

The Synthesis of Biological Functional Amphiphilic Cyclodextrins and Its Research Progress*

Jiansheng Huang¹, Yanli Cui^{2#}, Lu Yu¹, Jianwei Mao³, Xinquan Hu¹

¹College of Chemical Engineering and Materials Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou

²Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou

³Zhejiang Provincial Key Lab for Chemistry & Biology Processing Technology of Farm Produces, Hangzhou

Email: #hnzcyyl@hotmail.com

Received: Oct. 29th, 2013; revised: Nov. 13th, 2013; accepted: Nov. 16th, 2013

Copyright © 2013 Jiansheng Huang et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: Bio-functionally amphiphilic cyclodextrins can self-assemble into mono micelles, nanoparticles, thermotropic liquid crystals or bilayer vesicles which make amphiphilic cyclodextrins with the powerful biological activity potential. In this article, amphiphilic cyclodextrins with biological function groups are reviewed and the development prospects are also presented.

Keywords: Amphiphilic Cyclodextrins; Targeted Drug Delivery Carrier; Self-Assembly; Synthesize

生物功能两亲性环糊精化合物的合成及研究进展*

黄健升¹, 崔艳丽^{2#}, 俞露¹, 毛建卫³, 胡信全¹

¹浙江工业大学化学工程与材料学院, 杭州

²浙江大学化学系, 杭州

³浙江省农产品化学与生物加工技术重点实验室, 杭州

Email: #hnzcyyl@hotmail.com

收稿日期: 2013年10月29日; 修回日期: 2013年11月13日; 录用日期: 2013年11月16日

摘要: 两亲性环糊精用生物功能基团修饰后, 可以自组织形成单层分子膜和纳米粒子、胶团或双层囊泡等, 使其具有生物活性潜力。本文从几个方面综述了近几年国内外生物功能两亲性环糊精的研究进展, 并对其未来发展做出了展望。

关键词: 两亲性环糊精; 靶向给药载体; 自组装; 合成

1. 引言

常见的环糊精(CDs)是由 6、7 和 8 个 D-(+)-吡喃葡萄糖通过 α -1,4 糖苷键首尾相连形成的环状低聚糖, 称为 α -、 β -、 γ -环糊精(图 1)。环糊精空腔内为疏水区, 主面与次面由羟基构成, 具有亲水性。环糊精的空腔内可与很多疏水分子发生包合作用, 提高其溶解性和生物利用度, 因此在药物载体方面得到了广泛研究和应用^[1]。然

而天然环糊精的结合常数(binding constant)在 $10^2 \sim 10^4 \text{M}^{-1}$, 稀释条件下较易解离, 对药物运输作用很小^[2]。另外, 环糊精的亲水外部也会阻止其与生物膜的相互作用。因此, 可通过对环糊精上的羟基进行化学修饰。

用亲酯性基团对环糊精进行修饰可使其具有两亲性, 从而渗透细胞膜。两亲性环糊精可形成单层分子的环糊精衍生物或纳米粒子^[3]、热熔液晶^[4]或胶团^[5], 最近报道还可形成双层囊泡^[6]。运载药物时的靶向性是修饰环糊精的另一个挑战。如环糊精接上某种抗体蛋白, 可使其在分子水平上具有对靶细胞的识别

*基金项目: 国家自然科学基金(编号: 30870553); 国际科技合作项目(编号: 2010DFA34370)。

#通讯作者。

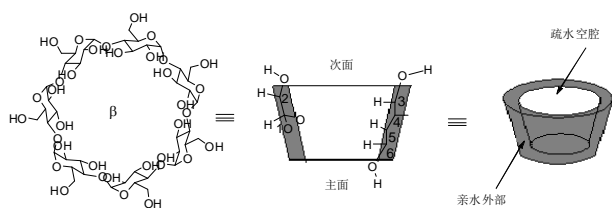


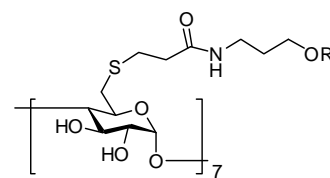
Figure 1. Natural β -cyclodextrin structure
图 1. 天然 β -环糊精结构示意图

能力,使环糊精衍生物具备靶向释药的功能。如将不同的糖基连接在环糊精上,可获得不同的靶向性:带有半乳糖残基可被肝实质细胞所摄取,带甘露糖残基可被 K 细胞摄取,氨基甘露糖的衍生物可集中于肺内。

