на заключительных этапах синтеза и включала новые универсальные трисахаридные блоки. Прин-

цип был проиллюстрирован на примере синтеза защищенного гексасахарид (66) (схема 10) [19], который не удалось синтезировать блочной сборкой дисахаридов (см. схему 8). Так, взаимодействие трихлорацетимидата (60) с 2-азидо-2-дезоксиглюкозидом (28) в присутствии TMS-OTf приводило с выходом 63% к трисахариду (63), в

котором затем 1-*O*-силильную группу заменяли на трихлорацетимидоильную с образованием трисахаридного гликозил-донора (64). Параллельно с этим, взаимодействием моносахарида (61) и дисахарида (62) с последующим удалением си-

лильной защиты при *O*4 идуронового остатка был получен трисахаридный гликозил-акцептор (65). Сочетание соединений (64) и (65) протекало с высокой α -стереоизбирательностью и приводило к продукту (66) с выходом 62% (схема 10) [19].

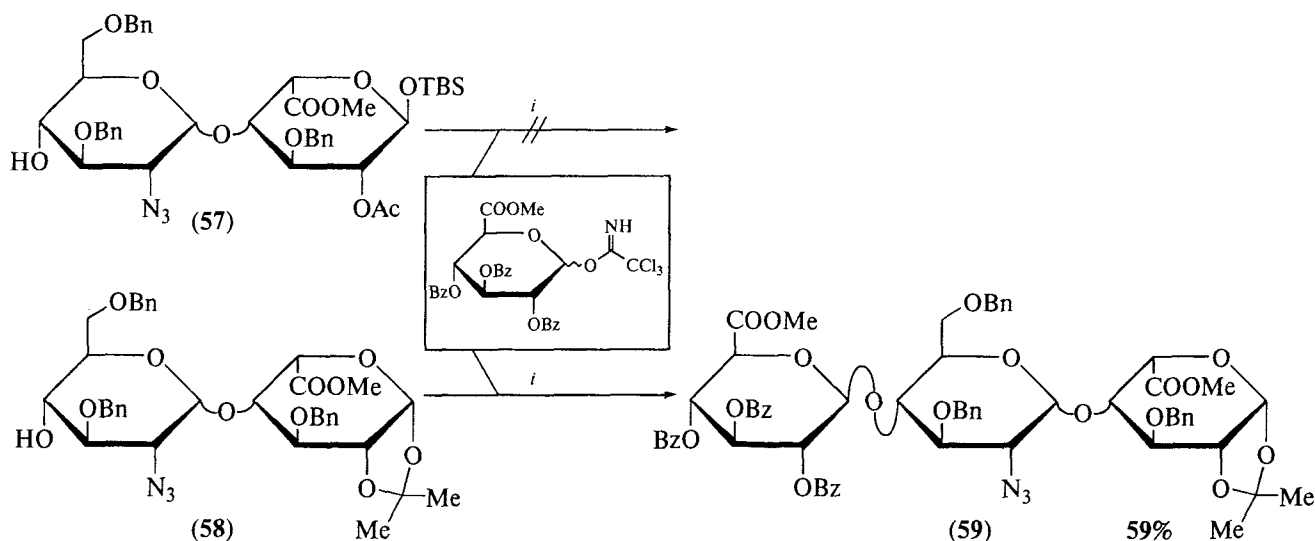


Схема 9. Зависимость реакционной способности дисахаридного акцептора от защитных групп в остатке α -L-идуроновой кислоты [19]. Реагенты и условия: *i*: TMS-OTf, CH₂Cl₂, -20°C.

Превращение защищенного гексасахарида (66) в соответствующий избирательно сульфатированный олигосахарид, отвечающий фрагменту гепарина, осуществлялось с использованием стандартной последовательности реакций, изложенной на схеме 4 и включающей замену ацильных заместителей (Ac, Bz, COCH₂Cl, Lev) на *O*-сульфо группы, а также удаление бензильных защит с высвобождением незамещённых гидроксильных групп. Введение *O*-сульфо групп в остатки уроновых кислот также обеспечивалось присутствием в защищенных предшественниках ацильных заместителей при *O*2.

В случаях, когда *O*-ацильный заместитель был необходим для проведения 1,2-*транс*-стереоизбирательного гликозилирования, но не предполагалась его замена на сульфат, этот ацильный заместитель (COCH₂Cl, Lev) заменялся на бензильную группу на финальных стадиях синтеза. Последовательность таких трансформаций была отработана на примере синтеза тетрасахарида (67) (схема 11) [19]. Так, селективное удаление хлорацетильной группы в соединении (55) в присутствии тиомочевины протекало почти количественно, высвободившуюся OH-группу затем бензилировали, что приводило к продукту (67).

Одним из наиболее крупных синтетических олигосахаридов, отвечающих фрагментам цепи гепарина, является синтезированный в 2009 г. додекасаха-

рид (68), содержащий шесть дисахаридных повторяющихся звеньев (схема 12). Этот продукт содержит агликон-спейсер, который был использован в дальнейшем при превращении соединения (68) в гликоконъюгат, проявляющий высокую анти-ВИЧ-активность [20]. Синтез додекасахарида (68) проводили из защищенного предшественника (69) с использованием последовательности стандартных реакций: удаление ацетильных групп восстановление азидов *O*- и *N*-сульфатирование дебензилирование, эффективность которых была предсказана проведённым ретросинтетическим анализом (схема 12) [20]. Для построения додекасахаридной цепи использовалась конвергентная схема с последовательным присоединением ди- и тетрасахаридных блоков, что достигалось гликозилированием трихлорацетимидатами (70) и (72) с использованием первоначального дисахаридного гликозил-акцептора (71), содержащего защищенный агликон-спейсер. Все проводившиеся реакции гликозилирования протекали α -стереоспецифично.

Было показано, что неогликоконъюгат синтетического олигосахарида (68) и белкового носителя эффективно ингибирует внедрение вируса ВИЧ в клетку хозяина. Предложенный авторами подход открывает перспективу для создания профилактического препарата, предотвращающего заражение ВИЧ [20].

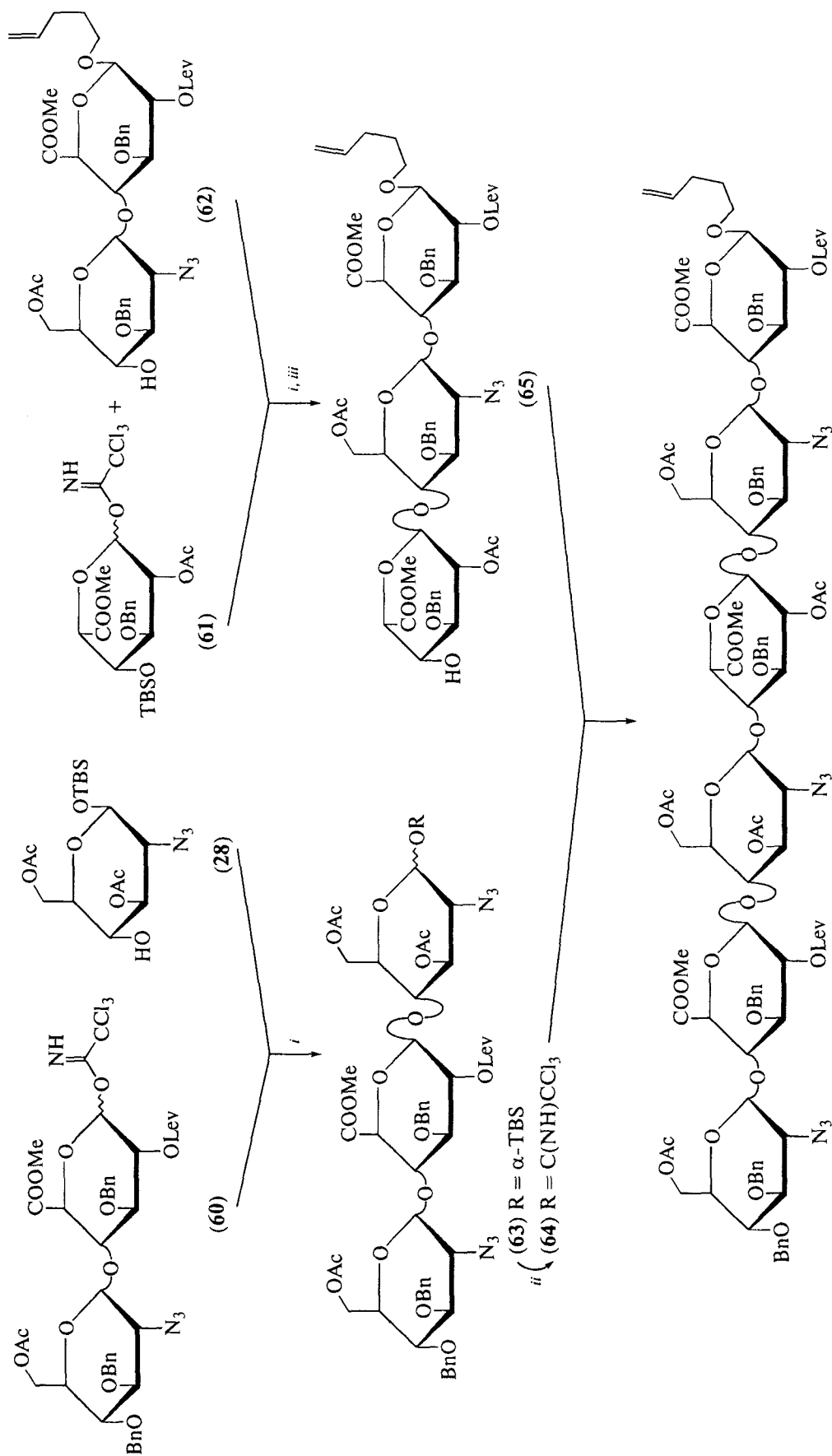


Схема 10. Олигосахаридный синтез с участием трисахаридных фрагментов [19]. Реагенты и условия: *i*: TMS-OTf, CH₂Cl₂, -25°C. Выход, 63%: (63), 93%: (65), 62%: (66); *ii*: 1) TBAF, AcOH, THF; 2) CCl₃CN, DBU, CH₂Cl₂, 0°C, 87% на 2 стадии; *iii*: HF/Py, AcOH, THF, 82%.

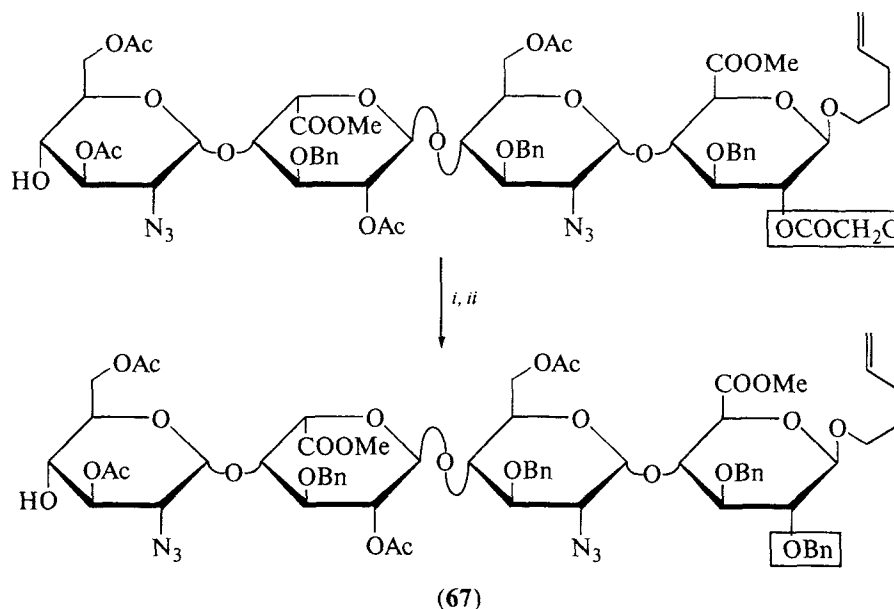


Схема 11. Замена ацильного заместителя на бензильный в остатке уроновой кислоты [19]. Реагенты и условия: *i*: NH_2CSNH_2 , DMF, Py, 20°C, 24 ч, 90%; *ii*: BnBr, Ag_2O , MS-4Å, CH_2Cl_2 , 20°C, 24 ч, 76%.

За последние два десятилетия было опубликовано множество работ, посвященных созданию библиотек синтетических фрагментов гепариноидов. Основные сложности синтеза были связаны с выбором оптимально защищенных предшественников, определяющих эффективное создание гликозидных связей. Во многих случаях 1,2-*цис*-гликозилирование 2-азидосахарами проходило нестереоселективно, что приводило к необходимости использования трудоёмкого хроматографического разделения изомеров. Стереоселективность 1,2-*транс*-гликозилирования производными гексуроновых кислот протекает эффективно при использовании гликозил-донорных агентов, содержащих соучаствующий заместитель при O2. Однако в этих случаях часто возникают проблемы из-за недостаточной активности соответствующих гликозил-доноров, что приводит к низким выходам, либо невозможности получить продукт вовсе. Несмотря на усилия ученых создать универсальную конвергентную схему синтеза фрагментов гепариноидов заданного строения, данная проблема не решена до сих пор.

2. СИНТЕЗ ИЗБИРАТЕЛЬНО МЕТИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ОЛИГОСАХАРИДОВ, СТРУКТУРНО РОДСТВЕННЫХ ГЕПАРИНОИДАМ

2А. Применение избирательно метилированных производных олигосахаридов, структурно родственных гепариноидам

В работах ван Бёкеля и Петиту была синтезирована обширная серия олигосахаридов, структурно родственных активному пентасахаридному фраг-

менту гепарина, что позволило детально изучить взаимосвязь антикоагулянтных свойств и структуры исследованных соединений (см. обзор [21] и цитируемые в нем работы). В ходе этих исследований весьма неожиданно было найдено, что замена сульфамидных групп на *O*-сульфаты и метилирование некоторых гидроксильных групп практически не уменьшает биологическую активность (схема 13). Так, например, пентасахарид (73) и его метилированное производное (74) проявляли практически одинаковую способность ингибировать фактор коагуляции крови Ха, а также одинаково хорошо связывались с антитромбином III.

Полученные результаты свидетельствовали о том, что эффективность углевод-белкового взаимодействия определяется в первую очередь пространственным расположением отрицательно заряженных сульфатных и карбоксильных групп, а свободные гидроксильные группы в меньшей степени вовлечены во взаимодействие с белковыми рецепторами гепарина. Данное наблюдение очень важно для создания структур эффективных миметиков гепарина, синтез которых возможен по более простым схемам, чем при получении олигосахаридов, отвечающих гепарину. Химический синтез указанного типа миметиков гепарина имеет ряд существенных преимуществ: 1) синтетическая стратегия является более гибкой, потому что как ацильные, так и бензильные группы могут быть применены для защиты гидроксильных групп, которые требуется сульфатировать на завершающем этапе; 2) нет необходимости использовать 2-азидо-2-дезоксипроизводные; 3) нет необходимости проведения селективного *N*-сульфатирования олигосахаридов на финальных стадиях.

