



УДК

## КОНЪЮГАТЫ ЦИКЛООЛИГОСАХАРИДНЫХ МАТРИЦ С УГЛЕВОДНЫМИ ЛИГАНДАМИ: МЕТОДЫ СИНТЕЗА И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ЛЕКТИНАМИ

© 2013 г. Д. В. Титов, М. Л. Генинг, Ю. Е. Цветков, Н. Э. Нифантьев<sup>#</sup>

ФГБУН Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН,

119991, Москва, Ленинский проспект, 47

Поступила в редакцию 12.02.2013 г. Принята к печати 18.03.2013 г.

В обзоре рассмотрены основные методы получения моно- и олигодентатных гликоконъюгатов на основе циклодекстриновых и циклоолиго- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-*D*-глюкозаминовых матриц. Обсуждаются данные по биологической активности гликоконъюгатов на примере их взаимодействия с углеводсвязывающими белками – лектинами.

*Ключевые слова:* циклодекстрины, циклоолиго- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-*D*-глюкозамины, гликоконъюгаты, лектины, гликозидный кластерный эффект, мультивалентность, биологическая активность.

DOI: 10.7868/S013234231305014X

### СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение
2. Гликоконъюгаты на основе циклодекстриновых матриц, полученные с помощью реакции нуклеофильного замещения
3. Гликоконъюгаты на основе циклодекстриновых матриц, полученные по реакции ацилирования аминов и спиртов изотиоцианатами
4. Гликоконъюгаты на основе циклодекстриновых и циклоолиго-(1  $\rightarrow$  6)- $\beta$ -*D*-глюкозаминовых матриц, полученные с помощью реакции *N*- или *O*-ацилирования
5. Гликоконъюгаты на основе циклодекстриновых и циклоолиго-(1  $\rightarrow$  6)- $\beta$ -*D*-глюкозамино-

- вых матриц, полученные с помощью реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения
6. Другие методы получения гликоконъюгатов на основе циклодекстриновых матриц
7. Заключение
8. Список литературы

### ВВЕДЕНИЕ

Углевод-белковые взаимодействия определяют ход многих биологических процессов [1, 2], происходящих на поверхности практически всех клеток [3–5]. Селективное распознавание углеводных лигандов углеводсвязывающими белками (лектинами), является неотъемлемой частью та-

Сокращения: НМРТА – гексаметилфосфортриамид; ASF – асиалофетуин; CD – циклодекстрин; DABCO – 1,4-дизабицикло[2.2.2]октан; DIC – *N,N'*-диизопропилкарбодиимид; DMPU – 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2(1*H*)-пиримидинон; DTE – 1,4-димеркаптобутан-2,3-диол; EDAC – гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида; ELISA – иммуноферментный анализ; ELLA – лектин-ферментный анализ; НВТУ-ВF<sub>4</sub> – тетрафторборат *O*-бензотриазол-1-ил *N,N,N',N'*-тетраметилмочевины; НИА – тест ингибирования гемагглютинации эритроцитов; НОВТ – 1-гидроксibenзотриазол; IC<sub>50</sub> – концентрация 50%-ного ингибирования; ИТС – изотермическое калориметрическое титрование; LPS – липополисахарид; MALDI – матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация; MS – масс-спектрометрия; MSNT – 1-мезителенсульфонил-3-нитро-1,2,4-триазол; Py – пиридин; Py-BOP – гексафторфосфат бензотриазол-1-илокси-трипирролидинофосфония; SPR – поверхностный плазмонный резонанс; Sugar – остаток углевода; Tf – трифторметилсульфонил; TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли  $\alpha$ ; UDP-Gal – уридиндифосфатгалактоза;  $\mu$ W – микроволновое излучение. Сокращенные названия лектинов и их углеводная специфичность: ConA – лектин конканавалин А из *Canavalia ensiformis* (канавалия мечевидная, конский боб), специфичен к маннозе и глюкозе; ECoL – лектин из *Erythrina corallodendron* (эритрина коралловое дерево), специфичен к галактозе; GSI – лектин из *Griffonia simplicifolia* I (гриффония простолитная), специфичен к галактозе; KbcWL – лектин из дрожжей *Kluyveromyces bulgaricus*, специфичен к галактозе; LcH – лектин из *Lens culinaris* (чечевица обыкновенная), специфичен к маннозе, глюкозе и фукозе; LecA – лектин из *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка), специфичен к галактозе; PNA – лектин из *Arachis hypogea* (арахис), специфичен к галактозе; PSA – лектин из *Pisum sativum* (горох), специфичен к маннозе и глюкозе; VAA – лектин из *Viscum album* (белая омела), специфичен к галактозе; WGA – лектин из проростков семян *Triticum vulgare* (пшеница), специфичен к *N*-ацетилглюкозамину и сиаловой кислоте.

<sup>#</sup> Автор для связи (тел.: +7 (499) 135-87-84; эл. почта: nen@ioc.ac.ru).

ких процессов, как эмбриогенез, метастазирование раковых опухолей, воспаление, бактериальное и вирусное инфицирование и многих других [6, 7]. Однако само по себе взаимодействие олигосахаридных лигандов с лектинами является слабым (значения  $K_d$   $10^{-6}$ – $10^{-3}$  М) [8]. Природа компенсирует низкую эффективность единичных взаимодействий путем увеличения их количества за счет кластеризации многих копий углеводных лигандов и их рецепторов. Получающееся в результате более прочное кооперативное связывание многих углевод-белковых пар называют кластерным эффектом [9]. Это биологическое явление используют при планировании и разработке новых классов углеводовсодержащих лекарств.

Одно из возможных практических применений мультивалентных углеводных конъюгатов — это ингибирование различных биологических процессов, в которых участвуют лектины. Другим перспективным направлением является использование кластерных гликоконъюгатов при создании конъюгированных онковакцин на основе онкоассоциированных олигосахаридных антигенов [10]. Также широко исследуют специальные молекулы-носители с кластерными гликоконъюгатными элементами, участвующими в углеводопосредованной доставке лекарств [11, 12], так как лектины зачастую являются высокоспецифичными для данного конкретного типа клеток. Поэтому, чтобы направлять комплексы носитель—лекарство к необходимым биологическим мишеням, можно использовать подходящие углеводные лиганды, ковалентно связанные с носителем и специфично распознающиеся лектинами, представленными на целевых клетках в соответствующих органах.

Последнее нашло свое развитие при создании супрамолекулярных комплексов включения, содержащих гидрофобные лекарственные вещества, при получении которых используют группу комплементарных им макроциклических молекул-носителей: азамacroциклы [13], циклопептиды [14–17], циклодекстрины [18, 19], каликсарены [20]. Многие из этих молекул обладают плохой или недостаточной растворимостью в воде и, кроме того, часто токсичны. Включение в их структуру биораспознаваемых компонентов, в частности углеводных фрагментов, может способствовать увеличению эффективности адресной доставки и снижению требуемых дозировок. Немаловажно и то, что гидрофильные углеводные остатки в составе конъюгатов повышают их растворимость в водных средах.

В данном обзоре рассмотрены основные методы сборки гликоконъюгатов на основе циклоолигосахаридных матриц, прежде всего  $\beta$ -циклодекстриновых, а также результаты их использования в биологических исследованиях, в особенности для изучения способности конечных гликоконъюга-

тов связываться с лектинами. Обзор является продолжением нашей предыдущей работы [21], в которой показаны способы создания олигодентатных гликоконъюгатов на основе таких низкомолекулярных матриц, как каликсарены и резорцинарены. Там же обсуждается взаимодействие гликокаликсаренов с лектинами.

$\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -Циклодекстрины, состоящие соответственно из 6, 7 и 8  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  4)-связанных *D*-глюкопиранозных звеньев, получают биотехнологически и являются практически единственными циклоолигосахаридами, коммерчески доступными в препаративных количествах. Кроме этого, особый интерес к циклодекстринам обусловлен особенностями структуры их молекул, имеющих форму усеченного конуса с гидрофобной полостью (рис. 1), благодаря которой циклодекстрины способны образовывать водорастворимые комплексы включения с комплементарными молекулами, о которых упомянуто выше. Этот подход все более широко исследуется в последнее время (см., например, [22]).

Циклодекстрины сами по себе не могут выступать в качестве векторов для контролируемой доставки лекарств из-за отсутствия в их структуре фрагментов, способных участвовать в специфическом биологическом распознавании. Ввиду важности углеводных структур в процессах биораспознавания на поверхности клеток, присоединение олигосахаридных фрагментов к циклодекстриновым матрицам может увеличить эффективность адресной доставки лекарств и других соединений (гостевых молекул) в составе комплексов включения (рис. 1).

Ключевой стадией в синтезе моно- и мультивалентных гликоконъюгатов на основе циклодекстринов является регионаправленное присоединение углеводных остатков к специальным образом функционализированным матрицам. Эта стадия является завершающей в конвергентной цепочке синтеза гликоконъюгатов рассматриваемых типов. Приемлемый выход мультивалентных гликоконъюгатов возможен только в тех случаях, когда выход реакции присоединения каждого углеводного остатка близок к количественному. Главы настоящего обзора посвящены различным методам конъюгации циклоолигосахаридных матриц с углеводами. Публикациям, в которых приводятся данные по взаимодействию синтезированных гликоконъюгатов с лектинами, уделено особое внимание.

Завершая введение, отметим, что к настоящему времени выполнено большое количество исследований по использованию циклодекстринов в качестве матриц для получения биоконъюгатов. Этому, несомненно, способствует коммерческая доступность этих соединений. Однако направленная функционализация определенных положений в

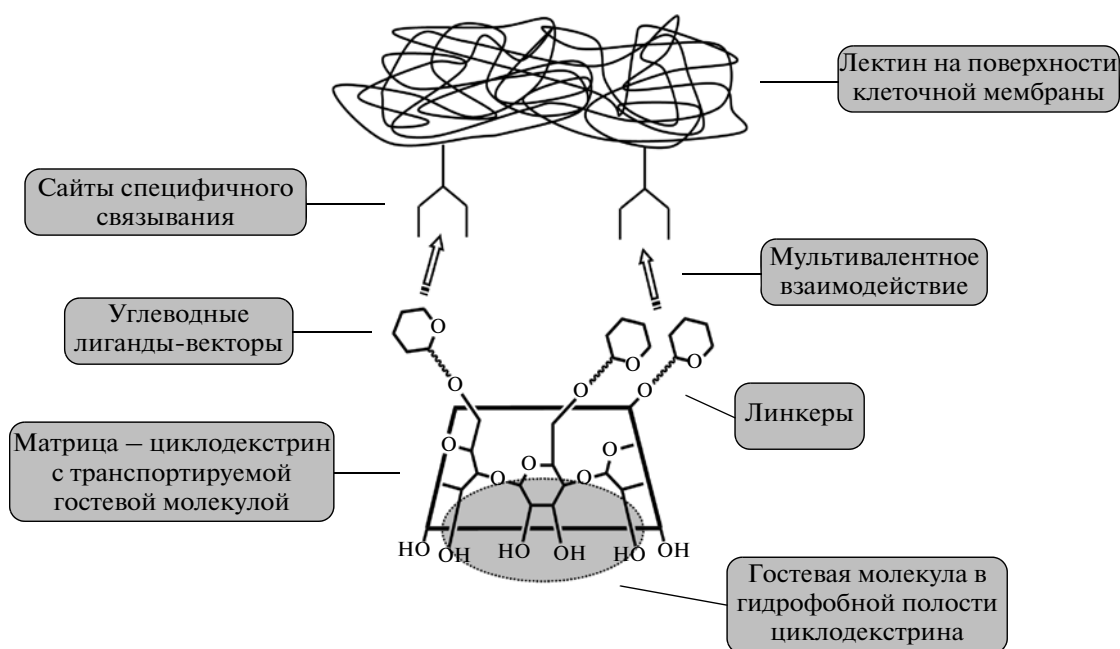


Рис. 1.

молекулах циклодекстринов, основанная на использовании тонких различий в реакционной способности первичных и вторичных гидроксильных групп, часто является очень трудоемкой задачей. Поэтому исключительно актуальным представляется создание альтернативных циклоолигосахаридных матриц, имеющих расположенные в строго определенных позициях функциональные группы, с помощью которых осуществляется дальнейшее присоединение лигандов. В качестве таких матриц в самое последнее время авторами настоящего обзора предложены циклоолиго- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-D-глюкозамин. Присутствие свободной аминогруппы при C2-положении каждого из моносахаридных звеньев циклического олигосахарида позволяет осуществить эффективное присоединение самых разнообразных заместителей, в том числе и углеводов. Исследование циклоолиго- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-D-глюкозаминов только начинается, но полученные к настоящему моменту результаты показали перспективность и практические преимущества данного типа матриц для создания различных биоконъюгатов. Эти данные включены в соответствующие части обзора.

### ГЛИКОКОНЬЮГАТЫ НА ОСНОВЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ, ПОЛУЧЕННЫЕ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ НУКЛЕОФИЛЬНОГО ЗАМЕЩЕНИЯ

Как уже было отмечено выше, синтез гликоконъюгатов на основе циклодекстриновых матриц

получил первоначальный импульс в рамках исследований по созданию супрамолекулярных комплексов включения гидрофобных соединений с циклодекстринами, обладающих более высокой растворимостью в водных средах [23–26]. Начиная с 80-х годов прошлого века различными научными коллективами была выполнена серия работ по синтезу моно- и олиговалентных гликоконъюгатов на основе циклодекстринов. Одними из первых были получены производные, содержащие остаток  $\alpha$ -D-глюкопиранозы в качестве заместителя при O6 в одном или нескольких кольцевых глюкозных звеньях [27]. Структурно родственные соединения были позже синтезированы ферментативным [28] или химическим путем [29].

Синтез *S*- $\alpha$ - и *S*- $\beta$ -D-глюкозил 6-тиоцикло-мальтогептаоз (2) и (3) из моноиодпроизводного циклодекстрина (1) и соответствующих ацетилированных 1-тиосахаров (схема 1) описан в работе [30]. Аналогичным образом были получены моновалентные  $\beta$ -циклодекстриновые конъюгаты (6) и (7), замещенные остатками маннозы и галактозы соответственно [31]. Реакции нуклеофильного замещения протекали во всех случаях с хорошими выходами (около 80%). В работе [31] также упоминается о том, что соединения (6) и (7) распознаются *in vitro* растительными лектинами ConA и рицином (из *Ricinus communis*), однако авторы не приводят подробностей биологических экспериментов.

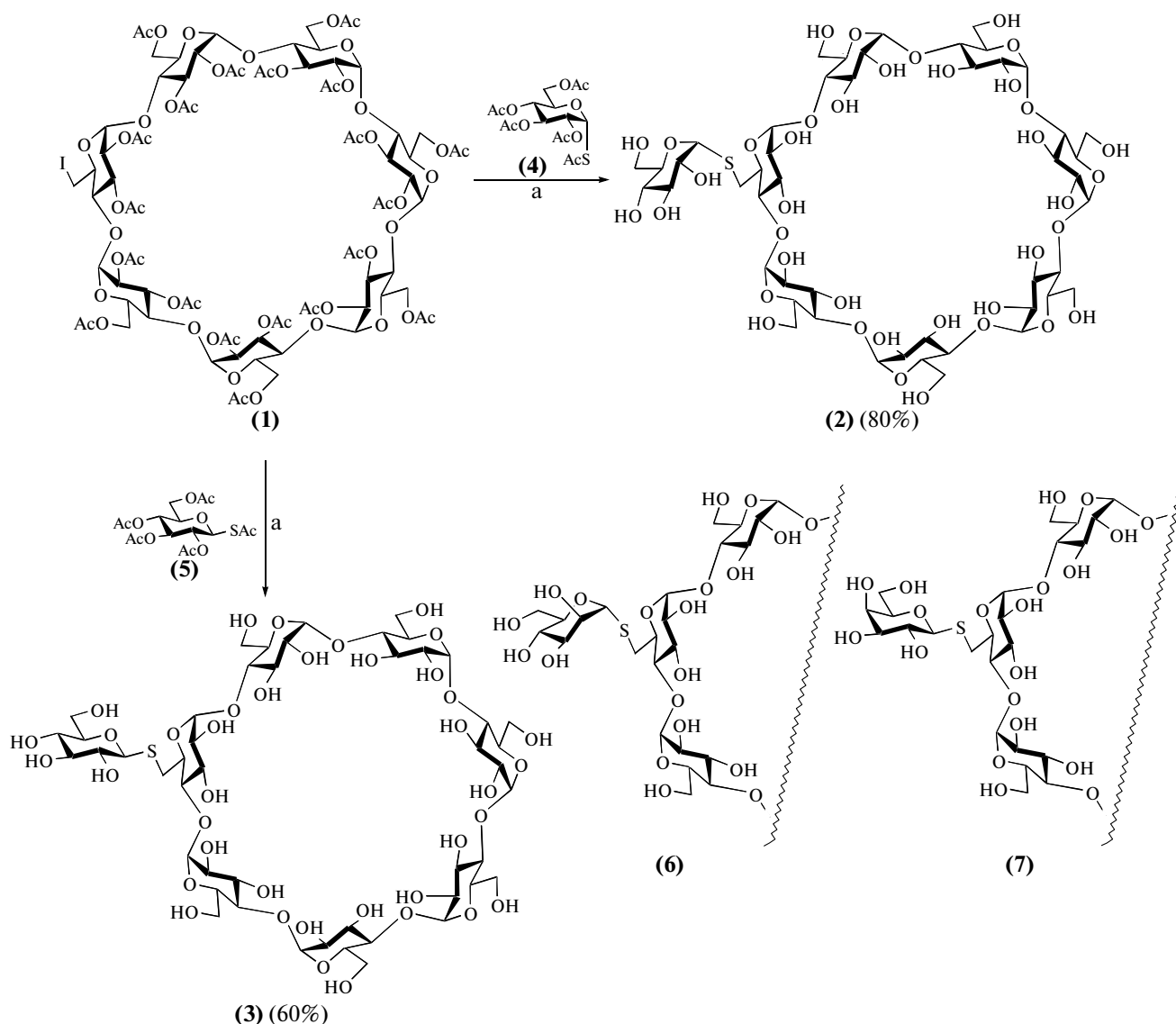


Схема 1. Реагенты и условия: а) *i.*  $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ , DTE, HMPTA, 12 ч, *ii.* MeONa, MeOH.

Те же конъюгаты (2) и (3) (см. схему 1) получали в результате обработки 6-*O*-тозил- $\beta$ -циклодекстрина натриевыми солями 1-тио- $\alpha$ - и 1-тио- $\beta$ -*D*-глюкозы [32]. Выходы реакции нуклеофильного замещения составили 60–66%.

Наряду с синтезом моновалентных глюкоциклодекстринов, был осуществлен также синтез гептавалентных *S*-галактозилированных производных  $\beta$ -циклодекстрина (12)–(14) (схема 2) [33]. Соединения (12)–(14) были получены из гептакис(6-бром-6-дезоксид)-цикломальтогептаозы (8) и соответствующих натриевых солей 1-тио- $\alpha$ - (10) и 1-тио- $\beta$ -*D*-галактозы (9) и 2-меркаптоэтил- $\alpha$ -*D*-тиогалактопиранозида (11). Полученные гликокластеры и ряд моно- и олигосахаридов сравнения

(*D*-арабиноза, *D*-глюкоза, *n*-нитрофенил- $\alpha$ - и - $\beta$ -*D*-галактозиды,  $\alpha$ - и  $\beta$ -циклодекстрины) были исследованы как ингибиторы процесса коагуляции клеток дрожжей *Kluyveromyces fragilis*, вызванной лектином KbcWL (специфичен к галактозе). Из соединений сравнения только *n*-нитрофенил- $\alpha$ - и - $\beta$ -*D*-галактозиды специфично связывались с лектином, причем  $\alpha$ -изомер был активен при концентрации в 2 раза меньшей, чем  $\beta$ -изомер. Активность гликоконъюгатов увеличивалась в ряду: (12) < (13) < (14).

Эти данные также согласуются с разницей в активностях аномеров, что говорит о важности аномерной конфигурации терминальных остатков галактозы для ее распознавания лектином.

Спейсер в конъюгате (**14**), вероятно, уменьшает общее стерическое напряжение конструкции вблизи сайтов связывания рецептора, а также увеличивает подвижность и доступность галактозных остатков, что все в целом и способствует улучшению связывания с лектином.

Соединения, структурно родственные производным (**12**) и (**13**) (см. схему 2), но содержащие вместо остатков галактозы остатки глюкозы, были получены аналогичным образом из соответствующих солей моносахаридов и 6-иодопроизводного  $\beta$ -циклодекстрина (рис. 2, соединения (**15**) и (**16**)) [34].

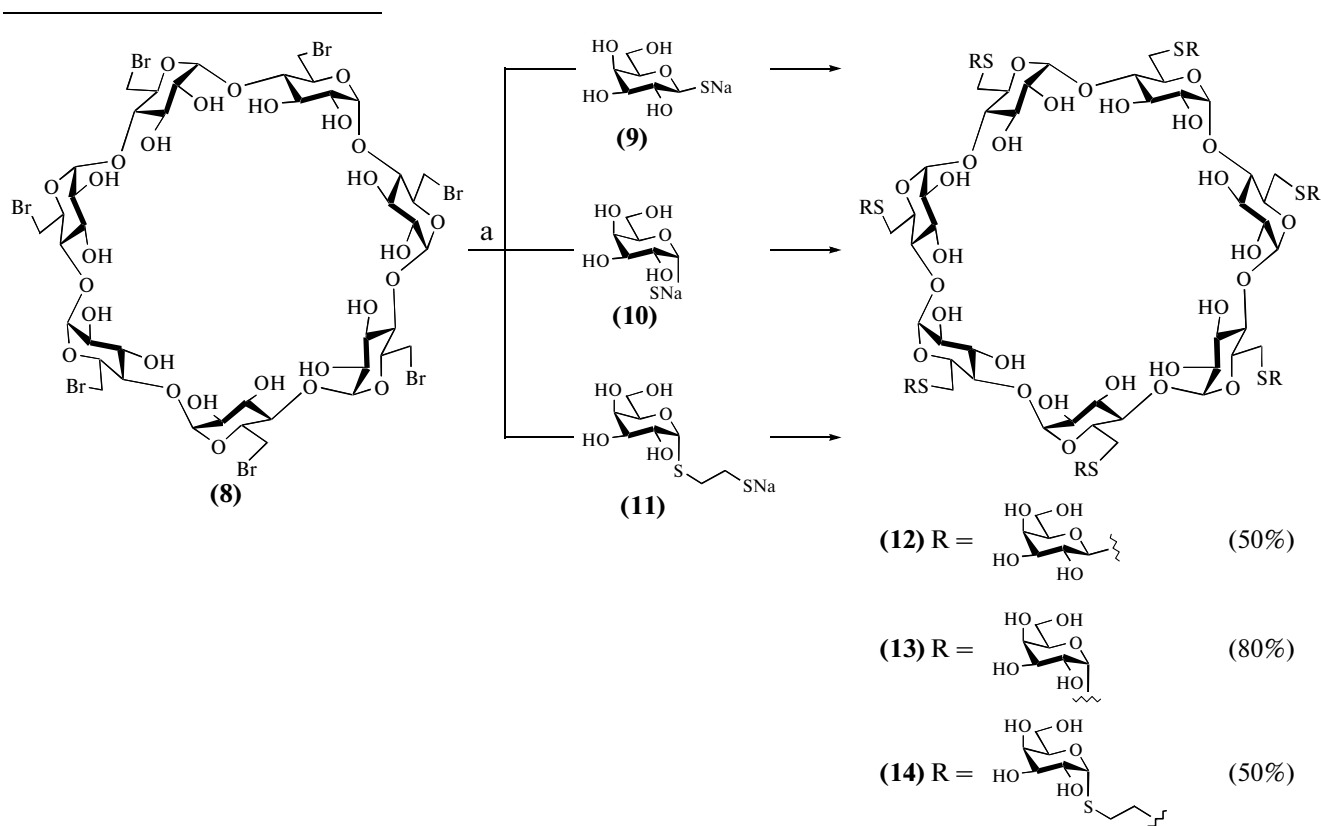


Схема 2. Реагенты и условия: а) DMPU, 70°С.

Был разработан эффективный метод сшивки изотиоурониевых производных моносахаридов (**17**)–(**20**) с гептакис(6-дезоксидо)- и гептакис(6-дезоксидо-6-хлорацетида)- $\beta$ -циклодекстринами (**21**) и (**26**) (схема 3) [35].

Исходные производные углеводов (**17**)–(**20**), использованные для присоединения к циклодекстриновым матрицам, были получены из соответствующих гликозилазидов путем последовательного восстановления до амина, *N*-хлорацетилирования и взаимодействия с тиомочевинной (схема 3). Реакции нуклеофильного замещения изотиоурониевых солей с иодопроизводным  $\beta$ -циклодекстрином (**21**) протекали с высокими выходами (87–95%). Аналогичные реакции с производным (**26**) приводили к соответствующим гептаденатным гликоконъюгатам (на рисунке не показаны).

Получение гептагликозилированных  $\beta$ -циклодекстринов (**27**)–(**33**) (рис. 3) и исследование их аффинности по отношению к различным растительным лектинам: PSA (специфичен к манно-

зе и глюкозе), PNA (специфичен к галактозе), ConA (специфичен к маннозе и глюкозе) и WGA (специфичен к *N*-ацетилглюкозамину и сиаловой кислоте) описано в работе [36]. Гликокластеры были получены конъюгацией перацетилированных изотиоурониевых солей моносахаридов или 1-тиогликозидов с гептаидо- или гептахлорпроизводными  $\beta$ -циклодекстрином ( $\beta$ -CD) (**21**) и (**26**) (см. схему 3). В результате в полученном наборе соединений присутствуют гликоконъюгаты (**27**), (**28**) с напрямую связанными с циклодекстриновой матрицей остатками сахаров, а также гликоконъюгаты (**29**)–(**33**) с остатками, связанными через спейсер. В биологических испытаниях также участвовали соединения (**12**) и (**16**), которые были получены ранее.

