

## **СИНТЕЗ ГАЛАКТОЗОСОДЕРЖАЩИХ АМФИФИЛОВ**

*Е.А. Иванова, аспирант, Н.Г. Морозова, доцент, М.А. Маслов, доцент,*

*Г.А. Серебренникова, профессор*

*кафедра Химии и технологии биологически активных соединений*

*им. Н.А. Преображенского МИТХТ им. М.В. Ломоносова*

*e-mail: ngmoroz@mail.ru*

**О**писан синтез галактозосодержащих амфифилов на основе тетрадеканола, холестерина и 1,2-di-O-тетрадецилглицерина как компонентов адресных липосомальных систем доставки лекарственных средств в клетки печени.

*The synthesis of galactose-containing amphiphiles based on tetradecanol, cholesterol or 1,2-di-O-tetradecylglycerol has been described. The compounds synthesized can be used as components of liposomal targeted carriers for therapeutics delivery into liver cells.*

**Ключевые слова:** амфифилы, галактоза, липосомы, адресная доставка.

**Key words:** amphiphiles, galactose, liposomes, target delivery.

Синтетические гликолипиды (неогликолипиды) благодаря своей доступности заменяют природные гликолипиды при моделировании биохимических процессов, основанных на углевод-опосредованных взаимодействиях, например, межклеточном узнавании или клеточной адгезии [1], а также широко используются в фундаментальных и прикладных областях молекулярной биологии и биологической химии. Кроме того, синтетические гликолипиды находят широкое применение в нанотехнологии при создании новых чувствительных биоаффинных методов анализа [2], а также микрочипов для обнаружения бактериальных токсинов и белков клеточной адгезии [3]. На основе наночастиц, модифицированных остатками углеводов, получают водорастворимые и стабильные контрастные агенты для магнитной резонансной томографии [4] и различные биометки [5]. Неионные углеводсодержащие детергенты широко востребованы в биологии и медицине в качестве «мягких» солюбилизаторов, так как биогенное углеводное звено существенно понижает токсичность амфифила по сравнению с заряженными детергентами.

В последние годы углеводсодержащие липиды находят применение в адресной доставке лекарственных средств, так как обеспечивают специфическое связывание остатков сахаров с углевод-узнающими рецепторами на поверхности клеток-мишеней. Например, в новой области медицины - генной терапии, на основе синтетических неогликолипидов созданы эффективные нацеленные системы доставки «терапевтических» генов к клеткам печени [6, 7]. Помимо этого, наличие углеводных фрагментов повышает коллоидную стабильность систем доставки в сыворотке крови и уменьшает токсичность транспортных систем [8].

Целью настоящей работы явился синтез ряда галактолипидов, отличающихся природой

гидрофобного домена, представленного одной или двумя тетрадецильными цепочками (остаток тетрадеканола или дитетрадецилглицерина) и холестерином (с жестким стероидным остовом). Это позволит в дальнейшем отобрать лучший из них по встраиванию в липосомальный контейнер для доставки лекарственного средства.

При создании неогалактолипидов необходимо учитывать тип связывания гидрофобного и гидрофильного доменов, который определяет их стабильность в биологических системах, а, следовательно, и токсичность. Устойчивые липиды с простой эфирной связью более токсичны для клеток по сравнению с ацильными липидами, которые легко гидролизуются в клетке эндогенными эстеразами. Уретановый линкер обеспечивает более удачное соотношение между стабильностью и токсичностью амфифила. Для сборки структурных фрагментов в единую молекулу нами использовались уретановая и гликозидная связи, которые обладают различной стабильностью в физиологических условиях. Для разнесения в пространстве гидрофобного домена и галактозильного остатка использовалась гексаметиленовая спейсерная группа. Известно, что среди спейсерных групп, содержащих от 2 до 10  $\text{CH}_2$ -групп, наибольшей трансфицирующей активностью обладают соединения с 6 метиленовыми звеньями [9]. Полиметиленовые спейсерные группы большей длины значительно повышают гидрофобность молекулы, что изменяет структуру липидных агрегатов.

Работу по созданию галактозосодержащих липидов можно подразделить на два этапа:

1) синтез гидрофобных предшественников (схема 1);

2) введение галактозильного остатка и получение целевых неогалактолипидов (схема 2).

Связывание гидрофобного и гидрофильного доменов проводилось через гексаметиленовый спейсер уретанового типа. Для введения

спейсерной группы тетрадеканол (**1a**), диглицерид (**1b**) и холестерин (**1c**) обрабатывали избытком карбонилдиимидзола в присутствии триэтиламина в среде безводного хлористого метилена (схема 1).

