

# Synthetische Oligosaccharide und Neoglykokonjugate

Werkzeuge der molekularen Analyse der Lektinerkennung und der Tumordiagnostik

Synthetic Oligosaccharides and Neoglycoconjugates

Tools for Molecular Analysis of Lectin Recognition and for Tumor Diagnosis

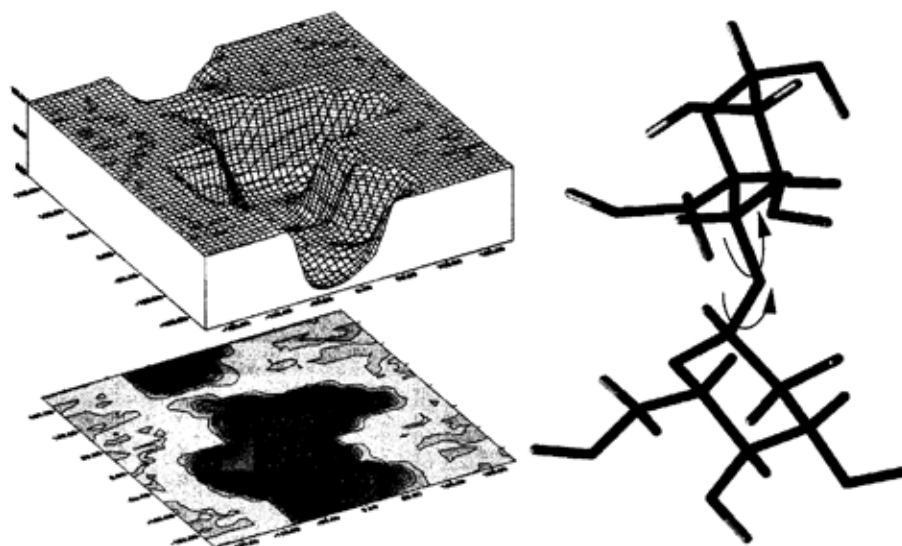


Abb. 1: Darstellung des Energiepotentialraumes der theoretisch möglichen Konformationen eines Disaccharides

Protein-Zucker-Erkennung ist an vielen medizinisch relevanten Prozessen beteiligt. Die rationale klinische Nutzung dieser Erkenntnis wird durch die molekulare Analyse der Interaktion definierter Oligosaccharide mit ihren Rezeptoren (Lektinen) erleichtert. Durch Kombination von gezielter Zuckersynthese, computer-gestützten Modellrechnungen und NMR-Messungen werden Strukturparameter bestimmt, die z. B. für die Optimierung diagnostischer Methoden hilfreich sein können. Der Stand ihrer gegenwärtigen Anwendung wird für trägerimmobilisierte Zuckerliganden (Neoglykokonjugate) im Bereich der Tumordiagnostik illustriert.

## Einleitung

Biologische Informationsübertragung ist an molekulare Codesysteme gebunden. Wenn zusätzlich zur Sequenz der Einzelbuchstaben ihre Verknüpfung nach strikten Regeln variiert werden kann, erreicht die theoretisch mögliche Kapazität der Informationsspeicherung bei Oligomeren enor-

me Größenordnungen. Die bekannten Möglichkeiten der Bildung der glykosidischen Bindung über unterschiedliche Hydroxylgruppen und anomere Stellungen erklären die vergleichsweise hohe Potenz der Oligosaccharide von Glykokonjugaten, Erkennungsprozesse als Liganden steuern zu können [1, 2]. Als Rezeptoren fungieren zuckerbindende Proteine, die in Lektine, Antikörper und Enzyme eingeteilt werden. Die hierdurch etablierte Protein-Zucker-Erkennung ist an vielfältigen physiologischen Abläufen beteiligt, z. B. der intrazellulären Sortierung von Glykoproteinen oder zahlreichen Zelladhäsionsvorgängen, an denen Viren, Bakterien und

Protein-carbohydrate recognition is involved in diverse processes with medical relevance. Its rational clinical application can be advanced by the molecular analysis of the interaction between custom-made oligosaccharides and the respective tissue receptors, i.e. lectins. The combination of oligosaccharide synthesis, computer-assisted molecular modeling and NMR-experiments is instrumental to define structural parameters, which will be pertinent to optimize e.g. diagnostic procedures. The practical side of this principle is illustrated with respect to tumor diagnosis employing carrier-immobilized neoglycoconjugates.

unterschiedliche Typen von körpereigenen Zellen beteiligt sind. Somit verspricht ihre Analyse für grundlagen- und anwendungsbezogene Forschung fruchtbar zu werden [1, 2]. Sie setzt bei der Entschlüsselung der räumlichen Konfiguration des Liganden in Lösung ein. Für die Bestimmung solcher Bindungsparameter ist die Kombination von computergestützten Modellrechnungen und NMR-spektroskopischen Verfahren geeignet.

