



УДК 547.963.1.02

ГЛИКОЗИЛАМИНЫ ОЛИГОСАХАРИДОВ N-ГЛИКОПРОТЕИНОВ И ИХ НОВЫЕ N-АЦИЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ

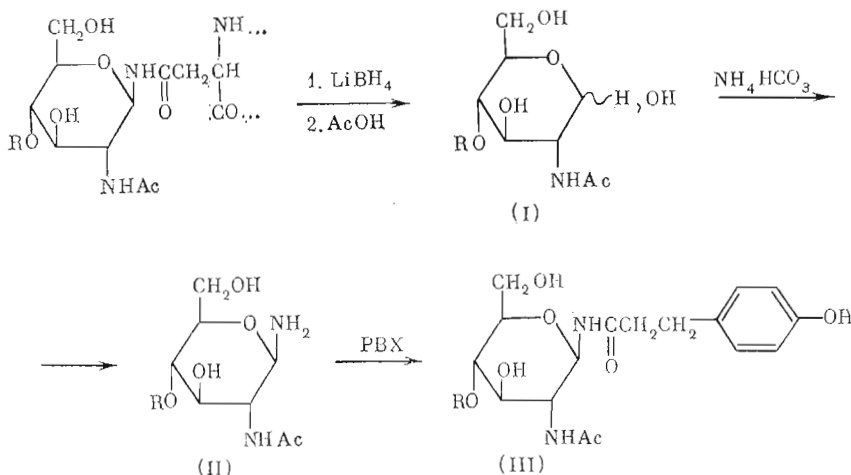
Искарев В. Е., Лихошерстов Л. М., Селетов Н. Ф.*,
Деревицкая В. А., Кочетков П. К.

*Институт органической химии им. П. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва;*

** Научно-исследовательский институт экспериментальной
кардиологии Всесоюзного кардиологического научного центра
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Модификация восстанавливающего конца олигосахаридов N-гликопротеинов широко используется для введения радиоактивной или флуоресцентной метки путем восстановления NaB^3H_4 или восстановительного аминирования, например с 2-аминониридином [1]. Однако при этом GlcNAc , находящийся на восстанавливающем конце олигосахарида, превращается в ациклический полиол или N-замещенный гликамин, что не позволяет использовать данные производные в некоторых биохимических исследованиях, например как субстраты для эндо- β -N-ацетилглюкозамидаз.

Настоящая статья посвящена разработке метода получения β -гликозиламидных производных олигосахаридов, моделирующих узел углеводпептидной связи N-гликопротеинов по схеме

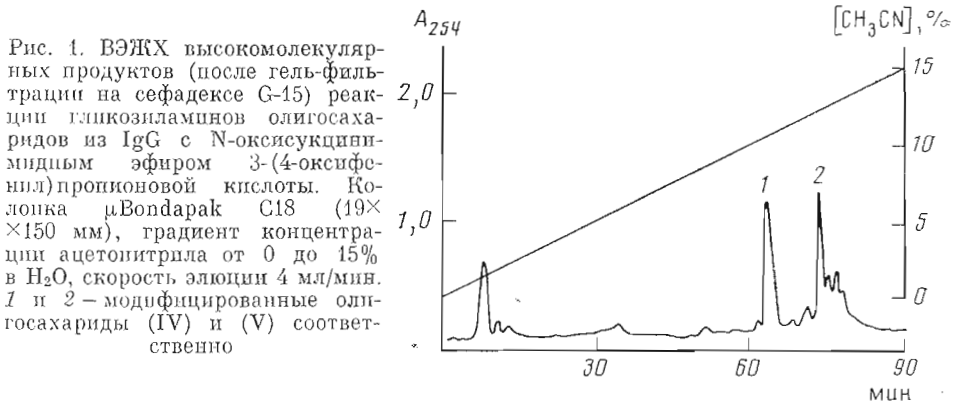


где R — олигосахарид.