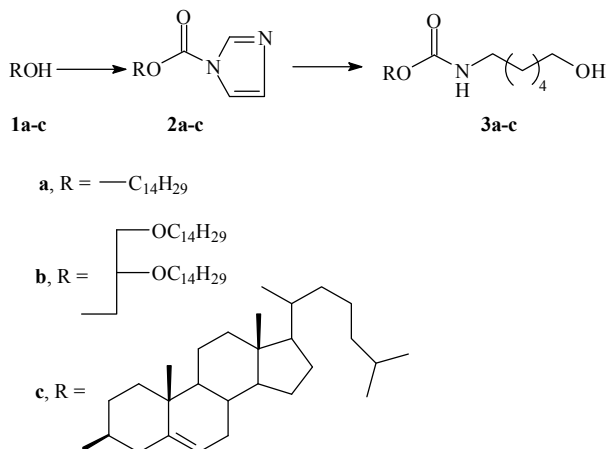


Схема 1. Получение гидрофобных предшественников **3a-c**.

Количество карбонилдиимидзола варьировалось от 1.3 до 3 молярных эквивалентов в зависимости от реакционной способности исходных соединений **1a-c**. После выделения были получены устойчивые имидазолиды **2a-c**, которые использовались на следующей стадии без дополнительной очистки.

Далее проводилось присоединение спейсерной группы к активированной гидрофобной составляющей (схема 1). Для всех гидрофобных составляющих были использованы сходные условия проведения реакции: процесс осуществлялся при 1.5-кратном (для **2a** и **2c**) либо при 2-кратном (для **2b**) избытке 6-аминогексанола в среде хлористого метилена при кипении. Наблюдаемые отличия состояли в продолжительности реакции. В случае имидазолида **2a** для полной трансформации исходного соединения потребовалось 13.5 ч, в случае соединения **2b** – 19 ч, а в случае имидазолида **2c** – 7.5 ч. Образовавшиеся продукты **3a-c** выделяли колоночной хроматографией на силикагеле. Выходы соединений **3a-c** составили 78, 43 и 69%, соответственно, а структура полученных соединений была подтверждена с помощью данных  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Так,  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектры соединений **3a-c** содержали сигналы протонов группы  $\text{CH}_2\text{NH}$  при 3.15 м.д, протона NH при 4.45–4.84 м.д, а также протонов группы  $\text{CH}_2\text{OH}$  при ~3.60 м.д.

Вторым этапом синтеза явилось введение галактозильного остатка в ходе реакции гликозилирования полученных ранее гидрофобных предшественников **3a-c** по терминальной OH-группе (схема 2).

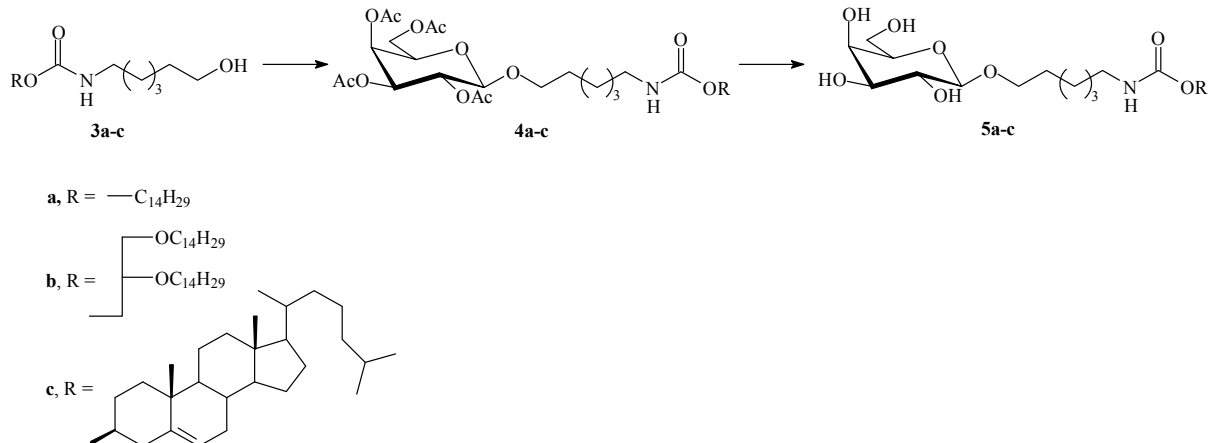


Схема 2. Получение неогалактолипидов **5a-c**.

Гликозилирование соединений **3a-c** 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- $\alpha$ -D-галактозилбромидом проводили в условиях одного из вариантов метода Кенигса–Кнорра в аппарате Сокслета, используя в качестве промотора  $\text{CdCO}_3$ . Так как длительное проведение процесса гликозилирования нежелательно в силу обогащения реакционной массы термодинамически более устойчивым  $\alpha$ -гликозидом, для сокращения времени использовался 1.5–3.0-кратный избыток  $\alpha$ -ацетобромгалактозы. Реакционные массы во всех случаях помимо основного продукта гликозилирования содержали различные количества

побочных продуктов реакции, обладающих различной хроматографической подвижностью. Хроматографическое разделение смеси продуктов реакции позволило выделить несколько соединений, структура которых была установлена с помощью спектроскопии ЯМР. Так, соединениям с наибольшей хроматографической подвижностью была приписана структура ацетильных производных спиртовых составляющих (рис. 1), так как в  $^1\text{H}$ -ЯМР спектре присутствовал сигнал в виде синглета ( $\delta_{\text{H}}$  2.02 м.д.) с интегральной интенсивностью в три протона, а остальные сигналы были идентичны

сигналам протонов соединения **3а-с**.

