

СИНТЕЗ И АФФИННОСТЬ НОВЫХ ТРИАНТЕННАРНЫХ ЛИГАНДОВ АСИАЛОГЛИКОПРОТЕИНОВОГО РЕЦЕПТОРА

© 2023 г. Р. А. Петров*, С. А. Петров, Д. А. Гришин, И. Г. Колмаков, Д. С. Абрамчук, В. Т. Ткаченко, Е. А. Власова, С. Ю. Маклакова, А. В. Лопухов, Н. Л. Клячко, Е. К. Белоглазкина

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»,
химический факультет, Россия, 119991 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 3

*e-mail: petrovrostaleks@gmail.com

Поступила в редакцию 22.03.2022 г.

После доработки 11.04.2022 г.

Принята к публикации 13.04.2022 г.

Синтезированы новые триантеннарные производные *N*-ацетилгалактозамина на основе трис(гидроксиметил)аминометана для связывания с асиалогликопротеиновым рецептором, экспрессируемым гепатоцитами. Значения измеренных методом спектроскопии поверхностного плазмонного резонанса равновесных констант диссоциации комплексов асиалогликопротеинового рецептора и полученных соединений находятся в субнаномолярном диапазоне, что на 6 порядков ниже равновесных констант диссоциации комплекса рецептора и природного лиганда *N*-ацетилгалактозамина. Полученные соединения характеризуются образованием гораздо более прочных комплексов с рецептором, чем природный лиганд, что позволяет рассматривать их как перспективные средства для адресной доставки различных лекарственных соединений в гепатоциты.

Ключевые слова: адресная доставка, лиганды асиалогликопротеинового рецептора, гепатоцеллюлярная карцинома, производные *N*-ацетилгалактозамина

DOI: 10.31857/S0514749223020027, **EDN:** QIWWQA

ВВЕДЕНИЕ

Асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR), располагающийся на поверхности гепатоцитов, представляет собой удобную мишень для направленной доставки лекарственных средств в печень, поскольку его структура подробно изучена, известна его селективность в отношении производных галактозы и галактозамина, а также возможность реализации с его участием процесса рецептор-опосредованного эндоцитоза [1–3]. Успешный подбор лигандов к ASGPR может иметь значение для разработки новых эффективных целевых систем для терапии и диагностики различных заболеваний печени.

В литературе широко представлены примеры наноразмерных систем, использующих ASGPR в качестве мишени (полимеры, наночастицы, липосомы и мицеллы [4–7]), несмотря на то, что использование наноразмерных средств адресной доставки имеет ряд недостатков: затрудненную проницаемость мембран клеток и стенок сосудов, возможность иммунного ответа, неустойчивость в плазме крови, недостаточную растворимость [8–13]. В то же время низкомолекулярные ковалентные конъюгаты с лигандами ASGPR, не обладающие подобными недостатками, исследованы существенно меньше [14–18]. При этом фармацевтические компании активно ведут разработки низкомолекулярных гликоконъюгатов олигону-

клеотидов и моносахаридов с лигандами ASGPR в области генной терапии заболеваний печени, которые находятся на разных стадиях доклинических и клинических исследований [7, 19–26]; в настоящее время управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA, USA) одобрило уже 3 подобных лекарственных препарата [22, 27–29].

ASGPR представляет собой трансмембранный белок, отвечающий за распознавание и поглощение клеточного фибронектина, протромбических компонентов, печеночных липопротеинов и иммуноглобулина А. Поэтому природные, а также синтетические гликопротеины и углеводы, содержащие десилированные галактозу или галактозамин в качестве конечного фрагмента, могут выступать лигандами асиалоггликопротеинового рецептора. Внеклеточный домен ASGPR имеет 3 сайта связывания, каждый из которых способен одновременно связываться с углеводом [30], что делает перспективной разработку так называемых триантеннарных лигандов ASGPR с 3 углеводными (галактоза, *N*-ацетилгалактозамин) фрагментами, находящимися на определенном расстоянии от точки ветвления. Исходя из исследований кристаллической структуры углевод-распознающего домена белка [31] и результатов докинга [32–34], было высказано предположение о том, что ключевую роль в связывании играют гидроксильные группы в положениях 3 и 4 моносахарида. Поиски оптимальной для связывания структуры моносахарида указывают на важность ацетамидного фрагмента в положении 2 (который увеличивает сродство к рецептору примерно в 50 раз относительно галактозы) [35, 36], а также возможность модификаций первого и шестого положения моносахарида, которые могут как положительно, так и отрицательно сказываться на аффинности к рецептору [33, 37]. Значительно увеличивает связывание аллилоксильный заместитель в первом положении моносахарида; при одновременном присутствии триазольного фрагмента в шестом положении моносахарида равновесная константа диссоциации комплекса лиганд–рецептор (K_D) уменьшается еще в 5 раз [37].

Параллельно с варьированием заместителей в моносахаридном фрагменте проводилось исследование влияния пространственной структуры

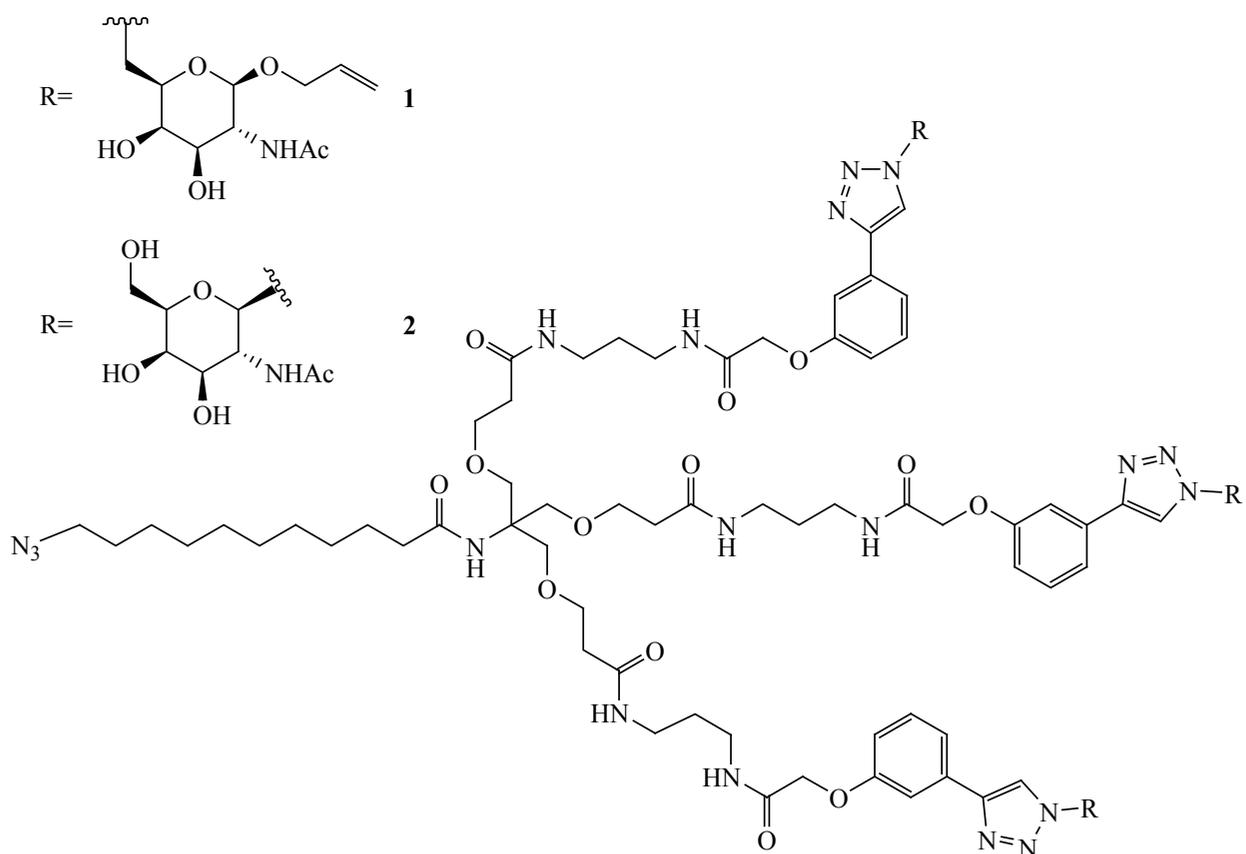
триантеннарных лигандов на связывание с ASGPR [38–43]. В качестве фрагмента ветвления использовали различные молекулярные платформы: трис(гидроксиметил)аминометан (TRIS) [38, 40–43], лизин и содержащий его дипептид [39], а также последовательность монономерных звеньев на основе 1-гидроксиметил-3-гидроксипирролидина, связанных фосфодиэфирной связью [42]. При варьировании длины спейсера было установлено, что наибольшим сродством к ASGPR обладают лиганды с линейным расстоянием от моносахарида до точки ветвления ~ 20 Å [38]. Исследования влияния количества углеводных фрагментов в структуре лиганда показывают нелинейное увеличение сродства при переходе от моно- к тривалентным лигандам, так называемый «кумулятивный эффект», в то же время дальнейшее увеличение количества углеводных фрагментов сказывается на аффинности незначительно [44, 45]. Важно, что удалось показать влияние увеличения сродства к ASGPR у лигандов на поглощение конъюгатов *in vitro* и *in vivo* [43].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе нами предложены новые триантеннарные лиганды ASGPR **1** и **2** общей структуры, показанной на рисунке. Лиганд **1**, содержащий галактозный фрагмент с аллилоксильным заместителем в первом положении шестичленного углеводного цикла и ароматическим заместителем в шестом, синтезирован на основе TRIS. Мы выбрали соединение **1** в качестве целевой структуры на основании данных о высоком сродстве к ASGPR подобного моносахарида [37] и незначительном различии в аффинности при выборе фрагментов ветвления. Лиганд **2** имеет сходную структуру, однако синтез его углеводного фрагмента включает меньшее количество стадий (3 вместо 6; см. рисунок), имеет больший суммарный выход и не включает стадий выделения при помощи колоночной хроматографии.