Аффинность галактозилированных (**12**), (**31**) и глюкозилированных (**16**), (**30**) производных  $\beta$ -CD к лектинам из арахиса (PNA) и гороха (PSA) соответственно была измерена в тесте ELLA. В качестве моновалентных соединений сравнения ис-

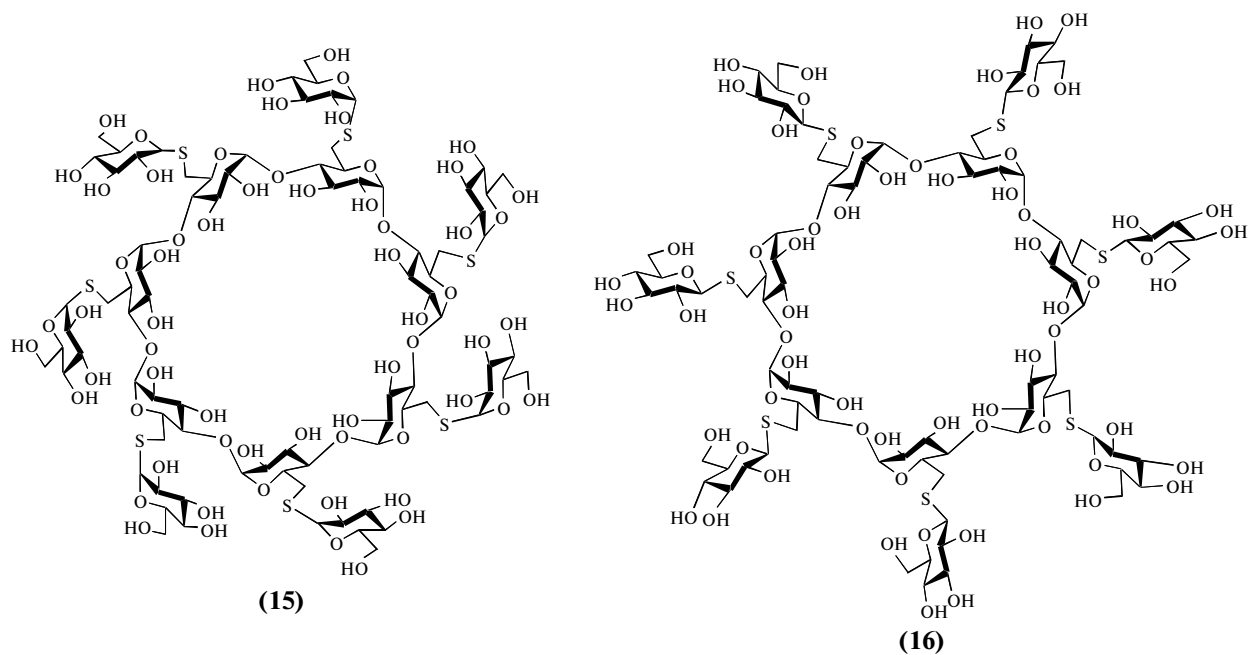


Рис. 2.

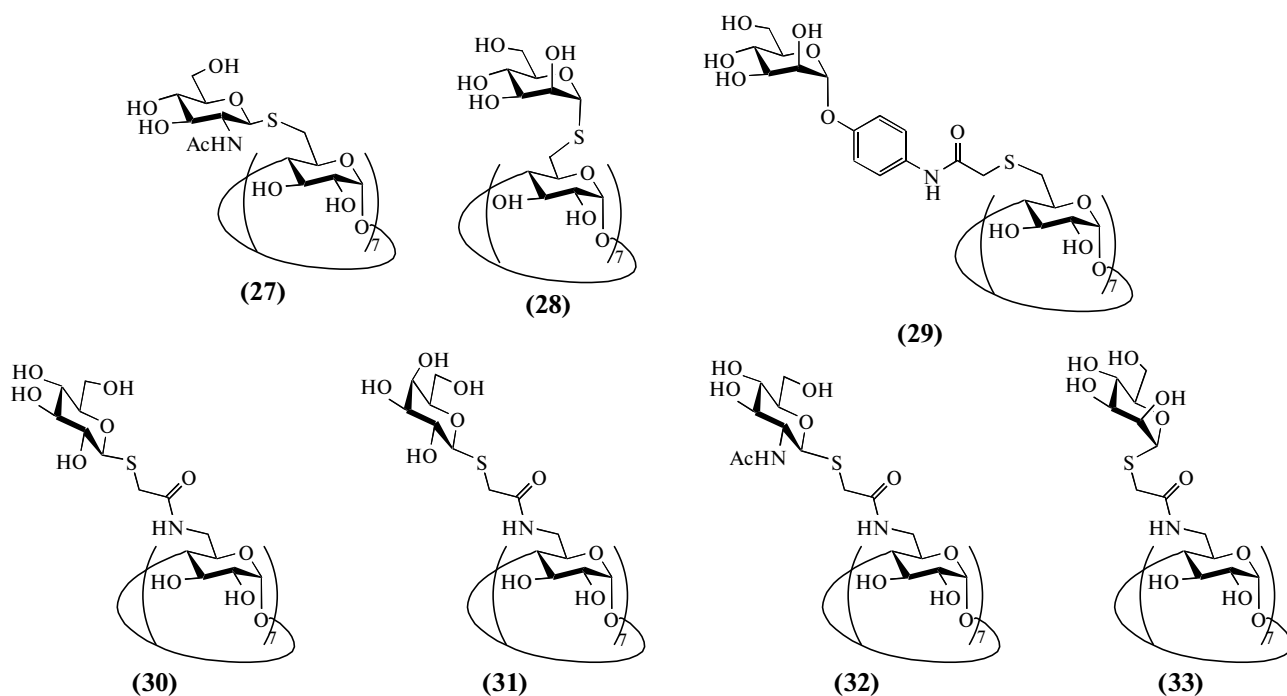


Рис. 3.

пользовали  $\beta$ -D-метилгалактозид и  $\beta$ -D-метил-  
 глюкозид. Спейсерированные конъюгаты (30),  
 (31) связывались с лектинами лучше, чем соедине-  
 ния (12), (16). Так, конъюгат (30) оказался в 105 (то  
 есть в 15 раз в расчете на один остаток глюкозы) раз  
 более активным, чем  $\beta$ -D-метилглюкозид, что го-

ворит о существенном проявлении гликозидного  
 кластерного эффекта. ИФА соединений (12) и (30)  
 в варианте Sandwich Assay, в котором измеряется  
 аффинность конъюгатов к немеченому пероксида-  
 зой хрена лектину из гороха, также подтвердил  
 большую активность соединения (30).

Скорость кросс-сшивки лектинов ConA и WGA под действием маннозилированных (28), (29), (33) и *N*-ацетилглюкозаминсодержащих (27), (32) конъюгатов измеряли турбидиметрически. Конъюгат (29) с ароматическим спейсером

быстрее всего образовывал с лектином нерастворимые кросс-сшитые частицы. Конъюгаты (27) и (32) также показали свою способность к кросс-сшивке WGA, однако авторы подробно этого не обсуждают.

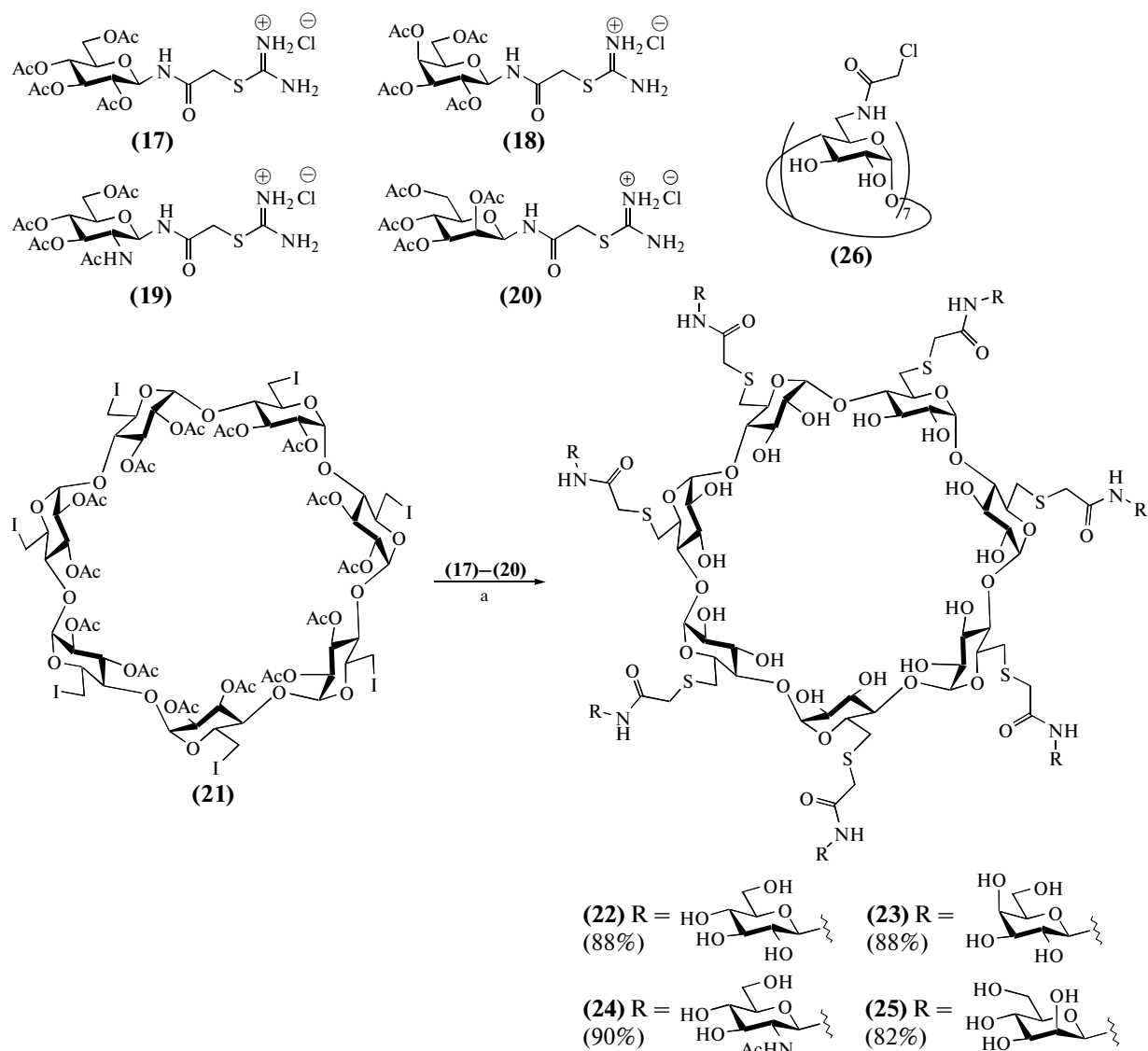


Схема 3. Реагенты и условия: а) *i.* Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 7 д, *ii.* Ac<sub>2</sub>O, Py, 40°C, 48 ч, *iii.* MeONa, MeOH.

Взаимодействие гликокластеров (22), (25), (28), (33) (см. схему 3 и рис. 3) с лектином ConA было исследовано методом ELLA [37]. Конъюгаты (22) и (25) не ингибировали связывание лектина с дрожжевым маннаном, в то время как соединения (28) и (33) оказались в 16–17 раз эффективнее, чем метил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозид. Таким образом, каждый остаток маннозы в составе конъюгатов оказался в 2.3–2.4 раза активнее, чем моновалентный метилманнозид.

В публикациях [38, 39] приведен синтез четырех сполна 6-замещенных  $\beta$ -циклодекстринов (34)–(37) (рис. 4) с  $\beta$ -галактозными, *N*-ацетилглюкозаминными, лактозными и *N*-ацетиллактозаминными остатками, присоединенными через амидный спейсер. Сшивку осуществляли реакцией нуклеофильного замещения иода в гептакис(6-дезоксидо-6-иодо)- $\beta$ -циклодекстрине тиольной группой конъюгируемых углеводов. Далее авторы изучали ингибирование полученными гликокластерами гемагглютинации эритроцитов (тест

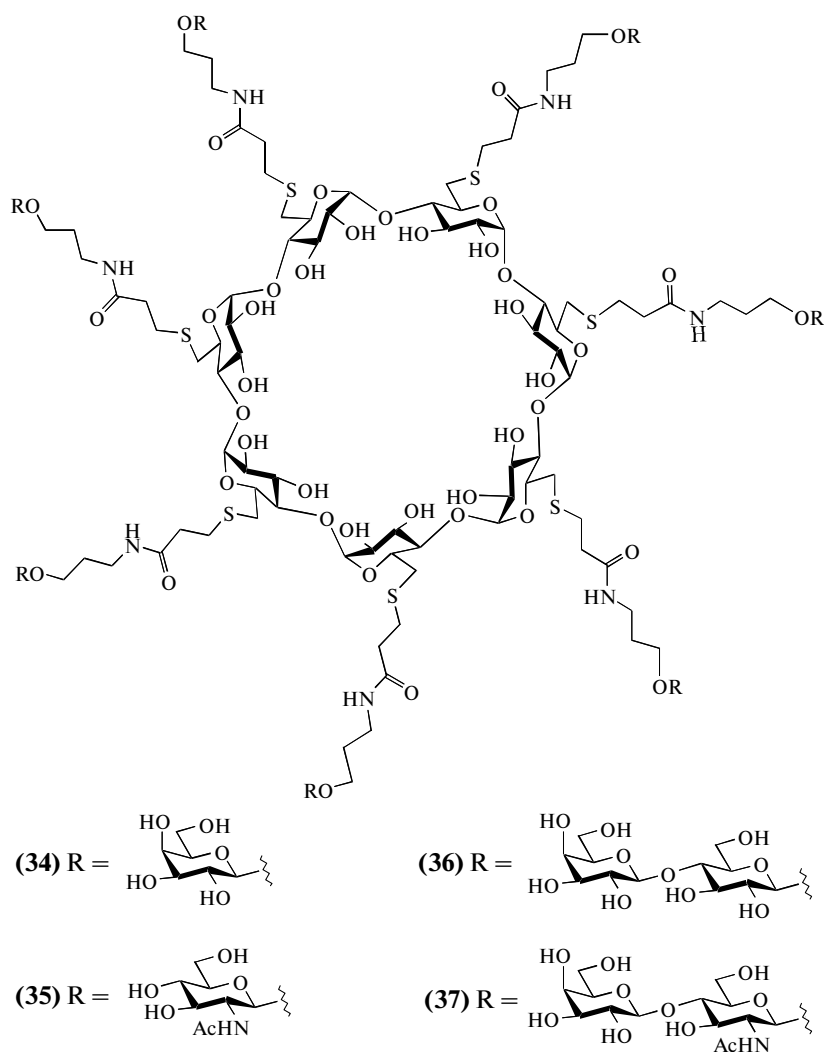


Рис. 4.

Н1А), вызываемой присутствием лектинов WGA (для глюкозаминсодержащего гликоконъюгата) и ECoгL (для галактозосодержащих гликоконъюгатов). В качестве соединений сравнения использовали соответствующие моно- и дисахариды. Наибольшую аффинность проявил конъюгат *D*-глюкозамина (35): он связывался с WGA в 280 раз лучше (или в 40 раз в расчете на один моносахаридный остаток), чем *N*-ацетил-*D*-глюкозамин. Другие конъюгаты не показали такого существенного мультивалентного эффекта, но, тем не менее, были в 14–28 раз активнее соответствующих моновалентных соединений (или в 2–4 раза в расчете на один лиганд).

Также было изучено взаимодействие гликокластеров (34), (36) и (37) (см. рис. 4) с растительным лектином VAA (специфичен к галактозе), иммуноглобулином класса G (IgG) из человече-

ской сыворотки (специфичен к лактозе) и рядом эндогенных лектинов (галектины-1, -3 и -7; специфичны к  $\beta$ -галактозидам) [40]. В качестве методов анализа применяли ELISA и тест гемагглютинации эритроцитов кролика. В тесте ELISA в качестве твердофазных матриц использовали четыре адсорбированных (нео)гликопротеина: лактозилированный альбумин, сывороточный белок человека пентраксин (P-компонент амилоида) (human pentraxin serum amyloid P component), асиалофетуин и мышинный ламинин. Соединениями сравнения служили лактоза или галактоза. Исследуемые гликоконъюгаты оказались эффективными ингибиторами взаимодействия VAA и IgG с нанесенными на поверхность гликопротеинами. Однако активность одного и того же лиганда в отношении одного и того же рецептора сильно отличалась в зависимости от типа гликозилированной поверхности. Так, например, относитель-



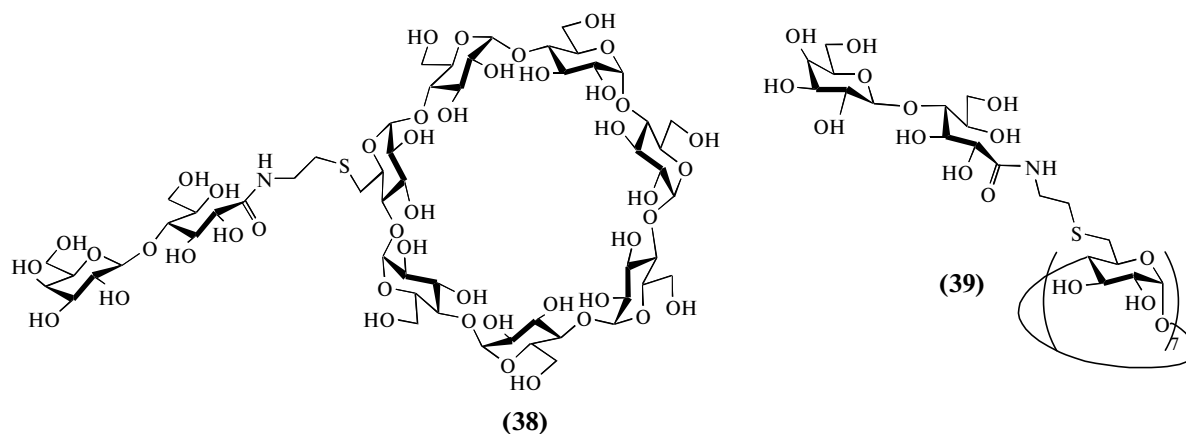


Рис. 5.

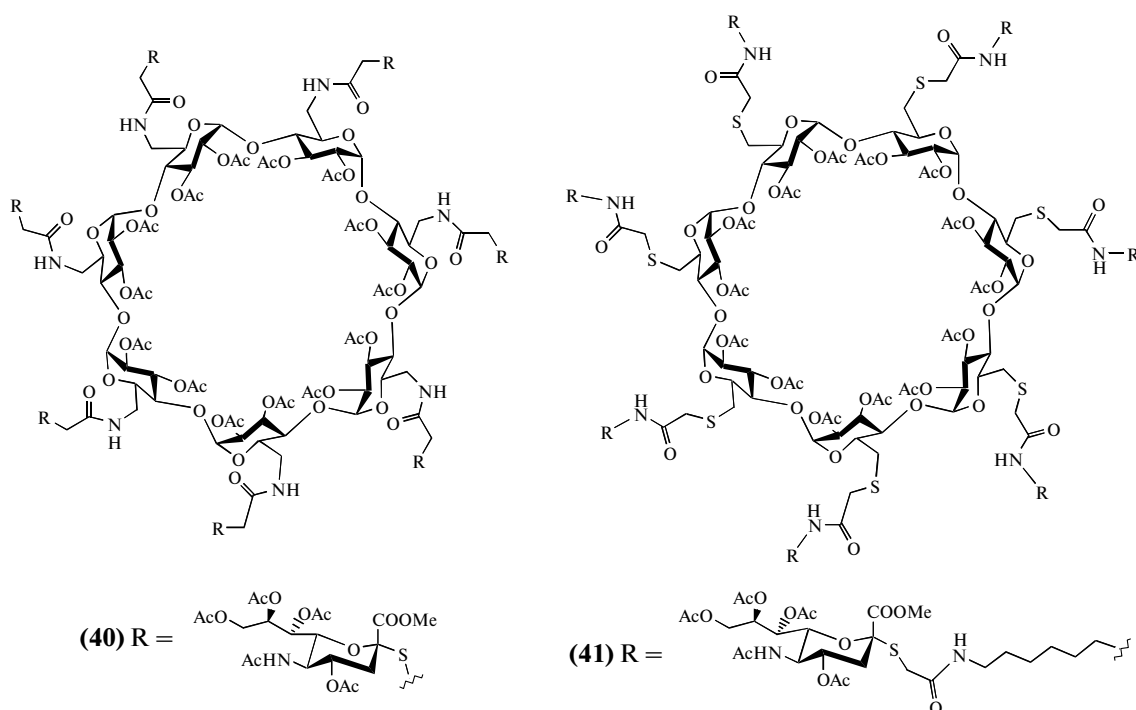


Рис. 6.

ная активность ингибирования конъюгатом (34) взаимодействия VAA с лактозилированным альбумином и ламинином составляла 204 и 14 соответственно. Наиболее эффективно связывалось с VAA соединение (36) (в случае лактозилированного альбумина конъюгат был активнее лактозы в 2222 раза), а с IgG — (34) (для матрицы ASF конъюгат был активнее лактозы в 2740 раз). Галектины в целом обладали меньшей аффинностью к гликокластерам, но все же распознавали их лучше, чем

лактозу. Тест НИА, в котором участвовали VAA и галектины-1 и -3, в общих чертах подтвердил результаты ELISA. Конъюгат (34) оказался в 82 раза более активным ингибитором для VAA, чем галактоза. По отношению к галектину-3 наибольшую аффинность проявил конъюгат (37), минимальная концентрация ингибирования для которого была меньше таковой для лактозы в 28 раз.

Получению моно- и гептавалентных гликоконъюгатов на основе  $\beta$ -CD и исследованию их

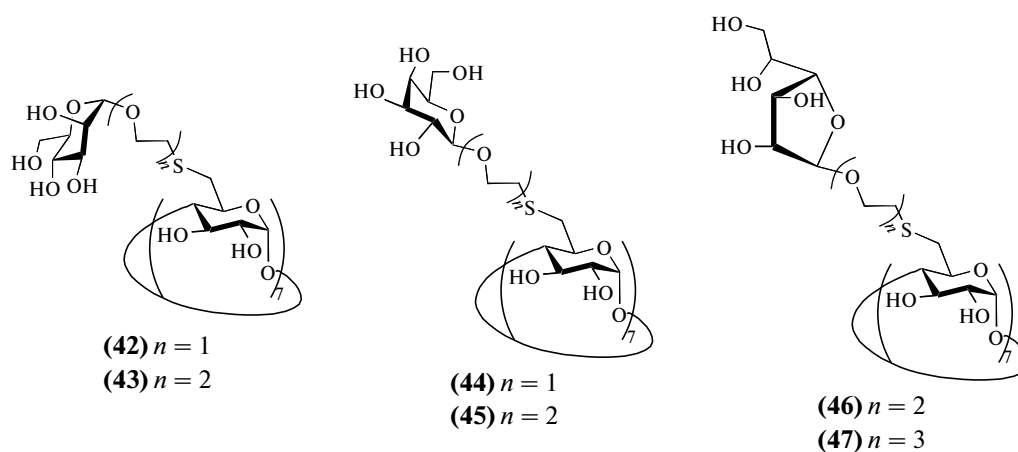


Рис. 7.

взаимодействия с лектином PNA (специфичен к галактозе) посвящена работа [41]. Взаимодействие 2-(галактозилглюконамидо)этантола с моно- и пер-С6-галогенпроизводными циклодекстрина привело к образованию целевых соединений **(38)** и **(39)** (рис. 5). Взаимодействие гликоконъюгатов с иммобилизованным галактозоспецифичным лектином PNA изучали с помощью SPR. Константы диссоциации комплексов конъюгат-лектин для соединений **(38)** и **(39)** составили 120 и 7.5 мкМ соответственно. Таким образом, за счет кластеризации лигандов аффинность к лектину гептавалентного конъюгата **(39)** превысила таковую для моновалентного **(38)** почти в 16 раз.

Синтез гликоконъюгатов **(40)** и **(41)** (рис. 6), содержащих по семь остатков ацетатов *N*-ацетилнейраминовой кислоты, присоединенных через амидные спейсеры различной длины к атомам С6  $\beta$ -циклодекстринового носителя, описан в работе [42]. Сборку осуществляли с помощью нуклеофильного замещения хлора в производном  $\beta$ -CD под действием тиольной группы в соответствующих производных сиаловой кислоты.

Путем взаимодействия гептаидпроизводного  $\beta$ -CD с тиолами в присутствии карбоната цезия были получены шесть конъюгатов **(42)**–**(47)** (рис. 7), в которых остатки маннозы и галактозы отделены от циклодекстриновой матрицы олигоэтиленгликолевыми спейсерами [43]. Соединения **(46)** и **(47)** являются первыми синтетическими примерами циклодекстриновых конъюгатов с присоединенными остатками галактофуранозы.

Спейсерированные и неспейсерированные перлактозилированные производные  $\beta$ -циклодекстрина **(48)**–**(51)** (рис. 8) были получены нуклеофильным замещением галогена в иод- или хлорпроизводных  $\beta$ -CD под действием лактозилтиолов [44]. Далее методом ИТС было исследовано взаимодействие гликоконъюгатов **(48)**–**(51)**, а также соединений **(12)**, **(23)** и **(31)** с лектином

PNA. Конъюгаты **(12)** и **(23)**, содержащие остатки галактозы, не связывались с лектином. Значения стехиометрии комплексов конъюгат–лектин для конъюгатов **(48)**–**(51)**, **(31)** ( $n = [\text{конъюгат}]/[\text{рецептор}]$  при условии насыщения всех сайтов связывания лектина) составляли 61–164, что говорит об образовании кросс-сшитых комплексов, окруженных множеством остатков углеводов, не вовлеченных в связывание. Константы диссоциации комплексов **(48)**–**(51)** с лектином составляли 3.6–5.5 мкМ, что в 90–141 раз меньше, чем в случае комплексов с лактозой. Кластер **(31)** связывался с PNA в 48 раз лучше, чем моновалентный  $\beta$ -*D*-метилгалактозид. Исходя из данных по энтальпии взаимодействий мультивалентных конъюгатов с лектином, наиболее прочные комплексы образовывались в случае соединений **(48)** и **(50)**. Поскольку конъюгат **(50)**, в отличие от **(48)**, образовывал комплекс включения с 2-нафталинсульфонатом, авторы также продемонстрировали взаимодействие такого соединения включения с PNA. С учетом того, что 2-нафталинсульфонат не взаимодействует с PNA (это подтверждалось специальным экспериментом), полученное значение константы диссоциации комплекса ((**50**)-2-нафталинсульфонат)–лектин составило 1.8 мкМ, которое было наилучшим для серии исследованных гликокластеров. Таким образом, лектин PNA распознает лактозидный кластер с гостевой молекулой (2-нафталинсульфонат) внутри гидрофобной полости, что, по мнению авторов, в определенных случаях может позволить использовать соединение **(50)** в качестве молекулярного носителя для транспортировки гостевых молекул к специфичным лактозидным рецепторам.