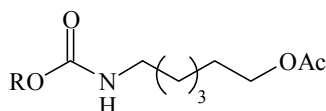


Рис. 1. Структура ацетильных производных спиртовых составляющих **3а-с**.

Основные фракции содержали целевые  $\beta$ -гликозиды **4а-с**, выход которых варьировался от 46 до 70%. Аномерная конфигурация  $\beta$ -гликозидов **4а-с** была установлена с помощью спектроскопии ЯМР. В  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектрах были выявлены сигналы протонов при аномерных центрах в виде дублетов с химическим сдвигом  $\sim 4.38$  м.д. и КССВ  $J_{1,2}$  8.0 Гц, что указывает на  $\beta$ -конфигурацию гликозидной связи. В  $^{13}\text{C}$ -ЯМР спектрах сигналы аномерных атомов углерода имеют химический сдвиг 101.20-101.53 м.д., что также подтверждает  $\beta$ -конфигурацию гликозидной связи.

$^1\text{H}$ -ЯМР-спектры минорных компонентов с большей хроматографической подвижностью, чем у  $\beta$ -гликозидов **4а** и **4с**, указали на  $\alpha$ -галактозидную природу.  $\alpha$ -Аномеры были выделены с выходами около 3%. При гликозилировании соединения **3б** также образовывался соответствующий  $\alpha$ -аномер, но выделить его в чистом виде не удалось.

Кроме того, в реакционной смеси были обнаружены соединения, обладающие меньшей хроматографической подвижностью, чем целевые гликозиды **4а-с**, которые, как мы предположили, относятся к 2-гидроксигликозидам. Обработка этих соединений уксусным ангидридом в среде пиридина дала продукты, идентичные по своей хроматографической подвижности целевым гликозидам **4а** и **4с**. После дополнительного ацетилирования и колоночной хроматографии на силикагеле были выделены целевые  $\beta$ -гликозиды **4а** и **4с** с выходами 30 и 33%, соответственно.

Последним этапом синтеза неогалактолипидов явилось дезацетилирование соединений **4а-с**, которое осуществляли 0.1 н. раствором метилата натрия в метаноле. Удаление ацетильных защит протекало в течение 40 мин (в случае тетрадецильного производного) и 1 ч (в случае диглицеридного и холестерина производных). После нейтрализации реакционной массы ионообменной смолой целевые нейтральные галактолипиды **5а-с** выделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле. Выход соединений **5а**, **5б** и **5с** составил 76, 76 и 80%, соответственно.

Структуры соединений **5а-с** были подтверждены с помощью  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. В спектрах неогалактолипидов **5а-с** отсутствуют сигналы протонов ацетильных групп, протоны галактозного ос-

татка сдвигаются в область сильного поля, а остальные сигналы сохраняют свое положение.

### Экспериментальная часть

В работе были использованы перегнанные растворители и реагенты отечественного (Химмед, Реахим) и зарубежного (Merck, Fluka, Aldrich, Acros) производства. 1,2-Ди-*O*-тетрадецил-*rac*-глицерин и 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-галактопиранозилбромид получали согласно ранее разработанным методикам [10, 11]. Хлористый метилен, триэтиламин кипятили над гидридом кальция и перегоняли непосредственно перед реакцией. Бензол кипятили над натрием и перегоняли непосредственно перед реакцией. Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках Kieselgel 60  $F_{254}$  (Merck) в системах: петролейный эфир - этилацетат, 6 : 1 (А), толуол - этилацетат, 4 : 1 (Б), петролейный эфир - этилацетат, 1 : 1 (В), толуол - этилацетат, 2 : 1 (Г), хлороформ - метанол, 80 : 1 (Д), 40 : 1 (Е), 20 : 1 (Ж), 14 : 1 (З), толуол - ацетон, 1 : 2 (И). Обнаружение пятен на хроматограммах проводили раствором фосформolibденовая кислота - церий (IV) сульфат с последующим прогреванием. Колоночную хроматографию проводили на силикагеле Kieselgel 60 (0.040 - 0.063 мм); Kieselgel 60 (0.063 - 0.200 мм). Спектры  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР регистрировали на импульсном Фурье-спектрометре «Bruker DPX-300» в  $\text{CDCl}_3$ , смеси  $\text{CDCl}_3$  -  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\text{DMSO}-d_6$  и  $\text{Py}-d_5$  (внутренний стандарт тетраметилсилан). Значения химических сдвигов ( $\delta$ ) приведены в миллионных долях (м.д.), константы спин-спиновой взаимодействия ( $J$ ) в герцах (Гц). Масс-спектры получали на время-пролетном масс-спектрометре «Bruker Ultraflex» (Германия) методом матричной лазерно-десорбционной ионизации с использованием в качестве матрицы 2, 5-дигидроксibenзойной кислоты. Углы оптического вращения измеряли на фотоэлектрическом спектрополяриметре «Digytor Yasco DIP 360» (Япония). Температуру плавления определяли на приборе «Boetius» (Германия).

