

ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 547.91

ТЕТРАВАЛЕНТНЫЙ НЕОГЛИКОКОНЬЮГАТ НА ОСНОВЕ D-ГАЛАКТОЗЫ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ МЕДИЦИНЫ

**А.И. Магасумова, специалист, Е.Д. Шуина, бакалавр,
Ю.Л. Себякин, профессор, У.А. Буданова[@], старший научный сотрудник,
И.С.Щелик, аспирант**

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

[@]Автор для переписки, e-mail: c-221@yandex.ru

Проведена оптимизация ранее разработанной схемы синтеза тетравалентного неогликоконъюгата с терминальными остатками D-галактозы и разветвляющейся компонентой на основе D-галактозы. Структура полученных гликоконъюгатов обеспечивает им потенциальную возможность проявлять свойства антиадгезии и специфически связываться с рецепторами на определенных группах клеток.

Ключевые слова: тетравалентный неогликоконъюгат, D-галактоза, D-глюкоза.

TETRAVALENT NEOGLYCOCONJUGATE BASED ON THE D-GALACTOSE FOR MEDICINE PURPOSES

**A.I. Magasumova, E.D. Shuina, Yu.L. Sebyakin, U.A. Budanova[@],
I.S. Shchelik**

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

[@]Corresponding author e-mail: c-221@yandex.ru

Previously, the scheme of the preparation of a tetravalent neoglycoconjugate with the terminal residues of D-galactose and with a branching component based on D-galactose was carried out in our laboratory. It includes the synthesis of hydrophilic and hydrophobic components, the synthesis of the branching scaffold and its conjugation with a hydrophilic component. This article describes the optimization of the synthesis of 1-O-azidoethyl-β-D-galactopyranoside using the change of different parameters such as temperature, solvent and reaction time. The structure of obtained glycoconjugates has potential to be capable to anti-adhesion and target delivery to certain cell group.

Keywords: tetravalent neoglycoconjugate, D-galactose, D-glucose.

Введение

Лектины – это углевод-связывающие рецепторы, расположенные на поверхности клеток живых организмов [1]. Лектин-углеводные взаимодействия являются причиной возникновения инфекционных процессов с участием многих патогенов, таких как вирусы, грибы, бактерии и бактериальные токсины [2]. Разработан широкий спектр неогликоконъюгатов с разной валентностью и пространственным расположением лигандов для предотвращения и лечения различных заболеваний [3, 4].

Важным свойством получаемых гликоконъюгатов является способность к антиадгезии. Такие структуры способны вмешиваться в процессы распознавания

между клетками-хозяевами и патогенами, могут предотвращать колонизацию или даже обращать процесс образования биопленки [5, 6].

Неогликоконъюгаты на основе D-галактозы потенциально могут предотвращать развитие различных патологических процессов благодаря их способности к ингибированию специфических лектинов, что обуславливает перспективность получения соединений, полученных на основе этого углевода, для применения в медицине в качестве антибактериальных препаратов [7].

Результаты и их обсуждение

Структура предложенного гликоконъюгата включает гидрофобную составляющую – дигексадециловый эфир L-глутаминовой кислоты, способный

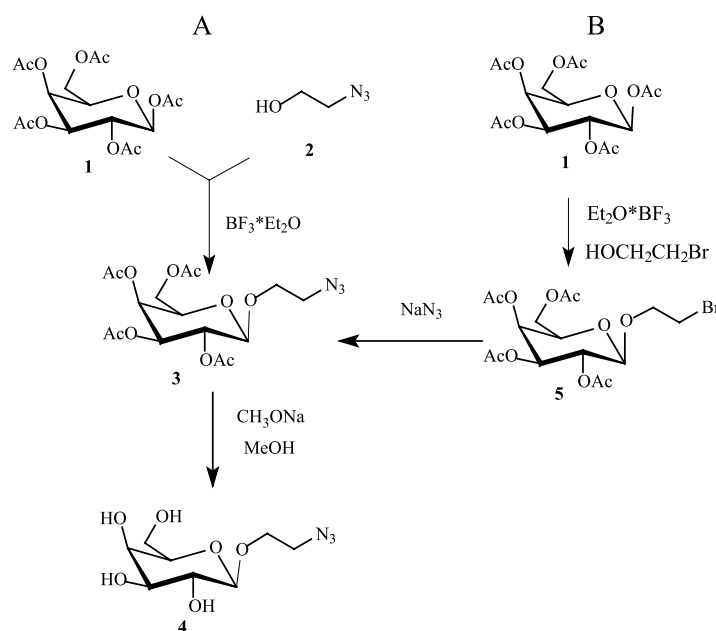
к заякориванию в липосомальном бислое, и гидрофильную составляющую – четыре терминальных остатка D-галактозы для эффективного связывания с рецепторами на поверхности клеток-мишеней.

