



УДК 547.458.3.057

© 1994 Т. В. Землянухина, Н. Э. Нифантьев\*,  
Л. О. Кононов\*, А. С. Шашков\*, Н. В. Бовин

## РЕЦЕПТОРЫ СЕЛЕКТИНОВ

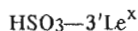
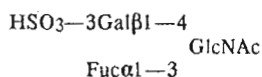
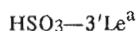
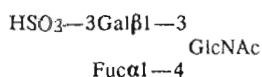
### 2\*. СИНТЕЗ $\text{HSO}_3\text{-3'Le}^a$ — СУЛЬФАТИРОВАННОГО ЛИГАНДА МОЛЕКУЛЫ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ, E-СЕЛЕКТИНА

*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва;*

*\* Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва*

Ключевые слова: рецепторы селектинов, клеточная адгезия, сульфатированные углеводы.

В свете открытия селектинов — молекул межклеточной адгезии, рецепторами которых являются отрицательно заряженные (сиалилированные и сульфатированные) сахараиды [1, 2], несомненный интерес представляет изучение функциональной роли сульфатированных углеводных цепей гликопротеинов и гликолипидов. Сульфатированные фрагменты найдены в гликопротеинах, гликофинголипидах и протеогликанах, в том числе гепарине, ряде гормонов, PZP3, N-цепях GP-120 вируса иммунодефицита человека [3, 4—13]. В 1992 г. в составе O-гликозидных цепей гликопротеинов человека были обнаружены новые структурные элементы — сульфатированные по положению 3 галактозного остатка трисахарида  $\text{Le}^a$  и  $\text{Le}^x$  [2]

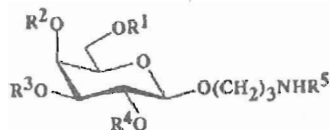


и показано, что оба сульфофукозилолигосахарида связываются с E-селектином по крайней мере так же, как и открытые ранее сиалилированные аналоги  $\text{Neu5Ac}\alpha\text{2-3'Le}^{a/x}$  [2].

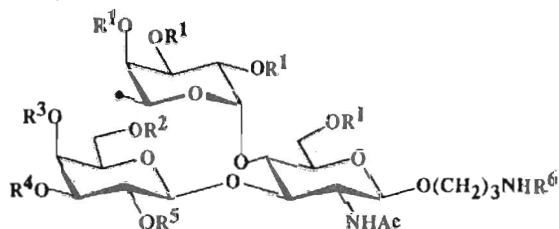
В 1993 г. опубликованы синтезы свободных (неспейсерированных) сульфатированных трисахаридов  $\text{Le}^a$  и  $\text{Le}^x$  [14, 15]. Цель данной работы — химический синтез трисахарида  $\text{HSO}_3\text{-3'Le}^a$ , содержащего удобную для дальнейшей иммобилизации спейсерную группировку. Для введения сульфата было опробовано селективное замещение 2,3-диольной группировки галактозного звена. В качестве модельного соединения выбрано бензилиденовое производное (Ia) [16]. Как и предполагалось, его взаимодействие с небольшим (1,3 экв.) избытком комплекса

\* Сообщение 1 — см. предыдущую статью в этом номере.

$\text{SO}_3 \cdot \text{Py}$  в пиридине при  $20^\circ \text{C}$  [17] с последующим дебензилиденированием приводило к 3-сульфату (Iб) с выходом 64%. В качестве побочного продукта было выделено несультатированное производное (Iв). Сульфатирование диола (Iа) двойным избытком  $\text{SO}_3 \cdot \text{Py}$  приводило к 3-сульфату (Iб) и 2,3-дисульфату (Iг) в соотношении 1/1,2 при общем выходе 67%. Строение полученных соединений следовало из спектров ПМР: значение хим. сдвига Н-3 в соединении (Iб) составляет 4,33 м. д., а в несультатированном производном (Iв) — 3,59 м. д. В 2,3-дисульфате (Iг) сигналы Н-2 (4,38 м. д.) и Н-3 (4,44 м. д.) также имеют характерный слабопольный сдвиг: на 0,92 и 0,89 м. д. соответственно. Структура 3-сульфата (Iб) была доказана также встречным синтезом из соединения (Iд) [16].



