



УДК 547.458.2.02:577.114.012.7

КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ И ЯДЕРНЫЙ ЭФФЕКТ  
ОВЕРХАУЗЕРА В 1-2-СВЯЗАННЫХ ДИСАХАРИДАХ  
С  $\alpha$ -МАННО- И  $\alpha$ -РАМНО-КОНФИГУРАЦИЕЙ  
ВОССТАНАВЛИВАЮЩЕГО ОСТАТКА

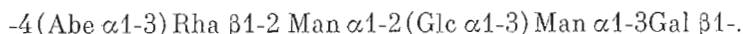
Липкинд Г. М., Жочетков Н. К.

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Академии наук СССР,  
Москва

Проведен теоретический конформационный анализ и рассчитаны ядерные эффекты Оверхаузера в гликозил-1-2-маннозидах и гликозил-1-2-рамнозидах с  $\alpha$ -конфигурацией восстанавливающего остатка. Показано, что все дисахариды, различающиеся конфигурациями остатков и конфигурацией аномерного центра гликозидной связи, могут быть разделены на две группы с характерными пространственными эффектами. В одной группе дисахаридов в условиях насыщения протона Н1 невосстанавливающего остатка ядерные эффекты Оверхаузера одинаково значительны на протонах Н2' и Н1' агликона, тогда как в другой эффект на протонах Н1' очень слаб. Это обстоятельство может быть использовано для определения последовательности сахарных остатков в олиго- и полисахаридах.

Данная работа посвящена теоретическому конформационному анализу 1-2-связанных дисахаридов с  $\alpha$ -манно- и  $\alpha$ -рамно-конфигурацией восстанавливающего остатка при различных абсолютных конфигурациях невосстанавливающего остатка и конфигурациях его аномерного центра. Ранее такое исследование было проведено для 1-3-связанных дисахаридов с *галакто*- или *манно*-конфигурацией восстанавливающего остатка [1]. Было показано, что все множество подобных структур разделяется только на две группы с близким пространственным строением и характерными экспериментальными проявлениями, например, в спектрах  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. Естественно, что поиск таких структурных обобщений, важных при интерпретации экспериментальных данных, заманчиво провести и для дисахаридных звеньев с другими типами связывания.

Тип связывания 1-2 достаточно широко представлен в полисахаридах, в частности в антигенных полисахаридах бактериальных клеток [2]. Для соответствующих звеньев, если они находятся в основной цепи, особенно характерно то, что гликозилированными в большинстве случаев являются остатки маннозы или рамнозы. Более того, если это условие выполнено, остатки маннозы или рамнозы практически всегда имеют  $\alpha$ -конфигурацию. Приведем в качестве примера химическое строение двух полисахаридов, О-антигенов *Klebsiella* (серотип 3) и *Salmonella newport*\* [2]:



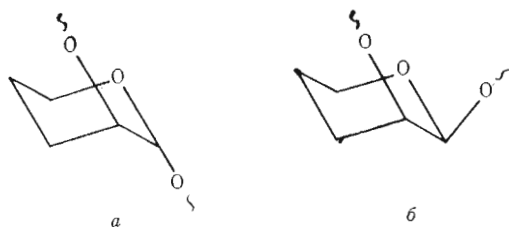
Именно эти обстоятельства побудили нас прежде всего рассмотреть 1-2-связанные дисахариды с  $\alpha$ -манно- и  $\alpha$ -рамно-конфигурацией восстанавливающего остатка.

Гликозилированные по положению 2 остатки маннозы или рамнозы с  $\beta$ -конфигурацией аномерного центра в основных цепях полисахаридов встречаются крайне редко. Так, из 85 дисахаридных звеньев бактериальных полисахаридов, включающих в себя гликозилированные по положению 2 указанные остатки (по данным картотеки последовательностей полисахаридов, любезно предоставленной нам В. Н. Шибаевым), только в трех

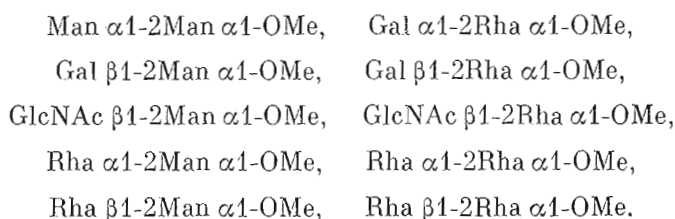
\* Abe — абеквоза (3,6-дидезокси-D-ксило-гексоза). Здесь и далее остатки Man, Gal, Glc — D-ряда, остатки Rha — L-ряда.

«случаях им приписана  $\beta$ -конфигурация, например в полисахариде *Shigella dysenteriae* серотипа 10 [3].

Распространенность 1-2-связанных звеньев с гликозилированными остатками  $\alpha$ -D-Man и  $\alpha$ -L-Rha не случайна, поскольку только у  $\alpha$ -аномеров маннозы и рамнозы двугранный угол между гликозидной и агликоновой связями C—O составляет  $\sim 180^\circ$ , т. е. они располагаются в *транс*-ориентации (схема, а), вследствие чего полисахариды с такими звеньями могут образовывать развернутые структуры. По-видимому, образование развернутых структур — важное свойство антигенных полисахаридов, которые экспонируют антигенные детерминанты на поверхность клетки. Во всех других случаях 1-2-связанные звенья обуславливают резкие изгибы в цепи (схема, б) и сложную пространственную организацию полисахаридов с высокой вероятностью неблагоприятных невалентных контактов между удаленными остатками (см. [4]).



