



УДК 577.114.012.7 : 543.422.25

ЯДЕРНЫЙ ЭФФЕКТ ОВЕРХАУЗЕРА И СТРУКТУРНЫЕ ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ КОНФОРМАЦИЮ ДИСАХАРИДОВ

Липкин Г. М., Шапков А. С., Мамян С. С.,
Кочетков Н. К.

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

На основе определения межзвеньевых ядерных эффектов Оверхаузера в ^1H -ЯМР-спектрах и теоретического расчета с использованием атом-атомных потенциальных функций проведен конформационный анализ 1,2-, 1,3- и 1,4-связанных дисахаридов, построенных из остатков альдоексонираноз. Показано, что к структурным факторам, определяющим конформацию дисахаридов, относятся конфигурация моносахаридных остатков, конфигурация и положение межзвеньевой гликозидной связи, ориентация протонов при углеродном атоме агликона, участвующем в образовании гликозидной связи, и при соседних с ним атомах углерода.

Знание конформационных свойств межзвеньевой гликозидной связи в дисахаридных звеньях в водном растворе необходимо для понимания пространственной организации биологически важных олиго- и полисахаридов в условиях функциональной среды.

Ранее нами было предпринято экспериментальное и теоретическое исследование конформационных свойств 1,2-, 1,3- и 1,4-связанных дисахаридов, включающих моносахаридные остатки с *глюко*-, *манно*-, *галакто*- и *ксило*-конфигурацией в водных растворах [1–8]. Кроме того, были рассмотрены 1,3-связанные дисахариды с *тало*-конфигурацией гликозилируемого моносахарида. Выбранный круг дисахаридов позволяет выявить те основные структурные и стереохимические факторы, от которых зависят конформационные свойства межзвеньевой гликозидной связи. Результаты такого обобщения представлены в данной работе.

Для всех рассмотренных структур (см. табл. 1–3) были измерены ядерные эффекты Оверхаузера (ЯЭО) при облучении аномерных протонов гликозидных связей (а также, в случае необходимости, и других протонов). ЯЭО представляет собой изменение интегральной интенсивности сигнала какого-либо протона в спектре ^1H -ЯМР в условиях насыщения резонанса другого протона и определяется как отношение интенсивностей сигнала ядра d в условиях насыщения ядра s и при отсутствии насыщения. Величина ЯЭО f_s^d в системе из j протонов определяется следующей функциональной зависимостью [9]:

$$f_s^d = r_{ds}^{-6} / 2 \sum_{j \neq d} r_d^{-6} - \sum_{j \neq d, s} r_{dj}^{-6} \cdot f_s^j / 2 \sum_{j \neq d} r_{dj}^{-6}$$

т. е. ЯЭО в первую очередь определяется расстоянием r_{ds} между протонами s и d .

Следует подчеркнуть, что величины ЯЭО в свободных дисахаридах несут важную информацию для определения конформации высших олигосахаридов и полисахаридов. Из сопоставления ЯЭО в дисахаридах и звеньях полисахаридов, включающих соответствующие дисахаридные фрагменты, можно получить представление о конформационных состояниях полисахаридных цепей в растворах.

Допустимые по невалентным взаимодействиям конформации дисахаридов были найдены расчетным путем с использованием атом-атомных потенциальных функций. Как было показано нами ранее [1], в водных растворах дисахаридов потенциалы типа «6–12» являются «потенциалами

