A Decade of Glycodendrimer Chemistry

グリコデンドリマー化学の 10 年

Roy, René

Department of Chemistry, Université du Québec à Montréal,
P. O. Box 8888, Succ. Centre-Ville, Montreal, Québec, Canada, H3C 3P8
FAX: 514-987-4054, E-mail: roy.rene@uqam.ca

Key Words: glycodendrimer, poly(amidoamine), PAMAM, poly(propylene imine), Astramol, Boltorn dendrimers, galectin, cyanovirin, mannose binding protein, *E. coli*, Shiga toxin

Abstract

The last decade of glycodendrimers research has witnessed tremendous sophistication in both their design and in their biological applications. Some of these artificial multiantennary glycans have reached animal testing and preliminary results are very encouraging, particularly those involving bacterial antiadhesins and antibody neutralization as observed with the Galili antigen implicated in xenotransplantation. Key scaffolding structures have become commercially available on large scale and several dendrimers were shown to be none toxic in cell and animal assays. These beautiful architectures have permitted to shed new lights on multivalent carbohydrate protein interactions. In fact, their potent ability to cross-link multivalent or aggregated protein receptors is helping redefine the classical glycoside cluster effect.

The multivalent effect will be reexamined with a recent case involving cyanovirin, a high affinity oligomannose binding protein from *Nostoc ellipsosporum*. Advantages of glycodendrimers, in comparison to glycopolymers, will then be briefly discussed followed by the detailed description on synthetic strategies and common scaffolds used for their preparation. Structural glycodendrimer drawbacks will be described and solutions brought to solve problems associated with their steric hindrance, and thus lack of sugar accessibility at higher generation, will be presented. Both most common chemical ligations and chemoenzymatic synthesis will be outlined.

Finally, the synthesis of “smart” glycodendrimers and glycoclusters’ newer generation involving rapid covalent assembly of sugars by transition metal catalyzed cross-coupling reactions using palladium and cobalt will be described. The state of the art preparation of glycodendrimers library by dynamic combinatorial chemistry (adaptive chemistry) and self-assembly around various transition metals is now opening the field to an even higher level of creativity. These novel strategies are of particular interest given the fact that several protein receptors (ex. galectins) are actually contemplating the binding of the same carbohydrate ligands which they can although select on the basis of the valency and three dimensional topology.

要 約

グリコデンドリマー研究の最近 10 年は、グリコデンドリマーのデザインと生物学的応用の両方の点で、非常に大きく洗練されてきたことが証明されている。これらの人工的な多分岐糖鎖の中には動物試験にまでたどり着いたものもあり、その結果は、特に、細菌の接着や異種移植に関係するガリリ (Galili) 抗原を用いて観察された抗体の中和などで非常に有望である。鍵となる基本構造が大量でも市販で入手できるようになり、いくつかのデンドリマーが細胞や動物でのアッセイ系で無毒であることが示されている。この美しい構造は多価の糖鎖-タンパク質相互作用に新たな光を注ぐことを可能にした。事実、多価もしくは凝集したタンパク質受容体を交差結合させる能力は、古典的なグリコシドクラスター効果を再定義するのに役立っている。

多価効果を、*Nostoc ellipsosprum* から単離された高親和性オリゴマンノース結合タンパク質である cyanovirin を用いた最近の研究例によって改めて議論する。グリコデンドリマーの有利な点をグリコポリマーとの比較で簡単に議論し、続いて合成戦略やこれらの物質に調製に使われた共通の基本構造について詳細に述べる。

グリコデンドリマーの構造的な欠点を述べ、立体的な隠蔽とそれに寄因する高濃度条件での糖の接近しにくさに伴う問題を解決に導く方法を提示する。また最も一般的な化学的結合法や化学酵素的な合成についても概説する。

最後に、パラジウムやコバルトを用いる遷移金属触媒を用いた交差結合反応による糖の共有結合の迅速な構築を含む、新世代の「スマート」なグリコデンドリマーやグリコクラスターの合成も述べる。動的なコンビナトリアルケミストリー (アダプティブケミストリー) によるグリコデンドリマーライブラリーの芸術的な調製や、遷移金属の回りの自己組織化が、より創造的なレベルの分野を切り開いている。いくつかのタンパク質受容体 (例えばガレクチン) が、価数や 3 次元の位相に基づいて選択した同じ糖鎖リガンドの結合を予測できる事実によって、新しい戦略が特に興味を持たれている。

A. Introduction

Glycodendrimers are part of a relatively new family of synthetic biomacromolecules that first appeared in 1993 (1). They were originally designed to compensate for the generally low binding affinities expressed by most carbohydrate ligands towards their protein receptors and to mimic the behavior of multiantennary glycans. They essentially superseded glycopolymers since they constituted better defined molecular architectures and they appeared to be more viable, at least from a therapeutic standpoint (2–4). Conceptually, they were initially constructed from a focal molecular entity, a seed molecule, from which several repeating unit of spacers were intercalated. This was followed by the attachment of the carbohydrate ligands designed to appear at the periphery of either the globular (dendrimer) or the multiantennary structure (dendron) (Figure 1). Since then, the synthetic strategies and the molecular structures have evolved into convergent and divergent approaches together with the beautiful synthesis of complex “glycoclusters”. Several reviews already exist describing various aspects of glycodendrimer chemistry (5–8), biophysical evaluation (9), and biological applications (10–14).

B. The “Classical” Glycoside Cluster Effect

The concept has its origin in the so-called *glycoside cluster effect* pioneered by Lee *et al.* (15). It has been previously observed for the hepatocytes asialoglycoprotein receptors binding to oligosaccharides ending with β -D-galactopyranose/ β -D-N-acetylgalactosamine residues. It first exemplified the complex nature of multivalent carbohydrate-protein interactions (7, 16–17). However, the original concept had a different biophysical implication when compared to the one discovered from glycodendrimers. Thus, a more recent case may illustrate the latter situation wherein the dimeric 11-kDa cyanovirin, a 101-amino acid protein, isolated from the blue-green algae *Nostoc ellipsosporum*, showed its primary binding site to bind to a complex N-linked oligomannoside ($\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$) with 13 nM af-

A. はじめに

グリコデンドリマーは1993年に初めて出現した、比較的新しい合成生物高分子ファミリーの1つである(1)。ほとんどの糖リガンドとそれらのタンパク質受容体の親和性が一般的に低いため、それを補うために、また多分岐のグリカンの挙動を模倣するために、これらの分子がデザインされた。より明確な分子構造を構成し、また治療という視点から見てもより生体適合的であるように見えることから、グリコデンドリマーはグリコポリマーにとって代わってきた(2–4)。概念的にはグリコデンドリマーは、当初、種となる中心分子とそこから挿入されるスペーサーの繰り返し単位から構築された。それに続いて、球状(デンドリマー)もしくは多分岐構造(デンドロン)(図1)の平面に位置するようなデザインで糖鎖リガンドが付加された。それ以来、合成戦略及び分子構造は、複雑な“グリコクラスター”の見事な合成とともに、収斂あるいは多様性のある方法へと展開してきた。既にグリコデンドリマーの化学(5–8)、生物物理学的評価(9)、および生物学的応用(10–14)に関する総説がいくつか存在している。

B. “古典的” グリコシドクラスター効果

グリコデンドリマーのコンセプトは、Lee らによって開拓された、いわゆるグリコシドクラスター効果にその起源を持つ(15)。これは、 β -D-ガラクトピラノース/ β -D-N-アセチルガラクトサミン残基を末端に持つオリゴ糖への、肝細胞アシアロ糖タンパク質受容体の結合において以前から観察されていた。当初は多価の糖-タンパク質相互作用の複雑な性質の例証となっていた(7, 16–17)。しかしながら、グリコデンドリマーから見いだされたものと比べると、元々の概念は異なった生物物理学的意味を持っていた。より最近の研究例が後者の状況を明確に説明している。その実験では、青緑藻 *Mostoc ellipsosprum* から単離された101個のアミノ酸から成るタンパク質で、二量体である11-

Fig. 1. Schematic representation of glycodendrimers varying by their synthetic construction. Left: early dendrimers using non-carbohydrate scaffolds; Middle: carbohydrate scaffold with aliphatic linkers; Right: all carbohydrate-based glycodendrimers.

Fig. 2. Bound state X-ray structure of the common mammalian $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ oligosaccharide (top) co-crystallized with the heterodimeric cyanovirin isolated from the blue-green algae *Nostoc ellipsosporum*. This recent case is used to clarify the classical glycoside cluster effect (bottom, 2nd complex) and to propose the new cross-linking glycocluster effect (bottom, 3rd complex). The 4th complex illustrates the effect of higher glycocluster concentration upon the cross-linking behavior.

finity (18). The X-ray data (19, PDB no. 1M5M) clearly illustrated that the three non-reducing mannose residues (D1–D3) were those simultaneously involved in contact with a single protein's active site. The conformation of the bound undecasaccharide, together with the corresponding extended schematic structure of $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ is shown in Figure 2. The bound $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ conformation at the primary site shows Man-D1 to Man-D2 O-6 distances to be 8.75 Å apart and Man-D1 to Man-D3 at 12.95 Å, while the GlcNAc-1 residue was found to be protruding –14 Å away from the protein surface. The secondary binding site is found at a distance of 35 Å from the primary site, thus supporting the fact that a single $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ residue could not provide the chelate effect observed with glycodendrimers. Moreover, since cyanovirin has two active sites of different affinities, a high affinity site with a K_a of $7.2 (\pm 4) \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ and a low affinity site with a K_a of $6.8 (\pm 4) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ for the disaccharide $\text{Man}\alpha 1-2\text{Man}\alpha$ ($1.5 (\pm 0.9) \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ for $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$), provided further evidences for the possibility of cross-linking cyanovirin at micromolar concentrations typical of isothermal titration calorimetry experiments.