Углеводные фрагменты целевых соединений **5**, **10** были синтезированы по схеме 1 [15, 17, 18].

Финальной стадией синтеза (схема 2) фрагментов молекулы, отвечающих за связывание с рецептором, являлась реакция медь-катализируемого [3+2]-азид-алкинового циклоприсоединения меж-



Структура целевых триантеннарных лигандов

ду полученными азидами **5**, **10** и (*мета*-этинилфенокси)уксусной кислотой **11**, которую синтезировали из этил-2-бром-ацетата и *мета*-этинилфенола. Увеличение нуклеофильности фенольной группы происходило за счет ее депротонирования в основной среде, полученный таким образом фенолят вступал в реакцию S_N2 замещения с этил-2-бром-ацетатом и в дальнейшем подвергался гидролизу по сложноэфирной связи. Реакцию [3+2]-азид-алкинового циклоприсоединения проводили для азидов **5**, **10** и алкина **11** в присутствии сульфата меди и аскорбата натрия. Получение целевого продукта реакции подтверждается наличием синглета триазольного цикла в спектрах ЯМР ^1H полученных соединений (8.53 м.д. – соединение **12**, 8.60 м.д. – соединение **13**).

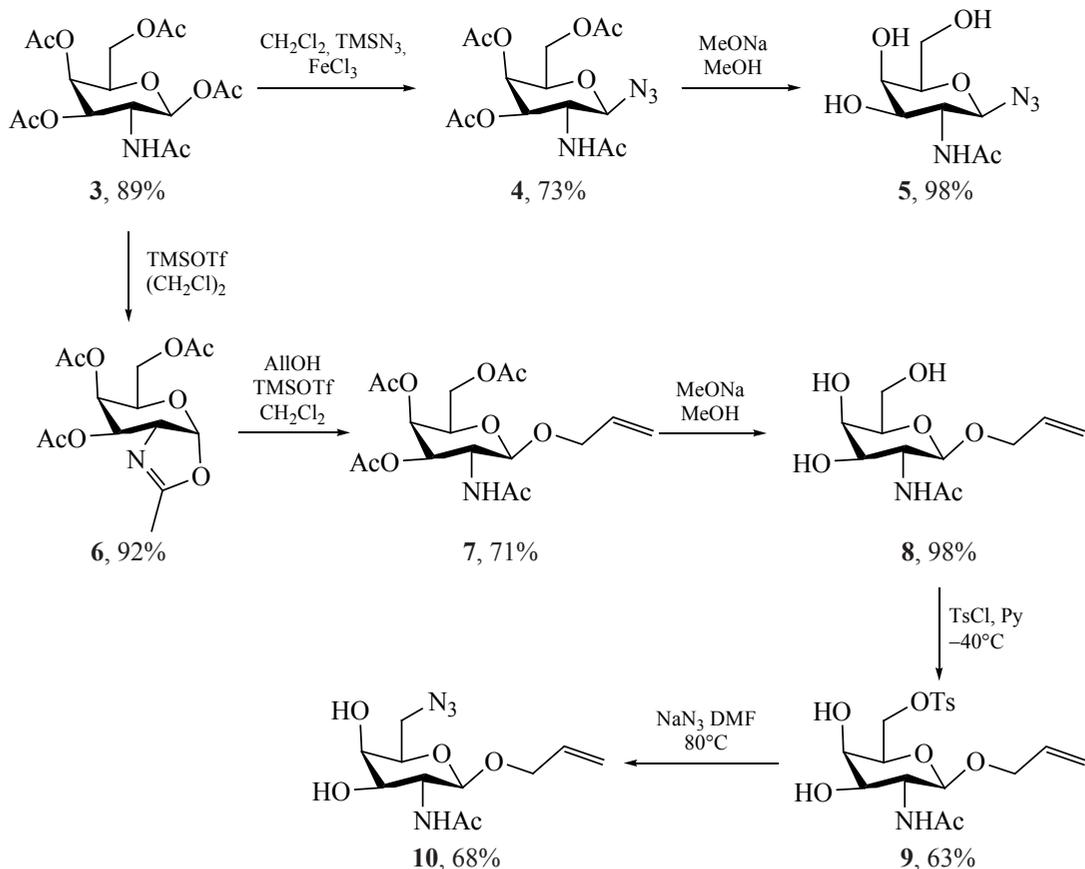
Синтез фрагмента ветвления начали с реакции 1,4-присоединения по Михаэлю трис(гидрокси-метил)аминометана (TRIS) к *трет*-бутилакрилату. Чтобы увеличить нуклеофильность гидроксильных групп по сравнению с аминогруппой, реак-

цию проводили в щелочной среде. После разделения реакционной смеси методом колоночной хроматографии среди продуктов не было обнаружено продуктов присоединения аминогруппы к α,β -ненасыщенному эфиру, однако были выделены побочные продукты моно- и диалкилирования TRIS по гидроксильным группам.

Введение фрагмента 11-азидоундекановой кислоты **14** позволяет создать в векторной молекуле необходимое расстояние между лигандом и доставляемым лекарственным веществом для нивелирования возможных негативных пространственных эффектов; азидогруппа дает в дальнейшем возможность соединять получаемые лиганды с лекарственными препаратами реакцией [3+2]-азид-алкинового циклоприсоединения, не затрагивая другие функциональные группы.

Соединение **16** синтезировали методом карбодиимидного синтеза. В качестве систем для активации карбоксильной группы в реакции образования амидной связи применяли 3-[бис(ди-

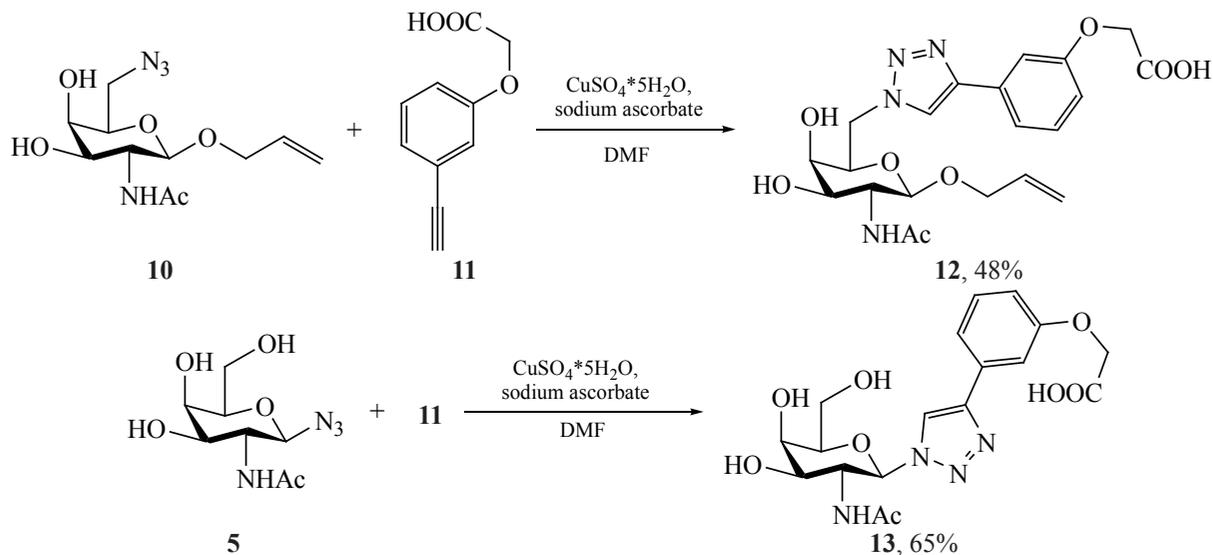
Схема 1. Синтез углеводных фрагментов



метиламино)метил]-3*H*-бензотриазол-1-оксида гексафторфосфат (НВТУ) и 3-(этилиминометиленамино)-*N,N*-диметилпропан-1-амин (EDC), при использовании последнего выходы реакции были

выше. О полноте протекания реакции свидетельствует отсутствие в спектрах ЯМР ^1H выделенного продукта характерного сигнала исходного амина в области 2.59 м.д. (уширенный синглет $-\text{NH}_2$),

Схема 2. Финальная стадия синтеза углеводных фрагментов



а также наличие характерного сигнала амидной группы при 6.47 м.д.

Отщепление *трет*-бутильных групп с получением трикарбоновой кислоты **17** проводили обработкой продукта **16** муравьиной кислотой.

Далее соединения **17** и **18** вводили в реакцию карбодиимидного синтеза, используя систему EDC/NHS. Для последующего удаления защитных Вос-групп использовали трифторуксусную кислоту. Сигналы *трет*-бутильных групп в спектре ЯМР ^1H (1.40–1.50 м.д.) продукта **20** отсутствуют, однако присутствует сигнал аммонийной группы (NH_3^+) (7.78 м.д.), что подтверждает протекание реакции.

Конечная стадия синтеза целевых триантеннарных лигандов (схема 3) заключалась в образовании амидных связей между полученными галактозными производными **12**, **13** и фрагментом ветвления **20**. Амид получали в присутствии EDC/NHS. Дополнительно для активации протонированной аминогруппы соединения **20** прибавляли третичный амин (DIPEA). Продукты реакции выделяли с использованием колоночной хроматографии. Образование целевого продукта подтверждали методами масс-спектрометрии высокого разрешения и спектроскопии ЯМР ^1H .

