

ГЛИКОНАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА НА ОСНОВЕ 1-[2-(6-СУЛЬФАНИЛГЕКСАНОИЛ)ГИДРАЗИНИЛ]-АЛЬДОЗ И ИХ ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ

© 2021 г. А. Ю. Ершов^{a,*}, А. А. Мартыненко^a, И. В. Лагода^b, М. А. Копаница^c, В. В. Зарубаев^d, А. В. Слита^d, Е. В. Бучков^d, Е. Ф. Панарин^a, А. В. Якиманский^{a,e}

^a Институт высокомолекулярных соединений Российской академии наук,
Большой пр. В.О. 31, Санкт-Петербург, 199004 Россия

^b Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины
Министерства обороны России, Санкт-Петербург, 195043 Россия

^c Рязанский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова
Министерства здравоохранения России, Рязань, 390026 Россия

^d Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург, 197101 Россия

^e Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия
*e-mail: ershov305@mail.ru

Поступило в Редакцию 16 июня 2021 г.

После доработки 25 июня 2021 г.

Принято к печати 1 июля 2021 г.

На основе 1-[2-(6-сульфанилгексаноил)гидразинил]альдоз – продуктов конденсации природных альдоз (*N*-ацетиламино-D-глюкозы, D-маннозы, D-галактозы и L-фукозы) с гидразидом 6-сульфанилгексановой кислоты – разработан метод синтеза смешанно-лигандных гликонаночастиц золота с варьированием соотношения исходных гликолигандов в широких пределах и со средним размером частиц 20–25 нм. Полученные гликонаночастицы золота обладают низкой токсичностью и высокой активностью против вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) в концентрациях 3 и 6 мкг/мл.

Ключевые слова: монозы с тиольными группами, гликонаночастицы золота, противовирусная активность

DOI: 10.31857/S0044460X21090183

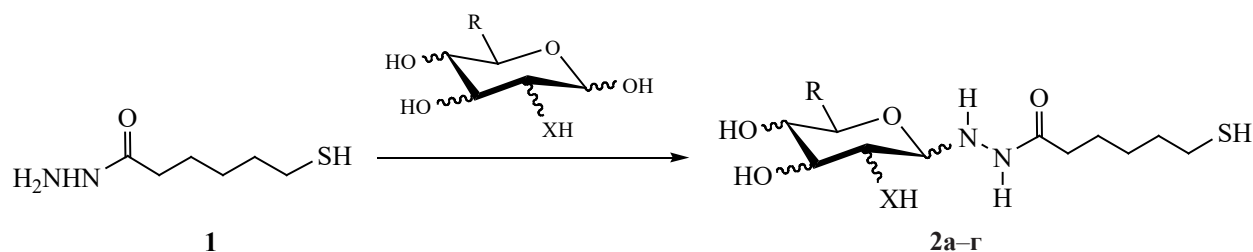
Моделирование естественной клеточной поверхности – важная задача современной молекулярной биологии. Особое место в таких исследованиях отводится гликопротеиновым клеточным рецепторам – лектинам, отвечающим за механизмы распознавания и связывания клеткой производных углеводов [1–6]. Интенсивно развиваются направления, связанные с исследованием структуры, биосинтеза и функций углеводных цепей, а также причин их патологий.

При изучении таких систем целесообразно располагать модельными супрамолекулярными системами заданного химического строения,

имеющими в своей структуре набор углеводных фрагментов, характерный для поверхностных клеточных рецепторов. Подходящие объекты исследования – гликонаночастицы серебра и золота, поскольку они открывают возможность варьирования структуры углеводного лиганда, а наличие в их составе металлического ядра придает им уникальные оптические свойства [7–16].

Основу углеводной части клеточных рецепторов млекопитающих и человека преимущественно составляют фрагменты четырех моносахаридов: *N*-ацетиламино-D-глюкозы (GlcNAc), D-маннозы (Man), D-галактозы (Gal) и L-фукозы (Fuc) [17].

Схема 1.



R = CH₂OH, X = NCOMe, N-ацетиламино-D-глюкоза (**a**); R = CH₂OH, X = O, D-манноза (**б**), D-галактоза (**в**); R = Me, X = O, L-фукоза (**г**).