Синтез тетравалентного неогликоконъюгата осуществляли согласно схеме, включающей в себя получение гидрофильной и гидрофобной компонент, затем синтез разветвляющего ядра и его конъюгацию с гидрофильной составляющей.

Ключевой интермедиат – 1-*O*-(2-азидоэтил)-β-D-галактопиранозид (**4**) – получали после удаления аце-

тильных защитных групп обработкой 0.1 М раствором метилата натрия в метаноле соединения **3**, которое, в свою очередь, синтезировали двумя путями (схема 1). В соответствии с первым способом (путь А) получение 1-*O*-(2-азидоэтил)-2,3,4,6-пента-*O*-ацетил-β-D-галактопиранозид (**3**) осуществляли действием 2-азидоэтанола (**2**) на пентаацетат D-галактозы (**1**) в присутствии BF₃·Et₂O, в качестве растворителя использовали ацетонитрил. Продукт **3** выделяли колоночной хроматографией в системе гексан – этилацетат, 3:1 с выходом 29%. Суммарный выход продукта **4**, полученного по схеме 1А, составил 28%.

Схема 1



Была проведена оптимизация стадии получения 1-*O*-(2-азидоэтил)-2,3,4,6-пента-*O*-ацетил-β-D-галактопиранозид (**3**). Реакцию проводили в разных растворителях: ацетонитриле, этилацетате, хлороформе и дихлорметане. В каждом растворителе ва-

рировались следующие параметры процесса: время протекания реакции и температура (таблица).

Наилучший выход соединения **3** (30%) был получен при использовании хлороформа и увеличении времени протекания реакции до 7 ч при 20°C.

Выходы соединений **3** и **5** при варьировании условий проведения реакций

Температура, °С	Время, ч	Ацетонитрил		Этилацетат		Хлороформ		Дихлорметан	
		Выход 3 , %	Выход 5 , %	Выход 3 , %	Выход 5 , %	Выход 3 , %	Выход 5 , %	Выход 3 , %	Выход 5 , %
20	5	10	22	18	32	27	50	22	67
	7	11	22	25	36	30	54	26	63
	9	13	24	24	35	24	48	21	61
30	5	11	23	22	34	27	51	24	68*
	7	11	23	26	38	29	55	27	65
	9	13	24	24	35	24	49	21	62
40	5	10	28	22	34	28	51	-	-
	7	12	23	25	39	29	54	-	-
	9	14	24	23	33	25	49	-	-

* При проведении реакции в течение 3 ч выход соединения **5** составил 61%.

Поскольку суммарный выход продукта **4**, полученного по схеме 1А, с учетом проведенной оптимизации, составил 30%, что существенно выше, чем первоначальный, однако все же недостаточен, то был предложен другой путь получения соединения **3** (схема 1, путь В).

Согласно ему, вначале был получен 1-*O*-бромэтил-2,3,4,6-пента-*O*-ацетил-β-D-галактозид (**5**) действием 2-бромэтанола на пентаацетат D-галактозы в присутствии эфирата трифтористого бора в качестве катализатора. Выделение продукта проводили методом колоночной хроматографии. Далее соединение **5** обрабатывали избытком азид натрия в ДМФА, соединение **3** выделяли из реакционной массы пересадением с помощью диэтилового эфира. Ацетильные защитные группы, как и в первом случае, удаляли 0.1 М раствором метилата натрия в метаноле при комнатной температуре (выход 95%).