Нами рассмотрены различные метильные производные гликозил-1-2-маннозидов и гликозил-1-2-рамнозидов (прежде всего те, для которых имеются экспериментальные данные):



Очевидно, что этот ряд структур позволяет проанализировать влияние абсолютных конфигураций двух остатков, а также конфигурации аномерного центра гликозидной связи на пространственное строение дисахаридов.

Для некоторых из указанных дисахаридов экспериментально определены ядерные эффекты Оверхаузера (ЯЭО), возникающие на протонах агликона при насыщении резонанса аномерных протонов H1 невосстанавливающих остатков. Поэтому нами проведен поиск корреляции между пространственной структурой дисахаридов и этой опытной величиной. С этой целью были теоретически рассчитаны ЯЭО на агликоновом протоне H2' (рис. 1), а также на ближайших протонах в  $\beta$ -положении агликона — H1' и H3', способных сближаться с атомом H1 невосстанавливающего остатка, т. е. величины, непосредственно зависящие от углов вращения вокруг гликозидной связи  $\varphi$  и  $\psi$  (рис. 1).

ЯЭО представляет собой изменение в интегральной интенсивности сигнала какого-либо ядра в спектре ЯМР в условиях насыщения резонанса другого ядра и определяется как отношение интенсивностей сигнала ядра  $d$  при насыщении ядра  $s$  и при отсутствии этого насыщения. Величина ЯЭО —  $f_s^d$  — обратно пропорциональна шестой степени расстояния между ядрами  $d$  и  $s$ , т. е.  $r_{ds}^{-6}$ . Расчет ЯЭО проводился по приближенной формуле Ширмера, Ноггла и соавт. [5]:

$$f_s^d = r_{ds}^{-6}/2 \sum_{k \neq d} r_{dk}^{-6} - \sum_{k \neq d, s} r_{dk}^{-6} f_s^k / 2 \sum_{k \neq d} r_{dk}^{-6},$$

в которой учитывается зависимость величины ЯЭО на наблюдаемом протоне ( $d$ ) от величины ЯЭО на соседних протонах ( $k$ ). Величины ЯЭО на

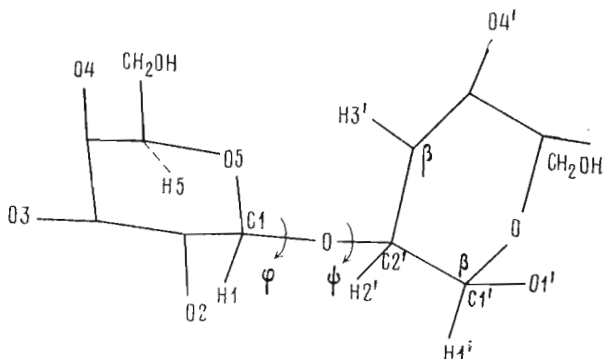


Рис. 1. Модель гликозил-1-2-гликозида с указанием углов вращения  $\varphi$  (C1—O) и  $\psi$  (O—C2');  $\varphi=0$  при *цис*-ориентации связей C1—H1 и O—C2', а  $\psi=0$  при *цис*-ориентации связей C1—O и C2'—H2'. Положительное направление вращения соответствует движению по часовой стрелке, если смотреть от атома C1

всех протонах молекулы при насыщении протона  $s(f_s^k)$  сначала оценивались по первой части формулы, т. е. рассчитывались величины  $r_{ds}^{-6} / 2 \sum_{k \neq d} r_{dk}^{-6}$

для всех протонов, после чего значение ЯЭО на наблюдаемом протоне  $f_s^d$  уточнялось методом итераций. Формула Ширмера, Ноггла и соавт. [5] является приближенной. Однако в случае столь небольших молекул, какими являются дисахариды, вращение которых изотропно и в которых также отсутствует анизотропия внутримолекулярных вращений, связанная с углами  $\varphi$  и  $\psi$ , пользование ею вполне приемлемо. Учет бальцмановских вероятностей конформеров позволяет определить среднюю величину ЯЭО, т. е.  $\langle f_s^d \rangle$ .

Следует подчеркнуть, что спектры  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР дисахаридов снимаются, как правило, в  $^2\text{H}_2\text{O}$ , т. е. параметры спектров ЯМР отражают конформационные состояния дисахаридов в водной среде.

Как нами показано [6], конформационное равновесие дисахаридов в водных растворах определяется прежде всего невалентными взаимодействиями между атомами двух остатков. В расчетах во внимание принимались невалентные взаимодействия с параметризацией атом-атомных потенциалов, предложенных Скоттом и Шерагой [7] и Китайгородским [8] и наиболее широко используемых в конформационном анализе углеводов. Учитывалась и торсионная составляющая конформационной энергии, причем барьер вращения вокруг гликозидной связи принимался равным 0,9 ккал/моль [9].