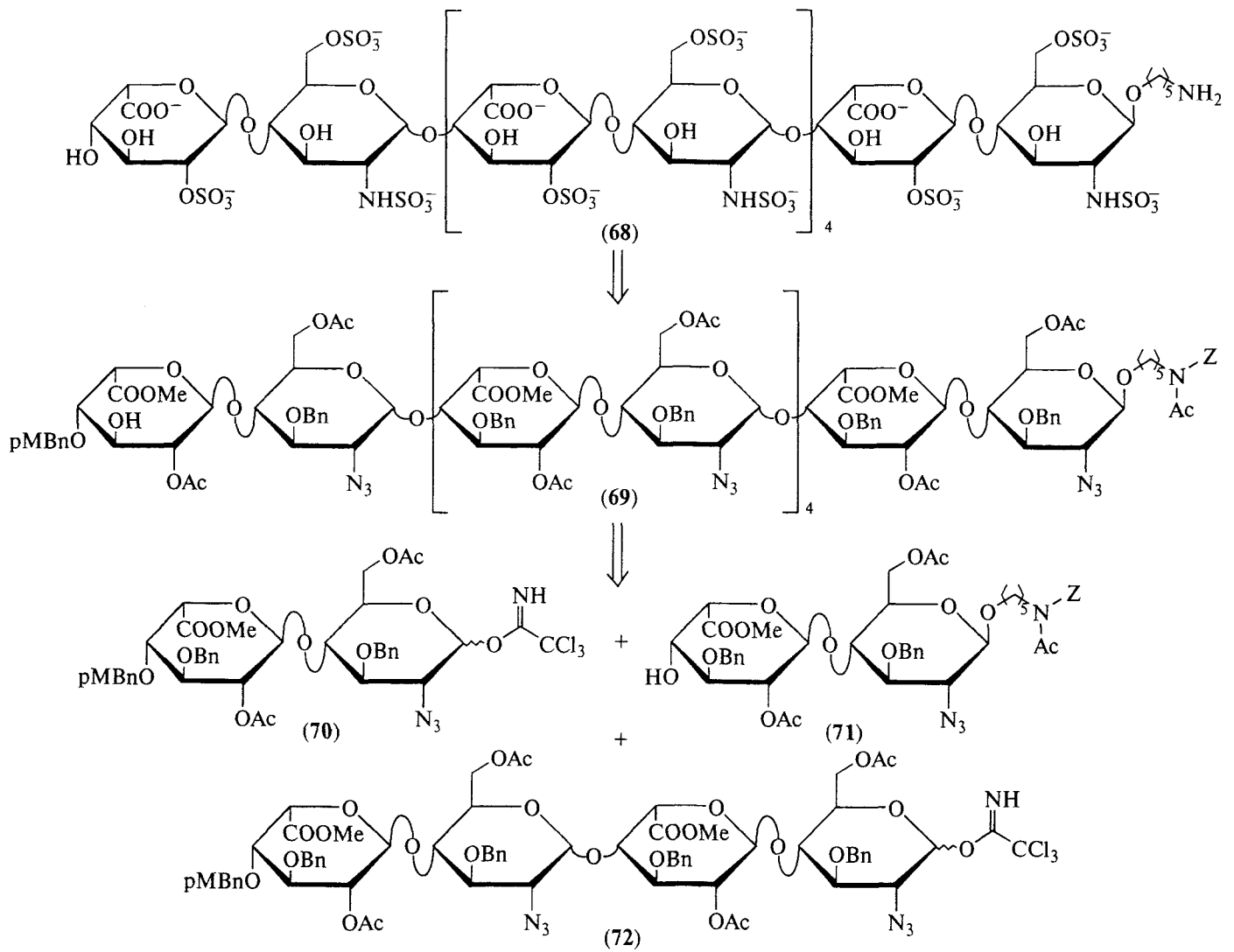


Схема 12. Ретросинтетический анализ структуры додекасахарида (68) [20].

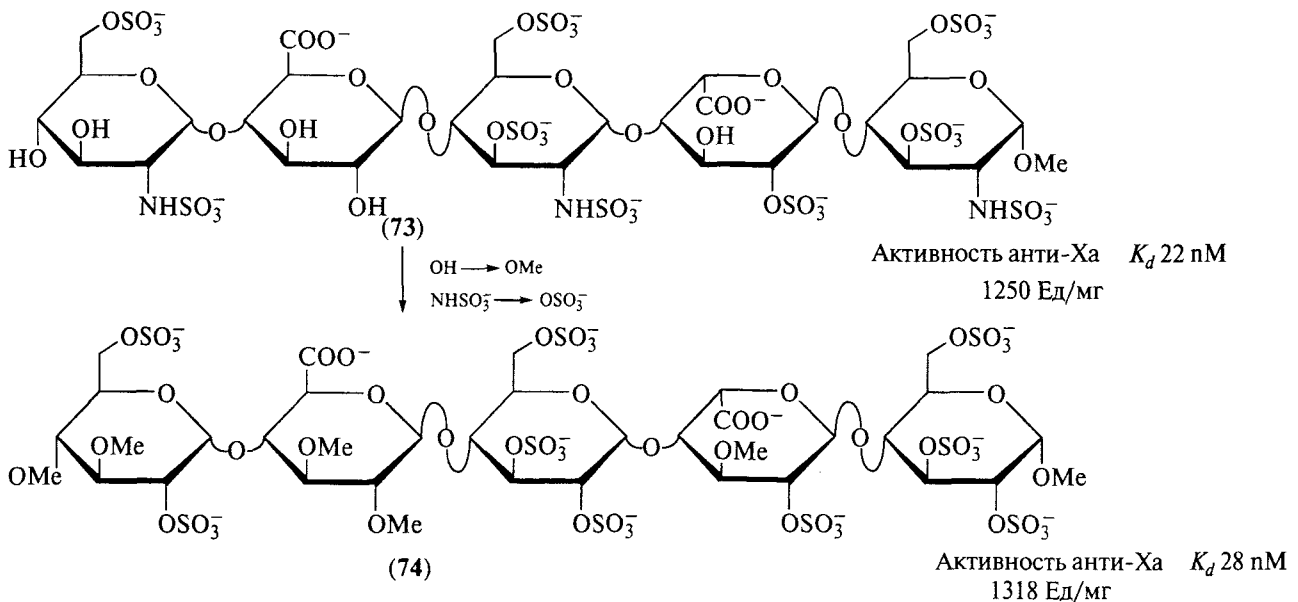


Схема 13. Активный фрагмент гепарина (73) и его метилированный аналог (74), приведены анти-Ха-активность и константа диссоциации комплекса с антитромбином III [21].

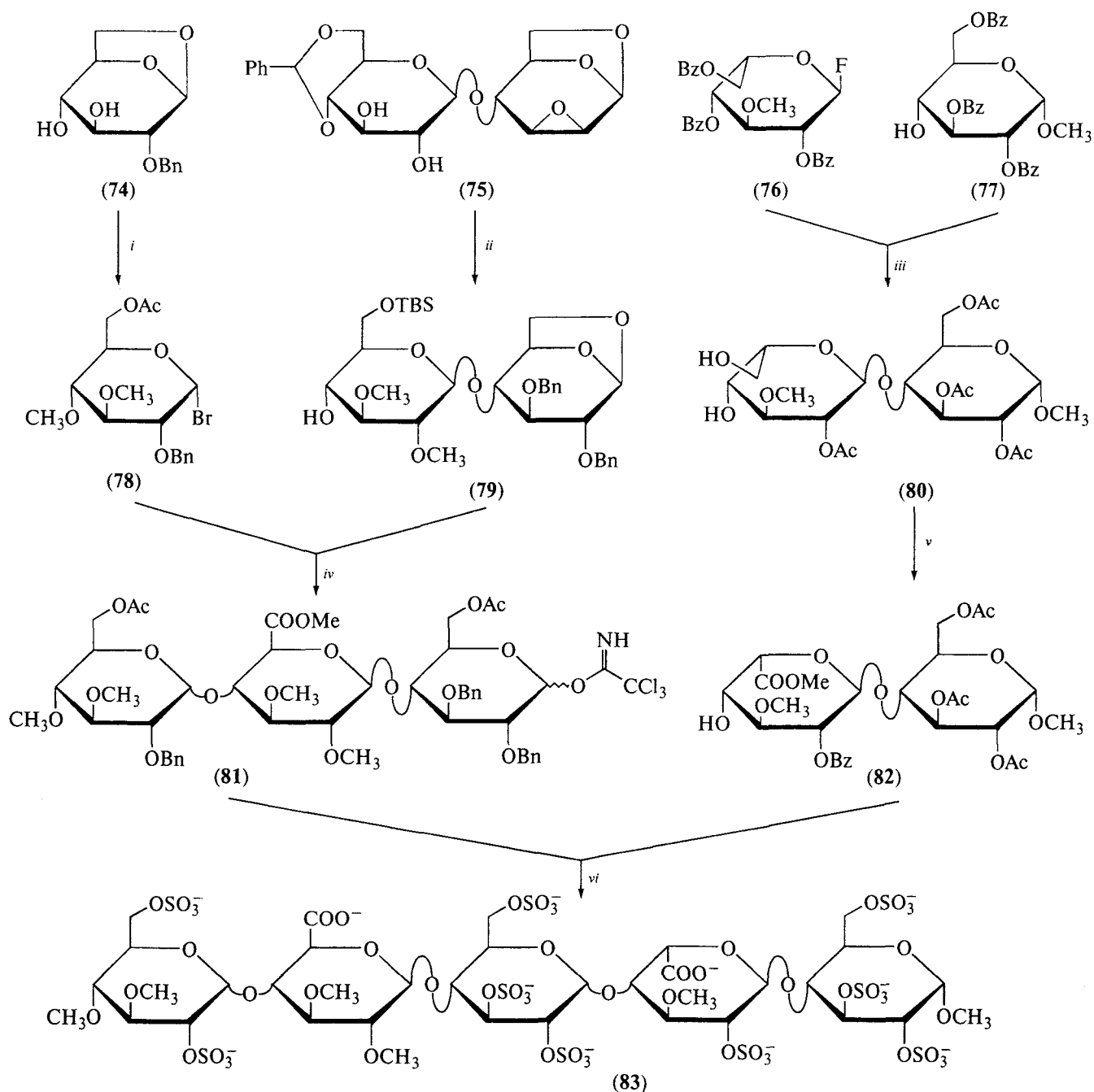


Схема 14. Синтез метилированного аналога пентасахаридного фрагмента гепарина [22]. Реагенты и условия: *i*: 1) CH_3I , NaN , THF , 2) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{AcOH}/\text{CF}_3\text{COOH}$, 3) TiBr_4 95% на 3 стадии; *ii*: 1) CH_3I , NaN , THF , 2) 40% ТВАОН, диоксан, 80°C 24 ч., 3) BnBr , NaN , DMF , 4) AcOH , 5) TBS-Cl , 52% на 5 стадии; *iii*: 1) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, 2) MeONa , 3) PhCHO , CSA , 4) Ac_2O , 5) TFA 42% на 5 стадий; *iv*: 1) $\text{Hg}(\text{CN})_2$, 2) $\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$, 3) CH_3I , 4) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}^+$, 5) пиперидин, 6) $\text{Cs}_2\text{CO}_3/\text{CCl}_3\text{CN}$, 27% на 6 стадий; *v*: 1) TBS-Cl , 2) Lev_2O , 3) CrO_3 , H_2SO_4 , 4) CH_3I , 5) NH_2NH_2 , 54% на 5 стадий; *vi*: 1) TMS-OTf , 70%, 2) LiOH/OH^- , 3) H_2 Pd/C , 4) $\text{SO}_3 \cdot \text{Et}_3\text{N}$, 60% на 3 стадии.

2Б. Синтез метилированных аналогов АТIII-связываемого пентасахарид

Первый представитель метилированных олигосахаридных производных, структурно родственных гепарину, был синтезирован в 1992 г. и представлял собой аналог активного пентасаха-

ридного фрагмента, связывающегося с антитромбином III (схема 14) [22]. Как и в ранее изложенном синтезе пентасахарид (12) (схема 3), для сборки целевой последовательности (83) была использована схема [3 + 2], заключающаяся в сочетании трисахаридного трихлорацетимидата (81) и

дисахаридного акцептора (**82**), содержащего остаток идуроновой кислоты.

Синтез трисахаридного блока осуществлялся из 2-*O*-бензиллевоглюкозана (**74**) и дисахарида (**75**). Для этого в моносахариде (**74**) первоначально метилировали свободные гидроксильные группы, с помощью ацетоллиза раскрывали 1,6-ангидроцикл, а затем получали гликозилбромид под действием $TiBr_4$ на соответствующий 1-*O*-ацетилированный предшественник. В дисахариде (**75**) метилировали свободные гидроксильные группы, региоизбирательно гидролизовали 2,3-эпоксидный цикл, затем бензилировали образовавшиеся гидроксильные группы. Удаление бензилиденовой защиты и избирательное 6-*O*-силилирование приводило к дисахаридному акцептору (**79**). Сочетание соединений (**78**) и (**79**) в присутствии солей ртути приводило к образованию α -изомерного трисахарида (выход 62%), который далее десилилировали, C6 центрального глюкозного остатка подвергали окислению по Джонсу, метилировали образующую карбоксильную группу и получали соответствующее производ-

ное глюкуроновой кислоты. Последнее далее подвергали ацетоллизу с раскрытием 1,6-ангидроцикла и заменяли ацетильную группу при O1 на трихлорацетимидоильную с образованием трисахаридного гликозил-донора (**81**).

Для синтеза блока (**82**), содержащего остаток идуроновой кислоты, на первом этапе *L*-идозилировали оптимально защищенный глюкозид (**77**), а затем в образовавшийся продукт с использованием стандартных манипуляций с защитными группами переводили в тетраацетат (**80**) со свободным гидроксилом при C6 остатка идозы. Последний затем окисляли по Джонсу до производного идуроновой кислоты, переводили в метиловый эфир (**82**), содержащий свободную OH-группу при C4'. Гликозилирование этого соединения трисахаридным трихлорацетимидатом (**81**) (схема 14) приводило к соответствующему защищенному пентасахариду с выходом 70%, в котором затем удаляли ацильные и бензильные защитные группы и проводили исчерпывающее *O*-сульфатирование, с образованием целевого продукта (**83**) [22].

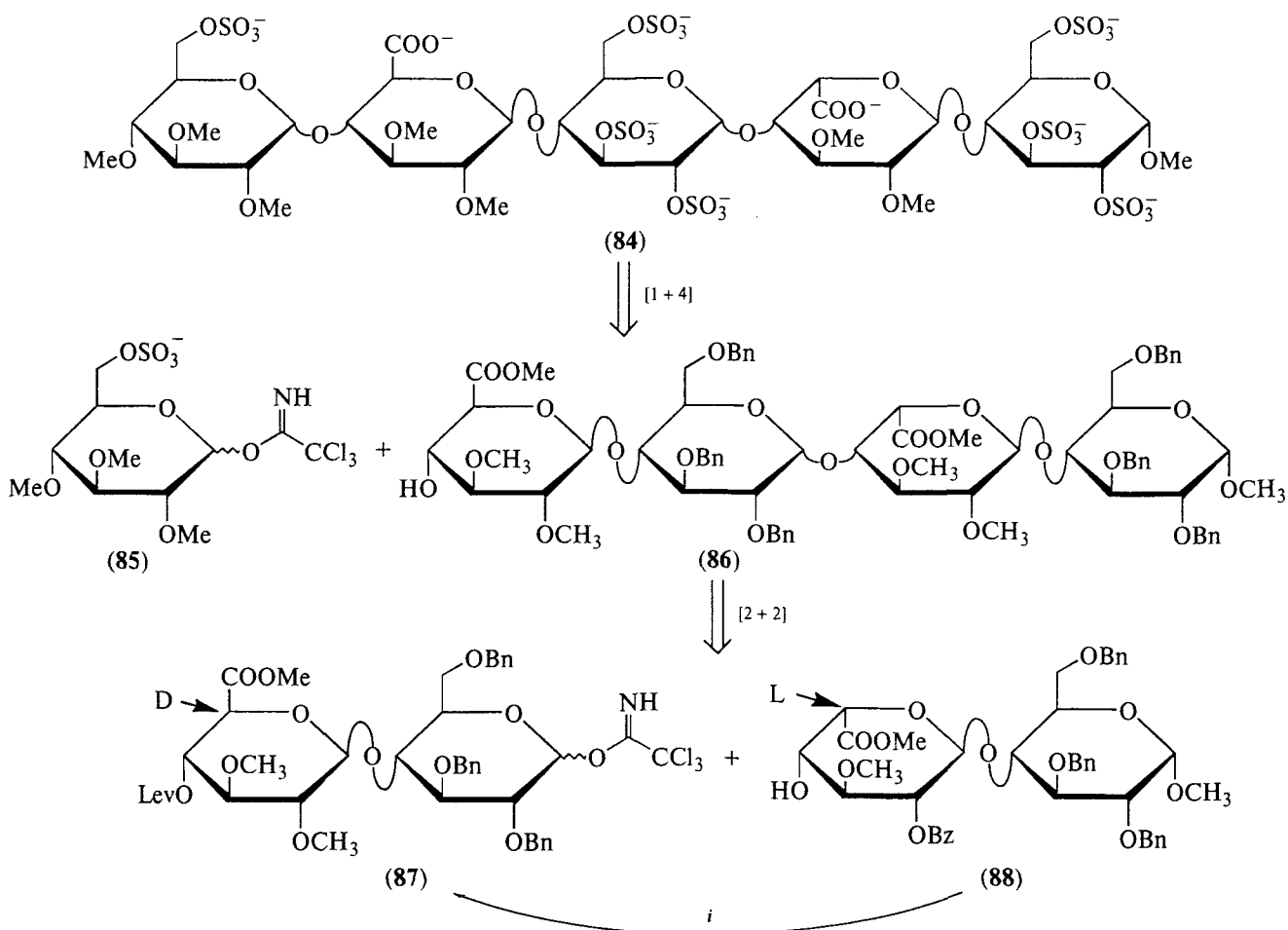


Схема 15. Схема синтез активного пентасахарида (**84**) с использованием общего дисахаридного блока (**88**) [23]. Реагенты и условия: *i*: 1) $MeONa/MeOH$, 2) $LevOH$, DCC , 3) Ac_2O , $AcOH$, TFA , 4) пиперидин, 5) CCl_3CN , Cs_2CO_3 , 52% на 5 стадий.