Аффинность полученных лигандов **1** и **2** к ASGPR была исследована методом спектроскопии поверхностного плазмонного резонанса. Данный метод позволяет изучать межмолекулярное взаимодействие без необходимости дополнительной модификации исследуемых соединений и его применимость также не зависит от спектральных характеристик исследуемых соединений; чувствительность метода позволяет работать с малыми количествами веществ. В процессе анализа определяли корреляцию между изменением аналитического сигнала и изменением массы иммобилизованного на подложке рецептора в ходе обратимого образования лиганд-рецепторного комплекса в контролируемом проточном режиме.

В проведенных тестах для полученных производных **1** и **2** определена равновесная константа диссоциации комплекса с рецептором, на 6 порядков меньшая [$K_D(\mathbf{1}) = 0.8 \pm 0.3$ нМ, $K_D(\mathbf{2}) = 1.1 \pm 0.3$ нМ], чем константа природного лиганда

N-ацетилгалактозамина (448 ± 43 мкМ), что является проявлением кооперативного эффекта, описанного для мультивалентных лигандов [42]. Это свидетельствует о существенном улучшении параметров связывания полученных в данной работе соединений по сравнению с природным лигандом. Измеренные K_D комплексов для соединений **1** и **2** всего на порядок уступают значениям таковой для триантеннарных лигандов на основе бициклических углеводных фрагментов ($K_D = 0.03 \pm 0.01$ нМ) [43]. Важно также отметить, что 2 полученных триантеннарных лиганда ASGPR **1** и **2** показали сходные значения равновесных констант диссоциации лиганд-рецепторных комплексов, существенно не зависящих от расстояния между углеводным и триазольным циклами и места присоединения триазольного цикла к пиранозному, то есть данные параметры не оказывают заметного влияния на сродство к сайту связывания. Это предполагает возможность использовать для получения галактозаминных лигандов более простые методы синтеза, сократить количество стадий и увеличить конечные выходы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исходные соединения представляют собой коммерчески доступные реагенты.

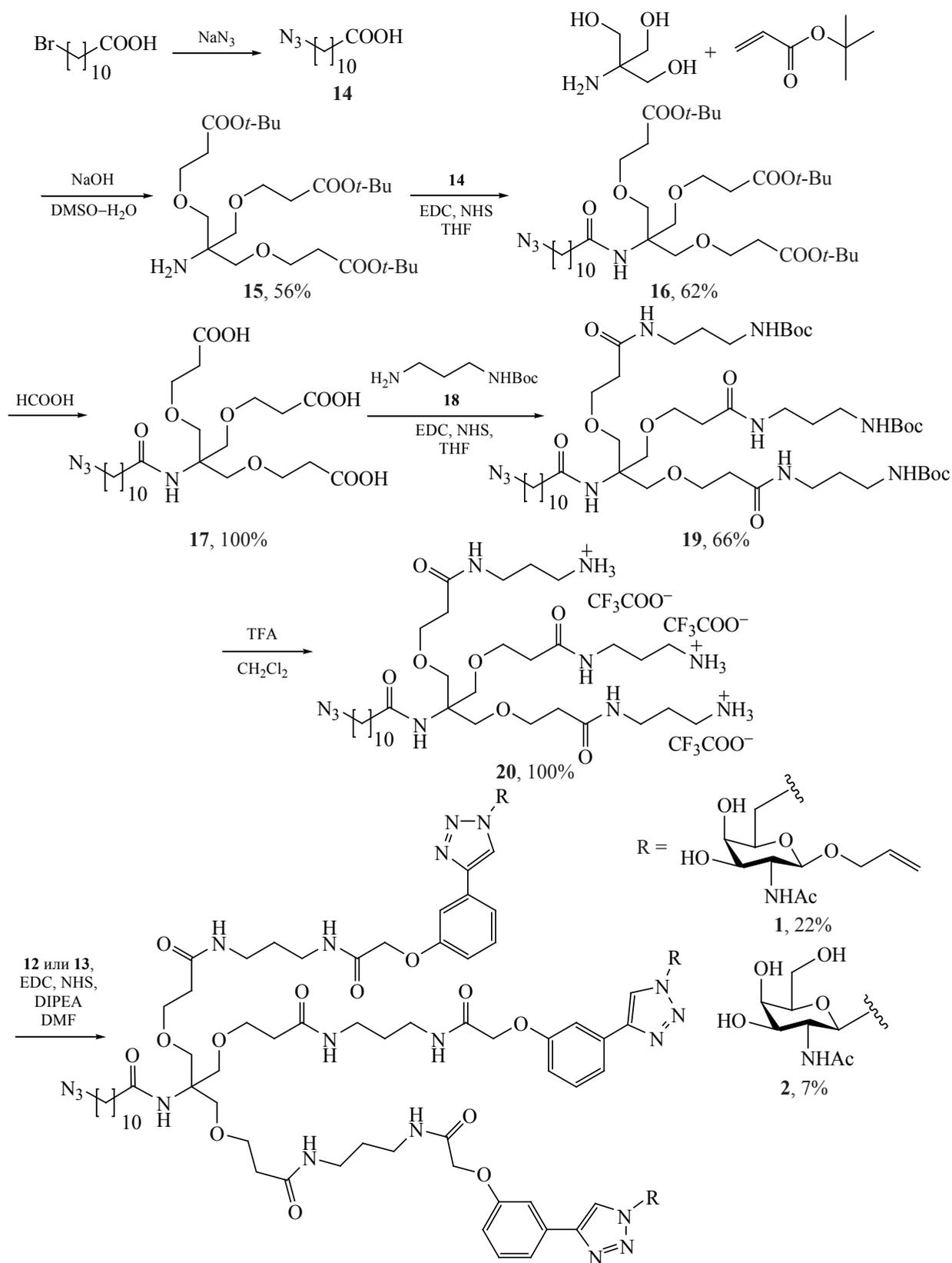
Контроль за ходом реакций осуществляли методом ТСХ на закрепленном слое силикагеля (Merck).

Спектры ЯМР ^1H были зарегистрированы на приборе Bruker Avance с рабочей частотой 400 МГц (Германия). В качестве растворителей использовали CDCl_3 , $\text{DMCO-}d_6$, CD_3OD . Химические сдвиги приведены в миллионных долях по шкале δ относительно гексаметилдисилоксана как внутреннего стандарта. Спектры ЯМР ^{13}C зарегистрированы на приборе Bruker Avance с рабочей частотой 100 МГц (Германия).

Масс-спектры высокого разрешения регистрировали на масс-спектрометре высокого разрешения Orbitrap Elite (США). Растворы образцов в ацетонитриле с 1%-ной муравьиной кислотой вводили в источник ионизации методом электрораспыления.

Для очистки и анализа образцов методом ВЭЖХ использовали систему Shimadzu Prominence LC-20

Схема 3. Получение целевых триантеннарных лигандов

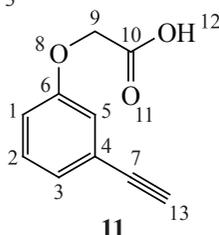


(Япония) с конвекционной колонкой и коллектором фракций, соединенным с одиночным квадрупольным масс-спектрометром Shimadzu LCMS-2020 с двойным источником ионизации DUIS-ESI-APCI (Япония). Аналитическая и препаративная колонка – Phenomenex Luna 3u C18 100A.

Препаративное хроматографическое разделение веществ проводили при помощи хроматографа INTERCHIM puriFlash 430 на обращенно-фазовой колонке PURIFLASH C18-HP 15UM F0012 (Франция).

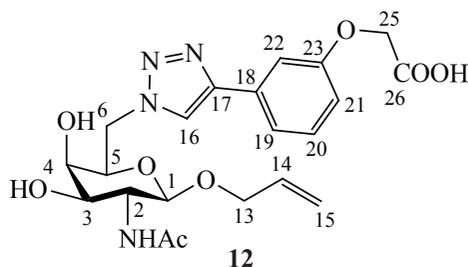
(3-Этинилфенокси)уксусная кислота (11).

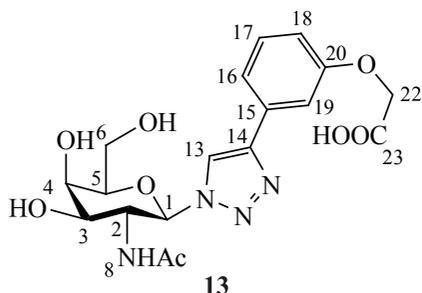
Смесь 3-этинилфенола (1.02 г, 0.01 моль), этил-2-бромацетата (1.67 г, 0.01 моль) и K_2CO_3 (3.036 г, 0.022 моль, 2.2 экв) в 12.5 мл ДМФА перемешивали при температуре 60°C в течение 8 ч. Затем смесь разбавляли водой и перемешивали ещё 16 ч при 60°C. Полноту протекания реакции контролировали с помощью метода ТСХ. После полного протекания реакции смесь охлаждали до комнатной температуры и в реакционную смесь осторожно прибавляли воду (50 мл), экстрагировали диэтиловым эфиром (2×50 мл), органическую фазу сушили над безводным $MgSO_4$, после чего растворитель удаляли при пониженном давлении. Полученную смесь очищали методом колоночной хроматографии в системе гексан–этилацетат (4:1). Далее выделенный промежуточный продукт добавляли в раствор (50 мл) 1 М NaOH в смеси ТГФ– H_2O (1:1). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 ч при комнатной температуре, затем добавляли ионообменную смолу Dowex 50W до получения нейтрального значения pH, дополнительно смесь перемешивали 10 мин, после чего ионообменную смолу отфильтровывали. Растворитель удаляли на роторном испарителе. Выход 1.34 г (76%), светло-коричневое кристаллическое вещество [46]. Спектр ЯМР 1H , $CDCl_3$, δ , м.д.: 3.01 с (1H, H^{13}), 4.51 с (2H, O– CH_2), 6.86 д (1H, H^3 , J 8.3 Гц), 6.94 с (1H, H^5), 7.03 д (1H, H^1 , J 7.6 Гц), 7.15 т (1H, H^2 , J 7.9 Гц). $C_{10}H_8O_3$.



