

TỔNG HỢP GLYCOFULLERENE ĐA HÓA TRỊ NHẪM ỨC CHẾ QUÁ TRÌNH TRUYỀN BỆNH CỦA VIRUS EBOLA

Sử dụng những hợp chất carbohydrate đa hóa trị để khóa chặt các thụ thể trên bề mặt tế bào từ lâu đã được xem là một chiến lược hiệu quả cho việc ngăn chặn sự xâm nhập của các tác nhân gây bệnh vào tế bào, điển hình là virus Ebola. Tuy nhiên, một trong những vấn đề của phương pháp này là sự khó khăn trong việc tìm ra những hợp chất vừa có kích thước phù hợp, vừa có các tương tác đa hóa trị để có thể cạnh tranh với virus.

Trong một nghiên cứu mới đây, Tiến sĩ Antonio Munoz cùng các cộng sự thuộc Viện Hóa học hữu cơ, Đại học Complutense (Madrid, Tây Ban Nha) đã tổng hợp thành công tridecafullerene trang bị 120 nhóm carbohydrate ở ngoại vi từ các sản phẩm cộng hợp hexakis của [60]fullerene. Những phân tử tridecafullerene khổng lồ này có thể ức chế quá trình lây nhiễm của virus Ebola, từ đó bảo vệ hiệu quả tế bào.

Tương tác đa hóa trị trong sinh học

Tạo ra những tương tác đa hóa trị là phương pháp hiệu quả mà tự nhiên thường sử dụng để hình thành nên những liên kết chặt chẽ một cách thuận nghịch. Ở cấp độ phân tử, những tương tác đa hóa trị này thể hiện ưu điểm vượt trội so với tương tác đơn hóa trị khi chúng có thể gia tăng mạnh mẽ liên kết giữa các phân tử [1]. Một ví dụ điển hình trong tự nhiên mà ở đó tương tác đa hóa trị đóng vai trò quan trọng là tương tác giữa virus hoặc vi khuẩn với các tế bào chủ tương ứng. Đặc biệt, thụ thể DC-SIGN, một loại thụ thể lectin trên màng của tế bào tua là một trong những thụ thể nhận diện bệnh quan trọng nhất. Thông qua các liên kết đa hóa trị, thụ thể lectin này có thể nhận diện các cấu trúc saccharide chứa mannose và fucose từ những glycoprotein (GPs) của virus [2]. Thông thường, những tương tác protein-carbohydrate là chìa khóa then chốt cho sự

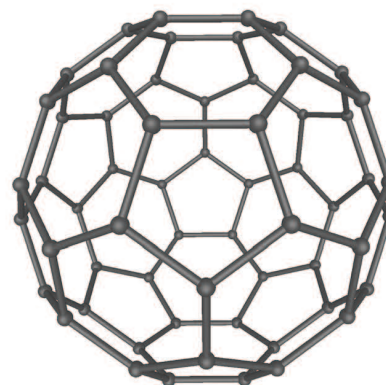
đa dạng các quá trình sinh học. Tuy nhiên, do ái lực của các glycan đơn giản, các thụ thể tương ứng của chúng thường yếu, các tương tác đa hóa trị lúc này sẽ diễn ra. Chính vì thế, hiểu rõ hơn về liên kết đa hóa trị và ứng dụng chúng hiệu quả đang là một thách thức lớn đối với các nghiên cứu hiện tại.

Mặt khác, thông qua nhiều nghiên cứu, người ta đã biết được sự tồn tại của một số virus có thể vượt qua cơ chế miễn dịch của cơ thể bằng cách sử dụng các thụ thể DC-SIGN như một điểm đầu vào để lây nhiễm cho tế bào. Vì vậy, thiết kế các được phẩm kháng virus thế hệ mới có khả năng khóa chặt các thụ thể này ở giai đoạn đầu của nhiễm trùng được xem là một chiến lược khả thi cho việc ngăn chặn sự xâm nhập của các tác nhân gây bệnh. Để cụ thể hóa chiến lược này, một số lượng lớn các kiến trúc dạng giàn khung đa hóa trị đã được tổng hợp nhằm mục tiêu cạnh tranh liên