Необходимо отметить ещё одно важное синтетическое преимущество рассматриваемых *O*-метилованных производных по сравнению со структурно родственными соединениями, содержащими ацильные защиты, заключающееся в возможности *C5*-эпимеризации в них идуроновых звеньев в более термодинамически стабильные глюкуроновые. Так, разработанный в 1994 г. синтез аналога активного пентасахарида (**84**) исходил из легкодоступного моносахарида (**85**) и дисахарида (**88**), который являлся как дисахаридным гликозил-акцептором, так и предшественником блока (**87**) (схема 15) [23]. Разработанная последовательность реакций предполагала первоначальную обработку предшественника (**88**) метилатом натрия, в результате чего с выходом 73% был получен соответствующий дисахарид, содержащий остаток глюкуроновой кислоты. В последнем защищали свободную гидроксильную группу при *C4*, подвергали ацетолузу и последующему превращению в трихлорацетимидат (**87**). Отметим, что аналогичное превращение идуронильных производных в глюкуроноильные невозможно для производных, содержащих остатки аминсахаров, присутствующих в гепарине. Это связано с неустойчивостью в условиях эпимеризации используемых ацильных защит.

Синтетическая стратегия, изложенная на схеме 15, по сравнению с аналогичной, изображенной на схеме 14, позволила сократить примерно в два раза количество стадий, необходимых для синтеза соединения (**84**). Пентасахарид (**84**) является активным компонентом антикоагулянтного препарата Idraparinux®, разработка которого была остановлена на фазе III клинических испытаний из-за обнаруженных побочных эффектов.

2В. Синтез крупных избирательно метилированных производных олигосахаридов, структурно родственных гепариноидам

Фрагменты цепей гепариноидов, более крупные, чем пентасахаридные, играют важную роль благодаря не только связыванию с АТIII, но и участию в ряде других биологических процессов. Например, антитромбиновая (анти-IIa)-активность проявляется олигосахаридами, содержащими не менее 14 моносахаридных звеньев [24], а для активации взаимодействия фактора роста фибробластов (FGF) со своими рецепторами (FGFR) необходимы лиганды, построенные из 10 и более моносахаридных звеньев [25]. Это обусловлено необходимостью взаимодействия углеводного лиганда сразу с двумя пространственно удаленными сайтами связывания в структуре белковых рецепторов. Так, антитромбиновая активность проявляется за счет образования тройного комплекса гепарин–АТIII–тромбин (IIa) [26]. В этом случае углеводная цепь должна содер-

жать два домена, связывающихся с белками (с АТIII и тромбином), и жесткий участок цепи оптимальной длины для соединения этих фрагментов.

Впервые синтез таких крупных метилированных миметиков гепарина (вплоть до 20-звенного олигосахарида) был осуществлен в 1998 г. [27]. Конвергентная схема синтеза исходила из легкодоступного дисахарида (**89**), который служил предшественником как для донорного блока (**90**), так и для акцептора (**91**) (схема 16). Сочетание олигосахаридов (**90**) и (**91**) позволило получить тетрасахарид (**92**). Дальнейшее последовательное присоединение дисахаридного блока (**90**) к гликозил-акцептору, полученному после избирательного удаления леволиноильной группы, приводило к удлинению углеводной цепи на два остатка. Полученная серия защищенных олигосахаридов переводилась в сульфатированные производные (**101**)–(**106**) по стандартной схеме, описанной выше, в результате чего, была синтезирована серия миметиков гепарина, содержащих от 12 до 20 моносахаридных остатков. Примечательно, что осуществленные реакции гликозилирования проходили α -стереоспецифично.

Антикоагулянтные свойства синтезированных миметиков (**101**)–(**106**) действительно были очень схожи с профилем активности для гепарина, что проявлялось в сочетании анти-Ха- и анти-IIa-активностей. Однако, более эффективного ингибирования тромбина IIa удалось достичь при использовании гексадекасахаридного производного (**107**), построенного из трех функционально различных частей [28]. На концах углеводной цепи располагаются два сульфатированных участка, ответственные за связывание с АТIII и IIa. Специфическая пентасахаридная последовательность, высокоэффективно связывающаяся с АТIII, располагается на восстанавливаемом конце олигосахарида.

Связывание с тромбином не строго зависит от структуры используемого олигосахарида, а определяется плотностью отрицательного заряда в определенных участках цепи. Так, в качестве полианионного фрагмента весьма эффективным оказался терминальный сполна сульфатированный мальто-триозный блок в составе гексадекасахарида (**107**). Его соединительный гептасахаридный фрагмент, жестко фиксирующий расстояние между участками связывания, построен из полностью метилированных глюкозных остатков. Отсутствие на нем заряда позволяет свести к минимуму свойственное гепарину взаимодействие с тромбоцитарным фактором PF4, вызывающее такой известный побочный эффект, как тромбоцитопения [29].

Ретросинтетический анализ структуры (**107**) (схема 17) позволил выявить три удобных исходных блока (**108**), (**109**) и (**110**) для сборки гексадекасахаридной цепи, синтеза которых были детально разработаны. На финальных стадиях получения целевого соединения (**107**) проводилось гликозилирова-

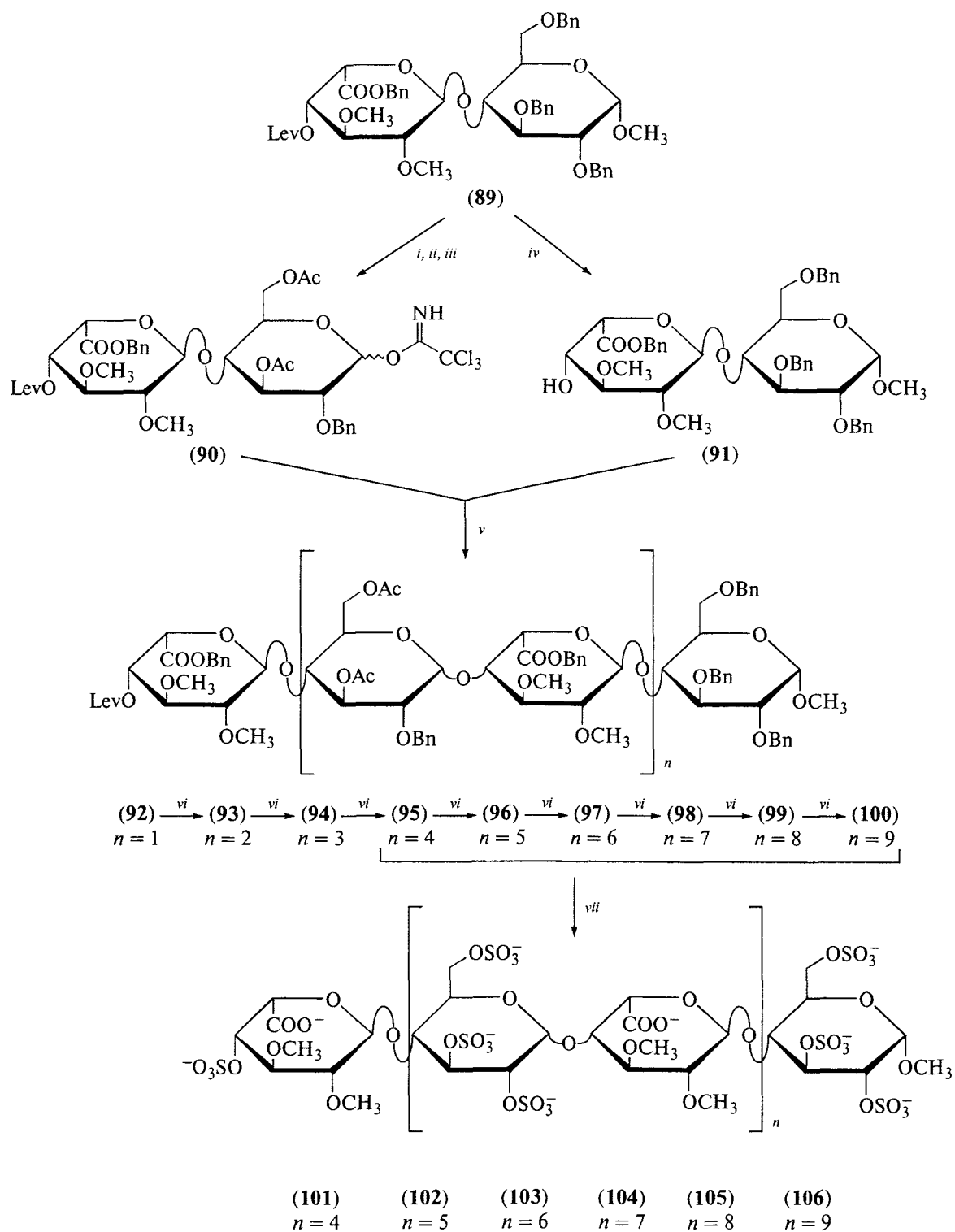


Схема 16. Получение крупных миметиков гепарина **(101)–(106)** [27]. Реагенты и условия: *i*: TFA/Ac₂O/AcOH, 60°C, 4ч, 67%; *ii*: HOCH₂CH₂NH₂, THF, 20°C, 74%; *iii*: CCl₃CN, K₂CO₃, CH₂Cl₂, 20°C, 94%; *iv*: 1M NH₂NH₂/H₂O в Py/AcOH, 91%; *v*: TBS-OTf, толуол, MS-4Å –20°C, 54%; *vi*: 1) **(90)**, TBS-OTf, толуол, MS-4Å –20°C 2) 1M NH₂NH₂/H₂O в Py/AcOH, ~60% на 2 стадии, *vii*: 1) H₂, 10% Pd/H, MeOH, 2) 0.5M NaOH, 5 ч, 3) Py·SO₃, DMF, 55°C, 24ч, 49–86% на 3 стадии.

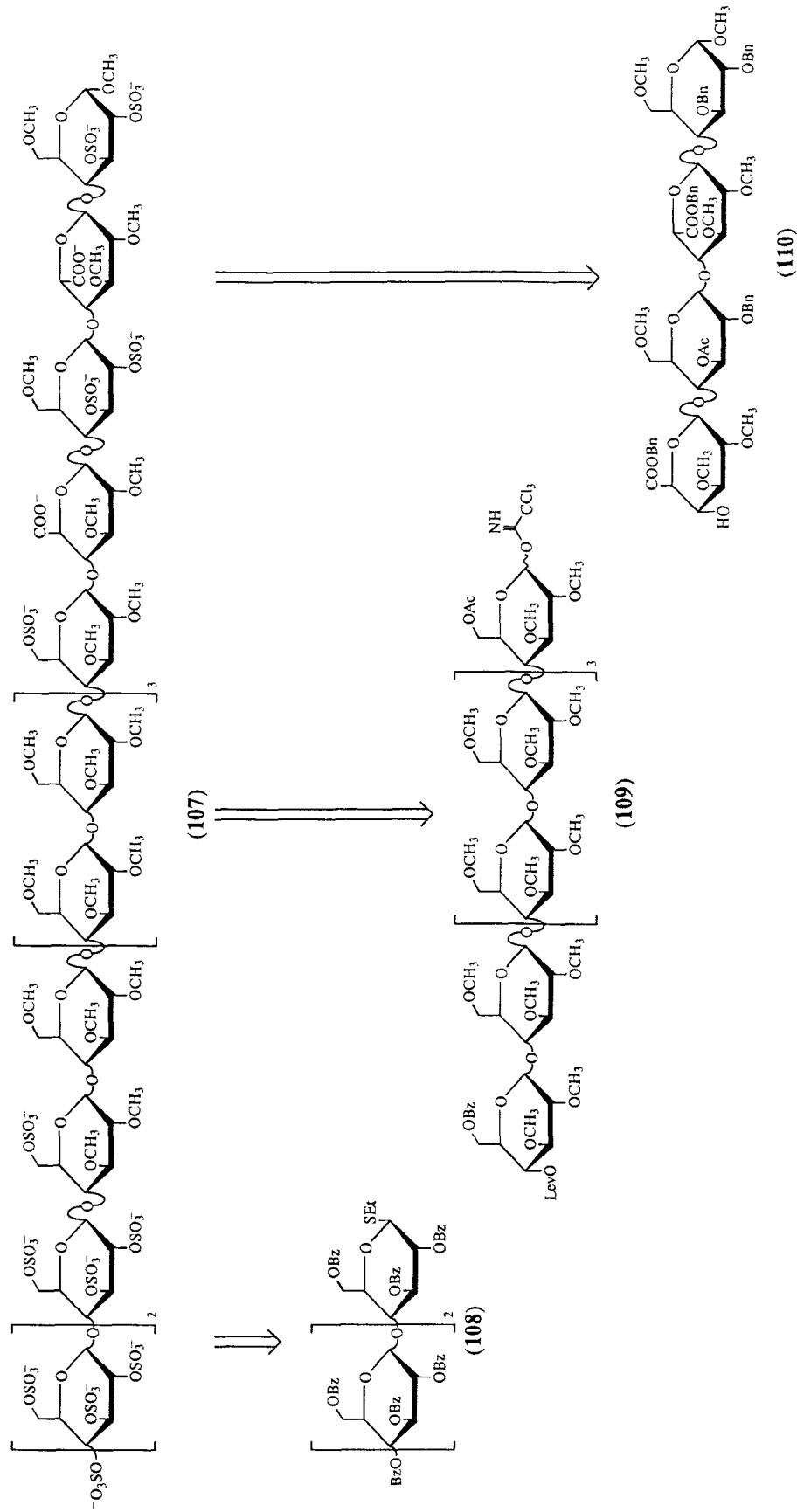


Схема 17. Ретросинтетический анализ гексадекасахарида (107) [21].