Ядерные эффекты Оверхаузера (%), наблюдаемые при облучении аномерных протонов гликозидных связей на протонах гликозидируемых остатков дисахаридов с одним экваториальным протоном при β-углероде агликона [4, 6, 7, 8]

| Дисахариды | Структурные факторы | Наблюдаемые протоны | Дисахариды | Структурные факторы | Наблюдаемые протоны | | | | | | | | |
|---------------------------|--|---|------------|---------------------|---------------------------|--|---|--|---|------|-----|------|-----------------|
| <i>DGlcα1-2LRhaα1-OMe</i> | α, <i>D-L</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>H2</td><td>H1</td></tr> <tr><td>7,4</td><td>7,5</td></tr> </table> | H2 | H1 | 7,4 | 7,5 | <i>DGlcβ1-2LRhaα1-OMe</i> | β, <i>D-L</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>H2</td><td>H1</td></tr> <tr><td>10,5</td><td>1,0</td></tr> </table> | H2 | H1 | 10,5 | 1,0 |
| H2 | H1 | | | | | | | | | | | | |
| 7,4 | 7,5 | | | | | | | | | | | | |
| H2 | H1 | | | | | | | | | | | | |
| 10,5 | 1,0 | | | | | | | | | | | | |
| <i>LRhaβ1-2LRhaα1-OMe</i> | β, <i>L-L</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>10,4</td><td>8,4</td></tr> </table> | 10,4 | 8,4 | <i>DGlcβ1-2DGalβ1-OMe</i> | β, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>6,8</td><td>—</td></tr> <tr><td>H3</td><td>H2</td></tr> </table> | 6,8 | — | H3 | H2 | | |
| 10,4 | 8,4 | | | | | | | | | | | | |
| 6,8 | — | | | | | | | | | | | | |
| H3 | H2 | | | | | | | | | | | | |
| <i>DGlcα1-2DGalβ1-OMe</i> | α, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>3,3</td><td>2,6</td></tr> <tr><td>H3</td><td>H2</td></tr> </table> | 3,3 | 2,6 | H3 | H2 | <i>DGlcβ1-3LRhaα1-OMe</i> | β, <i>D-L</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>4,6</td><td>—</td></tr> </table> | 4,6 | — | | |
| 3,3 | 2,6 | | | | | | | | | | | | |
| H3 | H2 | | | | | | | | | | | | |
| 4,6 | — | | | | | | | | | | | | |
| <i>DGlcα1-3LRhaα1-OMe</i> | α, <i>D-L</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>4,5</td><td>4,5</td></tr> </table> | 4,5 | 4,5 | <i>LRhaα1-3LRhaα1-OMe</i> | α, <i>L-L</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>11,0</td><td>—</td></tr> </table> | 11,0 | — | | | | |
| 4,5 | 4,5 | | | | | | | | | | | | |
| 11,0 | — | | | | | | | | | | | | |
| <i>LRhaβ1-3LRhaα1-OMe</i> | β, <i>L-L</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>11,0</td><td>8,5</td></tr> <tr><td>H3</td><td>H4</td></tr> </table> | 11,0 | 8,5 | H3 | H4 | <i>DManα1-3DGalβ1-OMe</i> | α, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>11,0</td><td>—</td></tr> <tr><td>H3</td><td>H4</td></tr> </table> | 11,0 | — | H3 | H4 |
| 11,0 | 8,5 | | | | | | | | | | | | |
| H3 | H4 | | | | | | | | | | | | |
| 11,0 | — | | | | | | | | | | | | |
| H3 | H4 | | | | | | | | | | | | |
| <i>DGlcα1-3DGalβ1-OMe</i> | α, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>2,0</td><td>4,5</td></tr> </table> | 2,0 | 4,5 | <i>DGlcβ1-3DGalβ1-OMe</i> | β, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>7,1</td><td>0,7</td></tr> </table> | 7,1 | 0,7 | | | | |
| 2,0 | 4,5 | | | | | | | | | | | | |
| 7,1 | 0,7 | | | | | | | | | | | | |
| <i>DManα1-3DGalβ1-OMe</i> | α, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>3,8</td><td>8,1</td></tr> </table> | 3,8 | 8,1 | <i>DManβ1-3DGalβ1-OMe</i> | β, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>5,9</td><td>0,7</td></tr> </table> | 5,9 | 0,7 | | | | |
| 3,8 | 8,1 | | | | | | | | | | | | |
| 5,9 | 0,7 | | | | | | | | | | | | |
| <i>LRhaβ1-3DGalβ1-OMe</i> | β, <i>L-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>4,8</td><td>4,5</td></tr> <tr><td>H4</td><td>H5_e</td></tr> </table> | 4,8 | 4,5 | H4 | H5 _e | <i>LRhaα1-3DGalβ1-OMe</i> | α, <i>L-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>6,6</td><td>0,6</td></tr> <tr><td>H4</td><td>H5_e</td></tr> </table> | 6,6 | 0,6 | H4 | H5 _e |
| 4,8 | 4,5 | | | | | | | | | | | | |
| H4 | H5 _e | | | | | | | | | | | | |
| 6,6 | 0,6 | | | | | | | | | | | | |
| H4 | H5 _e | | | | | | | | | | | | |
| <i>DGlcβ1-4DXyβ1-OMe</i> | β, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>9,5</td><td>4,0</td></tr> </table> | 9,5 | 4,0 | <i>DGlcα1-4DXyβ1-OMe</i> | α, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α , <i>H</i> _{<i>n</i>-1} | <table border="1"> <tr><td>16,0</td><td>1,0</td></tr> </table> | 16,0 | 1,0 | | | | |
| 9,5 | 4,0 | | | | | | | | | | | | |
| 16,0 | 1,0 | | | | | | | | | | | | |

