

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук

Лаборатория Углеводов

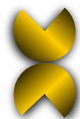
Северов Вячеслав Викторович

Синтез олиголактозаминов – лигандов галектинов

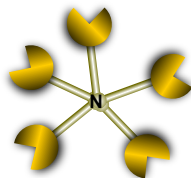
Диссертационная работа на соискание
ученой степени кандидата химических наук
по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Научный руководитель:
д.х.н., профессор Бовин Николай Владимирович

Введение



Прототип
(-1, -2, -5, -7, -10,
-11, -13, -14, -15)



Химера
(-3)



Тандем-тип
(-4, -6, -8, -9, -12)

- клеточная адгезия
- передача межклеточных сигналов
- медиаторы воспаления
- маркеры онкотрансформации
- хемоаттрактанты

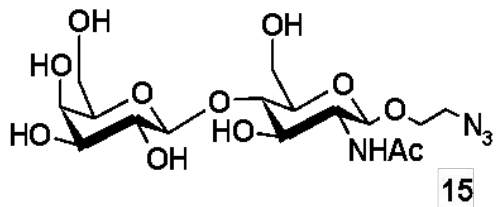
Цель работы:

- синтез олиголактозаминов и Le^c-содержащих олигосахаридов в виде спейсер-гликозидов;
- синтез флуоресцеин-меченых гликоконъюгатов и изучение углеводной специфичности галектинов в составе клеточной мембраны.

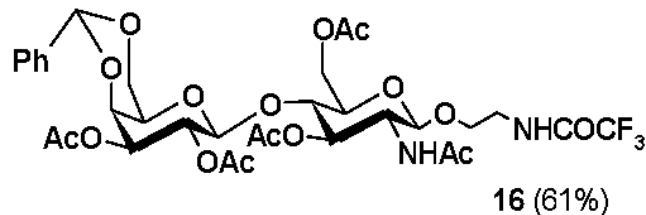
Целевые соединения

- GlcNAc β1-6Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 1
- GlcNAc β1-3Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 2
- GlcNAc β1-6Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 3
- GlcNAc β1-3Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 3
- Galβ1-4GlcNAc β1-6Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 4
- Galβ1-4GlcNAc β1-3Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 5
- Galβ1-4GlcNAc β1-6Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 6
- Galβ1-4GlcNAc β1-3Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 6
- Galβ1-4GlcNAc β1-6GlcNAc β1-3Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 7
- GlcNAc β1-6Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 8
- Galβ1-4GlcNAc β1-3Galβ1-4GlcNAc β1-3Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 9
- Galβ1-3GlcNAc β-O~NH₂ 10
- GlcNAc β1-3Galβ1-3GlcNAc β-O~NH₂ 11
- Galβ1-3GlcNAc β1-3Galβ1-3GlcNAc β-O~NH₂ 12
- Galβ1-3GlcNAc β1-3Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 13
- Galβ1-3GlcNAc β1-6Galβ1-4GlcNAc β-O~NH₂ 14

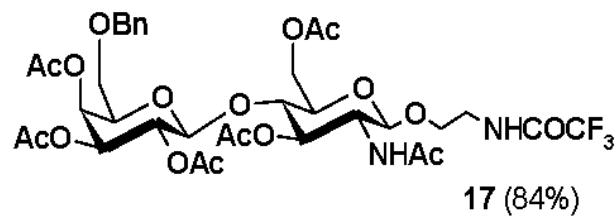
Синтез лактозаминовых гликозилакцепторов