ние тетрасахаридного гликозил-акцептора (110), являющегося предшественником АТФ-связываемого фрагмента, трихлорацетимидатом (109) с образованием смеси α - и β -изомерных нонасахаридных продуктов в соотношении 85 : 15, которую разделяли хроматографически. Далее избирательно удаляли левулиноильную группу из концевого остатка глюкозы и гликозилировали тиогликозидом (108) с образованием исключительно β -изомерного продукта. Удаление в нём всех защитных групп и последующее сульфатирование приводили к желаемому гексадекасахариду (107).

Широкое использование метилированных олигосахаридов, миметиков гепарина, связано с достаточно точным воспроизведением геометрии цепи природных гепариноидов и со сравнительно простым синтезом, что открывает доступ к крупным синтетическим фрагментам (вплоть до 20-звенного олигосахаридов). Несмотря на проделанную титаническую работу по оптимизации условий превращений и значительные стратегические достижения, многостадийные синтезы такого рода соединений остаются исключительно трудоемкими задачами. Тем не менее, перспективность получаемых в результате продуктов для фармацевтического использования обосновывает целесообразность наработки их достаточно больших количеств (сотни грамм), необходимых для проведения доклинических исследований.

3. ВЫСОКОСУЛЬФАТИРОВАННЫЕ ОЛИГОСАХАРИДЫ КАК МИМЕТИКИ ГЕПАРИНОИДОВ

Помимо рассмотренных в предыдущих главах олигосахаридов, структурно родственных гликозаминогликанам, биологические свойства, характер-

ные для гепариноидов, проявляет также широкий круг высокосульфатированных полиолов, что позволяет рассматривать их в качестве миметиков. Особо перспективными для получения таких соединений часто оказываются доступные природные олигосахариды, которые подвергают химической модификации и сульфатированию [30]. Основной задачей при создании таких миметиков является поиск подходящих полигидроксильных матриц, дальнейшая функционализация (в том числе и сульфатирование) которых приводит к соединениям, комплементарным центрам связывания гепариноидов с белками-рецепторами. Однако во многих случаях существенные трудности при анализе таких взаимодействий связаны как с гетерогенностью изучаемых соединений, которая может быть вызвана неиндивидуальностью исходного материала, так и невозможностью осуществить исчерпывающее сульфатирование.

3А. Сульфатированный фосфоманнан PI-88 – ингибитор гепариназы

Миметик гепариноидов PI-88 (схема 18), проходящий в настоящее время клинические испытания в качестве противоопухолевого препарата, представляет собой смесь высоко-, но не полностью сульфатированных олигосахаридов [31, 32]. Его получают сульфатированием фракции фосфорилированных олигосахаридов (от ди- до гексасахаридов), образующихся при мягком кислотном гидролизе фосфоманнана, продуцируемого дрожжами *Pichia holstii*. Доминирующими компонентами продукта PI-88 (около 90% по весу) являются тетра- и пентасахариды, соединенные $\alpha 1 \rightarrow 3$ - и $\alpha 1 \rightarrow 2$ -связями. Остальные 10% смеси представлены ди-, три- и гексасахаридными компонентами.

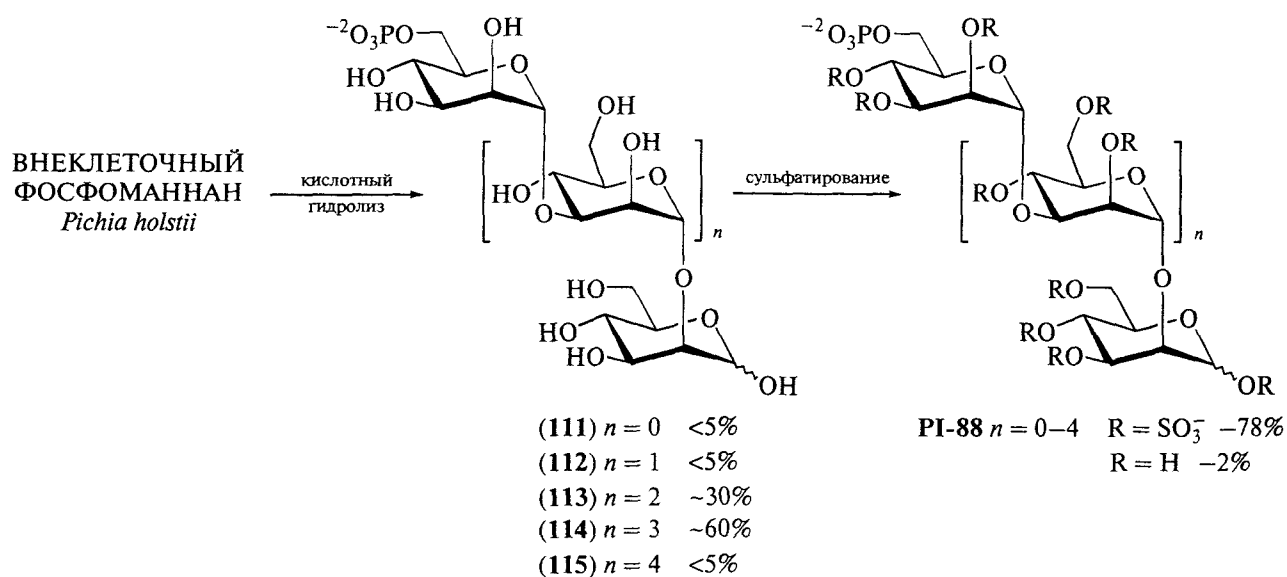


Схема 18. Получение миметика гепариноидов PI-88 [32].

Биологическое действие препарата PI-88 определяется его способностью блокировать действие гепараназы [33, 34]. Повышенная активность этого фермента способствует сбрасыванию раковых клеток в кровотоки, что приводит к формированию метастазов. Также, PI-88 является ингибитором ангиогенеза за счет взаимодействия с факторами роста (FGF-1, FGF-2, VEGF) и их рецепторами (FGFR) [34].

Отсутствие возможности препаративного разделения олигосахаридов (111)–(115) методами гель-проникающей хроматографии накладывало существенные ограничения на изучение взаимосвязи структуры и активности в ряду этих соединений. Из-за этого разработчики PI-88 были вынуждены синтезировать индивидуальные олигомеры (116)–(120) [35], в которых фосфатная группа была заменена на сульфатную, что не сказывалось на их биологической активности [35].

Для синтеза серии олигоманнозидов, аналогичных PI-88 и содержащих от двух до шести моносахаридных звеньев, Ферро и соавторы использовали стратегию, заключавшуюся в последовательном удлинении олигосахаридной цепи на один маннозный остаток (схема 19) [35]. Таким образом, синтез исходил из трех легко доступных защищенных моносахаридов: гликозил-акцептора (117), содержащего свободную OH-группу при C2, гликозил-донора (116), содержащего временную защиту при O3, а также сполна ацетилированного маннозил-донора (122), используемого при завершающем гликозилировании. Сочетание моносахаридов (116) и (117) в присутствии TMS-OTf приводило к дисахариду (118), в котором удаляли временную аллильную защиту при O3, а затем полученный акцептор гликозилировали моносахаридом (116) с образованием трисахаридов (119). Повторение стадий деблокирование-гликозилирование приводило к защищенным маннозидам, вплоть до гексасахаридов. Удаление всех защитных групп и последующее сульфатирование при повышенной температуре позволило получить всю серию олигосахаридов, представленных в PI-88. Следует особо отметить, что только дисахарид представлял собой сполна сульфатированное индивидуальное соединение, в остальных случаях наблюдалось образование хорошо воспроизводимой смеси высоко, но не полностью сульфатированных производных.

Получение синтетических производных, аналогов компонентов PI-88, проводили из соответствующих олигоманнозидов, содержащих 6-*O*-сульфо-группу в терминальном остатке на “невосстанавливаемом” конце олигосахаридной цепи. Для их синтеза использованы подходы, аналогичные показанному на схеме 20 синтезу моносульфатированного пентасахаридов (137), родственного PI-88. Для его получения была использована сборка цепи по схеме [3 + 2], основанной на использовании триса-

харидного гликозил-донора (132) и дисахаридного гликозил-акцептора (133) (схема 20) [36].

Синтез донора (132) проводили гликозилированием моногидроксильного производного (130) трихлорацетимидатом (129), в образующемся дисахариде аллильную группу при O-1 заменяли трихлорацетимидоильную и получали дисахаридный гликозил-донор (131). Гликозилирование им моносахарида (130) с образованием соответствующего трисахаридного продукта и последующая трансформация OAl OCNHCCl₃ приводили к ключевому гликозил-донору (132). Одновременно с этим проводили конденсацию моносахаридных производных (134) и (135) с последующим удалением 3-*O*-метоксибензильной группы в образующемся дисахариде и получали гликозил-акцептор (133) (схема 20). Гликозилирование последнего трисахаридом (132) при промотировании TMS-OTf протекало с выходом 72% и приводило к защищенному пентасахаридному продукту (136). В этом соединении избирательно удаляли ацетильную защиту при O6 концевых остатков, сульфатировали высвободившийся гидроксил и омывали все бензоильные группы, в результате чего был получен аналог PI-88 (137).

Альтернативный и весьма оригинальный подход к сборке подобной пентасахаридной цепи на примере синтеза пентасахаридов (144) был предложен Иадониси с соавторами в 2008 г. (схема 21) [37]. Это соединение было получено в три стадии с суммарным выходом 31% путём выполненных в одном реакционном сосуде (one-pot) двух последовательных гликозилирований гликозил-донорами (138) и (139), содержащими трихлорацетимидатную и *N*-фенилтрифторацетоимидатную уходящие группы, которые могут быть активированы избирательно.

Авторами работы [37] было найдено, что при использовании Yb(OTf)₃ селективно активировалась только трихлорацетимидоильная группа, а фенилтрифторацетимидоильная остаётся интактной. Благодаря этому, авторам удалось прогликозилировать моногидроксильный фенилтрифторацетоимидат (139) трихлорацетимидатом (138) с образованием дисахаридов (140), который не выделялся, а далее использовался в качестве гликозилирующего агента. Так, после завершения первого гликозилирования в реакционную смесь добавлялся акцептор (141) и более активный промотор Bi(OTf)₃, в результате чего образовывался трисахарид (142) с выходом 60%. В этом соединении далее удаляли аллильную защиту при O3 действием PdCl₂ в метаноле с образованием акцептора (143) (выход 92%), который затем вводили в реакцию с дисахаридом (140). В результате был получен пентасахарид (144) с выходом 56%.

Миметик гепарина PI-88 проходит заключительные стадии клинических испытаний под названием “Muparfostat” в качестве компонента комплексной терапии рака печени [38]. Данное лекар-

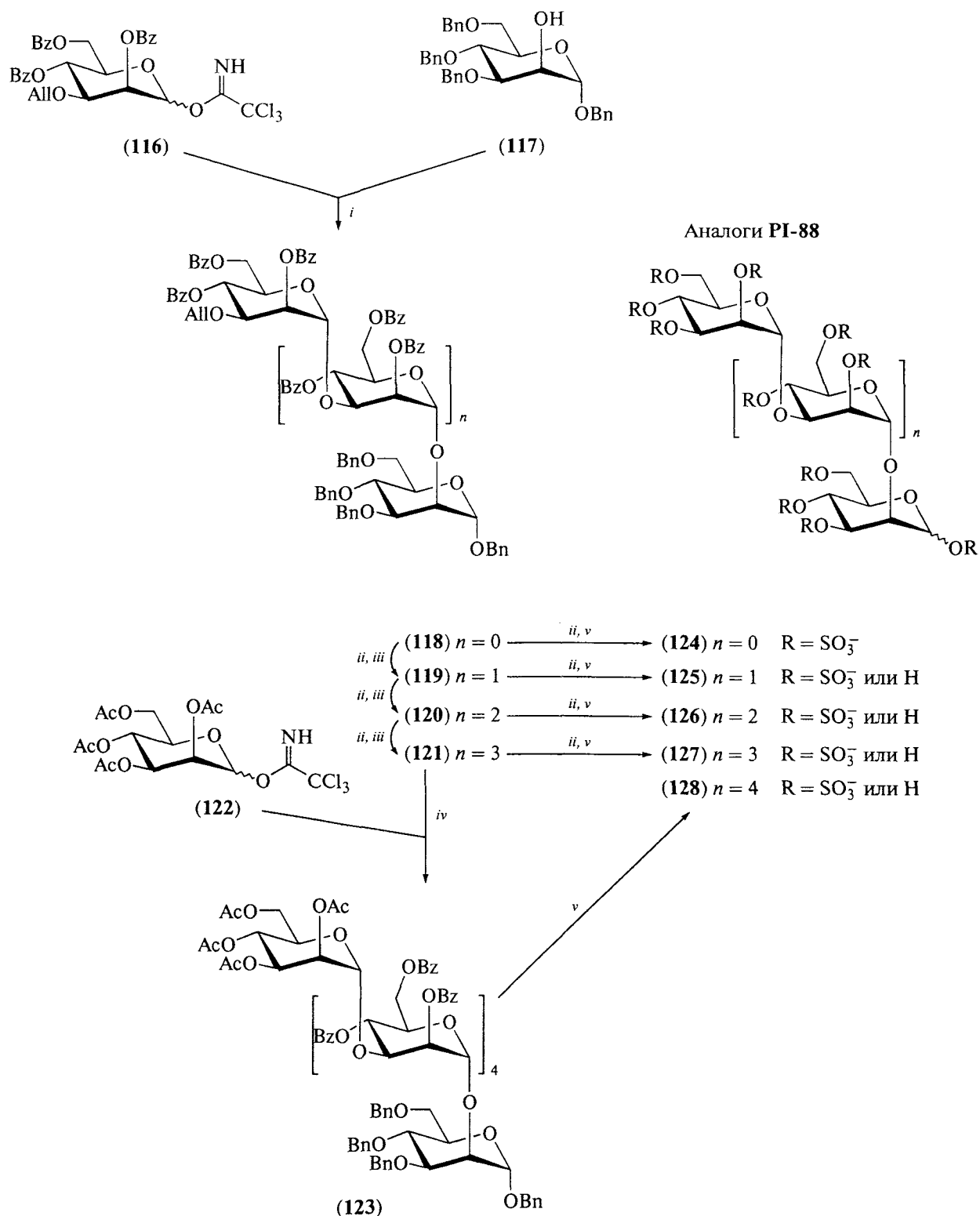


Схема 19. Синтез олигомеров PI-88 [35]. Реагенты и условия: *i*: TMS-OTf, CH₂Cl₂, 0°C, 10 мин., 84%; *ii*: PdCl₂, MeOH/CH₂Cl₂, 70°C, 40 мин., 64–91%; *iii*: (116), TMS-OTf, CH₂Cl₂, 0°C, 10 мин., 86–94%; *iv*: TMS-OTf, CH₂Cl₂, 0°C, 10 мин., 87%; *v*: 1) NaOMe, MeOH/THF, 20°C, 2) Pd(OH)₂/C, H₂, THF/H₂O/AcOH, 3 ч, 56–67% на 2 стадии, 3) Ru·SO₃, DMF, 60°C, 6 ч, затем NaOH, 40–50%.

