



УДК 547.458'96.02:577.114.088.5

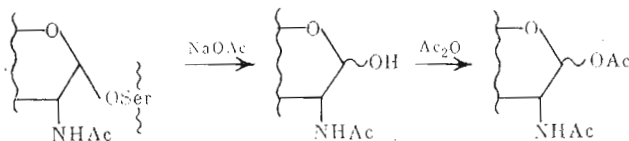
МЯГКОЕ ОТЩЕПЛЕНИЕ ОЛИГОСАХАРИДНЫХ О-ЦЕПЕЙ ГЛИКОПРОТЕИНОВ В ВИДЕ ПОЛНЫХ АЦЕТАТОВ

Бовин Н. В., Хорлин А. Я.

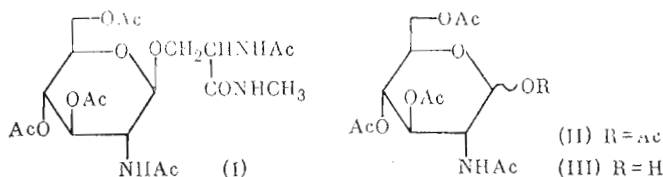
Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва

Для отщепления олигосахаридных О-цепей гликопротеинов от белкового кора обычно используют два метода: 1) кислотный сольволиз [1], приводящий не только к отщеплению, но и к разрушению (частичному или полному) олигосахаридов; 2) щелочное β-элиминирование, также обычно сопровождающееся значительным разрушением углеводной цепи; этот метод нашел ограниченное применение для препаративного получения некоторых олигосахаридов [2]. Для предотвращения деструкции самой олигосахаридной цепи по механизму β-элиминирования («пилинг») щелочную обработку проводят в присутствии боргидрида [3], который восстанавливает олигосахариды до полиолов, неспособных к дальнейшему β-элиминированию. Олигосахаридполиолы являются удобными объектами для структурного анализа, однако для ряда целей, например для синтеза искусственных антигенов или блок-синтеза более сложных олигосахаридов, пригодны только восстанавливающие олигосахариды.

В данном сообщении предлагается метод отделения О-цепей гликопротеинов, основанный на щелочном β-элиминировании с одновременным ацелированием образующихся олигосахаридов. Такой подход, с одной стороны, практически исключает «пилинг», а с другой — позволяет получать собственно олигосахариды в виде полных ацетатов. Оба процесса — β-элиминирование и ацелирование — проходят последовательно в смеси уксусного ангидрида и ацетата натрия при нагревании.

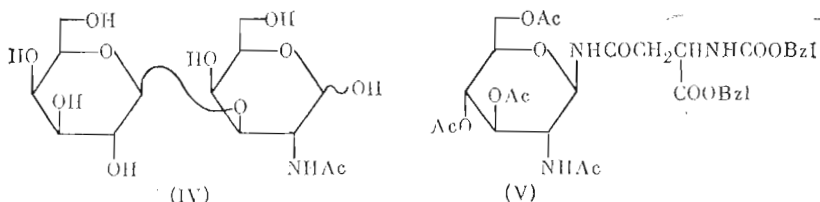


Оптимальные условия отщепления подбирались с использованием О-гликозилсеринового производного (I) (синтез см. в работе [4]): насыщенный при 25° С раствор ацетата натрия в смеси уксусный ангидрид — уксусная кислота (1:1), температура 85–90° С, время проведения реакции 100 ч. В указанных условиях соединение (I) полностью превращалось в смесь апомеров (II), другие продукты углеводной природы в реакционной смеси не обнаружены (ТСХ).



На ранних стадиях реакции в смеси в заметном количестве обнаруживается соединение (III) (идентично образцу, полученному из ацетата (II))

по методу [5]). Обнажение полуацетального гидроксила указывает на возможность протекания «пилинга» в пайденных условиях. Поэтому был проведен щелочной ацетоллиз (в тех же условиях) 1→3-связанного дисахарида (IV), синтезированного как описано в работе [6].



Главным продуктом реакции был полный ацетат дисахарида (IV), расщепление проходило лишь в незначительной степени (менее 5%). С целью проверки пригодности метода для отщепления сиалоолигосахаридов был проведен щелочной ацетоллиз N-ацетилнейраминозиллактозы (смесь $\alpha 2 \rightarrow 3$ - и $\alpha 2 \rightarrow 6$ -изомеров). В результате был получен исключительно полный ацетат олигосахарида. Это указывает на возможность избирательного отщепления от белковой цепи гликопротеинов не только нейтральных, но и сиалосодержащих O-цепей.