**Тетрадециловый эфир имидазолкарбоновой кислоты (2а).** К раствору 1.00 г (4.664 ммоль) соединения **1а** в 20 мл безводного хлористого метилена добавили 2.269 г (13.993 ммоль) карбонилдиимидазола и 1.30 мл (9.329 ммоль) безводного триэтиламина. Реакционную смесь кипятили при перемешивании в течение 11 ч. Затем промывали 3% водн.  $\text{HCl}$ , водой до pH 7, сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали, упаривали. Получили (техн.) 1.658 г (100%) соединения **2а**,  $R_f$  0.36 (Ж). Вещество без дополнительной очистки использовали на следующей стадии.

**Тетрадецил-*N*-(6-гидроксигексил)-карбамат (3а).** К раствору 1.658 г (5.374 ммоль) соединения **2б** в 35 мл безводного хлористого

метилена добавили 0.945 г (8.061 ммоль) 6-аминогексан-1-ола. Реакционную смесь кипятили в течение 13.5 ч, затем промывали 3% водн. HCl, водой до pH 7, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали, растворитель удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью хлороформ – метанол, 20:1. Получили 1.503 г (78%) соединения **3b**, т. пл. 85-90°C, *R<sub>f</sub>* 0.42 (Ж). Масс-спектр, *m/z*: 380.127 [M+Na]<sup>+</sup>. Вычислено для C<sub>21</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>3</sub>: 380.570 [M+Na]<sup>+</sup>. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: 0.81 (т, 3 H, *J* 6.9, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.14-1.36 (м, 26 H, (CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 1.48-1.59 (м, 6 H, 2OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.09 (т, 2 H, *J* 7.1, NCH<sub>2</sub>), 3.57 (т, 2 H, *J* 6.4, CH<sub>2</sub>OH), 3.97 (т, 2 H, *J* 6.8, CH<sub>2</sub>O), 4.38-4.84 (м, 1 H, NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C: 13.85, 22.44, 25.10, 25.66, 26.17, 28.85, 29.07, 29.11, 29.41, 31.668, 32.35, 40.57, 62.46, 63.76, 70.39, 71.56, 72.21, 117.21, 134.06, 156.69

**Тетрадецил-N-[6-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-галактопиранозилокси)гексил]карбамат (4a).** Смесь 1.031 г (2.933 ммоль) соединения **3a** и 1.007 г (5.439 ммоль) прокаленного карбоната кадмия в 85 мл безводного бензола нагрели до кипения при перемешивании в аппарате Сокслета. После 2-х-кратного обращения растворителя (через стаканчик с прокаленным гранулированным силикагелем) в течение часа добавляли по каплям раствор 2.391 г (5.814 ммоль) 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-α-D-галактопиранозилбромида в 10 мл безводного бензола. Реакционную смесь кипятили 7.5 ч, фильтровали через Celite 545®, растворитель удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью толуол – этилацетат, 9:1, постепенно повышая полярность до 1:1. Получили 0.851 г (46%) соединения **4a**, [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> -1.78 (с 1.0, CHCl<sub>3</sub>), *R<sub>f</sub>* 0.53 (Г). Масс-спектр, *m/z*: 710.368 [M+Na]<sup>+</sup>. Вычислено для C<sub>35</sub>H<sub>61</sub>NNaO<sub>12</sub>: 710.409 [M+Na]<sup>+</sup>. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: 0.8 (т, 3 H, *J* 7.0, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.15-1.32 (м, 26 H, (CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 1.34-1.58 (м, 6 H, 2 OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.91, 1.97, 1.98, 2.08 (4 с, 12 H, 4 COCH<sub>3</sub>), 3.04-3.12 (м, 2 H, NCH<sub>2</sub>), 3.40 (дт, 1 H, *J* 6.8, 9.6, OCH<sub>a</sub>H), 3.78-3.86 (м, 2 H, OCH<sub>b</sub>H, H-5 Gal), 3.93-4.01 (т, 2 H, *J* 6.7, OCH<sub>2</sub>), 4.05 (дд, 1 H, *J* 6.9, 11.2, H<sub>a</sub>-6 Gal), 4.13 (дд, 1 H, *J* 6.6, 11.2, H<sub>b</sub>-6 Gal), 4.38 (д, 1 H, *J* 7.9, H-1 Gal), 4.57-4.64 (м, 1 H, NH), 4.95 (дд, 1 H, *J* 3.4, 10.5, H-3 Gal), 5.13 (дд, 1 H, *J* 7.9, 10.5, H-2 Gal), 5.32 (дд, 1 H, *J* 1.0, 3.4, H-4 Gal). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C: 14.07, 20.54, 20.62, 20.71, 22.62, 25.45, 25.80, 26.35, 28.99, 29.32, 29.28, 29.48, 29.52, 29.58, 29.60, 29.61, 29.89, 31.84, 40.75, 61.19, 64.83, 66.97, 68.82, 70.01, 70.46, 70.85, 101.24, 156.78, 169.35, 170.39, 170.78.