Описано получение трех амфифильных гликоконъюгатов **(52)**–**(54)** (рис. 9), содержащих при O2 каждого глюкозного звена галактозилные или глюкозилные остатки, а при O6 – гидрофобные алкилтио-цепи [45]. Моносахариды были со-

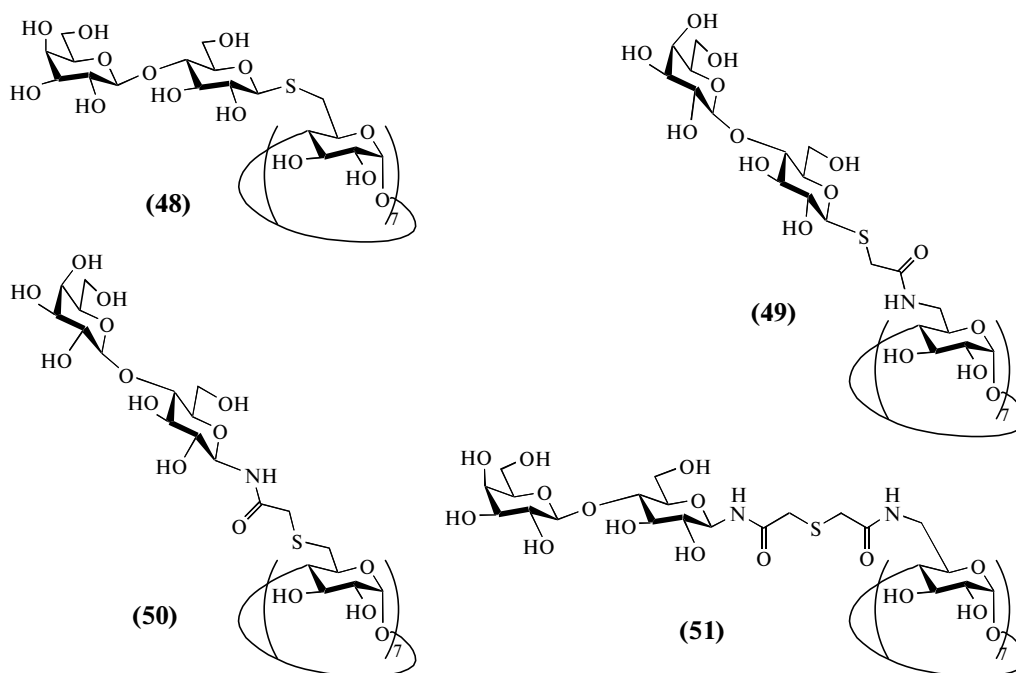


Рис. 8.

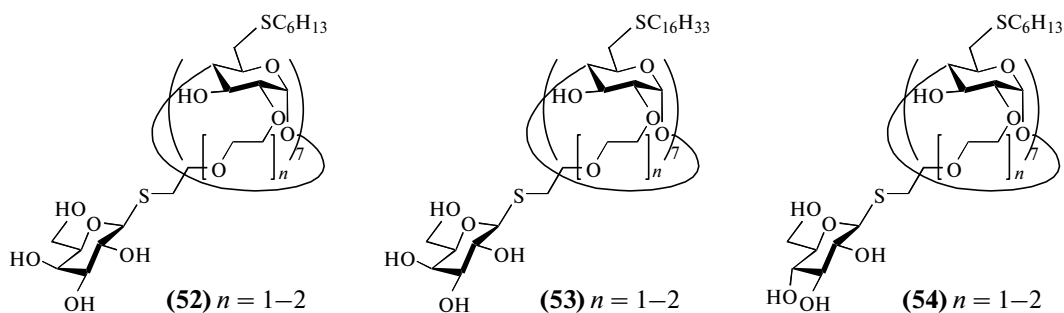


Рис. 9.

единены с циклодекстриновой матрицей через олигоэтиленгликолевые линкеры различной длины. С помощью динамического светорассеяния было показано, что соединения (52) и (54) агрегируют в воде при концентрациях 8 мкМ, а (53) — при 0.2–0.5 мкМ и образуют частицы (везикулы) с гидродинамическим диаметром 100–150 нм.

Проведено исследование взаимодействия конъюгатов (52) и (54) с лектином LecA (специфичен к галактозе) с помощью масс-спектрометрии MALDI. Масс-спектр эквимольной смеси лектина и (52) показал два основных пика, соответствующих комплексам LecA-(52) состава 1 : 1 и 1 : 2. Гликоконъюгат (54) образовывал комплекс с лектином состава только 1 : 1, чему соответствовал пик малой интенсивности в спектре. Эти результаты показывают, что связывание между конъюгатами и LecA достаточно сильное и не ограничивается

включением липофильных боковых цепей лектина в гидрофобную полость  $\beta$ -циклодекстриновой матрицы, поскольку обычные клатратные соединения, образуемые циклодекстринами, методом MALDI-MS не фиксируются [46].

С помощью флуоресцентной спектроскопии было подтверждено, что конъюгат (52) обладает большей аффинностью к LecA чем (54). Спектр флуоресценции раствора лектина значительно изменялся (в сторону уменьшения интенсивности флуоресценции) при добавлении конъюгата (52), чего не происходило при добавлении производного (54). Анализ аффинности конъюгатов (52) и (53) к лектину PNA был проведен с привлечением метода SPR. Константы диссоциации комплексов с PNA для (52) и (53) составили соответственно 580 и 33 мкМ. Такая разница в активностях не может быть объяснена просто различием в длинах липидных

цепей. Авторы предположили, что топология и плотность углеводных остатков в агрегатах, образуемых конъюгатами (52) и (53), различаются, вследствие чего и наблюдается разница в величинах  $K_d$ . Влияние на связывание с лектином LecA морфологии частиц, образуемых соединениями (52)–(54) в растворах, также обсуждается в работе [47].

Особенностью получения гептазамещенного производного  $\beta$ -CD (57) [48] является использование в качестве нуклеофильного реагента гепта-тиола (55) (схема 4). Данная реакция не требует применения защитных групп в присоединяемом производных углеводов и протекает с приемлемым выходом.

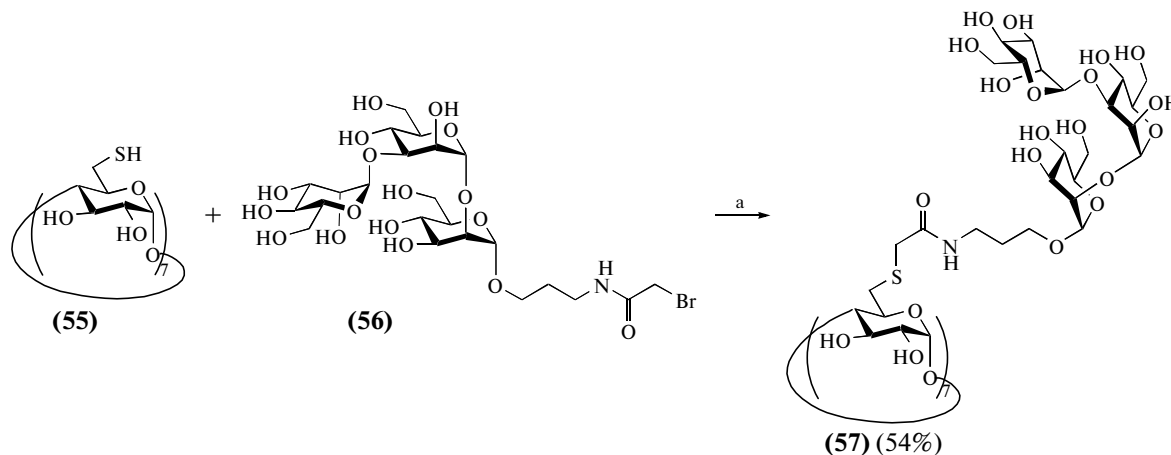


Схема 4. Реагенты и условия: а)  $K_2CO_3$ , DMF,  $H_2O$ , 24 ч.

В рассмотренных выше публикациях присоединение углеводов к циклодекстриновой матрице осуществляли взаимодействием S-нуклеофилов с галогенированными субстратами. В сообщении [49] авторы в целях синтеза моноконъюгата (60) использовали 6-O-алкили-

рование (схема 5), которое протекает менее эффективно, чем 6-S-алкилирование. В результате выход реакции конъюгации соединений (58) и (59) составил только 51%. Аналогичным образом был получен стереоизомерный гликоконъюгат (62) [50].

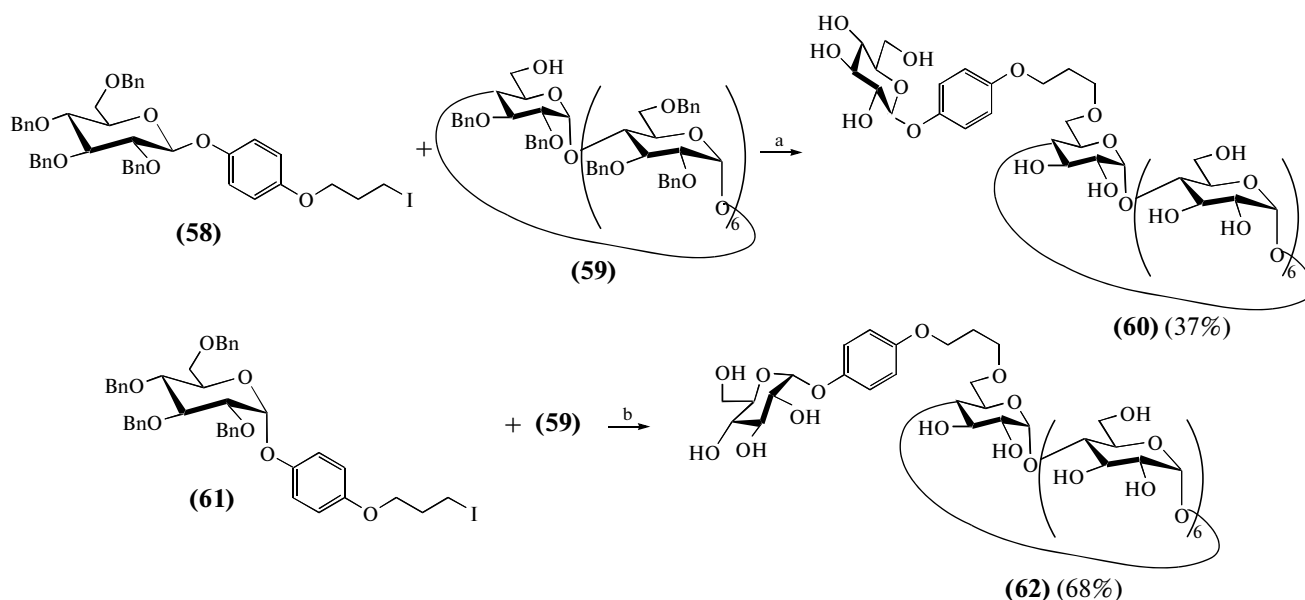


Схема 5. Реагенты и условия: а) *i.* KOH, DMF, *ii.*  $H_2$ , Pd(OH) $_2$ , Et $_2$ O, MeOH,  $H_2O$ ;  
б) *i.* KOH,  $^tBu_4NI$ , DMF, *ii.*  $H_2$ , Pd(OH) $_2$ , DMF.

Описан редкий пример синтеза бидентатного конъюгата (**66**) на основе  $\beta$ -CD (рис. 10), полученного в результате присоединения спейсированных моносахаридов по двум первичным HO-группам [51]. Помимо соединения (**66**), авторы также получили три моновалентных конъюгата (**63**)–(**65**), отличающихся длиной спейсера. Далее с привлечением метода SPR было проведено исследование взаимодействия галактозоспецифичного лектина PNA с синтезированными гликоконъюгатами. Константы диссоциации комплексов конъюгат-лектин для (**63**)–(**65**) составили 11–19 мкМ, а для бивалентного (**66**) – 8 мкМ. Чтобы проанализировать возможность неспецифического взаимодействия гликокластеров (**63**)–(**66**) с PNA было также получено производное циклодекстрина (**67**), не содержащее углеводных лигандов. По данным SPR конъюгат (**67**) оказался неактивен в связывании с лектином.

ГЛИКОКОНЬЮГАТЫ НА ОСНОВЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПО РЕАКЦИИ АЦИЛИРОВАНИЯ АМИНО- И СПИРТОВ ИЗОТИОЦИАНАТАМИ

В ряде случаев получение гликоконъюгатов на основе циклодекстринов удобно осуществлять при помощи реакции ацилирования amino- или гидроксигрупп изотиоцианатами. Внедрение фрагмента тиомочевины в структуру циклодекстринового конъюгата уменьшает гемолитический эффект последнего [52]. Первой работой, где описан синтез моновалентных производных  $\beta$ -циклодекстрина, в которых углеводные лиганды связаны с матрицей через тиоуреидный мостик, является статья [53]. Моноизотиоцианат (**68**) вводили в реакцию с  $\alpha$ -метил-6-амино-6-дезоксиглюкопиранозидом (**69**) и 6-амино-6-дезоксиглюкозиламином (**71**), аномерная аминогруппа в котором защищена *N*-Вос-глицином (схема 6). Полученные гликоконъюгаты (**70**) и (**72**) обладали в 35–38 раз большей растворимостью в воде, чем  $\beta$ -CD.

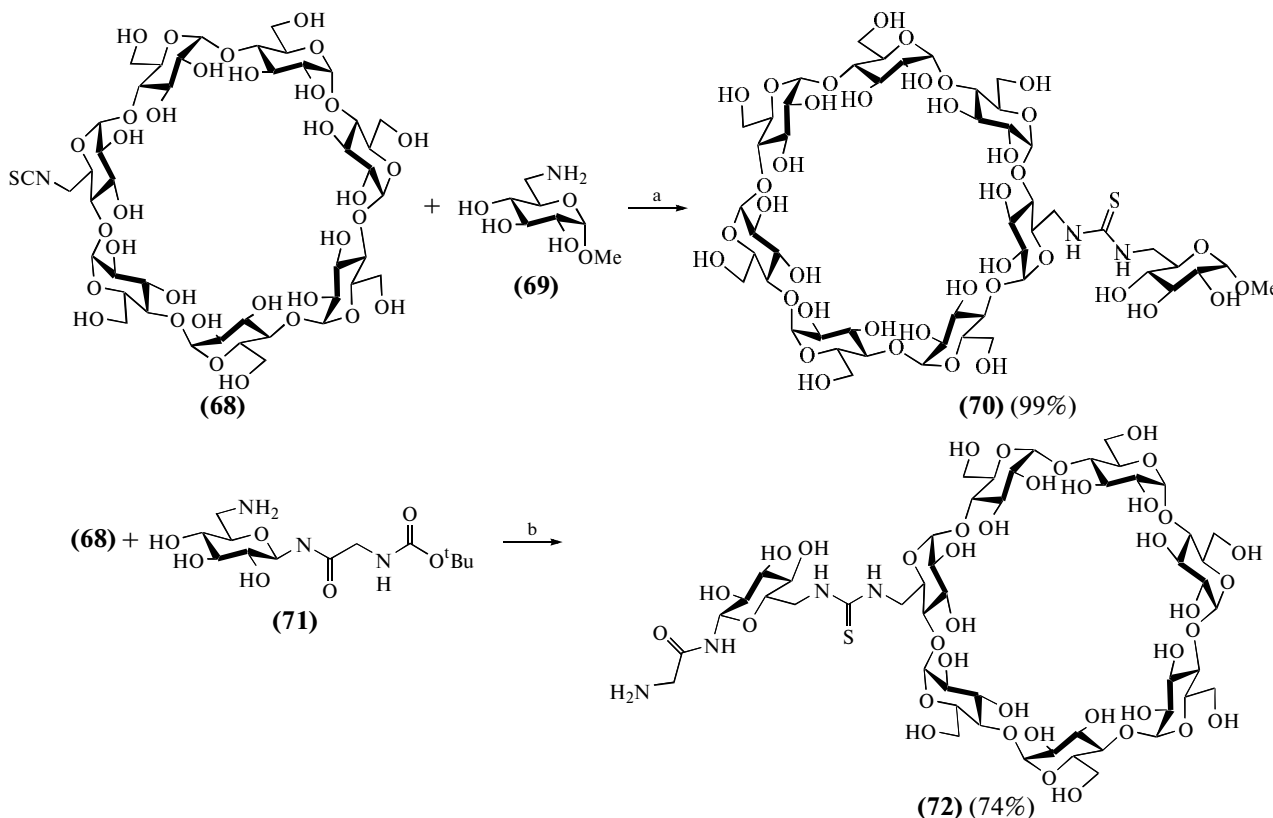
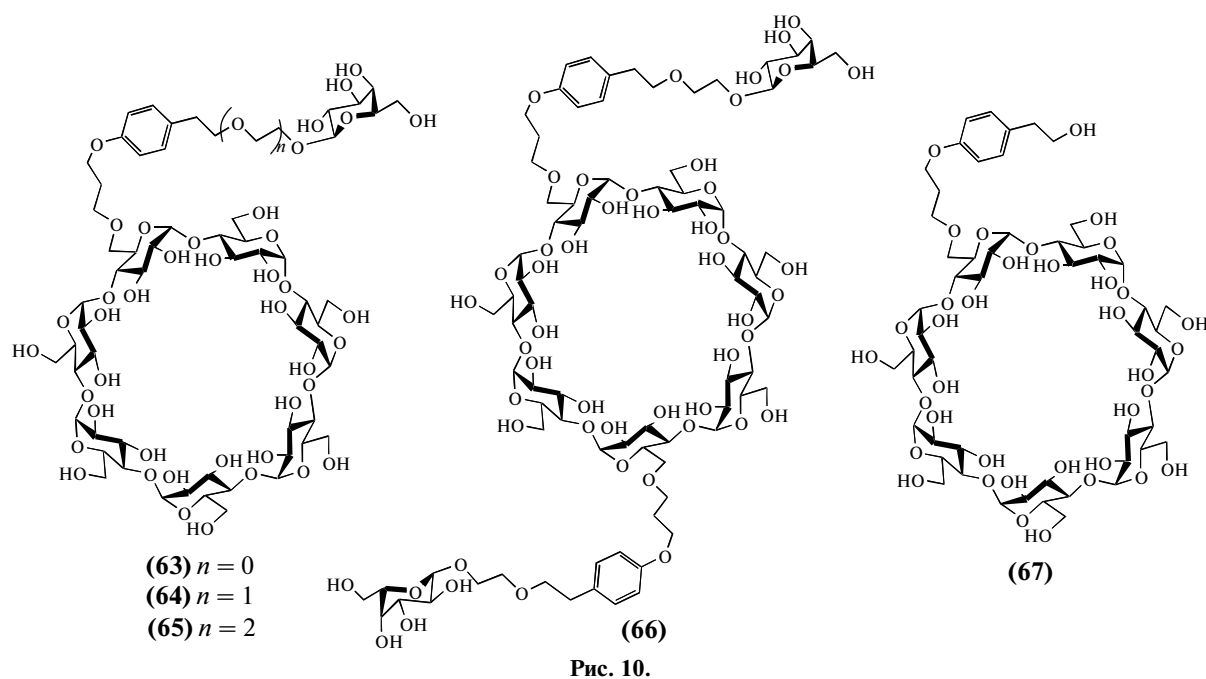


Схема 6. Реагенты и условия: а) Py, 48 ч; б) *i.* Py, 72 ч, *ii.* CF<sub>3</sub>COOH, H<sub>2</sub>O, 1 ч.

Синтез моно- и гептавалентных производных  $\beta$ -CD описан в работе [54]. Взаимодействие  $\beta$ -D-глюкопиранозиламина с  $\beta$ -CD-моноизотиоцианатом (**68**) (см. схему 6) привело к образованию трудноразделимой смеси целевого продукта с

6-дезоксиглюкозиламином. В случае  $\beta$ -CD-гептаизотиоцианата получали продукты неполного присоединения в виде смеси позиционных изомеров. Однако нуклеофильное присоединение  $\beta$ -CD-моноамина (**76**) к *O*-аце-



тилированным гликозилизотиоцианатам (73)–(75) в пиридине при комнатной температуре привело к желаемым продуктам (77)–(79) с хорошими выходами (70–75%, схема 7).

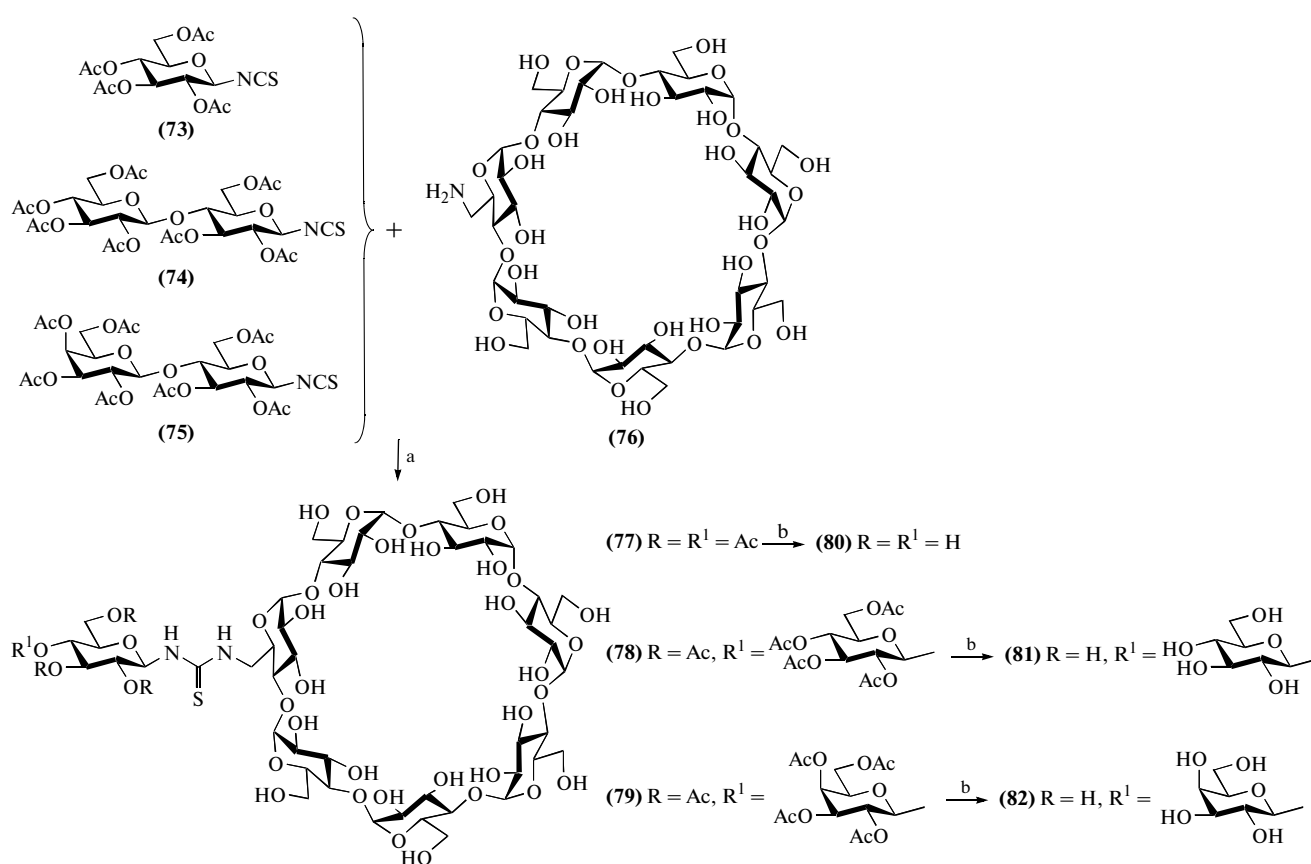


Схема 7. Реагенты и условия: а) Py, 2 ч; б) MeONa, MeOH.

Эти условия оказались не применимыми в случае  $\beta$ -CD-гептамина (**83**), но авторы обнаружили, что использование водного ацетона в качестве растворителя позволяет получать аддукты (**84**)–(**86**) с приемлемыми выходами (65–80% на две стадии,

схема 8). Примечательно, что все синтезированные гликоконъюгаты, включая (**77**)–(**79**) и (**84**)–(**86**), которые содержат гидрофобные перацетилированные углеводные заместители, растворились в воде в 25–40 раз лучше, чем природный  $\beta$ -CD.