The above data suggests that several arms of a given multiantennary glycan may bind in a two fold fashion to a protein possessing more than one binding site as found in several lectins. First, all terminal saccharides may be required for opti-

kDa のシアノビリン (cyanovirin) は、13 nM の親和性で complex 型の N 型糖鎖 ($\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$) に結合する、1 番目の結合部位を示した(18)。X 線のデータ (19, PDB no 1M5M)により、3 つの非還元側マンノース (D1–D3) が 1 つのタンパク質の活性部位との接触に同時に関与していることが明確に示された。結合した 11 糖のコンフォメーションが、対応する $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ の構造式とともに図 2 に示してある。1 つめの結合部位に結合した 11 糖のコンフォメーションでは、Man-D₁ と Man-D₂ の O-6 は 8.75 Å 離れた距離にあり、Man-D₁ から Man-D₃ は 12.95 Å である。一方、GlcNAc-1 残基はタンパク質の表面から 14 Å 突きだしていることが見いだされている。2 つめの結合部位は 1 つめから 35 Å 離れていて、一本鎖の $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ が、グリコデンドリマーで観察されたキレート効果を与えることができないという事実を支持している。さらにシアノビリンは $\text{Man}\alpha 1-2\text{Man}\alpha$ に対して高い親和性 ($K_a: 7.2(\pm 4) \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) と低い親和性 ($K_a: 6.8(\pm 4) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) の 2 つの活性部位を持つことから ($\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ の $K_a: 1.5(\pm 0.9) \times 10^8 \text{ M}^{-1}$)、等温滴定熱測定実験の典型的な濃度であるミクロモル濃度でシアノビリンが交差架橋する可能性にさらなる証拠を与えた。

上記のデータは、いくつかのレクチンで見いだされているような 2 つ以上の結合部位を有するタンパク質に対して、多分岐の糖鎖のいくつかのアームが 2 倍の様式で結合するというを示唆している。まず、全ての末端糖が 1 つの部位に最適に

mum binding to a single site (ex. Man D1-D3 of Man₉GlcNAc₂ binding to the high affinity site of cyanovirin), and second, that individual end-group saccharide of one complex glycan could be sufficiently distant from one another to provide a cross-linker capable of binding two different proteins. Several lines of evidence point in the above direction to explain the improved binding abilities of glycodendrimers.

Therefore, the enhanced binding avidities of glycodendrimers are likely due to a combination of several factors depending on the level of association of the protein counter receptors. The required molecules may indeed be circulating heteromeric protein clusters (galectins, lectins), membrane bound clusters, single proteins with multiple carbohydrate binding domains (CRDs), or even monomeric proteins that self-associate in response to multivalent ligands. The improved binding behaviors of glycodendrimers may reflect a straightforward entropic phenomenon provoked by an increased probability of finding another ligand in close vicinity (higher local concentrations). Alternatively, multiple receptors may cooperate in the ligand binding events, thus producing cross-linked lattices of various geometries and stabilities/solubilities (20). Therefore, we would like to propose herein that glycoclusters in which a limited number of carbohydrate ligands are simultaneously binding into a *single* receptor's active site be referred to as being part of the "classical" *glycoside cluster effect*, as initially proposed by Lee *et al.* (15) (complex B in Fig. 2), while glycoclusters simultaneously binding to *different* receptor's active sites should be referred to as the *cross-linking glycocluster effect*. The above observations should hold for receptors of the same as well as for different proteins.

C. Biological Benefits of Glycodendrimers

Another possible application of synthetic glycoclusters, beside their enhanced binding affinity, may reside in their capacity as carrier device for tissue/cell-specific drug delivery. They may also serve for antigen targeting to dendritic cells to stimulate MHC-mediated antigen presentation. Additionally, they may be valuable therapeutic agents to prevent undesirable clearance of circulating serum glycoproteins and ideally, to immunoglobulins. For instance, a synthetic linear mannosylated oligolysine cluster (M₆L₅; 7.2, Fig. 7), designed to bind with strong avidity to the 175-kDa membrane-associated human mannose receptor localized on dendritic cells, bone marrow macrophages, and on sinusoidal liver cells, was shown to bind with nanomolar affinity ($K_{i(app)}$ 0.5 to 2.6 nM; ΔG° -45 kJ/mol) (21). Interestingly, as seen before for mannoside clusters binding to ConA (22), the M₆L₅ displayed negative cooperative inhibition, thus illustrating again the involvement of multiple binding sites with the multivalent ligands.

結合 (例えば Man₉GlcNAc₂ の ManD₁-D₃ がシアノピリンの高親和性部位に) することが必要であり、そして2番目に、1つのコンプレックス型糖鎖のそれぞれの末端糖がお互いに適当な距離に離れ、2つの異なったタンパク質を結合させることができるクロスリンカーを提供する。いろいろな系の証拠が、グリコデンドリマーの結合能力の改善を説明する上述の方向で一致している。

つまり、グリコデンドリマーの結合の増強は、タンパク質カウンター受容体の会合のレベルに依存する、いくつかの要素の組み合わせのためだと考えられる。必要な分子は、循環するヘテロタンパク質クラスター (ガレクチン、レクチン)、膜結合クラスター、複数の糖鎖結合ドメイン (CRDs) を持つ単一のタンパク質、もしくは多価のリガンドに反応して自己組織化する単量体のタンパク質なのかもしれない。グリコデンドリマーの結合性の改善は、近接した別のリガンドを見つける確率の上昇 (局地的な濃度が高い) によって引き起こされる、単純なエントロピー的な現象を反映しているのかもしれない。別の考えとしては、複数の受容体がりガンドとの結合の際に、共同で種々の幾何、安定性/溶解性を持つ交差結合格子を作り出しているのかもしれない。そこで本稿では、最初 Lee に提唱 (15) された通り、限られた数の糖リガンドが1つの受容体の活性部位に同時に結合しているグリコクラスターを“古典的” グリコシドクラスター効果 とし (図2の complex B)、一方、異なった受容体の活性部位に同時に結合するグリコクラスターは 交差結合グリコクラスター効果 と呼ぶべきであると提案したい。

C. グリコデンドリマーの生物学的有用性

合成グリコクラスターのもう1つの応用の可能性は、結合の親和性の増強の他に、組織/細胞特異的な薬剤送達の担体としての能力にある。これらの分子は、抗原の樹状細胞へのターゲティングの為に働き、その結果 MHC-介在性の抗原提示を活性化させる。さらに、これらは循環している糖タンパク質、理想的にはイムノグロブリン、の望ましくない排除を防ぐための有用な薬剤でもある。例えば、樹状細胞、骨髄マクロファージおよびジヌソイド肝細胞に局在する 175-kDa の膜結合性ヒトマンノース受容体に強く結合するようにデザインされた、合成直鎖マンノシル化オリゴリジン (M₆L₅; 7.2, 図7) は、ナノモル濃度の親和性 ($K_{i(app)}$ 0.5 to 2.6 nM; ΔG° -45 kJ/mol) で結合することが示されている (21)。興味深いことに、以前マンノシドクラスターの ConA への結合で見られたように、M₆L₅ は負の協同的な阻害を示した。つまり多価のリガンドの、複数の結合部位への関与が再び明確になった。

D. Glycodendrimer Syntheses

D-1. Synthetic Strategies Toward Glycodendrimers

There are basically two different strategies to build glycodendrimers (Fig. 3). In the original strategy (5–8), a core or a seed molecule (1), possessing a minimum of threefold functionality (A_2B systems), such as lysine, glutamic, and aspartic acid, are iteratively recombined with trifunctional linkers (2, 4, 8, 10) to form an hyperbranched skeleton (3, 12) in a controlled manner. At the very end of the dendrimers (5) or dendrons construction, the saccharide portions (6) are all added at once using various ligation chemistry to afford glycodendrimers like 7. The technical limitation of this process, referred to as divergent growth, resides in the difficulties to ascertain the completeness of the conjugation, at least at higher dendrimer generations, since partial defects (<5%) are only detectable spectroscopically with great difficulties.

In an improved approach, originally lead out by Hawker and Fréchet (23), small dendrons (9) are first built from saccharide 6 with bifunctional linker 8 and then convergently and reiteratively attached to scaffold structures (12, Fig. 3), thus providing chemical entities that are readily separable based on molecular weight differences between the partially modified scaffolds and their fully substituted counterparts (7). This practical strategy has been initially and successfully applied to the carbohydrate field by Stoddart *et al.* (24).

The several steps involved in the syntheses of “clean” single molecule glycodendrimers have seriously hampered their preparation on commercial scales. This situation was partly remedied with the advent of commercial sources of core amino-ended dendrimers such as poly(amidoamine) PAMAM or Starburst™ (4.1) (Dendritic Nanotechnologies Ltd, Aldrich) and poly(propylene imine) Astramol™ (4.2) (DSM, Aldrich) dendrimers built using the divergent approach (Fig. 4). There is

D. グリコデンドリマーの合成

D-1. グリコデンドリマーに向けての合成戦略

グリコデンドリマーの組み立てには基本的に2つの異なった戦略がある(図2)。初期の戦略(5–8)では、リジン、グルタミン酸、アスパラギン酸のような少なくとも3つの官能基を持つコア分子もしくはシード分子(1)が、3つの官能基を持つリンカー(2, 4, 8, 10)と繰り返して再結合し、制御された様式で高度に分岐化した骨格(3, 12)を形成する。デンドリマーやデンドロンの構築の最終段階で、様々な結合のための化学(ライゲーションケミストリー)によって糖部分(6)全てが一度に付加され、7のようなグリコデンドリマーを与える。このプロセスの技術的限界は、多様な成長(divergent growth)と呼ばれる、結合の完了を確定することの困難さの中にある。というのも、部分的な欠損(<5%)は分光器を用いても検出するのが非常に困難だからである。HawkerとFréchetにより開発された改良法(23)では、糖(6)と二官能性のリンカー(8)からまず小さなデンドロン(9)が作られ、それから収斂的に、そして繰り返しながら基本骨格構造(12, 図3)に付加され、それにより部分的に修飾された基本格子と完全に置換されたものとの間の分子量の差で容易に分離可能な化学物質が得られる(7)。この実践的な戦略がStoddartらによって初めて、そして首尾良く糖の分野に応用された(24)。

“純度の高い”単一分子のグリコデンドリマーの合成に数ステップの関与が必要なことが、商業スケールでの調製を妨げてきた。しかしこの状況は、分岐型アプローチを用いて作られたポリ(アミドアミン)PAMAMやStarburst™(4.1)(Dendritic Nanotechnologies Ltd, Aldrich)やポリ(プロブレノイシン)Astramol™(4.2)(DSM, Aldrich)のようなアミノ基を末端に持つコアのデンドリマーの商業的供給の出現によって部分的に改善された。しかし、これらのデンドリマーには依然コストが高いという限界がある。別の方法としては、分子量の均一性は犠牲になるが、十分に限定された(polydispersity < 1.5)樹状のポリグ

Fig. 3. Illustration of the two major synthetic strategies used for the construction of glycodendrimers using either divergent (top) or convergent (bottom) approaches.

still, however, a high cost limitation associated with these dendrimers. Alternatively, but at the expense of molecular weight uniformity, another strategy consisting in the single steps dendrimer construction using hyperbranching polymer chemistry, controlled synthesis of well-defined (polydispersity < 1.5) dendritic polyglycerols (**4.3**) (Hyperpolymers GmbH) and hyperbranched polyester polyols (**4.4**) (Boltorn™) have been accomplished. Several of these structures have now become commercially available at low cost. Non-toxic Boltorn™ glycodendrimers have been synthesized with 16 and 32 mannoside residues exposed (25). Of interest is the use of these soluble hyperbranched polyesters for oligosaccharide synthesis using thioglycoside donors and NIS-TfOH activation (26).