Разработанный ранее [18] метод синтеза лигандов с тиольными группами, основанный на взаимодействии вышеуказанных альдоз с гидразидом 6-сульфанилгексановой кислоты, предполагает возможность получения гликонаночастиц Au смешанно-лигандного типа с регулируемым составом исходных гликолигандов. Это открывает перспективы моделирования лектин–углеводных взаимодействий и использования подобных супрамолекулярных систем как для изучения их собственной биологической активности, так и для целевой доставки лекарственного препарата, иммобилизованного на их поверхности, в определенный орган или ткань живого организма.

Нами получены гликонаночастицы Au смешанно-лигандного типа, моделирующие природные

лектины, с варьированием состава углеводных лигандов в широких пределах, а также изучена противовирусная активность полученных соединений против вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1).

Гидразид 6-сульфанилгексановой кислоты **1** был получен с выходом 85% по известной методике [19]; его физико-химические и спектральные характеристики полностью соответствовали литературным данным. Лиганды **2a–г** с тиольными группами получены с выходами 60–85% при кипячении эквимольных количеств исходных альдоз и гидразида **1** в метаноле в течение 5 ч (схема 1) [18]. Коллоидное золото диаметром 14 нм получено восстановлением золотохлористоводородной кислоты цитратом натрия по методу Туркевича [20].

Образование гликонаночастиц Au **3** начинается через несколько часов после смешивания исходных соединений **2a–г** с коллоидным золотом в смеси H₂O–ДМСО (10:1) и завершается через 2–3 сут (схема 2). Для изучения физико-химических параметров синтезированных гликонаночастиц Au **3** использовались методы электронной спектроскопии, динамического светорассеяния и просвечивающей электронной микроскопии (рис. 1). В электронных спектрах гликонаночастиц Au **3a–д** с различным соотношением углеводных лигандов наблюдается плазмонное поглощение, максимум которого находится в диапазоне 523–524 нм (табл. 1).

Для предотвращения агрегации полученных гликонаночастиц Au **3** в качестве стабилизатора использовали додецилсульфат натрия, который добавляли в реакционную смесь при синтезе гликонаночастиц Au в количестве 10 мас% от суммарной массы исходных гликолигандов.

Оценку противовирусной активности гликонаночастиц золота **3** проводили по отношению к