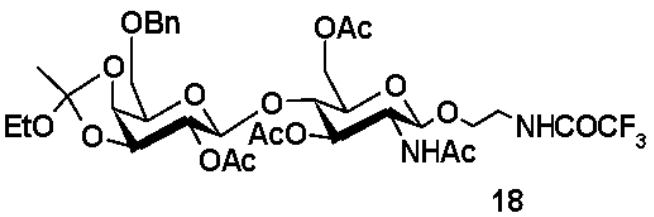
a, b, c, d



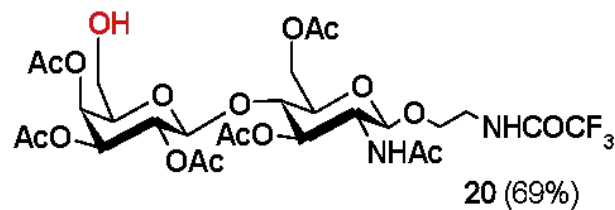
e, d



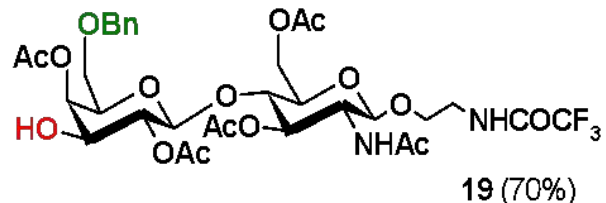
f, g, d



a

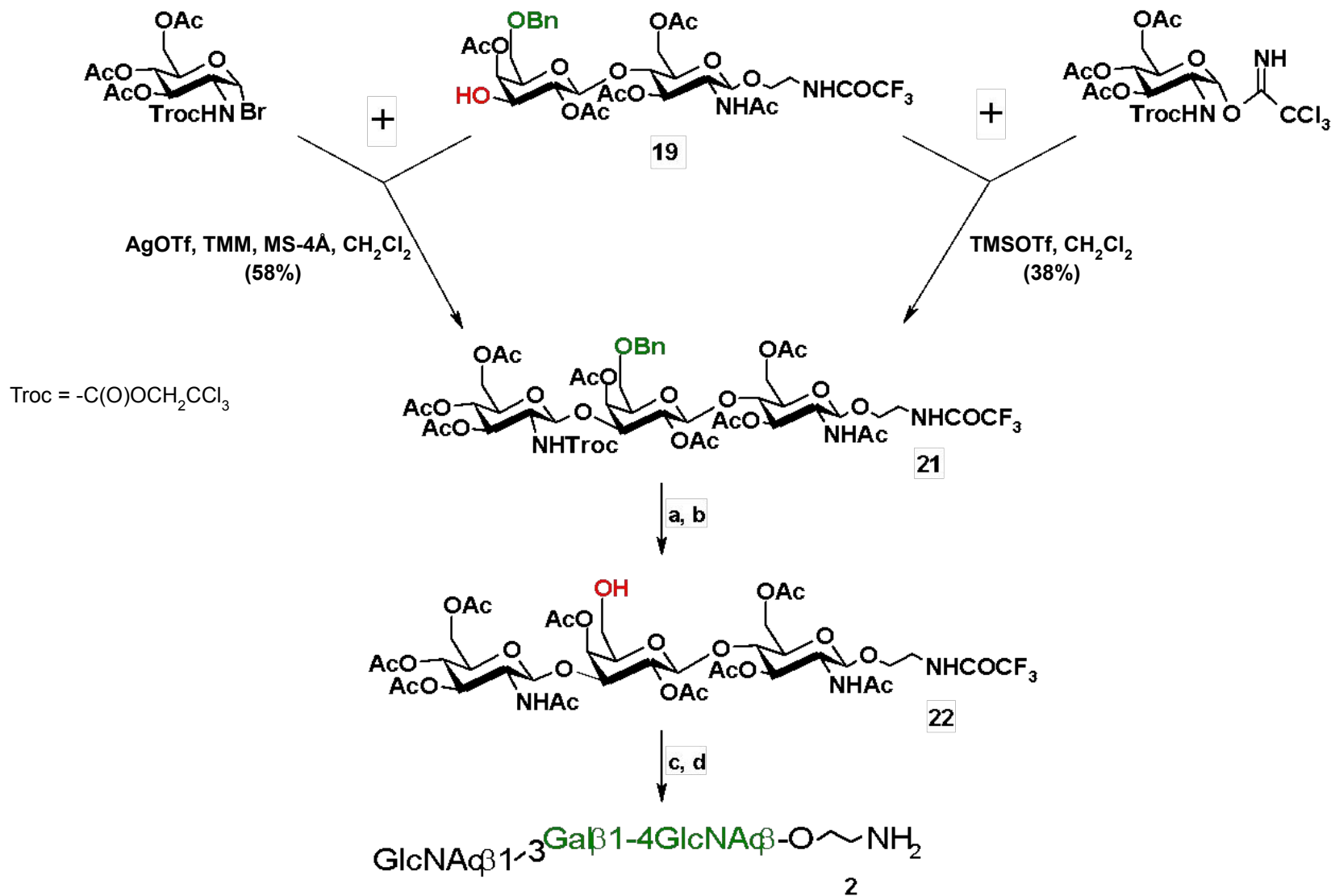


h



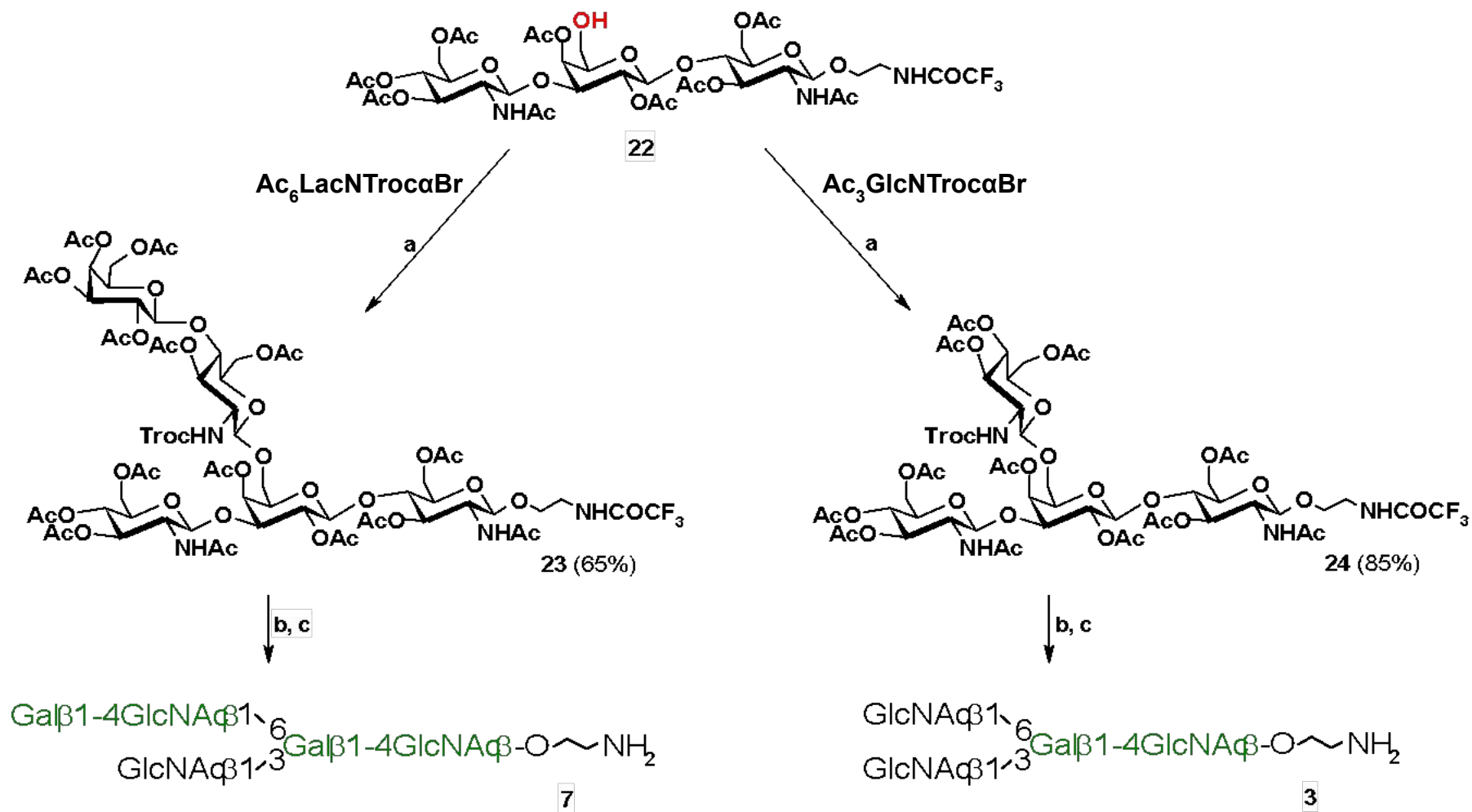
- a*: 10% Pd/C, H₂, MeOH/H₂O;
- b*: CF₃COOCH₃, NEt₃, MeOH;
- c*: PhCH(OCH₃)₂, TsOH, MeCN;
- d*: Ac₂O/Py;
- e*: NaCNBH₃, HCl/Et₂O;
- f*: MeONa/MeOH;
- g*: CH₃C(OEt)₃, TsOH, MeCN;
- h*: 80% водн. AcOH.

Выбор метода гликозилирования



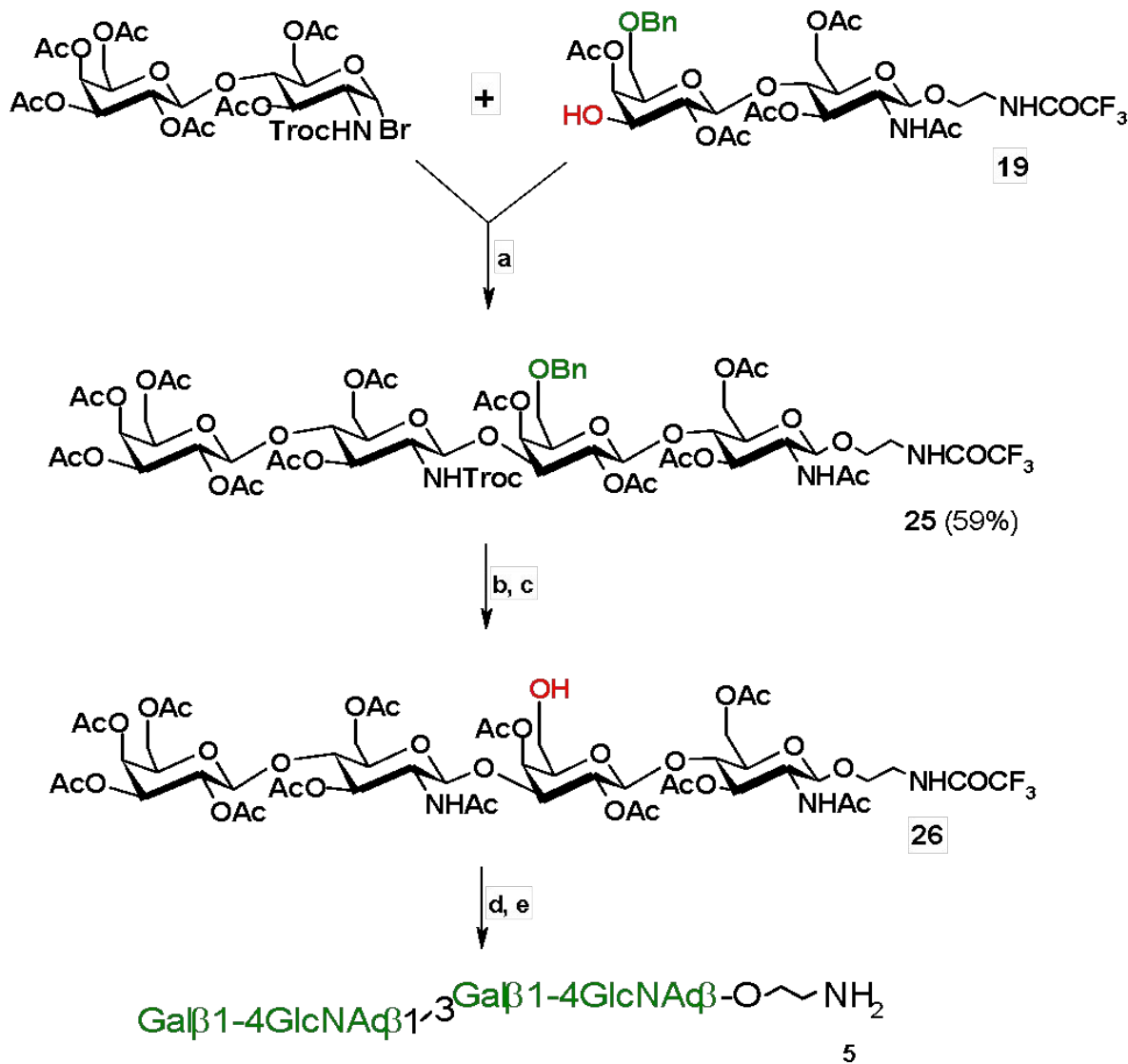
a: Zn, AcOH/Ac₂O/NEt₃ (74%); b: 10% Pd/C, H₂, MeOH (85%); c: Ac₂O/Py (85%); d: 1. MeONa/MeOH, 2. NaOH/H₂O (98%).

