



УДК 577.07:547.952:535.372

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ BODIPY-МЕЧЕННЫХ ГАНГЛИОЗИДОВ

© 2003 г. И. И. Михалев[#], Ю. Г. МолотковскийИнститут биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 03.12.2001 г. Принята к печати 06.03.2002 г.

Синтезирован ряд новых флуоресцентномеченых ганглиозидов, несущих остатки кислот, меченных 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индаценом (BODIPY), как в полярной, так и в неполярной части молекулы: ганглиозид GM1, меченный остатками 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-5,7-диметил-*s*-индаценил-3-пропановой (BODIPY-FL-пропановой) и BODIPY-FL-пентановой кислот по олигосахаридной части молекулы, и ганглиозид GD1a, меченный двумя остатками BODIPY-FL-пентановой кислоты по олигосахаридной части, а также остатками BODIPY-FL-пентановой кислоты и 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-5-октил-*s*-индаценил-3-пентановой кислоты (C₈-BODIPY-500/510-пентановой) по жирнокислотной части молекулы ганглиозида. Изучены некоторые спектральные характеристики синтезированных зондов и их поведение в модельных мембранных системах. Показано, что BODIPY-меченые ганглиозиды, включенные в фосфатидилхолиновые липосомы в значительной концентрации (более 1 мол. %), в спектре испускания, кроме обычного максимума (510–515 нм), показывают также длинноволновый максимум (~630 нм).

Ключевые слова: мембранные зонды; флуоресцентные ганглиозиды; синтез; флуорофор BODIPY; спектры флуоресценции.

ВВЕДЕНИЕ

Ганглиозиды, большое семейство сialiрированных гликофинголипидов, широко представлены в клетках млекопитающих, где они осуществляют разнообразные функции, прежде всего рецепторные (см. обзоры [1, 2]). Интерес к ганглиозидам растет, как и число публикаций, посвященных их исследованию. Среди инструментов таких исследований важная роль принадлежит флуоресцентномеченым аналогам ганглиозидов. Известны методики синтеза ряда таких зондов как по неполярной (жирнокислотной) части молекулы, так и по олигосахаридной головке. В настоящее время довольно большое число флуоресцентномеченых ганглиозидов становится коммерчески доступным. Наиболее известный производитель – фирма Molecular Probes (США). Ранее мы сообщали о синтезе нескольких флуоресцентных производных ганглиозидов, в частности *транс*-12-(9-антрил)-11-додеценоилмеченых ганглиозидов GM3,

GM1, GD1a и GD3, а также 9-(3-периленоил)нона-ноилмеченых ганглиозидов GM3 и GM1 [3].

Большинство упомянутых зондов несет остаток флуоресцентной кислоты вместо природной жирной, т.е. мечено по керамидной части молекулы. Таким образом, не затрагивается функционально значимая олигосахаридная часть молекулы, что, несомненно, может быть важным при проведении определенных биологических экспериментов. Но не всегда модификация полярной головки ганглиозида ведет к потере его функциональных свойств, в частности, мечение ганглиозида GM1 по остатку сиаловой кислоты весьма громоздким остатком Лиссамин-родамин-γ-бутирилгидразида не приводит к потере ганглиозидом способности связываться с холеротоксином и вызывать у клеток холеротоксинстимулируемое накопление циклического АМР [4]. Структура жирнокислотной части и цепей также значима для липидной сегрегации в мембране. Так, практически любая модификация природных жирнокислотных цепей приводит к исключению зондов из состава упорядоченной жидкокристаллической фазы обогащенных сфинголипидами доменов плазматических мембран, так называемых рафтов [5, 6], пристально изучаемых в последнее время [7].

Меченные по полярной головке ганглиозиды оказались весьма удобным объектом для изучения закономерностей обмена энергией возбужде-

Сокращения: BODIPY-FL – 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-5,7-диметил-*s*-индаценил; C₈-BODIPY-500/510 – 4,4-дифтор-4-бора-3а,4а-диаза-5-октил-*s*-индаценил; BODIPY-FL-C₅, BODIPY-FL-C₃, C₈-BODIPY-500/510-C₅ – остатки BODIPY-FL-пентановой, BODIPY-FL-пропановой и октил-BODIPY-500/510-пентановой кислот соответственно; DOPC – диолеилфосфатидилхолин.