2-[3-(1-[(2R,3R,4R,5R,6R)-5-Ацетиамидо-6-(аллилокси)-3,4-дигидрокси тетрагидро-2H-пиран-2-ил]метил}-1H-1,2,3-триазол-4-ил)фенокси]уксусная кислота (12). Соединение 10 (0.155 г, 0.00054 моль) и соединение 11 (0.0955 г, 0.00054 моль) растворяли в 10 мл смеси тетрагидрофуран–вода. В инертной атмосфере прибавляли пентагидрат сульфата меди (0.135 г, 0.00054 моль) и аскорбат натрия (0.107 г, 0.00054 моль). Реакционную смесь перемешивали в течение суток. После прохождения реакции растворители удаляли при пониженном давлении, смесь растворяли в метаноле и отфильтровывали через тонкий слой цеолита. Из фильтрата удаляли избыток растворителя на роторном испарителе и полученную смесь очищали методом колоночной хроматографии в системе с градиентом концентраций метанол–дихлорметан (1:20) → метанол–дихлорметан (1:2). Выход 0.120 г (48%), темно-коричневое твердое вещество. Спектр ЯМР 1H ($DMCO-d_6$), δ , м.д.: 1.80 с (3H, NHAc), 3.54–3.72 м (4H, $H^{2,3,5,6}$), 3.77–3.81 м (1H, H^4), 4.02–4.13 м (2H, $H^{1,6}$), 4.25 с (2H, H^{25}), 4.54 д (2H, H^{13} , J 6.5 Гц), 4.98 д.д (1H, H^{15} , J 1.8, 10.5 Гц), 5.06 д.д (1H, H^{15} , J 1.8, 17.4 Гц), 5.55–5.68 м (1H, H^{14}), 6.77 д (1H, NH, 8.0 Гц), 7.26 т (1H, H^{20} , 8.0 Гц), 7.29–7.36 м (2H, $H^{21,22}$), 7.79 д (1H, H^{19} , J 8.2 Гц), 8.53 с (1H, H^{16}). Спектр ЯМР ^{13}C (CD_3OD), δ , м.д.: 22.1, 48.8, 50.8, 52.1, 66.7, 67.8, 70.4, 70.9, 73.2, 100.0 (CH=), 111.4 (CH=), 114.7 (CH=), 118.5 (CH=), 123.3 (CH=), 130.5 (CH=), 130.6 (CH=), 147.0 (CH=), 158.2 (CH=), 174.8 [C(O)NH], 197.0 (COOH). Масс-спектр (МСВР), m/z : 463.1832 [$M + H$] $^+$, 485.16492 [$M + Na$] $^+$. $C_{21}H_{26}N_4O_8$. [$M + H$] 463.1829, [$M + Na$] $^+$ 485.1648.

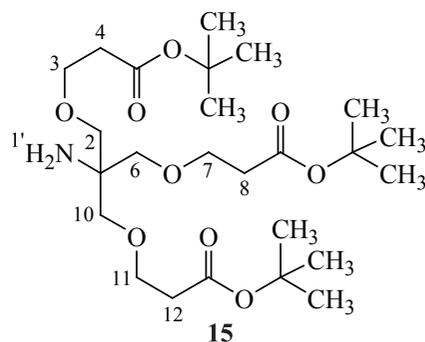
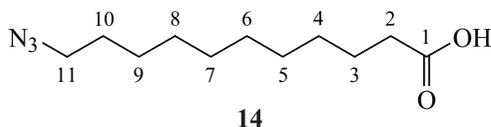
2-(3-{1-[(2R,3R,4R,5R,6R)-3-Ацетиамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил) тетрагидро-2H-пиран-2-ил]-1H-1,2,3-триазол-4-ил}фенокси)уксусная кислота (13). Соединение 5 (0.420 г, 0.0017 моль) и соединение 11 (0.299 г, 0.0017 моль)





растворяли в 10 мл смеси тетрагидрофуран–вода (в соотношении 1:1). В инертной атмосфере добавляли пентагидрат сульфата меди (0.425 г, 0.0017 моль) и аскорбат натрия (0.333 г, 0.0017 моль). Реакционную смесь перемешивали в течение суток. После прохождения реакции растворители удаляли при пониженном давлении, смесь растворяли в метаноле и отфильтровывали через тонкий слой цеолита. Фильтрат удаляли при пониженном давлении и полученную смесь очищали методом колоночной хроматографии в системе с градиентом концентраций метанол–дихлорметан (1:20) → метанол–дихлорметан (1:2). Выход 0.468 г (65%), темно-коричневое твердое вещество. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 1.60 с (3H, NHAc), 3.43 к (1H, H⁶, J 7.0 Гц), 3.48–3.60 м (2H, H^{2,6}), 3.66–3.73 м (1H, H⁵), 3.75 д.д (1H, H³, J 2.4, 10.4 Гц), 3.81 д (1H, H⁴, J 2.4 Гц), 4.52 с (2H, H²²), 5.66 д (1H, H¹, J 9.9 Гц), 6.83 д (1H, NH, J 8.1 Гц), 7.31 т (1H, H¹⁷, J 8.0 Гц), 7.36 с (1H, H¹⁹), 7.39 д (1H, H¹⁶, J 7.6 Гц), 7.85 д (1H, H¹⁸, J 9.1 Гц), 8.61 с (1H, H¹³). Спектр ЯМР ^{13}C (CD $_3$ OD), δ , м.д.: 21.6, 48.8, 52.1, 60.9, 67.7, 70.6, 78.3, 87.0, 111.5 (CH=), 114.7 (CH=), 118.7 (CH=), 120.9 (CH=), 130.4 (CH=), 147.1 (CH=), 157.9 [NHC(O)], 174.2 (COOH). Масс-спектр (МСВР), m/z : 423.1510 [$M + \text{H}$]⁺, 445.1330 [$M + \text{Na}$]⁺. C $_{18}$ H $_{23}$ N $_4$ O $_8$. [$M + \text{H}$] 423.1510, [$M + \text{Na}$]⁺ 445.1330.

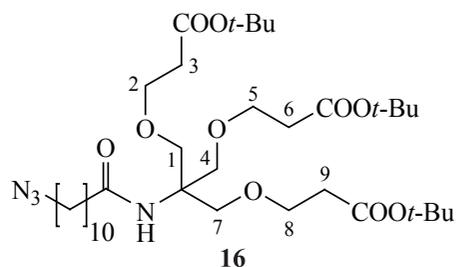
11-Азидоундекановая кислота (14). 11-Бромундекановую кислоту (3 г, 0.0113 моль) и азид натрия (3.68 г, 0.0566 моль) растворяли в ДМФА. Реакционную смесь перемешивали при температуре 50°C в течение 3 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Оставшуюся реакцию смесь растворяли в CHCl $_3$, промывали насыщен-

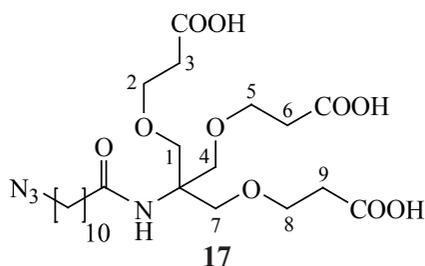


ным раствором NaCl и сушили над Na $_2$ SO $_4$, затем удаляли растворитель при пониженном давлении. Выход 2.162 г (84%), прозрачная жидкость [49]. Спектр ЯМР ^1H , CDCl $_3$, δ , м.д.: 1.23–1.42 м (12H, H^{4–9}), 1.54–1.69 м (4H, H^{3,10}), 2.35 т (2H, H², J 7.5 Гц), 3.25 т (2H, H¹¹, J 7.0 Гц). C $_{11}$ H $_{21}$ N $_3$ O $_2$.

Трис{[2-(*трет*-бутоксикарбонил)этокси]метил}метиламин (15). Трисгидроксиметиламинометан (2.4 г, 0.0198 моль) растворяли в 10 мл 1 М раствора NaOH в ДМСО. Смесь охлаждали до температуры ~ 17–18°C, после чего по каплям в течение 1 ч прибавляли *трет*-бутилакрилат (8 мл), после прикапывания охлаждение прекращали. Реакционную смесь перемешивали в течение суток. Смесь разбавляли водой (75 мл), проводили экстракцию с этилацетатом (2×75 мл) и промывали органическую фазу насыщенным раствором NaCl (75 мл). Растворители и остатки *трет*-бутилакрилата удаляли при пониженном давлении. Дальнейшую очистку проводили методом препаративной колоночной хроматографии в системе этилацетат–гексан (1:2 → 2:1). Выход 5.516 г (56%), вязкая прозрачная маслянистая жидкость [47]. Спектр ЯМР ^1H (CDCl $_3$), δ , м.д.: 1.40 с (27H, *t*-Bu), 1.99 уш.с (2H, NH $_2$), 2.41 т (6H, H^{4,8,12}, J 6.4 Гц), 3.28 с (6H, H^{2,6,10}), 3.60 т (6H, H^{3,7,11}, J 6.4 Гц). C $_{25}$ H $_{47}$ NO $_9$.