D-2. Common Scaffolds for Glycodendrimers and Glycoclusters

Typical A_2B and A_3B chemical structures **13-28** used in

リセロール (**4.3**) (Hyperpolymers GmbH) や高度に分岐したポリエステルポリオール (**4.4**) (Boltorn™) の制御合成や高度に分岐した高分子の化学を用いる一段階のデンドリマー構築から構成されているもう1つの戦略が達成されている。これらの構造のうちのいくつかは、現在では低コストで市販されている。無毒の Boltorn™ グリコデンドリマーが 16 および 32 残基のマノシドを用いて合成されている (25)。興味深いことには、これらの高度に分岐した水溶性のポリエステルが、チオグリコシドをドナーにして NIS-TfOH で活性化するオリゴ糖鎖の合成に用いられている (26)。

D-2. グリコデンドリマーとグリコクラスターのための共通な基本格子

高度分岐戦略で用いられる典型的な A_2B および A_3B 化学構

4.1 Starburst-PAMAM dendrimer G2

4.2 Astramol-Dab dendrimer G3

4.3 Hyperbranched polyglycerol

4.5 Boltorn dendrimer H20

Fig. 4. Structures of commercially available dendrimer scaffolds bearing amine or alcohol functionalities.

hyperbranching strategies are illustrated in Figure 5. These core molecules formed the basis of more complex dendrimer and glycocluster syntheses. Thus, tris(hydroxymethyl)aminomethane (TRIS, **13**) has been commonly used by several groups for direct glycoside attachment (27–28). The resulting glycoconjugates are however subject to unfavorable steric factors, unless the “classical” glycoside cluster effect is involved (Fig. 2), implying again (see introduction) that the multiple glycan copies are simultaneously implicated into a single active site. Pentaerythritol **14** (29) and its sulfur analog **15** (30) have also been used to construct glycoclusters. Of particular interest is compound **15** bearing four galabioside residues (Gal α 1-4Gal β) linked by a seven atom spacer which showed inhibition of agglutination of human erythrocytes by the Gram-positive bacteria

造を図 5 に示す。これらのコア分子は、更に複雑なデンドリマーやグリコクラスターの合成の基盤を形作る。トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン (TRIS, **13**) が、直接グリコシド付加を目的として、いくつかのグループによって共通に用いられてきている (27–28)。しかしながら、“古典的”グリコシドクラスター効果が関与しない限りは、複数の糖鎖コピーが1つの活性部位に関わるということ (イントロダクション参照) を含みながら、得られる複合糖質は望ましくない立体的ファクターに従う。ペンタエリトリール **14** (29) とその硫黄類縁体 **15** (30) もグリコクラスターを構築するために使われてきた。特に興味深いのは7原子のスペーサーによって結合された4残基のガラビオシドを有する化合物 **15** で、これはグラム陽性菌 *Streptococcus suis* によるヒト赤血球の凝集をナノモル濃度 (IC₅₀ 3 nM) で阻害を示した (30)。オリゴアミン **16–17** (31–33) や **18** (34) のような

Fig. 5. Most common scaffolds used in the design of glycodendrimers and glycoclusters.

Sterptococcus suis at nanomolar concentration (IC_{50} 3 nM) (30).

Oligoamine **16-17** (31–33) and branched amino acid such as **18** (34) represent valuable scaffolds onto which were built glycodendrimers. N, N'-Bis(acrylamido)acetic acid **19** (35), together with hyperbranched L-lysine (36), and PAMAM (37) have all been used and compared for the attachment of the T-antigen cancer marker β -D-Gal-(1,3)- α -D-Gal-OR. In all cases, tetrameric structures seemed to be optimal for an IgG inhibition (38). Aromatic seeding molecules such as **20-21** (39–41) and gallic acid **22** (42), including the triphenylene structure **23** (43), calyx[4]arenes **24** (44–46), calyx[4]resorcarenes (47), and porphyrin **28** (48), were previously used to construct glycodendrimers having interesting amphiphilic properties. Compound **23** with long C11 aliphatic spacer showed the expected discotic liquid crystal behavior while calyx[4]arene/resorcarenes families showed inclusion properties, a particularity also shared by the cyclodextrin scaffolded glycodendrimers (49–52). Carbohydrates themselves (**27**) can serve as excellent scaffolds since they are inherently built with a wide variety of conformations, stereocenters, and ring-size, thus providing a large array of possible architectures (53–54). Unfortunately, despite their elegance, these glycodendrimers have not demonstrated attractive features beyond those already observed from simpler core structures.

Additional examples of useful cyclic scaffolds were provided by azamacrocycles such as **25** and **26** (Fig. 5) which provided glycoclusters having several hundred fold binding affinities better than their monovalent counterparts (55). For instance, 1,4,7,10-tetraazacyclododecane (cyclen) (**25**) and its unsymmetrical homologue, 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane (cyclam), when attached by thiourea linkages to four α -D-mannosides, prevented the hemagglutination of Type 1 fimbriated *E. coli* to pig erythrocytes by factors of 195 and 780 fold better than methyl α -D-mannoside, respectively (55). An even more exciting result was provided by Fan *et al.* (56) who designed a pentavalent structure derived from 1,4,7,10,13-pentazacyclopentadecane (**26**) and bearing β -D-galactopyranoside residues. The structure was devised to mimic the oligosaccharide portion of ganglioside GM1, the best ligand (IC_{50} 0.01 μ M) for the pentameric AB₅ heat-labile enterotoxin (LT) from *E. coli*, a close relative of cholera, shiga-like, and pertussis toxins. The flexible linkers' length between the azamacrocycle and the carbohydrate motif were systematically varied and the most active inhibitor showed an IC_{50} that was 10^5 -fold better than galactose (0.56 μ M). The optimum linker had an effective length of 50 Å (175 Å in its extended conformation) and was composed of two squarate units together with an oligoethylene glycol α,ω -diamine (4,7,19-trioxa-1,13-tridecanediamine). This complex structure is somewhat analogous to the 'STARFISH' cluster previously described by Kitov *et al.* (57) who synthesized 10 copies of the P^k trisaccharide mounted onto a central glucose residue and which

分岐アミノ酸は、その上にグリコデンドリマーが構築されるための有用な格子の代表例である。N,N'-ビス(アクリルアミド)酢酸は、高度分岐のL-リジン(36)やPAMAM(37)と共に用いられ、T抗原ガンママーカである β -D-Gal-(1,3)- α -D-Gal-OR の付加に関して比較されている。全てのケースで、4量体構造がIgGの阻害に対して最適である(38)。**20-21** (39–41)や没食子酸 **22** (42)のような芳香族シード分子(その中にはトリフェニレン構造 **23** (43)、カリックス [4] アレン **24** (44–46)、カレックス [4] レゾルカレン (47)やポルフィリン **28** (48)を含む)は、興味深い両親媒性の性質を持つグリコデンドリマーを構築するために使われてきた。C11の長さのスペーサーを持つ化合物 **23** はディスコティック液晶の挙動を示し、一方カリックス [4] アレン/レゾルカレンファミリーは抱接の性質を有する。この特殊な性質はシクロデストリンを格子とするグリコデンドリマーによっても共有された(49–52)。糖は、本来広い範囲のコンフォメーション、立体中心、環の大きさを持って組み立てられているので、それ自身優れた基本格子として役立つことができ、数多くの構築可能物を与える(53–54)。残念ながら、その洗練さにもかかわらず、これらのグリコデンドリマーはより単純なコア構造のものから観察されている以上には魅力的な特性を示さなかった。

有用な環状格子のさらなる例が、**25**や**26**(図5)のようなアザマクロ環によって提供されている。これらに対応する1価のものより数百倍強い親和性を持つグリコクラスターを与えた。例えば、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン(シクレン)(**25**)とその非対称同族体、1,4,8,11-テトラアザシクロテトラデカン(シクラム)は、チオウレア結合によって4つの α -D-マンノシドと結合させたとき、1型戻状*E. coli*のブタ赤血球への凝集をメチル α -D-マンノシドに比べ195倍と780倍の強さでそれぞれ防御した(55)。さらに興奮するような結果がFanらによって得られている(56)。彼らは1,4,7,10,13-ペンタアザシクロペンタデカン(**26**)から誘導され、 β -D-ガラクトピラノシド残基を持つ5価の構造をデザインした。その構造は、コレラトキシン、シガライクトキシン、百日咳トキシンと非常に近い関係にある*E. coli*の5量体のAB₅熱不安定外毒素(LT)の最適ナリガンドである、ガングリオシドGM1のオリゴ糖部分を模倣して考案された。アザマクロ環と糖との間の柔軟性の有るリンカーの長さが系統的に変化され、最も活性の強い阻害剤はガラクトース(0.56 μ M)に比べ105倍強い IC_{50} を示した。最適のリンカーは50 Å有効長(伸長したコンフォメーションでは175 Åを持ち、オリゴエチレングリコール α,ω -ジアミン(4,7,19-トリオキサ-1,13-トリデカンジアミン)とともに、2つのスクワレート単位から構成されている。この複雑な構造は、Kitovらによって以前報告された“STARFISH”(57)にいくぶん類似している。彼は、中央のグルコース残基に結合した10コピーのP^k三糖を合成し、得られた分子は5価のシガライクトキシン(SLT)に対して単量体のGb₃

showed 10^6 -fold enhanced inhibitory potency over the monovalent version of the Gb₃ trisaccharide toward the pentavalent Shiga-like toxin (SLT). A more rationally designed dimer with a shorter tether linkage was recently synthesized by the same group (58). These and related structures were shown to be active in *in vivo* experiments against challenged mice with enterohemorrhagic *E. coli*, thus demonstrating the potential therapeutic usefulness of carbohydrate-based receptor inhibitors (59).