N-Гликозид (V) [7] в тех же условиях частично изменялся, однако полный ацетат (II) в продуктах реакции обнаружен не был, что свидетельствует о возможности избирательного отщепления O-цепей гликопротеинов в присутствии N-цепей.

Применимость метода к реальному природному объекту проверена на примере десиалированного муцина из подчелюстных желез свиньи: 10 мг гликопротеина и 0,4 мл смеси реагентов (см. выше) выдерживали 200 ч в запаянной ампуле при 85°С. Препаративной ТСХ в системе ацетон — толуол (1:1) выделены три вещества, по подвижности соответствующие ацетатам олигосахаридов.

Суммарное содержание углеводов во взятом образце асиаломуцина составляло 38% по весу. В условиях щелочного ацетоллиза отщеплялось 75—90% от этого количества углеводов (установлено при помощи ГЖХ-анализа ТМС-производных метилгликозидов моносахаридов после кислотного метанолиза и силилирования суммарной фракции олигосахаридов). Углеводный состав выделенных индивидуальных сахаридов (в виде полных ацетатов, ТСХ, кизельгель «Мерск», ацетон — толуол, 1:1) следующий: соединение с R_f 0,40 — GalNAc; соединение с R_f 0,36 — GalNAc — Gal — Fuc, 1:1:1, соединение с R_f 0,31 — GalNAc — Gal — Fuc, 2:1:1. Этот состав соответствует структурам углеводных цепей, найденных для данного гликопротеина [8].

ЛИТЕРАТУРА

1. Marshall R. D., Neuberger A. In: Glycoproteins / Ed. Gottschalk A. Amsterdam: Elsevier, 1972, p. 225—251.
2. Corfield A. P., Veh R. W., Wember M., Michalski J.-C., Schauer R. Biochem. J., 1981, v. 197, № 2, p. 293—299.
3. Gottschalk A. In: Glycoproteins / Ed. Gottschalk A. Amsterdam: Elsevier, 1972, p. 470—476.
4. Мирзаялова М. Н., Медведева И. В., Хорлин А. Я. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1975, № 3, с. 697—699.
5. Excoffier G., Gagnaire D., Utile J.-P. Carbohydr. Res., 1975, v. 39, № 2, p. 368—373.
6. Flowers H. M., Shapiro D. J. Org. Chem., 1965, v. 30, № 6, p. 2041—2043.
7. Khorlin A. Ya., Zurabyan S. E., Macharadze R. G. Carbohydr. Res., 1980, v. 85, № 2, p. 201—208.
8. Carlson D. M. J. Biol. Chem., 1968, v. 243, № 3, p. 612—626.

Поступило в редакцию
10.XI.1984

GLYCOPROTEIN O-CHAINS MILD SPLITTING AS PERACETYLATED OLIGOSACCHARIDES

BOVIN N. V., KHORLIN A. Ya.

M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

A method is proposed of splitting off intact mucine type carbohydrate O-chains from glycoproteins under mild conditions, preventing «peeling» of oligosaccharides. The method is based on β -elimination and simultaneous acetylation of the splitted oligosaccharides. Treatment of porcine asialomucine with saturated sodium acetate solution in 1:1 mixture of acetic acid and acetanhydride (200 h at 85–90° C) gave rise to the mixture of peracetylated oligosaccharides, the degree of elimination being 75–90%. In model experiments the possibility of selectively split off the O-chains in the presence of asparagine-linked N-chains, and stability of sialooligosaccharides in the reaction conditions were demonstrated.

Технический редактор Кузьмишкина Е. С.

Сдано в набор 20.12.84.	Подписано в печати 30.01.85	Т-04326	Формат бумаги 70×108 ¹ / ₁₆
Высокая печать	Усл. печ. л. 12,6	Усл. кр.-отт. 11,6 тыс.	Уч.-изд. л. 13,3
	Бум. л. 4,5	Тираж 905 экз. Зак. 882	

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Наука»
103717 ГСП, Москва, К-62, Подсосенский пер., 21
2-я типография издательства «Наука», 121099, Москва, Шубинский пер., 6