2. 糖基化修饰的两亲性环糊精的合成及进展

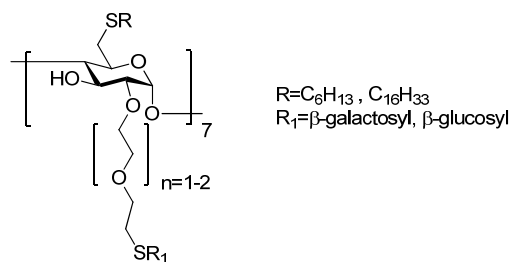
细胞膜上的糖蛋白能够识别特异的糖类化合物,在免疫、细胞识别、细胞间的联系等多种生物过程中起到关键的作用。经过糖基化修饰的两亲性环糊精含有可被生物细胞识别的糖基结构片段,因而可以用于靶向给药载体^[7]。2000年, T. Furuike 等^[8]用 ω -丙酰胺基烷基糖基作为前体连接环糊精,合成 C-6 全取代的环糊精衍生物(图 2)。在对其进行生物活性测试,发现 N-乙酰氨基葡萄糖修饰的环糊精衍生物(GlcNAc-CD)相对于单糖(N-Acetyl-glucosamine)和未修饰的环糊精 β -CD 对小麦胚芽凝集素具有更好的抑制活性。同时,葡萄糖、乳糖、N-乙酰氨基乳糖修饰的两亲性环糊精(Glu-CD, Lac-CD, LacNAc-CD)对龙牙花(ECorL)凝集素也有很好的抑制作用,其中 N-乙酰氨基乳糖修饰的环糊精的效果最好,其最小抑菌浓度(MIC)达到了 0.0892 mM。

2004年, Antonino 等^[9]合成出 C-2 位全取代的 β -环糊精的糖类衍生物(图 3)。用冷冻蚀刻-透射电子显微镜对其形成的纳米聚集体进行表征。结果显示 β -环糊精半乳糖衍生物形成了由 20~30 nm 的纳米粒子组成的直径 500~600 nm 的聚集体。这个研究首先提出用环糊精纳米结构的形态特征来解决识别的问题。不同分子结构的糖基化两亲性环糊精的聚集性取决于疏水-亲水平衡(烷基链的长度)。带有较短疏水链的环糊精易形成胶束。随着疏水性的增加,糖基化环糊精形成囊泡。这些纳米聚集体可以封装荧光客体分



R=glucosyl, 2-N-acetyl-glucosyl, lactosyl, 2-N-acetyl-lactosyl

Figure 2. The structure of pre-C-6-glycosyl-cyclodextrins synthesis by T. Furuike
图 2. T. Furuike 等合成的 C-6 全取代糖基环糊精衍生物



R=C₆H₁₃, C₁₆H₃₃
R₁= β -galactosyl, β -glucosyl

Figure 3. The structure of pre-C-2-glycosyl-amphiphilic cyclodextrins synthesis by Antonino
图 3. Antonino 等合成的 C-2 全取代糖基两亲性环糊精衍生物

子。更值得注意的是,通过时间分辨荧光在水溶液中研究发现它们对 PA-I 凝集素具有识别能力。

2005年, Takashi Yamanoi 等^[10]用 β -CD 和熊果苷合成了两种 C-6 位葡萄糖单取代的环糊精(图 4)。合成的两种环糊精衍生物由于引进了天然的熊果苷,可作为 Endo-M 在转糖基过程中的糖基受体,在与抗肿瘤药多柔比星进行包合时,由于引进的熊果苷具有疏水的苯环,通过疏水-疏水作用及熊果苷中苯环与多柔比星的苯环间 π - π 键作用,提高其包合能力,提高药物的生物活性。研究表明,合成的两种环糊精衍生物在与多柔比星包合作用,其结合常数达到了 $2.2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 、 $5.3 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 。此外合成的环糊精衍生物还可作为高活性的糖基受体,在与鸡蛋黄糖肽通过 Endo-M 的转糖基作用高收率的得到 sialo-复合物型低聚糖酯链糖蛋白。

而 2007年, Simone 等^[11]提出了一种在 CD 上连上糖基的更为直接的方法(图 5)。D-甘露糖或 L-海藻糖的异硫氰酸盐衍生物和两亲性环糊精的低聚(乙二醇)链反应生成氨基硫羰基,再与 1,4-二氮杂二环[2.2.2]辛烷(DABCO)偶联生成糖基化环糊精。这样就避免了溴化的步骤。通过动态光散射和透射电子显微镜法研究发现这些新型的两亲性糖基化环糊精在水中可自组装形成囊泡。通过荧光光谱学证实该聚集体可以选