kết giữa tế bào với virus, tất cả đều được trang bị nhiều nhóm carbohydrate [3]. Thiết kế của những glycoconjugate (loại carbohydrate liên kết cộng hóa trị với những tiểu phân hóa học khác như protein, peptide, lipid và saccharide) này thường đòi hỏi một giàn khung trung tâm đa hóa trị hoặc một nhân đa hóa trị gắn kết với các epitope (quyết định kháng nguyên) carbohydrate ở ngoại vi. Vì vậy, những nhóm glycocluster có các đơn vị carbohydrate được nối trực tiếp với nhân, glycodendrimer kết nối thông qua một cấu trúc hình cây và glycopolymer với khung xương polyme đã được nghiên cứu chuyên sâu trong những năm gần đây [4, 5].

Ứng dụng fullerene làm chất ức chế hoạt động của virus

Fullerene (hình 1) cũng đã được sử dụng như một giàn khung tương thích sinh học cho các phối tử đa hóa trị, tạo ra nhiều nhóm chức khác nhau trên bề mặt lõi của fullerene. Đặc biệt, sản phẩm cộng hexakis của [60]fullerene với cấu trúc 3 chiều độc đáo được nhận thấy có khả năng cho phép những tác chất đa dạng dễ dàng xâm nhập [6]. Những dẫn xuất fullerene trên có thể thu được thông qua quá trình điều chế một giai đoạn bằng cách cho malonate phản ứng với C_{60} , tuy nhiên phản ứng này lại rất nhạy cảm với các yếu tố lập thể, khiến hiệu suất thấp, đồng nghĩa với việc hao phí một lượng lớn malonate [7]. Gần đây, nhóm nghiên cứu của Giáo sư Jean-François Nierengarten, thuộc Phòng thí nghiệm hóa học vật liệu phân tử, Đại học Strasbourg (Pháp), đã phát triển một quy trình điều chế đơn giản sản phẩm cộng hexakis có 12 nhóm alkyne hoặc azide với hiệu suất cao từ manolate [8]. Những sản phẩm cộng này có thể chức hóa dễ dàng và hiệu quả thông qua phản ứng cộng vòng azide-alkyne với xúc tác đồng (CuAAC), cho phép tạo ra đồng thời 12 nhóm chức một cách chọn lọc. Do những sản phẩm cộng hexakis này chứa những hợp chất cộng sắp xếp theo cấu hình bát diện định vị trên ngoại vi của hình cầu [60]fullerene, chúng tạo thành một nền tảng rất hấp dẫn cho việc nghiên cứu những tương tác đa hóa trị với lectin với nhiều ưu điểm quan trọng, chẳng hạn như khả năng tương thích sinh học tốt hơn của nhân trung tâm carbon, hình thái khối cầu của các nhóm chức năng và khả năng chức hóa dễ dàng và linh hoạt.