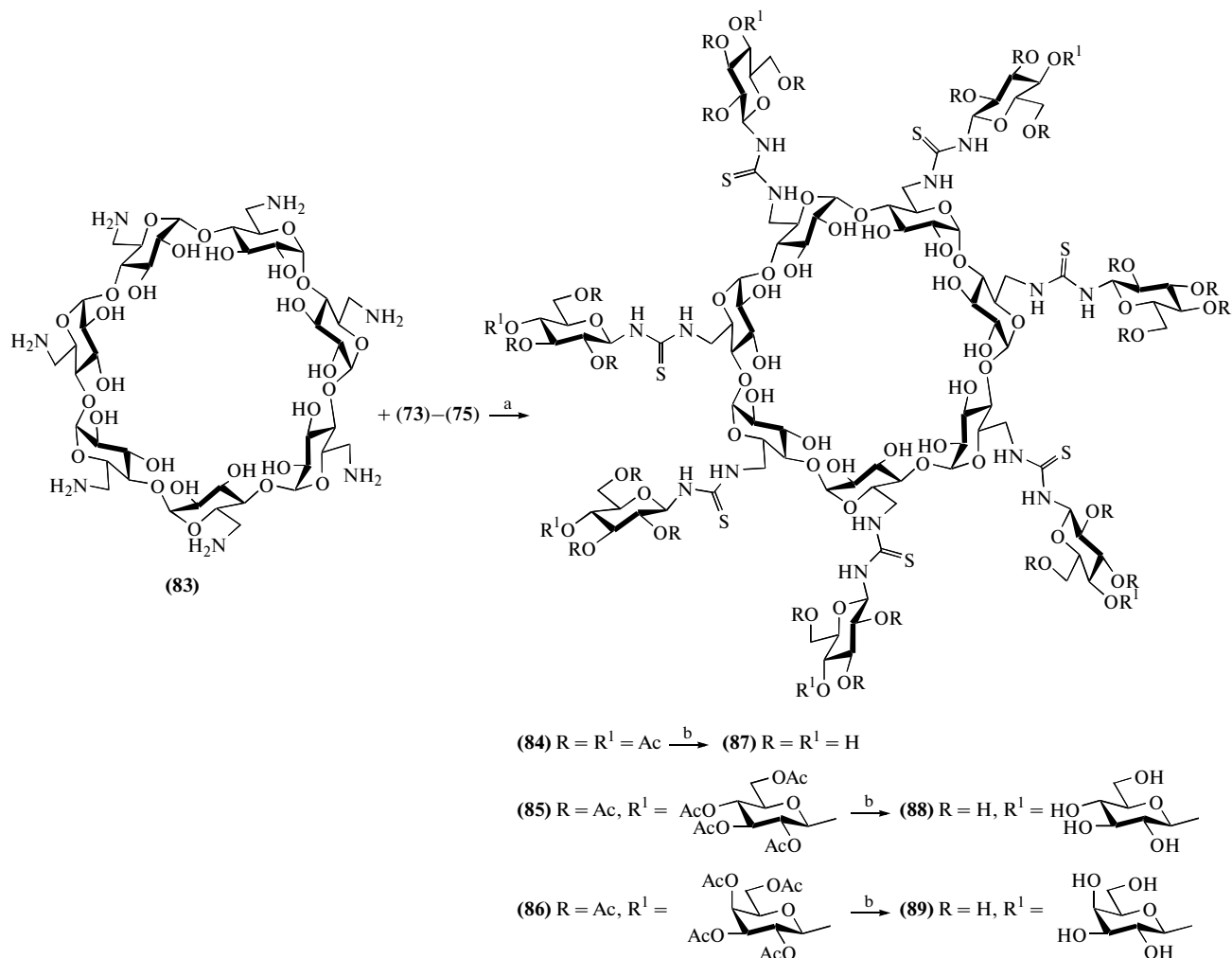


Схема 8. Реагенты и условия: а) ацетон,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ , pH 8, 2 ч; б)  $\text{MeONa}$ ,  $\text{MeOH}$ .

В продолжение предыдущей работы были получены ряд моно- и гептаманнозилированных производных  $\beta$ -CD для изучения их взаимодействия с маннозоспецифичным лектином ConA [55]. Моно- и гептаминопроизводные циклодекстрина (**76**) и (**83**) соответственно (см. схемы 7 и 8) вводили в реакцию с изотиоцианатами маннозы (**90**)–(**92**) (рис. 11). Моновалентные гликоконъюгаты (**93**)–(**95**) были получены с высокими выходами (84–99%), в то время как реакция (**90**) и (**83**) привела к аномерной смеси гептавалентных конъюгатов (**96**). Взаимодействие соединений (**92**) и (**83**) привело к образованию конъюгата (**97**) с выходом 50%.

Известно, что лектин ConA предпочтительнее связывается с  $\alpha$ -D-маннопиранозидами, чем с соответствующими  $\beta$ -аномерами [56, 57]. Однако аффинность соединений (**93**) и (**94**) к ConA, измеренная методом ELLA, показала отсутствие значительной разницы в связывании с лектином конъюгатов с  $\alpha$ - и  $\beta$ -D-маннопиранозильными остатками. Гликокластеры (**96**) и (**97**) ингибировали связывание лектина с иммобилизованным дрожжевым маннаном гораздо хуже, чем моновалентные конъюгаты (**93**)–(**95**), что авторы объясняют меньшей стерической доступностью остатков маннозы в случае конъюгатов (**96**) и (**97**). Также авторы отмечают, что синтезированный позже гептавалентный конъюгат, аналогичный (**96**), но

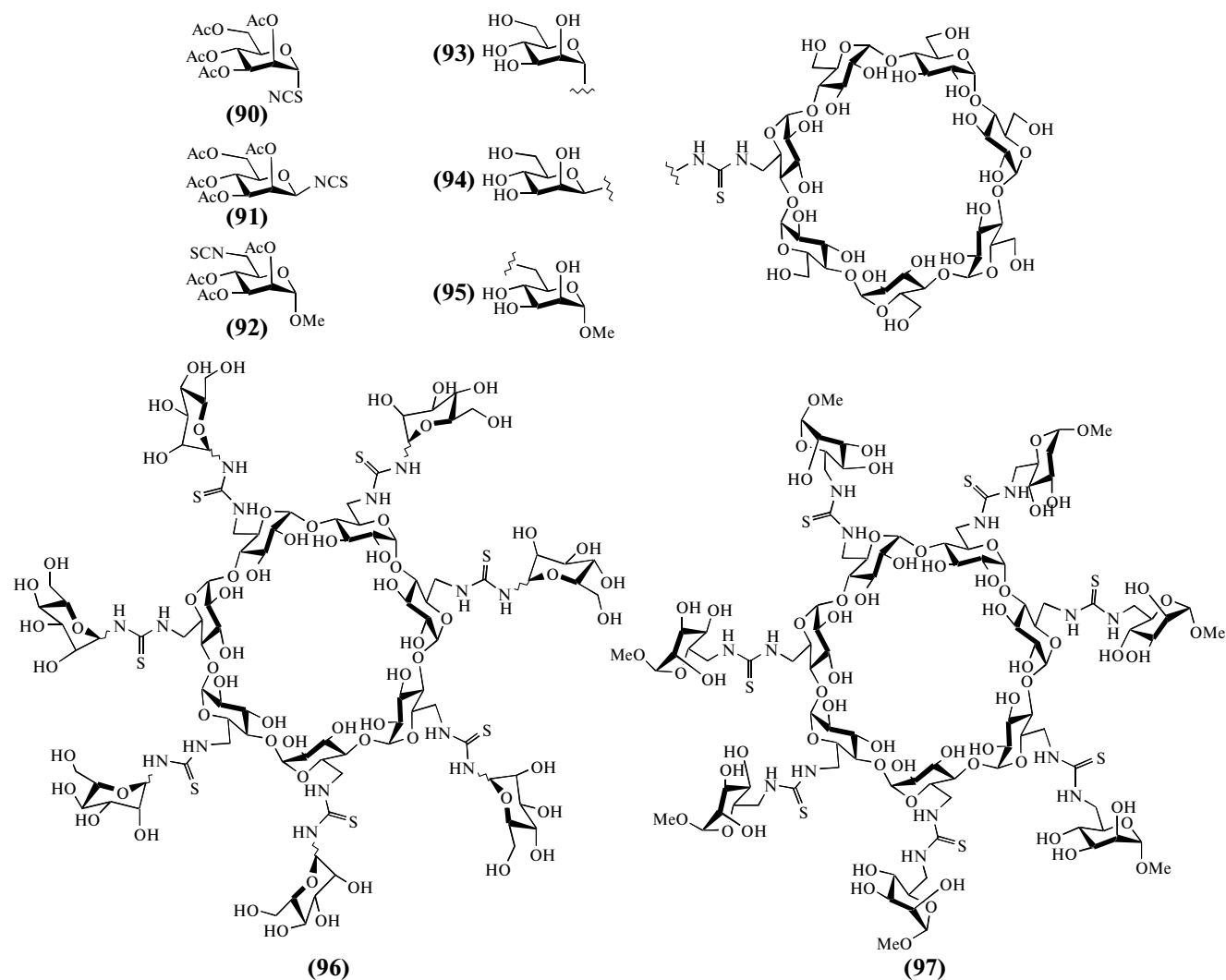


Рис. 11.

содержащий  $C_5$ -спейсеры между тиомочевинной и циклодекстрином, оказался более чем в 40 раз активнее в тесте ELLA по сравнению с (96). Это еще раз показывает важность в процессе связывания гликоконъюгата и лектина именно пространственной организации лектиновых лигандов, а не структурных мотивов (тиомочевинных мостиков, циклодекстриновой матрицы).

Гептавалентный гликоконъюгат (98) (рис. 12), содержащий семь остатков *N*-ацетилнейраминной кислоты, связанных через спейсеры с C6-атомами глюкозных звеньев в  $\beta$ -CD, был описан в работе [42]. Сшивку сиаловой кислоты с матрицей осуществляли с помощью нуклеофильного присоединения аминогруппы к изотиоцианату. Аналогичным образом был получен гептаманнозиллированный спейсерированный гликокластер (99) [58]. В этом же сообщении на базе экспериментов

ELLA показана умеренная активность этого конъюгата в связывании с ConA.

Были синтезированы амфифильные маннозил- и фукозилсодержащие производные  $\beta$ -CD (105)–(110) (схема 9) [59]. Присоединение моносахаридных остатков к носителю осуществляли с помощью взаимодействия изотиоцианатов (103) и (104) с первичными гидросильными группами олигоэтиленгликолевых заместителей в соединениях (100)–(102). Выходы реакций ацилирования составили 65–95%.

Было изучено взаимодействие полученных гликокластеров с лектином LcH (специфичен к маннозе, глюкозе и фукозе). Измерение флуоресценции фрагментов триптофана в LcH использовали как меру связывания гликоконъюгатов с белком, поскольку данные фрагменты находятся в непосредственной близости к сайтам связывания лек-



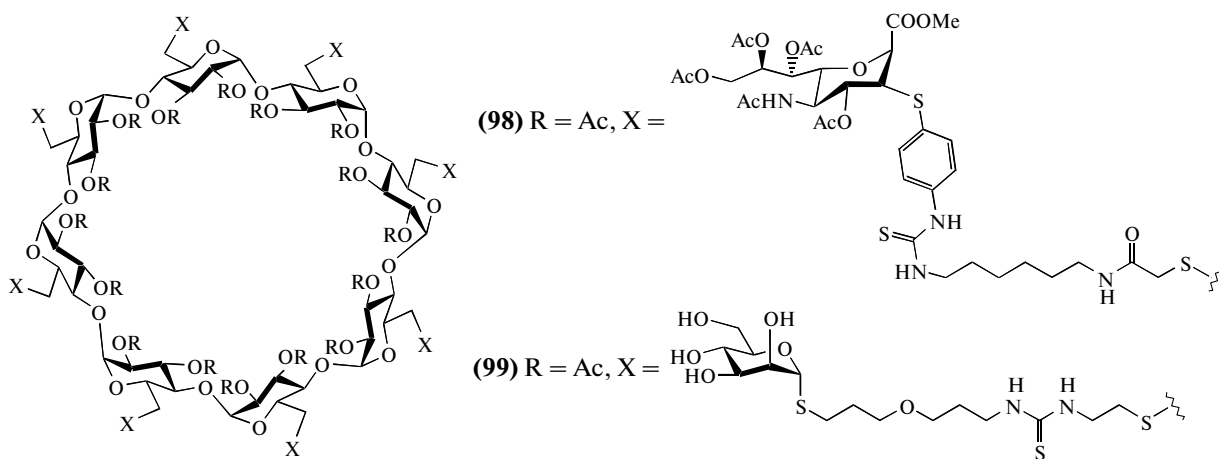


Рис. 12.

тина и реагируют на изменения в своем окружении (например, при приближении углеводных остатков). Так, при добавлении в раствор лектина возрастающих количеств конъюгата (105) интенсивность флуоресценции раствора возрастала, что говорит о специфичном связывании лиганд–лектин.

В то же время добавление к раствору LcH исходного производного (100) не вызывало практически никаких изменений в спектре флуоресценции. Возрастание флуоресценции наблюдали также и при добавлении к раствору лектина фукозилированного циклодекстрина (108).

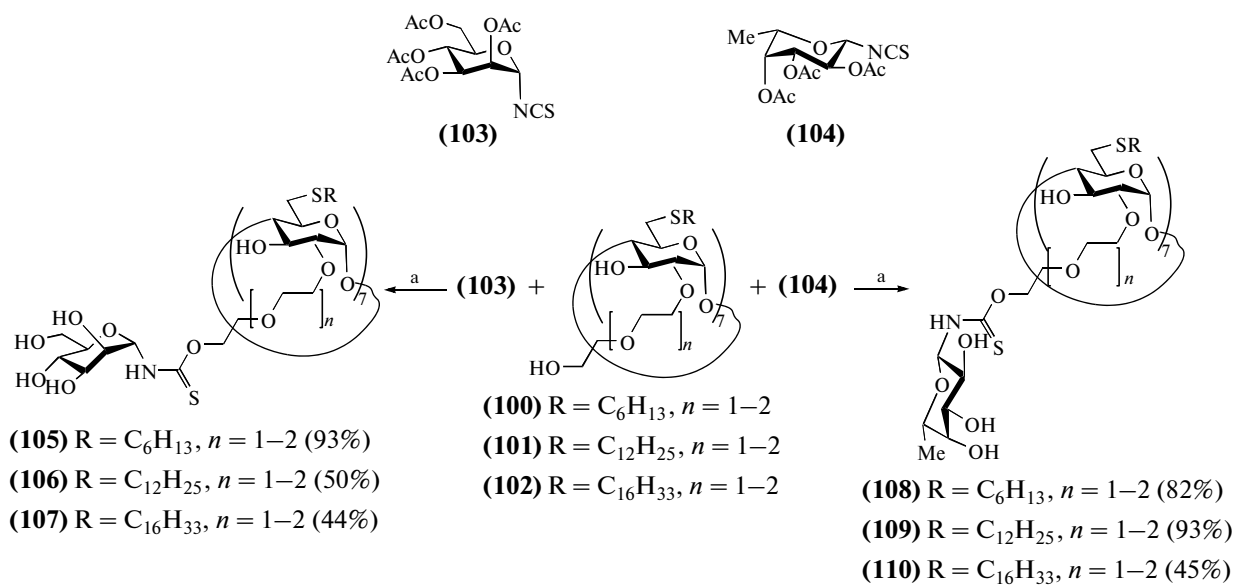


Схема 9. Реагенты и условия: а) *i*. DABCO, толуол, DMF, 110°C, 7 сут, *ii*. MeONa, MeOH.

ГЛИКОКОНЬЮГАТЫ НА ОСНОВЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ И ЦИКЛООЛИГО-(1 → 6)-β-D-ГЛЮКОЗАМИНОВ, ПОЛУЧЕННЫЕ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ N- ИЛИ O-АЦИЛИРОВАНИЯ

Одним из популярных и достаточно простым в реализации методом конъюгирования всевоз-

можных субстратов является ацилирование аминогрупп (реже гидроксильных) производными карбоновых кислот. Чаще всего в качестве ацилирующих агентов используют активированные эфиры, получаемые *in situ* из кислоты в присутствии различных конденсирующих реагентов (DCC/HOBt, EDAC, DIC/HOBt, MSNT). Основ-

ное преимущество данного метода конъюгации заключается в образовании (в случае аминов)

амидной связи, устойчивой в широком диапазоне условий.

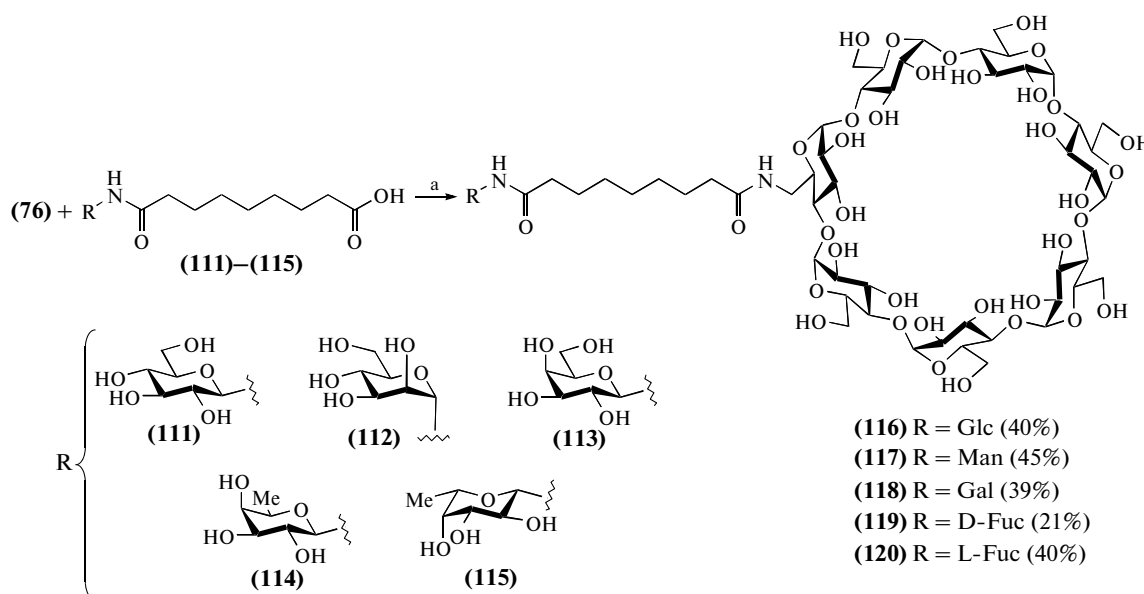


Схема 10. Реагенты и условия: а) DCC, НОВТ, DMF, 15°С.

В сообщении [60] описан синтез конъюгата на основе циклодекстринового производного (76) (см. схему 7) и глюкозы, разделенных алкильным C<sub>9</sub>-спейсером. Моноамин (76) ацилировали кислотой (111) и получали с умеренным выходом продукт конъюгации (116) (схема 10). Растворимость соединения (116) в воде составляет 200 г/л, что почти в 10 раз превышает растворимость β-CD. Позже в той же группе аналогично были получены еще четыре моновалентных гликоконъюгата (117)–(120), в которых в качестве присоединенных моносахаридов использованы манноза (117), галактоза (118), D- и L-фукозы (119), (120) [61].

В работе [62] остаток спейсированного N-ацетилглюкозамина (121) путем N-ацилирования присоединили к производному циклодекстрина (76) (схема 11). Полученный конъюгат (122) модифицировали ферментативным путем: с помощью галактозилтрансферазы к остатку глюкозамина присоединили остаток галактозы и выделили с хорошим выходом (68%) целевой конъюгат (123). Галактозоспецифичный лектин KbcCWL коагулирует клетки дрожжей *K. bulgaricus*; соединение (123) способно ингибировать этот процесс в 2 раза эффективнее, чем галактоза, в то время как конъюгат (122) не связывается с KbcCWL.

Синтез четырех моновалентных гликоконъюгатов (128)–(131) и одного гептавалентного гликоконъюгата (133) на основе β-CD (схема 12) был представлен в сообщении [63]. Остатки галактозы были соединены с матрицей через линкеры различной длины (C<sub>3</sub>–C<sub>9</sub>), которые, в свою

очередь, были связаны с циклодекстрином амидной связью. Гептавалентное производное (133) было получено только с C<sub>9</sub>-алкильным линкером. С помощью теста ингибирования коагуляции клеток, вызванной присутствием лектина KbcCWL, было показано, что увеличение длины линкеров увеличивает аффинность конъюгатов к белку. Однако гептагалактозильное соединение (133), вопреки ожиданиям авторов, не проявило кластерного эффекта, поскольку практически не связывалось с лектином. Возможной причиной такого поведения, по мнению авторов исследования, является слишком большой размер молекулы (40 Å в диаметре), который способствует кросс-сшивке клеток и последующей их коагуляции.

Биологические испытания четырех моновалентных ((118), (120) на схеме 10, (122), (123) на схеме 11) и одного гептавалентного гликоконъюгата (133) (схема 12) проведены в работе [64]. Исследование показало, что производные циклодекстринов (118) и (123), содержащие только один галактозный остаток, связываются с лектином KbcCWL наиболее эффективно (в тестах HIA и коагуляции клеток дрожжей *K. bulgaricus*) и имеют в три раза меньшую гемолитическую активность, чем β-CD. Эти же соединения проявили выраженный цитотоксический эффект в отношении клеток рака прямой кишки человека, а также способствовали росту клеток дрожжей *K. bulgaricus*.

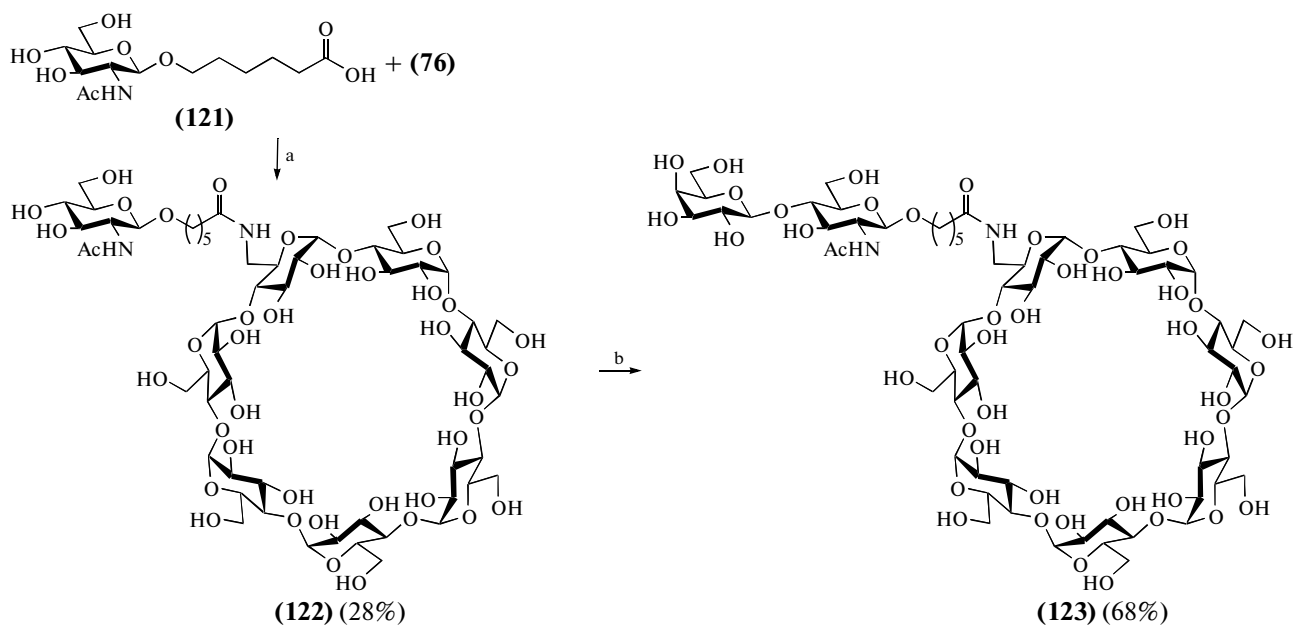


Схема 11. Реагенты и условия: а) DCC, НОBT, DMF; б) UDP-Gal, 4-β-галактозилтрансфераза.

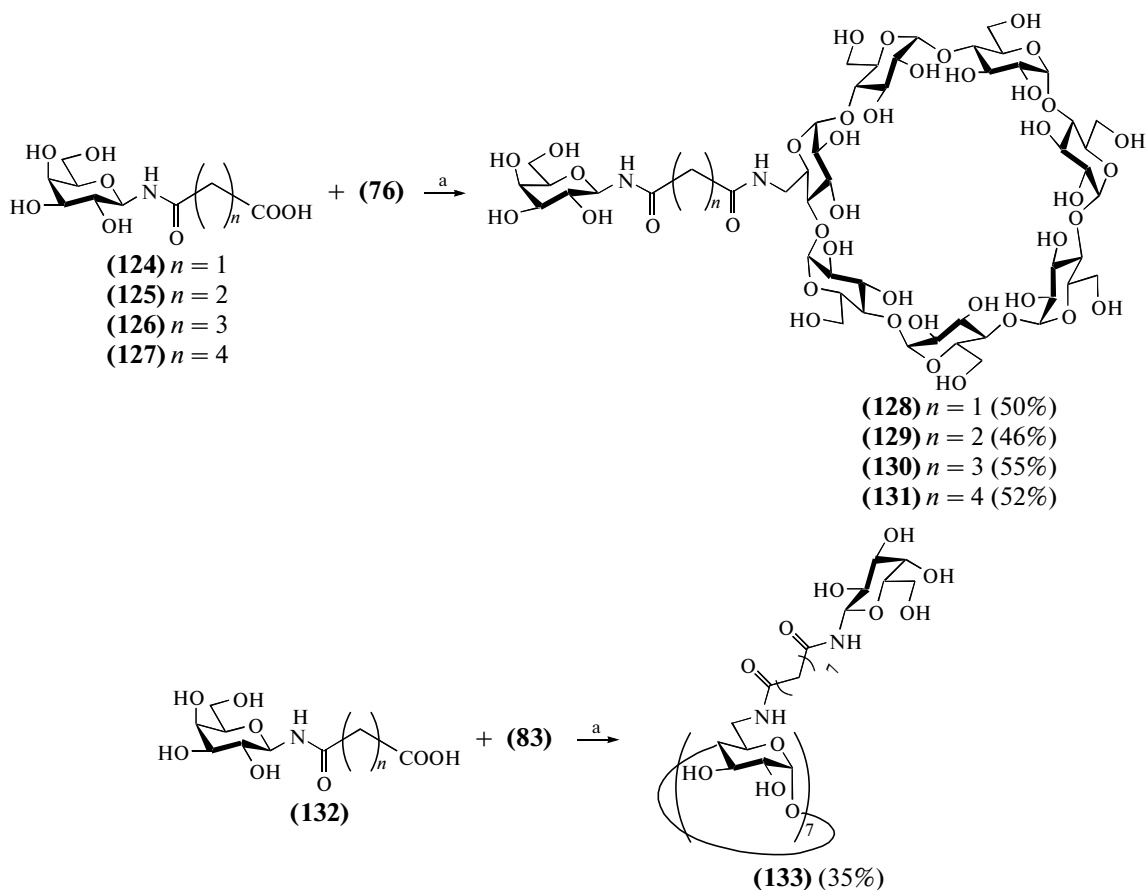


Схема 12. Реагенты и условия: а) DCC, НОBT, DMF, 15°C.