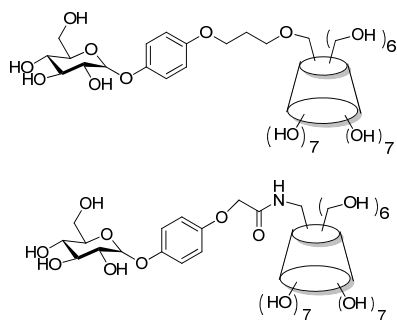


Figure 4. The structure of C-6-monovalent glycosyl-cyclodextrins synthesis by Takashi Yamanoi

图 4. Takashi Yamanoi 等合成的 C-6 单取代糖基环糊精衍生物

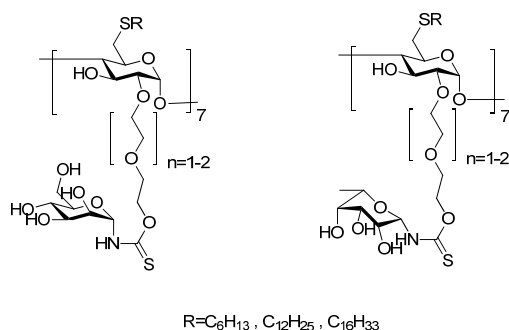


Figure 5. The structure of pre-C-2-glycosyl-amphiphilic cyclodextrins synthesis by Simone

图 5. Simone 等合成的 C-2 全取代糖基两亲性环糊精衍生物

择性粘蛋白质感受器(小扁豆外源凝集素)。

3. 酯基修饰的两亲性环糊精的合成及研究进展

生物细胞膜脂双层膜由磷脂双层结合有蛋白质和胆固醇、糖脂构成,起渗透屏障、物质转运和信号转导的作用。将生物细胞膜中的化学成分(如胆固醇、磷脂等)引入环糊精中,有利于增强环糊精与细胞膜的作用。

对环糊精进行胆固醇基修饰的目的是将环糊精的包含性质与酯的膜性质结合起来。生物膜中存在胆固醇基,研究其在生物双层膜中的影响和行为具有特殊的意义。Djedāini-Pilard 和 Perly 小组在胆甾醇基环糊精研究中做了主要的工作。1999 年,他们首先合成了具有胆固醇基团通过不同长度的酰胺型间隔臂连接到环糊精母体的环糊精衍生物^[12]。合成的环糊精衍生物都可以插入到磷脂双层中,控制链的长度可以优化该分子进入脂质,减少母体的结构变化。2002 年,2,6-二-O-甲基-β-环糊精的胆固醇衍生物也被合成出来^[13]。单叠氨基-CD 上 C-2 位和 C-6 位经过甲基化,叠氨基

还原成氨基后接上胆固醇基(图 6)。通过 X-rays,中子衍射,光散射检测这些新的纳米粒子发现,其空腔内仍具有包含客体分子的能力^[14]。甲基化通过破坏分子内 H-键显著地提高了 β-环糊精的水溶性,两亲性胆甾醇基 2,6-二-O-甲基-β-环糊精在水溶液中可以自组装形成完美的球状胶束^[15],在药物运载方面具有巨大的潜能。研究还发现该衍生物具有与磷脂近似的自组装性质,在水中可以自组装形成波动的胶束纤维,并能保持环糊精对客体分子的包含能力。

2009 年 M. K. Grachev 等^[16]用未保护的 β-环糊精在高效的三价磷衍生物催化下直接和糖磷脂衍生物反应,也合成出 C-6 位糖磷脂单取代的 β-环糊精衍生物。甲基化环糊精的胆甾醇和磷脂衍生物对脂质膜都有洗涤作用(Detergent-Effect),会破坏和溶解生物膜双分子层。而没有甲基化的 β-环糊精胆甾醇或磷脂衍生物能迅速插入脂质膜而不引起双分子层的破坏^[13,17]。

4. 多肽修饰的两亲性环糊精

因存在性质不稳定、易于降解、生物利用度低以及免疫原性等缺陷,多肽及蛋白质药物在临床上的应用受到一定限制。环糊精可与肽链的氨基酸基发生包合作用,弥补上述不足,相关的制剂研究引起了人们的浓厚兴趣^[18]。

2004 年 Tavornvipas 等^[19]的实验表明,环糊精对蛋白的包含仅发生在局部暴露的疏水性侧链上,通过影响三维空间结构抑制生物大分子之间的疏水作用,从而改善其化学和生物学特性。带有类似功能基团的两亲性环糊精包括嫁接氨基酸或寡肽基^[20,21]。