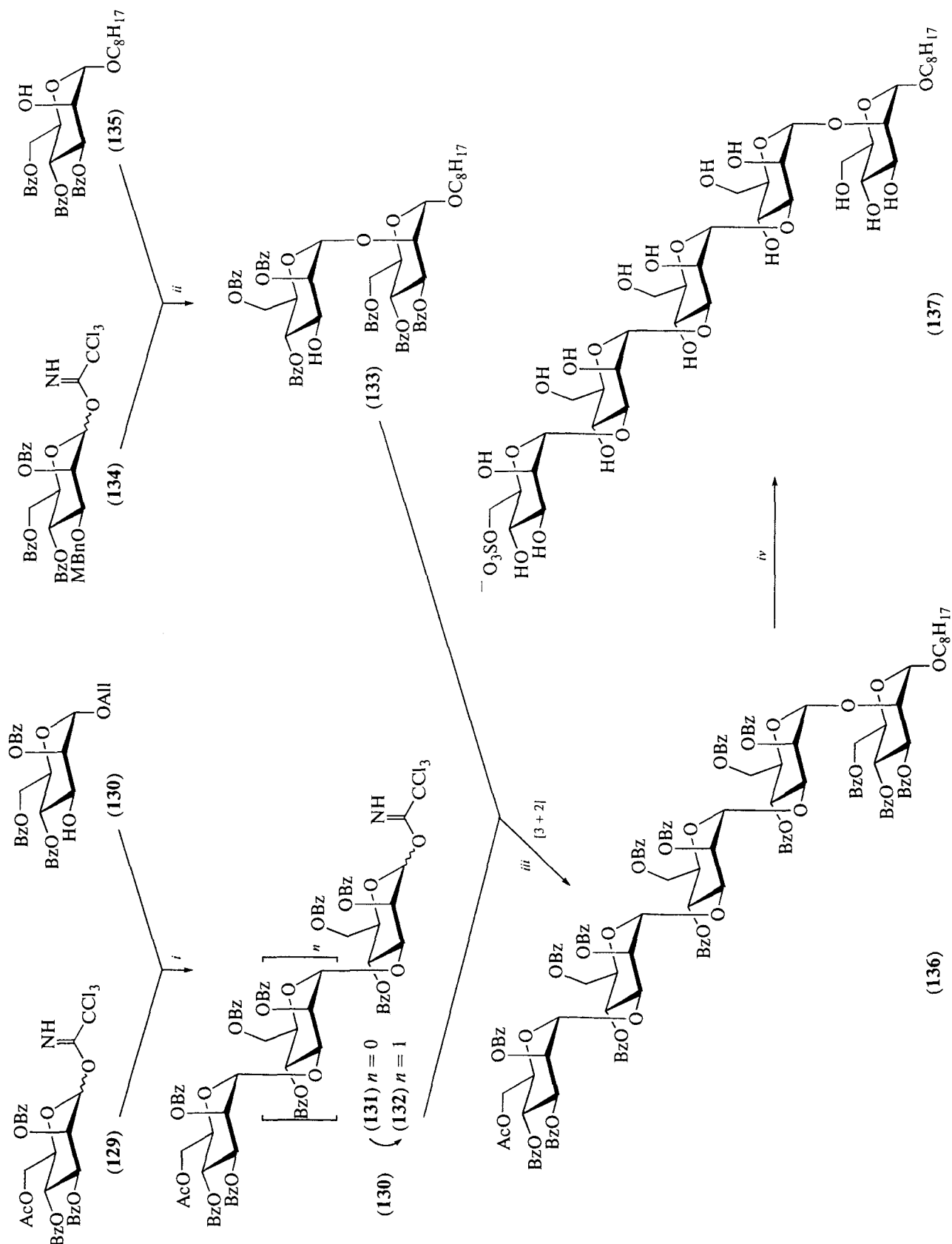


Схема 20. Синтез сульфатированного пентасакарида (137), родственного PI-88, по схеме [3 + 2] [36]. *i*: 1) TMS-OTf, CH₂Cl₂, 0°C, 10 мин., 89%; 2) PdCl₂, MeOH; 3) CCl₃CN, DBU 57–60% на 3 стадии; *ii*: 1) TMS-OTf, CH₂Cl₂, 0°C, 10 мин., 2) CAN, MeCN-толуол-вода, 73% на 2 стадии; *iii*: TMS-OTf, CH₂Cl₂, 0°C, 10 мин., 72%; *iv*: 1) 3% HCl, 1 : 1 MeOH-CH₂Cl₂, 93%, 2) Py · SO₃, Py, 91%, 3) NaOMe, MeOH 97%.

Г Реакция и условия: 6

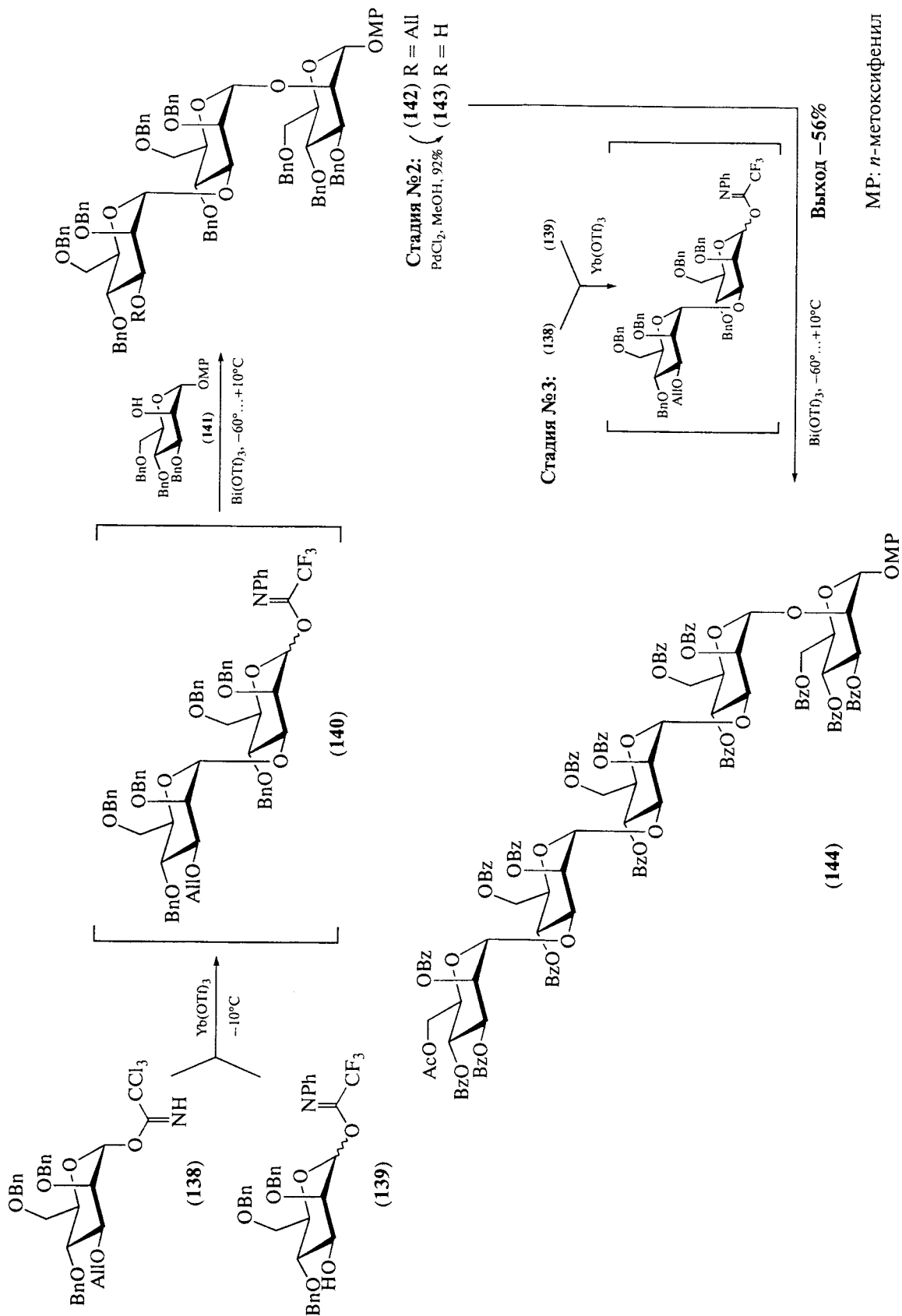


Схема 21. Трёхэтапный *one-pot*-синтез пентаманнозида (144) с использованием гликозил-доноров (138) и (139) [37]

ственное соединение ингибирует развитие ангиогенеза и гепараназную активность, что предотвращает образование метастазов.

3Б. Синтез сульфатированных олигосахаридов с противовирусной активностью

Гепарансульфаты на поверхности клеточных мембран играют важную роль в процессе распознавания вирусами (в том числе и ВИЧ) подходящих клеток хозяина [39, 40]. В связи с этим различные полианионные миметики гепарансульфата могут ингибировать первичную адсорбцию вируса на клеточной мембране, предотвращая тем самым протекание начального этапа заражения. Так, сульфатированные полисахариды, такие как декстрансульфат (DS), пентозан сульфат (НОЕ/ВАУ-946) и другие, проявляют способность ингибировать адгезию ВИЧ в тестах *in vitro* [41, 42]. Однако полимерный характер этих соединений накладывает существенные ограничения на возможность их практического использования в качестве лекарств. Во-первых, они характеризуются низкой биодоступностью, что связано с плохой адсорбцией и быстрой биодеструкцией полисахаридов рассматриваемого типа из-за слишком высокой гидрофильности. Во-вторых, их стандартизация и детальная структурная

характеристика крайне затруднены из-за нерегулярного расположения сульфатных групп.

В-третьих, полисульфаты могут проявлять нежелательную антикоагулянтную активность. Перечисленные недостатки требуют проведения поиска антивирусных препаратов среди низкомолекулярных соединений со строго определенным строением.

Так, например, Кунитом и сотрудниками была синтезирована серия сульфатированных производных циклодекстринов, содержащих липофильные группы, которые снижали нежелательную антикоагулянтную активность и увеличивали биодоступность полученных соединений [43, 44]. Наиболее перспективным кандидатом являлся модифицированный β-циклодекстрин (149) (схема 22) [44], синтез которого включал на начальной стадии силилирование наиболее пространственно доступных первичных ОН-групп в исходном (145) с дальнейшим избирательным 2-О-бензилированием в каждом глюкозном звене по методу Такео [45] действием смеси реагентов VnBr-VaO-Va(OH)₂ в DMF. В полученном производном (147) далее удаляли силильные защиты, после чего исчерпывающе сульфатировали при обработке комплексом Рy · SO₃ в Рy с образованием целевого продукта (145).

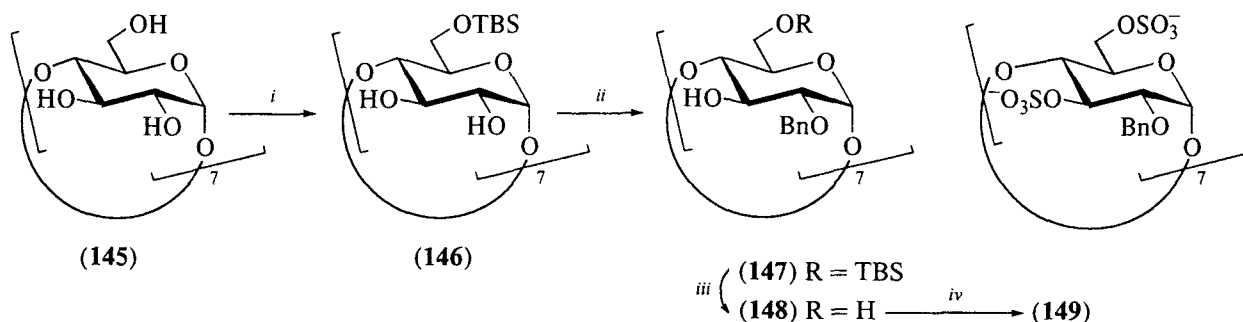


Схема 22. Синтез миметика гепарансульфата (149) на основе β-циклодекстрина [44]. Реагенты и условия: *i*: TBS-Cl, *ii*: VnBr, VaO-Va(OH)₂, DMF, *iii*: TBAF, THF, *iv*: Рy · SO₃, Рy.

Производное циклодекстрина (149) было изучено в тестах на анти-ВИЧ-активность с двумя разными образцами вирусов. Кроме этого были исследованы его антикоагулянтные и цитотоксические свойства, а также токсичность *in vivo*. На основании полученных данных соединение (149) было признано перспективным кандидатом для последующих испытаний.

Помимо циклических углеводов производных, ациклические олигосахариды, которые доступны из биологических источников, тоже используются для создания библиотек миметиков

гепариноидов с анти-ВИЧ-активностью. Например, исходя из индивидуальных олиго-(β1 → 3)-глюкозидов, содержащих от 5 до 9 моносахаридных звеньев и различающихся липофильным заместителем в аномерном положении восстанавливающего остатка, была синтезирована серия соответствующих сульфатированных производных [46, 47]. Последовательность реакций рассмотрена нами на примере получения додецилгликозида сульфопроизводного пентасахариды (152), являющегося одним из наиболее активных соединений исследованного типа (схема 23).

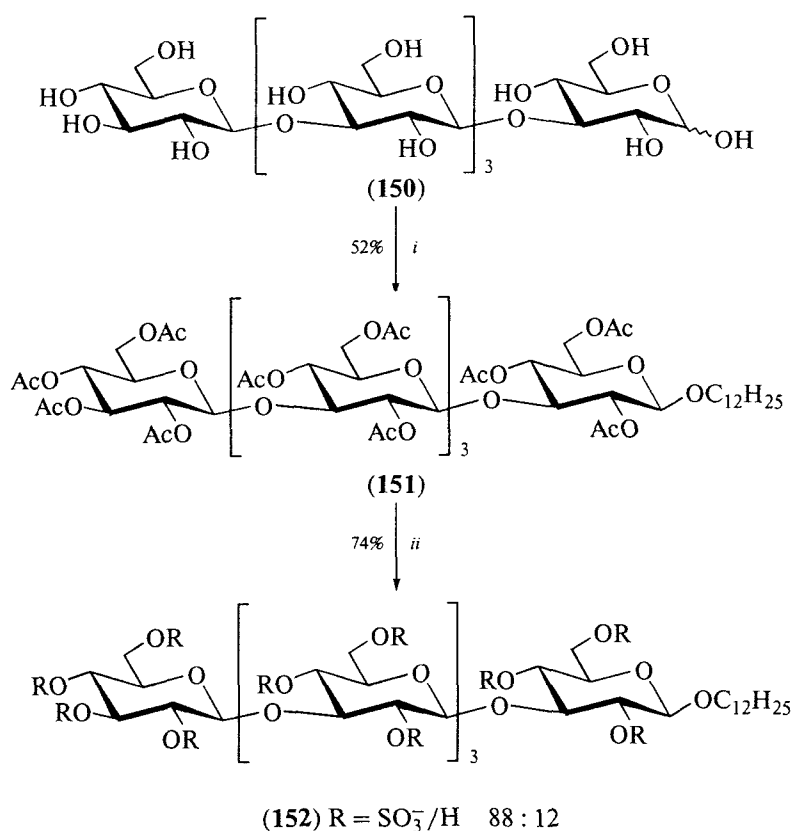


Схема 23. Синтез миметика гепарансульфата (152) из пентаглюкозида (150) [47].

Реагенты и условия: *i*: 1) Ac_2O , AcOK , 2) $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OH}$, SnCl_4 , 52% на 2 стадии, *ii*:

1) MeOH/MeONa , 2) $\text{Py} \cdot \text{SO}_3$, Py , 74% на 2 стадии.

На начальном этапе синтеза соединения (152) проводили ацетилирование пентасахарида (150) уксусным ангидридом в присутствии ацетата калия, необходимого для увеличения выхода более активного β -ацетата. Затем аномерную ацильную группу замещали на додецильную в присутствии кислоты Льюиса (SnCl_4). Дезацетилирование метилатом натрия в метаноле и последующее сульфатирование комплексом $\text{Py} \cdot \text{SO}_3$ приводили к целевому миметику (152). Следует отметить, что, несмотря на очень жесткие условия (85°C !), авторам не удалось достичь полного сульфатирования всех гидроксильных групп. Степень сульфатирования в пентасахариде (152) составляла 88%.

Полученный пентасахарид (152) обладал наиболее высокой анти-ВИЧ-активностью и наименьшей цитотоксичностью в ряду серии изученных родственных ему сульфатированных алкилгликозидов.