- (Iа)  $\text{R}^1 + \text{R}^2 - \text{PhCH}$ ,  $\text{R}^3 - \text{R}^4 - \text{H}$ ,  $\text{R}^5 - \text{COCF}_3$   
 (Iб)  $\text{R}^1 - \text{R}^2 - \text{R}^4 - \text{H}$ ,  $\text{R}^3 - \text{SO}_3\text{Na}$ ,  $\text{R}^5 - \text{COCF}_3$   
 (Iв)  $\text{R}^1 - \text{R}^2 - \text{R}^3 - \text{R}^4 - \text{H}$ ,  $\text{R}^5 - \text{COCF}_3$   
 (Iг)  $\text{R}^1 - \text{R}^2 - \text{H}$ ,  $\text{R}^3 - \text{R}^4 - \text{SO}_3\text{Na}$ ,  $\text{R}^5 - \text{COCF}_3$   
 (Iд)  $\text{R}^1 + \text{R}^2 - \text{PhCH}$ ,  $\text{R}^3 - \text{H}$ ,  $\text{R}^4 - \text{Ac}$ ,  $\text{R}^5 - \text{COCF}_3$   
 (Iе)  $\text{R}^1 - \text{R}^2 - \text{R}^4 - \text{R}^5 - \text{H}$ ,  $\text{R}^3 - \text{SO}_3\text{Na}$



- (IIа)  $\text{R}^1 - \text{Bn}$ ,  $\text{R}^2 - \text{R}^3 - \text{R}^4 - \text{R}^5 - \text{H}$ ,  $\text{R}^6 - \text{COCF}_3$   
 (IIб)  $\text{R}^1 - \text{Bn}$ ,  $\text{R}^2 + \text{R}^3 - \text{PhCH}$ ,  $\text{R}^4 - \text{R}^5 - \text{H}$ ,  $\text{R}^6 - \text{COCF}_3$   
 (IIв)  $\text{R}^1 - \text{R}^2 - \text{R}^3 - \text{R}^5 - \text{H}$ ,  $\text{R}^4 - \text{SO}_3\text{Na}$ ,  $\text{R}^6 - \text{COCF}_3$   
 (IIг)  $\text{R}^1 - \text{R}^2 - \text{R}^3 - \text{R}^5 - \text{R}^6 - \text{H}$ ,  $\text{R}^4 - \text{SO}_3\text{Na}$   
 Bn — бензил

Целевой 3'-сульфатированный трисахарид (IIг) получали исходя из тетраола (IIа), который, в свою очередь, был получен селективным галактозилированием ( $\text{Ac}_4\text{GalBr}/\text{Hg}(\text{CN})_2$ ) диола (6-Bn)GlcNAc $\beta$ 1-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NHCOCF<sub>3</sub> по 3-OH с последующим фукозилированием образующегося дисахарида по 4-OH и дез-О-ацетилированием, как описано в работе [18]. Введение бензилиденной защиты в тетраол (IIа) реакцией с  $\alpha, \alpha$ -диметокситолуолом в присутствии  $\text{T}_2\text{O} \cdot \text{H}$  привело к диолу (IIб). Его сульфатирование комплексом  $\text{Py} \cdot \text{SO}_3$  в пиридине проходило региоселективно в положение 3' (в следовых количествах в реакционной смеси присутствовали исходный диол (IIб) и ди-О-сульфат). Различие сульфатирования трисахарида (IIб) и моносахарида (Iа) состояло в том, что (IIб) требовал значительного (10 экв.) избытка сульфатирующего реагента, но меньшего времени для завершения реакции, которая проводилась при пониженной ( $0^\circ \text{C}$ ) температуре. Удалением защитных групп был получен сульфатированный трисахарид (IIв), в котором положение сульфата, как и в случае аналогичных моносахаридных производных, подтверждено характеристическим слабопольным сдвигом сигнала Н-3 галактозного остатка при 4,36 м. д. [14, 15].

Синтезированные соединения со свободной аминогруппой в составе спейсера, (Ie) и (Ilg), присоединяли к активированному полимеру — поли(4-нитрофенил-акрилату) [19], получая поливалентные водорастворимые N-замещенные производные полиакриламида (псевдополисахариды) с различной плотностью лиганда на полимере; точная регулировка плотности лиганда принципиальна, так как селектины при их взаимодействии с природными заряженными лигандами особо чувствительны к их топографии [2]. Кроме того, были получены аналогично построенные биотинилированные зонды, содержащие 20 мольн.% углеводного лиганда и 5 мольн.% биотина, а также липофильный иммуноген, содержащий по 15 мольн.%  $\text{HSO}_3\text{Le}^a$  и фосфатидилэтаноламина [19].