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 330-66-10; эл. почта: imik@mail.ibch.ru).

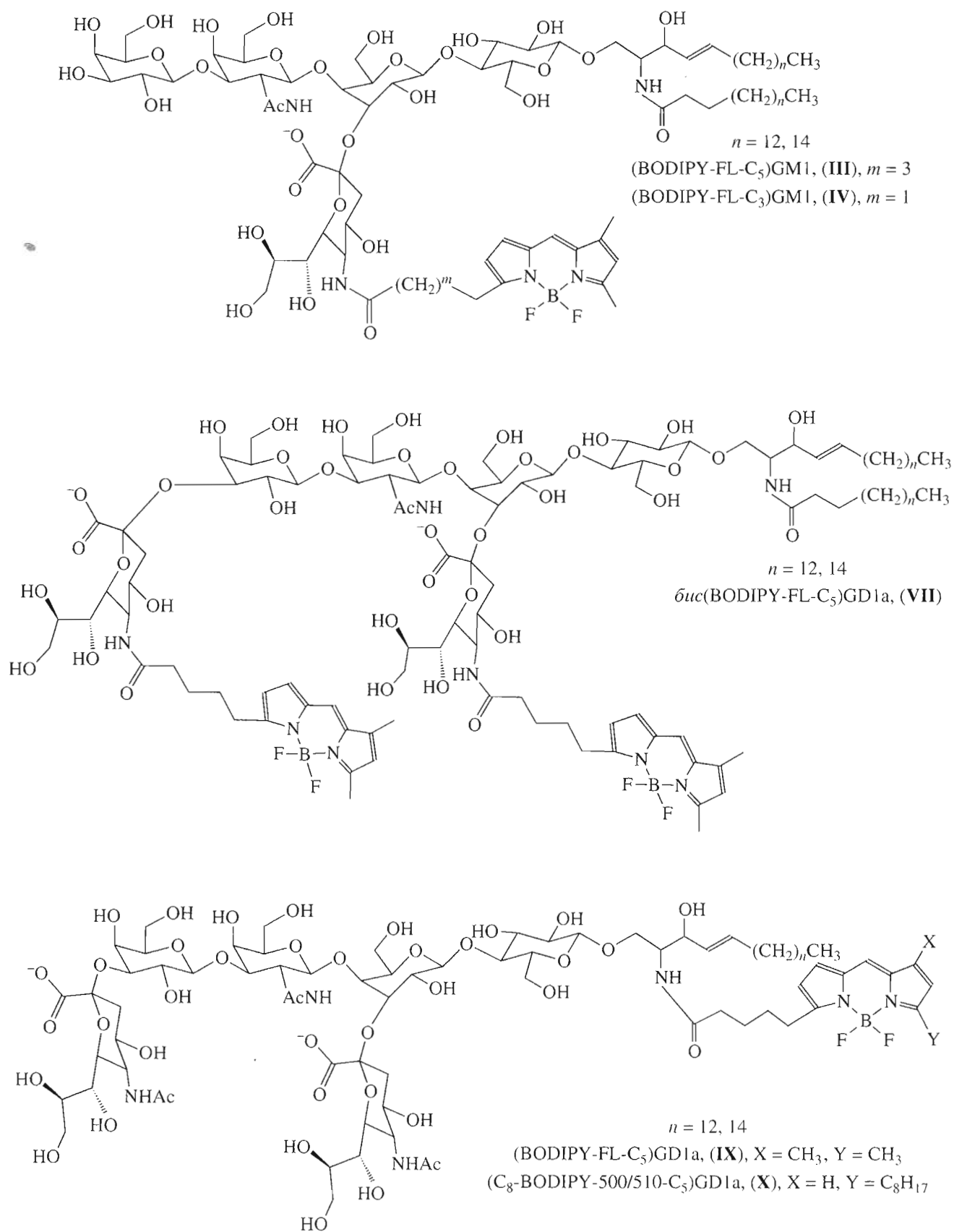


Схема 2.