***N*-Трис{[2-(*трет*-бутоксикарбонил)этокси]метил}метиламид 11-азидоундекановой кис-**

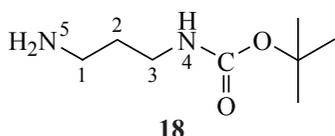




лоты (16). 11-Азидоундекановую кислоту (**14**) (0.4945 г, 0.00218 моль) растворяли в дихлорметане (25 мл), к раствору прибавляли *N*-гидроксисукцинимид (0.276 г, 0.0024 моль, 1.1 экв) и EDC·HCl (0.373 г, 0.0024 моль, 1.1 экв). Реакционную смесь перемешивали 15 мин, после чего прибавляли амин **15** (1.1 г, 0.00218 моль), перемешивание продолжали в течение суток. Растворитель отделяли на роторном испарителе, реакционную смесь разделяли методом препаративной колоночной хроматографии в системе хлористый метилен–метанол (50:1). Выход 0.960 г (62%), прозрачная маслянистая жидкость [50]. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: 1.21–1.38 м (12H, H^{4-9}), 1.44 с (27H, *t*-Bu), 1.53–1.65 м (4H, $\text{H}^{10,3'}$, J 6.9 Гц), 2.20 т (2H, $\text{H}^{2'}$, J 7.7 Гц), 2.44 т (6H, $\text{H}^{3,6,9}$, J 6.2 Гц), 3.24 т (2H, H^{11} , J 7.0 Гц), 3.63 т (6H, $\text{H}^{2,5,8}$, J 6.4 Гц), 3.69 с (6H, $\text{H}^{1,4,7}$), 6.22 уш.с [1H, C(O)NH]. $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_{10}$.

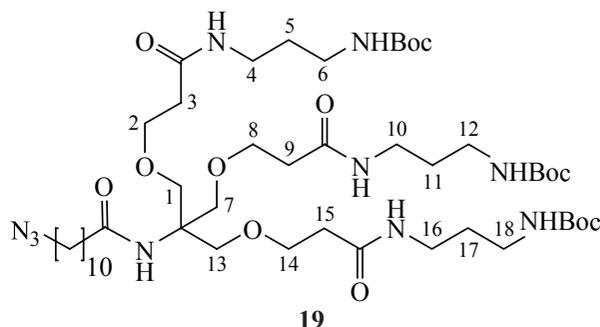
***N*-Трис[(2-карбоксиэтокси)метил]метиламид 11-азидоундекановой кислоты (17).** Соединение **16** (0.960 г, 0.00134 моль) растворяли в 100%-ной муравьиной кислоте (20 мл) и перемешивали в течение 12 ч. Муравьиную кислоту удаляли на роторном испарителе. Выход 0.732 г (100%), прозрачная жидкость [50]. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: 1.18–1.42 с (12H, H^{4-9}), 1.49–1.67 м (4H, $\text{H}^{10,3'}$), 2.15 т (2H, $\text{H}^{2'}$, J 7.3 Гц), 2.59 т (6H, $\text{H}^{3,6,9}$, J 6.1 Гц), 3.26 т (2H, H^{11} , J 6.9 Гц), 3.58–3.85 м (12H, $\text{H}^{1,2,4,5,7,8}$), 6.04 уш.с [1H, C(O)NH]. $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_{10}$.

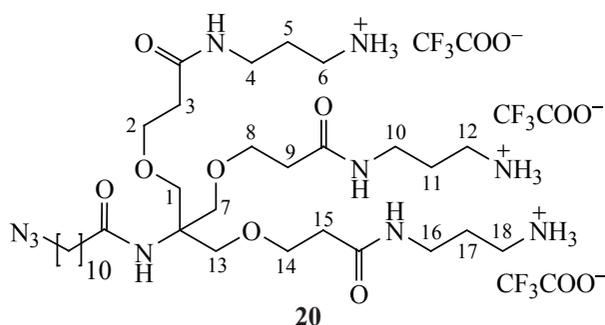
***N*-(трет-Бутилоксикарбонил)-1,3-диаминопропан (18).** 1,3-Диаминопропан (2.04 г, 0.0274 моль) растворяли в сухом диоксане



(20 мл) и смесь охлаждали до 0°C. Ди-трет-бутилдикарбонат (2.98 г, 0.0137 моль), растворенный в 30 мл диоксана, прибавляли по каплям в течение 2 ч. Затем реакционную смесь оставляли при перемешивании на ночь при комнатной температуре. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Реакционную смесь разбавляли водой. Ди-Вос-производное, выпавшее в осадок, отделяли фильтрованием на стеклянном фильтре. Моно-Вос-производное экстрагировали из водной фазы хлороформом (5×50 мл). Остатки воды из органической фазы удаляли Na_2SO_4 , после чего растворитель удаляли при пониженном давлении. Выход 1.43 г (60%), прозрачная маслянистая жидкость [48]. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: 1.43 с (9H, *t*-Bu), 1.60–1.70 м (2H, $\text{H}^{2'}$), 2.59 уш.с (2H, NH_2), 2.79 т (2H, $\text{H}^{1'}$, J 6.5 Гц), 3.17–3.27 м (2H, $\text{H}^{3'}$), 5.00 уш.с [1H, C(O)NH]. $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$.

***N*-(11-Азидоундеканойл)амино-трис-(1-{3-[*N*-(трет-бутоксикарбонил)аминопропил]-амино}-3-оксопропокси)метил)-метан (19).** Соединение **17** (0.350 г, 0.00064 моль) растворяли в хлористом метиле, прибавляли *N*-гидроксисукцинимид (0.243 г, 0.002112 моль, 3.3 экв) и EDC·HCl (0.329 г, 0.002112 моль, 3.3 экв). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин, после чего прибавляли соединение **18** (0.368 г, 0.002112 моль, 3.3 экв). Перемешивали 12 ч, после чего растворитель удаляли при пониженном давлении, а реакционную смесь разделяли методом препаративной колоночной хроматографии в системе метанол–хлористый метилен (1:50→1:20→1:10). Выход 0.429 г (66%), вязкая прозрачная жидкость [50]. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м.д.: 1.20–1.37 м (12H, H^{4-9}), 1.42 с (27H, *t*-Bu), 1.51–1.69 м (10H, $\text{H}^{3',10',5,11,17}$), 2.18 т (2H, $\text{H}^{2'}$, 7.6 Гц), 2.44 т (6H, $\text{H}^{3,9,15}$, J 5.4 Гц), 3.14 т





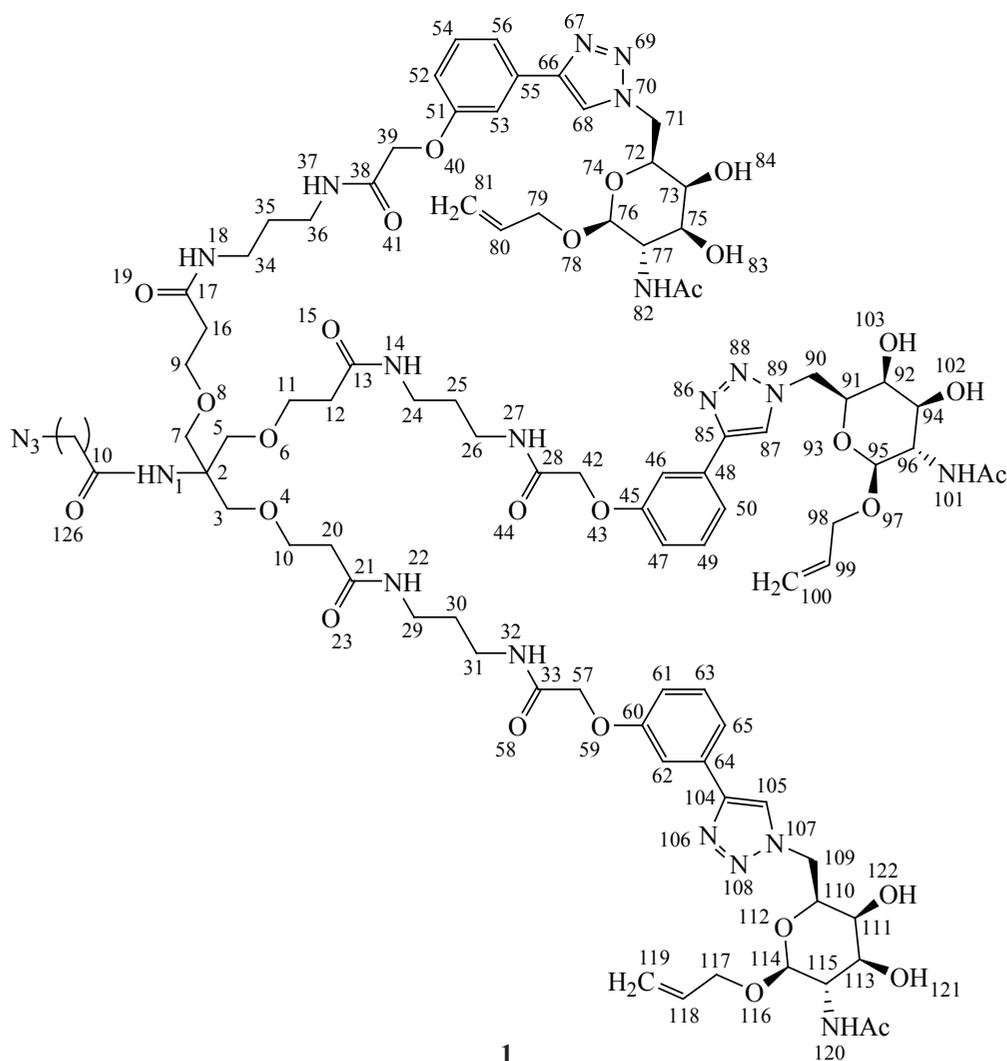
(6H, H^{6,12,18}, *J* 5.4 Гц), 3.21–3.33 м (8H, H^{11,4,10,16}), 3.61–3.74 м (12H, H^{1,7,13,2,8,14}), 5.29 уш.с [3H, C(O)NH-(Вос)], 6.47 уш.с [1H, C(O)NH], 7.19 уш.с [3H, C(O)NH]. C₃₉H₇₂N₁₀O₁₃.