Синтетический  $\text{HSO}_3-3'\text{Le}^a$  благодаря химической индивидуальности даст возможность моделировать и изучать процессы, в которые вовлечены как селектины, так и их недавно открытые [2] сульфатированные рецепторы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bevilacqua M. P., Stengelin S., Gimbrone M. A., Jr., Seed B.//Science. 1989. V. 243. P. 1160—1165.
2. Yuen C.-T., Lawson A. M., Chai W., Larkin M., Stoll M. S., Stuart A. S., Sullivan F. X., Ahern T. J., Feizi T.//Biochemistry. 1992. V. 31. № 38. P. 9126—9131.
3. Varki A.//Glycobiology. 1992. V. 2. № 1. P. 25—40.
4. Hard K., van Zadelhoff G., Moonen P., Kamerling P., Vliegthart J. F. G.//Eur. J. Biochem. 1992. V. 209. P. 895—915.
5. Pfeiffer G., Strube K.-H., Geyer R.//Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1992. V. 189. № 3. P. 1681—1685.
6. Pfeiffer G., Stirm S., Geyer R., Strube K.-H., Bergwerff A. A., Kamerling P., Vliegthart J. F. G.//Glycobiology. 1992. V. 2. № 5. P. 411—418.
7. Pfeiffer G., Schmidt M., Strube K.-H., Geyer R.//Eur. J. Biochem. 1989. V. 186. P. 273—286.
8. Noguchi S., Nakano M.//Eur. J. Biochem. 1992. V. 209. P. 883—894.
9. Kamerling J. P., Rijkse J., Maas A. A. M., van Kuik J. A., Vliegthart J. F. G.//FEBS Lett. 1988. V. 241. P. 246—250.
10. Roux L., Holojda S., Sundblad G., Freeze H. H., Varki A.//J. Biol. Chem. 1988. V. 263. P. 8879—8889.
11. Baenziger J. U., Green E. D.//Biochim. et biophys. acta. 1988. V. 947. P. 287—306.
12. Capon C., Laboisie C. L., Wieruszkeski J.-M., Maoret J.-J., Augeron C., Fournet B.//J. Biol. Chem. 1992. V. 267. № 27. P. 19248—19257.
13. Loweless R. W., Floyd-O'Sullivan G., Raynes J. G., Yuen C.-T., Feizi T.//EMBO J. 1992. V. 11. № 3. P. 813—819.
14. Lubineau A., Le Gallic J., Lemoine R.//J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1993. P. 1419—1420.
15. Nicolaou K. C., Bockovich N. J., Carcanague D. R.//J. Amer. Chem. Soc. 1993. V. 115. P. 8843—8844.
16. Корчагина Е. Ю., Бовин Н. В.//Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. № 2. С. 283—289.
17. Boecker T., Lindhorst T. K., Thiem J., Vill V.//Carbohydr. Res. 1992. V. 230. P. 245—256.
18. Бовин Н. В., Иванова И. А., Хорлин А. Я.//Биоорганическая химия. 1985. Т. 11. № 5. С. 662—670.
19. Bovin N. V., Korchagina E. Yu., Zemlyanukhina T. V., Byratova N. E., Galanina O. E., Zemlyakov A. E., Ivanov A. E., Zubov V. P., Mochalova L. V.//Glycoconj. J. 1993. V. 10. № 2. P. 142—151.

Поступило в редакцию  
28.1.1994

*T. V. Zemlyanukhina, N. E. Nifant'ev\*,  
L. O. Kononov\*, A. S. Shashkov\*, N. V. Bovin*

**RECEPTORS OF SELECTINS. 2. SYNTHESIS OF  
HSO<sub>3</sub>-3'Le<sup>a</sup> — SULFATED LIGAND OF CELL  
ADHESION MOLECULE E-SELECTIN**

*M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,  
Russian Academy of Sciences, Moscow;*

*\* N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences,  
Moscow*

HSO<sub>3</sub>-3'Galβ1—3(Fucα1—4)GlcNAcβ1—O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub> was synthesized by selective sulfation (Py·SO<sub>3</sub>/Py, 0° C) of a protected trisaccharidic Le<sup>a</sup> derivative bearing unsubstituted hydroxyls at C2 and C3 of the galactose moiety, BdGalβ1—3(Bn<sub>3</sub>Fucα1—4)6-BnGlcNAcβ1-O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOCF<sub>3</sub>, followed by convenient deprotection. A monosaccharide derivative, HSO<sub>3</sub>-3Galβ1-O(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, was also obtained in a similar way. Coupling of the aminopropyl glycosides with poly(4-nitrophenylacrylate) gave rise to polyacrylamide (PAA) conjugates; biotinylated probes of the Sug-PAA-biotin type were obtained as well.