Синтез разветвленных олигосахаридов 3 и 7



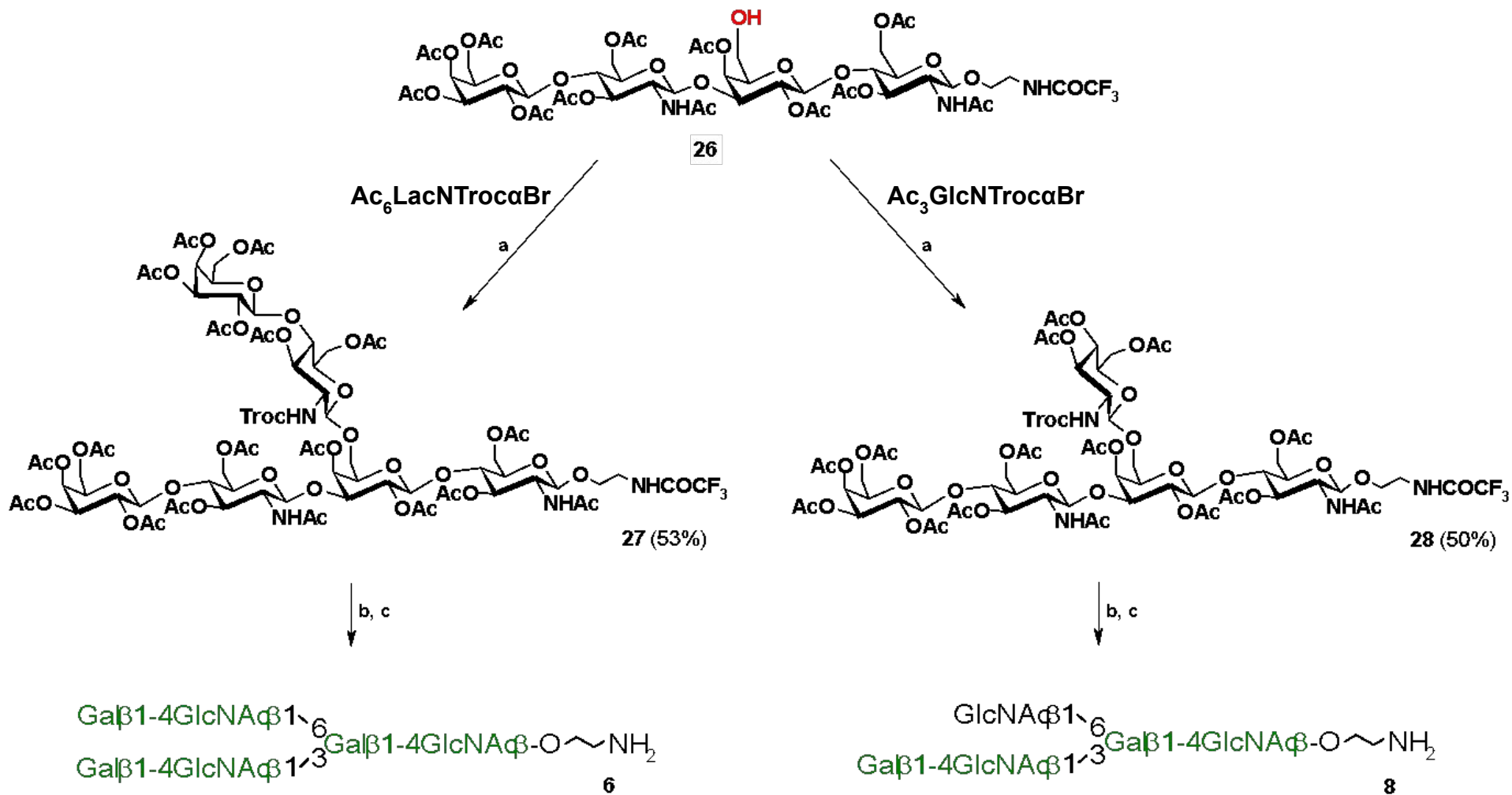
a: AgOTf, TMM, MS-4Å, CH_2Cl_2 ; b: Zn, AcOH/Ac₂O/ NEt_3 (50%); c: 1. MeONa/MeOH, 2. NaOH/ H_2O (95%).

Синтез дилактозамина 5



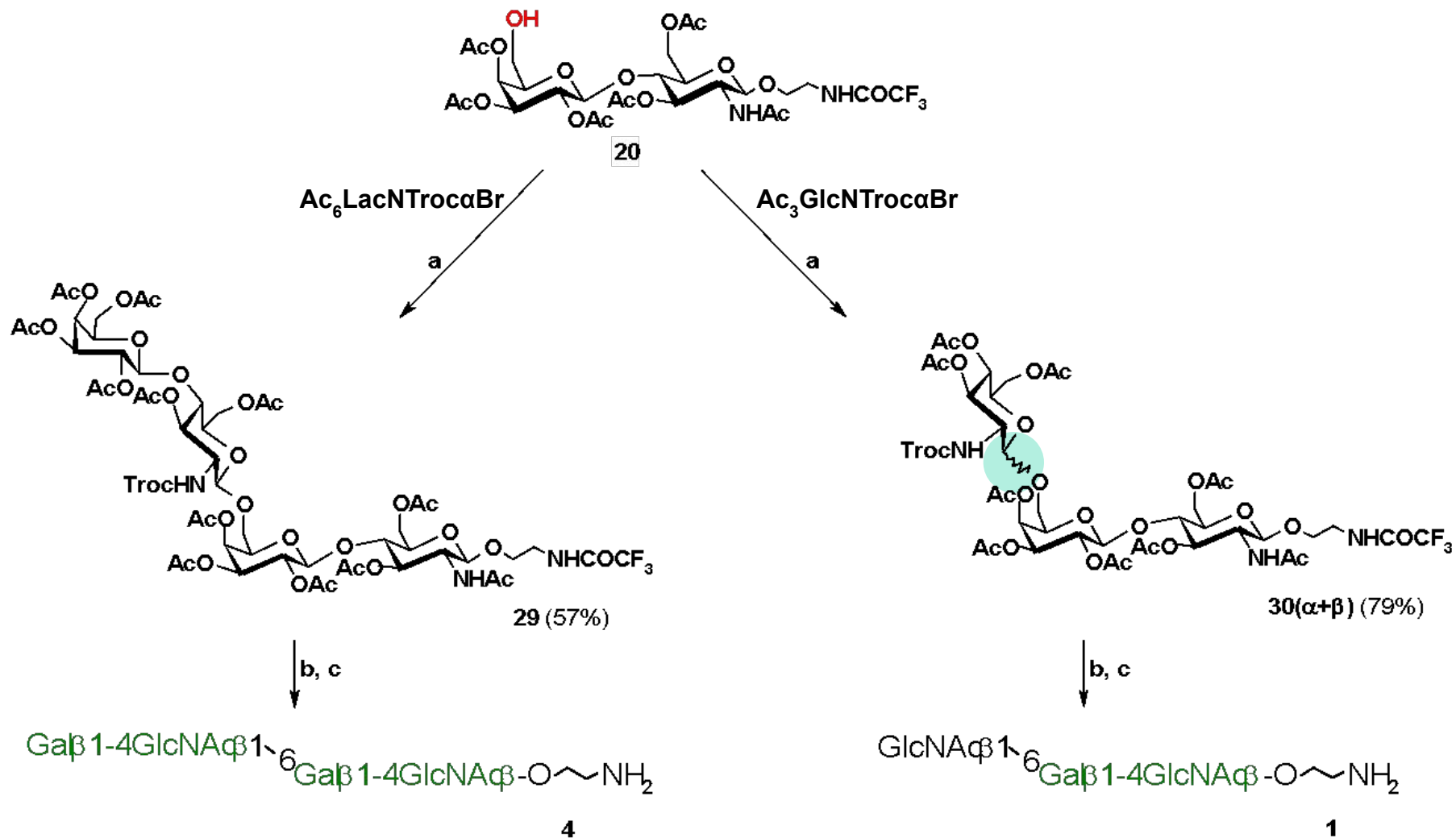
a: AgOTf, TMM, MS-4Å, CH₂Cl₂; b: Zn, AcOH/Ac₂O/NEt₃ (73%); c: 10% Pd/C, H₂, MeOH (73%); d: Ac₂O/Py (90%); e: 1. MeONa/MeOH, 2. NaOH/H₂O (96%).

Синтез разветвленных олигосахаридов 6 и 8



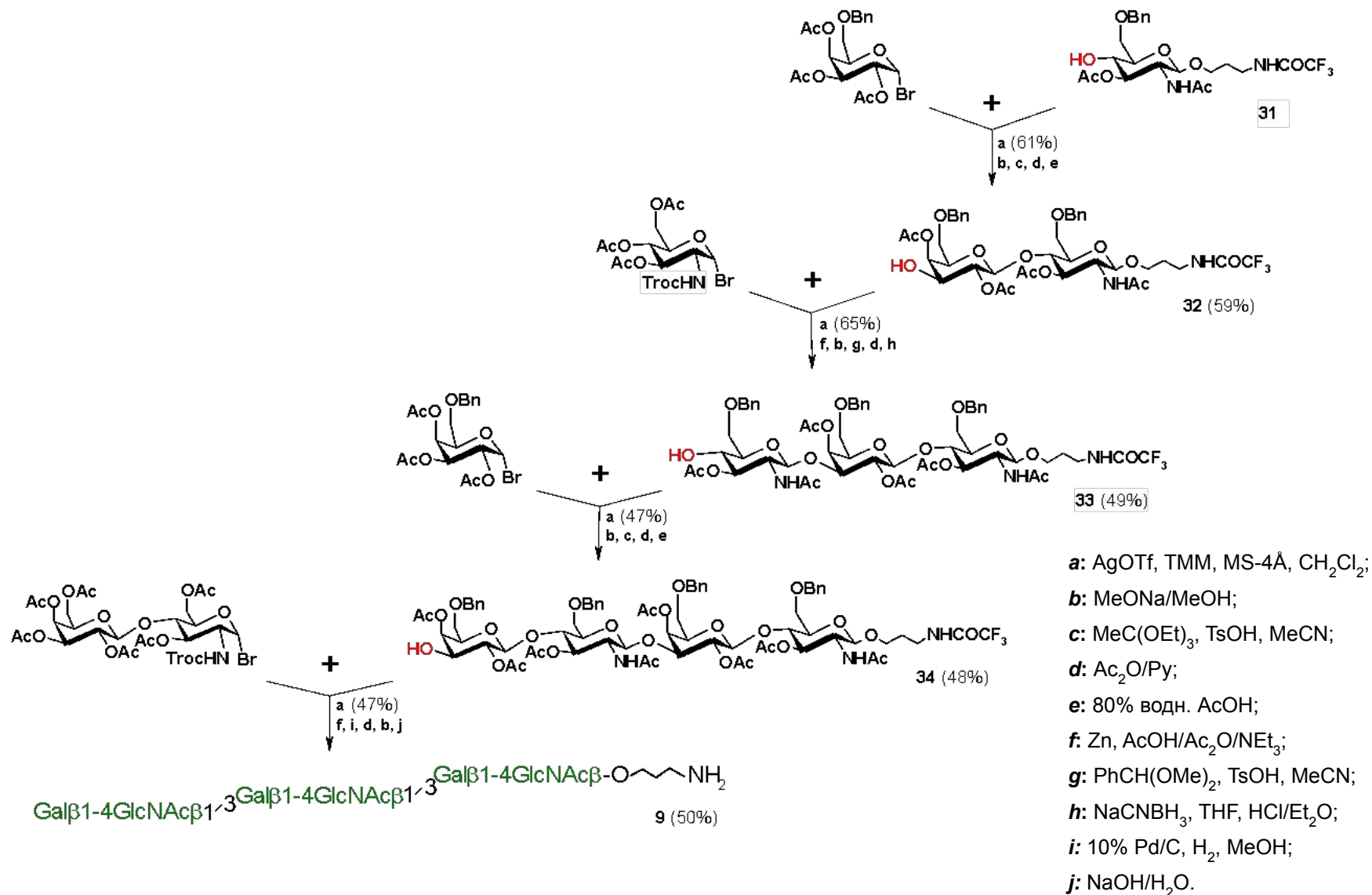
a: AgOTf, TMM, MS-4Å, CH_2Cl_2 ; b: Zn, AcOH/ Ac_2O /NEt₃ (60%); c: 1. MeONa/MeOH, 2. NaOH/ H_2O (95%).