Таблица 2

Ядерные эффекты Оверхаузера (%) в гликозил-1-3-галаозидах (случай агликона с экваториальными протонами при обоих β-углеродах)

| Дисахариды | Структурные факторы | Наблюдаемые протоны | Дисахариды | Структурные факторы | Наблюдаемые протоны | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|---|--|------------|---------------------|---------------------|---------------------------|---|---|---------------------------|---|--|----|----|----|-----|---|-----|
| <i>DManα1-3DTalβ1-OMe</i> | α, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α | <table border="1"> <tr><td>H3</td><td>H4</td><td>H2</td></tr> <tr><td>3,1</td><td>5,2</td><td>—</td></tr> </table> | H3 | H4 | H2 | 3,1 | 5,2 | — | <i>DManβ1-3DTalβ1-OMe</i> | β, <i>D-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α | <table border="1"> <tr><td>H3</td><td>H4</td><td>H2</td></tr> <tr><td>5,3</td><td>—</td><td>4,7</td></tr> </table> | H3 | H4 | H2 | 5,3 | — | 4,7 |
| H3 | H4 | H2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3,1 | 5,2 | — | | | | | | | | | | | | | | | |
| H3 | H4 | H2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5,3 | — | 4,7 | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>LRhaβ1-3DTalβ1-OMe</i> | β, <i>L-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α | <table border="1"> <tr><td>4,1</td><td>4,3</td><td>0,5</td></tr> </table> | 4,1 | 4,3 | 0,5 | <i>LRhaα1-3DTalβ1-OMe</i> | α, <i>L-D</i> , <i>n</i> _{чет} , <i>S</i> _α | <table border="1"> <tr><td>5,7</td><td>0,7</td><td>6,3</td></tr> </table> | 5,7 | 0,7 | 6,3 | | | | | | |
| 4,1 | 4,3 | 0,5 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5,7 | 0,7 | 6,3 | | | | | | | | | | | | | | | |

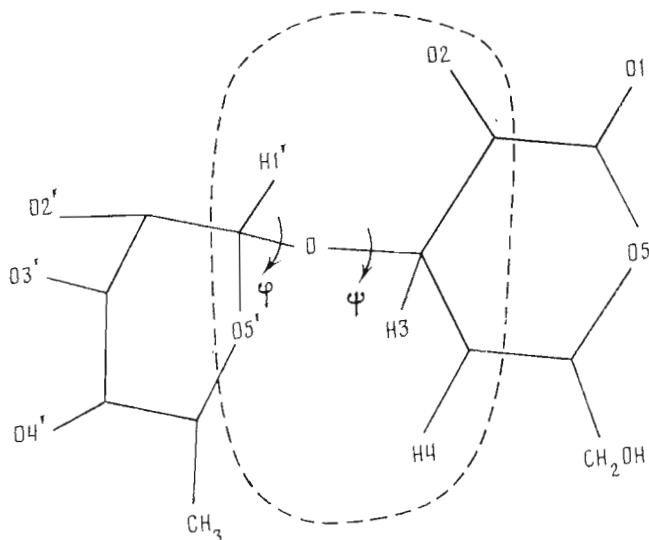


Рис. 1. Молекулярная модель дисахаридного звена LRha α 1-3DGal. Обведены группы атомов, определяющие конформационные состояния данного звена