D-3. Drawback of Globular Dendrimers

One of the major drawback of the above glycodendrimers is the over crowding of the poorly accessible surface glycans of the higher dendrimer generations, thus illustrating the limits of both approaches. In fact, most observations, based on the binding affinities of large glycodendrimers (> 32 saccharides) with their protein receptors, clearly indicated that the binding efficacy on a per saccharide basis was dramatically decreased at higher loading density simply because of the lesser accessibility of the sugar ligands. Thus, the so-called multivalent effect normally reaches a maximum from lower dendrimer generation,

三糖に比べ 10^6 程度増強された阻害能を示した。より合理的にデザインされた、短い鎖で結合した二量体と同じグループにより合成された。これらおよびその関連構造は、腸管出血性大腸菌を投与したマウスに対する *in vivo* 実験で、活性があることが見出された。この結果は、糖に基づいた受容体阻害剤の治療剤としての有用性を示している。

D-3. 球状デンドリマーの欠点

上記のグリコデンドリマーの主な欠点の1つが、高次のデンドリマーが持つ、接近が困難な表面糖鎖の過剰な混み合いである。これは両方のアプローチの限界を示している。事実、大きなデンドリマー (32 糖以上) とタンパク質受容体との結合親和性において、糖単位あたりの結合効率は高い装填密度で劇的に減少したという結果が多く得られた。これは単純に、糖リガンドの接近性の減少によるものと考えられる。つまり、いわゆる多価効果は低次のデンドリマー世代で最高に達し、その効果はその後デンドリマー世代が成長するにつれて、次第に減少する。この問題に対する直接的な解決法が提案されている。その

32

Fig. 6. First example of a poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimer bearing sialosides that are more readily accessible using divergent synthesis with intercalating tris(hydroxymethyl)aminomethane capping residues.

after which the effect gradually decreases as the dendrimer generation grows up. A straightforward solution to this problem has been proposed wherein; the glycans were inter-spaced with “dummy” functionalities (ex. water-soluble OH groups) to regain carbohydrate accessibility (60). The first example where this strategy was applied is illustrated by the sialylated PAMAM structure (32) shown in Figure 6. The synthetic plan was based on the partial capping of intermediate dendrimer half-generation (ester-ending) with tris(hydroxymethyl)aminomethane (TRIS, 13) to provide triol groups interspersing the next generation obtained by the treatment of remaining methyl esters with ethylenediamine. Unfortunately, several structures related to 32 failed to show improved binding with the hemagglutinins from influenza viruses (60). This concept has been further exploited with mannosylated/hydroxylated PAMAM dendrimers and their relative binding with the model lectin Concanavalin A from *Canavalia ensiformis* (ConA) measured (61). The latter results illustrated the possibility of clustering a certain number of ConA tetramers onto PAMAM of generation 3 to 6, a situation already encountered with the preparation of dendritic megamers (62). In this study, it was shown that 25 ConA molecules could be anchored to PAMAM generation 6 containing ~180 mannose residues.

The accessibility issues of the exposed carbohydrate ligands can also be solved by using dendrons rather than dendrimers. Dendrons, as opposed to the globular shape of dendrimers, are partial constituents made en route to the more complex structures. They correspond to a “quadrant” of the entire molecule, as shown by intermediate 11 in Figure 3. In fact, the first entry (1) into these novel biomacromolecules was made of hyperbranched L-lysine scaffolds and sialic acid, as originally proposed by Denkewalter *et al.* (63) and further exploited in multiple antigen peptides (MAP) pioneered by Tam *et al.* (64)

方法では、糖の接近性を回復するために、“ダミー”の官能基 (例えば水溶性のOH基) によって糖鎖の間合いが取られている。この戦略が応用された最初の例が、図6のシアリル化PAMAM構造(32)によって示されている。合成計画は、中間体のデンドリマーのハーフ世代(エステル末端)のトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(TRIS, 13)による部分的な保護(キャッピング)に基づいており、残っているメチルエステルをエチレンジアミンで処理することにより、トリオールが間合いを取っている次の世代が得られる。残念なことに、32に関連するいくつかの構造は、インフルエンザウイルス由来の凝集素に対して更に良い結合は示さなかった(60)。このコンセプトは、マンノシル化/ヒドロキシル化されたPAMAMデンドリマーによって更に発展され、*Canavalia ensiformis* 由来の ConcanavalinA (ConA) との相対的結合性が測定された(61)。後者の結果から、ある数の ConA テトラマーが3から6の世代のPAMAMの上にクラスター化する可能性が示された。これは、既に樹状のメガマーの調製で見出されているものである(62)。この研究で、25個のConA分子が180個のマンノース残基を含む6世代のPAMAMにつなぎ止められることが示された。

外側に向けた糖リガンドの接近性に関する問題は、デンドリマーではなくデンドロンを用いることによって解決される。デンドロンは、デンドリマーが球状の形であるのに対して、より複雑な分子の合成の途中で作られる部分的な構成成分である。これらは図3の中間体11で表されるように、完全な分子の“4分円”に相当する。実際に、この新規な生物高分子の最初のエントリーは、高度に分岐したL-リジンの基本格子とシアリ酸から作られた。これは当初 Denkewalter ら (63) により提案され、さらに、ワクチンとしての目的のために Tam ら (64) によって開発されたマルチ抗原ペプチド (MAP) によって更に発

Fig. 7. Hyperbranched, commercially available poly-L-lysine (7.1) and its mannosylated glycodendron (7.3) used for the inhibition of fimbriated *E. coli*. Linear mannosylated poly-L-lysine (7.2, $M_n 10^5$) showing strong avidity (K_d 0.5 nM) against human mannose receptors on dendritic cells.

for vaccines purposes. Both Fmoc- and Boc-protected hyperbranched L-lysine (7.1) are also commercially available and an unprotected 16-mer version bearing D-mannosides (7.3) is illustrated in Figure 7 below. Dendrimer 7.3 was synthesized from the polymer bound hyperbranched L-lysine which was elongated at both N- α and N- ϵ -amino residues with N-chloroacetylglcylglycine, followed by an S_N2 reaction with peracetylated *para*-(3-thioacetyl)propionamidophenyl α -D-mannopyranoside using our initial procedure (1). This structure was shown to be extremely potent against fimbriated *E. coli* K12 as it could inhibit the binding of radiolabeled ^{125}I -mannose-BSA neoglycoprotein conjugates at nanomolar level (14.4 nM per mannoside residues) (65). The success of this strong inhibitor was attributed to the fact that this cluster could span a distance of at least 20 nm between distant mannosides together

展した。Fmoc と Boc の両方で保護した高度分岐 L-リジン (7.1) も市販されており、D-マンノシドを持つ無保護の 16 マー体 (7.3) が図 7 の下に図示してある。デンドリマー 7.3 はポリマーが結合した高分岐 L-リジンから合成され、それは N- α と N- ϵ -アミノ残基の両方が N-クロロアセチルグリシルグリジンで伸長され、その後、我々の最初の方法 (1) を用いる完全アセチル化パラ-(3-チオアセチル)プロピオナミドフェニル α -D-マンノピラノシドとの S_N2 反応が続く。この構造は、放射能標識した ^{125}I マンノース-BSA ネオグリコプロテイン複合体の結合をナノモルレベル (マンノース残基あたり 14.4 nM) で阻害することができ、房状 *E. Coli* K12 に対して極めて有効であることが示された (65)。この強力な阻害剤の成功は、このクラスターが、芳香環のアグリコンも含めて、隔てられているマンノシド間を少なくとも 20 nM の間隔で保持しながら束ねられるという事実に基づる。これは、迅速に動く房に都合良く受け入れられることを可能にす

Table I. Chemical ligation methods most commonly used for glycodendrimer and glyocluster syntheses.

Entry	Sugar Functionality	Scaffold Functionality	Results	Ref.
1	Isothiocyanate	$\text{H}_2\text{N-R}$ Amine	Thiourea	8, 21, 97, 98
2	Amine	$\text{HO}_2\text{C-R}$ Acid	Amide	6, 25
3	Carbonate	Amine	Carbamate	57, 82
4	Thiol	Haloacetamide	Thioether	1, 32, 33, 52, 66-68
5	Thiol	Alkene	Thioether	6, 8
6	Thiol	Acrylamide	Thioether	5
7	Aminoxy	Glyoxal	Oxime	83
8	Lactone	Amine	Amide	99
9	Acid	Amine	Amide	6, 24, 37

Table 1. (Cont d)

10	Reducing Sugar	Amine/Hydride	Amine	6, 28, 100
11	Reducing Sugar	Aminooxy	Glycosyl Aminooxy	101
12	N-Carboxyanhydride	Amine	α -Amino amide	102
13	Alkyne	Aryl halide	Aryl alkyne	75-78
14	Nitrile oxide	Alkyne	Isoxazole	80
15	Alkyne	N_3 -R Azide	Triazole	79
16	Azide	Alkyne	Triazole	79
17	R-OH	MeSCH ₂ OR	RO-S-CH ₂ -OR	103
18	X = SMe, OC(NH)CCl ₃ Glycosyl Donor	HO-R Alcohol	O-Glycoside	29, 44

with the aromatic aglycone, a situation that could be well accommodated with rapidly moving fimbria. Interestingly, this family of mannosylated dendrimers showed only micromolar inhibitory potencies against ConA (1.6 μ M) and pea lectin (*Pisum sativum*) (1.8 μ M) binding to yeast mannan from *Saccharomyces cerevisiae* (66). An analogous series of mannosylated clusters (67), including replacement of D-mannoside residues by D-quinic and shikimic acids mimetics (68) has also been disclosed that target human dendritic cells (69). These observations point toward the fact that care must be exercised when testing a family of glycoclusters against a given receptor and that general conclusions should not be drawn from a limited number of inhibitory experiments since much higher potencies could be observed with different topologically clustered receptors as recently observed with multivalent lactosides (70).