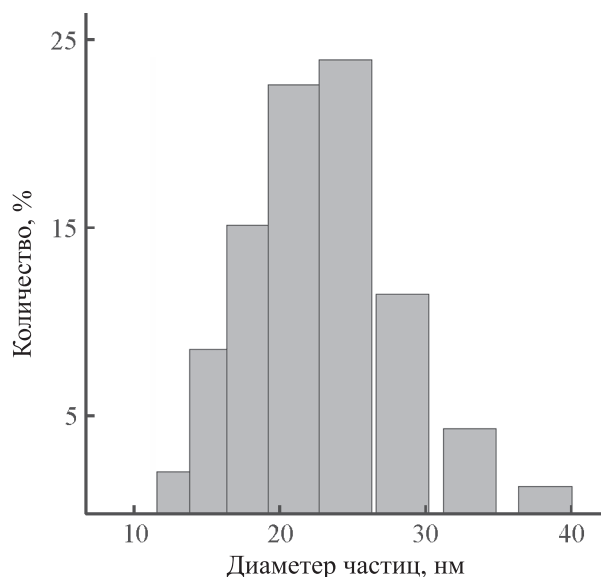
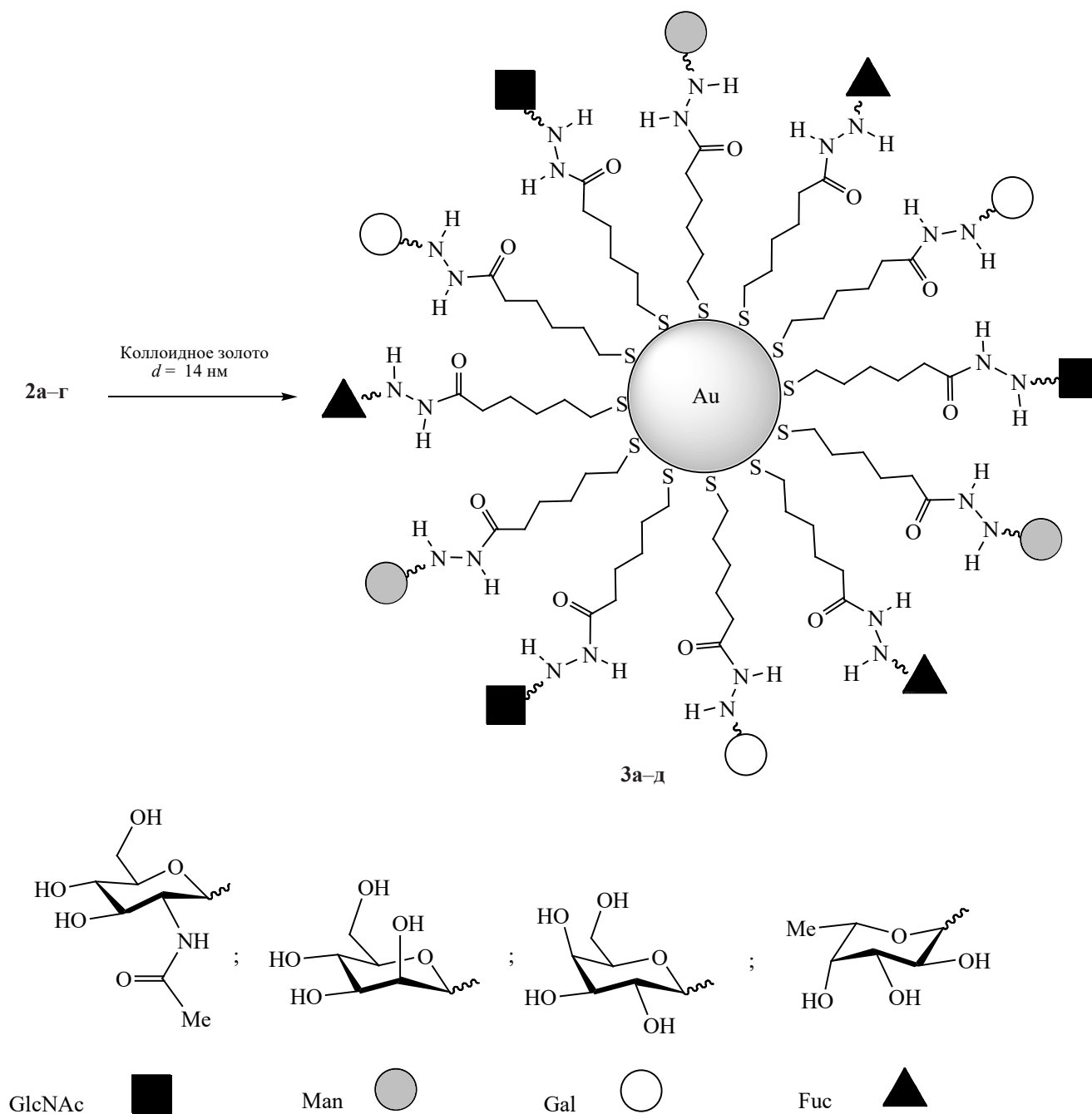


Рис. 1. Распределение размера гликонаночастиц Au **3г** по диаметру.

Схема 2.



вирусу гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) по стандартной методике [21]. Наночастицы **3а-д** показали низкую цитотоксичность на клетках MDCK (более 100 мкг/мл) и высокую противовирусную активность в концентрациях 3 и 6 мкг/мл. Наибольшая противовирусная активность проявилась у образца **3а** с соотношением входящих в

его структуру гликолигандов GlcNAc:Man:Fuc = 20:75:5 мол% соответственно (табл. 2).

Таким образом, на основе разработанного ранее метода синтеза производных сахаров с тиольными группами – продуктов конденсации серии природных альдоз с гидразидом 6-сульфанилгексановой

Таблица 1. Данные об углеводном составе, размере, полидисперсности и световому поглощению водных растворов гликонаночастиц Au **3а–д** через 72 ч после приготовления

Образец	Состав, мол%				Средний диаметр, нм	Индекс полидисперсности	λ , нм
	GlcNAc	Man	Gal	Fuc			
3а	20	75	—	5	21	0.28	523
3б	20	55	20	5	21	0.28	523
3в	45	45	—	10	23	0.24	524
3г	50	20	20	10	24	0.30	523
3д	30	30	30	10	24	0.28	524

кислоты [18] – были получены гликонаночастицы Au с варьированием соотношения исходных гликолигандов в широких пределах. Предварительные данные по активности в отношении вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) позволяют рекомендовать данные соединения для дальнейшего углубленного изучения с целью поиска эффективных средств профилактики и лечения ряда острых вирусных респираторных заболеваний.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Электронные спектры поглощения гликонаночастиц Au регистрировали на спектрофотометре СФ-2000 в диапазоне длин волн 300–750 нм в кварцевой кювете толщиной 1 см. Диаметр и индекс полидисперсности полученных гликонаночастиц Au определяли методом динамического светорассеяния на анализаторе Malvern Zetasizer Nano-ZS с длиной волны лазерного излучения 633 нм. Морфологию гликонаночастиц Au исследовали методом просвечивающей электронной микроскопии на микроскопе Jeol JEM 100 S.