1.0 квантовый выход [9], слабую зависимость флуоресценции от полярности окружения и независимость от pH среды [10], невысокую полярность флуорофора и сравнительно небольшие его размеры [11]. Описан целый ряд однотипных по строению BODIPY-флуорофоров, который перекрывает достаточно широкий и наиболее используемый диапазон испускания от 500 до 650 нм [12]. Кроме того, молекула BODIPY имеет довольно простую и благоприятную для интерпретации фотофизику, обусловленную электронным переходом $S_0 \longleftrightarrow S_1$ между основным и первым возбужденным состоянием. Дипольный момент этого перехода направлен вдоль длинной оси молекулы. Разница между диполями возбуждения и испускания мала. Благодаря этому начальная анизотропия близка к максимальной (0.37) и не зависит от длины волны испускания [13]. Длина жирнокислотной цепи, на которой находился BODIPY-флуорофор, определялась конкретной задачей использования полученного зонда в дальнейшем. Так, для модификации ганглиозидов по полярной головке использовались довольно короткие “ножки”, 3–5 атомов углерода (соединения (III), (IV), (VII)). Известно, что BODIPY-флуорофор имеет среднюю полярность, что при определенных условиях позволяет ему располагаться в промежуточной фазе между полярными головками и жирнокислотными цепями. Поэтому для дополнительного закрепления BODIPY-группы в глубине бислоя, была использована метка с дополнительной октильной цепью (соединение (X)).

Синтез всех ганглиозидных производных был проведен по ранее разработанным методам [3, 14–16]. Природные ганглиозиды подвергали щелочному гидролизу гидроокисью тетраметиламмония в водном бутаноле (схема 1). Было показано, что при этом образуются два основных продукта расщепления: дезацетилированное производное со свободными аминогруппами сиаловых кислот (I), (V) и дезацилированное-дезацетилированное производное (II), (VI), лишенное также и природной жирной кислоты. При этом аминогруппы при *N*-ацетилгалактозамине остаются практически незатронутыми [14]. Дезацетилированные ганглиозиды GM1 и GD1a (I) и (V) соответственно подвергали реакцированию BODIPY-меченой кислотой по методу смешанных ангидридов с изобутилхлорформиатом в среде THF–вода [15]. Таким путем были получены меченные по полярной части ганглиозиды (BODIPY-FL- C_5)GM1 (III), (BODIPY-FL- C_3)GM1 (IV) и *bis*(BODIPY-FL- C_5)GD1a (VII) (схема 1). Данные спектров 1H -ЯМР показывают, что производные ганглиозидов GM1 (III) и (IV) содержат по одному остатку BODIPY-метки на молекулу ганглиозидов, а производное GD1a (VII) – два остатка BODIPY-метки. Хроматографическая по-

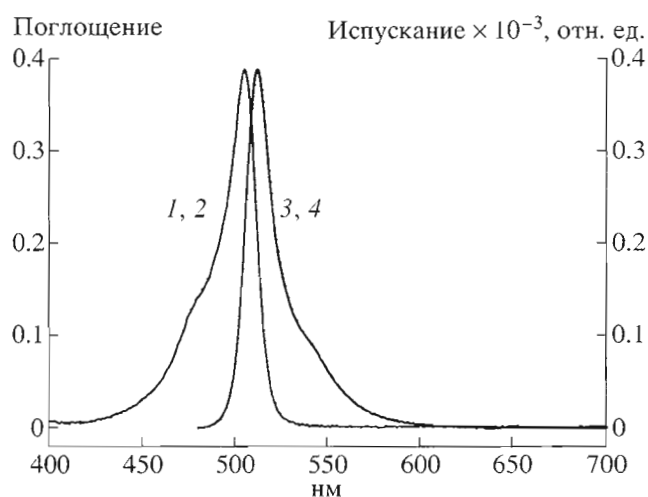


Рис. 1. Спектры поглощения (1, 2) и испускания (3, 4) BODIPY-меченых по полярной части ганглиозидов (BODIPY-FL- C_5)GM1 (III) (1, 3) и *bis*(BODIPY-FL- C_5)GD1a (VII) (2, 4) в метаноле, $\lambda_{\text{возб}}$ 470 нм, температура 20°C.

движность на прямой фазе полученных соединений существенно выше подвижности природных ганглиозидов, поскольку гидрофобность остатков BODIPY-кислот намного выше, чем ацетильной группы.