Hình 1: cấu trúc phân tử fullerene

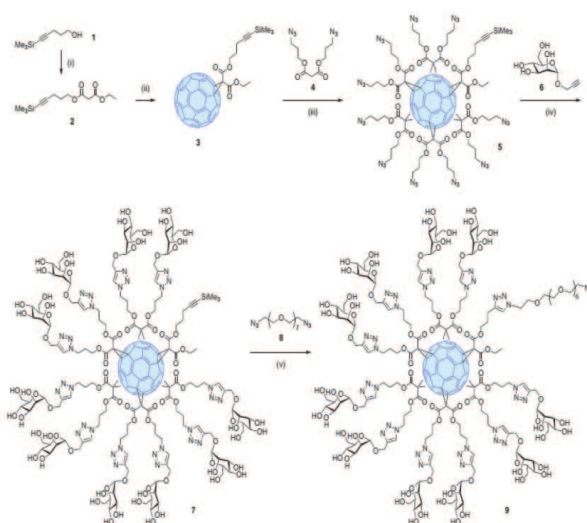
Gần đây hơn, nhóm nghiên cứu của Giáo sư Nierengarten đã có một báo cáo về kết quả tổng hợp sản phẩm cộng hexakis [60]fullerene gắn với các đơn vị carbohydrate khác nhau trên khu vực ngoại vi. Phụ thuộc vào dẫn xuất của đường được sử dụng (monomer, dimer hoặc trimer), 12, 24 hoặc 36 monosaccharide sẽ được gắn kết lên khu vực ngoại vi của tâm fullerene [9]. Một số glycofullerene dạng này cho thấy nhiều khả năng ứng dụng thú vị [10]. Chẳng hạn, sản phẩm cộng hexakis [60]fullerene với 12 nhóm đường imino cho thấy có thể ức chế tốt nhiều glycosidase [9]. Hơn nữa, nhiều nghiên cứu cũng chỉ ra sản phẩm cộng của [60]fullerene với 12, 24 và 36 mannose có tương tác đa hóa trị với concanavalin A [11], đóng vai trò như một chất ức chế hiệu quả đối với quá trình xâm nhiễm tế bào của virus Ebola [12]. Những nghiên cứu sơ bộ này đã mở ra một hướng nghiên cứu mới trong đó fullerene được sử dụng như một nền tảng đa hóa trị gắn kết các nhóm carbohydrate, từ đó tạo ra những liên kết cộng hóa trị với nhiều phân tử hoạt tính sinh học khác nhau.

Thực tế, việc tổng hợp sản phẩm cộng của [60]fullerene với cấu hình bát diện đã được báo cáo trước đây, thông qua việc sử dụng bismalonate [13]. Tuy nhiên, nhằm tiếp tục đi sâu vào mục tiêu tổng hợp các hợp chất đa hóa trị mới và hiệu quả hơn, mới đây, Tiến sĩ Antonio Munoz cùng các cộng sự thuộc Viện Hóa học hữu cơ, Đại học Complutense (Madrid, Tây Ban Nha) đã sử dụng xúc tác CuAAC hiệu năng cao để tổng hợp những phân tử kiến trúc

khối cấu hình thành bằng cách tạo ra các sản phẩm cộng hexakis của [60]fullerene (glycofulleren) với sự xâm nhập của 120 đơn vị đường [14]. Cụ thể, sản phẩm được hình thành là một cấu trúc phức tạp dựa trên tridecafullerene trong đó mỗi phân tử [60] fullerene trung tâm liên kết cộng hóa trị với 12 phân tử [60]fullerene, mỗi phân tử [60]fulleren này lại nối với 10 nhóm monosaccharide. Sản phẩm này thông qua quá trình đánh giá hoạt tính sinh học đã cho thấy khả năng ức chế mạnh mẽ virus Ebola, bảo vệ tế bào hiệu quả.

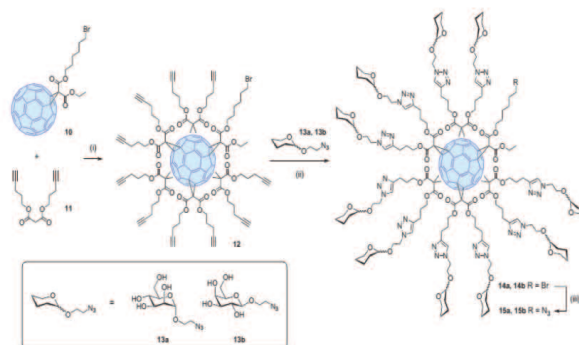
Tổng hợp tridecafullerene

Quá trình tổng hợp sản phẩm glycofullerene (tridecafullerene) được thể hiện lần lượt qua các hình 2-4, ứng với 3 giai đoạn chính. Đầu tiên, glycofullerene thế azide **9** được tổng hợp với các liên kết dài, mannose đóng vai trò là các đơn vị carbohydrate.