D-4. Chemical Ligation Strategies

The chemical ligation of carbohydrate ligands to pre-

る。興味深いことに、このファミリーのマノシル化デンドリマーは、*Saccharomyces cerevisiae* 由来酵母マンナンへの ConA (1.6 μ M) や豆レクチン (*Pisum sativum*) (1.8 μ M) の結合をミリモルレベルでしか阻害しない(66)。D-マンノシド残基を D-キナ酸やシキミ酸ミミックで置換をしたマノシル化クラスター類縁体 (67, 68) も、標的がヒト樹状細胞であることが明らかにされた (69)。これらの実験結果は、与えられた受容体に対してグリコクラスターファミリーを試験するときには注意を払わなければならないこと、そして限られた数の阻害実験からは一般的な結論を引き出せるとは限らないことを指摘している。というのも、最近多価のラクトシドを用いた実験 (70) で見られたように、はるかに高い能力が異なった位相のクラスター化受容体を用いて観察されたからである。

D-4. ケミカルライゲーションストラテジー

糖リガンドのデンドロンやデンドリマーへの化学結合(ケミ

formed dendrons and dendrimers must be the result of efficient processes. This is particularly through with complex glycan structures. Table I summarizes the various chemical reactions most frequently used to achieve these goals. In this respect, the level of sophistication has gradually increased. From the classical direct amides formation, ligations now involve thioureas, thioethers, Schiff bases followed by reduction (reductive amination), lactones and N-carboxyanhydrides ring-opening, carbamates, acetals, cross-couplings, and dipolar cycloadditions (entry 13–15). Obviously, direct glycosidations of polyols continued to be used with various glycosyl donors (entry 18).

E. Enzymatic Assembly of Complex Glycodendrimers

Rather complex glycodendrimers can be easily prepared using a combination of chemical reactions and enzymatic glycosylation. In this approach, simple monosaccharides are initially attached to the scaffolds and the remaining sugars are enzymatically attached using the required glycosyl transferases and sugar nucleotides. Octameric dendritic N-acetylglucosamine (71) and sialyl Lewis^x (72) were thus built onto hyperbranched L-lysines using initially installed D-GlcNAc moieties chemically linked by thioether linkages (71, 72). These valuable glycodendrimers were used for the inhibition of erythrocyte binding by the family of selectins. Kobayashi *et al.* (73) also used the enzyme Endo M to transfer a large oligosaccharide portion onto pre-built glucoside clusters.

F. “Rapid” Assembly of Glycodendrimers and Glycoclusters

The chemical complexity of some of the above processes

カルライゲーション)は、能率的なプロセスの結果でなければならない。これは特に複雑な糖鎖の場合に必要な。表 I に、ゴールに到達するために最も頻繁に用いられている種々の化学反応がまとめられている。この項目において洗練さのレベルは徐々に上昇している。ライゲーションは古典的なアミド形成から始まって、今ではチオウレア、チオエステル、還元を伴うシッフ塩基(還元的アミノ化)、ラクトンと N-カルボキシアンヒドリドの開環、カーバメート、アセタール、交差結合、双極子環状付加(エントリー 13–15)を含む。明白なことではあるが、ポリオールへの直接グリコシド化も種々の糖供与体を用いて続けられている(エントリー 18)。

E. 複雑なグリコデンドリマーの酵素的構築

かなり複雑なグリコデンドリマーが、化学反応と酵素的グリコシル化の組み合わせによって容易に調製され得る。この方法では、まず単糖が格子に付加され、その他の糖は必要な糖転移酵素と糖ヌクレオチドを使って酵素的に結合される。チオエーテル結合で化学的に D-GlcNAc が挿入された高分岐 L-リジンの上で、8 量体の樹状 N-アセチルラクタサミン (71) とシアリルルイス X (72) が構築された (71, 72)。これらのグリコデンドリマーは、セレクチンファミリーによる赤血球の結合を阻害するために用いられた。Kobayashi らは、予め作られたグルコシドクラスターへ大きなオリゴ糖部分を転移させるのに EndoM 酵素を用いた (73)。

F. グリコデンドリマーとグリコクラスターの迅速な構築

上述のプロセスのいくつかは、化学的に複雑であり、多価

Fig. 8. One step covalent assembly of glycodendrimers bearing α -D-mannopyrasides using benzannulation reactions catalyzed by dicobalt octacarbonyl in refluxing dioxane.

has led several chemists to propose more rapid syntheses of glycodendrimers and glycoclusters by reactions involving single step assembly of multivalent structures. Therefore, using transition metal-catalyzed transformations, it has been possible to form “molecular asterisks” bearing 3 or 6 carbohydrate residues using alkyne-containing derivatives. Thus, dimers **33** or **34** could be benzannulated by dicobalt octacarbonyl ($\text{Co}_2(\text{CO})_8$) into hexamers **35** and **36** in good yields (Fig. 8) (74). The resulting architectures barely retained water-solubility when monosaccharides were attached but regained acceptable solubility with more complex saccharides anchored. With mannoses as ligands, these clusters can readily form cross-linked lattices with ConA (75).

Another entry into this strategy was recently featured by our group where palladium(0) catalysts could afford efficient multiple Sonogashira cross-coupling reactions between sugar alkynes such as **37** and multivalent aryl iodides (**38**, **39**) to provide lactosides **41** and **43** after sugar deprotection under Zemplén conditions (Fig. 9) (76). Tetramer **43** had interesting binding properties with galectins 1 and 3 and showed for the first time that receptor selectivity could be achieved with appropriate cluster design while keeping the sugar ligand identical (70). The behavior of analogous clusters built with the Galili antigen ($\text{Gal}\alpha(1,3)\text{-Gal}\beta$) also showed improved binding properties to human IgG (77). The above structures were constructed to afford “rigidified” linkers from which it was expected that entropic penalties would be less upon binding to their reciprocal

構造の一段階構築を含む反応系によってグリコ dendリマーやグリコクラスターをもっと迅速に合成する方法が、何人かの化学者に提案されてきた。アルキン含有誘導体を材料に用い、遷移金属触媒による変換によって3もしくは6残基の糖残基を持つ“分子アステリスク”を形成するのが可能になった。具体的には、ダイマー **33** もしくは **34** がコバルト錯体 ($\text{Co}_2(\text{CO})_8$) によってベンズアニユレート化され、好収率でヘキサマーの **35** と **36** へ導かれた (図 8)(74)。結果として得られた構築物は、単糖が結合した時には水溶性がほとんど保持されていないが、より複雑な糖が結合された時には妥当な溶解性が得られた。リガンドとしてマンノシドを用いると、これらのクラスターは ConA を持つ交差結合格子を容易に形成することができる (75)。

この戦略へのもう1つのエントリーが最近我々のグループによって特徴付けられた。この方法では、パラジウム(0)触媒が、**37** のような糖アルキンと多価のアリルハライド (**38**, **39**) の間の複雑の Sonogashira クロスカップリング反応を高率良く達成し、Zemplén 条件での糖部分の脱保護の後、ラクトシド **41** と **42** を与えた。4量体 **43** はガレクチン1と3を用いた時に興味深い結合性を持ち、糖リガンドを同一に保ちながら適当なクラスターのデザインによって受容体選択性が達成されることを初めて示した (70)。ガリリ抗原 ($\text{Gal}\alpha(1,3)\text{-Gal}\beta$) を用いて作られた類似のクラスターもヒト IgG に対して改善された結合性を示した (77)。上述の構造は構築された後に“強直な”リンカーを与え、その構造からは、互いの受容体との結合に際してエントロピー的な不利が少ないであろうということが期待された。このプロ

Fig. 9. Single step multiple assembly of lactose clusters based on the cross-coupling palladium(0) catalyzed Sonogashira reaction between propargyl lactosides and polyvalent aryl iodides of varied positional isomers.

receptors. The chemical efficiency of this process was recently adapted to per-alkynylated β -cyclodextrins (78). Additionally, chemical ligations using copper(I)-catalyzed regioselective 1,3-dipolar cycloadditions between azides and alkynes have also been successfully put into practice with β -cyclodextrins and other scaffolds (79, 80).

G. “Smart” Glycodendrimers

Several latest methodologies have been added to the increasing arsenal of useful glycodendrimer preparation. Amongst these, those involving combinatorial syntheses (81-83) of cyclic peptide scaffolds of varied size and rigidity have addressed an important issue, that is, in many cases, the structural 3D-identities (topology) and the functional valencies of the naturally occurring receptors are, in most cases simply unknown. Examples include cyclic peptides **29-31** (Fig. 5). A practical case of the later situation is found with the collectins which may exist as either trimer, 12-mer (conglutinin), or hexamer of trimers (18-mer, mannose binding proteins (MBP) (84).

A conceptually innovative approach has been recently developed wherein glycoclusters having labile functionalities that may rapidly interconvert in solutions (disulfides, hydrazones, imines, metal coordination, etc.) are left to equilibrate to select one another for the best fit to the binding site of interest. This strategy, coined “dynamic combinatorial chemistry” (DCC) was used to generate carbohydrate libraries and mannoside ligands were identified that bound ConA (85). The process allows self-assembly and selected recombination into what was termed *adaptive chemistry*. More recently, acyl hydrazones were employed to generate oligotopic carbohydrate library of 474 different species from which, a trivalent tris-mannoside was selected for ConA (86). A variant of this approach relies on π -stacking of a family of aromatic glycodendrimers which has been applied to xenoantigens (87). The dendrimers were shown to reduce the anti- α Gal (Galili antigen) IgM to 20% of their initial values in sera of cynomolgus monkeys. Moreover, the cytolytic activity of the sera was completely abolished, thus demonstrating once again, the potential therapeutic values of glycodendrimers.