3В. Синтез сульфатированных олигосахаридов, обладающих антипролиферативной активностью

Повышенный интерес вызывает способность гепариноидов ингибировать пролиферацию клеток гладкой мускулатуры, важного процесса в форми-

ровании атеросклеротических повреждений и рестеноза. Несмотря на то, что до конца механизм этого процесса не изучен, было показано, что фрагмент гепарина, ответственный за антипролиферативное действие, принципиально отличается от его АТФ-связывающего домена, ответственного за антикоагулянтную активность [48]. Поэтому задачей исследователей было создание миметиков гепариноидов, менее сложных, чем гепарин, но способных селективно ингибировать рост клеток гладкой мускулатуры, не проявляя при этом высокой антикоагулянтной активности [49].

Наиболее близкий к структуре гепарина миметик (159) (схема 24), сравнимый по антипролиферативному действию с гепарином, представлял собой сульфатированную гексасахаридную цепь, построенную из чередующихся α - и β -(1 \rightarrow 4)-связанных *D*-глюкозных остатков [50]. Формально, такая структура аналогична гепариновой, с сохранением типов межмоносахаридных связей, но с заменой остатков глюкозамина и уроновых кислот на глюкозные. Синтез этого олигосахарида осуществлялся из доступных дисахаридных блоков: мальтозы и метил- β -мальтозида, которые переводили в гликозил-донорный и гликозил-акцепторный блоки (153) и

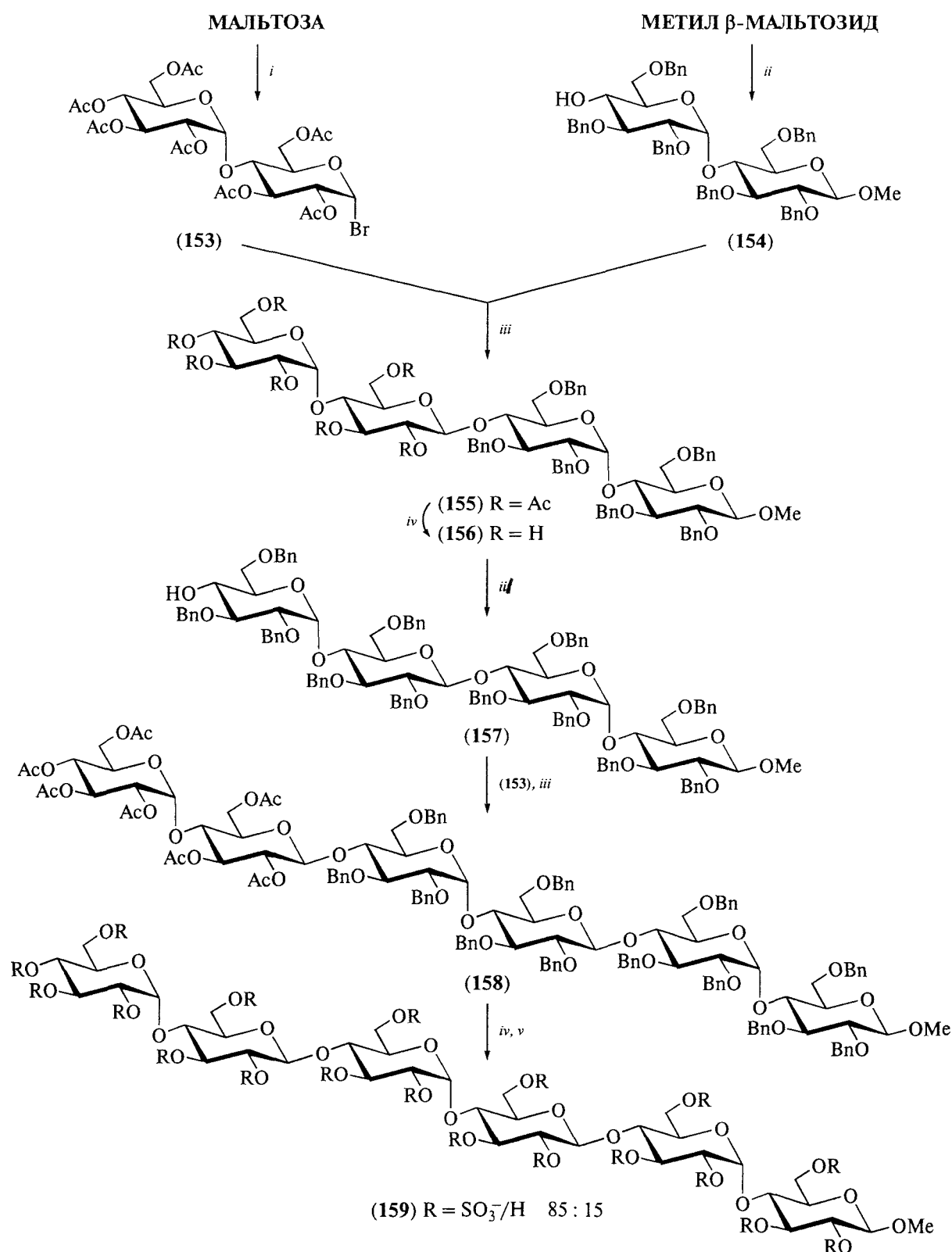


Схема 24. Синтез миметика гепарина (159) [50]. Реагенты и условия: *i*: 1) Ac₂O, Py, 2) HBr, Ac₂O, AcOH; *ii*: 1) PhCHO, ZnCl₂, 20°C, 18 ч., 2) NaH, DMSO, BnCl, 20°C, 3 ч, 3) NaBH₃CN, THF, HCl/Et₂O, 0°C, 1 ч., *iii*: AgOTf, Me₂NCONMe₂ CH₂Cl₂, 5 ч, 0 → 35°C, *iv*: NaOMe, MeOH, 20 °C, 16 ч, *v*: 1) H₂, 10 % Pd/C, 20°C 2) SO₃ · NMe₃, DMF, 3) NaOAc, H₂O.

(154) с использованием последовательности из двух-трёх достаточно очевидных синтетических стадий, показанных на схеме 24.

Далее проводили конденсацию соединений (153) и (154) с образованием тетрасахарида (155), в котором удаляли ацетильные заместители, вводили 4,6-бензилиденную группу и подвергали 2,3-дибензилированию. Полученный продукт вводили в реакцию региоизбирательного восстановительного раскрытия бензилидена с образованием гликозил-акцептора (157), содержащего свободную гидроксильную группу при C4, которую снова гликозилировали соединением (153), с образованием требуемого гексасахаридного продукта (158). Полученное после удаления всех защитных групп производное подвергали сульфатированию комплексом $\text{SO}_3 \cdot \text{NMe}_3$, однако, как и в предыдущих примерах, удалось получить только смесь частично сульфатированных производных (159).

Антипролиферативная активность синтезированного миметика гепарина (159), исследованная на клетках гладкой мускулатуры, достигала активности гепирина и гепарансульфата, в то время как его антикоагулянтная активность была значительно ниже, что важно для возможного практического использования.

Высокая антипролиферативная активность, сопоставимая с эффектом гепариноидов, была продемонстрирована и для серии сульфатированных олигосахаридов (160)–(165), структурно родственных полисульфату (159), но содержащих на конце олигосахаридной цепи α, α -трегалозный фрагмент (схема 25) [51–53]. Синтез указанных соединений был проведён из трегалозного гликозил-акцепторного блока (166) и гликозил-доноров (167)–(172). Для получения олигосахаридов с β -гликозидной связью использовались гликозил-доноры (167)–(169) с соучаствующим ацильным заместителем при O-2 [51], в то время как задача построения α -связи была успешно решена при использовании доноров (170)–(172) с несоучаствующими 2-*O*-бензильными группами и применении специальных условий промотирования реакций [53]. Указанные реагенты были выбраны на основании результатов проведенного ретросинтетического анализа (схема 25).

Для синтеза гликозил-акцепторного блока (166) α, α -трегалозу (173) переводили в бис-4,6-бензилиденное производное, после чего бензилировали свободные гидроксильные группы при C2, C2', C3 и C3' действием BnBr в присутствии NaH (схема 26). Далее необходимо было удалить только один бензилиден в симметричной молекуле. Это достигалось обработкой сполна защищенной молекулы (174) водной уксусной кислотой в течение 90 мин, после чего реакцию останавливали и выделяли 52% исходного соединения (174) и 34% необходимого продукта (175). Повторение этой стадии несколько раз позволило увеличить суммарный выход диола (175)

до 50%. Этот продукт далее избирательно 6-*O*-бензилировали через промежуточное образование оловоорганического интермедиата, что приводило к требуемому акцептору (166).

Гликозил-донорные блоки (170)–(172) синтезировали из глюкозы (176), мальтозы (177) или мальтотриозы (178), из которых сначала получали соответствующие ацетобромсахара (167)–(169) (схема 27) исчерпывающим ацетилированием и последующей обработкой раствором HBr в лед. уксусной кислоте. Полученные соединения переводили в аллил-гликозиды, дезацетилировали, исчерпывающе *O*-бензилировали, аллильную группу удаляли в присутствии PdCl_2 . Полученную смесь α - и β -ацеталей переводили в α -хлориды под действием оксалилхлорида, обрабатывали AgF и получали гликозилфториды (170)–(172).

Далее проводили α -стереоизбирательное гликозилирование фторидами (170)–(172) моногидроксильного производного (166) при промотировании Tf_2O в диэтиловом эфире (схема 28), которое протекало с хорошей стереоизбирательностью ($\alpha : \beta \sim 10 : 1$), но сравнительно низким ($\sim 30\%$) выходом целевых продуктов (179)–(181). В этих соединениях далее удаляли все защитные группы и сульфатировали, что протекало с эффективностью 75–90%.

Получение β -связанных три-, тетра- и пентасахаридов (160)–(162) представляло собой более простую задачу. Гликозилирование ацетобромсахарами (167)–(169) моногидроксильного производного (166) в присутствии AgOTf и тетраметилмочевины протекало с отличными выходами и исключительной β -стереоизбирательностью, что обеспечивалось наличием соучаствующего ацетильного заместителя при O2. Удаление всех защитных групп и *O*-сульфатирование при повышенной температуре приводили к желаемым продуктам (160)–(162). Однако, как и в прошлых примерах, авторам не удалось достичь исчерпывающего сульфатирования, эффективность которого снижалась при увеличении длины цепи, что объяснялось отталкиванием множественных отрицательно заряженных групп между собой.

Миметики гепарина, содержащие только α -гликозидные связи, были менее активны в исследованных биологических системах, чем содержащие β -гликозидную связь. Так, среди олигосахаридов (163)–(165) антипролиферативную активность, сравнимую с гепарином, демонстрировал только пентасахарид (165), в то время как среди соединений (160)–(162) уже трисахарид (160) имел некоторую активность, а тетрасахарид (161) был по активности, сопоставим с гепарином и являлся наименьшим по размеру аналогом, проявляющим активность этого типа [56].

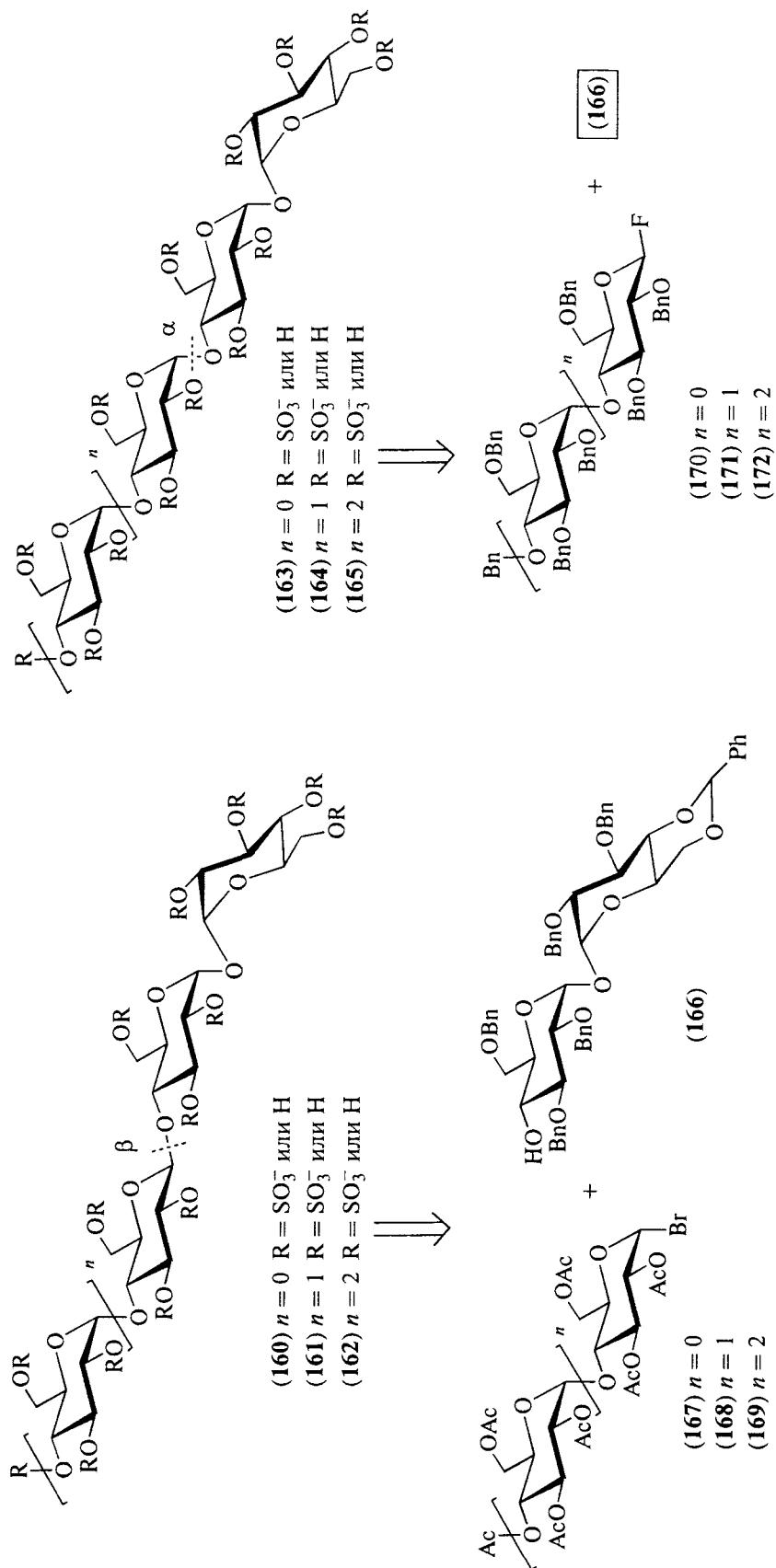


Схема 25. Ретросинтетический анализ миметиков гепарина, содержащих третагалоэный фрагмент [54].

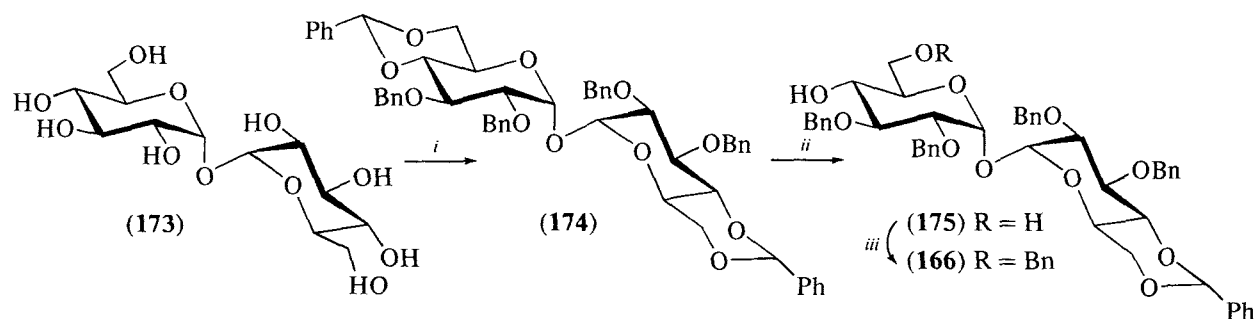


Схема 26. Синтез трегалозного акцептора (166) [52]. Реагенты и условия: *i*: 1) $\text{PhCH}(\text{OMe})_2$, TsOH , 2) BnBr , NaH ; *ii*: AcOH , H_2O ; *iii*: Bu_2SnO , BnBr , NBu_4Br , 30% на 3 стадии.