средней силы», использование которых приводит к удовлетворительному описанию конформационного равновесия. Располагая потенциальной поверхностью дисахаридов — конформационной картой ϕ — ψ (ϕ и ψ — углы вращения вокруг гликозидных связей, рис. 1), можно рассчитать, используя приведенную выше формулу, средние значения ЯЭО $\langle f_s^d \rangle$. Очевидно, что сопоставление экспериментальных и расчетных величин ЯЭО позволяет прийти приемлемое описание конформационного равновесия в водных растворах дисахаридов.

Возможные конформации дисахаридов преимущественно определяют невалентными взаимодействиями нескольких групп атомов двух остатков. Так, со стороны гликозилирующего остатка это в основном атомы C1', H1' и O5'. Наличие заместителей при атоме C2' делает невыгодным как по энергетическому, так и по энтропийному фактору расположение агликона вблизи этого атома [1–7]. Поэтому преимущественной является *gosh*-ориентация агликона по отношению к связи C1'—O5'. Со стороны гликозилируемого остатка это протон H_n, связанный с замещенным атомом углерода C_n (α -углерод), а также экваториальные заместители, связанные с атомами углерода в β -положении к α -углероду. Выделенные атомы обведены на рис. 1.

Очевидно, от того, являются ли экваториальные заместители при β -углеродах атомами водорода или более объемными группами (например, гидроксиметильной группой), существенно зависят конформационные свойства дисахаридов. В соответствии с этим исследованные дисахариды могут быть разделены на три класса: а) дисахариды с экваториальным протоном при одном из β -углеродов агликона, б) дисахариды с экваториальными протонами при обоих β -углеродах агликона, в) дисахариды с объемными заместителями в обоих указанных положениях. Далее связь структуры дисахаридов с величинами ЯЭО будет анализироваться в пределах каждого стереохимического класса. Важный, по особому случаю 1,6-связанных дисахаридов здесь не рассматривается.

Полученные в работах [1–8] данные показали, что к основным струк-

* Угол ϕ задает вращение вокруг связи C1'—O, угол ψ — вращение вокруг связи O—C_n, где C_n ($n=2, 3$ или 4) — атом углерода агликона, образующего гликозидную связь. Номера со штрихами относятся к атомам гликозилирующего остатка. Угол ϕ равен нулю при *cis*-ориентации связей C1'—H1' и O—C_n, угол ψ — при *cis*-ориентации связей C1'—O и C_n—H_n.

Ядерные эффекты Оверхаузера (%) в дисахаридах с объемными заместителями при обоих β -углеродах агликона

| Дисахариды | Структурные факторы | Наблюдаемые протоны | |
|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------|-----|
| | | H4 | H6 |
| $DGlc\beta 1-4DGlc\alpha 1-OPO_3$ | $\beta, D-D, n_{чет}, S_c$ | 8,8 | ~2 |
| $DGlc\alpha 1-4DGal\beta 1-OMe$ | $\alpha, D-D, n_{чет}, S_a$ | 8,4 | 3,7 |
| $DGlc\alpha 1-4LRha\alpha 1-OMe$ | $\alpha, D-L, n_{чет}, S_e$ | 9,5 | 2 |
| | | H4 | H6 |
| $DGlc\alpha 1-4DGlc\beta 1-OMe$ | $\alpha, D-D, n_{чет}, S_e$ | 5,9 | — |
| $DGlc\beta 1-4DGal\beta 1-OMe$ | $\beta, D-D, n_{чет}, S_a$ | 6,5 | — |
| $DGlc\beta 1-4LRha\alpha 1-OMe$ | $\beta, D-L, n_{чет}, S_e$ | 8,2 | — |