Два монозамещенных производных β-CD (134) и (135) (рис. 13) были получены путем конъюгации

мальтонолактона (138) и лактона лактоновой кислоты (139) с 6-моноамино-β-CD (76) (см. схему 7)

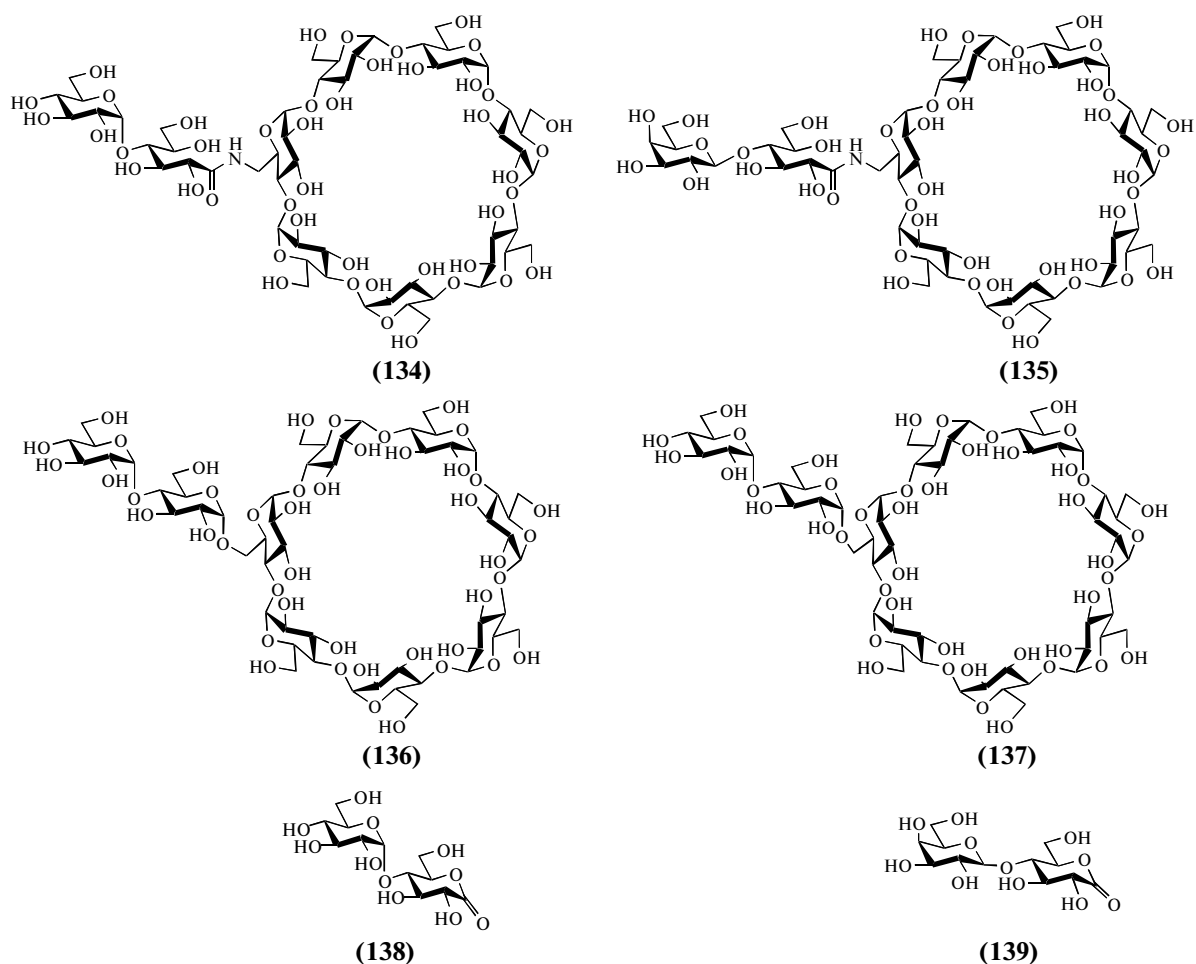


Рис. 13.

[65–67]. С помощью метода SPR авторы изучили взаимодействие полученных гликоконъюгатов с иммобилизованным на биосенсоре лектином ConA. В качестве соединения сравнения использовали коммерчески доступные мальтозил-производные  $\beta$ - и  $\gamma$ -CD (136) и (137). Результаты анализа показали, что галактозил-глюконамид- $\beta$ -CD (135) не связывался с лектином, а соединения (134), (136) и (137), содержащие глюкозные лиганды, показали умеренную аффинность к ConA с константами диссоциации 0.11, 7.5 и 1.2 мМ соответственно. Разницу в значениях аффинности конъюгатов (134) и (136), (137) авторы объясняют большей длиной спейсера между остатком глюкозы и матрицей в случае (134), что, по-видимому, способствует пространственной доступности углеводного лиганда для связывания с лектином. Также примечательно, что аффинность конъюгата (137) с  $\gamma$ -циклодекстриновой матрицей к лектину была больше, чем у  $\beta$ -циклодекстринового производного.

Ацилирование 6-аминогексилгликозидов (141) и (143) гептациклической кислотой (140) на основе  $\beta$ -CD (схема 13) представлено в работе [68]. В каждом случае образовывалась смесь не полностью амидированных циклодекстринов. Так, в случае амина (141) основным компонентом полученной смеси был конъюгат (142) с пятью остатками галактозы, а в случае амина (143) — гликокластер (144) с четырьмя остатками глюкозамина. Далее исследовали взаимодействие соединений (142) и (144) с лектинами GSI (специфичен к галактозе) и WGA соответственно. Авторы осаждали лектины из их растворов путем добавления соответствующих гликозилированных производных циклодекстринов и измеряли массу выпавших в осадок комплексов конъюгат-лектин. Для обоих соединений (142) и (144) наблюдали проявление кластерного эффекта при взаимодействии с белками.

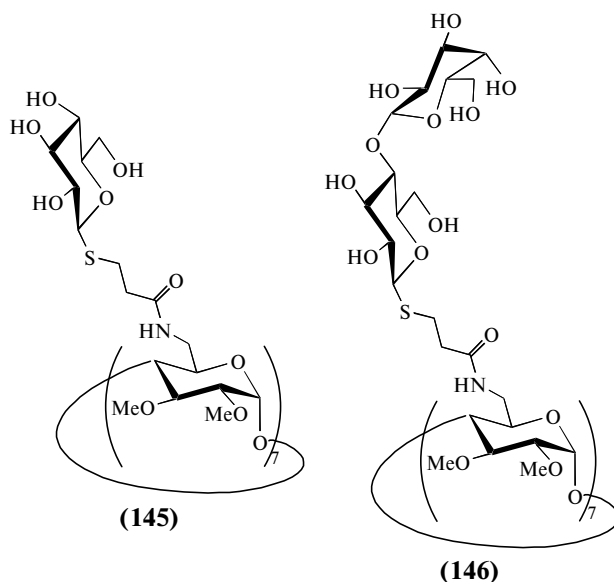


Рис. 14.

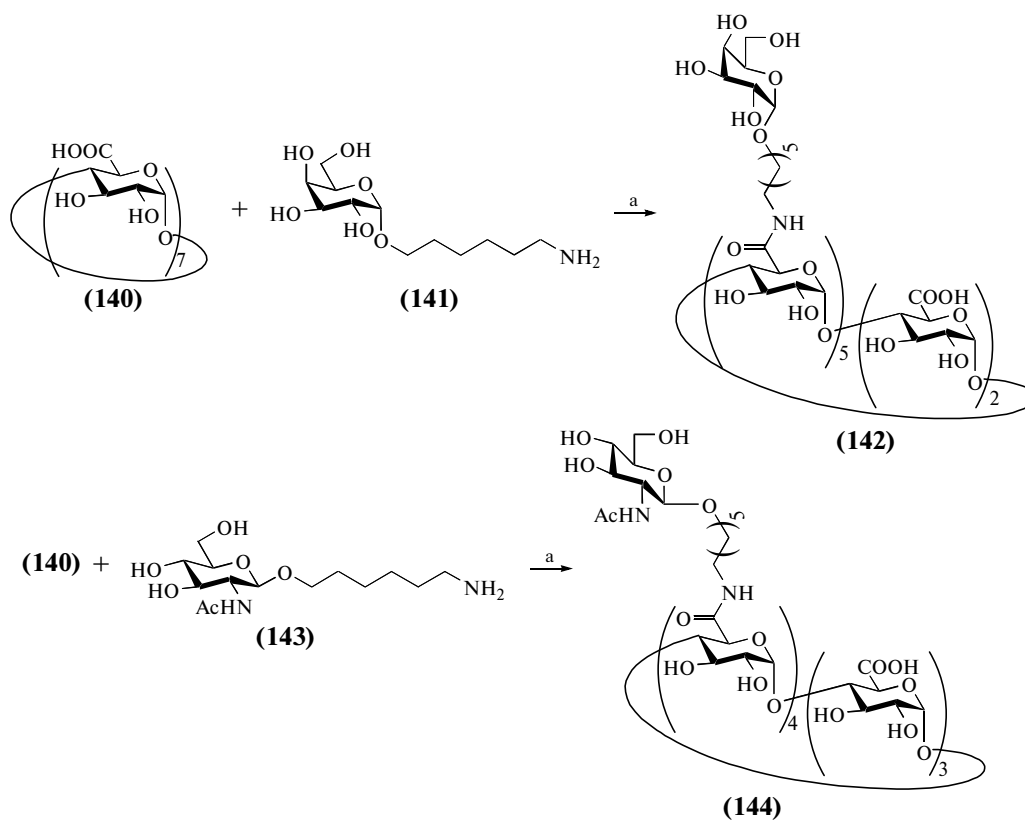


Схема 13. Реагенты и условия: а) EDAC, фосфатный буфер pH 7.0, H<sub>2</sub>O, 12 ч.

Синтезу гептазамещенных производных β-CD (145) и (146) (рис. 14), содержащих присоединенные глюкозные и галактозные заместители, посвящена работа [69]. Гликокластеры были получены ацилированием гептамина (83) соответствующи-

ми производными глюкозы и лактозы, содержащими карбоксильную группу в агликоне. В качестве конденсирующего реагента авторы использовали HBTU-BF<sub>4</sub>, тогда как такие реагенты как DCC и Py-BOP оказались неэффективны.

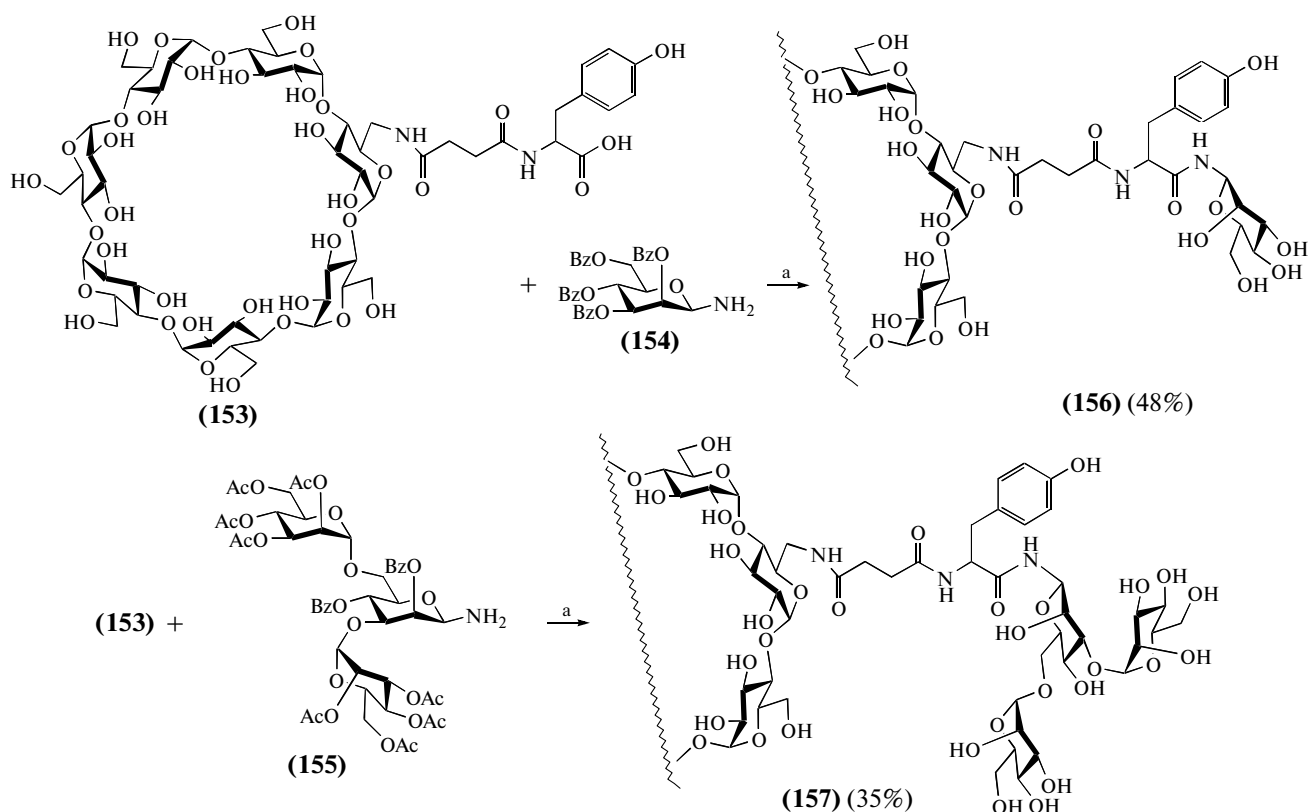


Схема 14. Реагенты и условия: а) *i.* DIC, НОВТ, DMF, 0°C, 2 ч, *ii.* MeONa, MeOH.

Бидентатные конъюгаты (147)–(152) (рис. 15) с галактозными заместителями, присоединенными через спейсеры различной длины, были получены ацилированием диаминопроизводного  $\beta$ -CD соответствующими кислотами [70]. Авторы изучили влияние длины спейсера на связывание синтезированных амидов с лектином PNA. Константы диссоциации комплексов конъюгатов с лектином были вычислены исходя из данных SPR. Были исследованы также два ранее синтезированных моно- и гептавалентных конъюгата (38) и (39) (см. рис. 5). Наибольшей аффинностью обладали соединения (151) и (152) ( $K_d$  0.22 мкМ), наименьшей – (147), (148) и (38) ( $K_d$  48–156 мкМ). Проведенные молекулярно-динамические расчеты показали, что расстояние между двумя сайтами связывания в PNA составляет 7.7 нм, и только у гликоконъюгатов (151) и (152) длина спейсеров достаточна для одновременного связывания с обоими сайтами лектина. Также с помощью SPR было показано, что конъюгаты (147)–(152) адсорбируются на иммобилизованных на SPR-чипе клетках печени крысы, причем это происходило эффективнее, чем адсорбция на иммобилизованном лектине PNA (для (148), например, более чем в 60 раз).

В рамках поиска потенциальных лекарственных соединений – ингибиторов адгезии вируса

ВИЧ был выполнен синтез новых гликоконъюгатных производных  $\beta$ -CD [71]. Целевые продукты (156) и (157) получали ацилированием маннозил-аминов (154) и (155) кислотой (153) с последующим дезацилированием по Земплеру (схема 14). Образующиеся соединения (156) и (157) из-за сложности выделения были получены с невысокими выходами. Отмечено, что конъюгаты (156) и (157), несмотря на наличие в их структуре гидрофобного пептидного спейсера, хорошо растворялись в воде (вплоть до концентрации 5–6 М).

Модификация циклодекстринов гидрофобными алифатическими группами с последующим введением гидрофильных остатков углеводов приводит к амфифильным производным. Такие соединения образуют липосомы и везикулы, которые обладают намного большей инкапсулирующей способностью, чем исходные циклодекстрины. Это очень актуально в свете поиска новых средств адресной доставки лекарств. Например, был синтезирован амфифильный гликоконъюгат (159) (схема 15), вторичные гидроксильные группы которого ацилированы капроновой кислотой [72]. Конъюгат был получен ацилированием моноамина (158) кислотой (132) (см. схему 12) с выходом 42%.

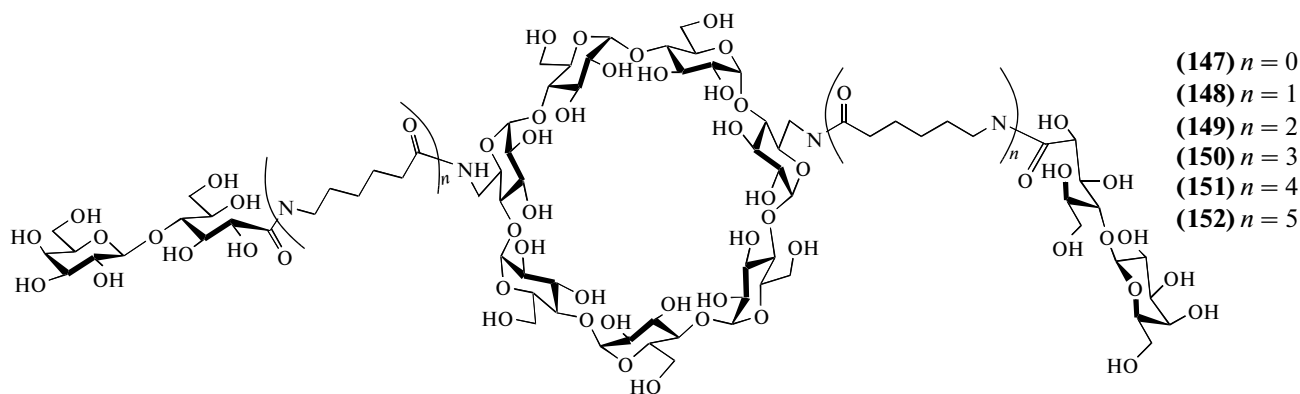


Рис. 15.

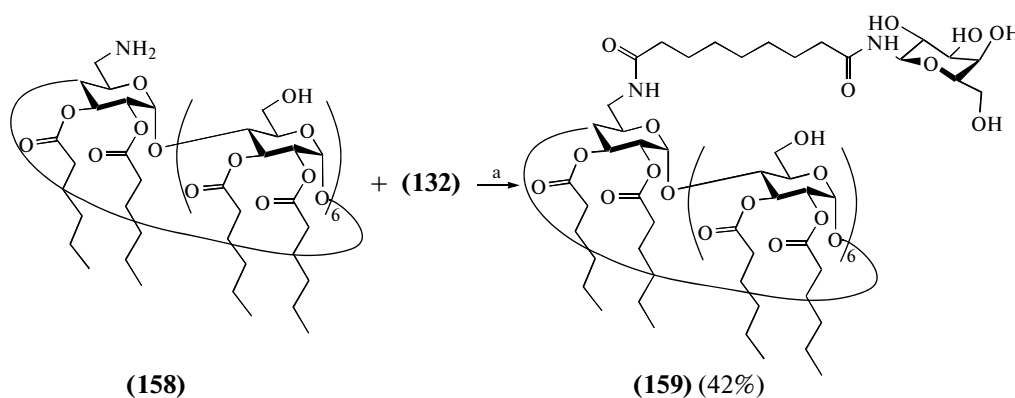


Схема 15. Реагенты и условия: а) DCC, НОВТ, DMF.

Моновалентный глюкоциклодекстрин (**161**) был получен путем ацилирования моноамина (**76**) кислотой (**160**) в присутствии конденсирующего реагента диметилтиофосфенилхлорида с последующим гидронолизом бензильных групп (схема 16) [49]. Выход конъюгата (**161**) составил 63% (в расчете на две стадии). Аналогичным образом был получен циклодекстрин (**163**), функционализированный остатком спейсерированного глюкозамина [50].

Вирусный гликопротеин gp120 участвует в начальных стадиях процесса распознавания вирусов макрофагами. В это взаимодействие вовлечены маннозные олигосахаридные цепи гликопротеина [73]. Синтез конъюгатов манноолигосахаридов с циклодекстринами для использования их в качестве имитаторов гликопротеина gp120 описан в работе [74]. Так, были получены пять новых монозамещенных производных  $\beta$ -CD (**164**)–(**168**) с углеводными лигандами  $R^1$  и  $R^2$  (рис. 16). Для присоединения три- и пентаманнозидных фрагментов ( $R^1$  и  $R^2$ ) к матрице использовали реакцию

$N$ -ацилирования в присутствии DIC и НОВт. Пентасахаридный лиганд  $R^2$ , содержащий  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  3)- и  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  6)-связи, отвечает природному фрагменту, в то время как триманнозидный лиганд  $R^1$  представлен не встречающейся в природе структурой с  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  3)- и  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  4)-связями. Взаимодействие полученных гликоконъюгатов с лектином ConA исследовали методом ELLA. Распознавание лектином ConA олигоманнозидных лигандов моделирует взаимодействие таких лигандов с рецептором на поверхности макрофагов [75]. Результаты исследований показали, что влияние длины пептидного спейсера на связывание минимально: аффинность конъюгатов в парах (**164**), (**165**) и (**167**), (**168**) была почти одинакова. Конъюгат (**166**) оказался в три раза активнее, чем (**164**) и (**165**), что согласуется с его большей дендратностью. Тем не менее, гликоконъюгаты (**164**)–(**166**), содержащие неприродные трисахаридные фрагменты, в целом связывались с ConA в 10–30 раз хуже, чем конъюгаты (**167**) и (**168**).

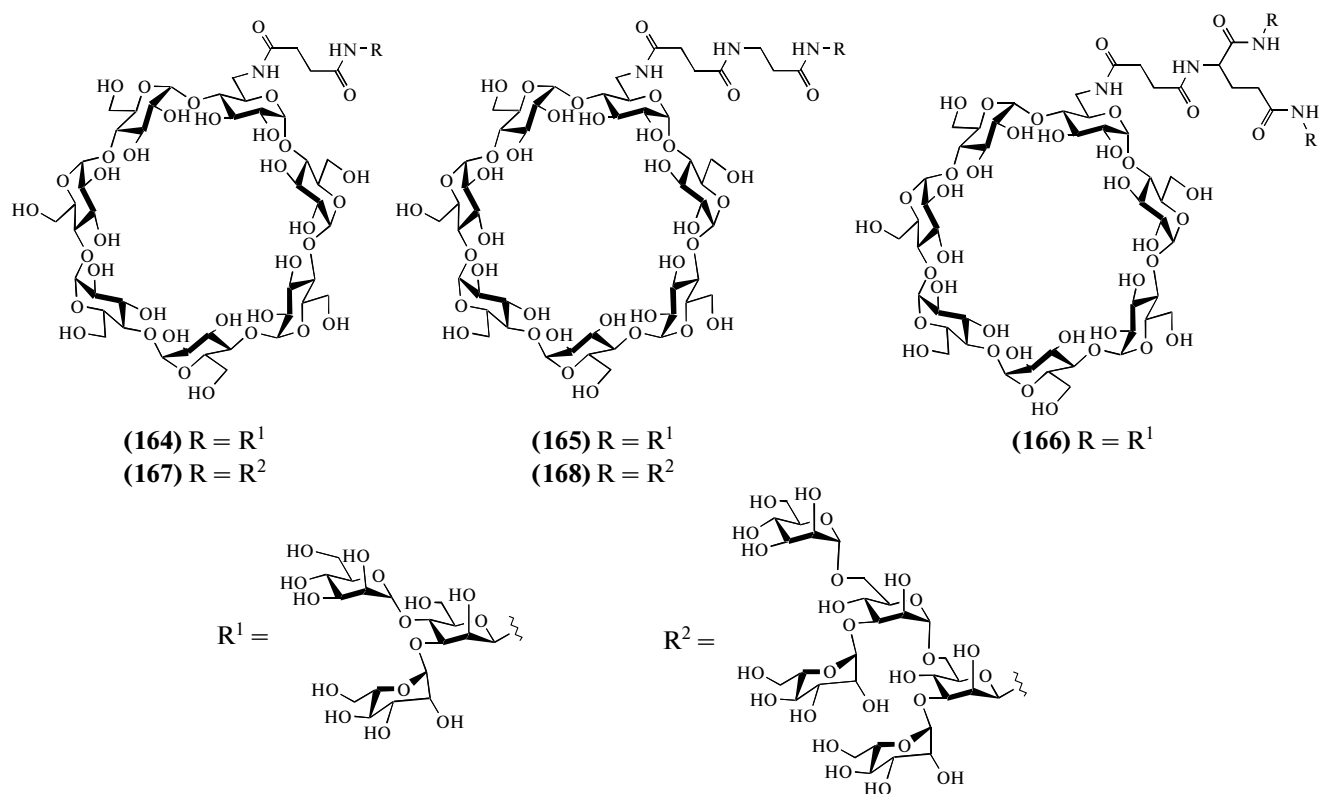
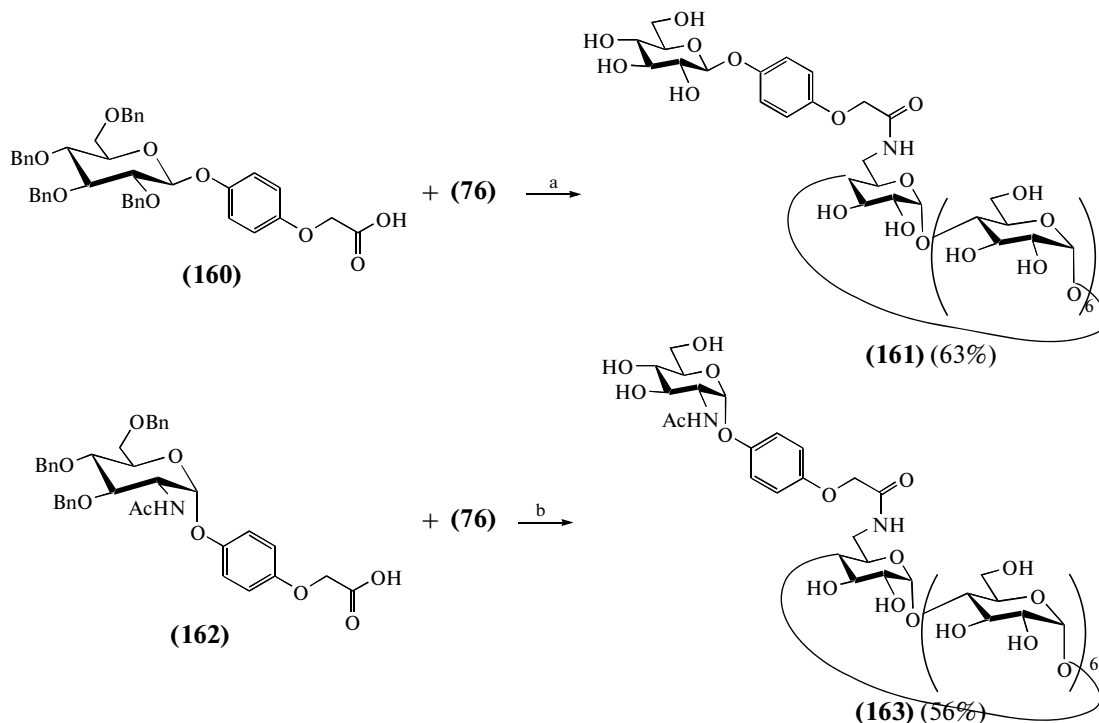


Рис. 16.