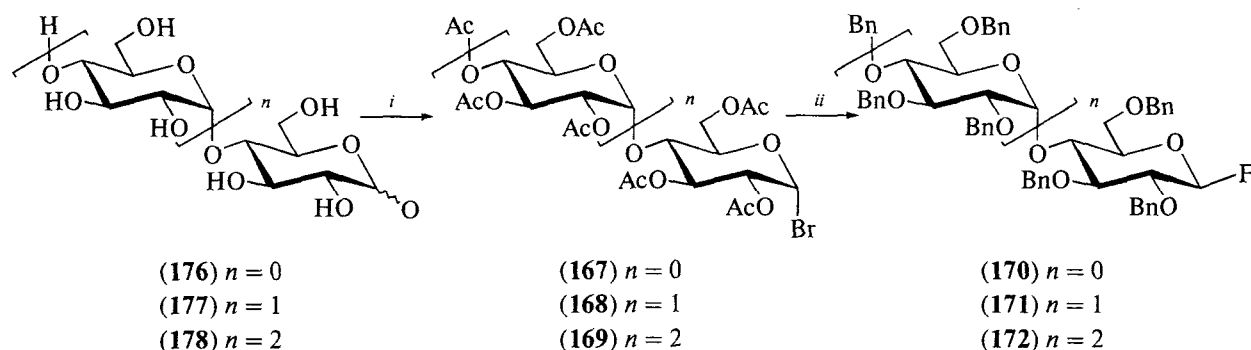


Схема 27. Синтез донорных блоков для синтеза миметиков гепарина, содержащих трегалозный фрагмент [52]. Реагенты и условия: *i*: 1) Ac_2O , Py , 2) HBr , AcOH , Ac_2O ; *ii*: 1) AlOH , $\text{Hg}(\text{CN})_2$, HgBr_2 , 2) MeONa , MeOH , 3) BnBr , NaH , DMF , 4) PdCl_2 , AcONa , AcOH (aq.), 5) $(\text{COCl})_2$, DMF , CH_2Cl_2 , 6) AgF , MeCN .

3Г. Олигомерные гликоконъюгаты на основе сульфатированных олигосахаридов

Описанные выше миметики гепарина со случайным распределением сульфатных групп мало перспективны для практического использования из-за трудности их стандартизации. Чтобы преодолеть этот недостаток, разрабатывались исчерпывающие сульфатированные гликоконъюгатные производные, в которых олигосахаридные фрагменты соединяли спейсерной группой [54]. Преимущество этих структур заключается в том, что нейтральный спейсер будет снижать взаимодействие между многочисленными отрицательно заряженными сульфатными группами, которое, как предполагали авторы, препятствует достижению исчерпывающего сульфатирования рассматриваемых производных. В их случае при использовании комплекса $\text{SO}_3 \cdot \text{Py}$ удавалось проводить исчерпывающее сульфатирование производных, если размер их углеводной части не превышал дисахарида [55, 56].

К этому типу соединений относится сульфатированный бисамид альдоновой кислоты (186) (схема 29), который предполагалось использовать в качестве антитромботического препарата [55, 56]. Его получали в четыре стадии из лактобионовой кислоты (185), которую сначала переводили в бисамид с 1,3-пропандиамином под действием катионита Lewatit-S-100, а затем подвергали исчерпывающему сульфатированию комплексом $\text{Py} \cdot \text{SO}_3$ с образованием гексадекасульфата (186). Это соединение проявляло относительно высокую антикоагулянтную активность, предположительно ингибируя тромбин в комплексе с гепарин кофактором II. Соединение (186) проходило фазу I клинических испытаний под зарегистрированным названием Апросулат®. Препарат был эффективен и хорошо переносился пациентами, но вызывал увеличение уровня трансаминазной активности [57], из-за чего его дальнейшая разработка была остановлена.

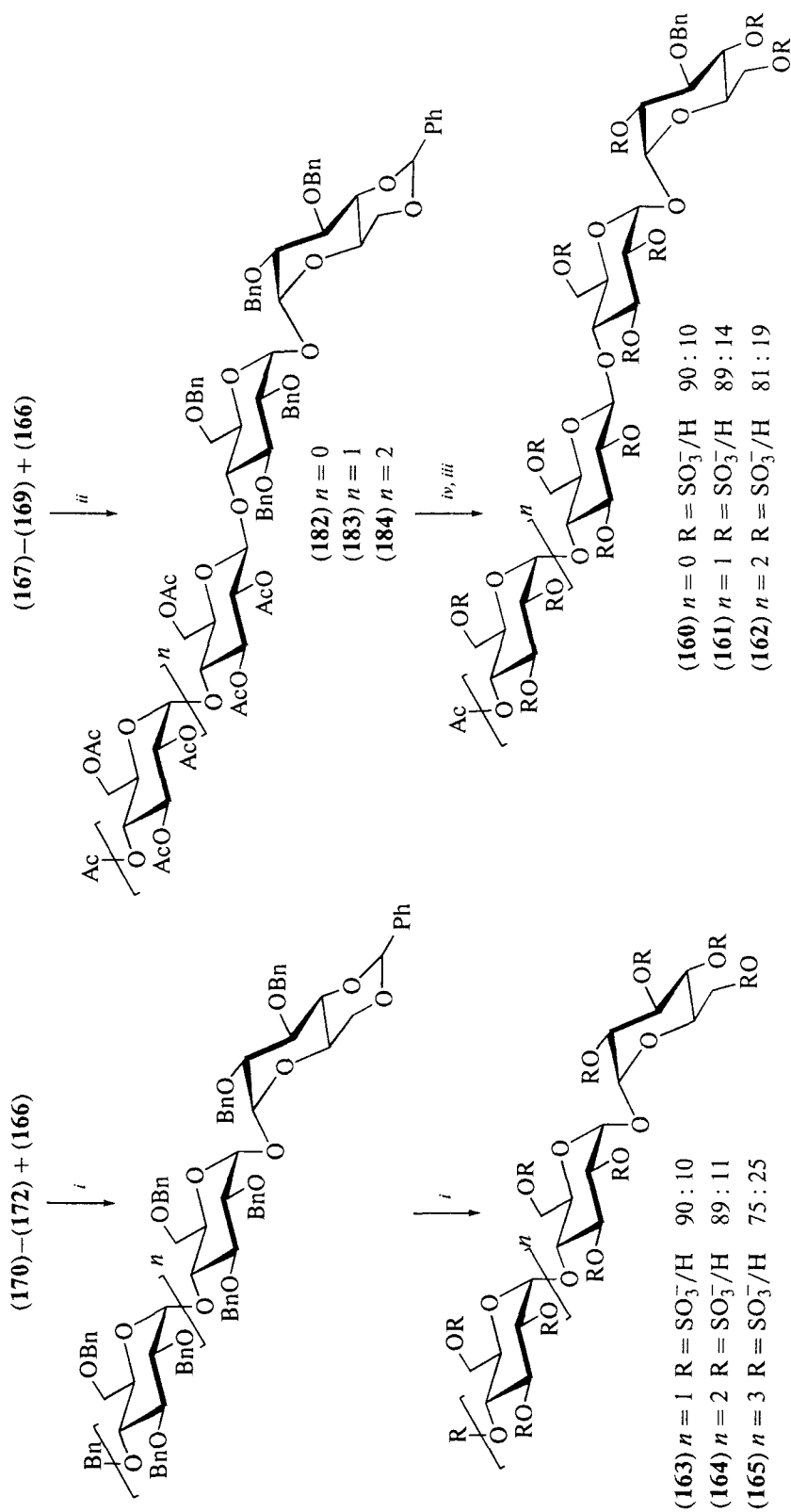


Схема 28. Синтез миметиков гепарина, содержащих трегалозный фрагмент [52]. Реагенты и условия: *i*: Tf₂O, Et₃O, MS 4Å, -20 → 20°C, 2 сут, 30–33%; *ii*: TfOAc, Me₂NCONMe₂, CH₂Cl₂ 0 → 20°C, 26 ч, 91%; *iii*: 1) H₂, Pd/C, EtOH/H₂O, 2 ч, 100%, 2) SO₃ · NMe₃, DMF, NaOAc, H₂O; 100%, 2) SO₃ · NaOMe, MeOH, 20°C, 30 мин, 99%.

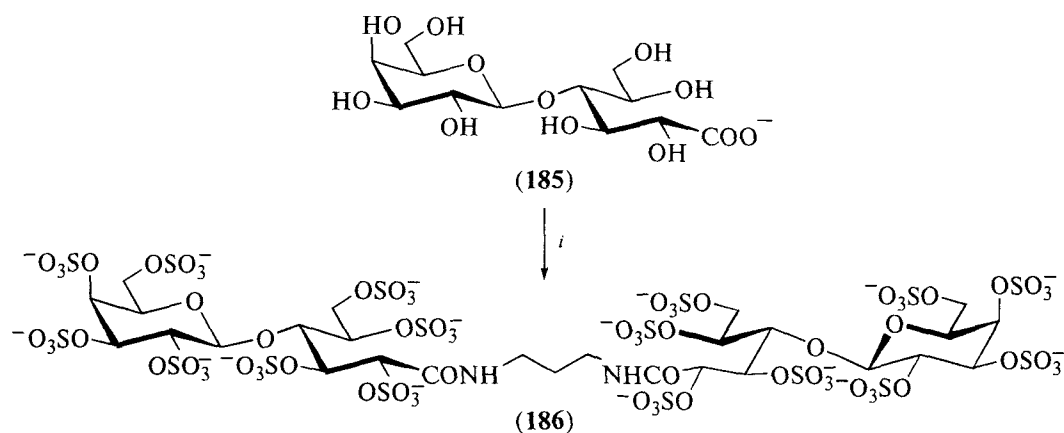


Схема 29. Синтез сполна *O*-сульфатированного гликоконъюгата Апросулата® (186) [54, 55].
Реагенты и условия: *i*: 1) Lewatit-S-100, 2) $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, DMF, 3) $\text{Py} \cdot \text{SO}_3$, 4) NaOH, 30% на 4 стадии.

3Д. Фукоолигосахариды, родственные фрагментам фукоиданов, как миметики гепариноидов

Среди высоко сульфатированных полисахаридов особый интерес вызывают фукоиданы, которые выделяют из бурых водорослей и некоторых морских беспозвоночных, прежде всего из морских ежей. Эти биополимеры построены, главным образом, из сульфатированных звеньев α -*L*-фукопиранозы. Полисахариды из водорослей значительно более доступны, чем из морских беспозвоночных, поэтому они представляют и больший практический интерес. Фукоиданы, как и гепариноиды, проявляют разнообразную биологическую активность: противовоспалительную, антикоагулянтную, противоопухолевую, антибактериальную [58-63]. Однако разработка терапевтических средств на их основе практически невозможна из-за высокой нерегулярности строения этих биополимеров, а также её зависимости от сезонных и климатических факторов при сборе биосырья, используемого для выделения фукоиданов.

Химический синтез фрагментов фукоиданов со строго определенной структурой дает модельные соединения для установления взаимосвязи структуры и свойств фукоиданов. Получение таких олигосахаридов, отвечающих различным структурным мотивам фукоиданов систематически изучается с середины 90-ых годов. Основные подходы к синтезу этих соединений были подробно описаны в недавнем обзоре [64]. Примеры синтезированных избирательно и исчерпывающе сульфатированных линейных и разветвленных олигофукозидов с различным характером соединения фукозных звеньев показаны на рис. 2. Следует отметить, что наиболее сложными вопросами при синтезе фукоолигосахаридов рассматриваемых типов являлись стереоизбирательность построения α -фукозидных связей,

получение избирательно и исчерпывающе сульфатированных олигосахаридов, а также их очистка и структурный анализ. Это потребовало разработки специальных методов, включая метод стереоконтроля ацильными заместителями при $\text{O}3$ и $\text{O}4$, обеспечивающих эффективное построение α -фукозидных связей [65, 66]. Кроме того, был также предложен специальный метод для проведения синтеза исчерпывающе сульфатированных олигосахаридов, использующий обработку комплексами аминов с SO_3 в присутствии сильных кислот [67, 68]. Указанные синтетические методы сделали возможным стерео- и регионаправленное получение олигофукозидов практически любого строения, в том числе содержащие остатки глюкуроновой кислоты [69].

В настоящее время нами проводятся детальные биологические исследования всех полученных соединений с целью выяснения структуры фармакофорных элементов фукоиданов. Полученные данные свидетельствуют о том, что тип сочленения фукозных остатков и характер их сульфатирования оказывают существенное влияние на профиль биологической активности. Так, в ряду показанных на рис. 2 высокосульфатированных олигосахаридов наблюдается возрастание антикоагулянтной активности с увеличением длины цепи. В то же время более короткие соединения обладают способностью ингибировать адгезию раковых клеток, развитие воспаления и другие типы биологической активности, данные о которых будут опубликованы после завершения исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный обзор научной литературы свидетельствует, что несмотря на высокую сложность сте-

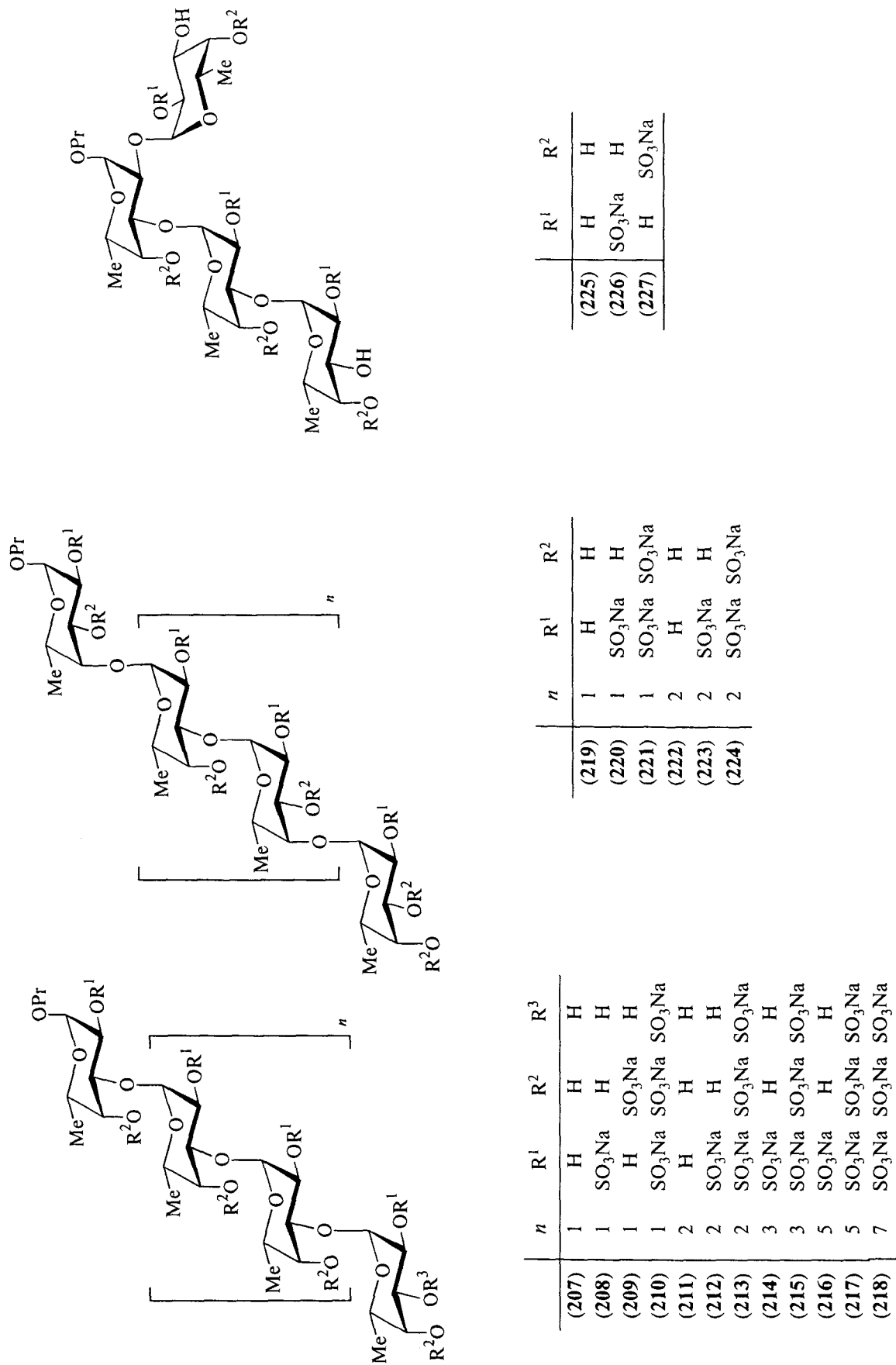


Рис. 2. Синтезированные избирательно сульфатированные олигосахариды, отвечающие структуре фукоиданов из бурых водорослей [64].