Для синтеза меченных по церамидному остатку аналогов ганглиозидов GD1a (IX) и (X) использовали соответствующий лизоганглиозид (VIII), приготовленный из полностью дезацилированного-дезацетилированного производного (VI) по методу [16]. У лизоганглиозидов (VIII) свободна одна аминогруппа при сфингозиновом основании, а сиаловые кислоты имеют природную ацетилированную форму. ЛизоGD1a (VIII) подвергали реакцированию остатком BODIPY-FL-пентановой или C_8 -BODIPY-500/510-пентановой кислоты по вышеуказанному методу смешанных ангидридов в среде THF–вода в присутствии триэтиламина [15]. В обоих случаях получался единственный флуоресцентный продукт (за исключением свободной меченой кислоты, образующейся при гидролизе смешанного ангидрида водой). Эти продукты были идентифицированы как (BODIPY-FL-пентаноил)GD1a (IX) и (C_8 -BODIPY-500/510-пентаноил)GD1a (X) (схема 1). Такие соединения имели почти одинаковую с природным GD1a хроматографическую подвижность на прямой фазе.

Спектры поглощения полученных соединений (III) и (VII) практически совпадают между собой и со спектрами исходных меченых кислот (рис. 1). Также совпадают и их спектры испускания (рис. 1). Это свидетельствует об отсутствии сколько-нибудь заметной агрегации флуорофоров как принадлежащих отдельным молекулам, так и в пре-

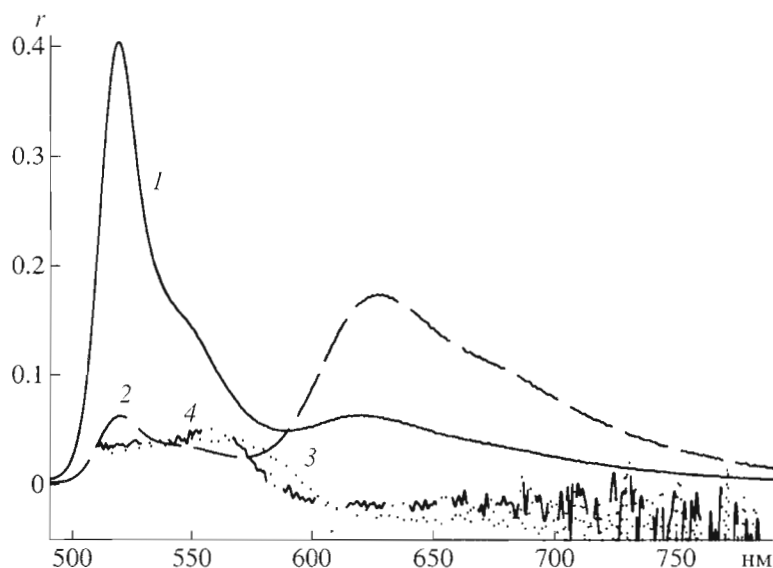


Рис. 2. Спектры испускания (1, 2) и анизотропии испускания (3, 4) (BODIPY-FL- C_5)GM1 (III) и бис(BODIPY-FL- C_5)GD1a (VII) в липосомах из DOPC. Соотношение зонд–липид, 1 : 25 моль/моль, $\lambda_{\text{возб}}$ 470 нм, температура 4°C.

делах одной молекулы для бис(BODIPY-FL- C_5)GD1a, по крайней мере, в истинных растворах. Аналогичная картина наблюдается и для других зондов. Однако ситуация в корне меняется, если зонд поместить в липосомы из фосфатидилхолина. Ранее отмечалось, что для BODIPY-FL- C_5 -меченого сульфатида в таких же липосомах, наряду с обычным максимумом испускания при 515 нм, при повышенных (более 5 мол. %) концентрациях зонда появляется дополнительная длинноволновая флуоресценция, широкий пик с максимумом в районе 630 нм. Причем по мере увеличения концентрации зонда, интенсивность длинноволновой флуоресценции увеличивается, в то время как в коротковолновой падает [17].