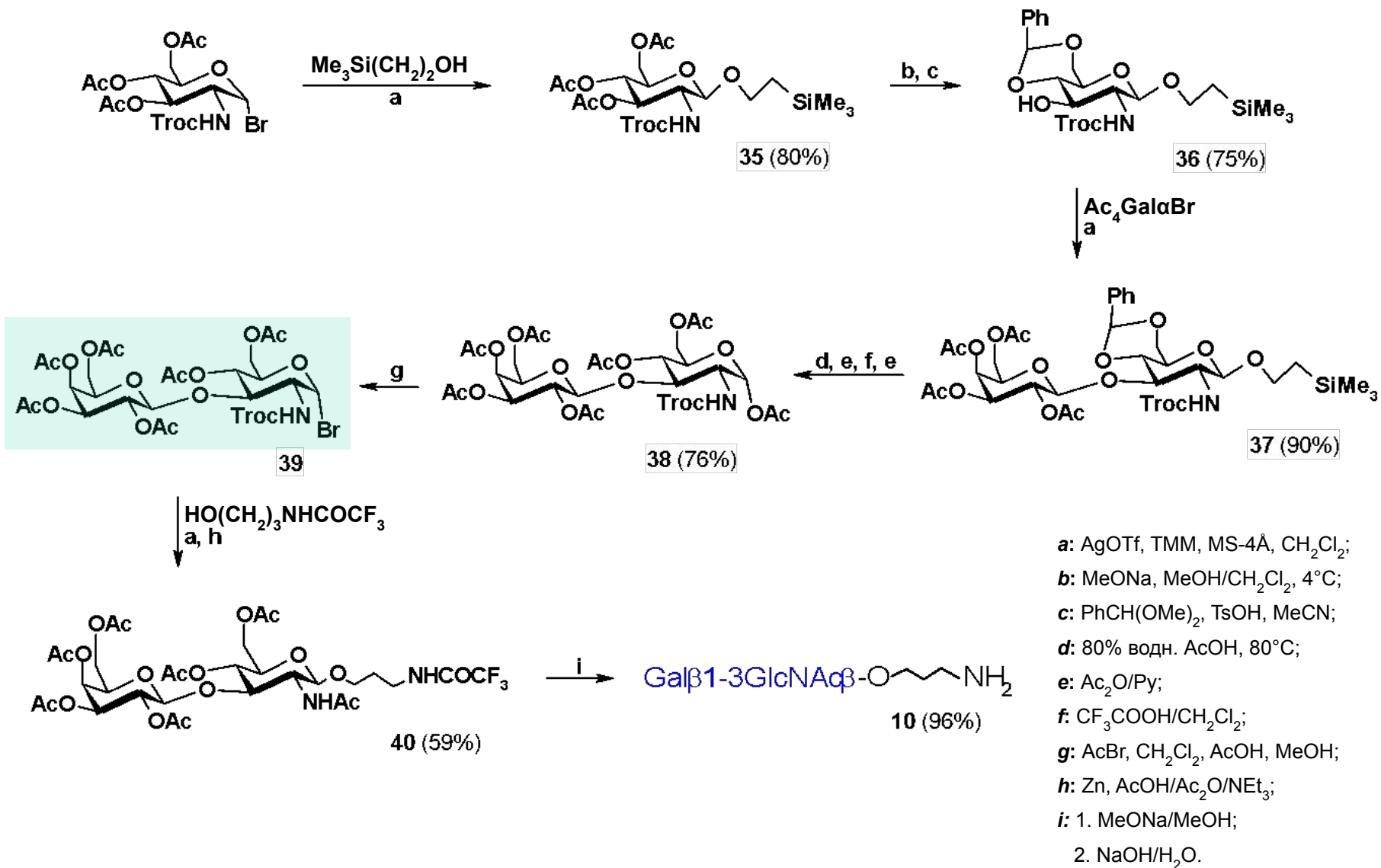
Синтез 1-6-замещенных олигосахаридов 1 и 4



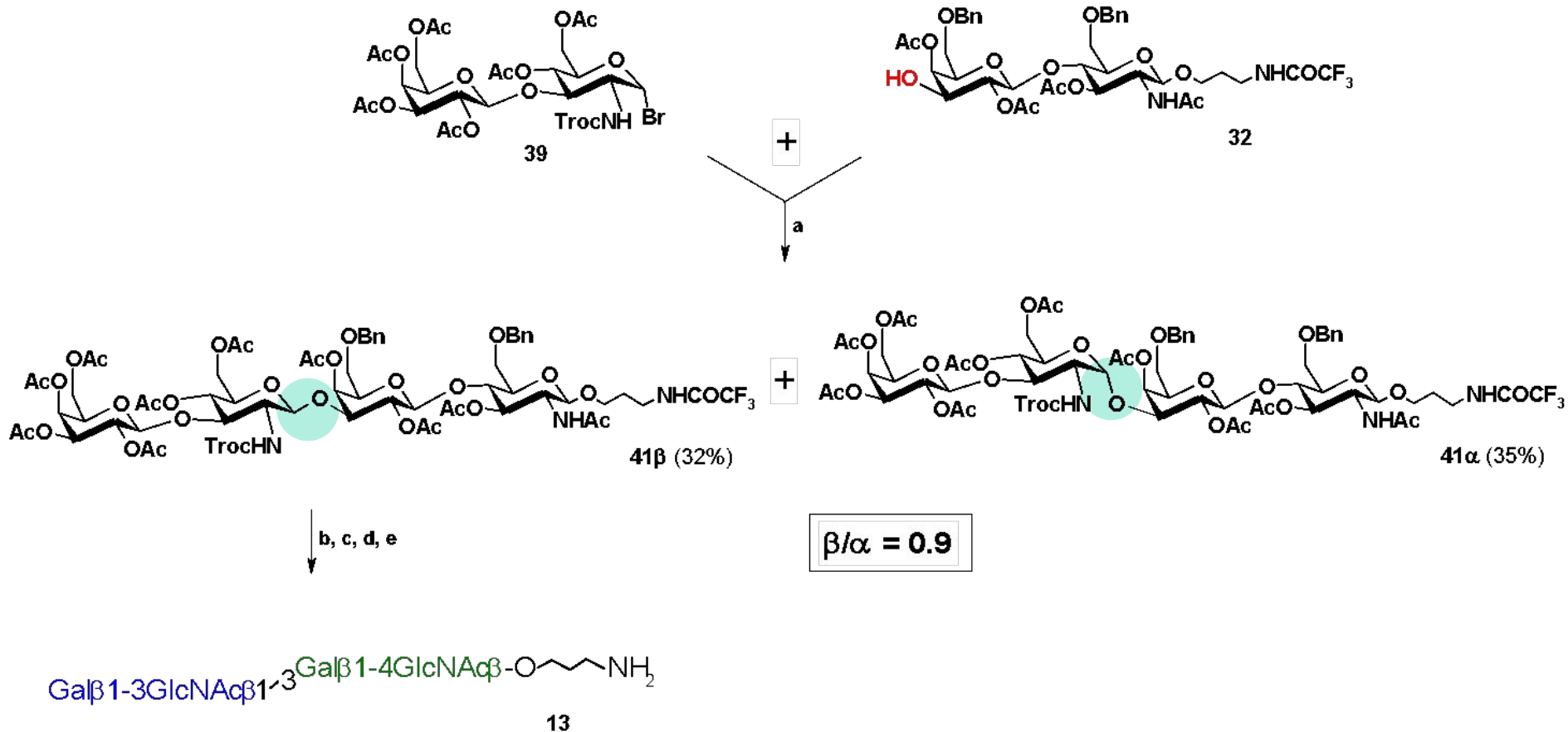
a: AgOTf, TMM, MS-4Å, CH₂Cl₂; b: Zn, AcOH/Ac₂O/NEt₃ (65%); c: 1. MeONa/MeOH, 2. NaOH/H₂O (95%).