В последнее время в конформационном анализе углеводных цепей существенное внимание уделяется экзоаномерному эффекту [10]. Однако мы считаем нереальной расчетную модель, предложенную Лемье и соавт. [10, 11], в которой не учитывается зависимость величины экзоаномерного эффекта от растворителя, а электронная дестабилизация *транс*-ориентации агликона относительно связи C1—O5 невосстанавливающего остатка по сравнению с *гош*-ориентацией принимается равной 3—5 ккал/моль. Если такое взаимодействие и существует, то в водной среде оно на порядок слабее. Это с очевидностью следует из данных по величинам аномерного эффекта, адекватного по своей природе экзоаномерному эффекту [12]. Так, для глюкозы он определен в 0,55 ккал/моль, для 2-дезоксид-*D*-арабино-гексопиранозы — в 0,85 ккал/моль [13]. Поэтому в данном расчете учтен энергетический компонент, связанный с экзоаномерным эффектом, в виде функции  $U_0(1 - \cos \varphi)$ , где  $U_0$  подбирается таким образом, чтобы разность энергий при *гош*- и *транс*-ориентациях агликона (т. е. при  $\varphi +60$  и  $-60^\circ$ ) была равна 0,85 ккал/моль.

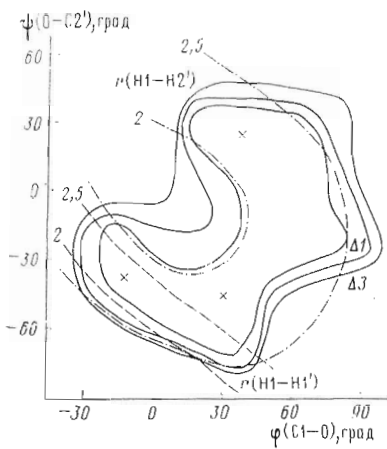


Рис. 2

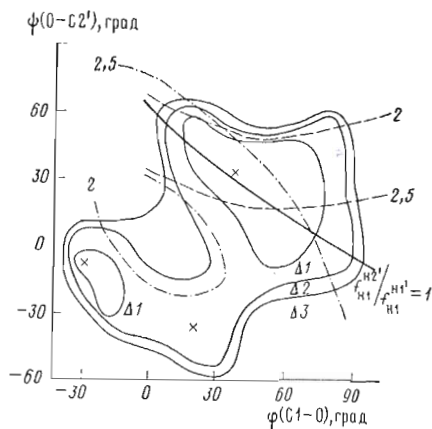


Рис. 3

Рис. 2. Конформационная карта  $\varphi(C1-O) - \psi(O-C2')$  дисахарида  $GlcNAc\beta 1-2Rha\alpha 1-OMe$ . На эквипотенциалах указаны относительные значения энергии ( $\Delta 1$  ккал/моль и т. д.) по сравнению с энергией самого низкоэнергетического конформера. Крестиком помечены положения минимумов. Контуры одинаковых значений расстояний  $r(N1-N2')$  2 и 2,5 Å показаны штрихпунктиром, а расстояний  $r(N1-N1')$  2 и 2,5 Å — пунктиром

Рис. 3. Конформационная карта  $\varphi(C1-O) - \psi(O-C2')$  дисахарида  $GlcNAc\beta 1-2Man\alpha 1-OMe$  (см. подпись к рис. 2). Жирной линией выделены конформации с соотношением

ЯЭО на протонах  $N2'$  и  $N1'$  ( $f_{N2'}/f_{N1'}$ ), равным 1

Необходимые для расчетов структурные данные по остаткам взяты из рентгеноструктурных и нейтронографических исследований соответствующих аномеров метилгликозидов маннозы, рамнозы, галактозы и N-ацетилглюкозамина [14–17] с обязательной трансформацией длин связей C—H до значения 1,1 Å. Валентный угол у атома кислорода гликозидной связи принят равным  $117^\circ$  [18].

Прежде чем обратиться ко всем расчетным данным для ЯЭО (таблица), рассмотрим более подробно взаимосвязь конформационных состояний и величин ЯЭО на примере двух дисахаридов с обращенной абсолютной конфигурацией восстанавливающего остатка,  $GlcNAc\beta 1-2Man\alpha 1$  и  $GlcNAc\beta 1-2Rha\alpha 1$ , для которых имеются экспериментальные данные по ЯЭО. Конформационные карты  $\varphi - \psi$  этих двух дисахаридов очень похожи (ср. рис. 2 и 3). На потенциальной поверхности выделяются три локальных минимума, причем самым низкоэнергетическим является минимум с *gauche*-ориентацией агликона относительно связи C1—O5 остатка  $\beta$ - $GlcNAc$   $\varphi 40^\circ$ ,  $\psi 30^\circ$ , т. е. оптимальный по критерию экзоаномерного эффекта. Второй, более высокоэнергетический минимум ( $\Delta U \sim 0,5$  ккал/моль) отличается от первого прежде всего углом  $\psi$ , который принимает отрицательное значение,  $\varphi 20^\circ$ ,  $\psi -40^\circ$ . Третий минимум ( $\Delta U \sim 1$  ккал/моль) характеризуется приближительной *trans*-ориентацией агликона,  $\varphi -30^\circ$ ,  $\psi -20^\circ$ . Статистический вклад в равновесие конформеров области с этим минимумом, оцененный на основе расчета соответствующей статистической суммы, не превышает 10%. Напротив, вклад конформеров области первого минимума ( $\varphi 30^\circ - 70^\circ$ ) составляет более 70%, что объясняется прежде всего энтропийной предпочтительностью этого состояния. То обстоятельство, что контуры с относительной энергией 1 ккал/моль ограничены углами вращения  $\varphi$  в районе  $-20^\circ - +80^\circ$ , а  $\psi -60^\circ - +40^\circ$  (рис. 2 и 3), т. е. в диапазоне  $100^\circ$ , указывает на конформационную лабильность дисахаридов, поскольку вклад конформеров с энергией, не превышающей на 1 ккал/моль энергию глобального минимума, составляет в двух случаях  $\sim 70 - 75\%$ .