турным факторам, определяющим ЯЭО в дисахаридах, построенных из остатков альдогексопираноз, относятся:

- 1) конфигурации связанных остатков ($D-D, L-L, D-L, L-D$)*;
- 2) конфигурация межзвеньевой гликозидной связи (α или β);
- 3) положение α -углерода в углеводном остатке агликона (он имеет четный, $n_{чет}$ (C2, C4), или нечетный номер, $n_{неч}$ (C3));
- 4) ориентация заместителя в гликозилированном остатке при α -углероде (аксиальная, S_a , или экваториальная, S_e).

Кроме того, для первого класса дисахаридов имеется дополнительный фактор:

- 5) положение β -углерода, несущего экваториальный протон (он имеет больший, H_{n+1} , или меньший номер, H_{n-1} , по сравнению с номером α -углерода агликона).

Физический смысл структурных факторов 3–5 станет ясен в ходе дальнейшего изложения материала.

Агликон с экваториальным протоном при одном β -углероде. Среди многочисленных представителей этого класса структур мы располагаем данными ЯЭО для 1,3-связанных дисахаридов с *манно*- или *галакто*-конфигурацией гликолизированного остатка [6–8], а также для ряда 1,2- и 1,4-связанных дисахаридов [4, 7] (см. табл. 1).

По характерным проявлениям в спектрах ЯЭО все рассмотренные дисахариды разделяются на две группы: 1) при облучении аномерного протона межзвеньевой гликозидной связи H1' наблюдаются сопоставимые ЯЭО на протоне, связанном с α -углеродом агликона, и на соседнем экваториальном протоне при β -углероде (левая часть табл. 1); 2) ЯЭО на экваториальном протоне либо вовсе отсутствует, либо примерно на порядок меньше, чем на протоне H_n (правая часть табл. 1).

Если сопоставить структуры с одним и тем же типом замещения и одинаковой конфигурацией агликона (с зафиксированными факторами 3–5), например гликозил-1-3-галактозиды [8], то легко заметить, что дисахариды левой и правой части табл. 1 различаются либо аномерной конфигурацией межзвеньевой гликозидной связи (например, $DGlc\alpha 1-3 \cdot DGal\beta 1-OMe$ и $DGlc\beta 1-3DGal\beta 1-OMe$), либо абсолютной конфигурацией одного из моносахаридных остатков (например, $LRha\beta 1-3DGal\beta 1-OMe$ и $DMan\beta 1-3DGal\beta 1-OMe$). Таким образом, величины ЯЭО зависят от каждого из указанных структурных факторов 1 и 2. Вместе с тем одновременное обращение абсолютной конфигурации одного из остатков и конфигурации гликозидной связи мало влияет на отношение ЯЭО на рассматриваемых протонах H3 и H4 и, следовательно, не переводит дисахарид из одной группы в другую, что имеет место для дисахаридов $DMan\beta 1-3DGal\beta 1-OMe$ и $LRha\alpha 1-3DGal\beta 1-OMe$ в табл. 1.

* Фактор 1 непосредственно связан с конформациями углеводных остатков — 4C_1 или 1C_4 , но поскольку D -альдогексопиранозы существуют в конформации 4C_1 , а L -альдогексопиранозы — в конформации 1C_4 , этот фактор для удобства можно сформулировать в упомянутом виде.