Подобную картину мы наблюдали и в случае BODIPY-меченых ганглиозидов (рис. 2). Однако, если интенсивность испускания в коротковолновом максимуме (515 нм) неуклонно снижалась с увеличением концентрации зонда, то для длинноволновой флуоресценции существовал оптимум концентрации, приходящийся примерно на 4 мол. % зонда. При таком соотношении зонд–фосфолипид интенсивность испускания при 630 нм была близка к максимальной для обоих зондов. Однако для бис(BODIPY-FL- C_5)GD1a интенсивность красной флуоресценции была много выше, чем для (BODIPY-FL- C_5)GM1 (рис. 2). Спектры поглощения при этом не претерпевали сколь-нибудь заметных изменений. При добавлении к суспензии липосом избытка метанола или детергента длинноволновый максимум пропадал и спектр испускания принимал вид, характерный для флуоресценции мономера. Это показывает, что здесь мы

имеем дело с неким видом сегрегации или взаимодействия флуорофоров между собой, а не с окислением или иной деструкцией метки. Кроме того, наблюдается резонансный перенос энергии возбуждения с коротковолнового максимума на длинноволновый, об этом свидетельствует характерная ступенька на спектре анизотропии флуоресценции (рис. 2). Природа такого взаимодействия флуорофоров еще недостаточно ясна, это может быть димеризация как в основном состоянии, так и в возбужденном (эксимеризация).

Все сказанное выше относится и к меченым по неполярному остатку аналогам ганглиозида GD1a (IX) и (X). Спектры поглощения и испускания этих зондов в метаноле практически совпадают между собой и идентичны вышеприведенным для соединений (III) и (VII) (рис. 1). Оба соединения, (BODIPY- C_5)GD1a (IX) и (C_8 -BODIPY- C_5)GD1a (X), также обнаруживают длинноволновый максимум флуоресценции при 620–630 нм при повышенных концентрациях зонда в липосомах, примерно в той же степени, как это отмечалось и для полярномеченого (BODIPY- C_5)GM1 (III). Аналогичным образом, максимальная интенсивность длинноволнового пика наблюдается при 4 мол. % от липидной матрицы (рис. 3), а спектр анизотропии флуоресценции также содержит ступеньку, свидетельствующую о переносе энергии возбуждения на дополнительный акцептор (данные не приводятся). Существенной разницы между двумя метками при этом не наблюдается по крайней мере при соотношении зонд–липид 1 : 9 (рис. 3, кривые 2 и 4).

Интересно отметить, что абсолютные значения анизотропии испускания (r) в липосомах из DOPC для неполярномеченных аналогов ганглиозида GD1a с остатками C₈-BODIPY-500/510-пентановой кислоты (X) и BODIPY-FL-пентановой кислоты (IX) близки между собой в интервале 515–560 нм и составляют соответственно 0.199 и 0.186 при 4°C. Содержание зонда в липидной матрице составляло 0.1 мол.%, при этом обмен энергией флуорофоров между собой, приводящий к деполяризации флуоресценции, практически отсутствует и величина анизотропии определяется только подвижностью самой метки [18]. Таким образом, при сравнении обоих неполярномеченных зондов (IX) и (X) видно, что дополнительный углеводородный “хвост” из восьми атомов несущественно меняет поведение метки в бислое, хотя некоторые различия все же имеются и связаны они, по-видимому, с несколько меньшей подвижностью C₈-BODIPY-500/510-пентаноильного остатка, чем у BODIPY-FL-пентаноильного. Это в свою очередь должно приводить к несколько большей агрегации зонда (C₈-BODIPY-500/510)GD1a сравнительно с (BODIPY-FL-C₅)GD1a. Если появление длинноволнового максимума испускания флуоресценции связывать с димеризацией, то это находит закономерное подтверждение в небольшом различии в спектрах испускания обоих зондов (XI) и (X) в везикулах из DOPC (рис. 3, кривые 2 и 4).

Один из меченных по полярной головке зондов – (BODIPY-FL-C₃)GM1 (IV), был с успехом применен для специфического мечения холестерина-сфингомиелиновых доменов (рафтов) и при изучении поведения рафтов в модельных мембранах [6].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Все работы с флуоресцентными веществами проводили при рассеянном свете ламп накаливания. В синтезе использовали тетраметиламмонийгидроксид, изобутилхлорформиат, триэтиламин (Fluka, Швейцария), BODIPY-FL-пентановую кислоту, BODIPY-FL-пропановую кислоту, C₈-BODIPY-500/510-пентановую кислоту (Molecular Probes, США). Ганглиозиды GM1 и GD1a выделяли из мозга крупного рогатого скота по методу [19], лизоганглиозид GD1a (VII) получали как описано в [16]. Для колоночной хроматографии использовали силикагель 100 (63–100 мкм), для ТСХ – пластинки с силикагелем 60 (Merck, Германия). ТСХ проводили в системе растворителей хлороформ–метанол–2.5 н. водный аммиак, 60 : 40 : 9 (об.) (А). Вещества обнаруживали резорциновым реагентом (1) – для сиалосодержащих липидов и визуально в УФ-свете (2). Растворители очищали обычными способами.