**Тетрадецил-N-[6-(β-D-галактопиранозилокси)гексил]карбамат (5a).** К раствору 0.387 г (0.563 ммоль) соединения **4a** в 50 мл метанола добавили 5.12 мл 0.1 н. раствора метилата натрия в метаноле и выдерживали 40 мин при

25°C. Реакционную смесь нейтрализовали ионообменной смолой Dowex 50W×8, фильтровали, растворитель удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью толуол – ацетон, 1:2, постепенно повышая полярность до 1:4. Получили 0.206 г (76%) соединения **5a**, [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> -7.30 (с 1.0, CHCl<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH, 1:1). *R<sub>f</sub>* 0.22 (Б). Масс-спектр, *m/z*: 542.414 [M+Na]<sup>+</sup>. Вычислено для C<sub>27</sub>H<sub>53</sub>NNaO<sub>8</sub>: 542.367 [M+Na]<sup>+</sup>. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (Py-*d*<sub>5</sub>): 0.79 (т, 3 H, *J* 6.9, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.09-1.33 (м, 26 H, (CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 1.40-1.66 (м, 6 H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.21-3.33 (м, 2 H, CH<sub>2</sub>N), 3.54 (дт, 1 H, *J* 6.4, 9.4, OCH<sub>a</sub>H), 3.94-4.07 (м, 2 H, OCH<sub>b</sub>H, H-5 Gal), 4.12 (дд, 1 H, *J* 3.5, 9.6, H-3 Gal), 4.21 (т, 2 H, *J* 6.6, OCH<sub>2</sub>), 4.36-4.46 (м, 3 H, H-2 Gal, H-6 Gal), 4.36-4.40 (м, 1 H, H-4 Gal), 4.69 (д, 1 H, *J* 7.6, H-1 Gal). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C: 13.27, 22.17, 25.13, 25.43, 26.03, 28.64, 28.84, 28.87, 29.09, 29.17, 29.28, 31.47, 40.21, 60.89, 64.50, 68.57, 69.33, 71.05, 73.37, 74.63, 103.16, 157.50.

**rac-[2,3-Ди(тетрадецилокси)проп-1-ил]-имидазол-1-карбоксилат (2b).** К раствору 1.00 г (2.063 ммоль) соединения **1b** в 30 мл безводного хлористого метилена добавили 0.435 г (2.681 ммоль) CDI и 0.43 мл (3.094 ммоль) безводного триэтиламина. Реакционную смесь кипятили при постоянном перемешивании в течение 9 ч. Затем промывали 3% водн. HCl, водой до pH 7, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали, упаривали. Получили (техн.) 1.192 г (99%) соединения **2b**, *R<sub>f</sub>* 0.29 (А). Вещество без дополнительной очистки использовали на следующей стадии.

**rac-2,3-Ди(тетрадецилокси)проп-1-ил-N-(6-гидроксигексил)карбамат (3b).** К раствору 1.192 г (2.059 ммоль) соединения **2b** в 30 мл безводного хлористого метилена добавили 0.483 г (4.118 ммоль) 6-аминогексан-1-ола. Реакционную смесь кипятили в течение 19 ч, затем промывали 3% водн. HCl, водой до pH 7.0, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали, растворитель удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью петролейный эфир – этилацетат, 3:1. Получили 0.564 г (43%) соединения **3b**, т. пл. 54-56°C, *R<sub>f</sub>* 0.68 (В). Найдено, %: С 72.60; Н 12.17; N 2.13. С<sub>38</sub>H<sub>77</sub>NO<sub>5</sub> Вычислено (%): С 72.67; Н 12.36; N 2.23. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: 0.85 (т, 6 H, *J* 6.6, 2 CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.20-1.40 (м, 48 H, 2 (CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>, N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH), 1.42-1.58 (м, 8 H, 3 OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.15 (дт, 2 H, *J* 6.3, *J* 6.7, NHCH<sub>2</sub>), 3.37-3.64 (м, 9 H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>, 2 OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>OH), 4.06 (дд, 1 H, *J* 5.4, *J* 11.5) и 4.17 (дд, 1 H, *J* 4.0, *J* 11.5, CH<sub>2</sub>OC(O)), 4.62-4.77 (м, 1 H, NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C: 14.49, 23.07, 25.69, 26.42, 26.48, 26.78, 29.75, 29.88, 30.03, 30.08, 30.35, 30.39, 32.30, 32.96, 41.24, 63.12, 64.58, 70.79, 70.97, 72.16, 77.24, 156.84.