As mentioned above, transition metal coordination could be advantageously manipulated to provide self-assembly of glycoclusters. Pioneering work by Sakai *et al.* (88, 89) used the powerful combination of GalNAc-derived bipyridine units that were coordinated into rapidly equilibrating Λ -fac/ Λ -mer and Δ -fac/ Δ -mer stereoisomers. The plant lectins from *Glycin max* and *Vicia villosa* B₄ selected the Λ -fac and the Δ -mer isomers, respectively. Roy and Kim further explored the above strategy to generate bipyridine-containing glycodendrimers that were self-assembled with either iron(II) or copper(II) ions. A strong multivalent effect was noticed. Interestingly, the copper(II) clusters (8-mer) formed a regular ‘ladder-type’ structure (**44**) (Fig. 10) and the best candidate showed a 259-fold increased inhibitory

セスの化学的有効性は、最近、完全アルキニル化 β -シクロデキストリンに応用された(78)。更にアジドとアルキンの間の銅(I)触媒による1,3-双極子環状付加によるケミカルライゲーションも β -シクロデキストリンやその他の基本格子を用いて首尾良く実行されている(79,80)。

G. “スマート” グリコデンドリマー

最近の方法論がいくつか、有用なグリコデンドリマーの調製という拡大しつつある“兵器庫”(arsenal)に加えられてきた。これらの中で、多様な大きさと堅固さの環状ペプチド格子のコンビナトリアル合成を含むものが重要な方法論となっている。多くの場合において、天然に存在している受容体の構造的な3次元同一性(位相)と官能基の価数はほとんど知られていない。これらの例として環状ペプチド **29-31** (図5)が含まれる。最近、実際的な例が3量体、12量体(コングルチニン)、もしくは3量体の6量体(18量体マンノース結合タンパク質(MBP)として存在するコレクチンを用いて見いだされている(84)。概念的に革新的な方法が最近開発された。その方法では、溶液中で素早く変換する官能基(ジスルフィド、ヒドラゾン、イミン、金属配位など)を持つグリコクラスターが平衡状態になり、興味のある活性部位に最も良く適合するために、互いに選択するというものである。糖鎖ライブラリーを作るために、“ダイナミックコンビナトリアルケミストリー”DCCと名付けられているこの新しい戦略が用いられ、ConAに結合するマンノシドリガンドが同定された(85)。このプロセスは自己組織化(self-assembly)と選択再組み換え(selected recombination)をアダプティブケミストリーと名付けられた分野に組み入れる。より最近になって、474の分子種からなるオリゴトピックな糖鎖ライブラリーがアシルヒドラゾンを使って作り出され、その中からConAのリガンドとして3価のトリマンノシドが選択された(86)。このアプローチの変法が芳香族のグリコデンドリマーファミリーの π -スタッキングに基づいて考案されており、異種抗原に応用されている(87)。得られたデンドリマーがシノモルガスモンキーの血清における抗 α Gal(ガリリ抗原)IgMの抗体価を初期値の20%に減少させることが示された。更に血清の細胞阻害活性が完全に消失し、グリコデンドリマーの治療剤としての価値が高いことが改めて示された。上述したように、遷移金属の配位はグリコクラスターの自己組織体を与えるために好都合に操作することができる。Sakaiらによる先駆的研究(88,89)ではGalNAc由来のビピリジンユニットの強力な組み合わせが用いられ、これらの化合物は配位によって Λ -fac/ Λ -merと Δ -fac/ Δ -mer立体異性の速い平衡に達した。*Glycin max*と*Vicia villosa* B4由来の植物レクチンは、 Λ -facと Λ -merをそれぞれ選択した。RoyとKimは上述の戦略を鉄(II)か銅(II)のどちらかで自己組織化するビピリジン含有デンドリマーを作り出すために、更に応用し、強い多価効果が認められた。興味深いことに、銅(II)クラスター(8量体)は通常の“ハシゴ型”構造(**44**)(図10)を形成し、最良のものは、アジアログルコホリンとパーオキシダーゼ標識の*Vicia cilliosa*に対するELLAフォーマットで試験した時、259倍の阻

Fig. 10. Structure 44 bearing eight α -GalNAc residues (Tn antigen) prepared by the single step self-assembly of tetrameric bipyridine core using copper(II) coordination. The molecule forms red octahedral 12-mer complex when iron(II) species are used for coordination.

Fig. 11. Lactoside clusters showing selectivity against galectins 1, 3, and 5 (45) versus the hepatic asialoglycoprotein receptors (46).

potencies when tested in an ELLA format against asialoglycophorin and horseradish peroxidase-labeled *Vicia villosa* (90, 91). The group of Kobayashi from Nagoya (92, 93) nicely illustrated that analogous metalloglycoclusters built around ruthenium(II) induced high affinity as well as strong luminescence. Furthermore, they showed that complex-type disialo oligosaccharides, prepared chemoenzymatically by an endo-glycosidase (Endo M), exhibited strong luminescence that could be quenched upon binding to influenza virus particles, thus furnishing novel biosensors (73). The clusters have IC_{50} of 8.4 μ M.

A nice combination of glycodendrimer strategy coupled to glycomimetic design by SAR using 2-aminothiazoline analog of improved binding affinity was recently disclosed by Vrasida *et al.* (94) who showed that the rigidified tetrameric lactoside **45** (Fig. 11) had galectin 3 binding preference over that of galectins 1 or 5. Indeed, **45** bound with an affinity enhancement of almost 4300-fold when compared to lactose, while a factor of only 143-fold was measured against galectins 1 or 5. This observation is particularly relevant in light of the role of galectin 3 in promoting metastasis and angiogenesis (95). Additionally, the information is most valuable if one consider to exploit subtle affinity differences between lectin family. Hence, lactoside trimer **46**, who happened to be one of the best ligand against the asialoglycoprotein receptor (AGPR) had a much weaker affinity toward the galectins (96).

H. Conclusions

A great deal of creativity and ingenuity has gone into the design of novel glycotope architectures of varied biological interests. These promising biomacromolecules and smaller clusters are now emerging as potential therapeutic agents and biosensors. They have clearly helped better understand multivalent carbohydrate protein interactions at the macroscopic levels, something that was barely reachable with heterogeneous and immunogenic glycoproteins. With their high level of sophistication, it is now possible to conceive glycotopes with homotopic receptor selectivity that will be based on both valencies and tridimensional structures. Moreover, they are emerging as drug targeting, transfecting, and imaging tools for specific cell types and tissues. Recent observations also point toward their utilization for cell signaling, apoptosis, and as immunoregulators. Several groups are actively involved with their utilization as carbohydrate-based vaccines. The future activity in this field will surely be focusing on scaffold/valency optimizations together with refinements in glycomimetics of intrinsically improved binding affinities.

Acknowledgements

I am indebted to all my actual and past coworkers whose dedication to this rapidly evolving field has permitted such task over the last 10 years. Their list of publications appears through-

害活性の増強を示した (90,91)。Nagoya の Kobayashi のグループは、ルテニウム (11) の回りに組み立てられた類似のメタログリコクラスターが強い発光とともに高い親和性を誘導することを見事に示した (92,93)。彼らは、更に、エンドグリコシダーゼ (EndoM) による化学酵素法で調製した複合型のジシアロオリゴ糖が強い発光を示し、それがインフルエンザ粒子との結合により消失することを示した。これにより新規なバイオセンサーが得られた (73)。このクラスターは 8.4 μ M の IC_{50} を持っている。改良された結合親和性を有する 2-アミノチアゾリン類縁体を用いる、SAR (構造活性相関) によるグリコミメティックとグリコ dendリマー戦略との見事な組み合わせが Vrasida らによって示された (94)。彼らは、強固にされた 4 量体ラクトシド **45** (図 11) がガレクチン 1 や 5 に比べてガレクチン 3 に優先して結合することを示した。実際、**45** はラクトースに比べて約 4300 倍の親和性でガレクチン 3 に結合し、ガレクチン 1 や 5 に対してはたった 143 倍の増強が測定されただけである。この観察は、転移と発生の開始におけるガレクチン 3 の役割を明らかにするのに特に関連が深い (95)。更に、誰かがガレクチンファミリーの間の微細な親和性の違いを検討する時には、この情報は非常に価値のあるものになるだろう。アシアログリコプロテイン受容体 (AGPR) に対して最も良いリガンドの 1 つであったラクトシド 3 量体 **46** は、ガレクチン類に対してはるかに弱い親和性しか持たなかった (96)。

H. 結 論

膨大な量の創意工夫が、多様な生物学的興味を持つ新規なグリコトープのデザインに捧げられてきた。将来有望なこれらの生物高分子及び小さなクラスターは、今、有力な治療剤やバイオセンサーとして注目を集め始めている。これは、多価の糖とタンパク質の相互作用を顕微鏡レベルでよりよく理解するために非常に役立っており、現在、異種で免疫原性のある糖タンパク質を用いて、ある程度のものがやっと到達可能になっている。分子が高度に洗練され、今では価数と三次元構造の両方に基づいてホモトピックな受容体選択性を持つグライコトープを想像することが可能になった。更に、これらの分子は薬物送達、形質転換、特定の細胞や組織のイメージングのためのツールとして注目され始めている。最近の観察から、これら分子が細胞情報伝達、アポトーシス、免疫調節にも利用可能であることが指摘されている。糖に基づいたワクチンとしての利用に積極的に関与しているグループもある。この分野における将来の研究は、本質的に改善された結合親和性を持つグリコミメティクスにおける洗練とともに、基本格子/価数の最適化に注がれるのは確かであろう。

謝 辞

急速な進歩を遂げている分野で、この 10 年間で素晴らしい業績を残すために献身的な努力をしてくれた現在及び過去の全ての仲間の皆様に深く感謝いたします。彼らの論文のリストは

out the manuscript. I am thankful to my collaborators: Prof. C. F. Brewer (USA), H.-J. Gabius (Germany), Y. C. Lee (USA), F. Hernández-Mateo (Spain), F. Santoyo-González (Spain), and K. Rittenhouse-Olsen (USA), for their commitments and interest in this project. Finally, the financial contribution of the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) is also greatly acknowledged.