Синтез линейного трилактозамина



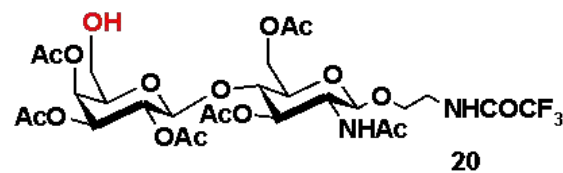
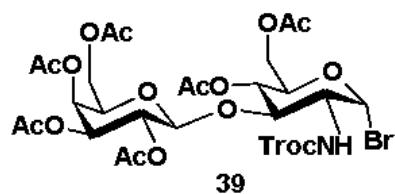
Синтез Le^c-гликозилдонора

Синтез тетрасахарида 13



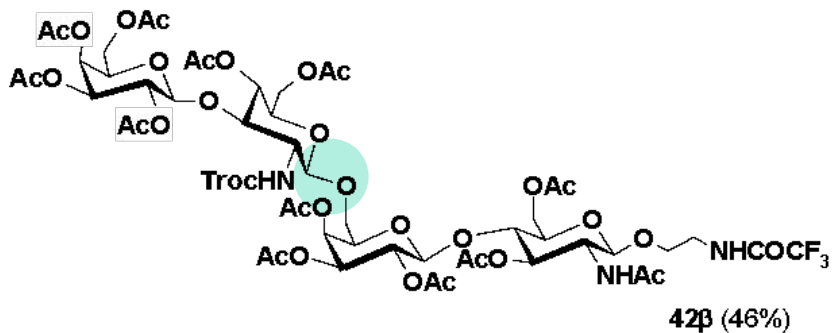
a: AgOTf, TMM, MS-4Å, CH₂Cl₂; **b:** Zn, AcOH/Ac₂O/NEt₃ (81%); **c:** 10% Pd/C, H₂, MeOH; **d:** Ac₂O/Py (76%); **e:** 1. MeONa/MeOH, 2. NaOH/H₂O (87%).

Синтез тетрасахарида 14

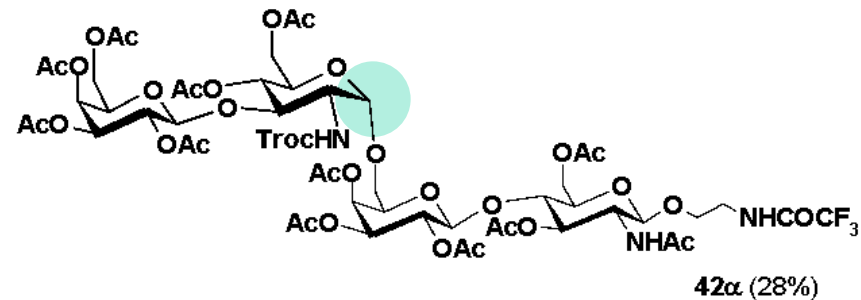


+

a



+

 $\beta/\alpha = 1.6$

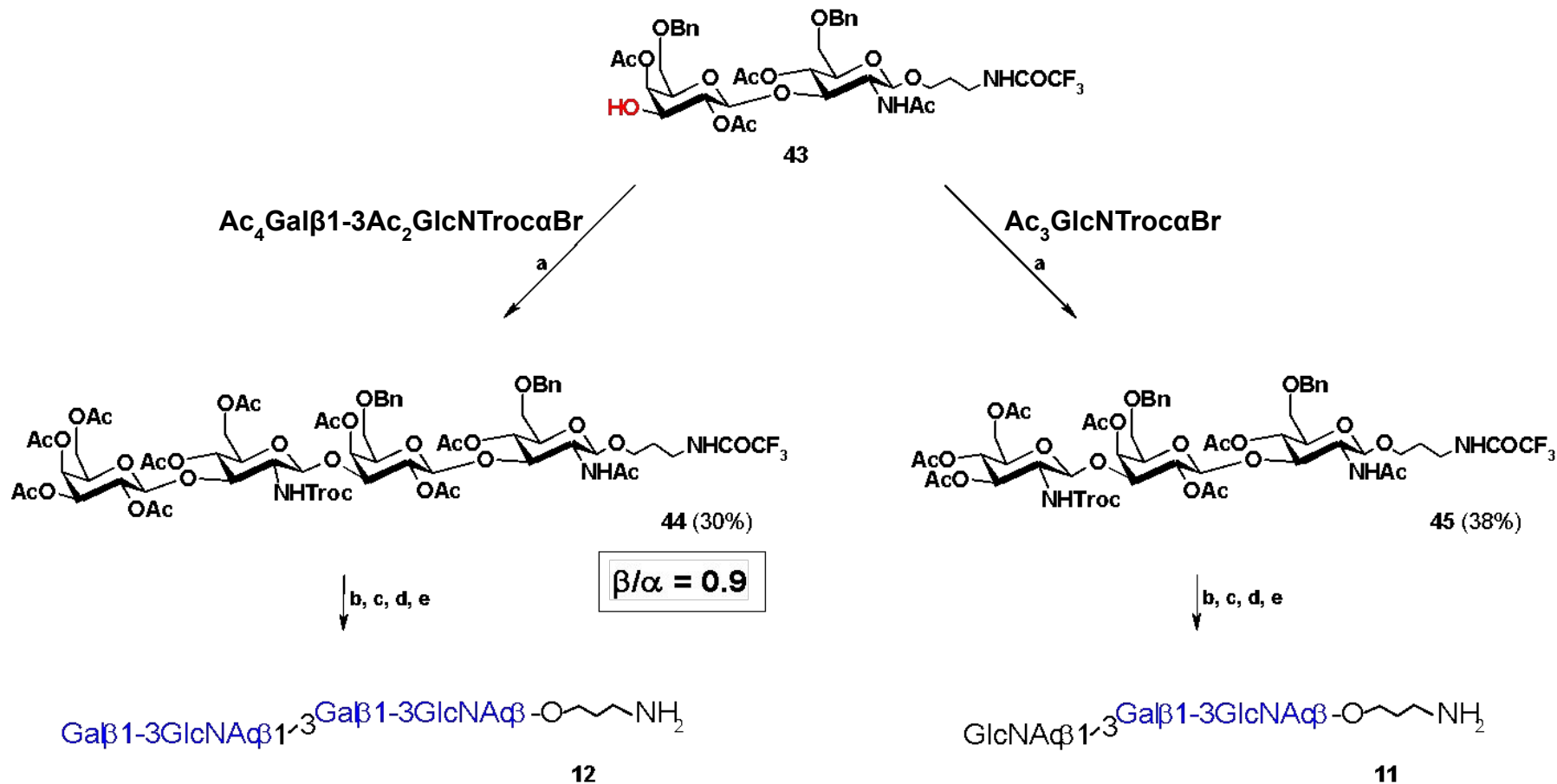
b, c



14

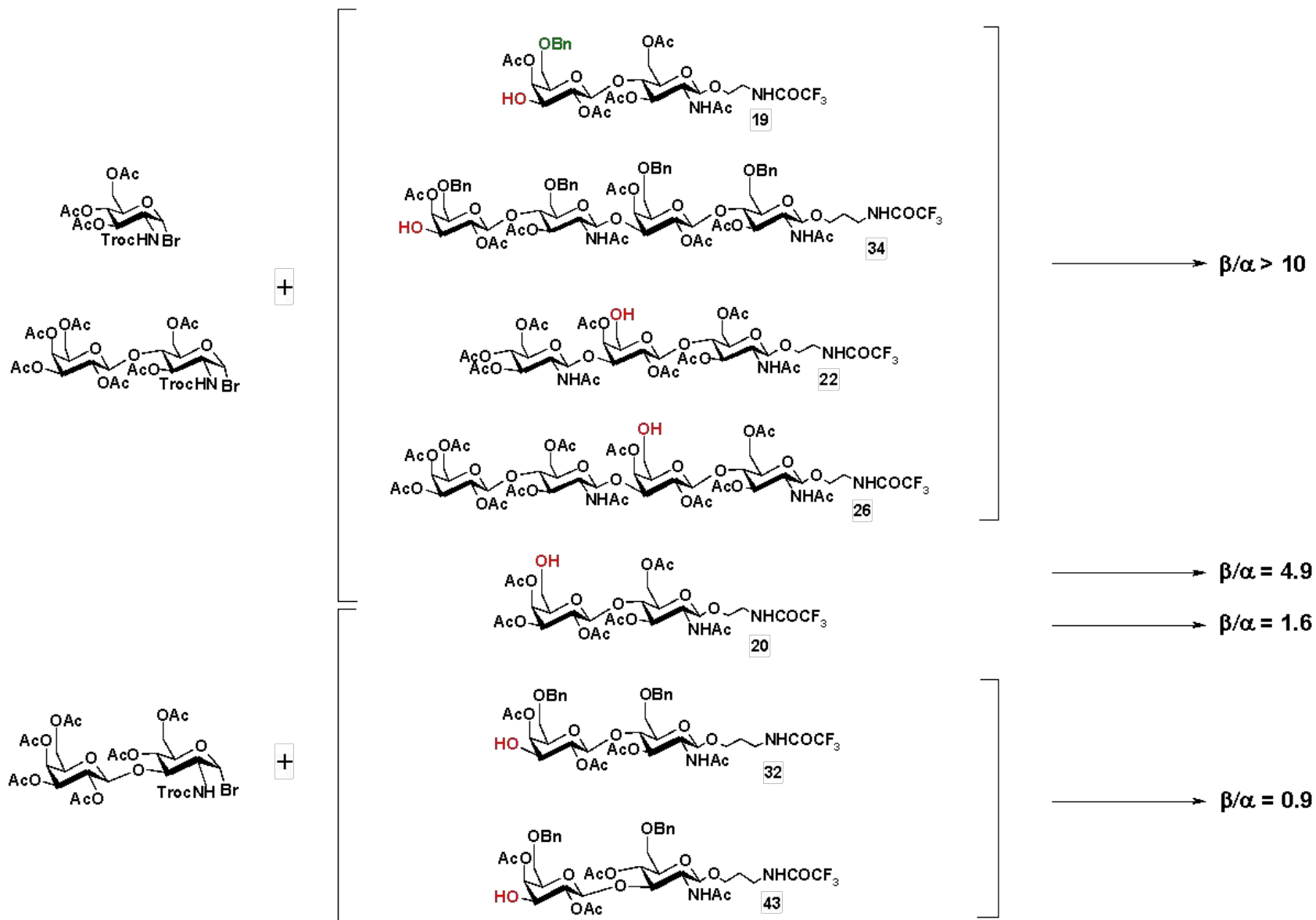
a: AgOTf, TMM, MS-4Å, CH₂Cl₂; b: Zn, AcOH/Ac₂O/NEt₃ (52%); c: 1. MeONa/MeOH, 2. NaOH/H₂O (92%).