## Molecular Modeling und NMR-Spektroskopie

Wie im Falle von Peptiden, wird die Flexibilität der Oligosaccharidkonformationen

H.-J. Gabius<sup>1</sup>  
S. André<sup>1</sup>  
H. Kaltner<sup>1</sup>  
H.-Ch. Siebert<sup>1</sup>  
G. Kayser<sup>2</sup>  
C.-W. von der Lieth<sup>2</sup>  
N. V. Bovin<sup>3</sup>  
U. Brinck<sup>4</sup>  
K. Kayser<sup>5</sup>  
J. F. G. Vliegenthart<sup>6</sup>

DIE AUTOREN

## KEYWORDS

Lektine, Neoglykokonjugate, NMR-Spektroskopie, Tumordiagnostik

lectins, neoglycoconjugates, NMR-spectroscopy, tumor diagnosis

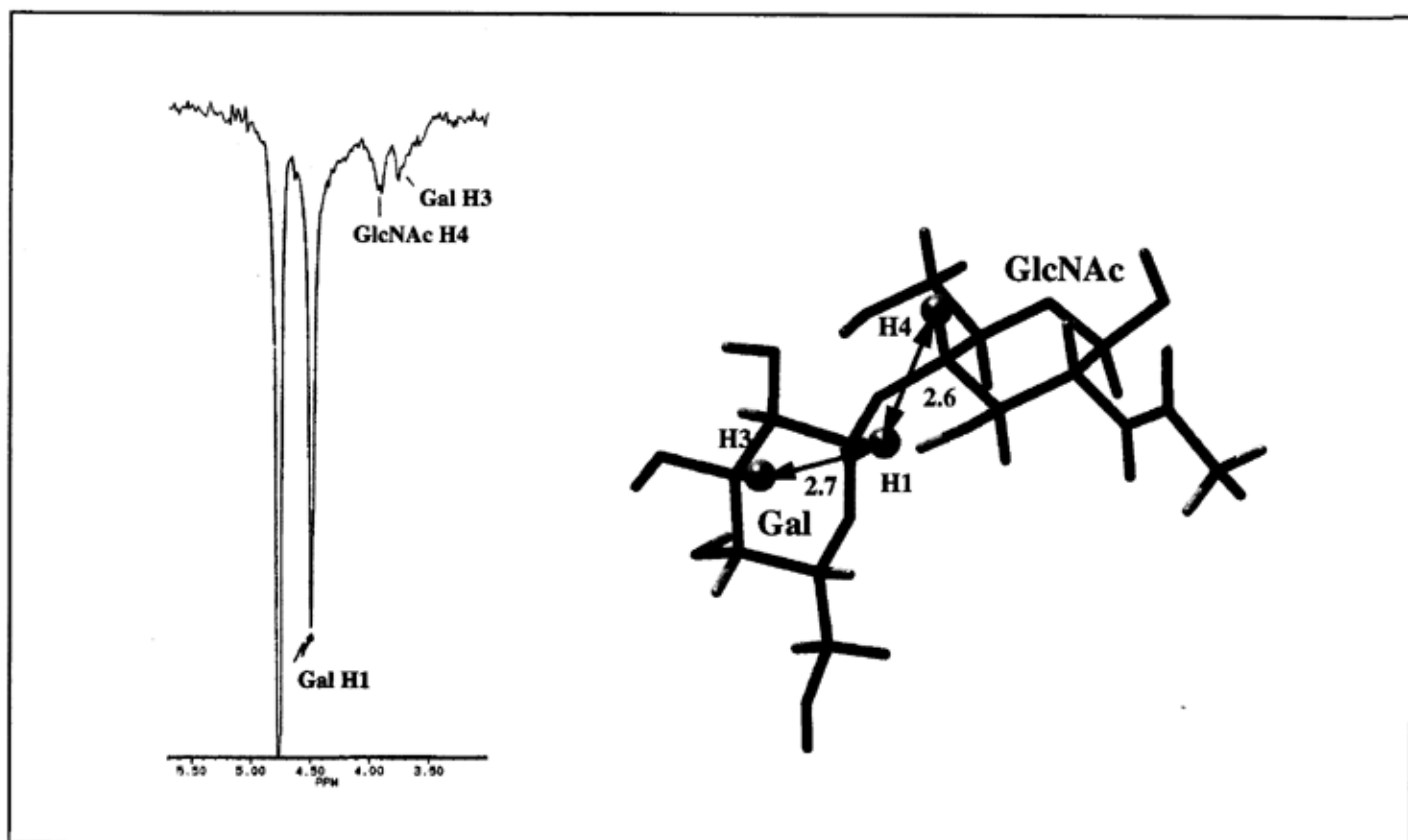


Abb. 2: Darstellung eines 1D „transfer NOE-Spektrums“ von N-Acetylglucosamin in Gegenwart von Mistellektin mit jeweils einem intra- bzw. interresidualen Kontakt (Abstand: 2.7 Å bzw. 2.6 Å) bei Einstrahlung der Anregungsfrequenz des anomeren Protons von D-Galaktose und des Molekülmodells mit Kennzeichnung der beiden gemessenen Kontakte

von ihrer Sequenz bestimmt. Die Methoden des „molecular modeling“ erlauben es, den relativen Energiegehalt der theoretisch möglichen Raumanordnungen abschätzen zu können [3]. Die schematische Darstellung des Energiepotentialraumes der  $\psi$ ,  $\phi$ -Winkelkombinationen im Verlauf ihrer systematischen iterativen Änderung für einen Liganden von Galaktosid-spezifischen pflanzlichen und tierischen Lektinen belegt die zu erwartende Abhängigkeit des jeweiligen Energieniveaus von der Molekülgeometrie (Abb. 