Рассмотрим, каким образом изменяются ЯЭО на протонах агликона при насыщении аномерного протона невосстанавливающего остатка в различных конформациях дисахаридов. Согласно расчету, в 1-2-связанных диса-

Средние расчетные значения ЯЭО \* ( $\langle f_{H_2'} \rangle$  и т. д.) в гликозил-1-2-гликозидах

Дисахариды	Конфигурация остатков	А			В			Опытные данные	
		$\langle f_{H_2'} \rangle$	$\langle f_{H_1'} \rangle$	$\langle f_{H_3'} \rangle$	$\langle f_{H_2'} \rangle$	$\langle f_{H_1'} \rangle$	$\langle f_{H_3'} \rangle$	$f_{H_2'}/f_{H_1'}$	$f_{H_2'}/f_{H_1'}$
GlcNAc $\beta$ 1-2Rha $\alpha$ 1-OMe	$\beta, D-\alpha, L$	0,20	0,04	-0,03	0,20	0,01	-0,03	0,17 [19]	
Gal $\beta$ 1-2Rha $\alpha$ 1-OMe		0,21	0,04	-0,03	0,20	0,02	-0,03		
Rha $\alpha$ 1-2Rha $\alpha$ 1-OMe	$\alpha, L-\alpha, L$	0,19	0,045	-0,03	0,20	0,02	-0,03	0,19 [19]	
Man $\alpha$ 1-2Man $\alpha$ 1-OMe	$\alpha, D-\alpha, D$	0,19	0,045	-0,03	0,19	0,01	-0,03		6 : 1 [20]
Rha $\beta$ 1-2Man $\alpha$ 1-OMe	$\beta, L-\alpha, D$	0,18	0,05	-0,03	0,18	0,04	-0,03		
GlcNAc $\beta$ 1-2Man $\alpha$ 1-OMe	$\beta, D-\alpha, D$	0,16	0,15	-0,03	0,16	0,14	-0,03		4,1 : 1 [20]
Gal $\beta$ 1-2Man $\alpha$ 1-OMe		0,17	0,14	-0,03	0,17	0,14	-0,03		
Rha $\alpha$ 1-2Man $\alpha$ 1-OMe	$\alpha, L-\alpha, D$	0,17	0,16	-0,03	0,16	0,15	-0,03		
Gal $\alpha$ 1-2Rha $\alpha$ 1-OMe	$\alpha, D-\alpha, L$	0,17	0,20	-0,03	0,18	0,20	-0,03		
Rha $\beta$ 1-2Rha $\alpha$ 1-OMe	$\beta, L-\alpha, L$	0,15	0,16	-0,03	0,16	0,16	-0,03		

\* Расчетные результаты А по ЯЭО получены с использованием функций невалентных взаимодействий Скотта и Шерати [7], В — функций Китайгородского [8].

харидов при расстояниях между протонами 2,0–2,5 Å ЯЭО изменяются приблизительно от 0,30 до 0,10, а в пределах расстояний 2,5–3 Å — от 0,10 до 0,0. Таким образом, ЯЭО будут обуславливать прежде всего те конформеры, в которых расстояния между соответствующими протонами меньше 2,5–3 Å. Поэтому по зависимости изменения расстояний между протонами  $r(\text{H1}-\text{H2}')$ ,  $r(\text{H1}-\text{H3}')$  и  $r(\text{H1}-\text{H1}')$  от углов вращения  $\varphi$  и  $\psi$  можно качественно судить о реальных величинах ЯЭО. Так, ЯЭО на протонах  $\text{H3}'$  должны быть пренебрежимо малы, поскольку во всех допустимых по невалентным взаимодействиям конформациях дисахаридов  $r(\text{H1}-\text{H3}') > 3,8$  Å.