**Схема 16.** Реагенты и условия: а) *i.*  $\text{Me}_2\text{P}(\text{S})\text{Cl}$ ,  ${}^i\text{Pr}_2\text{NEt}$ , DMF, *ii.*  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ , MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$ ; б) *i.*  $\text{Me}_2\text{P}(\text{S})\text{Cl}$ ,  ${}^i\text{Pr}_2\text{NEt}$ , DMF, *ii.*  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd}(\text{OH})_2$ , DMF.



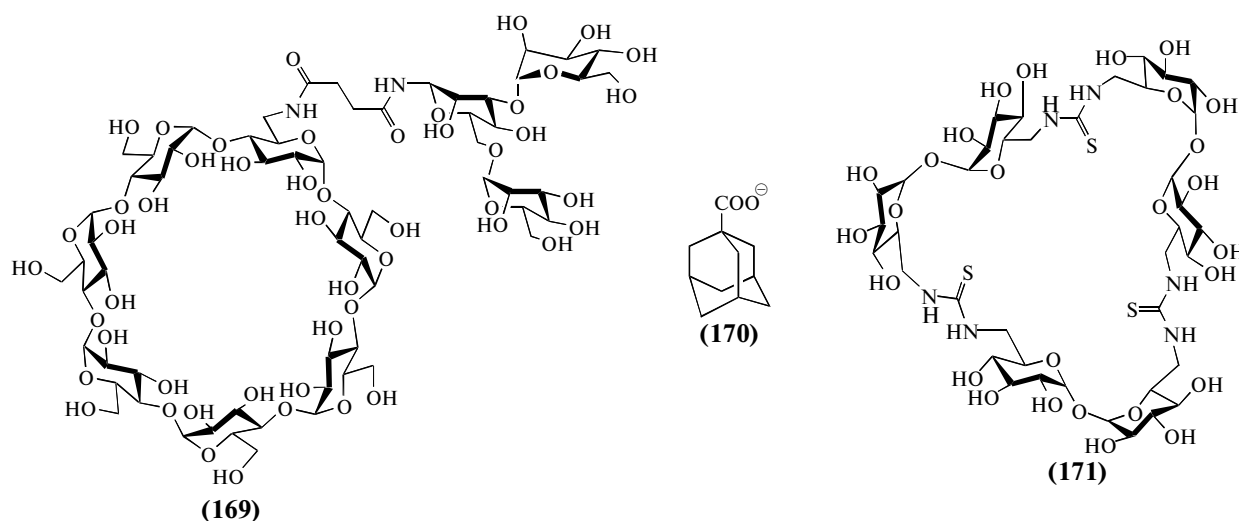


Рис. 17.

Синтез конъюгата (**169**) (рис. 17) был осуществлен по аналогии с синтезом соединений (**164**)–(**168**) (см. рис. 16) [76]. Авторы исследовали методом ELISA взаимодействие конъюгатов (**157**) (см. схему 14) и (**169**) с лектином ConA. Концентрация 50%-ного ингибирования для (**169**) составила 21 мкМ, в то время как соединение (**157**) не взаимодействовало с лектином вплоть до концентрации 1 мМ. Однако при добавлении к конъюгату (**157**) трехкратного избытка адамантан-1-карбоксилата (**170**) аффинность лиганда к ConA значительно возросла ( $IC_{50}$  22 мкМ). Такая же добавка никак не влияла на связывание соединения (**169**) с лектином. Авторы объясняют такое поведение конъюгатов тем, что в составе соединения (**157**) имеется гидрофобный остаток тирозина, который внедряется в полость циклодекстриновой матрицы, в результате чего соединение (**157**) принимает невыгодную для связывания с лектином конформацию. С другой стороны, при добавлении адамантан-1-карбоксилата, легко образующего комплекс включения с  $\beta$ -CD [77], последний вытесняет остаток тирозина из гидрофобной полости циклодекстрина, и конформация конъюгата (**157**) становится приемлемой для связывания с ConA. Процессы образования и разложения комплекса гость–хозяин обратимы, так же как и процесс взаимодействия лиганд–лектин. Поэтому при добавлении к системе (**157**–**170**)–ConA тримера (**171**), способного образовывать с адамантан-1-карбоксилатом (**170**) еще более прочные комплексы, чем  $\beta$ -CD, соединение (**157**) возвращается в свою неактивную конформацию и его связь с лектином разрушается.

Твердофазный синтез монозамещенных производных циклодекстринов впервые продемонстрирован в работе [78]. Фенилглюкозид иммобилизовали на подложке Novagel<sup>®</sup> с помощью фосфодиэфирного мостика. Дальнейшее фосфо-

рирование  $\beta$ -циклодекстрина (**173**) соединением (**172**) в присутствии конденсирующего реагента 1-мезителенсульфонил-3-нитро-1,2,4-триазола (схема 17) приводило к конъюгату (**174**).

В нашей лаборатории, в ходе синтеза линейных олиго- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-*D*-глюкозаминных лигандов для создания конъюгированной вакцины против *Staphylococcus aureus* (золотистый стафилококк) [79] и ряда других опаснейших бактериальных и не бактериальных патогенов [80], путем циклизации соответствующих линейных предшественников [81, 82] впервые были получены циклические олигосахариды нового типа – циклоолиго- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-*D*-глюкозаминны, содержащие от 2 до 7 моносахаридных звеньев (на рис. 18 в качестве примера показана структура тетрамера (**175**)). Кроме этого разработаны подходы к получению гибридных соединений, построенных из чередующихся в требуемом порядке *D*-глюкоз-аминовых и *D*-глюкозных звеньев, например, циклических тетрасахаридов (**179**) и (**181**), содержащих по два остатка *D*-глюкозамина и *D*-глюкозы, соединенных в разной последовательности [83, 84]. Отличительными чертами таких матриц для синтеза гликоконъюгатов по сравнению с рассмотренными выше циклодекстриновыми матрицами являются: 1) отсутствие ярко выраженной гидрофобной полости, что препятствует образованию комплексов включения и нежелательным неспецифическим взаимодействиям с биообъектами; 2) гибкая структура [84] как следствие наличия конформационно подвижных (1  $\rightarrow$  6)-гликозидных связей, позволяющая гликоконъюгатам на основе этих матриц принимать наиболее предпочтительную конформацию для эффективного связывания с лектином-рецептором; 3) присутствие удобных для функционализации аминогрупп в C2-положении глюкозаминных звеньев;

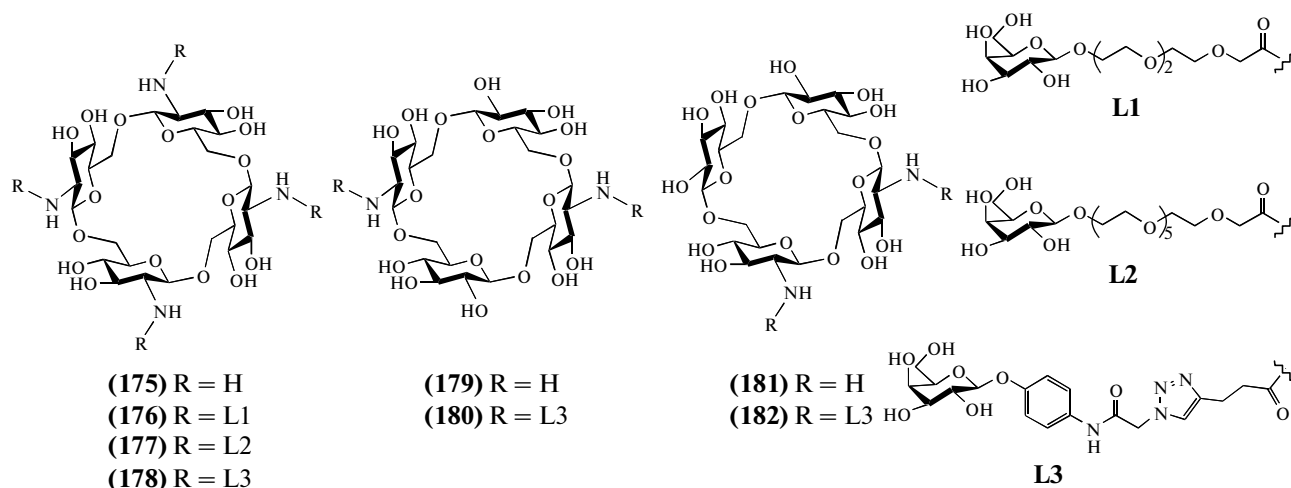


Рис. 18.

4) возможность синтеза конъюгатов различной денатности путем варьирования числа остатков глюкозамина в цикле; 5) возможность создания соединений с различным взаимным расположе-

нием лигандов на основе циклов, содержащих остатки *D*-глюкозы и *D*-глюкозамина в различной последовательности (например, соединения (180) и (182)).

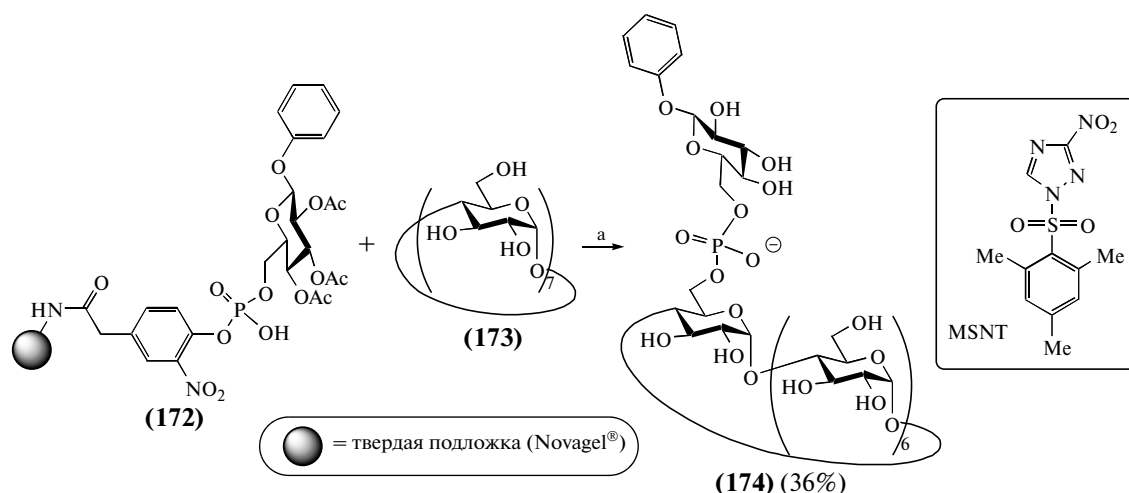


Схема 17. Реагенты и условия: а) *i.* MSNT, Py, 16 ч, *ii.*  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 50°C, 1 ч.

Ацилирование аминогрупп в остатках *D*-глюкозамина пentaфторфениловыми и *N*-сукцинимидильными эфирами – производными лигандов L1–L3 приводило с высокими выходами (65–88%) к образованию гликоконъюгатов нескольких типов, включая соединения (176)–(178), (180) и (182) [85], способность которых взаимодействовать с бактериальным адгезином *Леса P. aeruginosa* будет обсуждаться в следующем разделе.

### ГЛИКОКОНЪЮГАТЫ НА ОСНОВЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ И ЦИКЛООЛИГО-(1 → 6)-β-*D*-ГЛЮКОЗАМИНОВ, ПОЛУЧЕННЫЕ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ 1,3-ДИПОЛЯРНОГО ЦИКЛОПРИСОЕДИНЕНИЯ

Эффективным современным методом сшивки различных молекул является так называемая click-реакция, предложенная Шарплессом с сотрудниками [86] и базирующаяся на 1,3-диполяр-

ном циклоприсоединении азидов к алкинам с образованием 1,2,3-триазолов [87]. Основными причинами популярности данной реакции у химиков-синтетиков являются: (1) техническая легкость осуществления; (2) высокие выходы (зачастую количественные); (3) региоспецифичность присоединения. Особенно эффективен каталитический вариант реакции в присутствии солей меди(I).

Один из первых примеров использования реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения в синтезе гептадентатного конъюгата  $\beta$ -CD с галак-

тозными лигандами описан в работе [88]. В данном случае для получения гликокластера использовали некатализируемое циклоприсоединение. Гептапропаргилированный циклодекстрин (184) вводили во взаимодействие с галактопиранозилнитрилоксидом, генерируемым *in situ* из нитросоединения (183), в результате чего получали целевой гликоконъюгат (185) с изоксазольным спейсером (схема 18). Необходимо отметить, что циклоприсоединение нитрилоксидов к тройной связи происходит региоспецифично.

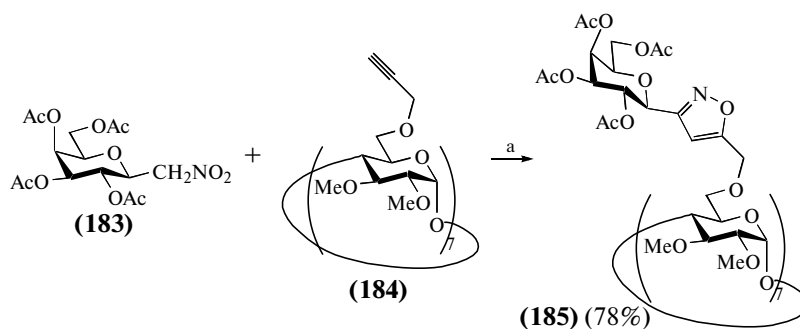


Схема 18. Реагенты и условия: а)  $C_6H_5NCO$ ,  $Et_3N$ , толуол,  $110^\circ C$ , 24 ч.

Моно- и гептадентатные гликопроизводные  $\beta$ -CD были синтезированы с использованием на ключевой стадии синтеза – присоединении к циклодекстриновой матрице маннозных остатков – Cu(I)-катализируемой реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения моно- и гептаази-

дов (187) и (190) и алкинов (186) и (189) (схема 19) [89]. Данная методика, доказавшая свою эффективность и универсальность на множестве других примеров, привела к образованию с высокими выходами целевых гликоконъюгатов (188), (191) и (192).

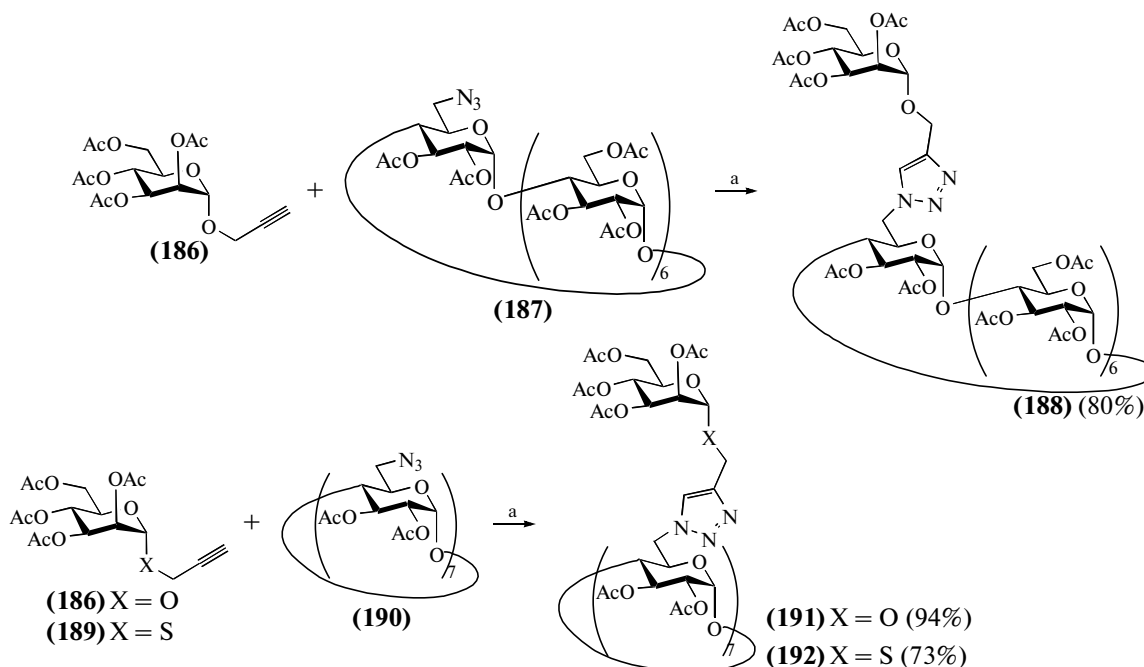
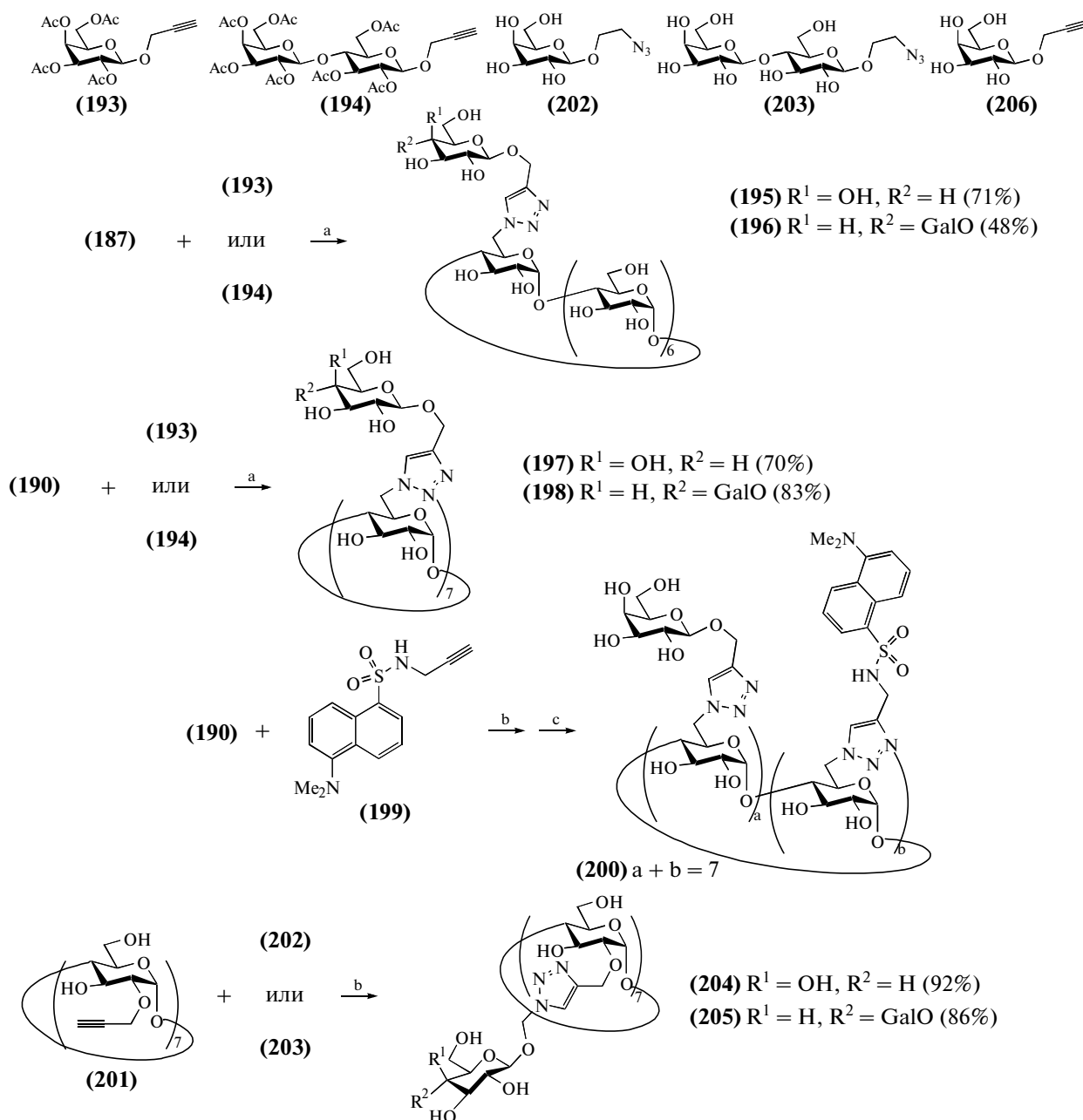


Схема 19. Реагенты и условия: а) *i.*  $(EtO)_3P \cdot CuI$ ,  $iPr_2NEt$ ,  $\mu W$ .

Бактериальный эндотоксин (липополисахарид, LPS), являющийся компонентом внешней мембраны грамотрицательных бактерий [90, 91], активирует моноциты и макрофаги для продуцирования провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) [92]. В рамках поиска синтетических аналогов LPS – активаторов моноцитов/макрофагов – был осуществлен синтез моно- и олигодентатных гликоконъюгатов на основе циклодекстринов [93]. Для соединения моно- и дисахаридов с матрицей использовалась реакция 1,3-циклоприсоединения. Так, из моно- и гепта-

азидов (**187**) и (**190**) (см. схему 19) и пропаргилгликозидов (**193**), (**194**) были получены с высокими выходами соответствующие гликоконъюгаты (**195**)–(**198**) (схема 20). Последовательная обработка соединения (**190**) дансильным производным (**199**) и галактозидом (**206**) привела к образованию смеси (**200**), компоненты которой содержали различное количество остатков красителя и галактозы. Использование флуоресцентно-меченных соединений позволяет облегчить описание некоторых биологических исследований на количественном уровне.



**Схема 20.** Реагенты и условия: а) *i.*  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DMF, 90°C,  $\mu\text{W}$ , 15 мин, *ii.* MeOH,  $\text{Et}_3\text{N}$ ; б)  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DMF, 90°C,  $\mu\text{W}$ , 15 мин; в) *i.* (**206**),  $(\text{EtO})_3\text{P} \cdot \text{CuI}$ , DMF, 90°C,  $\mu\text{W}$ , 15 мин, *ii.* MeOH,  $\text{Et}_3\text{N}$ .

Гликоконъюгаты (**204**) и (**205**), функционализированные по вторичному гидроксилу, были получены с целью изучения влияния характера расположения углеводных лигандов в конъюгате на способность последних активировать моноциты/макрофаги. Активирующую способность неогликоконъюгатов оценивали измерением с помощью микроскопии адгезии моноцитарной линии клеток человека U-937. В результате проведенных экспериментов были сделаны следующие выводы: 1) все исследованные соединения промотировали адгезию клеток, а флуоресцентная метка в соединении (**200**) слабо влияла на активность гликоконъюгатов; 2) лактозилсодержащие конъюгаты продемонстрировали больший уровень адгезии, чем галактозилсодержащие (только в случае моновалентных производных (**195**) и (**196**) наблюдали обратную картину); 3) олигодентатность и характер расположения углеводных лигандов незначительно влияли на клеточную адгезию, вызываемую гликоконъюгатами.

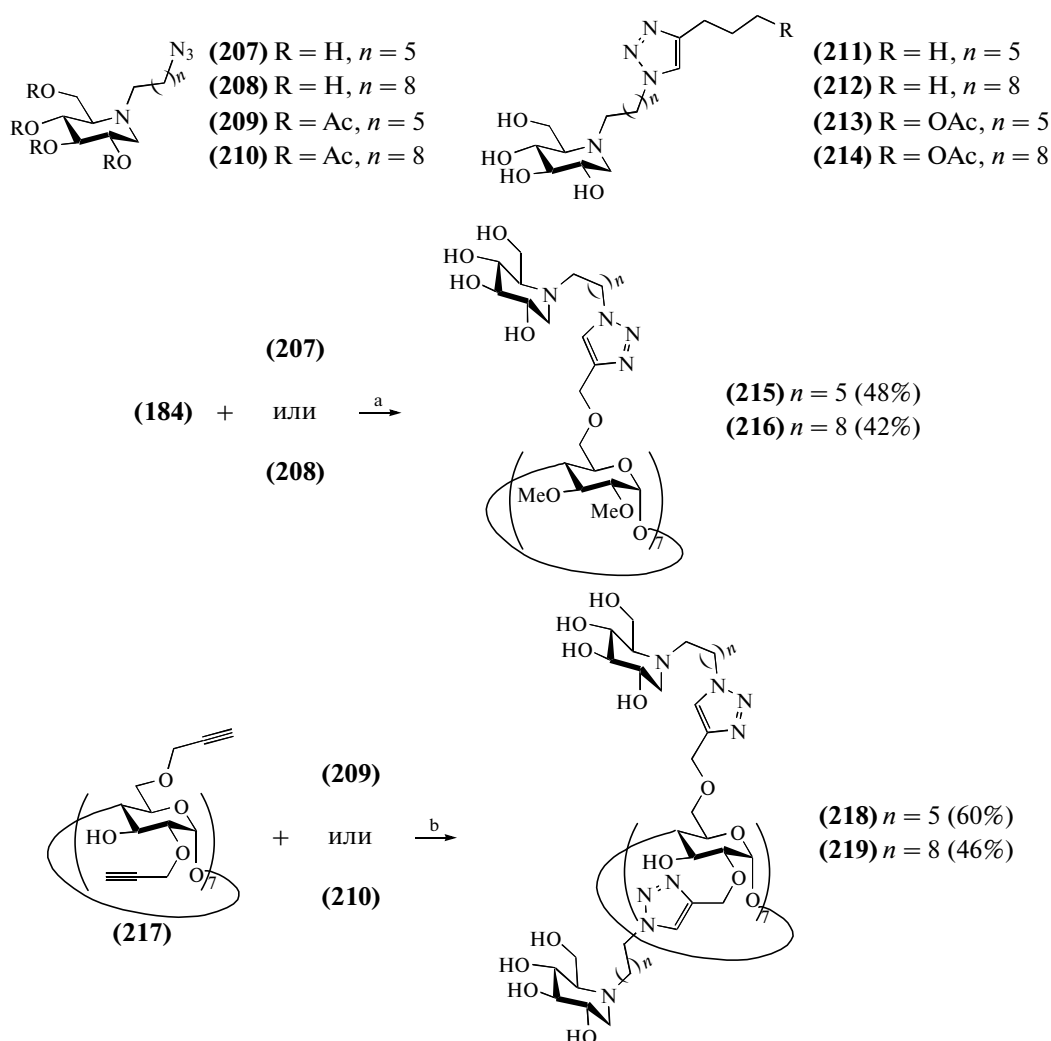
Была также выполнена серия экспериментов по оценке способности гликокластера (**200**) стимулировать макрофагальную клеточную линию RAW 264.7 на выработку провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$ . С помощью измерения флуоресценции было показано, что смесь (**200**) связывается с плазматической мембраной клеток RAW. Если исследования проводили с LPS-стимулированными клетками RAW, то связывание гликокластера (**200**) с клетками уменьшалось, что свидетельствовало о наличии конкуренции за одни и те же мембранные рецепторы между ним и LPS. Специальный эксперимент по изучению влияния ионов кальция на связывание показал, что клетки, инкубированные в  $\text{Ca}^{2+}$ -содержащей среде, значительно лучше связываются с конъюгатом (**200**), чем в отсутствие иона металла. Собственно стимулирующий эффект гликоконъюгата (**200**) был измерен при 18-часовой инкубации клеток RAW 264.7 в его растворе. В качестве положительного контроля клетки также инкубировали с LPS. Результаты показали, что конъюгат (**200**) при концентрации 400 мкг/мл стимулировал образование провоспалительного цитокина TNF- $\alpha$  приблизительно на том же уровне, что и LPS.