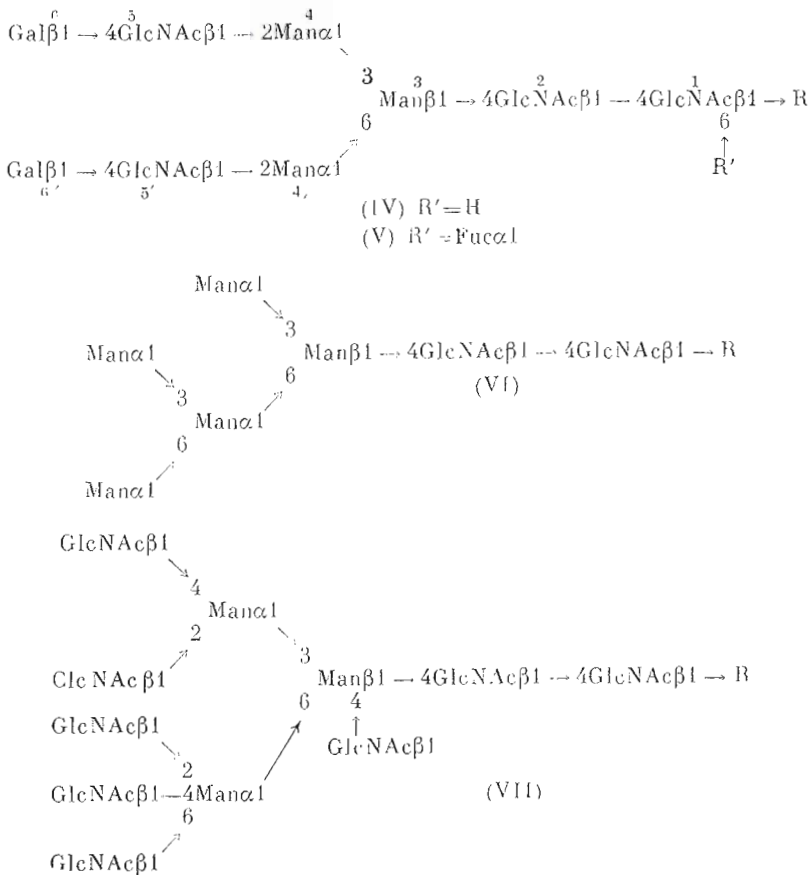
В качестве источников олигосахаридов (I) использовали IgG, OBM, РФ-ГП и ОВА.

IgG выделяли из γ -глобулиновой фракции плазмы крови человека с помощью ВЭЖХ на колонке Protein PAK DEAE-5PW. ОВА, OBM и РФ-ГП из белка куриного яйца получали по методу [2]. Отщепление и выделение олигосахаридов (I) проводили как описано ранее [3]. Гликозиламины олигосахаридов (II) синтезировали по методу, ранее описанному для моно- и дисахаридов [4]. Гликозиламины (II) с выходом ~75%

Сокращения: OBM — овомукоид, ОВА — овальбумин, РФ-ГП — рибофлавинсвязывающий гликопротеин, PBX — N-оксисукцинимидный эфир 3-(4-гидроксифенил)пропионовой кислоты (реагент Болтона — Хантера).



получали по этому методу с тем отличием, что после удаления NH_4HCO_3 многократным упариванием с H_2O в вакууме их адсорбировали на дауэксе 50W \times 2 (H^+), элюировали 0,5 M NH_4OH , упаривали досуха и сразу вводили в реакцию. 100 мг гликозиламино (II) из IgG, OBM, OBA или РФ-ГП растворяли в 0,6 мл 80% водного MeOH, прибавляли раствор 30 мг РБХ в 0,2 мл диоксана, а через 1 ч перемешивания при 20 $^\circ$ C – еще 15 мг РБХ и оставляли на 16 ч. Модифицированные олигосахариды (III) отделяли от низкомолекулярных продуктов на колонке с сефадексом С-15 ($1,5 \times 90$ см) в 20% водном MeOH и затем разделяли с помощью ВЭЖХ. На рис. 1 представлена в качестве примера ВЭЖХ олигосахаридов (III) из IgG. Выделены следующие индивидуальные производные: (IV) и (V) из IgG, (VI) из OBA, (VII) из OBM и (VIII) из РФ-ГП.