Контуры одинаковых значений расстояний  $r(\text{H1}-\text{H2}')$  и  $r(\text{H1}-\text{H1}')$  2,0 и 2,5 Å на конформационных картах дисахаридов  $\text{GlcNAc } \beta 1-2\text{Rha } \alpha 1$  и  $\text{GlcNAc } \beta 1-2\text{Man } \alpha 1$  даны на рис. 2 и 3. Если потенциальные энергетические поверхности двух структур очень похожи, то распределение конформеров по расстояниям  $r(\text{H1}-\text{H2}')$  и  $r(\text{H1}-\text{H1}')$  весьма различно. В случае  $\text{GlcNAc } \beta 1-2\text{Rha } \alpha 1$  изменение углов вращения  $\varphi$  и  $\psi$  практически не сказывается на расстояниях  $r(\text{H1}-\text{H2}')$ , которые в 99% конформаций находятся в пределах 2–2,5 Å, т. е. все возможные конформации дают вклад в ЯЭО на протоне  $\text{H2}'$  при насыщении сигнала атома  $\text{H1}$ . Напротив, только в 12% конформаций ( $\varphi \sim 0^\circ$ , рис. 2) протоны  $\text{H1}$  и  $\text{H1}'$  могут быть сближены до 2,5 Å. Расчет средних значений расстояний  $\langle r(\text{H1}-\text{H2}') \rangle$  и  $\langle r(\text{H1}-\text{H1}') \rangle$  приводит к величинам 2,2 и 3,4 Å. Поэтому очевидно, что ЯЭО на протоне агликона  $\text{H2}'$  должен значительно превосходить ЯЭО на протоне  $\text{H1}'$ . Из расчета средних значений ЯЭО следует, что  $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H2}'} \rangle = 0,20$ ,

$\langle f_{\text{H1}}^{\text{H1}'} \rangle = 0,04$  (при использовании атом-атомных потенциалов Скотта и

Шераги [7]) и  $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H2}'} \rangle = 0,21$ ,  $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H1}'} \rangle = 0,01$  (при использовании функций

Китайгородского [8]). Экспериментально определенная величина ЯЭО на агликоновом протоне при насыщении резонанса протона  $\text{H1}$  в звеньях  $\text{GlcNAc } \beta 1-2\text{Rha } \alpha 1$  олигосахаридных фрагментов полисахарида *Sh. flexneri* равна 0,17 [19]; для протона  $\text{H1}'$  ЯЭО не указан, очевидно, из-за его малости.

Обращение абсолютной конфигурации восстанавливающего остатка, которое приводит ко второму дисахариду,  $\text{GlcNAc } \beta 1-2\text{Man } \alpha 1$ , сопряжено с существенным сближением аномерного протона  $\text{H1}$  и экваториального протона  $\text{H1}'$  в  $\beta$ -положении агликона. Так, в самой низкоэнергетической конформации дисахаридов ( $\varphi, \psi$  40, 30°) протоны  $\text{H2}'$  и  $\text{H1}'$  оказываются одинаково удаленными от протона  $\text{H1}$ . Более того, в 90% допустимых по невалентным взаимодействиям конформаций расстояние между протонами  $\text{H1}$  и  $\text{H1}'$  не превышает 3 Å (в 69% конформаций они ниже 2,5 Å). Расчет средних значений расстояний  $r(\text{H1}-\text{H2}')$  и  $r(\text{H1}-\text{H1}')$  приводит к близким величинам: 2,35 и 2,6 Å. Поэтому и ЯЭО на указанных протонах оказываются почти равными:  $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H2}'} \rangle = 0,16$ ,  $\langle f_{\text{H1}}^{\text{H1}'} \rangle = 0,15$  (таблица). Теоретическое соотношение ЯЭО на протонах  $\text{H2}'$  и  $\text{H1}'$ , обусловленных насыщением сигнала аномерного протона  $\text{H1}$ , точно совпадает со средним экспериментальным соотношением ЯЭО на этих протонах, найденным в дисахаридных звеньях  $\text{GlcNAc } \beta 1-2\text{Man } \alpha 1$  олигосахаридных цепей гликопротеинов — 1,1 : 1 [20].

Таким образом, из сравнительного конформационного анализа двух дисахаридов следует, что обращение конфигурации одного из остатков в первую очередь приводит к изменению распределения расстояний между протонами двух моносакхаридных остатков, что обуславливает разительные изменения в величинах ЯЭО на протонах агликона.

Согласно конформационным картам  $\varphi-\psi$  (рис. 2 и 3), оба дисахаридов,  $\text{GlcNAc } \beta 1-2\text{Man } \alpha 1$  и  $\text{GlcNAc } \beta 1-2\text{Rha } \alpha 1$ , являются конформационно-лабильными системами: диапазон допустимых углов вращения  $\varphi$  и  $\psi$  близок к 100°. Поэтому мы не можем согласиться с выводами работ [19, 20], в которых пространственная структура указанных дисахаридов описывается одной парой значений углов  $\varphi$  и  $\psi$ . Так, в работе [20] утверждается,

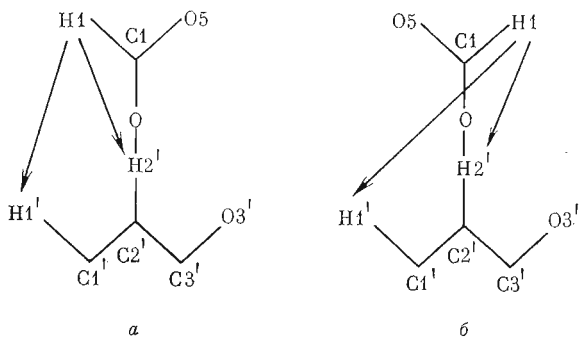


Рис. 4. Проекция фрагментов гликозил-1-2-маннозидов и гликозил-1-2-рамнозидов в случае конфигураций остатков  $\beta, D-\alpha, D$ ;  $\alpha, L-\alpha, D$ ;  $\alpha, D-\alpha, L$ ;  $\beta, L-\alpha, L$  (а) и  $\beta, D-\alpha, L$ ;  $\alpha, L-\alpha, L$ ;  $\alpha, D-\alpha, D$ ;  $\beta, L-\alpha, D$  (б)