Селективный ферментативный гидролиз гликозидных связей чрезвычайно важен для широкого ряда биологических процессов, в частности катаболизма гликоконъюгатов. Поэтому синтетические ингибиторы гликозидаз интересны как модельные субстраты для выяснения вопросов фундаментальной биологии, а также с точки зрения разработки новых лекарственных средств [94]. Однако в отличие от большинства лектинов гликозидазы имеют только один сайт связывания углеводов, что ставит вопрос о целесообразности поиска именно олигодентатных лигандов для таких ферментов.

В работе [95] была предпринята попытка синтеза таких ингибиторов. С помощью Cu(I)-катализируемой реакции [3+2]-циклоприсоединения были синтезированы гликоконъюгаты (**215**), (**216**) и (**218**), (**219**), содержащие по семь или четырнадцать остатков 1-дезоксинаоджиримицина (1-deoxynojirimycin) (схема 21), широко используемого ингибитора гликозидаз. Собственно реакции циклоприсоединения проходили быстро и количественно (судя по ТСХ), однако очистка продуктов была трудоемкой, что сказалось на выходе целевых конъюгатов. Также были синтезированы моновалентные соединения сравнения (**211**)–(**214**). Ингибирующую способность гликокластеров определяли спектрофотометрически в отношении остаточной гидролитической активности тестируемых гликозидаз против соответствующих *o*- и *n*-нитрофенил  $\alpha$ - или  $\beta$ -гликопиранозидов.

Наиболее впечатляющие результаты были получены для  $\alpha$ -маннозидазы из *C. ensiformis*. Так, константы ее ингибирования моновалентными производными (**211**)–(**214**) составили 188–322 мкМ, а для соединений (**215**), (**216**), (**218**) и (**219**) – 0.022–7.7 мкМ. Тетрадекаконъюгат (**219**) оказался почти в 9000 раз (т.е. в 640 раз в расчете на один остаток дезоксиноджиримицина) эффективнее, чем соответствующее соединение сравнения, что говорит о существенном проявлении кластерного эффекта. Таким образом, авторы полагают, что продемонстрировали, что концепция мультидентатности выходит за рамки процессов распознавания углеводов-лектин и применяется также к процессам взаимодействия углеводов-фермент. Отметим, что наблюдаемые эффекты могли проявляться и в результате увеличения локальной концентрации гликозильных остатков конъюгата в области активного центра фермента, что напрямую не связано с кластерными эффектами.

Изучение биологической активности гликокластеров (**215**), (**216**), (**218**) и (**219**) (см. схему 21) было продолжено в рамках проекта по поиску фармацевтических средств для лечения наследственной болезни Гоше, характеризующейся накоплением глюкоцереброзидов в клетках селезенки, печени и костном мозге [96–99]. Причина данной болезни заключается в недостаточном продуцировании у пациента гликозидазы, участвующей в катаболизме гликофинголипидов в лизосомах. Суть терапевтического действия ингибитора гликозидазы состоит в предотвращении накопления неметаболизируемых продуктов, образующихся при действии этой гликозидазы. В этой связи изучалась способность синтезированных гликоконъюгатов (**215**), (**216**), (**218**) и (**219**) ингибировать человеческую гликозидазу (цередазу) *in vitro* [100].



**Схема 21.** Реагенты и условия: а)  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , аскорбат натрия, 2,6-лутидин, THF,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $120^\circ\text{C}$ ,  $\mu\text{W}$ , 1 ч; б) *i.*  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , аскорбат натрия, DMF,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $80^\circ\text{C}$ ,  $\mu\text{W}$ , 25 мин, *ii.* Amberlite IRA 400 ( $\text{OH}^-$ ), MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$ .

Наряду с указанными олигодентатными конъюгатами исследовались также монодентатные производные ноджиримицина (**211**)–(**214**) (см. схему 21). Ключевым фактором, определяющим эффективность ингибирования, оказалась длина спейсера. Так, наиболее активными конъюгатами были соединения (**216**) и (**219**) с  $\text{C}_9$ -спейсером. Гептамер (**216**) оказался в 200 раз активнее соответствующего мономерного ингибитора (**212**). Менее впечатляющие результаты были получены при испытании ингибитора (**216**) *in vivo* на фибробластах клеточной линии N370S, взятых у больных болезнью Гоше, при использовании в качестве реагента для сравнения мономерного производного (**214**). Оба соединения показали примерно одинаковое максимальное 1.5-кратное увеличение гликозидазной активности при концентрации 10 мкМ. Авторы полагают, что такое понижение активности

для (**216**) в эксперименте *in vivo* связано с недостаточным проникновением гептаконъюгата (**216**) в клетку по сравнению с относительно небольшой молекулой (**214**).

Авторами данного обзора была синтезирована серия блокаторов адгезина LecA бактерии *P. aeruginosa* (лектин, специфично распознающий галактозильные остатки) нового типа [85] на основе циклических олиго- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-*D*-глюкозаминов и гибридных структур, построенных из  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-связанных *D*-глюкозаминильных и *D*-глюкозильных остатков [81–84]. Ряд целевых гликоконъюгатов ((**176**)–(**178**), (**180**) и (**182**), см. рис. 18) был получен *N*-ацилированием аминогрупп циклических матриц, в то время как другая серия была получена с помощью Cu(I)-катализируемого циклоприсоединения азид–алкин под воздействием микроволнового излучения. Так, например, с выходом

86% был синтезирован гликокластер (**222**) (схема 22). Следует отметить, что выбор длины линкеров **L1–L3** (см. рис. 18), связывающих галактозные лиганды с циклоолигосахаридной матрицей, был обусловлен, в первую очередь, геометрическими параметрами лектина. Наименьшее расстояние

между двумя соседними сайтами связывания в ЛесА составляет 32 Å. Длина линкеров находится в диапазоне 20–30 Å и этого должно быть достаточно для одновременного взаимодействия двух лигандов одной молекулы гликокластера с соответствующими сайтами связывания лектина.

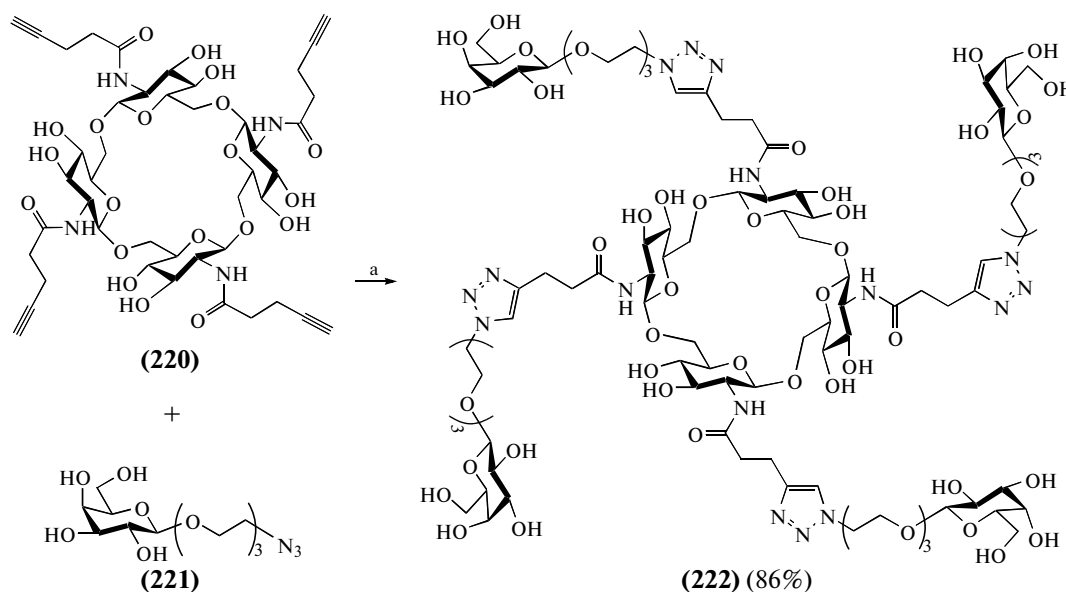


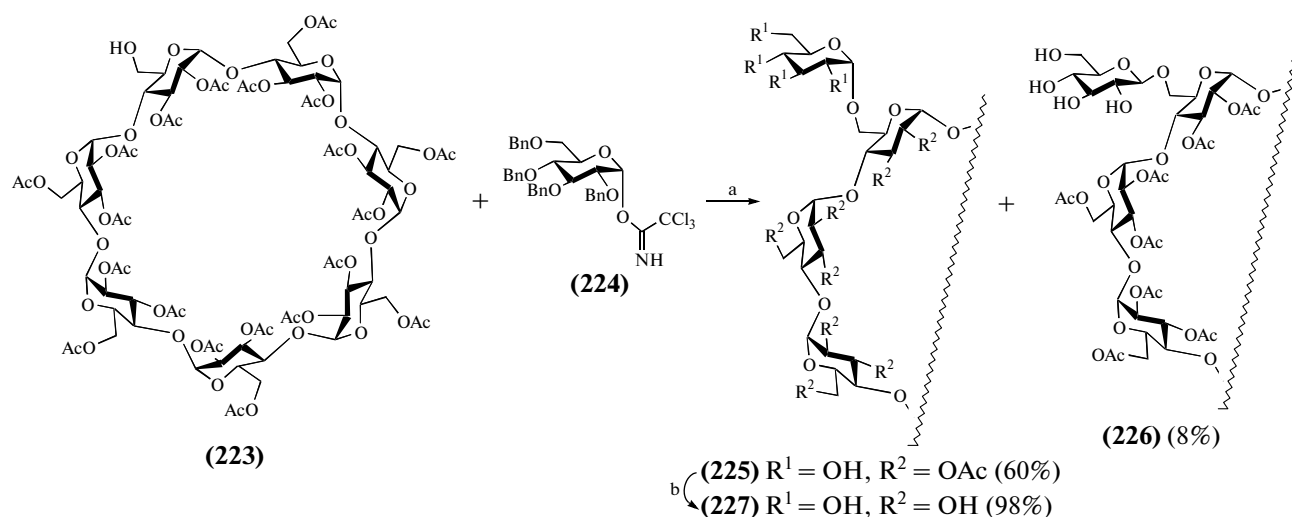
Схема 22. Реагенты и условия: а)  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , аскорбат натрия,  $\text{MeOH}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $70^\circ\text{C}$ ,  $\mu\text{W}$ , 15 мин.

С применением методов НИА, ELLA и ИТС было изучено взаимодействие тетрагалактозидов (**176**)–(**178**) и (**222**) с лектином ЛесА (в качестве мономерного соединения сравнения использовали метил- $\beta$ -D-галактопиранозид). Гликоконъюгаты на основе циклических олиго- $\beta$ -(1 → 6)-D-глюкозаминовых матриц оказались очень эффективными блокаторами лектина ЛесА и проявили значительный кластерный эффект. По данным изотермического микрокалориметрического титрования (ИТС), константа диссоциации комплекса соединения (**178**) с белком составила 79 нМ, что является наилучшим значением для синтезированных на данный момент блокаторов ЛесА. Тетрагалактозиды (**176**)–(**178**) и (**222**) отличаются друг от друга только степенью жесткости и гидрофобности спейсеров, увеличивающейся в ряду: (**176**)  $\approx$  (**177**) < (**222**) < (**178**). Аффинность конъюгатов меняется в этом же порядке. Это свидетельствует о важности вклада гидрофобных взаимодействий в процессе распознавания блокатор–лектин. Критическое значение характера взаимного пространственного расположения углеводных лигандов было показано на примере конъюгатов (**180**) и (**182**), в которых остатки галактозы ориентированы либо диагонально, либо под прямым углом друг к другу. Различные методики исследования связывания с ЛесА показали, что соединение (**180**) по своей активности в 3–8 раз превосходит (**182**). Таким образом, диагональ-

ная ориентация галактозных лигандов является более предпочтительной для эффективного взаимодействия с лектином.

### ДРУГИЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ГЛИКОКОНЬЮГАТОВ НА ОСНОВЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ

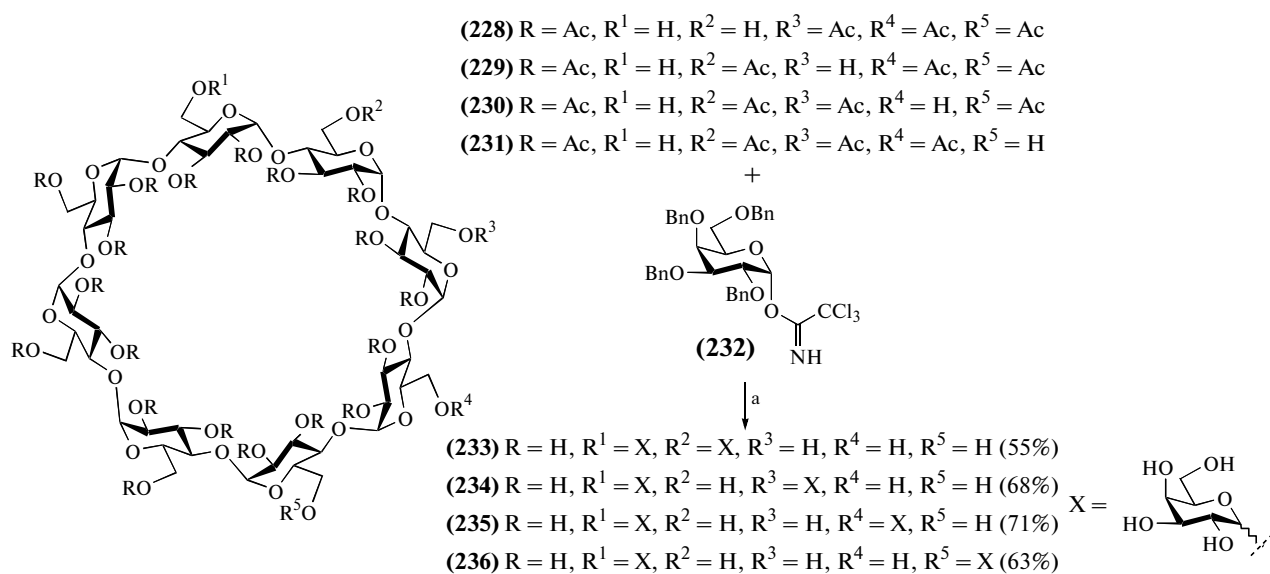
Помимо уже представленных нами, описан также ряд методов синтеза гликоконъюгатов на основе циклодекстринов, опробованных на единичных примерах и пока не получивших дальнейшего систематического развития, однако достойных упоминания в данном обзоре. Одним из таких методов является прямое гликозилирование одной или нескольких первичных гидроксильных групп в циклодекстриновых производных. Так, реакция  $\beta$ -CD с *трет*-бутилдиметилсилилхлоридом в пиридине с последующим ацелированием и десилилированием приводит к ацелированному производному  $\beta$ -CD (**223**) с единственной свободной 6-ОН-группой. В результате гликозилирования последнего трихлорацетимидатом глюкозы (**224**) и дебензилирования была получена аномерная смесь моногликозилированных цикломальтоолигосахаридов (**225**) и (**226**) (схема 23) [101]. Основной продукт (**225**) выделяли, дезацелировали по Земплени и получали целевой гликоконъюгат (**227**).



**Схема 23.** Реагенты и условия: а) *i.* TfOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, молекулярные сита 4 Å, -20°C, 30 мин,  
*ii.* H<sub>2</sub>, Pd/C, AcOH, 12 ч; б) MeONa, MeOH.

Описано получение дивалентных гликоконъюгатов на основе  $\gamma$ -циклодекстрина [102]. Галактозилирование региоизомерных диолов (228)–(231) трихлорацетимидатом (232) с последующим удалением защитных групп приводило к целевым соединениям (233)–(236) (схема 24). Каждый из конъюгатов (233)–(236) был получен в виде смеси стереоизомеров ( $\alpha\alpha$ ,  $\alpha\beta$ ,  $\beta\alpha$ ,  $\beta\beta$ ), из которой в

дальнейшем были выделены и охарактеризованы главные компоненты –  $\alpha\alpha$ -стереоизомеры. Реакции гликозилирования протекали с выходами 67–75%. Этой же группой авторов были получены гликозилированные производные  $\gamma$ -CD, аналогичные соединениям (233)–(236), но содержащие глюкозные лиганды [103].



**Схема 24.** Реагенты и условия: а) *i.* Me<sub>3</sub>SiOTf, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, молекулярные сита 4 Å, -20°C, 1 ч,  
*ii.* H<sub>2</sub>, Pd/C, MeOH, 1 ч, *iii.* MeONa, MeOH.

Исторически первой публикацией, в которой описано присоединение углеводных остатков к  $\beta$ -CD не только по первичным гидроксильным группам, но и по вторичным (при C-2), является

сообщение [104]. Конъюгаты (240), (243) и (246) (схема 25) были получены фотохимическим присоединением тиола (237) к пер-2-аллил-, пер-6-аллил- и пер-2,6-диаллил- $\beta$ -циклодекстринам



(239), (242) и (245) соответственно с последующим удалением защитных групп. Выходы реакций присоединения составили 42–70%. В случае 14-валентного соединения (246) усредненный

выход присоединения каждого глюкозного остатка составил 97%. Аналогичным образом были получены гликокластеры (241), (244) и (247) с остатками лактозы (схема 25) [105].

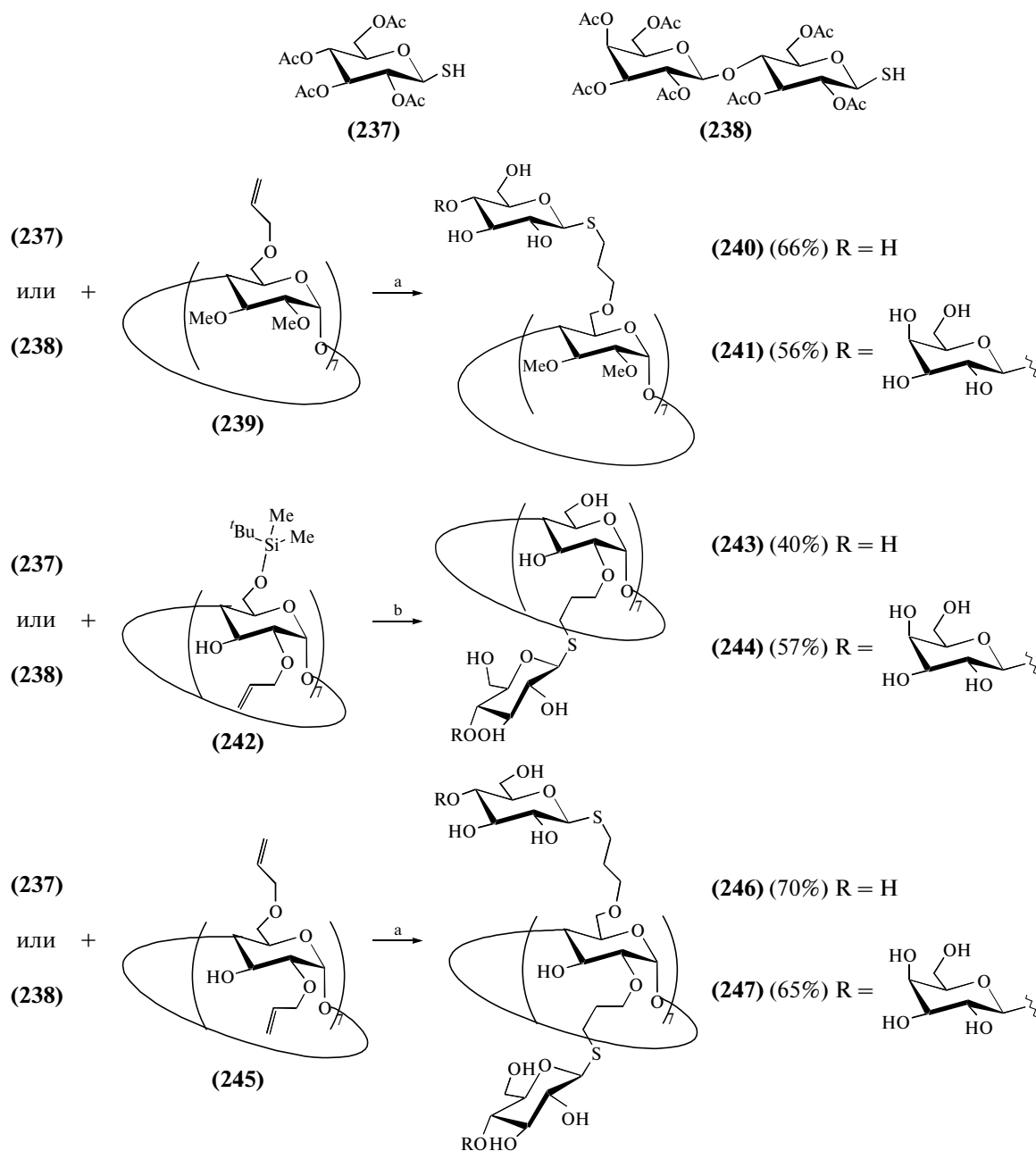
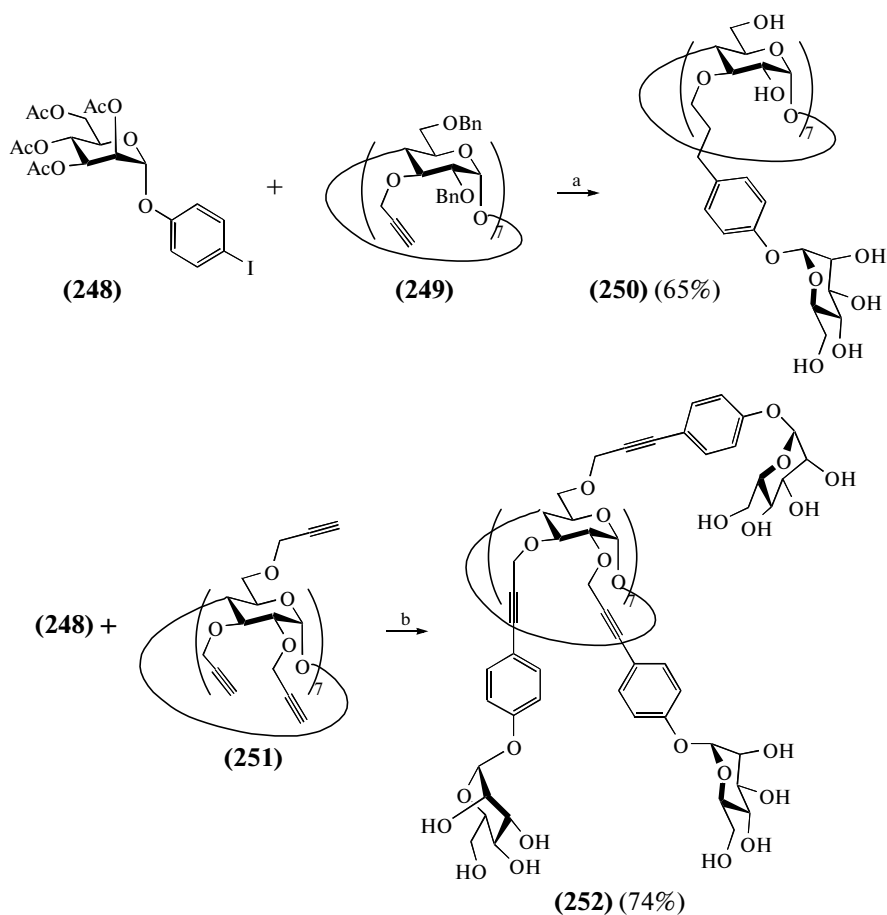


Схема 25. Реагенты и условия: а) *i. hv*, MeOH, 5 ч, *ii. MeONa*, MeOH; б) *i. hv*, MeOH, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>, 5 ч, *ii. BF<sub>3</sub> · Et<sub>2</sub>O*, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 4 ч, *iii. MeONa*, MeOH.

Получение производного β-CD (250) (схема 26), содержащего при O3 спейсерированные остатки маннозы, впервые описано в работе [106]. 4-Иодфенил-α-D-маннопиранозид (248) и гептапропаргил-β-CD (249) вводили в реакцию кросс-сочетания Соногаширы и после удаления защитных групп и

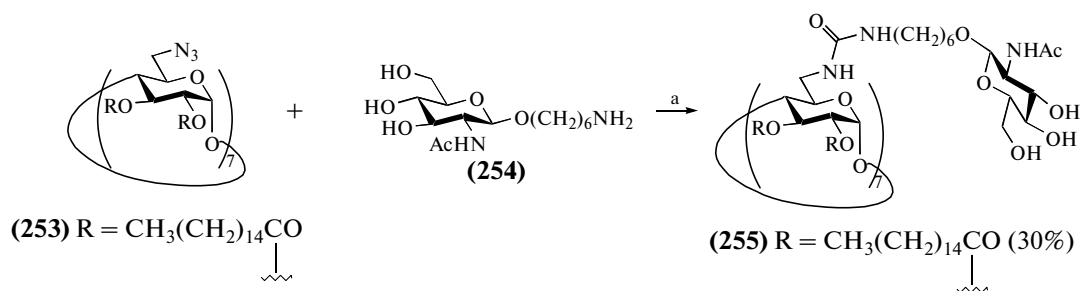
гидрирования тройной связи с высоким выходом получали целевой продукт (250). Аналогичным образом из перпропаргиллированного производного β-CD (251) был получен 21-денатный гликокластер (252). В этом случае усредненный выход присоединения каждого остатка маннозы составил 99%.