Испускание, отн. ед.

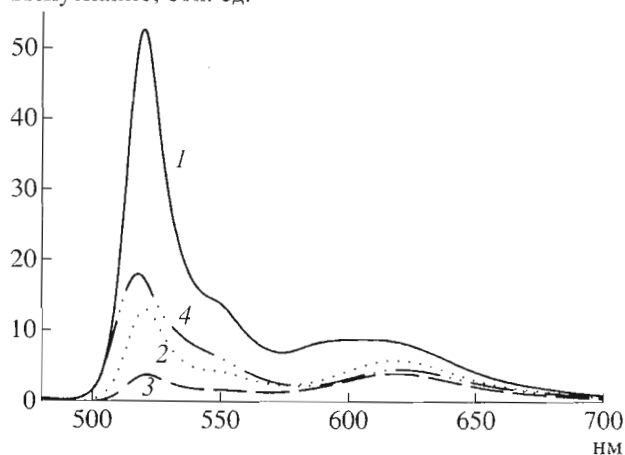


Рис. 3. Спектры испускания аналогов ганглиозида GD1a, меченных по неполярной части, снятые в липосомах из DOPC при 4°C, $\lambda_{\text{возб}}$ 470 нм. 1, 2, 3 – (C₈-BODIPY-500/510-C₅)GD1a (X), молярное соотношение зонд–матрица, 1 : 25, 1 : 9, 1 : 4 соответственно. 4 – (BODIPY-FL-C₅)GD1a (IX), соотношение зонд–матрица, 1 : 9, моль/моль.

Спектры флуоресценции (корректированы) снимали на спектрофлуориметре Hitachi 4000 (Япония), УФ-спектры – на спектрофотометре Ultrospec II (LKB, Швеция). Спектры ¹H-ЯМР сняты на приборе Bruker DRX-500 (500 МГц) в метаноле-d₄ при 300 К.

Моноламеллярные липосомы из диолеоилфосфатидилхолина (Sigma, США) готовили экструзионным методом [20], используя фильтры Nucleopore (США) с размером пор 100 нм.

Деацетилованный ганглиозид GM1 (I). Раствор 470 мг ганглиозида GM1 (307 мкмоль) и 7.2 г тетраметиламмонийгидроксида (40 ммоль) в 45 мл *n*-бутанола и 2 мл воды выдерживали при 105°C в течение 17 ч. Реакционную смесь упаривали, диализовали против воды в течение суток и хроматографировали на колонке (1.5 × 50 см) с 40 г силикагеля в системе хлороформ–метанол–2.5 н. водный аммиак, 60 : 35 : 8 (об.). Выделяли два основных продукта, деацетилованный ганглиозид GM1 (I) (79 мг, 54 мкмоль) и деацетилованный-деацетилованный ганглиозид GM1 (II) (133 мг, 111 мкмоль), контролируя ход разделения ТСХ (система А, обнаружитель 1). Деацетилованный продукт (I) имеет R_{GM1} 0.37, продукт (II) – 0.17.

Деацетилованный ганглиозид GD1a (V) получали аналогично продукту (I) из 460 мг (255 мкмоль) ганглиозида GD1a с выходом 43 мг (25 мкмоль). R_{GD1a} 0.23.