что в дисахаридном звене GlcNAc  $\beta$ 1-2Man  $\alpha$ 1 олигосахаридных цепей гликопротеинов углы вращения  $\phi$  и  $\psi$  равны  $40^\circ$  и  $30^\circ$ , поскольку эта структура удовлетворяет данным по ЯЭО и спин-решеточной релаксации. Однако на самом деле это средние значения указанных углов вращения, поскольку расчет средних значений  $\langle \phi \rangle$  и  $\langle \psi \rangle$  при учете всего конформационного распределения дисахарида приводит к близким величинам:  $35^\circ$  и  $20^\circ$  (при использовании функций Скотта и Шераги) и  $40^\circ$ ,  $20^\circ$  (при использовании функций Китайгородского).

Мы вновь подчеркиваем (см. [6]), что из соответствия некоторых экспериментальных величин определенной конформации не следует, что молекула принимает в растворе однозначную структуру. Это хорошо видно на примере того же дисахарида GlcNAc  $\beta$ 1-2Man  $\alpha$ 1, для которого экспериментальное соотношение ЯЭО 1 : 1 на протонах H2' и H1' в условиях резонанса протона H1 [20] выполняется для большого числа конформаций, выделенных на рис. 3. Итак, для дисахаридов GlcNAc  $\beta$ 1-2Rha  $\alpha$ 1 и GlcNAc  $\beta$ 1-2Man  $\alpha$ 1 удовлетворительное теоретическое предсказание величин ЯЭО можно получить при учете всего распределения по конформациям, задаваемого соответствующими потенциальными поверхностями (рис 2 и 3).

Закономерности, найденные в конформационном анализе структур GlcNAc  $\beta$ 1-2Rha  $\alpha$ 1 и GlcNAc  $\beta$ 1-2Man  $\alpha$ 1, повторяются во всех рассмотренных нами гликозил-1-2-маннозидах и гликозил-1-2-рамнозидах, различающихся конфигурациями невосстанавливающих остатков. Если какие-либо два дисахарида различаются нечетным числом конфигурационных параметров, например абсолютной конфигурацией одного из остатков или конфигурацией аномерного центра гликозидной связи, то распределения по расстояниям  $r(H1-H2')$  и  $r(H1-H1')$  оказываются существенно различными, поэтому ЯЭО на протонах H2' и H1' в условиях насыщений аномерного протона H1 также различаются значительно. Напротив, при обращении двух (или четного числа) конфигурационных параметров распределение по расстояниям между протонами двух остатков сохраняется, вследствие чего ЯЭО как на протонах H2', так и на протонах H1' должны быть близкими.

Это утверждение наглядно подтверждается данными таблицы, из которой видно, что все рассматриваемые гликозил-1-2-гликозиды по величинам ЯЭО разделяются на две группы. В одной при конфигурациях остатков  $\beta, D-\alpha, D$ ;  $\alpha, L-\alpha, D$ ;  $\alpha, D-\alpha, L$ ;  $\beta, L-\alpha, L$  (например, у GlcNAc  $\beta$ 1-2Man  $\alpha$ 1, Rha  $\beta$ 1-2Rha  $\alpha$ 1 и т. д.) ЯЭО на протонах H2' и H1' практически равны между собой и, что не менее важно, абсолютные значения ЯЭО также почти совпадают для всех дисахаридов группы ( $\sim 0,16$ ). Напротив, в другой группе структур с конфигурациями остатков  $\beta, D-\alpha, L$ ;  $\alpha, L-\alpha, L$ ;  $\alpha, D-\alpha, D$ ;  $\beta, L-\alpha, D$  ЯЭО на протонах H2' во много раз превосходят ЯЭО на про-

тонах  $H1'$ , которые близки к нулю (прежде всего по данным расчета с невалентными функциями Китайгородского [8], таблица).

Характерная конформационная ситуация для дисахаридов каждой группы продемонстрирована на рис. 4, на котором даны проекции фрагментов структур при условии, что плоскость гликозидной связи располагается перпендикулярно листу. Оказывается, что в дисахаридах одной группы в большинстве возможных конформаций протоны  $H1$  и  $H1'$  находятся в *цис*-ориентации относительно плоскости гликозидной связи, вследствие чего расстояния  $r(H1-H2')$  и  $r(H1-H1')$  оказываются почти равными, что обуславливает и равенство ЯЭО. Напротив, в другой группе эти протоны находятся в *транс*-ориентации, т. е. существенно удалены друг от друга. Действительно, в дисахаридах с конфигурациями остатков  $\beta, D-\alpha, D$ ;  $\alpha, L-\alpha, D$ ;  $\alpha, D-\alpha, L$ ;  $\beta, L-\alpha, L$  средние расстояния  $\langle r(H1-H2') \rangle$  и  $\langle r(H1-H1') \rangle$  близки между собой и составляют 2,3–2,4 и 2,6–2,7 Å, тогда как при конфигурациях остатков  $\beta, D-\alpha, L$ ;  $\alpha, L-\alpha, L$ ;  $\alpha, D-\alpha, D$ ;  $\beta, L-\alpha, D$  — 2,2 и 3,3–3,4 Å соответственно.