2,2,2-Трифторацетат *N*-(11-азидоундеканол)амино-трис-(1-{3-[(3-аммиопропил)амино]-3-оксопропокси}метил)-метана (20). Соединение **19** (0.4286 г, 0.000423 моль) растворяли в 60 мл смеси трифторуксусная кислота–хлористый метилен (1:4), реакцию смесь перемешивали в течение 3 ч, после чего растворители удаляли при пониженном давлении. Вещество в дальнейших реакциях использовали без дополнительной очистки. Выход 0.4469 г (100%), белое аморфное вещество [50]. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м.д.: 1.19–1.27 м (12H, H^{4'-9'}), 1.34–1.45 м (2H, H^{3'}, *J* 5.3 Гц), 1.45–1.55 м (2H, H^{10'}, *J* 6.9 Гц), 1.59–1.71 м (6H, H^{5,11,17}), 2.03 т (2H, H^{2'}, *J* 6.2 Гц), 2.29 т (6H, H^{3,9,15}, *J* 6.2 Гц), 2.68–2.81 м (6H, H^{4,10,16}), 3.04–3.13 м (6H, H^{6,12,18}), 3.28 т (2H, H^{11'}, *J* 6.9 Гц), 7.01 уш.с [1H, C(O)NH], 7.76 уш.с (9H, NH₃⁺), 8.01–8.07 м [3H, C(O)NH]. C₃₃H₆₆N₁₀O₇·3CF₃COOH.

***N*-(11-азидоундеканол)амино-трис-({3-[(3-2-[3-(1-{5-ацетиамидо-6-(аллилокси)-3,4-дигидрокси тетрагидро-2*H*-пиран-2-ил]метил}-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил)фенокс]ацетиамидо}-пропил)амино)-3-оксопропокси}метил)-метан (1).** Соединение **12** (0.065 г, 0.00014 моль, 3.3 экв) растворяли в 10 мл ДМФА, прибавляли NHS (16 мг, 0.00014 моль, 3.3 экв) и EDC (22 мг, 0.00014 моль, 3.3 экв). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин, после чего прибавляли раствор соединения **20** (0.050 г, 43 мкмоль) и 25 мкл DIPEA (3.3 экв) в 5 мл ДМФА. Оставляли перемешиваться в течение 12 ч после чего растворитель удаляли при пониженном давлении, а реакцию смесь разделяли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в системе вода–ацетонитрил в гради-

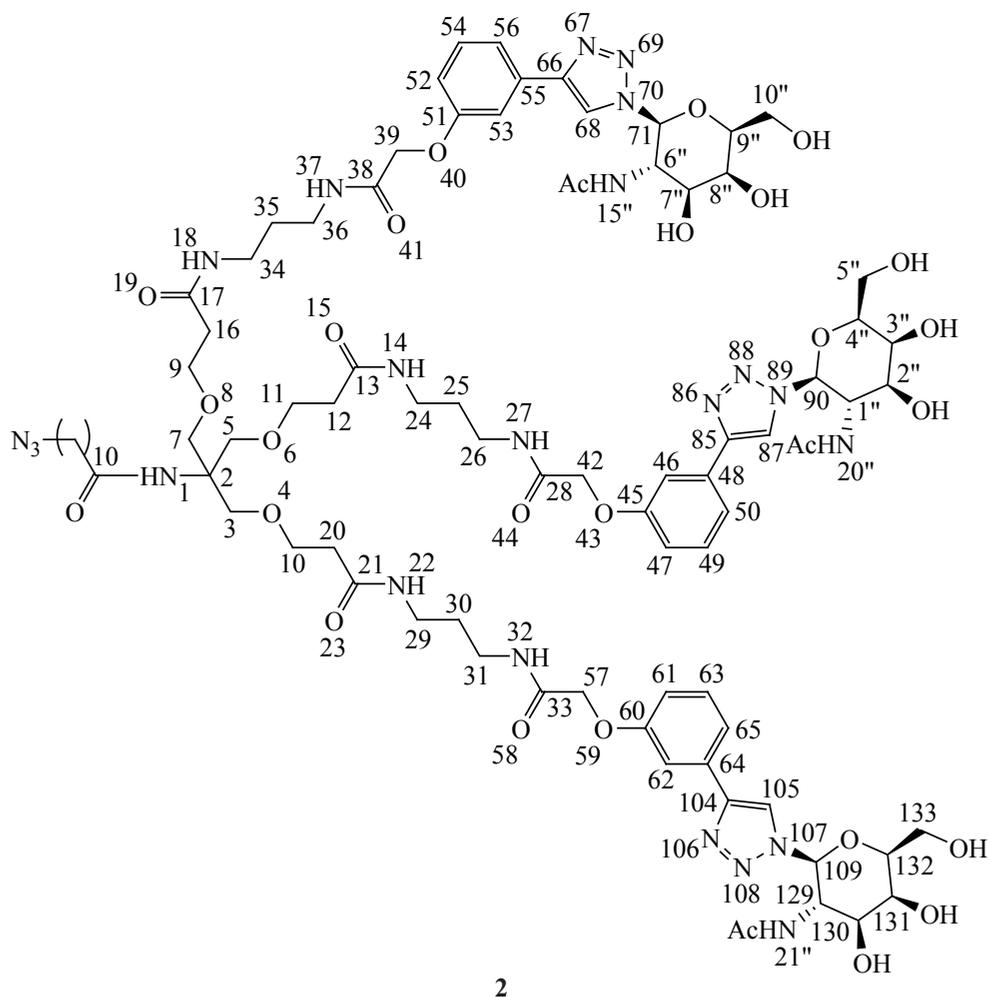
енте концентраций. Выход 0.025 г (22%). Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD), δ, м.д.: 1.17–1.34 м (12H, H^{4'-9'}), 1.46–1.58 м (4H, H^{3',10'}), 1.66–1.75 м (6H, H^{25,30,35}), 1.98 с (9H, NHAc), 2.14 т (2H, H^{2'}, *J* 6.5 Гц), 2.41 т (6H, H^{12,16,20}, *J* 6.1 Гц), 3.21 т (6H, H^{26,31,36}, *J* 6.7 Гц), 3.60–3.75 м (18H, H^{9,10,11,72,77,91,96,110,115,-11',3,5,7}), 3.84 д.д (3H, H^{75,94,113}, *J* 3.2, 11.1 Гц), 3.96 д (3H, H^{73,92,111}, *J* 3.2 Гц), 4.26 д.д (3H, H^{71,90,109}, *J* 4.2, 8.7 Гц), 4.32 д.д (3H, H^{71,90,109}, *J* 3.7, 11.1 Гц), 4.56 с (6H, H^{39,42,57}), 4.57–4.63 м (6H, H^{79,98,117}), 4.69 д.д (3H, H^{75,96,114}, *J* 6.0 Гц), 5.04 д.д (3H, H^{81,100,119}, *J* 1.5, 17.2 Гц), 5.59–5.72 м (3H, H^{80,99,118}), 6.98 д.д (3H, H^{50,56,65}; *J* 1.9, 8.1 Гц), 7.19 с (1H, C(O)NH), 7.37 т (3H, H^{47,54,63}, *J* 8.1 Гц), 7.43–7.50 м (6H, H^{61,62,46,47,52,53}), 8.35 с (3H, H^{68,87,105}). Масс-спектр (МСВР), *m/z*: 2048.0059 [*M* + H]⁺, 2069.9876 [*M* + Na]⁺. C₉₆H₁₃₈N₂₂O₂₈. [*M* + H] 2048.0129, [*M* + Na]⁺ 2069.9949.

***N*-(11-азидоундеканол)амино-трис-3-[(3-2-[3-(1-{3-ацетиамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидрокси метил) тетрагидро-2*H*-пиран-2-ил]-1*H*-1,2,3-триазол-4-ил) фенокс]ацетиамидо]пропил)амино)-3-оксопропокси}метил}-метан (2).** Соединение **13** (0.0591 г, 0.00014 моль, 3.3 экв) растворяли в 10 мл ДМФА, добавляли NHS (16 мг, 0.00014 моль, 3.3 экв) и EDC (22 мг, 0.00014 моль, 3.3 экв). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин, после чего прибавляли раствор соединения **20** (0.050 г, 43 мкмоль) и 25 мкл DIPEA (3.3 экв) в 5 мл ДМФА. Оставляли перемешиваться в течение ночи, после чего растворитель удаляли при пониженном давлении, а реакцию смесь разделяли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в системе вода–ацетонитрил в градиенте концентраций. Выход 0.008 г (7%). Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD), δ, м.д.: 1.15–1.33 м (12H, H^{4'-9'}), 1.43–1.57 м (4H, H^{3',10'}), 1.62–1.72 м (6H, H^{25,30,35}), 1.77 с (9H, NHAc), 2.12 т (2H, H^{2'}, *J* 7.3 Гц), 2.31–2.43 м (6H, H^{12,16,20}), 3.11–3.23 м (6H, H^{24,29,34}), 3.41 т (2H, H^{11'}, *J* 5.3 Гц), 3.55–3.70 м (18H, H^{9,10,11,3,5,7,5'',10'',133}), 3.75–3.89 м (9H, H^{4'',9'',-132,2'',7'',130,1'',6'',129}), 4.06 д (3H, H^{3'',8'',131}), 4.40–4.61 с (6H, H^{39,42,57}), 5.77 д (3H, H^{71,90,109}, *J* 9.5 Гц), 6.86 д (3H, H^{50,56,65}, *J* 8.0 Гц), 7.29 т (3H, H^{49,54,63}, *J* 8.0 Гц), 7.32–7.38 м (3H, H^{46,53,62}), 8.04 с (3H, H^{68,87,105}). Масс-спектр (МСВР), *m/z*: 1927.9127 [*M* + H]⁺, 1949.8998 [*M* + Na]⁺. C₈₇H₁₂₆N₂₂O₂₈. [*M* + H] 1927.9190, [*M* + Na]⁺ 1949.9010.