本稿の中に示されています。また以下の共同研究者にもこのプロジェクトへの関与、興味に感謝いたします：C.F. Brewer (USA)、H.-J. Gabius (Germany)、Y.C. Lee (USA)、F. Hernández-Mateo (Spain)、F. Santoyo-González (Spain)、K. Rittenhouse-Olsen (USA)。最後に Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada に経済的支援をいただいたことに深く感謝いたします。

(岐阜大学農学部 石田 秀治 記)

References

1. (a) Roy, R., Zanini, D., Meunier, S. J., and Romanowska, A. (1993) *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1869–1872; (b) Roy, R., Zanini, D., Meunier, S. J., and Romanowska, A. (1994) *ACS Symp. Ser.* **560**, 104–119
2. Roy, R. (1996) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **8**, 79–99
3. Roy, R. (1998) *The Chemistry of Neoglycoconjugates*. In *Carbohydrate Chemistry* (Boons, G.-J. ed.) pp.243–321, Blackie Academic & Professional, London, UK
4. (a) Bovin, N. V., and Gabius, H.-J. (1995) *Chem. Soc. Rev.* **24**, 413–421; (b) Bovin, N. V. (1998) *Glycoconjugate J.* **15**, 431–446
5. (a) Roy, R. (1996) *Polymer News* **21**, 226–232; (b) Roy, R. (1997) *Topics Curr. Chem.* **187**, 241–276
6. Turnbull, W.B., and Stoddart, J. F. (2002) *Rev. Molecul. Biotechnol.* **90**, 231–255
7. (a) Roy, R. (1999) *Carbohydr. Eur.* **27**, 34–41; (b) Zanini, D., and Roy, R. (1998) *Architectonic Neoglycoconjugates: Effects of Shapes and Valencies in Multiple Carbohydrate-Protein Interactions*. In *Carbohydrate Mimics, Concepts and Methods* (Chapleur, Y. ed.) pp.385–415, Wiley-VCH, Weinheim; (c) Roy, R. (1996) *Sialoside Mimetics and Conjugates as Antiinflammatory Agents and Inhibitors of Flu Virus Infections*. In *Carbohydrates in Drug Design* (Witczak, Z. J., and Nieforth, K. A. eds.) pp.83–135, Marcel Dekker, NY; (d) Roy, R. (1996) *Design and Synthesis of Glycoconjugates*. In *Modern Methods in Carbohydrate Synthesis* (Khan, S. H., and O'Neil, R. A. eds.) pp. 378–402, Harwood Academic, Amsterdam; (e) Roy, R. (2001) *Designing Novel Multivalent Glycotools for Biochemical Investigations Related to Sialic Acid*. In *Glycochemistry: Principles, Synthesis, and Applications* (Wang, P. G., and Bertozzi, C. R. eds.) pp.277–305, Marcel Dekker, NY; (f) Roy, R. (2001) *Dendritic and Hyperbranched Glycoconjugates as Biomedical Anti-Adhesion Agents*. In *Dendrimers and Other Dendritic Polymers* (Fréchet, J.M.J., and Tomalia, D.A. eds.) pp.361–385, John Wiley & Sons, NY
8. Röckendorf, N., and Lindhorst, T.K. (2001) *Topics Curr. Chem.* **217**, 201–238
9. Lundquist, J.J., and Toone, E.J. (2002) *Chem. Rev.* **102**, 555–578
10. Roy, R. (1996) *Curr. Opin. Struct. Biol.* **6**, 692–702
11. Lindhorst, T.K. (2002) *Topics Curr. Chem.* **218**, 201–235
12. Bezouska, K. (2002) *Rev. Molecul. Biotechnol.* **90**, 269–290
13. Cloninger, M.J. (2002) *Curr. Opin. Chem. Biol.* **6**, 742–748
14. (a) Bosman, A. W., Janssen, H.M., and Meijer, E.W. (1999) *Chem. Rev.* **99**, 1665–1688; (b) Fischer, M., and Vögtle, F. (1999) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **38**, 884–905; (c) Stiriba, S.-E., Frey, H., Haag, R. (2002) *Angew. Chem. Int. ed.* **41**, 1329–1334
15. Lee, Y.C., and Lee, R.T. (1995) *Acc. Chem. Res.* **28**, 321–327
16. Kiessling, L.L., and Pohl, N.L. (1996) *Chem. Biol.* **3**, 71–77
17. Mammen, M., Chio, S.-K., and Whitesides, G.M. (1998) *Angew. Chem. Int. Ed.* **37**, 2755–2794
18. Bewley, C. A., and Otero-Quintero, S. (2001) *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 3892–3902
19. Botos, I., O'Keefe, B. R., Shenoy, S. R., Cartner, L. K., Ratner, D. M., Seeberger, P. H., Boyd, M. R., and Wlodawer, A. (2002) *J. Biol. Chem.* **277**, 34336–34342
20. (a) Brewer, C. F. (1996) *ChemTracts, Biochem. Mol. Biol.* **6**, 165–179; (b) Brewer, C. F. (1997) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **9**, 155–165
21. Biessen, E.A.L., Noorman, F., van Teijlingen, M.E., Kuiper, J., Barrett-Bergshoeff, M., Bijsterbosch, M. K., Rijken, D. C., van Berkel, and T.J.C. (1996) *J. Biol. Chem.* **271**, 28024–28030
22. Dam, T.K., Roy, R., Pagé, D., and Brewer, C.F. (2002) *Biochemistry* **41**, 1351–1358
23. Hawker, C. J., and Fréchet, J.M.J. (1990) *J. Am. Chem. Soc.* **112**, 7638–7647
24. Ashton, P. R., Boyd, S. E., Brown, C. L., Jayaraman, N., Nepogodiev, S. A., and Stoddart, J. F. (1996) *Chem. Eur. J.* **2**, 1115–1128
25. Arce, E., Nieto, P. M., Díaz, V., García Castro, R., Bernad, A., and Rojo, J. (2003) *Bioconjugate Chem.* **14**, 817–823
26. Kantchev, A. B., and Parquette, J. R. (1999) *Tetrahedron Lett.* **40**, 8049–8053
27. Lee, Y.C. (1978) *Carbohydr. Res.* **67**, 509–514
28. Ashton, P.R., Boyd, S.E., Brown, C.L., Nepogodiev, S.A., Meijer, E.W., Peerlings, H.W.I., and Stoddart, J.F. (1997) *Chem. Eur. J.* **3**, 874–983
29. (a) Langer, P., Ince, S.J., and Ley, S.V. (1998) *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1**, 3913–3915; (b) Hanessian, S., Qiu, D., Prabhanjan, H., Reddy, G. V., and Lou, B. (1996) *Can. J. Chem.* **74**, 1738–1747
30. Hansen, H.C., Haattaja, S., Finne, J., and Magnusson, G. (1997) *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 6974–6979
31. Lindhorst, T.K., and Kieburg, C. (1996) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **35**, 1953–1956
32. Zanini, D., and Roy, R. (1997) *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 2088–2095
33. Llinares, M., and Roy, R. (1997) *Chem. Commun.* 2119–2120
34. Ashton, P. R., Hounsell, E. F., Jayaraman, N., Nilsen, T. M., Spencer, N., Stoddart, J.F., and Young, M. (1998) *J. Org. Chem.* **63**, 3429–3437
35. Roy, R., Baek, M.-G., and Rittenhouse-Olsen, K. (2001) *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 1809–1816
36. Baek, M.-G., and Roy, R. (2001) *Bioorg. Med. Chem.* **9**, 3005–3011