Некоторые результаты таблицы, помимо обсужденных выше (для  $GlcNAc\beta 1-2Rha\alpha 1$  и  $GlcNAc\beta 1-2Man\alpha 1$ ), подтверждаются экспериментальными данными. Так, в дисахаридах  $Rha\alpha 1-2Rha\alpha 1$  ЯЭО на протоне  $H2'$  в условиях насыщения протона  $H1$ , по данным работы [19], равен 0,19; расчет приводит к такой же абсолютной величине. Далее, для дисахаридного звена  $Man\alpha 1-2Man\alpha 1$  в работе [20] указано соотношение ЯЭО на протонах  $H2'$  и  $H1'$  также при насыщении сигнала атома  $H1 - 6 : 1$ . Поскольку ЯЭО на агликоновом протоне  $H2'$  в этих двух дисахаридах, различающихся абсолютными конфигурациями двух остатков, должны быть равны, то с высокой степенью вероятности ЯЭО на протонах  $H2'$  и  $H1'$  в дисахаридах  $Man\alpha 1-2Man\alpha 1$  составляют 0,19 и 0,03. Расчетные величины следующие: 0,19 и 0,045 (при использовании функций Скотта и Шераги) и 0,19 и 0,01 (при использовании функций Китайгородского). Более того, для дисахарида  $Rha\alpha 1-2Rha\alpha 1$  определен ЯЭО также между удаленными протонами двух остатков, например на протоне  $H5$  невосстанавливающего остатка при насыщении аномерного протона  $H1'$  восстанавливающего остатка рамнозы. Он равен 0,13 [19]. Расчетная величина этого эффекта — также 0,13. Таким образом, при учете всего конформационного распределения дисахаридов естественно воспроизводятся экспериментальные данные по ЯЭО. В заключение отметим, что при расчете ЯЭО по методу, предложенному в работах [10, 11], в ряде дисахаридов предсказываются отрицательные значения ЯЭО на протонах  $H1'$ , например у  $Rha\alpha 1-2Rha\alpha 1$  и  $GlcNAc\beta 1-2Rha\alpha 1$  — 0,03 и — 0,05, что не соответствует действительности (см. [20]).

Возможность пространственного возмущения аномерного протона  $H1$  протонами агликона в 1-2-связанных дисахаридах также должна приводить и к изменению положения сигнала атома  $C1$  невосстанавливающего остатка в спектрах  $^{13}C$ -ЯМР по сравнению с положением сигнала атома  $C1$  в соответствующих метилгликозидах. Это объясняется тем, что в этих структурах атомы  $H1$  и  $H1'$  разделены тремя  $C-C$ -связями и в случае их сближения до ван-дер-ваальсова касания имеет место стерическое « $\gamma$ -гош»-взаимодействие протонов, которое обычно приводит к высокопольным смещениям сигналов связанных с ними атомов углерода в спектрах  $^{13}C$ -ЯМР [21]. Поэтому сигналы атомов  $C1$  в спектрах  $^{13}C$ -ЯМР в дисахаридах с конфигурациями остатков  $\beta, D-\alpha, D$ ;  $\alpha, L-\alpha, D$ ;  $\alpha, D-\alpha, L$  и  $\beta, L-\alpha, L$  будут наблюдаться в более сильных полях. Действительно, в дисахаридных звеньях  $GlcUA\beta 1 \rightarrow 2Man\alpha 1$  ( $\beta, D-\alpha, D$ ) полисахарида *Klebsiella* серотипа K53 и  $Gal\beta 1 \rightarrow 2Man\alpha 1$  полисахарида *Klebsiella* K74 химические сдвиги атомов  $C1$  равны 102,3 [22] и 103,26 м.д. [23] соответственно, тогда как у моносахаридных остатков  $GlcUA\beta 1-OMe$  и  $Gal\beta 1-OMe$  — 104,3 и 104,9 м.д. [21]. Напротив, в дисахаридах, в которых стерическое « $\gamma$ -гош»-взаимодействие протонов  $H1$  и  $H1'$  отсутствует, наблюдаются низкопольные сдвиги сигналов атомов  $C1$ . Так, химические сдвиги атомов  $C1$  дисахаридных звеньев полисахарида *Sh. flexneri*  $GlcNAc\beta 1-2Rha\alpha 1$  ( $\beta, D-\alpha, L$ ) и  $Rha\alpha 1-2Rha\alpha 1$  ( $\alpha, L-\alpha, L$ ) равны 103,45 и 103,2 м.д. [19], а моносахаридных остатков



GlcNAc $\beta$ 1-OMe и Rha $\beta$ 1-OMe — 101,35 и 101,9 м.д. [21] соответственно. Таким образом, конформационные различия в 1-2-связанных дисахаридах обуславливают дополнительные различия в химических сдвигах атомов углерода C1 невосстанавливающих остатков приблизительно в 4 м.д.