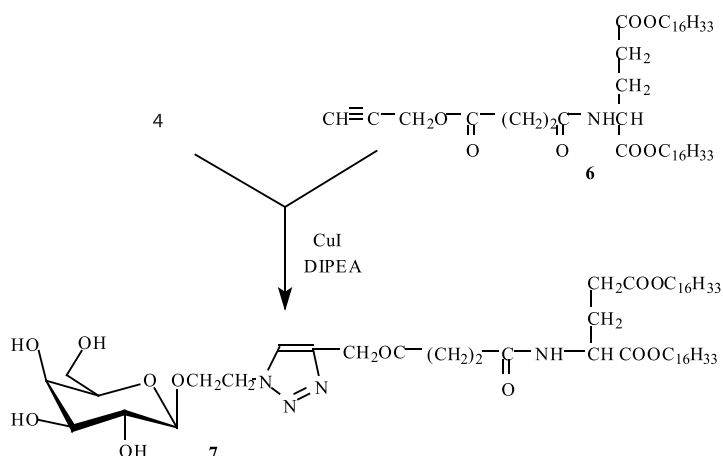
Суммарный выход продукта **4**, полученного по схеме 1В, составил 23%.

Для повышения выхода целевого соединения была проведена оптимизация реакции получения 1-*O*-(2-бромэтил)-2,3,4,6-пента-*O*-ацетил-β-D-галактопиранозида (**5**) (таблица). Представленные данные свидетельствуют о том, что оптимальными условиями проведения этой реакции является использование дихлорметана в качестве растворителя при 30°C в течение 5 ч. Выход реакции в этих условиях составил 68%.

Суммарный выход продукта **4**, после оптимизации, составил 61%, то есть проведенная оптимизация позволила увеличить выход в 2.2 раза по сравнению со схемой 1А.

Последующую реакцию получения конъюгата **7** проводили по реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения (схема 2).

Схема 2



Реакцию проводили в ДМФА в присутствии CuI и DIPEA в каталитических количествах в атмосфере аргона. Выделение продукта **7** осуществляли при помощи препаративной тонкослойной хроматографии в системе хлороформ – метанол, 9:1. Выход продукта **7** составил 51%.

В масс-спектре соединения **7** наблюдался сигнал молекулярного иона 1157.29 ($M^+ + 4K^+$).

Получение разветвляющегося ядра **8** осуществляли действием пропаргилбромид на соединение **7** в присутствии гидрида натрия (схема 3). Очистку целевого продукта проводили при помощи колоночной хроматографии в системе гексан–этилацетат, 5:1. Выход соединения **8** составил 32%.

Целевой конъюгат **9** был также получен по реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения (схема 3). В масс-спектре MALDI соединения **9** присутствовал пик молекулярного иона [2252.454 ($M^+ + 3K^+$)].

Экспериментальная часть

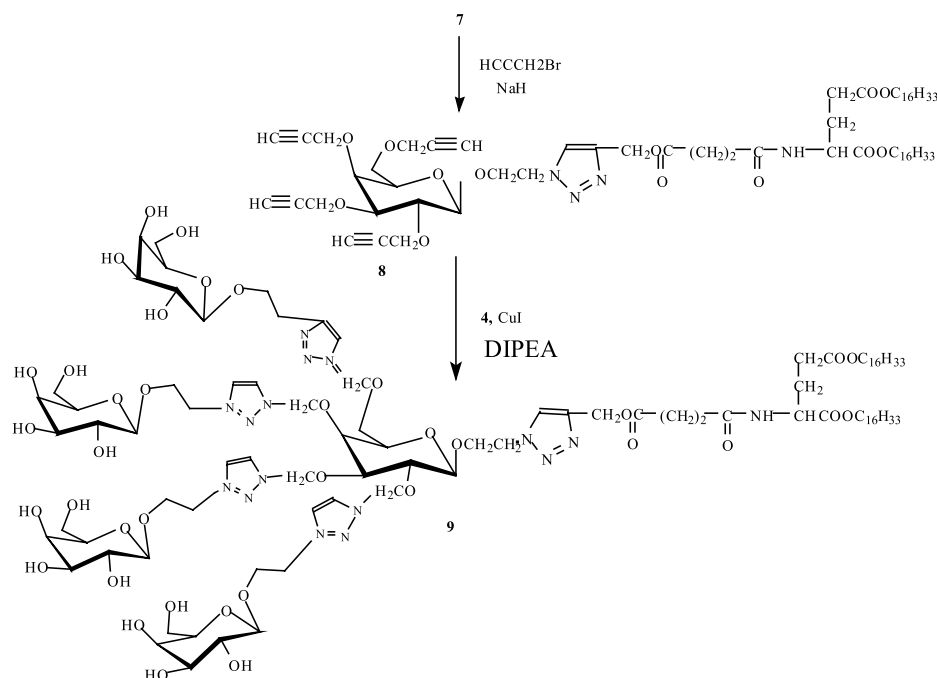
Спектры ¹H-ЯМР снимали в дейтерированном хлороформе на импульсном ЯМР-спектрометре