2008 年 Angelina^[22]等报道了两个新型的有两个不对称链的两亲性肽酯基环糊精(图 7): N-十二烷基-Na-(6^I-酰胺-6^I-脱氧-β-环糊精)-L-亮氨酸(1)和 N-十二烷基-Na-(6^I-酰胺-6^I-脱氧-2^{II},3^{II}-二-O-甲基-6^{II-VII},3^{II-VII},6^{II-VII}-三-O-甲基)-β-环糊精)-L-亮氨酸(2)。通过准弹性光散射、浊度和紫外-可见吸收光谱对肽酯基环糊精的自组装性质进行研究发现,(1)在水溶液中溶解性很差,而甲基化的(2)可以在临界聚集浓度自组装形成稳定的超分子胶状聚集体。

2010 年 Seyed^[21]等人报道了主面全取代的 β-环糊精多肽衍生物(图 8)。环糊精主面上通被 N-乙酰化的多肽基团取代,合成了四种新的多肽修饰的两亲性环糊精衍生物。通过该环糊精衍生物对葡萄糖在辛醇中

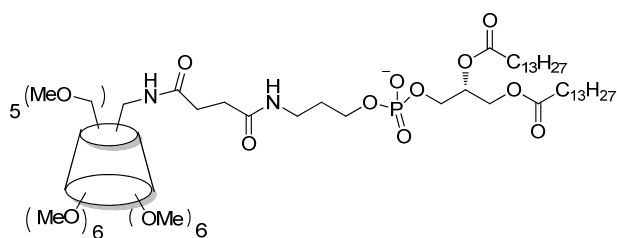
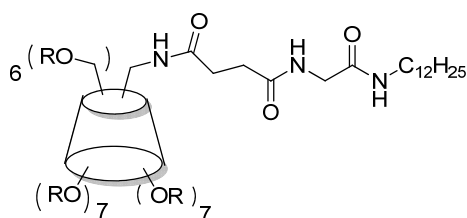


Figure 6. The structure of cyclodextrins modified by phospholipid
图 6. 磷脂修饰的环糊精衍生物的结构图



R=H, Me

Figure 7. The structure of cyclodextrins modified by amino acid
图 7. 氨基酸修饰的环糊精衍生物的结构图

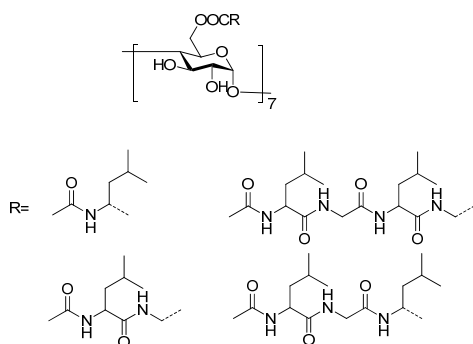


Figure 8. The structure of cyclodextrins modified by peptides
图 8. 多肽修饰的环糊精衍生物的结构图

的运载和相转移实验表明,多肽修饰的 β -环糊精具有更好的运载作用。

5. 展望

两亲性环糊精不仅保持了其包结药物分子的能力,还能通过自组装成具有囊状结构提高运载药物的能力。引入有特殊作用的功能性生物小分子(如糖基、多肽等)使环糊精具有分子识别,具备靶向释药的功能,是研究环糊精化学修饰的一个热点。目前我们组也在对环糊精甲基化^[23]、酯化后自组装形成囊泡^[24]、及环糊精氨基酸化进行研究,并取得喜人的成果,但由于功能性环糊精合成复杂,其领域的研究仍然是一项挑战。

参考文献 (References)