37. Baek, M.-G., and Roy, R. (2002) *Bioorg. Med. Chem.* **10**, 11–17
38. Roy, R., and Baek, M.-G. (2002) *Rev. Mol. Biotechnol.* **90**, 291–309
39. Dimick, S. M., Powell, S. C., McMahon, S. A., Moothoo, D.N., Naismith, J.H., and Toone, E.J. (1999) *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 10286–10296
40. André, S., Pieters, R.J., Vrasidas, I., Kalner, H., Kuwabara, I., Liu, F.-T., Liskamp, R.M.J., and Gabius, H.-J. (2001) *ChemBiochem* **2**, 822–830
41. Jayaraman, N., Nepogodiev, S.A., and Stoddart, J.F. (1997) *Chem. Eur. J.* **3**, 1193–1199
42. Meunier, S.J., Wu, Q., Wang, S.N., and Roy, R. (1997) *Can. J. Chem.* **75**, 1472–1482
43. Barberá, J., Garcés, A. C., Jayaraman, N., Omenat, A., Serano, J. L., and Stoddart, J. F. (2001) *Adv. Mater.* **13**, 175–180
44. Marra, A., Scherrmann, M.-C., Dondoni, A., Casnati, A., Minari, P., and Ungaro, R. (1994) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **33**, 2479–2481
45. (a) Meunier, S. J., and Roy, R. (1996) *Tetrahedron Lett.* **37**, 5469–5472; (b) Roy, R., and Kim, J. M. (1999) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **38**, 369–372
46. Casnati, A., Sansone, F., and Ungaro, R. (2003) *Acc. Chem. Res.* **36**, 246–254
47. (a) Aoyama, Y., Kanamori, T., Nakai, T., Sasaki, T., Horiuchi, S., Sando, S., and Niidome, T. (2003) *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 3455–3457; (b) Hayashida, O., Mizuki, K., Akagi, K., Matsuo, A., Kanamori, T., Nakai, T., Sando, S., and Aoyama, Y. (2003) *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 594–601
48. Ballard, R., Colonna, B., Gandolfi, M. T., Kalovidouris, S. A., Orzel, L., Raymo, F. M., Stoddart, J. F. (2003) *Eur. J. Org. Chem.* 288–294
49. Fulton, D. A., and Stoddart, J. F. (2001) *Bioconjugate Chem.* **12**, 655–672
50. Mellet, C. O., Defaye, J., and García Fernández, J. M. (2002) *Chem. Eur. J.* **8**, 1982–1990
51. García-López, J.J., Hernández-Mateo, F., Isac-García, J., Kim, J. M., Roy, R., and Santoyo-González, F. (1999) *J. Org. Chem.* **64**, 522–531
52. Ortega-Caballero, F., Giménez-Martínez, J.J., García-Fuentes, L., Ortiz-Salmerón, E., Santoyo-González, F., Vargas-Berenguel, A. (2001) *J. Org. Chem.* **66**, 7786–7795
53. Kieburg, C., Dubber, M., and Lindhorst, T.K. (1997) *Synlett.* 1147–1449
54. (a) Dubber, M., and Lindhorst, T. K. (2000) *J. Org. Chem.* **65**, 5275–5281; (b) Dubber, M., and Lindhorst, T. K. (2001) *Org. Lett.* **3**, 4019–4022
55. König, B., Fricke, T., Wabmann, A., Krallmann-Wenzel, U., and Lindhorst, T. K. (1998) *Tetrahedron Lett.* **39**, 2307–2310
56. Fan, E., Zhang, Z., Minke, W. E., Hou, Z., Verlinde, C. L. M. J., and Hol, W. G. J. (2000) *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 2663–2664
57. Kitov, P. I., Sadowska, J. M., Mulvey, G., Armstrong, G.D., Ling, H., Pannu, N.S., Read, R.J., and Bundle, D.R. (2000) *Nature* **403**, 669–672
58. Kitov, P. I., Shimizu, H., Homans, S. W., and Bundle, D.R. (2003) *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 3284–3294
59. Mulvey, G.L., Marcato P., Kitov, P. I., Sadowska, J.M., Bundle, D.R., and Armstrong, G.D. (2003) *J. Infect. Dis.* **187**, 640–649
60. Reuter, J.D., Myc, A., Hayes, M.M., Gan, Z., Roy, R., Yin, D.Q.R., Piehler, L.T., Esfand, R., Tomalia, D.A., Baker, Jr., J.R. (1999) *Bioconjugate Chem.* **10**, 271–278
61. Woller, E. K., Walter, E.D., Morgan, J.R., Singel, D.J., and Cloninger, M. J. (2003) *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 8820–8826
62. Tomalia, D. A., Brothers, II, H. M., Piehler, L. T., Durst, H. D., and Swanson, D. R. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 5081–5087
63. Denkewalter, R. G., Kolc, J., and Lukasavage, W. J. (1983) *U. S. Pat.* 4,410,688
64. Tam, J. P. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 5409–5413
65. Nagahori, N., Lee, R. T., Nishimura, S.-I., Pagé, D., Roy, R., and Lee, Y.C. (2002) *ChemBioChem* **3**, 836–844
66. Pagé, D., Zanini, D., and Roy, R. (1996) *Bioorg. Med. Chem.* **4**, 1949–1961
67. Grandjean, C., Rommens, C., Gras-Masse, H., Melnyk, O. (2000) *Angew. Chem. Int. Ed.* **39**, 1068–1072
68. (a) Grandjean, C., Rommers, C., Gras-Masse, and H., Melnyk, O. (1999) *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2967–2975; (b) Angyalosi, G., Grandjean, C., Lamirand, M., Auriault, C., Gras-Masse, and H., Melnyk, O. (2002) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **12**, 2723–2727
69. Avrameas, A., McIlroy, D., Hosmalin, A., Autran, B., Debré, P., Monsigny, M., Roche, A. C., and Midoux, P. (1996) *Eur. J. Immunol.* **26**, 394–398
70. André, S., Cejas Ortega, P. J., Alamino Perez, M., Roy, R., and Gabius, H.-J. (1999) *Glycobiology* **9**, 1253–1261
71. Zanini, D., and Roy, R. (1997) *Bioconjugate Chem.* **8**, 187–192
72. Palcic, M. M., Li, H., Zanini, D., Bhella, R. S., and Roy, R. (1998) *Carbohydr. Res.* **305**, 433–442
73. Kojima, S., Hasegawa, T., Yonemura, T., Sasaki, K., Yamamoto, K., Makimura, Y., Takahashi, T., Suzuki, T., Suzuki, Y., and Kobayashi, K. (2003) *Chem. Commun.* 1250–1251
74. Roy, R., Das, S. K., Dominique, R., Trono, M. C., Hernández-Mateo, F., and Santoyo-González, F. (1999) *Pure Appl. Chem.* **71**, 565–571
75. Das, S. K., Trono, M. C., and Roy, R. (2003) *Methods Enzymol.* **362**, 3–17
76. Liu, B., and Roy, R. (2003) *Methods Enzymol.* **362**, 226–239
77. Liu, B., and Roy, R. (2002) *Chem. Commun.* 594–595
78. Ortega-Caballero, F., Giménez-Martínez, J. J., and Vargas-Berenguel, A. (2003) *Org. Letters* **5**, 2389–2392
79. Pérez-Balderas, F., Ortega-Muñoz, M., Morales-Sanfrutos, J., Hernández-Mateo, F., Calvo-Flores, F. G., Calvo-Asín, J. A., Isac-García, J., and Santoyo-González, F. (2003) *Org. Lett.* **5**, 1951–1954
80. Calvo-Flores, F. G., Isac-García, J., Hernández-Mateo, F., Pérez-Balderas, F., Calvo-Asín, J. A., Sánchez-Vaquero, E., and Santoyo-González, F. (2000) *Org. Lett.* **2**, 2499–2502
81. Burke, S. D., Zhao, Q., Schuster, M. C., and Kiessling, L. L. (2000) *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 4518–4519
82. Wittmann, V., and Seeberger S. (2000) *Angew. Chem. Int. Ed.* **39**, 4348–4352
83. Renaudet, O., and Dumy, P. (2003) *Org. Lett.* **5**, 243–246
84. Kawasaki, T. (1999) *Biochim. Biophys. Acta* **1473**, 186–195
85. Ramström, O., and Lehn, J.-M. (2000) *ChemBioChem* **1**, 41–48
86. Ramström, O., Bunyapaiboonsri, T., Lohmann, S., and Lehn, J.-M. (2002) *Biochem Biophys Acta* **1572**, 178–186
87. Thoma, G., Katopodis, A. G., Voelcker, N., Duthaler, R. O., and Streiff, M. B. (2002) *Angew. Chem. Int. Ed.* **41**, 3195–3198
88. Sakai, S., Shigemasa, Y., and Sasaki, T. (1997) *Tetrahedron Lett.* **38**, 8145–8148
89. Sakai, S., Shigemasa, Y., and Sasaki, T. (1999) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **72**, 1313–1319
90. Roy, R., and Kim, J. M. (2003) *Tetrahedron* **59**, 3881–3893
91. Roy, R., and Kim, J. M. (1997) *Polym. Mater. Sci. Eng.* **77**, 195–196

92. Hasegawa, T., Yonemura, T., Matsuura, K., and Kobayashi, K. (2001) *Tetrahedron Lett.* **42**, 3989–3992
93. Hasegawa, T., Yonemura, T., Matsuura, K., and Kobayashi, K. (2003) *Bioconjugate Chem.* **14**, 728–737
94. Vrasidas, I., André, S., Valentini, P., Böck, C., Lensch, M., Kaltner, H., Liskamp, R. M. J., Gabius, H.-J., and Pieters, R. J. (2003) *Org. Biomol. Chem.* **1**, 803–810
95. Nangia-Makker, P., Conklin, J., Hogan, V., and Raz, A. (2002) *Trends Mol. Med.* **8**, 187–192
96. André, S., Frisch, B., Kaltner, H., Desouza, D. L., Schubert, F., and Gabius, H.-J. (2000) *Pharm. Res.* **17**, 985–990
97. Pagé, D., and Roy, R. (1997) *Bioconjugate Chem.* **8**, 714–723
98. Zanini, D., and Roy, R. (1998) *J. Org. Chem.* **63**, 3486–3491
99. Aoi, K., Itoh, K., and Okada, M. (1995) *Macromolecules* **28**, 5391–5393
100. Kalouvidouris, S. A., Turnbull, W. B., and Stoddart, J. F. (2002) *Can. J. Chem.* **80**, 983–991
101. Mitchell, J. P., Roberts, K. D., Langley, J., Koentgen, F., and Lambert, J. N. (1999) *Biorg. Med. Chem. Lett.* **9**, 2785–2788
102. Aoi, K., Tsutsumiuchi, K., Yamamoto, A., and Okada, M. (1997) *Tetrahedron* **53**, 15415–15427
103. Choudhury, A. K., Tao, Z.-F., and Hecht, S. M. (2001) *Org. Lett.* **3**, 1291–1294

Received on August 3, 2003, accepted on August 26, 2003

Profile of the Author

René Roy, Professor in the Department of Chemistry of the Université du Québec à Montréal (UQAM), is the recipient of the 2003 Melville L. Wolfrom Award for his outstanding contributions in the design of novel neoglycoconjugates and glycodendrimers. He is a native of Montreal where he received his education. He obtained his Ph. D. in chemistry in 1980 from the University of Montreal under the supervision of Prof. S. Hanessian who also received the Award in 1993 and who was a Ph. D. student under M. L. Wolfrom. Prof. Roy joined the Division of the Biological Sciences of the National Research Council in Ottawa where he worked from 1980 to 1985 as a Research Fellow. He has contributed to the design of new bacterial polysaccharide vaccines and he is the co-inventor of the recently commercialized *Neisseria meningitidis* vaccine. He then joined the Department of Chemistry of the University of Ottawa, Ontario, where he worked until december 2002 before returning to his home town in Montreal. In 1997, he has received the Hoffmann-LaRoche award for his distinguished contribution to medicinal chemistry, in 2001 the Ottawa Life Science Council Award and the Paul Harris Fellowship from the Rotary Int. for his work on *H. influenza* vaccine with Cuban scientists, and the NRC- Royalty sharing award for meningitis C vaccine. Prof. Roy has used modern synthetic chemistry to tackle problems associated with the synthesis and applications of neoglycoconjugates and polymers. He developed the concept of active and latent glycosidation methods applied to thioglycosides. His designed of novel carbohydrate architectures, glycodendrimers, has paved the way for a better understanding of multivalent carbohydrate protein interactions. He has recently contributed to the first semi-synthetic bacterial polysaccharide vaccine against *H. influenza* that was shown successful in infants. The clinical trials were done in Cuba and vaccines has been approved on Nov.6, 2003.