**rac-2,3-Ди(тетрадецилокси)проп-1-ил-N-[6-(2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-галактопиранозилокси)гексил]карбамат (4b).** Смесь

0.186 г (0.295 ммоль) соединения **3b** и 0.156 г (0.886 ммоль) прокаленного карбоната кадмия в 45 мл безводного бензола нагрели до кипения при перемешивании в аппарате Сокслета. После 5-кратного обращения растворителя (через стаканчик с прокаленным гранулированным силикагелем) в течение часа добавляли по каплям раствор 0.352 г (0.886 ммоль) 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-галактопиранозилбромида в 25 мл безводного бензола. Через 18 ч реакцию смесь фильтровали через Celite 545<sup>®</sup>, растворитель удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью толуол – этилацетат, 10:1, постепенно повышая полярность до 6:1. Получили 0.193 г (70%) соединения **4b**,  $[\alpha]_D^{23}$  -2.12 (с 1.0, CHCl<sub>3</sub>),  $R_f$  0.49 (Б). Масс-спектр,  $m/z$ : 996.594  $[M+K]^+$ . Вычислено для C<sub>52</sub>H<sub>95</sub>NK<sub>2</sub>O<sub>14</sub>: 996.773  $[M+K]^+$ . Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: 0.81 (т, 6 H,  $J$  6.9, 2 CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.11-1.33 (м, 48 H, 2 (CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 1.34-1.61 (м, 8 H, 3 OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.94, 1.98, 1.99, 2.08 (4с, 12 H, 4 COCH<sub>3</sub>), 3.00-3.17 (м, 2 H, CH<sub>2</sub>NH), 3.33-3.59 (м, 8 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, 2 OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, OCH<sub>3</sub>H), 3.76-3.87 (м, 2 H, OCH<sub>3</sub>H, H-5 Gal), 3.98-4.17 (м, 4H, H-6 Gal, CH<sub>2</sub>OC(O)), 4.38 (д, 1 H,  $J$  7.9, H-1 Gal), 4.65-4.74 (м, 1 H, NH), 4.94 (дд, 1 H,  $J$  3.4, 10.5, H-3 Gal), 5.14 (дд, 1 H,  $J$  7.9, 10.5, H-2 Gal), 5.32 (дд, 1 H,  $J$  1.1, 3.4, H-4 Gal). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C: 14.30, 20.79, 20.87, 20.95, 22.86, 25.69, 26.20, 26.25, 26.61, 29.47, 29.53, 29.66, 29.82, 29.86, 30.07, 30.15, 32.09, 41.09, 61.40, 64.32, 67.18, 69.04, 70.26, 70.53, 70.71, 71.08, 71.93, 76.99, 101.50, 156.55, 169.57, 170.39, 170.78.

**rac-2,3-Ди(тетрадецилокси)проп-1-ил-*N*-[6-( $\beta$ -*D*-галактопиранозилокси)гексил]-карбамат (**5b**).** К раствору 0.148 г (0.206 ммоль) соединения **4b** в 13 мл метанола добавили 1.5 мл 0.1 н. раствора метилата натрия в метаноле и выдерживали 1 ч при 25°C. Реакционную массу нейтрализовали ионообменной смолой Dowex 50W $\times$ 8, фильтровали, растворитель удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью хлороформ – метанол, 20:1. Получили 0.112 г (76%) соединения **5b**,  $[\alpha]_D^{20}$  -4.28 (с 1.0, CHCl<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH, 1:1),  $R_f$  0.31 (З). Масс-спектр,  $m/z$ : 812.527  $[M+Na]^+$ . Вычислено для C<sub>44</sub>H<sub>87</sub>NNaO<sub>10</sub>: 812.623  $[M+Na]^+$ . Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: 0.81 (т, 6H,  $J$  6.5, 2CH<sub>3</sub>); 1.08-1.37 (м, 48H, (CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>); 1.38-1.69 (м, 8H, 3OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2.98-3.17 (м, 2H, CH<sub>2</sub>NH); 3.34-3.64 (м, 8H, CH<sub>2</sub>(O)CH(O), 2 CH<sub>2</sub>O, H-2 Gal), (м, 4 H, OCH<sub>2</sub>, H-3, H-5 Gal), 4.36-4.46 (м, 3 H, H-2 Gal, H-6 Gal), 3.96-4.00 (м, 1 H, H-4 Gal), 4.07 (дд, 1 H,  $J$  5.4, 11.5, OCH<sub>3</sub>H-Gro), 4.11 (дд, 1 H,  $J$  4.0, 11.5, OCH<sub>3</sub>H-Gro), 4.18 (д, 1 H,  $J$  7.4, H-1 Gal), 4.85-4. (м, 1 H, NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C: 14.30, 25.60, 26.21, 26.26, 26.56, 29.54, 29.70, 29.84, 29.88, 30.16, 32.09, 41.04, 61.47, 64.32, 69.10, 70.27, 70.63, 70.76, 71.44, 71.96, 73.69, 74.31, 77.02, 103.43, 156.72.

**Холестен-5-ен-3 $\beta$ -ил-имидазол-1-карбамат**

(**2c**). К раствору 2.0 г (3.879 ммоль) холестерина **1c** в 30 мл безводного хлористого метилена добавили 0.946 г (5.819 ммоль) CDI и 0.81 мл (5.819 ммоль) безводного триэтиламина. Реакционную смесь кипятили при постоянном перемешивании в течение 11 ч. Затем промывали 3% водн. HCl, водой до pH 7.0, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали, растворитель удаляли в вакууме. Получили (техн.) 2.503 г (100%) соединения **2c**,  $R_f$  0.7 (Е). Вещество без дополнительной очистки использовали на следующей стадии.