Таблица 2. Активность гликонаночастиц Au **3а–д** с различным соотношением углеводных лигандов против вируса гриппа A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)

Наночастицы	Снижение титра вируса (lgTCID ₅₀ /0.2 мл) при концентрации	
	3 мкг/мл	6 мкг/мл
3а	3.0	4.0
3б	0.0	1.5
3в	2.0	3.5
3г	2.5	3.5

Изучение антивирусной активности гликонаночастиц Au **3а–д** проводили в Государственном научно-исследовательском институте эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (Санкт-Петербург). Развернутые результаты этих исследований будут представлены в виде отдельных публикаций в специализированных журналах.

Раствор коллоидного золота. К 200 мл 2.5×10^{-4} М. раствора HAuCl_4 при кипячении и интенсивном перемешивании добавляли горячий раствор 0.075 г дигидрата цитрата натрия в 10 мл H_2O . После появления ярко-красного окрашивания смесь кипятили 30 мин при перемешивании, затем охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и использовали в синтезе гликонаночастиц Au **3а–д**. Судя по данным динамического светорассеяния и электронной спектроскопии, в полученном растворе присутствовала основная фракция коллоидного золота с диаметром частиц 14.0 ± 1 нм (максимум поглощения при λ 520 нм).

Гликонаночастицы золота (3а–д). К 10 мл раствора коллоидного золота при перемешивании добавляли смесь соединений **2а–г** с суммарной концентрацией 2.5×10^{-5} моль/л и 2–3 мг додецилсульфата Na в 1 мл ДМСО. Полученную смесь выдерживали при 25°C 48–72 ч. Протекание реакции контролировали с использованием методов динамического светорассеяния, просвечивающей электронной микроскопии и электронной спектроскопии.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ершов Андрей Юрьевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2266-4380>

Мартыненко Александр Алексеевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0951-1451>

Лагода Игорь Викторович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3906-2909>

Зарубаев Владимир Викторович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5224-3771>

Слита Александр Валентинович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8229-0715>

Бучков Егор Владимирович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9121-3049>

Панарин Евгений Фёдорович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7005-5838>

Якиманский Александр Вадимович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8770-1453>