1). Spektroskopische Verfahren dienen dazu, die Plausibilität der Berechnungen empirisch zu prüfen. NMR-Methoden erlauben nicht nur eine Abschätzung der Strukturparameter des freien Liganden in Lösung. Nuclear Overhauser Effekte (NOE) ermöglichen es auch, Informationen über die Abstände von interresidualen Protonen der Oligosaccharide im gebundenen Zustand zu erhalten (Abb. 2). Sieht man nach Umrechnung des Protonenabstandes aus der Signalintensität des „Transfer NOE Effektes“ die Distanz nicht als starr an, sondern als zeitgemittelte Entfernung, so ergeben sich Distanzenkarten für jeden Kontakt. Sie reduzieren für Disaccharide bei mehr als einem interresidualen Kontakt den theoretisch möglichen Konformationsraum für

den gebundenen Liganden auf den Überlappungsbereich.

Die Anwendung der genannten Methoden leistet somit einen beachtlichen Beitrag, die Struktur der Liganden im Komplex in Lösung zu definieren. Die häufig vom physiologischen Milieu abweichenden Bedingungen für Kristallisation und die packungsbedingte Anordnung im Kristall können nämlich zu Strukturparametern führen, die nicht zwangsläufig den Gegebenheiten in Lösung entsprechen. Zusätzlich zur Kombination von computergestützten Molekularmechanik- und -dynamikrechnungen und NMR-Meßmethoden an freien und

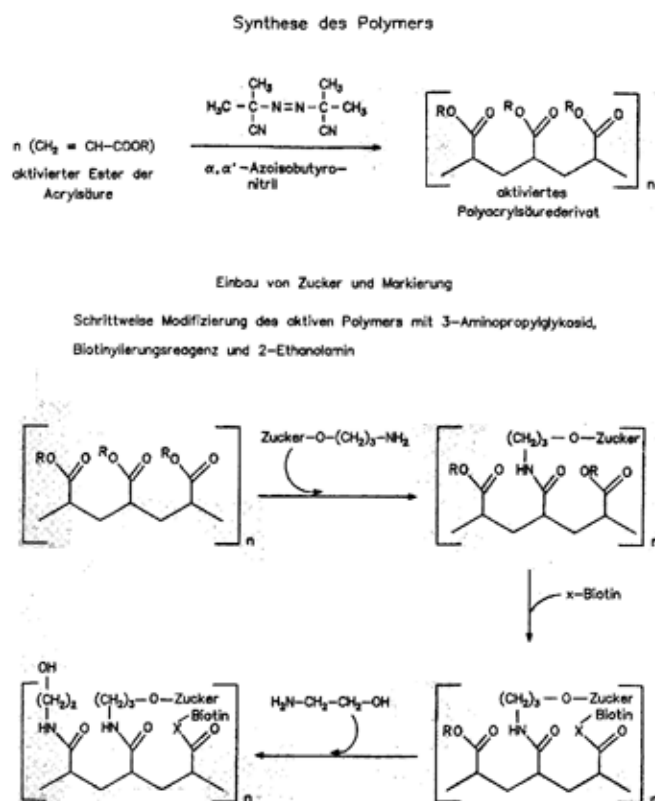


Abb. 3: Synthese eines biotinylierten Neoglykokonjugates auf der Basis der Polymerisation aktivierter Acrylsäureester