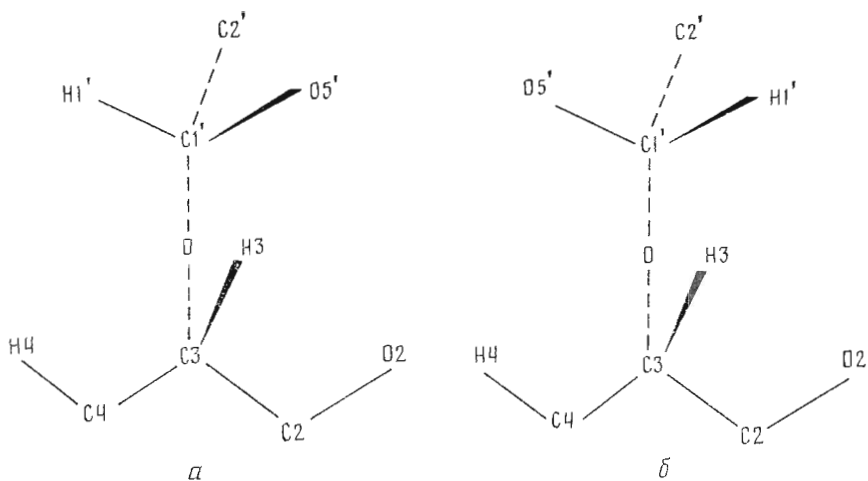


Рис. 2. Пространственное расположение ряда групп атомов в дисахаридах $DGlc\alpha 1-3DGal\beta 1-OMe$ (а) и $DGlc\beta 1-3DGal\beta 1-OMe$ (б)

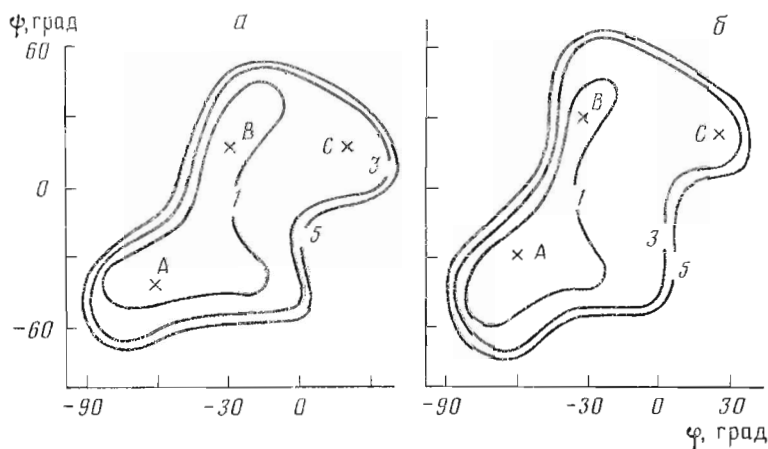


Рис. 3. Конформационные карты ϕ - ψ для дисахаридов $DGlc\alpha 1-2LRha\alpha 1-OMe$ (а) и $DGlc\alpha 1-3LRha\alpha 1-OMe$ (б). Проведены эквипотенциальные кривые относительной энергии, в ккал/моль, рассчитанные с использованием функций Скотта и Шераги [10]. Крестиком помечены положения локальных минимумов

Из теоретического конформационного анализа следует, что изменение какого-либо одного из структурных факторов (1 или 2) действительно изменяет пространственную структуру дисахаридов. Так, на потенциальной поверхности дисахарида $DGlc\alpha 1-3DGal\beta 1-OMe$ (рис. 2а [8]) выделяется один низкоэнергетический конформер с углами вращения $\phi, \psi -60, -50^\circ$, в котором протоны $H1'$ и $H4$ сближены до расстояния всего лишь 2,1 Å. Более того, в $\sim 90\%$ всех конформеров, допустимых по невалентным взаимодействиям, протоны $H1'$ и $H4$ находятся в ван-дер-ваальсовом касании друг с другом, что обуславливает появление значительного ЯЭО на протоне $H4$ (табл. 1). Напротив, в дисахаридах $DGlc\beta 1-3DGal\beta 1-OMe$ во всех возможных конформациях расстояния r ($H1'-H4$) превышают 3–4 Å и сближены до расстояния 2,1–2,3 Å лишь протоны $H1'$ и $H3$. В соответствии с этим значительный ЯЭО наблюдается в этом случае только на протоне $H3$, тогда так на протоне $H4$ он практически равен нулю (табл. 1).