Hình 2: tổng hợp glycofullerene thế azide **9**, tác chất và điều kiện sử dụng: (i) ethylmalonyl chloride, pyridine, CH_2Cl_2 , 25°C ; (ii) C_{60} , I_2 , DBU, 25°C ; (iii) CBr_4 , DBU, 25°C , ODCB; (iv) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, sodium ascorbate, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 100°C ; (v) chất số **8**, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, sodium ascorbate, TBAF, $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$, 80°C

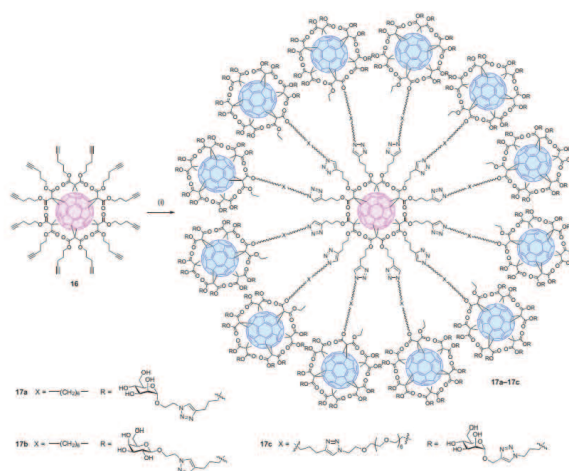
Ở giai đoạn hai, glycofullerene thế azide **15a** và **15b** được tổng hợp trong điều kiện Bingel và sử dụng xúc tác CuAAC để tạo liên hợp với carbohydrate.



Hình 3: tổng hợp glycofullerene thế azide **15a** và **15b**.

Tác chất và điều kiện sử dụng: (i) CBr_4 , DBU, 20°C , PhMe; (ii) 2-azidoethyl α -D-mannopyranoside, $\text{CuBr} \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$, sodium ascorbate, $\text{Cu}(0)$, DMSO; (iii) NaN_3 , 70°C , DMSO

Sau cùng, tâm fullerene **16** (chứa 12 nhóm alkyne) sẽ kết hợp với các hợp chất fullerene ngoại vi **9**, **15a** và **15b** để hình thành nên sản phẩm cuối tridecafullerene **17a-17c**.



Hình 4: tổng hợp tridecafullerene **17a-17c** với xúc tác CuAAC. Tác chất và điều kiện sử dụng: (i) **15a-15b**, $\text{CuBr} \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$, sodium ascorbate, $\text{Cu}(0)$, DMSO, 25°C

Khả năng ức chế của tridecafullerene

Sau giai đoạn tổng hợp, tridecafullerene **17a-17c** được đem khảo sát khả năng ức chế truyền nhiễm virus Ebola. Một cách tổng quát, DC-SIGN được xác nhận là một trong những thụ thể cho virus Ebola

truyền nhiễm [15]. Mặc dù DC-SIGN không phải là thụ thể chính cho trường hợp của virus Ebola, nó vẫn đóng vai trò quan trọng trong việc tạo ra khả năng xâm nhập vào tế bào của tác nhân truyền nhiễm. Vì vậy DC-SIGN có thể được sử dụng làm mô hình nghiên cứu khả năng kháng virus của các loại được phẩm khác nhau [15]. Cụ thể, trong nghiên cứu của Munoz, quá trình truyền nhiễm trực tiếp của virus Ebola nhân tạo vào tế bào Jurkat thông qua thụ thể DC-SIGN trên bề mặt được tiến hành với sự hiện diện của glycofullerene tổng hợp. Kết quả khảo sát cho thấy, khả năng ức chế virus của tridecafullerene phụ thuộc vào sự hiện diện mannose trong mẫu. Cụ thể, hợp chất 17b với 120 nhóm galactose không thể hiện khả năng ức chế truyền nhiễm ở DC-SIGN, ngược lại hợp chất 17a và 17c sở hữu 120 nhóm mannose thể hiện khả năng kháng virus rất mạnh. Sản phẩm 17a có thể ngăn chặn hiệu quả virus Ebola ở cả nồng độ thấp, với chỉ số IC_{50} khoảng 20,37 nM. Sản phẩm 17c thậm chí còn hiệu quả hơn, với khả năng ngăn chặn virus Ebola ở chỉ số IC_{50} đạt 667 pM.