- [1] Kaneto, U., Fumitoshi, H. and Tetsumi, I. (1998) Cyclodextrin drug carrier systems. *Chemical Review*, **98**, 2045-2076.
- [2] Mikhail, R. and Yoshihisa, I. (1998) Complexation thermodynamics of cyclodextrins. *Chemical Reviews*, **98**, 1875-1917.
- [3] Parrot-Lopez, H., Ling, C., Zhang, P., et al. (1992) Self-assembling systems of the amphiphilic cationic per-6-amino- β -cyclodextrin 2,3-di-O-alkyl ethers. *Journal of the American Chemical Society*, **114**, 5479.
- [4] Ling, C., Darcy, R. and Risse, W. (1993) Cyclodextrin liquid crystals: Synthesis and self-organisation of amphiphilic thio- β -cyclodextrins. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 438.
- [5] Witte, F. and Hoffmann, H. (1996) Aggregation behavior of hydrophobically modified β -cyclodextrins in aqueous solution. *Journal of Inclusion Phenomenon Molecular Recognition Chemistry*, **2**, 25-28.
- [6] Sortino, S., Petralia, S., Darcy, R., et al. (2003) Photochemical outcome modification of diflunisal by a novel cationic amphiphilic cyclodextrin. *New Journal of Chemistry*, **27**, 602-608.
- [7] 杨建平, 巨晓洁, 褚良银 (2008) 两亲性环糊精的合成研究进展. *化工进展*, **27**, 21-25.
- [8] Tetsuya, F., Seiichi, A. and Nishimura, S.I. (2000) A highly practical synthesis of cyclodextrin-based glycoclusters: Having enhanced affinity with lectins. *Tetrahedron*, **56**, 9909-9915.
- [9] Antonino, M., Damien, F., Domenico, G., et al. (2004) Multivalent binding of galactosylated cyclodextrin vesicles to lectin. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2**, 957-960.
- [10] Yamanoi, T., Yoshida, N., Yoshiki, O., et al. (2005) Synthesis of monoglucose-branched cyclodextrins with a high inclusion ability for doxorubicin and their efficient glycosylation using Mucor hiemalis endo- β -N-acetylglucosaminidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **15**, 1009-1013.
- [11] Simone, M.N., Anna, R., Lay, L., et al. (2007) Amphiphilic N-glycosyl-thiocarbamoyl cyclodextrins: Synthesis, self-assembly, and fluorimetry of recognition by lens culinaris lectin. *Biomacromolecules*, **8**, 1851-1857.
- [12] Rachel, A.V., Bruno, P., Olivier, T., et al. (1999) Cholesteryl-cyclodextrins: Synthesis and insertion into phospholipid membranes. *Carbohydrate Research*, **318**, 82-90.
- [13] Moutard, S., Perly, B., Gode, P., et al. (2002) Novel glycolipids based on cyclodextrins. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **44**, 317-322.
- [14] Auzely-Velty, R., Pean, C., Djedaini-Pilard, F., et al. (2001) Micellization of hydrophobically modified cyclodextrins: 2. inclusion of guest molecules. *Langmuir*, **17**, 504-510.
- [15] Wang, T., Chipot, C., Shao, C., et al. (2011) Structural characterization of micelles formed of cholesteryl-functionalized cyclodextrins. *Langmuir*, **27**, 91-97.
- [16] Grachev, M.K., Sipin, S.V., Kononov, L.O., et al. (2009) Synthesis of amphiphilic glycolipids based on β -cyclodextrins. *Russian Chemical Bulletin, International Edition*, **58**, 223-229.
- [17] Perly, B., Moutard, M. and Djedaini-Pilard, F. (2005) Amphiphilic cyclodextrins from a general concept to properties and applications. *Pharmachem*, **1**, 4-9.
- [18] Irie, T. and Uekama, K. (1999) Cyclodextrins in peptide and protein delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **36**, 101-123.
- [19] Tavomvipas, S., Tajiri, S., Hirayama, F., et al. (2004) Effects of hydrophilic cyclodextrins on aggregation of recombinant human growth hormone. *Pharmaceutical Research*, **21**, 2369-2376.
- [20] Soares, A.F., Carvalho, R.A. and Veiga, F. (2007) Oral administration of peptides and proteins: nanoparticles and cyclodextrins as biocompatible delivery systems. *Nanomedicine*, **2**, 183-202.
- [21] Seyedia, S.M., Sadeghianb, H., Jabbaria, A., et al. (2010) Design and synthesis of a new series of amphiphilic peptide β -cyclodextrins as phase transfer carriers for glucosamine. *Tetrahedron*, **66**, 6754-6760.
- [22] Angelina, A., Christophe, F., Hocquet, C., et al. (2008) Phys-

- ico-chemical investigation of asymmetrical peptidolipidyl-cyclodextrins. *Journal of Colloid and Interface Science*, **322**, 304-314.
- [23] Cui, Y.L., Wang, C.X., Mao, J.W., *et al.* (2010) A facile and practical approach to randomly methylated β -cyclodextrin. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **85**, 248-251.
- [24] Dong, D.X., Baigl, D., Cui, Y.L., *et al.* (2007) Amphiphilic bipolar duplex α -cyclodextrin forming vesicles. *Tetrahedron*, **63**, 2973-2977.