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Lectins / Eds N. Sharon, H. Lis. New Delhi: Thomson Press, 1989. 127 p. doi 10.1007/978-94-011-4846-7
- Lectins. Methods and protocols. / Ed. J. Hirabayashi. Tsukuba: Humana Press, 2014. 599 p. doi 10.1007/978-1-4939-1292-6
- Ghazarian H., Idoni B., Oppenheimer S.B. // Acta Histochem. 2011. Vol. 113. N 3. P. 236. doi 10.1016/j.acthis.2010.02.004
- Nascimento K.S., Silva M.T.L., Oliveira M.V., Lossio C.F., Pinto-Junior V.R., Osterne V.J.S., Cavada B.S. // Int. J. Biol. Macromol. 2020. Vol. 144. P. 509. doi 10.1016/j.ijbiomac. 2019.12.117
- Valverde P., Ardá A., Reichardt N.-C., Jiménez-Barbero J., Gimeno A. // Med. Chem. Commun. 2019. Vol. 10. P. 1678. doi 10.1039/C9MD00292H
- Van Breedam W., Pöhlmann S., Favoreel H.W., de Groot R.J., Nauwynck H.J. // FEMS Microbiol. Rev. 2014. Vol. 38. N 4. P. 598. doi 10.1111/1574-6976.12052.
- Glycochemical synthesis: strategies and applications / Eds S.-C. Hung, M.M.L. Zulueta. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2016, 576 p. doi 10.1002/9781119006435.ch16
- Engineered carbohydrate-based materials for biomedical applications: polymers, surfaces, dendrimers, nanoparticles, and hydrogels / Ed. R. Narain. New Jersey: John Wiley & Sons, 2011. 424 p. doi 10.1002/9780470944349.ch6
- Yilmaz G., Becer C.R. // Polym. Chem. 2015. Vol. 6. N 31. P. 5503. doi 10.1039/c5py00089k
- Jayawardena H.S.N., Wang X., Yan M. // Anal. Chem. 2013. Vol. 85. N 21. P. 10277. doi: 10.1021/ac402069j
- Application of Nanotechnology in Biomedical Sciences / Ed. F.A. Sheikh. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2020. 164 p. doi 10.1007/978-981-15-5622-7
- Carbohydrate Nanotechnology / Ed. K.J. Stine. New Jersey: John Wiley & Sons, 2016. 470 p. doi 10.1002/9781118860212.ch3
- Carbohydrate / Eds M. Caliskan, I.H. Kavakli, G.C. Oz. Istanbul: InTech Publisher, 2017. 164 p. doi 10.5772/66194
- Zhang X., Huang G., Huang, H. // Drug Deliv. 2018. Vol. 25. N 1. P. 1840. doi 10.1080/10717544.2018.1519001
- Martínez-Ávila O., Hijazi K., Marradi M., Clavel C., Campion C., Kelly C., Penadés S. // Chem. Eur. J. 2009. Vol. 15. N 38. P. 9874. doi 10.1002/chem.200900923
- Van Breedam W., Pöhlmann S., Favoreel H.W., de Groot R.J., Nauwynck H.J. // FEMS Microbiol. Rev. 2014. Vol. 38. N 4. P. 598. doi 10.1111/1574-6976.12052
- Дорохов Ю.Л., Шешукова Е.В., Кособокова Е.Н., Шиндяпина А.В., Косоруков В.С., Комарова Т.В. // Биохимия. 2016. Т. 81. № 8. С. 1069; Dorokhov Y.L., Sheshukova E.V., Kosobokova E.N., Shindyapina A.V., Kosorukov V.S., Komarova T.V. // Biochemistry (Moscow). 2016. Vol. 81. N 8. C. 835. doi 10.1134/S0006297916080058
- Ершов А.Ю., Мартыненко А.А., Лагода И.В., Якиманский А.А. // ЖОХ. 2020. Т. 90. Вып. 10. С. 1863; Ershov A.Yu., Martynenkov A.A., Lagoda I.V., Yakimansky A.V. // Russ. J. Gen. Chem. 2020. Vol. 90. N 10. P. 1863. doi 10.1134/S1070363220100084
- von Delius M., Geertsema E.M., Leigh D.A. // Nat. Chem. 2010. Vol. 2. N 2. P. 96. doi 10.1038/nchem.481
- Turkevich J. // Gold Bull. 1985. Vol. 18. P. 125. doi 10.1007/BF03214694
- Mosmann T. // J. Immun. Methods. 1983. Vol. 65. N 1–2. P. 55. doi 10.1016/0022-1759(83)90303-4

Gold Glyconanoparticles Based on Aldose 6-Mercaptohexanoyl Hydrazones and their Anti-Influenza Activity

A. Y. Ershov^{a,*}, A. A. Martynenkov^a, I. V. Lagoda^b, M. A. Kopanitsa^a, V. V. Zarubaev^d,
A. V. Slita^d, E. V. Buchkov^d, E. F. Panarin^a, and A. V. Yakimansky^{a,e}

^a Institute of Macromolecular Compound, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199004 Russia

^b State Research Testing Institute of Military Medicine, Ministry of Defense of Russian Federation,
St. Petersburg, 195043 Russia

^c I.P. Pavlov Ryazan Medical University, Ryazan, 390026 Russia

^d St. Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, 197101 Russia

^e St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: ershov305@mail.ru

Received June 16, 2021; revised June 25, 2021; accepted July 1, 2021

On the basis of 6-mercaptohexanoylhydrazones aldoses – condensation products of a series of natural aldoses (*N*-acetylamino-D-glucose, D-mannose, D-galactose and L-fucose) with 6-mercaptohexanoic acid hydrazide – a method for the synthesis of mixed-ligand gold glyconanoparticles has been developed with varying the ratio of the initial glycoligands in a wide range and with an average particle size of 20–25 nm. It was shown that the obtained gold glyconanoparticles have low toxicity and high activity against influenza A/Puerto Rico/8/34 (H1N1) virus at concentrations of 3 and 6 mg/mL.

Keywords: thiol-containing monoses, gold glyconanoparticles, anti-influenza activity