(BODIPY-FL-C₅)GM1 (III). К раствору 3 мг (10 мкмоль) BODIPY-FL-пентановой кислоты в

2 мл сухого хлороформа добавляли 1 мкл (10 мкмоль) триэтиламина и 1 мкл (10 мкмоль) изобутилхлорформиата. Смесь перемешивали 1.5 ч при комнатной температуре, упаривали, растворяли в 5 мл этилацетата и промывали 5 мл воды, 5 мл насыщенного раствора NaCl и высушивали над сульфатом натрия. Полученный раствор смешанного ангидрида упаривали и использовали в тот же день. К раствору 3 мг (2 мкмоль) дезацетилованного ганглиозида GM1 (I) в 1 мл смеси THF-вода, 10 : 1, добавляли 1 мкл триэтиламина и раствор смешанного ангидрида, соответствующий 1 мг (3 мкмоль) BODIPY-FL-пентановой кислоты, в 1 мл THF. Смесь оставляли на сутки при перемешивании при комнатной температуре. BODIPY-FL-C₅-GM1 (III) выделяли хроматографией на силикагеле 100 в системе хлороформ-метанол-вода, 65 : 25 : 2 (об.), контроль ТСХ (А, обнаружители 1 и 2). Выход 1.8 мг (1 мкмоль), красный порошок с R_f 0.45, R_{GM1} 1.73 (А). ¹H-ЯМР: 2.44 (с, 3H), 2.66 (с, 3H), 4.46 (д, J 8 Гц, 1H), 4.57 (д, J 8 Гц, 1H), 4.60 (д, J 8 Гц, 1H), 5.08 (д, J 8 Гц, 1H), 5.61 (м, J 8 Гц, 1H), 5.84 (м, J 8 Гц, 1H), 6.34 (с, 1H), 6.53 (д, J 4 Гц, 1H), 7.19 (д, J 4 Гц, 1H), 7.56 (с, 1H).

(BODIPY-FL-C₃)GM1 (IV) синтезировали как описано для аналога (III) из 3 мг (9 мкмоль) BODIPY-FL-пропионовой кислоты и 2 мг (1.3 мкмоль) дезацетилованного ганглиозида GM1 (I) с выходом 0.9 мг (0.5 мкмоль) в виде красного порошка. Хроматографические данные и спектр ¹H-ЯМР аналогичны таковым для вещества (III).

бис(BODIPY-FL-C₃)GD1a (VII) получали как описано для вещества (III) из 3.6 мг (2 мкмоль) дезацетилованного ганглиозида GD1a (V) и 3 мг (10 мкмоль) BODIPY-FL-пентановой кислоты. Выход 1.5 мг (0.7 мкмоль), R_f 0.48, R_{GD1a} 3.0 (А). ¹H-ЯМР: 2.44 (с, 6H), 2.66 (с, 6H), 4.46 (д, J 8 Гц, 1H), 4.57 (д, J 8 Гц, 1H), 4.60 (д, J 8 Гц, 1H), 5.08 (д, J 8 Гц, 1H), 5.61 (м, J 8 Гц, 1H), 5.84 (м, J 8 Гц, 1H), 6.34 (с, 2H), 6.53 (д, J 4 Гц, 2H), 7.19 (д, J 4 Гц, 2H), 7.56 (с, 2H).

(C₈-BODIPY-500/510-C₅)GD1a (X) получали аналогично продукту (III) из 6 мг (3.75 мкмоль) соответствующего лизоганглиозида GD1a (VIII) и смешанного ангидрида, приготовленного из 6 мг (14.9 мкмоль) C₈-BODIPY-500/510-пентановой кислоты. Выход зонда (X), близкого по хроматографической подвижности природному ганглиозиду GD1a, 4 мг (2 мкмоль), R_{GD1a} 1.08 (А, обнаружители 1 и 2).

(BODIPY-FL-C₃)GD1a (IX) синтезировали аналогично продукту (III) из 20 мг (12.5 мкмоль) лизоGD1a (VIII) и смешанного ангидрида, полученного из 5 мг (15.6 мкмоль) BODIPY-FL-пентано-

вой кислоты. Выход зонда (IX), близкого по хроматографической подвижности ганглиозиду GD1a, 6.4 мг (3.4 мкмоль), R_{GD1a} 1.19 (А, обнаружители 1 и 2).