«BrukerWM-400» с рабочей частотой 400 МГц. Внутренний стандарт – гексаметилдисилоксан. ИК-спектры регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре EQUINOX 55 («Bruker»). Масс-спектры получены на времяпролетном масс-спектрометре VISION 2000 методом MALDI с использованием в качестве матрицы дигидроксибензола (ДНВ).

Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках Сорбфил. Препаративную тонкослойную хроматографию проводили на силикагеле Sigma-Aldrich TLC standardgrade, колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле Acros 0.060–0.200 мм, 60 А.

Обнаружение пятен веществ по ТСХ осуществляли в парах йода или нагреванием над пламенем спиртовки. Вещества, содержащие тройные углерод-углеродные связи, обнаруживали раствором перманганата калия. Вещества, содержащие свободные аминогруппы, обнаруживали 5%-ным раствором нингидрина с последующим нагреванием до 50-80°C.

1-*O*-Азидоэтил-2,3,4,6-пента-*O*-ацетил-β-D-галактопиранозид (3**).** 200 мг (0.51 ммоль) β-D-пен-



таацетата галактозы растворяли в 15 мл безводного хлороформа, добавляли 145 мг (1.02 ммоль) эфира-та трифторида бора, перемешивали на магнитной мешалке. Через 20 мин после начала реакции добавляли 49 мг (0.56 ммоль) 2-азидоэтанола. Промывали водным раствором аммиака (рН 8-9) и водой до рН 7. Растворитель удаляли в вакууме. Очистку проводили с помощью колоночной хроматографии в системе гексан–этилацетат, 4:1. Выход соединения **3** составил 66.7 мг (30%) в виде масла. ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ, м.д.): 1.98, 2.04, 2.06, 2.15 (с, 12H, COCH₃), 3.35 (м, 2H, OCH₂CH₂), 3.45–3.55 (м, 1H, H-5), 3.65–3.73 (м, 2H, OCH₂CH₂), 4.02–4.21 (м, 2H, H-6), 4.56 (д, 1H, H-1, J_{1,2} = 8.1 Гц), 5.03 (дд, 1H, H-2), 5.23 (д, 1H, H-3), 5.39 (д, 1H, H-4). ИК-спектр (ν_{max}, см⁻¹): 2831 (C–H), 2099 (N=N), 1742 (C=O), 1460, 1380 (C–H), 1250 (C–N), 1210 (C–O), 1217–1040 (C–O).

1-O-(2-Азидоэтил)-β-D-галактопиранозид (4). К раствору 0.30 г (0.654 ммоль) 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-1-*O*-(2-азидоэтил)-β-D-галактопиранозид (**3**) в 5 мл безводного метанола при перемешивании при комнатной температуре прибавляли 0.1 мл свежеприготовленного 0.1 М раствора метилата натрия в метаноле до достижения рН 8. Обессоливали раствор ионообменной смолой КУ-2 (H⁺-форма), отфильтровывали и удаляли растворитель в вакууме. Выход соединения **4**: 0.180 г (95%) в виде аморфного вещества. ИК-спектр (ν_{max}, см⁻¹): 3325 (O–H), 2900, 1435, 1340 (C–H), 2100 (N=N), 1215 (C–O), 1140–1030 (C–O).