Синтез олигосахаридов 11 и 12

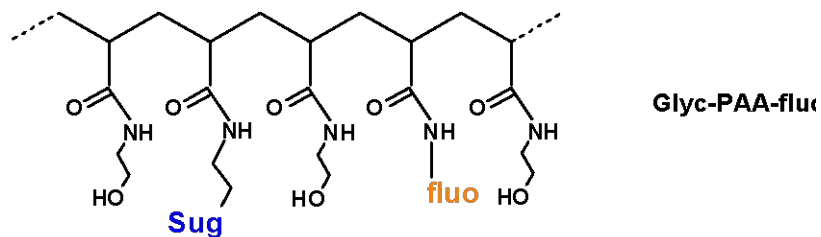
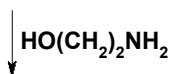
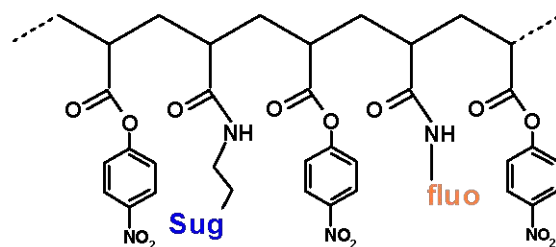
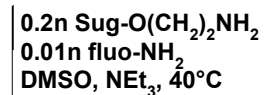
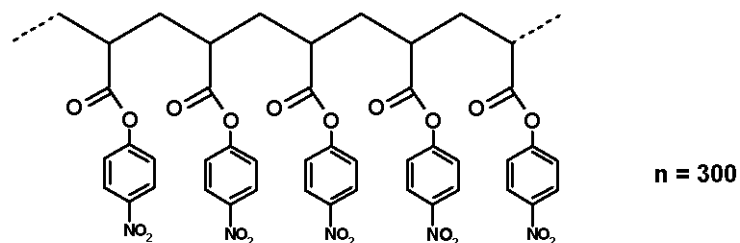


a: AgOTf, TMM, MS-4Å, CH₂Cl₂; b: Zn, AcOH/Ac₂O/NEt₃ (70%); c: 10% Pd/C, H₂, MeOH; d: Ac₂O/Py (80%); e: 1. MeONa/MeOH, 2. NaOH/H₂O (95%).

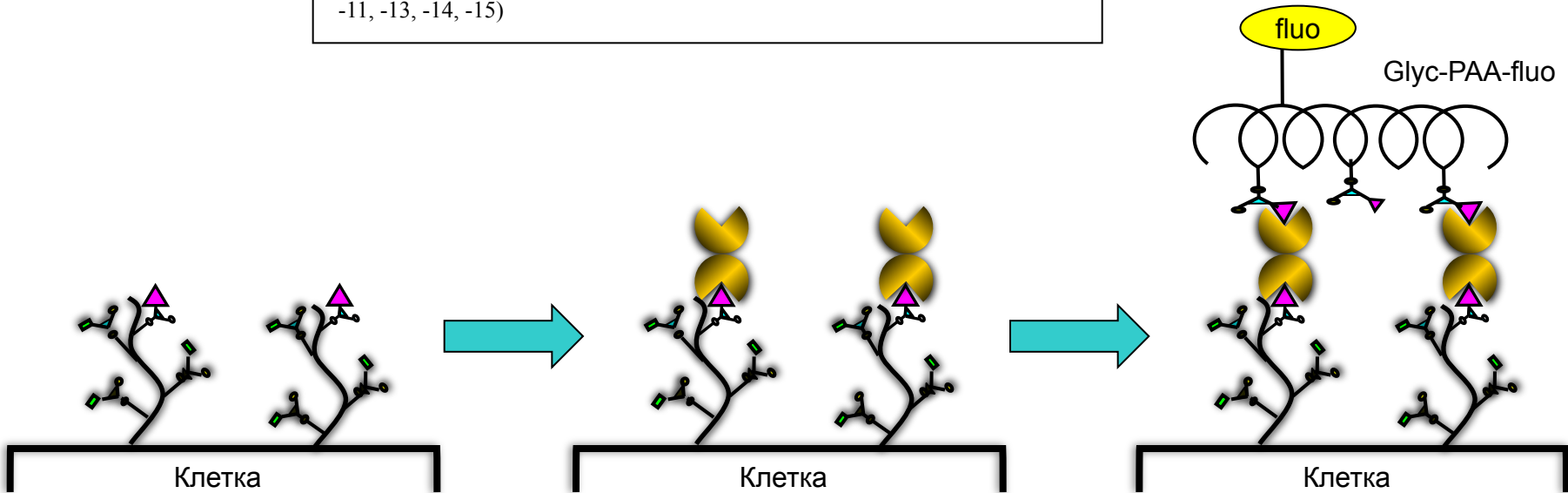
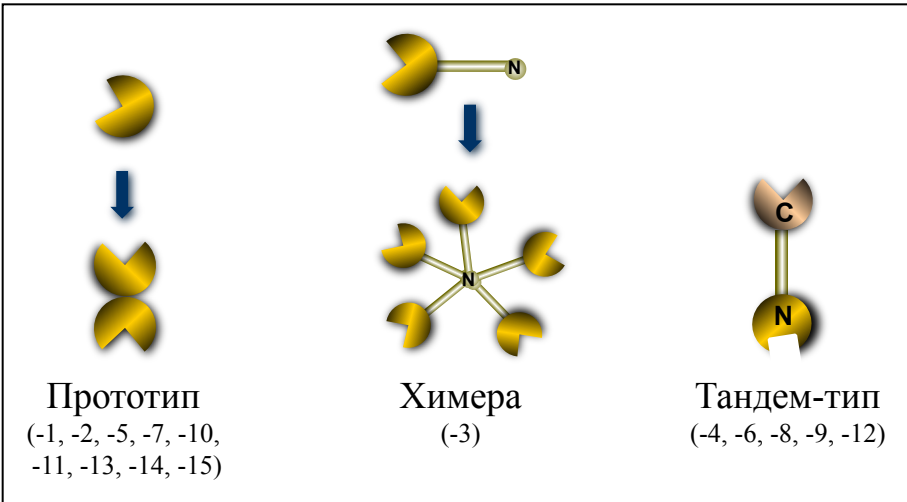
Сравнение стереоселективности гликозилирования лактозаминным и Le^C донорами