Những kết quả trên cho thấy tính khả thi trong việc sử dụng các phân tử đa hóa trị tương tác với thụ thể DC-SIGN, từ đó ngăn chặn hiệu quả sự xâm nhập của virus. Mặc dù vẫn còn phải nghiên cứu sâu để làm rõ cơ chế ngăn chặn này, nghiên cứu của nhóm Tiến sĩ Munoz chắc chắn đã góp phần củng cố mạnh mẽ cuộc chiến chống lại virus của nhân loại.

LTK (tổng hợp)

Tài liệu tham khảo

- [1] M Mammen, S.K Choi, G.M Whitesides (1998), "Polyvalent interactions in biological systems: implications for design and use of multivalent ligands and inhibitors", *Angew Chem Int Ed* **37**, pp.2754-2794.
- [2] Y Guo (2004), "Structural basis for distinct ligand-binding and targeting properties of the receptors DC-SIGN and DC-SIGNR", *Nature Struct Mol Biol*, **11**, pp.591-598.
- [3] C Fasting (2012), "Multivalency as a chemical organization and action principle", *Angew Chem Int Ed* **51**, pp.10472-10498.
- [4] A Imberty, Y.M Chabre, R Roy (2008), "Glycomimetics and glycodendrimers as high affinity microbial anti-adhesins", *Chem Eur J*, **14**, pp.7490-7499.
- [5] S Cecioni, A Imberty, S Vidal (2015), "Glycomimetics versus multivalent glycoconjugates for the design of high affinity lectin ligands", *Chem Rev*, **115**, pp.525-561.
- [6] A Hirsch, O Vostrowsky (2001), "C60 hexakisadducts with an octahedral addition pattern - a new structure motif in organic chemistry", *Eur J Org Chem*, pp.829-848.
- [7] A Hirsch (1999), "In Fullerenes and Related Structures (ed. Hirsch, A.)", *Topics in Current Chemistry*, **199**, pp.1-65.
- [8] J Iehl, R Pereira de Freitas, B Delavaux-Nicot, J. F Nierengarten (2008), "Click chemistry for the efficient preparation of functionalized [60]fullerene hexakisadducts", *Chem Commun*, pp.2450-2452.
- [9] R Rísquez-Cuadro, J.M García Fernández, J.F Nierengarten, C Ortiz Mellet (2013), "Fullerene-sp²-iminosugar balls as multimodal ligands for lectins and glycosidases: a mechanistic hypothesis for the inhibitory multivalent effect", *Chem Eur J*, **19**, pp.16791-16803.
- [10] I Nierengarten, J.F Nierengarten (2014), "Fullerene sugar balls: a new class of biologically active fullerene derivatives", *Chem Asian J*, **9**, pp.1436-1444.
- [11] M Sánchez Navarro, A Muñoz, B.M Illescas, J Rojo, N Martín (2011), "[60]fullerene as multivalent scaffold efficient molecular recognition of globular glycofullerenes by concanavalin A", *Chem Eur J*, **17**, pp.766-769.
- [12] J Luczkowiak (2013), "Glycofullerenes inhibit viral infection", *Biomacromolecules*, **14**, pp.431-437.
- [13] F Hörmann, A Hirsch (2013), "Giant fullerene polyelectrolytes composed of C60 building blocks with an octahedral addition pattern and discovery of a new cyclopropanation reaction involving ibromomalonates", *Chem Eur J*, **19**, pp.3188-3197.
- [14] A Muñoz, D Sigwalt, B.M Illescas, J Luczkowiak, L Rodríguez-Pérez, I Nierengarten, M Holler, J.S Remy, K Buffet, S.P Vincent, J Rojo, R Delgado, J.F Nierengarten, N Martin (2015), "Synthesis of giant globular multivalent glycofullerenes as potent inhibitors in a model of Ebola virus infection", *Nature Chem*, pp.1-8.
- [15] C.P Alvarez (2002), "C-type lectins DC-SIGN and L-SIGN mediate cellular entry by Ebola virus incising and trans", *J Virol*, **76**, pp.6841-6844.