**Схема 26.** Реагенты и условия: а) *i.* Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, CuI, пиперидин, 75°C, 1 ч, *ii.* Ac<sub>2</sub>O, Py, *iii.* H<sub>2</sub>, Pd/C, AcOH, 15 ч, *iv.* MeONa, MeOH; б) *i.* Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, CuI, пиперидин, 75°C, 1 ч, *ii.* Ac<sub>2</sub>O, Py, *iii.* MeONa, MeOH.

В сообщении [107] описан синтез амфифильного гептаденатного производного β-CD (255) (схема 27). Для сборки этого соединения авторы обрабатывали гептаазид (253) амином (254) в присутствии избытка трифенилфосфина и CO<sub>2</sub>. В ре-

зультате последовательных реакции Штаудингера и азореакции Виттига азид (253) трансформируется в соответствующий гепта(изоцианат), который затем реагирует с амином (254). Целевой гликокластер был получен с невысоким выходом (30%).



**Схема 27.** Реагенты и условия: а) PPh<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>, Py, 24 ч.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Циклодекстрины, благодаря своей доступности, а также множеству разработанных методик

их модификации, являются ценными исходными соединениями для получения комплексов включения с лекарственными соединениями. Эти комплексы могут использоваться в качестве

“контейнеров” для адресной транспортировки последних. Функционализация циклодекстринов углеводными производными, способными распознаваться рецепторами на клетках-мишенях, а также увеличивать растворимость циклодекстринов и их комплексов с переносимыми молекулами, представляется весьма перспективным направлением, заслуживающим детального исследования. Методы присоединения моно- и олигосахаридов к циклодекстриновым носителям в целом во многом совпадают с методами получения гликокаликсаренов и гликорезорцинаренов, которые подробно рассмотрены в другом нашем обзоре [21]. На наш взгляд, циклодекстрины предоставляют существенно меньше возможностей для варьирования денатности гликоконъюгатов и взаимного расположения углеводных лигандов в них, чем каликсарены. Не случайно большинство описанных конъюгатов на основе циклодекстриновых матриц представляют собой продукты присоединения либо по одной первичной гидроксильной группе (моноденатные конъюгаты), либо по всем первичным НО-группам (гептаденатные конъюгаты в случае  $\beta$ -CD). Конъюгаты промежуточной денатности, когда число используемых для присоединения лигандов первичных гидроксильных групп циклодекстрина находится между этими двумя крайностями, достаточно редки. Также и присоединение углеводных остатков через вторичные гидроксильные группы, которое, в принципе, позволяет получать конъюгаты с другим взаимным расположением периферийных углеводных лигандов, известно на единичных примерах. Частично регулировать топологию конъюгатов можно с помощью различных линкеров, которые увеличивают общую гибкость структуры и доступность углеводных остатков для распознавания рецепторами на клеточных поверхностях. Однако влияние линкеров не всегда однозначно положительное; увеличивая размер конъюгата, они, тем самым, могут запускать процессы масштабной кросс-сшивки, ведущие к образованию нерастворимых комплексов, что было подтверждено в ряде случаев экспериментами *in vitro* и *in vivo*.

Интересной особенностью гликоконъюгатов на основе циклодекстринов является то, что иногда моноденатные конъюгаты оказываются значительно активнее во взаимодействии с лектинами, чем соответствующие неконоъюгированные моновалентные соединения сравнения или даже олигоденатные кластеры. Очевидно, что такая повышенная аффинность никак не может быть связана с проявлением кластерного эффекта. Авторы соответствующих статей никак не объясняют данное явление, однако можно предположить, что оно связано, например, с дополнительным неспецифическим гидрофобным взаимодействием между полостью циклодекстрина и участком рецептора или же с тем, что присутствующие в избытке гид-

роксильные группы конъюгата образуют “несанкционированные” водородные связи с лектином и увеличивают таким образом аффинность. Вообще, влияние гидрофобной полости на взаимодействие конъюгат–белок труднопредсказуемо. Так, например, в некоторых случаях включение гидрофобных фрагментов в полость может препятствовать связыванию, а в других случаях, как обсуждалось выше, наоборот, увеличивать аффинность.

Таким образом, если методы синтеза гликоконъюгатов на основе циклодекстринов достаточно подробно разработаны, то информации об их взаимодействии с различными биологическими объектами явно недостаточно для выявления каких-либо общих закономерностей этих процессов. Поскольку конъюгаты на основе циклодекстриновых матриц остаются весьма малодоступными соединениями и синтезируются, как правило, только единожды, их корректное сравнение в условиях единого эксперимента с соединениями, полученными в других лабораториях, затруднено. Хотя теоретически и можно ожидать разработки гликоконъюгатов на основе циклодекстринов для конкретного практического использования, это возможно только в каких-то отдельных случаях из-за обсуждавшихся выше недостатков циклодекстринов как матриц для получения биоконъюгатов. В этой связи можно отметить, что предложенные нами недавно циклические олиго- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-D-глюкозаминовые матрицы представляются более перспективными для создания олигоденатных блокаторов лектинов, благодаря их более простой функционализации и возможности получения конъюгатов с регулируемым пространственным расположением и ориентацией углеводных и других видов присоединенных биолигандов, включая липидные [84].

**СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В СТАТЬЕ  
ТЕРМИНОВ НА АНГЛИЙСКОМ ЯЗЫКЕ,  
АНГЛИЙСКИЕ НАЗВАНИЯ  
УПОМИНАЕМЫХ В СТАТЬЕ ИМЕННЫХ  
РЕАКТИВОВ И РЕАКЦИЙ,  
БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ**

- арахисовый лектин – peanut agglutinin
- агглютинин ростков пшеницы – wheat germ agglutinin
- ингибирование агглютинации эритроцитов человека – hemagglutination inhibition assay
- динамическое светорассеяние – dynamic light scattering
- агглютинин белой омелы – *Viscum album* agglutinin
- асиалофетуин – asialofetuin
- Шарплесс – Sharpless
- изотермическое калориметрическое титрование – isothermal titration calorimetry

галектины – galectins  
 дезацетилирование по Земплену – Zemplén deacetylation  
 каликсарены – calixarenes  
 азамacroциклы – azamacrocycles  
 матрица, носитель – scaffold, carrier  
 молекулярные сита – molecular sieves  
 изотиоурониевые производные – isothiuronium derivatives  
 сиаловая кислота – sialic acid  
 пероксидаза хрена – horseradish peroxidase  
 турбидиметрия – turbidimetry  
 дрожжевой маннан – yeast mannan  
 человеческая сыворотка – human serum  
 мышинный ламинин – mouse laminin  
 мальтонолактон – maltonolactone  
 лактон лактоновой кислоты – lactonolactone  
 молекулярное распознавание – molecular recognition  
 везикулы – vesicle  
 1-дезоксиноджиримицин – 1-deoxynojirimycin  
 болезнь Гоше – Gaucher's disease  
 глюкоцереброзид – glucocerebrosid  
 реакция кросс-сочетания Соногаширы – Sonogashira cross-coupling reaction  
 реакция Штаудингера – Staudinger reaction  
 аза-реакция Виттига – aza-Wittig reaction

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Varki A. // *Glycobiology*. 1993. V. 3. P. 97–130.
- Essentials of Glycobiology / Eds. Varki A., Cummings R., Esko J., Freeze H., Hart G., Marth J. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999.
- Duchene D. // *Cyclodextrins and their industrial use*. Paris: Editions de Sante, 1987.
- Roy R., Tropper F.D. // *Can. J. Chem.* 1991. V. 69. P. 817–821.
- Laskey L.A. // *Science*. 1992. V. 258. P. 964–969.
- Lis H., Sharon N. // *Chem. Rev.* 1998. V. 98. P. 637–674.
- Dwek R.A. // *Chem. Rev.* 1996. V. 96. P. 683–720.
- Lee Y.C., Lee R.T. // *Acc. Chem. Res.* 1995. V. 28. P. 321–327.
- Lee Y.C., Lee R.T. // *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications* / Eds. Lee R.T., Lee Y.C. San Diego: Acad. Press, 1994. P. 23–50.
- Toyokuni T., Singhal A.K. // *Chem. Soc. Rev.* 1995. V. 24. P. 231–242.
- Monsigny M., Roche A.-C., Midoux P., Mayer R. // *Adv. Drug Delivery Rev.* 1994. V. 14. P. 1–24.
- Wadhwa M.S., Rice K.G. // *J. Drug Targeting*. 1995. V. 3. P. 111–127.
- Dessolin J., Galea P., Vlieghe P., Chermann J.-C., Kraus J.-L. // *J. Med. Chem.* 1999. V. 42. P. 229–241.
- Boturyn D., Coll J.-L., Garanger E., Favrot M.-C., Dumy P. // *J. Am. Chem. Soc.* 2004. V. 126. P. 5730–5739.
- Pilkington-Miksa M., Arosio D., Battistini L., Belvisi L., De Matteo M., Vasile F., Burreddu P., Carta P., Rassu G., Perego P., Carenini N., Zunino F., De Cesare M., Castiglioni V., Scanziani E., Scolastico C., Casiraghi G., Zanardi F., Manzoni L. // *Bioconjugate Chem.* 2012. V. 23. P. 1610–1622.
- Dal Pozzo A., Esposito E., Ni M., Muzi L., Pisano C., Bucci F., Vesci L., Castorina M., Penco S. // *Bioconjugate Chem.* 2010. V. 21. P. 1956–1967.
- Galan M.C., Dumy P., Renaudet O. // *Chem. Soc. Rev.* 2013. V. 42. P. 4599–4612.
- Mendez-Ardoy A., Guilloteau N., Di Giorgio C., Vierling P., Santoyo-Gonzalez F., Ortiz Mellet C., Garcia Fernandez J.M. // *J. Org. Chem.* 2011. V. 76. P. 5882–5894.
- Martinez A., Ortiz Mellet C., Garcia Fernandez G.M. // *Chem. Soc. Rev.* 2013. V. 42. P. 4746–4773.
- Fulton D.A., Stoddart J.F. // *Bioconjugate Chem.* 2001. V. 12. P. 655–672.
- Титов Д.В., Генинг М.Л., Цветков Ю.Е., Нифантьев Н.Э. // *Изв. АН. Сер. хим.* 2013. С. 577–604.
- Feizi T. // *Nature*. 1985. V. 314. P. 53–57.
- Kobayashi S., Kainuma K., French D. // *Proc. Int. Symp. Cyclodextrins*, Ed. Szejtli J. Dordrecht: Reidel, 1982. P. 51–60.
- Kobayashi S., Maruyama K., Kainuma K. // *J. Jpn. Soc. Starch Sci.* 1983. V. 30. P. 231–239.
- Koizumi K., Okada Y., Kubota Y., Utamura T. // *Chem. Pharm. Bull.* 1987. V. 35. P. 3413–3419.
- Okada Y., Kubota Y., Koizumi K., Hizukuri S., Ohfuji T., Ogata K. // *Chem. Pharm. Bull.* 1988. V. 36. P. 2176–2185.
- French D., Pulley A.O., Effenberger J.A., Rougvie M.A., Abdullah M. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1965. V. 111. P. 153–160.
- Abe J.I., Hizukuri S., Koizumi K., Kubota Y., Utamura T. // *Carbohydr. Res.* 1988. V. 176. P. 87–95.
- Takeo K., Uemura K., Mitoh H. // *J. Carbohydr. Chem.* 1988. V. 7. P. 293–308.
- Cottaz S., Driguez H. // *Synthesis*. 1989. P. 755–758.
- Lancelon-Pin C., Driguez H. // *Tetrahedron Lett.* 1992. V. 33. P. 3125–3128.
- Defaye J., Gadelle A., Guiller A., Darcy R., O'Sullivan T. // *Carbohydr. Res.* 1989. V. 192. P. 251–258.
- De Robertis L., Lancelon-Pin C., Driguez W. // *Bioorg. Chem. Lett.* 1994. V. 4. P. 1127–1130.
- Laine V., Coste-Sarguet A., Gadelle A., Defaye J., Perly B., Djedaini-Pilard F. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1995. V. 2. P. 1479–1487.
- Garcia-Lopez J.J., Santoyo-Gonzalez F., Vargas-Berenguel A., Gimenez-Martinez J.J. // *Chem. Eur. J.* 1999. V. 5. P. 1775–1784.
- Garcia-Lopez J.J., Hernandez-Mateo F., Isac-Garcia J., Kim J.M., Roy R., Santoyo-Gonzalez F., Vargas-Berenguel A. // *J. Org. Chem.* 1999. V. 64. P. 522–531.

37. Ortega-Caballero F., Gimenez-Martinez J.J., Garcia-Fuentes L., Ortiz-Salmeron E., Santoyo-Gonzalez F., Vargas-Berenguel A. // *J. Org. Chem.* 2001. V. 66. P. 7786–7795.
38. Furuike T., Aiba S. // *Chem. Lett.* 1999. V. 28. P. 69–70.
39. Furuike T., Aiba S., Nishimura S.-I. // *Tetrahedron.* 2000. V. 56. P. 9909–9915.
40. Andre S., Kaltner H., Furuike T., Nishimura S.-I., Gabius H.-J. // *Bioconjugate Chem.* 2004. V. 15. P. 87–98.
41. Yasuda N., Aoki N., Abe H., Hattori K. // *Chem. Lett.* 2000. V. 29. P. 706–707.
42. Roy R., Hernandez-Mateo F., Santoyo-Gonzalez F. // *J. Org. Chem.* 2000. V. 65. P. 8743–8746.
43. Garcia-Barrientos A., Garcia-Lopez J.J., Isac-Garcia J., Ortega-Caballero F., Uriel C., Vargas-Berenguel A., Santoyo-Gonzalez F. // *Synthesis.* 2001. P. 1057–1064.
44. Vargas-Berenguel A., Ortega-Caballero F., Santoyo-Gonzalez F., Garcia-Lopez J.J., Gimenez-Martinez J.J., Garcia-Fuentes L., Ortiz-Salmeron E. // *Chem. Eur. J.* 2002. V. 8. P. 812–827.
45. Mazzaglia A., Forde D., Garozzo D., Malvagna P., Ravoo B.J., Darcy R. // *Org. Biomol. Chem.* 2004. V. 2. P. 957–960.
46. Bundy J., Fenselan C. // *Anal. Chem.* 1999. V. 71. P. 1460–1463.
47. Mazzaglia A., Valerio A., Villari V., Rencurosi A., Lay L., Spadaro S., Scolaro L.M., Micali N. // *New J. Chem.* 2006. V. 30. P. 1662–1668.
48. Carpenter C., Nepogodiev S.A. // *Eur. J. Org. Chem.* 2005. P. 3286–3296.
49. Yamanoi T., Yoshida N., Oda Y., Akaike E., Tsutsumida M., Kobayashi N., Osumi K., Yamamoto K., Fujita K., Takahashi K., Hattori K. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005. V. 15. P. 1009–1013.
50. Oda Y., Miura M., Hattori K., Yamanoi T. // *Chem. Pharm. Bull.* 2009. V. 57. P. 74–78.
51. Oda Y., Yanagisawa H., Maruyama M., Hattori K., Yamanoi T. // *Bioorg. Med. Chem.* 2008. V. 16. P. 8830–8840.
52. Bost M., Lainea V., Pilard F., Gadelle A., Defaye J., Perly B. // *J. Incl. Phenom. Mol. Recogn. Chem.* 1997. V. 29. P. 57–63.
53. Garcia Fernandez J.M., Ortiz-Mellet C., Maciejewski S., Defaye J. // *Chem. Commun.* 1996. P. 2741–2742.
54. Ortiz-Mellet C., Benito J.M., Garcia Fernandez J.M., Law H., Chmurski K., Defaye J., O'Sullivan M.L., Caro H.N. // *Chem. Eur. J.* 1998. V. 4. P. 2523–2531.
55. Bausanne I., Benito J.M., Ortiz-Mellet C., Garcia-Fernandez J.M., Defaye J. // *ChemBioChem.* 2001. V. 2. P. 777–783.
56. Goldstein I.J., Poretz R.D. // *The lectins: properties, functions and applications in biology and medicine* / Eds. Sharon N., Goldstein I.J. Orlando: Acad. Press. 1986. P. 33–247.
57. Poretz R.D., Goldstein I.J. // *Biochemistry.* 1970. V. 9. P. 2890–2896.
58. Gomez-Garcia M., Benito J.M., Rodriguez-Lucena D., Yu J.-X., Chmurski K., Ortiz-Mellet C., Gutierrez Gallego R., Maestre A., Defaye J., Garcia Fernandez J.M. // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. V. 127. P. 7970–7971.
59. McNicholas S., Rencurosi A., Lay L., Mazzaglia A., Sturiale L., Perez M., Darcy R. // *Biomacromolecules.* 2007. V. 8. P. 1851–1857.
60. Parrot-Lopez H., Galons H., Coleman A.W., Mahuteau J., Miocque M. // *Tetrahedron Lett.* 1992. V. 33. P. 209–212.
61. Parrot-Lopez H., Leray L., Coleman A.W. // *Supramol. Chem.* 1993. V. 3. P. 37–42.
62. Leray E., Parrot-Lopez H., Auge C., Coleman A.W., Finance C., Bonaly R. // *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1995. P. 1019–1020.
63. Kassab R., Feix C., Parrot-Lopez H., Bonaly R. // *Tetrahedron Lett.* 1997. V. 38. P. 7555–7558.
64. Attioui F., Al-Omar A., Leray E., Parrot-Lopez H., Finance C., Bonaly R. // *Biol. Cell.* 1994. V. 82. P. 161–167.
65. Hattori K., Imata H., Kubota K., Matsuda K., Aoyagi M., Yamamoto K., Jindoh C., Yamanoi T., Inazu T. // *J. Incl. Phenom. Mol. Recogn. Chem.* 1996. V. 25. P. 69–72.
66. Imata H., Kubota K., Hattori K., Aoyagi M., Jindoh C. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1997. V. 7. P. 109–112.
67. Imata H., Kubota K., Hattori K., Aoyagi M., Jindoh C. // *Polym. J.* 1997. V. 29. P. 563–567.
68. Ichikawa M., Woods A.S., Mo H., Goldstein I.J., Ichikawa Y. // *Tetrahedron: Asymmetry.* 2000. V. 11. P. 389–392.
69. Fulton D.A., Pease A.R., Stoddart J.F. // *Isr. J. Chem.* 2000. V. 40. P. 325–333.
70. Abe H., Kenmoku A., Yamaguchi N., Hattori K. // *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 2002. V. 44. P. 39–47.
71. Yockot D., Moreau V., Demailly G., Djedaini-Pilard F. // *Org. Biomol. Chem.* 2003. V. 1. P. 1810–1818.
72. Salameh A., Lazar A.N., Coleman A.W., Parrot-Lopez H. // *Tetrahedron.* 2005. V. 61. P. 8740–8745.
73. Bazuochi T., Spellman M.W., Larkin M., Solomon J., Basa L.J., Feizi T. // *Biochem. J.* 1988. V. 254. P. 599–603.
74. Smiljanic N., Moreau V., Yockot D., Garcia Fernandez J.M., Djedaini-Pilard F. // *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 2007. V. 57. P. 9–14.
75. Benito J.M., Gomez-Garcia M., Ortiz-Mellet C., Bausanne I., Defaye J., Garcia Fernandez J.M. // *J. Am. Chem. Soc.* 2004. V. 126. P. 10355–10366.
76. Smiljanic N., Moreau V., Yockot D., Benito J.M., Garcia Fernandez J.M., Djedaini-Pilard F. // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006. V. 45. P. 5465–5468.
77. Rekharsky M.V., Inoue Y. // *Chem. Rev.* 1998. V. 98. P. 1875–1917.
78. Di Fabio G., Malgieri G., Isernia C., D'Onofrio J., Gaglione M., Messere A., Zarrella A., De Napoli L. // *Chem. Commun.* 2012. V. 48. P. 3875–3877.
79. Gening M.L., Maira-Litran T., Kropec A., Skurnik D., Grout M., Tsvetkov Y.E., Nifantiev N.E., Pier G.B. // *Infect. Immun.* 2010. V. 78. P. 764–772.
80. Cywes-Bentley C., Skurnik D., Zaidi T., Roux D., DeOliveira R.B., Garrett W.S., Lu X., O'Malley J., Kinzel K., Zaidi T., Rey A., Perrin C., Fichorova R.N., Kayatani A.K.K., Maira-Litran T., Gening M.L., Tsvetkov Y.E., Nifantiev N.E., Bakaletz L., Pelton S.I., Go-

- lenbock D., Pier G.B. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. V. 110. P. E2209–E2218.
81. Генинг М.Л., Цветков Ю.Е., Пир Дж. Б., Нифантьев Н.Э. // Биоорган. химия. 2006. Т. 32. С. 432–443.
  82. Gening M.L., Titov D.V., Grachev A.A., Gerbst A.G., Yudina O.N., Shashkov A.S., Chizhov A.O., Tsvetkov Y.E., Nifantiev N.E. // Eur. J. Org. Chem. 2010. P. 2465–2475.
  83. Titov D.V., Gening M.L., Gerbst A.G., Chizhov A.O., Tsvetkov Y.E., Nifantiev N.E. // Carbohydr. Res. 2013. doi: 10.1016/j.carres.2012.12.005
  84. Gening M.L., Tsvetkov Y.E., Titov D.V., Gerbst A.G., Yudina O.N., Grachev A.A., Shashkov A.S., Vidal S., Imberty A., Saha T., Kand D., Talukdar P., Pier G.B., Nifantiev N.E. // Pure Appl. Chem. 2013. <http://dx.doi.org/10.1351/PAC-CON-12-09-06>
  85. Gening M.L., Titov D.V., Cecioni S., Audfray A., Gerbst A.G., Tsvetkov Y.E., Krylov V.B., Imberty A., Nifantiev N.E., Vidal S. // Chem. Eur. J. 2013. doi: 10.1002/chem.201300135
  86. Kolb H.C., Finn M.G., Sharpless K.B. // Angew. Chem., Int. Ed. 2001. V. 40. P. 2004–2021.
  87. Huisgen R. // 1,3-Dipolar cycloaddition chemistry / Ed. Padwa A. New York: Wiley, 1984. P. 1.
  88. Calvo-Flores F.G., Isac-Garcia J., Hernandez-Mateo F., Perez-Balderas F., Calvo-Asin J.A., Sanchez-Vaquero E., Santoyo-Gonzalez F. // Org. Lett. 2000. V. 2. P. 2499–2502.
  89. Perez-Balderas F., Ortega-Munoz M., Morales-Sanfrutos J., Hernandez-Mateo F., Calvo-Flores F.G., Calvo-Asin J.A., Isac-Garcia J., Santoyo-Gonzalez F. // Org. Lett. 2003. V. 5. P. 1951–1954.
  90. Ulmer A.J., Rietschel E.T., Zahringer U., Heine H. // Trends Glycosci. Glycotechnol. 2002. V. 14. P. 53–68.
  91. Chaby R. // Cell. Mol. Life Sci. 2004. V. 61. P. 1697–1713.
  92. Fujihari M., Muroi M., Tanamoto K., Suzuki T., Azuma H., Ikeda H. // Pharmacol. Ther. 2003. V. 100. P. 171–194.
  93. Ortega-Munoz M., Morales-Sanfrutos J., Perez-Balderas F., Hernandez-Mateo F., Giron-Gonzalez M.D., Sevillano-Tripero N., Salto-Gonzalez R., Santoyo-Gonzalez F. // Org. Biomol. Chem. 2007. V. 5. P. 2291–2301.
  94. Rempel B.P., Withers S.G. // Glycobiology. 2008. V. 18. P. 570–586.
  95. Decroocq C., Rodriguez-Lucena D., Russo V., Barragan T.M., Ortiz-Mellet C., Compain P. // Chem. Eur. J. 2011. V. 17. P. 13 825–13 831.
  96. Grabowski G.A. // Lancet. 2008. V. 372. P. 1263–1271.
  97. Kolter T., Wendeler M. // ChemBioChem. 2003. V. 4. P. 260–264.
  98. Beck M. // Expert Opin. Emerging Drugs. 2010. V. 15. P. 495–507.
  99. Wennekes T., van den Berg R.J.B.H.N., Boot R.G., van der Marel G.A., Overkleeft H.S., Aerts J.M.F.G. // Angew. Chem. Int. Ed. 2009. V. 48. P. 8848–8869.
  100. Decroocq C., Rodriguez-Lucena D., Ikeda K., Asano N., Compain P. // ChemBioChem. 2012. V. 13. P. 661–664.
  101. Fugedi P., Nanasi P., Szejtli J. // Carbohydr. Res. 1988. V. 175. P. 173–181.
  102. Ikuta A., Koizumi K., Tanimoto T. // J. Carbohydr. Chem. 2000. V. 19. P. 13–23.
  103. Tanimoto T., Sakaki T., Koizumi K. // Carbohydr. Res. 1995. V. 267. P. 27–37.
  104. Fulton D.A., Stoddart J.F. // Org. Lett. 2000. V. 2. P. 1113–1116.
  105. Fulton D.A., Stoddart J.F. // J. Org. Chem. 2001. V. 66. P. 8309–8319.
  106. Ortega-Caballero F., Gimenez-Martinez J.J., Vargas-Berenguel A. // Org. Lett. 2003. V. 5. P. 2389–2392.
  107. Sallas F., Niikura K., Nishimura S.-I. // Chem. Commun. 2004. P. 596–597.

## Conjugates of Cyclooligosaccharide Scaffolds and Carbohydrate Ligands: Methods of Synthesis and Interaction With Lectins

D. V. Titov, M. L. Gening, Y. E. Tsvetkov, N. E. Nifantiev<sup>#</sup>

<sup>#</sup>Phone: +7 (499) 135-64-33; e-mail: nen@ioc.ac.ru

Laboratory of Glycoconjugate Chemistry, N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry,  
Russian Academy of Sciences, Leninskii prospekt 47, Moscow, 119991 Russia

Main approaches to the preparation of mono- and oligodentate glycoconjugates based on cyclodextrin and cyclooligo- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-D-glucosamine scaffolds are surveyed in the review. The data on the biological activity of the glycoconjugates by the example of their interaction with lectins are discussed.

**Keywords:** cyclodextrins, cyclooligo- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  6)-D-glucosamines, glycoconjugates, lectins, cluster glycoside effect, multivalency, biological activity