Гликолипид на основе D-галактозы (7). К раствору 72 мг (247 ммоль) 1-*O*-(2-азидоэтил)-β-D-галактопиранозид (**4**) в 2 мл ДМФА добавляли 182 мг (247 ммоль) ранее полученного пропаргилсукцината дигексадецилового эфира L-глутаминовой кислоты

(**6**) [8], затем каталитические количества CuI, DIPEA и перемешивали при комнатной температуре в течение суток в атмосфере аргона. Реакционную массу отфильтровывали от кристаллов CuI. Растворитель удаляли в вакууме. Очистку проводили при помощи препаративной тонкослойной хроматографии в системе хлороформ–метанол, 9:1. Выход соединения **7**: 125 мг (51%) в виде аморфного вещества. ИК-спектр (ν_{max}, см⁻¹): 3440 (OH), 2945 (C–H), 2863 (CH₃), 1740 (C=O), 1630 (C=O), 1540 (NH), 1146–1069 (CO). Масс-спектр, *m/z*: 1157.29 (M⁺ + 4K⁺).

Разветвляющий компонент на основе D-галактозы (8). К 125 мг (0.127 ммоль) соединения **7** в безводном ДМФА прибавляли порциями 31 мг (1.27 ммоль) гидроксида натрия при температуре 0°C. Через 10 мин добавляли 151 мг (1.27 ммоль) пропаргилбромида по каплям. Перемешивали при 0°C 12 ч. Растворитель удаляли в вакууме. Очистку проводили при помощи колоночной хроматографии в системе гексан–этилацетат, 5:1. Выход соединения **8**: 40 мг (32%) в виде аморфного вещества. ИК-спектр (ν_{max}, см⁻¹): 3311 (≡C–H), 2922 (C–H), 2850 (CH₃), 2130 (C≡C), 1700 (C=O), 1621 (C=O), 1581 (NH), 1407 (C–O), 1174–1064 (C–O).

Конъюгат 9 получали по реакции 1,3-циклодиполярного присоединения аналогично соединению **7** по методу [9]. Очистку проводили при помощи препаративной хроматографии в системе хлороформ–метанол, 9:1. Выход: 43%. ИК-спектр (ν_{max}, см⁻¹): 3317 (OH), 2932 (C–H), 1460 (CH₂), 1400 (N=N), 1230 (C–N), (1131–1000, C–O). Масс-спектр, *m/z*: 2252.454 (M⁺ + 3K⁺).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 13-04-00841).

Список литературы / References:

1. Sharon N., Lis H. // *Science*. 1989. V. 246. P. 227–234.
2. Imberty A., Varrot A. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2008. V. 18. P. 567–576.
3. Bolsheborodova A.K., Sebyakin Yu.L. // *Macroheterocycles*. 2012. V. 5 (3). P. 203–211.
4. Bernardi A., Jimenez-Barbero J., Casnati A., De Castro C., Dabre T. // *Chem. Soc. Rev.* 2012. V. 31. P. 130–149.
5. Astronomo R.D., Burton D.R. // *Nat. Rev. Drug Discovery*. 2010. V. 9. P. 308–324.
6. Becer C.R. // *Macromol. Rapid. Commun.* 2012. V. 33. P. 742–752.
7. Курочкина Н.А., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. // *Журнал органической химии*. 2014. Т. 50. Вып. 10. С. 1509–1515.
Kurochkina N.A., Budanova U.A., Sebyakin Yu. L // *Russ. J. Organic Chemistry*. V. 50. Iss. 10. P. 1496–1503. DOI:10.1134/S1070428014100157
8. Koloskova O.O., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. // *Russ. J. Biopharmaceuticals*. 2011. V. 4. P. 14–20.
9. Meldal M., Tornøe C. // *Chem. Rev.* 2008. V. 108. P. 2952–3015.