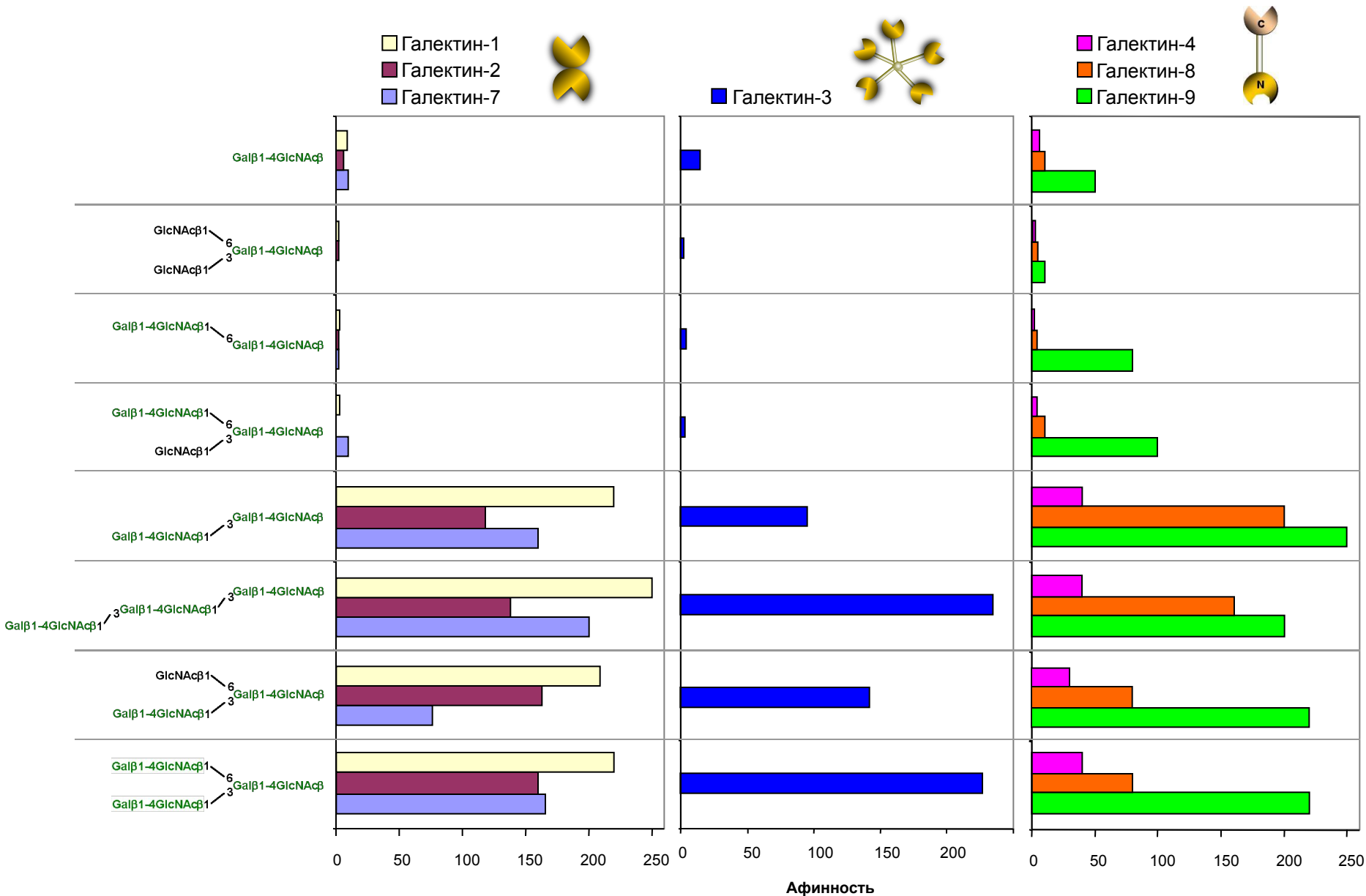
Синтез флуоресцентных полиакриламидных ГЛИКОКОНЪЮГАТОВ



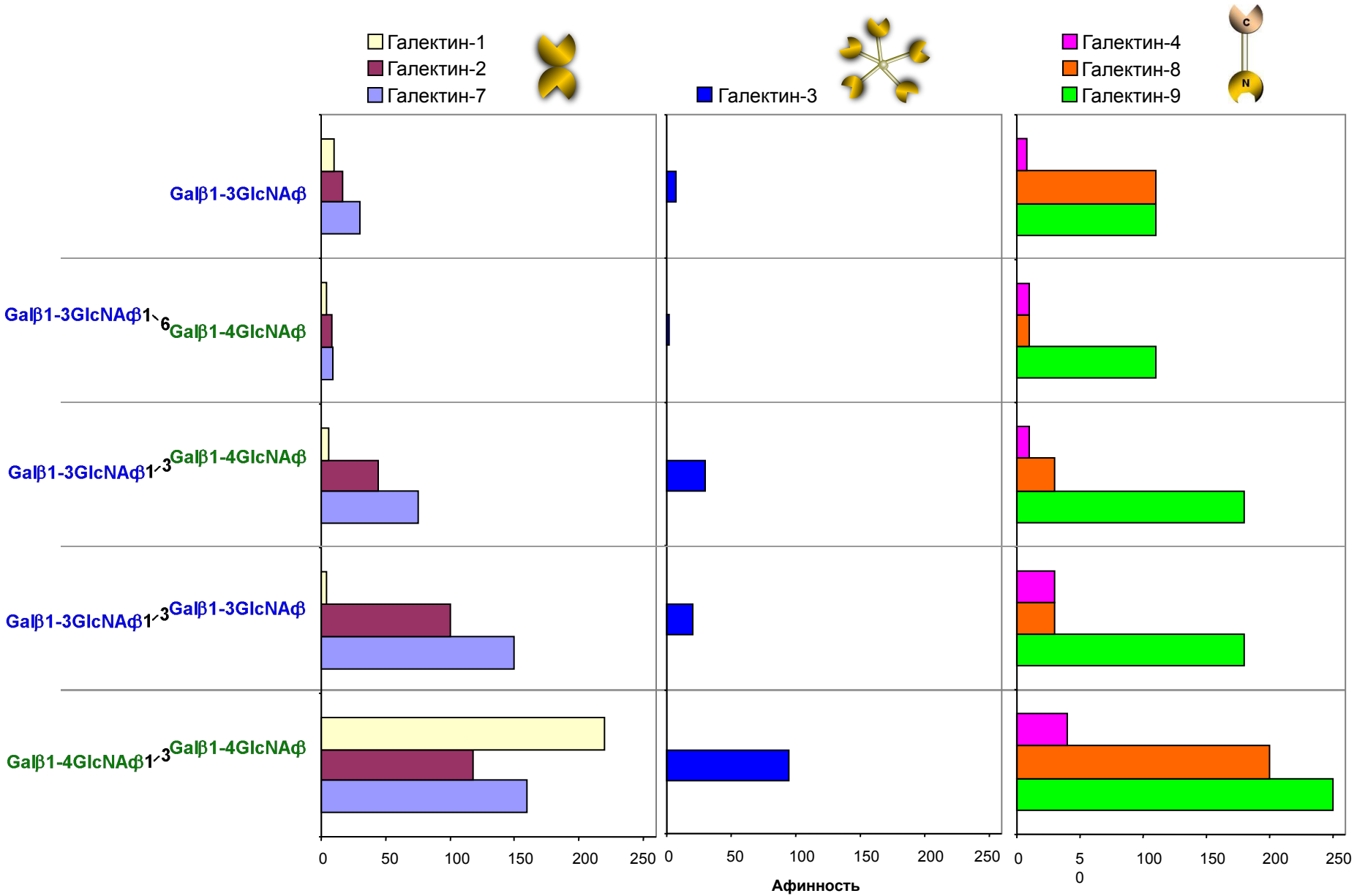
Изучение лигандной специфичности галектинов в составе клеточной мембраны



Углеводная специфичность галектинов в составе клеточной мембраны. Связывание с олиголактозаминами.

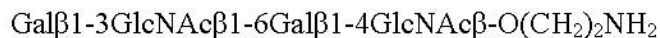
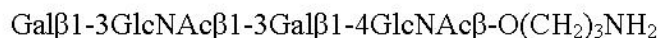
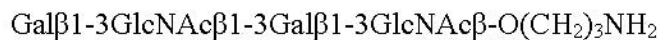
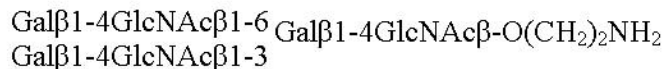
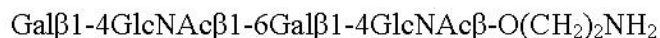
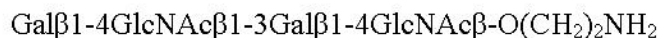
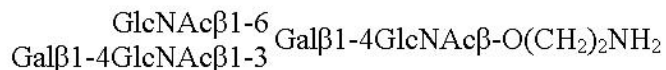
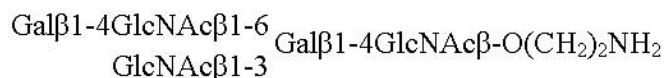
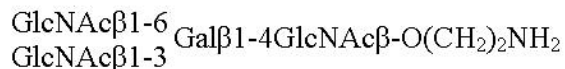
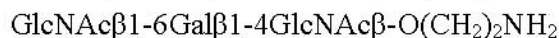
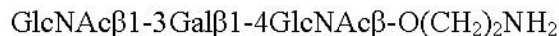


Углеводная специфичность галектинов в составе клеточной мембраны. Связывание с Le^c-содержащими олигосахаридами.



Выводы

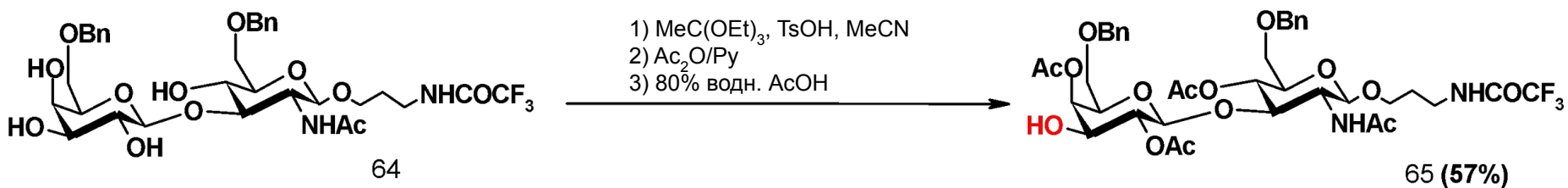
1. Синтезированы (в виде 2-аминоэтил- или 3-аминопропилгликозидов) линейные и разветвленные олиголактозамины, а также Le^c-содержащие олигосахариды:



2. Показано, что эффективность гликозилирования Le^c-гликозилдонором ниже, чем лактозаминным.