**Холестен-5-ен-3 $\beta$ -ил-*N*-(6-гидроксигексил)карбамат (**3c**).** К раствору 2.496 г (5.191 ммоль) соединения **2c** в 20 мл безводного хлористого метилена добавили 0.913 г (7.787 ммоль) 6-аминогексан-1-ола. Реакционную смесь кипятили в течение 7.5 ч, затем промывали 3% водн. HCl, водой до pH 7.0, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали, растворитель удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью петролейный эфир – этилацетат, 10:1. Получили 1.908 г (69%) соединения **3c**, т. пл. 186-188°C,  $R_f$  0.28 (Д). Найдено, %: С 76.96, Н 11.22, N 2.57 C<sub>35</sub>H<sub>61</sub>NO<sub>3</sub> Вычислено, %: С 77.69, Н 11.30, N 2.58. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H: 0.61 (с, 3 H, C(13)Me), 0.79 (д, 3 H,  $J$  6.5, C(25)Me), 0.80 (д, 3 H,  $J$  6.5, C(25)Me), 0.85 (д, 3 H,  $J$  6.5, C(20)Me), 0.94 (с, 3 H, C(10)Me), 0.98-1.57 (м, 27 H, протоны Chol, NHCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), 1.68-2.00 (м, 7 H, протоны Chol), 2.13-2.35 (м, 2 H, H<sub>2</sub>C(4)), 3.03-3.16 (м, 2 H, CH<sub>2</sub>N), 3.57 (т, 2 H,  $J$  6.4, CH<sub>2</sub>OH), 4.34-4.49 (м, 1 H, H(3)), 5.27-5.34 (м, 1 H, H(6)). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C: 12.03, 18.89, 19.51, 21.21, 22.73, 22.99, 24.00, 24.46, 25.48, 26.57, 28.19, 28.35, 28.41, 30.19, 32.06, 35.97, 36.36, 36.73, 37.17, 38.76, 39.69, 39.91, 40.87, 42.49, 50.18, 56.30, 56.86, 62.90, 74.39, 122.64, 140.03, 156.40.

**Холестен-5-ен-3 $\beta$ -ил-*N*-[6-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- $\beta$ -*D*-галактопиранозилокси)-гексил]-карбамат (**4c**).** Смесью 0.980 г (1.907 ммоль) соединения **3c** и 0.924 г (5.359 ммоль) прокаленного карбоната кадмия в 40 мл безводного бензола нагрели до кипения при перемешивании в аппарате Сокслета. После 2-кратного обращения растворителя (через стаканчик с прокаленным гранулированным силикагелем) в течение 75 мин добавляли по каплям раствор 1.404 г (3.414 ммоль) 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-галактопиранозилбромида в 15 мл безводного бензола и кипятили 9 ч. Реакционную смесь фильтровали через Celite 545<sup>®</sup>, растворитель удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью толуол – этилацетат, 10:1, постепенно повышая полярность до 2:1. Получили 0.702 г (44%) соединения **4c**,  $[\alpha]_D^{32}$  -12.1 (с 1.0, CHCl<sub>3</sub>),  $R_f$  0.56 (Г). Масс-спектр,  $m/z$ : 882.547  $[M+Na]^+$ . Вычислено для C<sub>48</sub>H<sub>77</sub>NNaO<sub>12</sub>: 882.534  $[M+Na]^+$ . Спектр ЯМР

$^1\text{H}$ : 0.61 (с, 3 H, C(13)Me), 0.74 и 0.76 (оба д, по 3 H,  $J$  6.5, 2 C(25)Me), 0.83 (д, 3 H,  $J$  6.5, C(20)Me), 0.91 (с, 3 H, C(10)Me), 0.92-1.57 (м, 27 H, протоны Chol,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_3$ ), 1.91, 1.98, 1.99, 2.08 (4с, 12 H, 4 COCH<sub>3</sub>), 2.12-2.34 (м, 2 H, H<sub>2</sub>C(4)), 3.02-3.12 (м, 2 H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3.40 (дт, 1 H,  $J$  6.3, 7.0, OCH<sub>3</sub>H), 3.77-3.88 (м, 2 H, OCH<sub>3</sub>H, H-5 Gal), 4.01-4.18 (м, 2 H, H-6 Gal), 4.38 (д, 1 H,  $J$  7.9, H-1 Gal), 4.36-4.49 (м, 1 H, H(3) Chol), 4.50-4.60 (м, 1 H, NH); 4.95 (дд, 1 H,  $J$  3.4, 10.5, H-3 Gal), 5.13 (дд, 1 H,  $J$  7.9, 10.5, H-2 Gal), 5.27-5.33 (м, 2 H, H(6) Chol, H-4 Gal). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ : 11.92, 12.03, 17.33, 18.79, 18.93, 20.66, 20.73, 20.83, 22.62, 22.87, 23.88, 25.57, 26.48, 27.85, 28.05, 28.26, 29.37, 29.96, 31.95, 35.77, 35.84, 36.06, 36.23, 38.29, 38.73, 39.55, 40.87, 50.05, 61.36, 67.17, 69.04, 70.11, 70.65, 71.02, 101.38, 156.20, 169.49, 170.26, 170.38, 170.50.