Приведенные результаты показывают, что в случае гликозил-1-2-гликозидов с  $\alpha$ -манно- или  $\alpha$ -рамно-конфигурацией восстанавливающего остатка по данным спектров  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР можно четко определить стереохимическую группу дисахарида. Это обстоятельство может оказаться полезным в определении первичной структуры олиго- и полисахаридов. Так, при знании каких-либо двух конфигурационных параметров дисахаридного звена указанного типа можно определить третий. Например, если известно, что ЯЭО на протонах H2' и H1' при насыщении сигнала атома H1 равны, а невосстанавливающим является остаток  $\alpha$ -D-Man, то, согласно таблице, этим условиям может удовлетворять только дисахарид Man $\alpha$ 1-2Rha $\beta$ 1. Определение последовательности остатков по данным спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР проводилось для 1-3-связанных дисахаридных звеньев [24]. Как видим, это вполне возможно и в случае звеньев с типом связывания 1-2.

Таким образом, все гликозил-1-2-гликозиды с  $\alpha$ -манно- или  $\alpha$ -рамно-конфигурацией восстанавливающего остатка могут быть разделены на две стереохимические группы с характерным расположением атомов двух остатков. Подобное разделение на два структурных подкласса мы имели и в ряду гликозил-1-3-гликозидов с манно- или галакто-конфигурацией восстанавливающего остатка [1]. Эти наблюдения указывают на то, что при всем многообразии дисахаридов мы можем выделить из них некоторые группы с определенной стереохимической общностью. Это обстоятельство может оказаться важным для понимания пространственной организации полисахаридных цепей.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Липкинд Г. М., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1984, т. 10, № 9, с. 1229—1241.
2. Lindberg B., Svensson S. MTP Intern. Rev. Sci., Org. Chem., Ser. 1, 1973, v. 7, p. 319—344.
3. Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. Докл. АН СССР, 1979, т. 245, № 3, с. 765—768.
4. Rees D. A. MTP Intern. Rev. Sci., Org. Chem., Ser. 1, 1973, v. 7, p. 251—283.
5. Shirmer R. E., Noggle J. H., Davis J. P., Hart P. A. J. Amer. Chem. Soc., 1970, v. 92, № 11, p. 3266—3273.
6. Липкинд Г. М., Веровский В. Е., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1983, т. 9, № 9, с. 1269—1284.
7. Scott R. A., Scheraga H. A. J. Chem. Phys., 1966, v. 44, № 8, p. 3054—3068.
8. Kitaigorodsky A. I. Tetrahedron, 1961, v. 14, № 3/4, p. 230—236.
9. Tvaroška I., Bleha T. Tetrahedron Lett., 1975, № 4, p. 249—252.
10. Lemieux R. U. Chem. Soc. Rev., 1978, v. 7, № 4, p. 423—452.
11. Thøgersen H., Lemieux R. U., Bock K., Meyer B. Can. J. Chem., 1982, v. 60, № 1, p. 44—57.
12. Стоддар Дж. Стереохимия углеводов. М.: Мир, 1975, с. 95—114.
13. Стоддар Дж. Стереохимия углеводов. М.: Мир, 1975, с. 94.
14. Jeffrey G. A., McMullan R. K., Takagi S. A. Acta crystallogr., 1977, v. B33, № 3, p. 728—737.
15. Takagi Sh., Jeffrey G. A. Acta crystallogr., 1978, v. B34, № 6, p. 2551—2555.
16. Takagi Sh., Jeffrey G. A. Acta crystallogr., 1979, v. B35, № 2, p. 902—906.
17. Mo F. Acta chem. scand., 1979, v. A33, № 3, p. 207—218.
18. Arnott S., Scott W. E. J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 1972, № 3, p. 324—335.
19. Bock K., Josephson S., Bundle D. R. J. Chem. Soc. Perkin Trans II, 1982, № 1, p. 59—70.
20. Brisson J.-R., Carver J. P. Biochemistry, 1983, v. 22, № 15, p. 3761—3680.
21. Шапков А. С., Чижов О. С. Биоорган. химия, 1976, т. 2, № 4, с. 437—497.
22. Dutton G. G. S., Paulin M. Carbohydr. Res., 1980, v. 87, p. 107—117.
23. Dutton G. G. S., Paulin M. Carbohydr. Res., 1980, v. 87, p. 119—127.
24. Шапков А. С., Усов А. И., Книрель Ю. А., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 9, с. 1364—1371.

Поступила в редакцию  
12.IV.1984

CONFORMATIONAL ANALYSIS AND THE NUCLEAR OVERHAUSER EFFECT  
IN 1-2 LINKED DISACCHARIDES WITH  $\alpha$ -*MANNO*-  
AND  $\alpha$ -*RHAMNO*-CONFIGURATION OF REDUCING RESIDUE

LIPKIND G. M., KOCHETKOV N. K.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences  
of the USSR, Moscow*

Theoretical conformational analysis of glycosyl 1-2 glycosides with  $\alpha$ -*manno*- and  $\alpha$ -*rhamno*-configuration of reducing residue and calculation of the nuclear Overhauser effect have been carried out. It is shown that all disaccharides, differing in residue absolute configuration and configuration of the anomeric centre of glycosidic bond, can be divided into two groups. The members of each group have characteristic spatial effects. In one group, the nuclear Overhauser effects are equally pronounced for aglycon H2' and H1' protons under the condition of saturating the H1 proton of the non-reducing residue. In the other one, the effect is very weak for the H1' protons. This feature may be used for establishing the sequences of saccharides in oligo and polysaccharides.