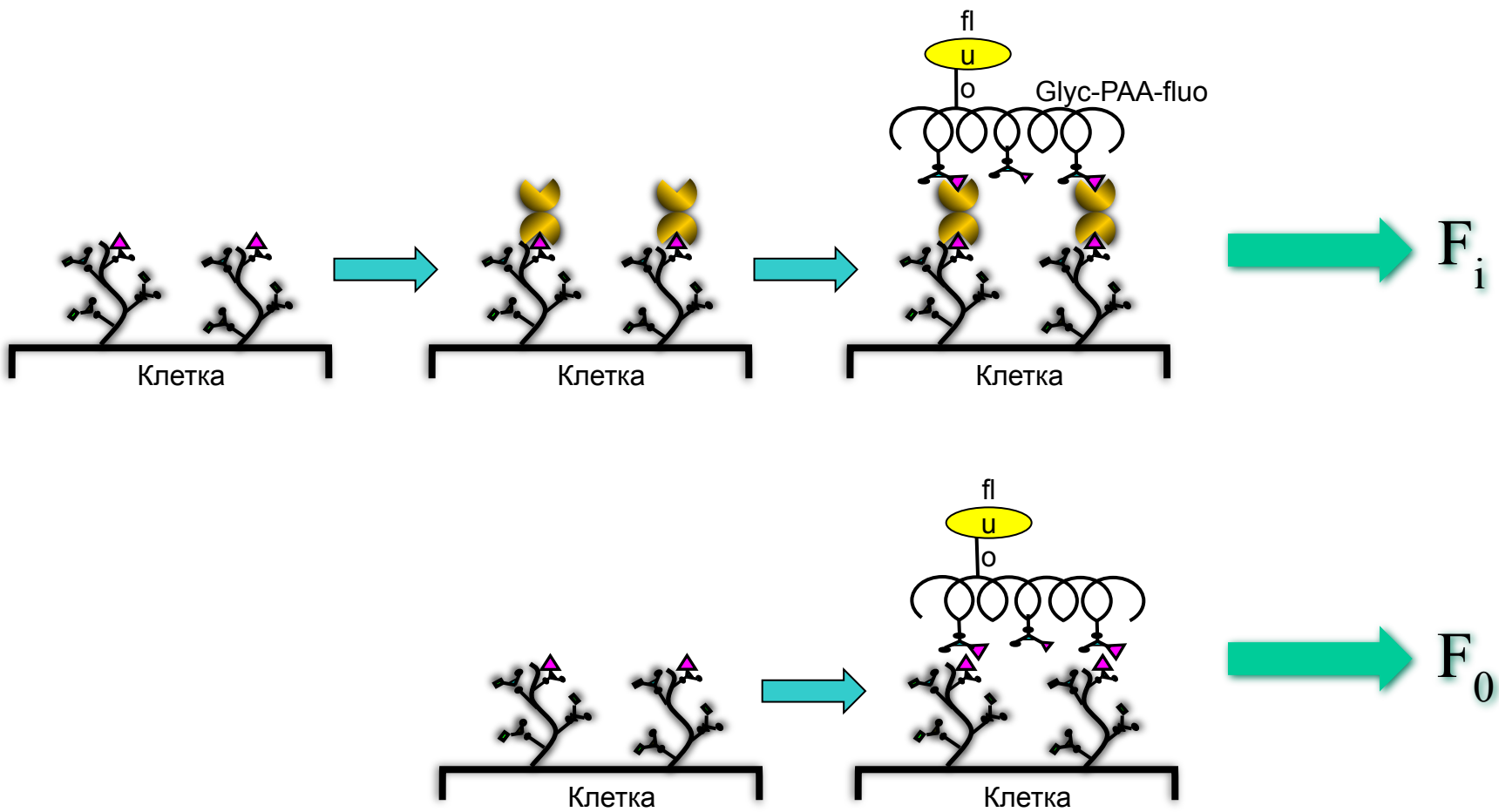
3. Синтезированы флуоресцеин-меченые гликоконъюгаты всех полученных олигосахаридов, с помощью которых исследована углеводная специфичность галектинов-1, -2, -3, -4, -7, -8, -9 в составе клеточной мембраны. Показано, что галектины предпочтительнее связываются с олиголактозаминами, чем с соответствующими Le^c-содержащими гликанами.

Синтез Le^c-гликозилакцептора



Аффинность галектинов

$$F_i/F_0, \%$$



Список публикаций

Статьи в рецензируемых журналах

1. В.В. Северов, И.М. Белянчиков, Г.В. Пазынина, Н.В. Бовин. Синтез *N*-ацетиллактозаминсодержащих олигосахаридов – лигандов галектинов// Биоорг. Химия, 2007, Т. 33, стр. 131–147.
2. Г.В. Пазынина, В.В. Северов, Н.В. Бовин. Синтез линейного трилактозамина// Биоорг. Химия, 2008, Т. 34, стр. 696–730.
3. В.В. Северов, Г.В. Пазынина, Т.В. Овчинникова, Н.В. Бовин. Синтез олигосахаридов, содержащих внутренний и терминальный фрагмент Gal β 1-3GlcNAc β // Биоорг. Химия, 2015, Т. 41, стр. 1-15.
4. E. M. Rapoport, S. André, O. V. Kurmyshkina, T. V. Pochechueva, V. V. Severov, G. V. Pazynina, H.-J. Gabius, N. V. Bovin. Galectin-Loaded Cells as a Platform for the Profiling of Lectin Specificity by Fluorescent Neoglycoconjugates: a Case Study on Galectins-1 and -3 and the Impact of Assay Setting// Glycobiology, 2008, Vol. 18, pp. 315–324.
5. О.А. Вохмянина, Е.М. Рапопорт, И.М. Рыжов, Е.Ю. Корчагина, Г.В. Пазынина, В.В. Северов, Г. Кальтнер, С. Андре, Г.-И. Габиус, Н.В. Бовин. Углеводная специфичность куриного и человеческого галектинов-8 в составе клеток// Биохимия, 2011, Т. 76, стр. 1452-1460.
6. О.А. Vokhmyanina, E.M. Rapoport, S. Andre, V.V. Severov, I.M. Ryzhov, G.V. Pazynina, E.Yu. Korchagina, H.-J. Gabius, N.V. Bovin. Comparative study of the glycan specificities of cell-bound human tandem-repeat-type galectin-4, -8, and -9// Glycobiology, 2012, Vol. 22, pp. 1207–1217.
7. E.M. Rapoport, V.K. Matveeva, H. Kaltner, S. Andre, O.A. Vokhmyanina, G.V. Pazynina, V.V. Severov, I.M. Ryzhov, E.Yu. Korchagina, I.M. Belyanchikov, H.-J. Gabius, N.V. Bovin. Comparative lectinology: delineating glycan-specificity profiles of the chicken galectins using neoglycoconjugates in a cell assay// Glycobiology, 2015, doi: 10.1093/glycob/cwv012.

Тезисы докладов на конференциях

1. V.V. Severov, G.V. Pazynina, N.V. Bovin. Synthesis of *N*-acetyllactosamine-containing oligosaccharides – galectin ligands// 10th European Training Course on Carbohydrates, Wageningen, 9–12 June 2008. Book of Abstracts, p. 58.
2. О.А. Курмышкина, Е.М. Рапопорт, В.В. Северов, Г.В. Пазынина, Н.В. Бовин. Specificity of galectin-1 in cell composition// Meeting of the Society for glycobiology, 15-19 November, 2006, Los-Angeles, CA. Glycobiology, 2006, V.16, p. 85.
3. Е.М. Рапопорт, О.В. Курмышкина, Г.В. Пазынина, В.В. Северов, Е.Ю. Корчагина, Е.В. Моисеева, Н.В. Бовин. Галектины: углеводная специфичность в составе клетки и роль в лектин-зависимом фагоцитозе// VIII чтения, посвященные памяти академика Ю. А.Овчинникова, 25-27 октября 2006 г., Тезисы докладов, стр. 26.
4. N.V. Bovin, O.A. Kurmyshkina, V.V. Severov, E.M. Rapoport. Unusual specificity of cell-bound galectins// XIX th International symposium on glycoconjugates, 15-20 July, 2007, Cairns, Australia.

Благодарности

- Научному руководителю заведующему лабораторией углеводов профессору Бовину Николаю Владимировичу
- Пазыниной Галине Валентиновне
- Е.А. Гордеевой, Е.М. Рапопорт, О.А. Вохмяниной
- Е.Ю. Корчагиной, М.А. Саблиной, А.Б. Тузикову
- Всему коллективу лаборатории углеводов ИБХ РАН
- Г.Е. Позмоговой и всему коллективу лаборатории искусственного антителогенеза НИИ ФХМ
- Л.О. Кононову, А.Е. Землякову, А.А. Кульминской, В.М. Лахтину
- Моей семье и друзьям