**Холестен-5-ен-3 $\beta$ -ил- $N$ -[6-( $\beta$ -D-галактопиранозилокси)гексил]карбамат (5с).** К раствору 0.286 г (0.332 ммоль) соединения 4с в 10 мл метанола добавили 0.92 мл 0.1 н. раствора метилата натрия в метаноле и выдерживали 1 ч при 25°C. Реакционную массу нейтрализовали ионообменной смолой Dowex 50W $\times$ 8,

фильтровали, растворитель удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью толуол – ацетон, 1:2, постепенно повышая полярность до 1:4. Получили 0.146 г (80%) соединения 9с,  $[\alpha]_D^{32}$  -21.35 (с 1.0 CHCl<sub>3</sub> – MeOH, 10:0.2),  $R_f$  0.16 (Б). Масс-спектр,  $m/z$ : 714.369  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Вычислено для C<sub>40</sub>H<sub>69</sub>NNaO<sub>8</sub>: 714.492  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ . Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ : 0.61 (с, 3 H, C(13)Me), 0.74 и 0.76 (оба д, по 3 H,  $J$  6.5, 2 C(25)Me), 0.83 (д, 3 H,  $J$  6.5, C(20)Me), 0.91 (с, 3 H, C(10)Me), 0.92-1.57 (м, 27 H, протоны Chol,  $\text{NCH}_2(\text{CH}_2)_3$ ), 2.36-2.64 (м, 1 H, H<sub>2</sub>C(4)), 3.26-3.39 (м, 2 H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3.58 (дт, 1 H,  $J$  6.6, 9.1, OCH<sub>3</sub>H), 3.98-4.09 (м, 2 H, OCH<sub>3</sub>H, H-5 Gal), 4.15 (дд, 1 H,  $J$  3.5, 9.4, H-3 Gal), 4.40-4.49 (м, 2 H, H-6 Gal, H-2 Gal), 4.53-4.58 (м, 1 H, H-4 Gal), 4.72 (д, 1 H,  $J$  7.8, H-1 Gal), 4.78-4.91 (м, 1 H, H(3) Chol), 5.33-5.38 (м, 1 H, H(6) Chol).

*Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 10-03-00995-а), а также Аналитической ведомственной целевой программы «Развитие научного потенциала высшей школы» (№ 2.1.1/2889).*

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Lindhorst, T. Artificial multivalent sugar ligands to understand and manipulate carbohydrate-protein interaction / T. Lindhorst // *Top. Curr. Chem.* – 2002. – Vol. 218. – P. 201–235.
2. Carbohydrate-encapsulated gold nanoparticles for rapid target-protein identification and binding epitope mapping/ Y. Chen [et al.] // *ChemBioChem.* – 2005. – Vol. 6. – P. 1169–1173.
3. Synthesis of polyanionic glycopolymers for the facile assembly of glycosyl arrays / H. Uzawa [et al.] // *Tetrahedron.* – 2005. – Vol. 61. – P. 5895–5905.
4. Gold nanoparticles with different capping systems: an electronic and structural XAS analysis / C. Lopez-Cartes [et al.] // *J. Phys. Chem.* – 2005. – Vol. 109. – P. 8761–8766.
5. Targeting cell surface receptors with ligand-conjugated nanocrystals / S. Rosental [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 2002. – Vol. 124. – P. 4586–4594.
6. New synthetic glycolipids for targeted gene transfer: synthesis, formulation in lipoplexes and specific interaction with lectin / M. Carriere [et al.] // *Drug Delivery.* – 2004. – Vol. 11. – P. 351–363.
7. Synthesis and formulation of neoglycolipids for the functionalization of liposomes and lipoplexes / E. Perouzel [et al.] // *Bioconjugate Chem.* – 2003. – Vol. 14. – P. 884–898.
8. Cationic glycolipids with cyclic and open galactose head groups for the selective targeting of genes to mouse liver / R. Mukthavaram [et al.] // *Biomaterials.* – 2009. – Vol. 30. – P. 2369–2384.
9. Oligomethylene spacer length dependent interaction of synthetic galactolipids incorporated in phospholipid layers with ricin / H. Tamiaki [et al.] // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 2006. – Vol. 53. – P. 87–93.
10. Preparation and applications of 2-bromoethyl glycosides: synthesis of spacer-arm glycosides and agglutination inhibitors/ J. Dahmen [et al.] // *Carbohydr. Res.* – 1982. – Vol. 111. – P. 1–4.
11. Синтез 1,2-ди- $O$ -алкилглицеринов с использованием аллильной защитной группы / М. В. Аникин, И. П. Ушакова, Г. А. Серебренникова, Р. П. Евстигнеева // Черкассы, 1987. – Деп. ОНИИТЭИХим, № 915-хп87.