рео- и регионаправленного синтеза олигосахаридов, отвечающих фрагментам гепариноидов, а также их миметиков, область исследования такого рода соединений развивается достаточно активно. Это связано с их высокой биологической активностью и востребованностью при создании лекарственных препаратов, в том числе и новых типов действия. К настоящему времени лишь одно синтетическое производное гепарина (**12**) зарегистрировано в качестве лекарственного препарата — это антитромботическое средство Арикстра®. Ряд других миметиков гепариноидов находится на стадии клинических испытаний, а исследование физиологической активности некоторых аналогов гепарина было приостановлено из-за обнаруженных побочных действий. Поиск эффективных методов синтеза подобных структур, а также создания их активных и препаративно доступных миметиков с привлечением методов компьютерного дизайна образуют актуальные направления современных междисциплинарных исследований углеводов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят А.И. Усова (ИОХ РАН) и Н.В. Бовина (ИБХ РАН) за внимание к рукописи и ценные замечания, а также РФФИ (грант № 10-03-00980) за финансовую поддержку.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Melnikova I. // *Nature Rev. Drug Discovery*. 2009. V. 8. P. 353–354.
- Coombe D.R., Kett W.C. // *Cell. Mol. Life Sci.* 2005. V. 62. P. 410–424.
- Whitlock J.M., Lozzo R.V. // *Chem. Rev.*, 2005. V. 105. P. 2745–2764.
- Lever R., Page C.P. // *Nat. Rev. Drug Discovery*. 2002. V. 1. P. 140–148.
- Casu B. // *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 1985. V. 43. P. 51–134.
- Casu B., Oreste P., Torri G., Zoppetti G., Choay J., Lormeau J.C., Petitou M., Sinay P. // *Biochem. J.* 1981. V. 197. P. 599–609.
- Boeckel C.A.A., Petitou M. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1993. V. 32. P. 1671–1690.
- Yayona A., Klagsbrun M., Eskoc J.D., Leder P., Ornitz D.M. // *Cell*. 1991. V. 64. P. 841–848.
- Schlessinger J., Plotnikov A.N., Ibrahimi O.A., Eliseenkova A.V., Yeh B.K., Yayon A., Linhardt R.J., Mohammadi M. // *Mol. Cell*. 2000. V. 6. P. 743–750.
- Tatai J., Fugedi P. // *Tetrahedron*. 2008. V. 64. P. 9865–9873.
- Kakkar V.V., Kakkar S., Sanderson R.M., Peers C.E. // *Haemostasis*. 1986. V. 16. P. 19–24.
- Fareed J., Hoppensteadt D.A., Bick R.L. // *Semin. Thromb. Hemost.* 2000. V. 26. P. 5–22.
- Sinay P., Jacquinet J.-C., Petitou M., Duchaussoy P., Lederman I., Choay J., Torri G. // *Carbohydr. Res.* 1984. V. 132. P. C5–C9.
- Boeckel C.A.A., Beetz T., Vos J.N., Jong A.J.M., Aelst S.F., Bosch R.H., Mertens J.M.R., Vlugt F.A. // *J. Carbohydr. Chem.* 1985. V. 4. P. 293–321.
- Petitou M., Duchaussoy P., Lederman I., Choay J., Jacquinet J.-C., Sinay P. // *Carbohydr. Res.* 1987. V. 167. P. 67–75.
- Petitou M., Jaurand G., Derrien M., Duchaussoy P., Choay J. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1991. V. 1. P. 95–98.
- Bauer K.A., Hawkins D.W., Peters P.C., Petitou M., Herbert J.M., Boeckel C.A., Meuleman D.G. // *Cardiovasc Drug Rev.* 2002. V. 20. P. 37–52.
- Polat T., Chi-Huey Wong // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. V. 129. P. 12795–12800.
- Orgueira H.A., Bartolozzi A., Schell P., Litjens R.E.J.N., Palmacci E.R., Seeberger P.H. // *Chem. Eur. J.* 2003. V. 9. P. 140–169.
- Baleux F., Loureiro-Morais L., Hersant Y., Clayette P., Arenzana-Seisdedos F., Bonnaffé D., Lortat-Jacob H. // *Nature Chemical Biology*. 2009. V. 5. P. 743–748.
- Petitou M., Boeckel C.A.A. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2004. V. 43. P. 3118–3133.
- Basten J., Jaurand G., Olde-Hanter B., Duchaussoy P., Petitou M., Boeckel C.A.A. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1992. V. 2. P. 905–910.
- Westerduina P., Boeckela C.A.A., Bastena J.E.M., Broekhoven M.A., Lucasa H., Rooda A., Heijdena H., Amsterdam R.G.M., Dinther T.G., Meulemanb D.G., Visserb A., Vogelb G.M.T., Dammc J.B.L., Overklift G.T. // *Bioorg. Med. Chem.* 1994. V. 2. P. 1267–1280.
- Petitou M., Imbert A., Duchaussoy P., Driguez P.-A., Ceccato M.-L., Gourvenec F., Sizun P., Héroult J.-P., Pérez S., Herbert J.-M. // *Chem. Eur. J.* 2001. V. 7. P. 858–873.
- Maccarana M., Casu B., Lindahl U. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 23898–23905.
- Johnson D.J.D., Langdown J., Wei Li, Luis S.A., Baglin T.P., Huntington J.A. // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. P. 35478–35486.
- Petitou M., Duchaussoy P., Driguez P.-A., Jaurand G., Héroult J.-P., Lormeau J.-C., Boeckel C.A.A., Herbert J.-M. // *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998. V. 37. P. 3009–3014.
- Dreef-Tromp C.M., Basten J.E.M., Broekhoven M.A., Dinther T.G., Petitou M., Boeckel C.A.A. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998. V. 8. P. 2081–2086.
- Kelton J.G., Smith J.W., Warkentin T.E., Hayward C.P., Denomme G.A., Horsewood P. // *Blood*. 1994. V. 83. P. 3232–3239.
- Wall D., Douglas S., Ferro V., Cowden W., Parish C. // *Thrombosis Res.* 2001. V. 103. P. 325–335.
- Ferro V., Fewings K., Palermo M.C., Li C. // *Carbohydr. Res.* 2001. V. 332. P. 183–189.
- Ferro V., Li C., Fewings K., Palermo M.C., Linhardt R.J., Toidac T. // *Carbohydr. Res.* 2002. V. 337. P. 139–146.
- McKenzie E.A. // *Br. J. Pharmacol.* 2007. V. 151. P. 1–14.
- Cochran S., Li C., Fairweather J.K., Kett W.C., Coombe D.R., Ferro V. // *J. Med. Chem.*, 2003. V. 46. P. 4601–4608.
- Fairweather J.K., Hammond E., Johnstone K.D., Ferro V. // *Bioorg. Med. Chem.* 2008. V. 16. P. 699–709.
- Guofeng Gu, Guohua Wei, Yuguo Du // *Carbohydr. Res.* 2004. V. 339. P. 1155–1162.

37. Valerio S., Pastore A., Adinolfi M., Iadonisi A. // *J. Org. Chem.* 2008. V. 73. P. 4496–4503.
38. Gandhi N.S., Mancera R.L. // *Drug. Disc. Tod.* 2010. V. 15. P. 1058–1069.
39. Endress T., Lampe M., Briggs J.A.G., Kräusslich H.-G., Bräuchle C., Müller B., Lamb D.C. // *Eur. Biophys. J.* 2008. V. 37. P. 1291–1301.
40. Rider Ch.C., Coombe D.R., Harrop H.A., Hounsell E.F., Bauer Ch., Feeney J., Mulloy B., Mahmood N., Hay A., Parish Ch.R. // *Biochemistry*, 1994. V. 33. P. 6974–6980.
41. Ito M., Baba M., Sato A., Pauwels R., Clercq E., Shigeta Sh. // *Antiviral Res.*, 1987. V. 7. P. 361–367.
42. Biesert L., Suhartono H., Winkler I., Meichsner Ch., Helsing M., Hewlett G., Klimetzek V., Mölling K., Schlumberger H.-D., Schrinner E., Brede H.-D., Rüb-samen-Waigmann H. // *AIDS*. 1988. V. 2. P. 449–457.
43. Moriya T., Kurita H., Matsumoto K., Otake T., Mori H., Morimoto M., Ueba N., Kunita N. // *J. Med. Chem.* 1991. V. 34. P. 2301–2304.
44. Moriya T., Saito K., Kurita H., Matsumoto K., Otake T., Mori H., Morimoto M., Ueba N., Kunita N. // *J. Med. Chem.* 1993. V. 36. P. 1674–1677.
45. Takeo K., Mitoha H., Uemura K. // *Carbohydr. Res.* 1989. V. 187. P. 203–221.
46. Katsuraya K., Shoji T., Inazawa K., Nakashima H., Yamamoto N., Uryu T. // *Macromolecules*. 1994. V. 27. P. 6695–6699.
47. Katsuraya K., Nakashima H., Yamamoto N., Uryu T. // *Carbohydr. Res.* 1999. V. 315. P. 234–242.
48. Guyton J.R., Rosenberg R.D., Clowes A.W., Karnovsky M.J. // *Circ. Res.* 1980. V. 46. P. 625–634.
49. Wessel H.P., Chucholowski A., Fingerle J., Iberg N., Makki H.P., Pech M., Pfister-Downar M., Rouge M., Schmid G., Tschopp T. // *Carbohydrate mimics: concepts and methods* / Weinheim: Wiley-VCH, 1998, P. 417–431.
50. Wessel H.P., Minder R., Englert G. // *J. Carbohydr. Chem.*, 1995. V. 14. P. 1101–1115.
51. Wessel H.P., Niggemann J. // *J. Carbohydr. Chem.* 1995. V. 14. P. 1089–1100.
52. Wessel H.P., Englert G., Stangier P. // *Helv. Chim. Acta.* 1991. V. 74. P. 682–696.
53. Wessel H.P., B. Mayer, Englert G. // *Carbohydr. Res.* 1993. V. 242. P. 141–151.
54. Wessel H.P. // *Topics in Current Chemistry*. 1997. V. 187. P. 215–238.
55. Sugidachia A., Asaia F., Koikea H. // *Thrombosis Res.* 1993. V. 69. P. 71–80.
56. Ofosu F.A., Fareed J., Smith L.M., Anvari N., Hoppensteadt D., Blajchman M.A. // *Eur J Biochem.* 1992. V. 203. P. 121–125.
57. Papoulias U.E., Wyld P.J., Haas S., Stemberger A., Jeske W., Hoppensteadt D., Kämmerleit A. // *Thromb Res.* 1993. V. 72. P. 99–108.
58. Berteau O., Mulloy B. // *Glycobiology*. 2003. V. 13. P. 29R–40R.
59. Mourau P.A.S. // *Curr. Pharm. Des.* 2004. V. P. 964–981.
60. Pomin V. // *Biopolymers*. 2009. V. 91. P. 601–609.
61. Usov A.I., Bilan M.I. // *Russ. Chem. Rev.* 2009. V. 78. P. 785–799.
62. Cumashi A., Ushakova N., Preobrazhenskaya M., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L., Tinari N., Morozovich G., Berman A., Bilan M., Usov A., Ustyuzhanina N., Grachev A., Sanderson C., Kelly M., Rabinovich G., Iacobelli S., Nifantiev N. // *Glycobiology*. 2007. V. 17. P. 541–552.
63. Croci D.O., Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., Piccoli A., Totani L., Ustyuzhanina N.E., Bilan M.I., Usov A.I., Grachev A.A., Morozovich G.E., Berman A.E., Sanderson C.J., Kelly M., Di Gregorio P., Rossi C., Tinari N., Iacobelli S., Rabinovich G.A., Nifantiev N.E. // *PLoS ONE*. 2011. V.6. e17283. doi:10.1371/journal.pone.0017283.
64. Ustyuzhanina N.E., Krylov V.B., Usov A.I., Nifantiev N.E. // *Progress in the synthesis of complex carbohydrate chains of plant and microbial polysaccharides* / Ed. N.E. Nifantiev, Transworld Research Network, Kerala, India, ISBN 978-81-7895-424-0; 2009. P. 131–154.
65. Ustyuzhanina N.E., Krylov V.B., Grachev A.A., Nifantiev N.E. // *Synthesis*. 2006. V. 23. P. 4017–4031.
66. Ustyuzhanina N., Komarova B., Zlotina N., Krylov V., Gerbst A., Tsvetkov Y., Nifantiev N. // *SynLett*. 2006. P. 921–923.
67. Krylov V.B., Ustyuzhanina N.E., Grachev A.A., Nifantiev N.E. // *Tetrahedron Lett.* 2008. V. 49. P. 5877–5879.
68. Krylov V.B., Kaskova Z.M., Vinnitskiy D.Z., Ustyuzhanina N.E., Grachev A.A., Chizhov A.O., Nifantiev N.E. // *Carbohydr. Res.* 2011. V. 346. P. 540–550.
69. Zlotina N.S., Ustyuzhanina N.E., Grachev A.A., Gerbst A.G., Nifantiev N.E. // *J. Carbohydr. Chem.* 2008. V. 27. P. 429–445.

Synthesis of Low Molecular Weight Mimetics of Heparin

V. B. Krylov, N. E. Ustyuzhanina, and N. E. Nifantiev*

*Phone/fax: +7(495)1358784; e-mail: nen@ioc.ac.ru

N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninsky prospect 47, Moscow, 119991 Russia

Natural hexosaminoglycan heparin remains the most commonly prescribed anticoagulant in hospitalized patients. However its administration could induce side clinical events, including thrombocytopenia and bleeding. This explains the need of development of alternative anticoagulant drugs based on modified heparin and polyanionic oligo- and polysaccharide derivatives, such as sulfated glucans, phosphomannans and fucoidans. Here we review the works on the synthesis of oligosaccharides related to low molecular weight heparin fragments and their derivatives, as well as oligosaccharides, which imitate parts of heparin chain responsible for biological activity. These works were aimed to develop the pharmaceutical preparations lacking of heparin disadvantages.

Keywords: carbohydrate, hexosaminoglycan, heparin, anticoagulant, heparin mimetic.