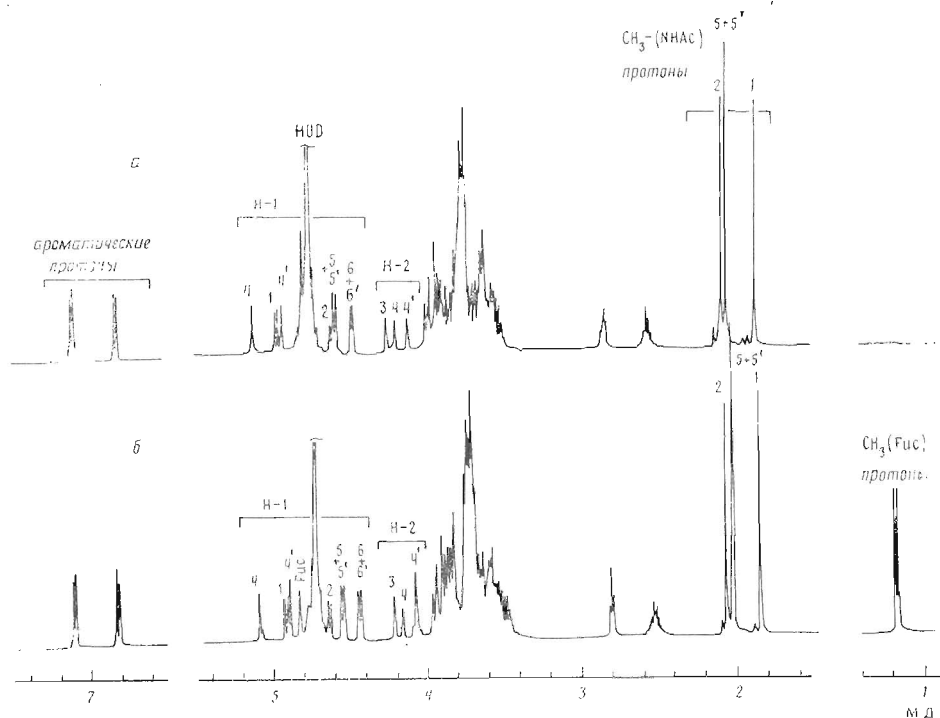
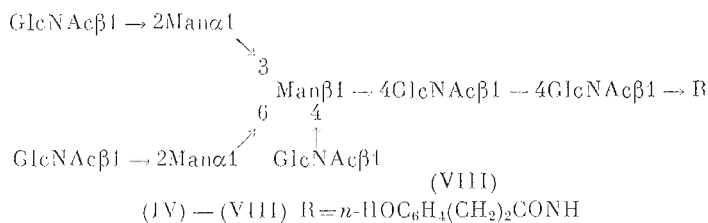


Рис. 2. Спектры ^1H -ЯМР (500 МГц, 27°C) модифицированных олигосахаридов (IV) (а) и (V) (б). 1-6 — нумерация моносахаридных остатков, как показано в формуле (IV)



Структура производных (IV) — (VIII) подтверждена ^1H -ЯМР, измеренным при 500 МГц. Отнесение сигналов в спектрах соединений (IV) — (VIII) произведено по литературным данным [5, 6]. На рис. 2 представлены в качестве примера спектры соединений (IV) и (V).

Полученные модифицированные олигосахариды (IV) — (VIII) после введения радионуклида ^{125}I [7] могут быть использованы для изучения точкой углеводной специфичности лектинов на субмикроровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hase S., Ikenaka T., Matsushima Y. // *J. Biochem.* 1979. V. 85. № 4. P. 989—994.
2. Пискарев В. Е., Галенко Е. Л., Лухошерстов Л. М., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К. // *Биоорганическая химия.* 1988. Т. 14. № 9. С. 1171—1178.
3. Likhoshersstov L. M., Novikova O. S., Piskarev V. E., Trusikhina E. E., Derevitskaya V. A., Kochetkov N. K. // *Carbohydr. Res.* 1988. V. 178. P. 155—163.
4. Лухошерстов Л. М., Новикова О. С., Деревицкая В. А., Кочетков Н. К. // *Изв. АН СССР. Сер. хим.* 1986. № 10. С. 1663—1670.
5. Van Halbeek H., Vliegenthart J. F. G., Iwase H., Li S.-C., Li Y.-T. // *Glycoconjugate J.* 1985. V. 2. № 3-4. P. 235—253.
6. Takahashi N., Ishii I., Ishihara H., Mori M., Tejima S., Jefferis R., Endo S., Arita Y. // *Biochemistry.* 1987. V. 26. № 4. P. 1137—1144.
7. Bolton A. E., Hunter W. H. // *Biochem. J.* 1973. V. 133. № 3. P. 529—539.

Получено в редакцию
14.VII.1988

GLYCOSYLAMINES OF OLIGOSACCHARIDES OF N-GLYCOPROTEINS
AND THEIR NEW N-ACYL DERIVATIVES

PISKAREV V. E., LIKHOSHERSTOV L. M., SEPETOV N. F.*, DEREVITSKAYA V. A.,
KOCHETKOV N. K.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow*

** Institute of Experimental Cardiology, All-Union Cardiology Research Centre,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

A series of oligosaccharides liberated from N-glycoproteins (immunoglobulin G, ovalbumin, ovomucoid, hen egg white riboflavin-binding glycoprotein) were transformed into β -glycosylamines. Reaction of the latter with N-succinimidyl 3-(4-hydroxyphenyl)propionate (Bolton — Hunter reagent) resulted in formation of a new type of oligosaccharide derivatives simulating N-glycosylamide bond of native N-glycoproteins. Five individual derivatives were isolated by HPLC and their structure was confirmed by 500 MHz ^1H NMR.