Анализ аффинности к рецептору методом спектроскопии поверхностного плазмонного резонанса. Определение K_D *in vitro* методом спектроскопии поверхностного плазмонного резонанса проводили на приборе Biacore X100 (Biacore AB, Швеция) с использованием чип-носителя CM5, состоящего из золотой пластины, покрытой слоем карбоксиметилированного декстрана. Поверхность чипа включает в себя 2 проточных ячейки. На поверхности одной из ячеек был иммобилизован фермент ASGPR из печени кролика [Generic Assays GmbH, Германия, чистота > 95% (SDS-PAGE)]. Для иммобилизации рецептора использовали буферную смесь 10 мМ HEPES pH 7.0. Для экспериментов по определению аффинности лигандов использовали рабочую буферную смесь, содержащую 150 мМ NaCl, 50 мМ CaCl₂, 50 мМ

TRIS, pH 7.4. Исследуемые соединения растворяли в ДМСО и полученные растворы разбавляли рабочим буферным раствором так, чтобы концентрация органического растворителя была < 1% (v/v). Концентрация исследуемых лигандов была представлена в широком диапазоне от 10⁻² М до 5×10⁻¹¹ М. Раствор исследуемого соединения подавали в течение 180 с (время связывания) при скорости потока 20 мкл/мин и далее в течение 60 с изучали диссоциацию комплекса. Термодинамическую константу диссоциации K_D определяли, используя модель изотермы адсорбции Ленгмюра (1:1 Langmuir association). Для восстановления чип-носитель обрабатывали 20 мкл 20 мМ раствора ЭДТА. Полученные данные обрабатывали при помощи программного обеспечения BIAevaluation 3 (Biacore AB, GE Healthcare, Швеция).



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработаны и синтезированы новые высокоэффективные триантеннарные лиганды, которые могут служить векторами для адресной доставки лекарственных средств в клетки печени. Полученные лиганды содержат концевую азидную группу, позволяющую вводить их в реакцию [3+2]-азид-алкинового циклоприсоединения, которая является ортогональной для большинства функциональных групп, присутствующих как в лиганде, так и в потенциальных препаратах для адресной доставки. Оба лиганда **1** и **2** демонстрируют высокую аффинность к асиалогликопротеиновому рецептору; значения равновесных констант диссоциации комплекса «лиганд–рецептор» находятся в субнаномолярном диапазоне, что на 6 порядков ниже равновесных констант диссоциации комплекса рецептора и природного лиганда *N*-ацетилгалактозамина, и лишь на порядок больше значений K_D , получен-

ных с использованием триантеннарных лигандов более сложного строения. Неожиданно лиганд **1** упрощенного строения продемонстрировал равновесную константу диссоциации, близкую к таковой лиганда **2**, предложенного на основании литературных данных. Преимуществами лиганда **1** является более простая и короткая схема синтеза, а также возможность выделения углеводного фрагмента без использования колоночной хроматографии. Данные результаты в будущем можно использовать для оптимизации получения триантеннарных лигандов асиалогликопротеинового рецептора за счет упрощения и удешевления их синтеза.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории физико-химических методов анализа строения вещества химического факультета МГУ

ЖУРНАЛ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 59 № 2 2023

имени М.В. Ломоносова доктору химических наук, профессору Лебедеву Альберту Тарасовичу, кандидату химических наук Ковалеву Сергею Васильевичу, а также Белоглазкину Андрею Александровичу за помощь в исследовании.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, гранты РНФ № 21-73-00106 (синтез поливалентных лигандов асиалогликопротеинового рецептора) и РНФ № 20-63-46029 (исследование аффинности методом спектроскопии поверхностного плазмонного резонанса), а также Программы развития МГУ.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Петров Ростислав Александрович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8384-4572>

Петров Станислав Александрович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6000-6100>

Маклакова Светлана Юрьевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5290-9353>

Лопухов Антон Владимирович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3517-505X>

Клячко Наталья Львовна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9357-8236>

Белоглазкина Елена Кимовна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6796-8241>

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Schwartz A.L., Ashwell G. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **1984**, *16*, 207–233. doi 10.3109/10409238409108716
- Spiess M. *Biochemistry*. **1990**, *29*, 10009–10018. doi 10.1021/bi00495a001
- Stockert R.J. *Physiol. Rev.* **1995**, *75*, 591–609. doi 10.1152/physrev.1995.75.3.591
- Kunjiappan S., Pavada P., Vellaichamy S., Ram Kumar Pandian S., Ravishankar V., Palanisamy P., Govindaraj S., Srinivasan G., Premanand A., Sankaranarayanan M., Theivendren P. *Drug Devel. Res.* **2021**, *82*, 309–340. doi 10.1002/ddr.21758
- D'souza A.A., Devarajan P.V. *J. Control. Rel.* **2015**, *203*, 126–139. doi 10.1016/j.jconrel.2015.02.022
- Иваненков Я.А., Маклакова С.Ю., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В., Назаренко А.Г., Тоневицкий А.Г., Котелянский В.Э., Мажуга А.Г. *Усп. хим.* **2017**, *86*, 750–776. [Ivanenkov Y.A., Maklakova S.Yu., Beloglazkina E.K., Zyk N.V., Nazarenko A.G., Tonevitsky A.G., Kotelianski V.E., Majouga A.G. *Russ. Chem. Rev.* **2017**, *86*, 750–776.] doi 10.1070/rcr4707
- Щегравина Е.С., Сачкова А.А., Усова С.Д., Нючев А.В., Грачева Ю.А., Федоров А.Ю. *Биоорг. хим.* **2021**, *47*, 71–98. [Shchegravina E.S., Sachkova A.A., Usova S.D., Nyuchev A.V., Gracheva Y.A., Fedorov A.Y. *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2021**, *47*, 71–98.] doi 10.1134/S1068162021010222
- Brennan F.R., Shaw L., Wing M.G., Robinson C. *Mol. Biotechnol.* **2004**, *27*, 59–74. doi 10.1385/MB:27:1:59
- Kang B.K., Chon S.K., Kim S.H., Jeong S.Y., Kim M.S., Cho S.H., Lee H.B., Khang G. *Int. J. Pharm.* **2004**, *286*, 147–156. doi 10.1016/j.ijpharm.2004.08.008
- Sinha R., Kim G.J., Nie S., Shin D.M. *Mol. Cancer Ther.* **2006**, *5*, 1909–1917. doi 10.1158/1535-7163.mct-06-0141
- Stern S.T., McNeil S.E. *Toxicol. Sci.* **2007**, *101*, 4–21. doi 10.1093/toxsci/kfm169
- Akbarzadeh A., Rezaei-Sadabady R., Davaran S., Joo S.W., Zarghami N., Hanifehpour Y., Samiei M., Kouhi M., Nejati-Koshki K. *Nanoscale Res. Lett.* **2013**, *8*, 102. doi 10.1186/1556-276X-8-102
- Bildstein L., Dubernet C., Couvreur P. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2011**, *63*, 3–23. doi 10.1016/j.addr.2010.12.005
- Wang M., Li Z., Liu F., Yi Q., Pu C., Li Y., Luo T., Liang J., Wang J. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 14793–14808. doi 10.1021/acs.jmedchem.1c01365
- Petrov R.A., Mefedova S.R., Yamansarov E.Y., Maklakova S.Y., Grishin D.A., Lopatukhina E.V., Burenina O.Y., Lopukhov A.V., Kovalev S.V., Timchenko Y.V., Ondar E.E., Ivanenkov Y.A., Evteev S.A., Vaneev A.N., Timoshenko R.V., Klyachko N.L., Erofeev A.S., Gorelkin P.V., Beloglazkina E.K., Majouga A.G. *Mol. Pharm.* **2020**, *18*, 461–468. doi 10.1021/acs.molpharmaceut.0c00980
- Rico L., Østergaard M.E., Bell M., Seth P.P., Hanesian S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 2652–2654. doi 10.1016/j.bmcl.2018.06.002
- Petrov R.A., Maklakova S.Y., Ivanenkov Y.A., Petrov S.A., Sergeeva O.V., Yamansarov E.Y., Saltykova I.V., Kireev I.I., Alieva I.B., Deyneka E.V., Sofronova A.A., Aladinskaia A.V., Trofimenko A.V., Yamidanov R.S., Kovalev S.V., Kotelianski V.E., Zatsepin T.S., Beloglazkina E.K., Majouga A.G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 382–387. doi 10.1016/j.bmcl.2017.12.032