Работа поддержана грантами № 01-04-48776 и 00-04-48416 Российского фонда фундаментальных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *van Echten G., Sandhoff K.* // J. Biol. Chem. 1993. V. 268. P. 5341–5344.
2. *Lloyd K.O., Furukawa K.* // Glycoconjugate J. 1998. V. 15. P. 627–636.
3. *Molotkovsky J.G., Mikhalyov I.I., Imbs A.B., Bergelson L.D.* // Chem. Phys. Lipids. 1991. V. 58. P. 199–212.
4. *Spiegel S.* // Biochemistry. 1985. V. 24. P. 5947–5952.
5. *Wang T.Y., Silvius J.R.* // Biophys. J. 2000. V. 79. P. 1478–1489.
6. *Samsonov A.V., Mikhalyov I.I., Cohen F.S.* // Biophys. J. 2001. V. 81. P. 1486–1500.
7. *Dietrich C., Bagatolli L.A., Volovik Z.N., Thompson N.L., Levi M., Jacobson K., Gratton E.* // Biophys. J. 2001. V. 80. P. 1417–1428.
8. *Bergström F., Mikhalyov I., Hagglof P., Wortmann R., Ny T., Johansson L. B.-Å.* // J. Am. Chem. Soc. 2002. V. 124. P. 196–204.
9. *Johnson I.D., Kang H.C., Haugland R.P.* // Anal. Biochem. 1991. V. 198. P. 228–273.
10. *Haugland R.P.* // Optical Microscopy for Biology / Eds B. Herman, K. Jacobson. Wiley-Liss., 1990. P. 143–157.
11. *Keller R.C., Silvius J.R., De Kruijff B.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1995. V. 207. P. 508–514.
12. *Haugland R.P.* // Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals. / Ed. M.T.Z. Spence. Eugene (OR): Molecular Probes, 1996.
13. *Karolin J., Johansson L.B.-Å., Strandberg L., Ny T.* // J. Am. Chem. Soc. 1994. V. 116. P. 7801–7810.
14. *Sonnino S., Kirschner G., Ghidoni R., Acquotti D., Tettamanti G.* // J. Lipid Res. 1985. V. 26. P. 248–257.
15. *Acquotti D., Sonnino S., Masserini M., Casella L., Fronza G., Tettamanti G.* // Chem. Phys. Lipids. 1986. V. 40. P. 71–86.
16. *Neuenhofer S., Schwarzmann G., Egge H., Sandhoff R.* // Biochemistry. 1985. V. 24. P. 525–535.
17. *Pagano R.E., Chen C.-S.* // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1998. V. 845. P. 152–160.
18. *Mikhalyov I., Bogen S.-T., Johansson L.B.-Å.* // Spectrochimica Acta. Part A. 2001. V. 57. P. 1839–1845.
19. *Svennerholm L.* // Methods in Carbohydrate Chem. 1972. V. 6. P. 464–474.
20. *Hope M.Y., Bally M.B., Cullis P.R.* // Biochim. Biophys. Acta. 1985. V. 812. P. 55–65.

Synthesis and Characteristics of Fluorescent BODIPY-Labeled Gangliosides

I. I. Mikhalyov[#] and Jul. G. Molotkovsky

[#] Phone: +7(095) 330-66-10; e-mail: imik@mail.ibch.ru

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP Moscow, 117997 Russia*

A series of new fluorescent-labeled gangliosides bearing the residues of acids labeled by 4,4-difluoro-4-bora-3 α ,4 α -diazas-indacene (BODIPY) in the polar or/and apolar moiety were synthesized. These are ganglioside GM1 labeled with the residue of 4,4-difluoro-4-bora-3 α ,4 α -diazas-5,7-dimethyl-*s*-indacenyl-3-propanoic (BODIPY-FL-propanoic) and -indacenyl-5-pentanoic (BODIPY-FL-pentanoic) acid in the oligosaccharide moiety of the molecule, and ganglioside GD1a labeled with two residues of BODIPY-FL-pentanoic acid in the oligosaccharide moiety and also with the residue of BODIPY-FL-pentanoic acid and the residue of 4,4-difluoro-4-bora-3 α ,4 α -diazas-5-octyl-*s*-indacenyl-5-pentanoic acid in the ceramide part of the molecule. Some spectral characteristics and the behavior in the model membrane systems of the synthesized probes were studied. In their emission spectra, the BODIPY-labeled gangliosides included into phosphatidylcholine liposomes at high concentrations (>1 mol %) exhibit a long-wavelength maximum (at ~630 nm) in addition to the usual maximum (at 510–515 nm). The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2003, vol. 29, no. 2; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: BODIPY fluorophore, fluorescence spectra, fluorescent gangliosides, membrane probes, synthesis