18. Ivanenkov Y.A., Majouga A.G., Petrov R.A., Petrov S.A., Kovalev S.V., Maklakova S.Y., Yamansarov E.Y., Saltykova I.V., Deyneka E.V., Filkov G.I., Kotelianski V.E., Zatsepin T.S., Beloglazkina E.K., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 503–508. doi 10.1016/j.bmcl.2017.12.004
19. Prakash T.P., Graham M.J., Yu J., Carty R., Low A., Chappell A., Schmidt K., Zhao C., Aghajan M., Murray H.F., Riney S., Booten S.L., Murray S.F., Gaus H., Crosby J., Lima W.F., Guo S., Monia B.P., Swayze E.E., Seth P.P. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, 8796–8807. doi 10.1093/nar/gku531
20. Springer A.D., Dowdy S.F. *Nucleic Acid Ther.* **2018**, *28*, 109–118. doi 10.1089/nat.2018.0736
21. Weng Y., Xiao H., Zhang J., Liang X.-J., Huang Y. *Biotechnol. Adv.* **2019**, *37*, 801–825. doi 10.1016/j.biotechadv.2019.04.012
22. Hu B., Zhong L., Weng Y., Peng L., Huang Y., Zhao Y., Liang X.-J. *Sig Transduct. Target Ther.* **2020**, *5*, 1–25. doi 10.1038/s41392-020-0207-x
23. Craig K., Abrams M., Amiji M. *Expert Opin. Drug Deliv.* **2018**, *15*, 629–640. doi 10.1080/17425247.2018.1473375
24. Zimmermann T.S., Karsten V., Chan A., Chiesa J., Boyce M., Bettencourt B.R., Hutabarat R., Nochur S., Vaishnav A., Gollob J. *Mol. Ther.* **2017**, *25*, 71–78. doi 10.1016/j.ymthe.2016.10.019
25. Cedillo I., Chreng D., Engle E., Chen L., McPherson A., Rodriguez A. *Molecules.* **2017**, *22*, 1356. doi 10.3390/molecules22081356
26. Setten R.L., Rossi J.J., Han S. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2019**, *18*, 421–446. doi 10.1038/s41573-019-0017-4
27. Al Shaer D., Al Musaimi O., Albericio F., de la Torre B.G. *Pharmaceuticals.* **2020**, *13*, 40. doi 10.3390/ph13030040
28. de Paula Brandão P.R., Titze-de-Almeida S.S., Titze-de-Almeida R. *Mol. Diagn. Ther.* **2020**, *24*, 61–68. doi 10.1007/s40291-019-00438-6
29. Chong S., Agarwal S., Agarwal S., Aluri K.C., Arciprete M., Brown C., Charisse K., Cichocki J., Fitzgerald K., Goel V., Gu Y., Guenther D., Habtemariam B., Jadhav V., Janas M., Jayaraman M., Kurz J., Li J., Liou S., Liu J., Liu X., Maclauchlin C., Maier M., Manoharan M., McDougall R., Nair J., Ramsden D., Robbie G., Schmidt K., Smith P., Theile C., Vaishnav A., Waldron S., Wu J.T., Xu Y., Zhang X., Zlatev I., Castellanos-Rizaldos E. *Drug Metab. Dispos.* **2021**. doi 10.1124/dmd.121.000428
30. Onizuka T., Shimizu H., Moriwaki Y., Nakano T., Kanai S., Shimada I., Takahashi H. *The FEBS J.* **2012**, *279*, 2645–2656. doi 10.1111/j.1742-4658.2012.08643.x
31. Meier M., Bider M.D., Malashkevich V.N., Spiess M., Burkhard P. *J. Mol. Biol.* **2000**, *300*, 857–865. doi 10.1006/jmbi.2000.3853
32. Kolatkar A.R., Leung A.K., Isecke R., Brossmer R., Drickamer K., Weis W.I. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 19502–19508. doi 10.1074/jbc.273.31.19502
33. Feinberg H., Torgersen D., Drickamer K., Weis W.I. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 35176–35184. doi 10.1074/jbc.M005557200
34. D’Souza A.A., Jain P., Galdhar C.N., Samad A., Degani M.S., Devarajan P.V. *AAPS J.* **2013**, *15*, 696–706. doi 10.1208/s12248-013-9474-6
35. Baenziger J.U., Maynard Y. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 4607–4613. doi 10.1016/s0021-9258(19)85538-2
36. Iobst S.T., Drickamer K. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 6686–6693. doi 10.1074/jbc.271.12.6686
37. Mamidyala S.K., Dutta S., Chrnyk B.A., Preville C., Wang H., Withka J.M., McColl A., Subashi T.A., Hawrylik S.J., Griffor M.C., Kim S., Pfefferkorn J.A., Price D.A., Menhaji-Klotz E., Mascitti V., Finn M.G. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 1978–1981. doi 10.1021/ja2104679
38. Biessen E.A., Beuting D.M., Roelen H.C., van de Marel G.A., Van Boom J.H., Van Berkel T.J. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1538–1546. doi 10.1021/jm00009a014
39. Valentijn A.R.P., van der Marel G.A., Sliedregt L.A., van Berkel T.J., Biessen E.A., van Boom J.H. *Tetrahedron.* **1997**, *53*, 759–770. doi 10.1016/S0040-4020(96)01018-6
40. Khorev O., Stokmaier D., Schwardt O., Cutting B., Ernst B. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5216–5231. doi 10.1016/j.bmc.2008.03.017
41. Sliedregt L.A., Rensen P.C., Rump E.T., van Santbrink P.J., Bijsterbosch M.K., Valentijn A.R.P., van der Marel G.A., van Boom J.H., van Berkel T.J., Biessen E.A. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 609–618. doi 10.1021/jm981078h
42. Rajeev K.G., Nair J.K., Jayaraman M., Charisse K., Taneja N., O’Shea J., Willoughby J.L., Yucius K., Nguyen T., Shulga-orskaya S., Milstein S. *Chembiochem.* **2015**, *16*, 903–908. doi 10.1002/cbic.201500023
43. Sanhueza C.A., Baksh M.M., Thuma B., Roy M.D., Dutta S., Preville C., Chrnyk B.A., Beaumont K., Dullea R., Ammirati M., Liu S., Gebhard D., Finley J.E., Salatto C.T., King-Ahmad A., Stock I., Atkinson K., Reidich B., Lin W., Rajesh K., Tu M., Menhaji-Klotz E., Price D.A., Liras S., Finn M.G., Mascitti V. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 3528–3536. doi 10.1021/jacs.6b12964

44. Lee Y.C., Townsend R.R., Hardy M.R., Lönngrén J., Arnarp J., Haraldsson M., Lönn H. *J. Biol. Chem.* **1983**, 258, 199–202. doi 10.1016/S0021-9258(18)33240-X
45. Connolly D.T., Townsend R.R., Kawaguchi K., Bell W.R., Lee Y.C. *J. Biol. Chem.* **1982**, 257, 939–945. doi 10.1016/S0021-9258(19)68290-6
46. Tae H.S., Sundberg T.B., Neklesa T.K., Noblin D.J., Gustafson J.L., Roth A.G., Raina K., Crews C.M. *ChemBioChem.* **2012**, 13, 538–541. doi 10.1002/cbic.201100793
47. Cardona C.M., Gawley R.E. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 1411–1413. doi 10.1021/jo0161678
48. Chadwick J., Jones M., Mercer A.E., Stocks P.A., Ward S.A., Park B.K., O'Neill P.M. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 2586–2597. doi 10.1016/j.bmc.2010.02.035
49. Chen Y., Zhang Q., Flach C., Mendelsohn R., Galoppini E., Reyes P.I., Yang K., Li R., Li G., Lu Y. *Anal. Bioanal. Chem.* **2017**, 409, 6379–6386. doi 10.1007/s00216-017-0577-2
50. Маклакова С.Ю., Кучеров Ф.А., Петров Р.А., Гопко В.В., Шипулин Г.А., Зацепин Т.С., Белоглазкина Е.К., Зык Н.В., Мажуга А.Г., Котелянский В.Э. *Изв. АН. Сер. хим.* **2015**, 64, 1655–1655. [Maklakova S.Y., Kucherov F.A., Petrov R.A., Gopko V.V., Zatsepin T.S., Beloglazkina E.K., Zyk N.V., Majouga A.G., Koteliansky V.E., Shipulin G.A. *Russ. Chem. Bull.* **2015**, 64, 1655–1662.] doi 10.1007/s11172-015-1056-6

Synthesis and Affinity of Novel Asialoglycoprotein Receptor Triantennary Ligands

R. A. Petrov*, S. A. Petrov, D. A. Grishin, I. G. Kolmakov, D. S. Abramchuk, V. T. Tkachenko, E. A. Vlasova, S. Yu. Maklakova, A. V. Lopukhov, N. L. Klyachko, and E. K. Beloglazkina

Chemistry Department, Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory, 1/3, Moscow, 119991 Russia
*e-mail: petrovrostaleks@gmail.com

Received May 22, 2022; revised April 11, 2022; accepted April 13, 2022

New triantennary *N*-acetylgalactosamine derivatives of tris(hydroxymethyl)aminomethane were synthesized and used to form complexes with asialoglycoprotein receptor, originally found on hepatocytes. Equilibrium dissociation constants (K_D) of asialoglycoprotein receptor and obtained compounds were measured using surface plasmon resonance spectroscopy technique. The K_D values were in the subnanomolar range, being 6 orders of magnitude lower than the K_D of the complex of the receptor and *N*-acetylgalactosamine, its native ligand. The synthesized ligands exhibit much stronger binding to receptor in comparison to the natural ligand. These results suggest that synthesized ligands are promising agents for the targeted delivery of various therapeutic agents in hepatocytes.

Keywords: targeted delivery, asialoglycoprotein receptor ligands, hepatocellular carcinoma, *N*-acetylgalactosamine derivatives