Характерное расположение протонов $H1'$ и $H4$ друг относительно друга в допустимых конформациях дисахаридов $DGlc\alpha 1-3DGal\beta 1-OMe$ и $DGlc\beta 1-3DGal\beta 1-OMe$ показано на рис. 2, на котором даны проекции фрагментов дисахаридов на плоскость, перпендикулярную плоскости гликозидной свя-

зи, причем угол $\varphi(C1'-O)$ соответствует *gosh*-ориентации агликона по отношению к связи $C1'-O5'$. Если в дисахариде $DGlc\alpha 1-3DGal\beta 1-OMe$ протоны $H1'$ и $H4$ находятся в *цис*-позиции относительно плоскости $C1'-O-C3$ (рис. 2а), то в дисахариде $DGlc\beta 1-3DGal\beta 1-OMe$ — в *транс* (рис. 2б). Вместе с тем при одновременном изменении обоих структурных факторов 1 и 2 относительное расположение протонов $H1'$, $H4$ и $H1'$, $H3$ и, как следствие, относительные величины ЯЭО сохраняются.

В рассматриваемый класс дисахаридов также попадают гликозил-1-4-ксилозиды [4], в агликоне которых имеется экваториальный протон в положении 5. Так, в дисахаридах $DGlc\beta 1-4DXyl\beta 1-OMe$ и $DGlc\alpha 1-4DXyl\beta 1-OMe$, различающихся конфигурацией аномерного центра остатка глюкозы, соотношения ЯЭО на протонах $H5$ и $H4$ ксилозы при предоблучении протона $H1'$ составляют 1 : 2 и 1 : 16 соответственно, табл. 1 [4].

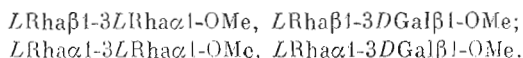
Далее, в табл. 1 заслуживает внимания сходство экспериментальных данных ЯЭО в гликозил-1-2- α -рамнозидах [7] и гликозил-1-3-рамнозидах [6, 7] с одинаковыми структурными факторами 1 и 2. Так, близким у них оказывается соотношение ЯЭО на протонах $H2$ и $H1$ в 1,2-связанных дисахаридах и ЯЭО на протонах $H3$ и $H2$ в 1,3-связанных дисахаридах, например в $DGlc\alpha 1-2LRha\alpha 1-OMe$ и $DGlc\alpha 1-3LRha\alpha 1-OMe$. В этих дисахаридах различие состоит в положении α -углеродного атома агликона (он имеет четный номер (C2) в первом и нечетный (C3) во втором, фактор 3) и ориентации гликозилирующего остатка при нем (аксиальной в первом и экваториальной — во втором, фактор 4). Однако, несмотря на эти два различия конформационные карты $\varphi-\psi$ и энергии соответствующих оптимальных конформаций практически одинаковы (рис. 3а, б). Это обстоятельство, как и данные ЯЭО, позволяют заключить, что каждый из упомянутых структурных факторов 3 и 4 (изменение номера α -углеродного атома с четного на нечетный и ориентации заместителя при этом углеводе) следует рассматривать наряду со структурными факторами 1 и 2 в качестве основных, определяющих конформацию дисахаридного звена.

Из сравнения конформационных карт на рис. 3 для дисахаридов $DGlc\alpha 1-2LRha\alpha 1-OMe$ и $DGlc\alpha 1-3LRha\alpha 1-OMe$ видно, что обращение четного числа структурных факторов сохраняет форму энергетической потенциальной поверхности дисахаридов и, как следствие, экспериментальные закономерности в спектрах ЯЭО.

То, что величины ЯЭО тесно связаны с четностью α -углеродного атома агликона, можно проиллюстрировать и на других примерах. Так, изменение четности этого атома при переходе от дисахарида $DGlc\alpha 1-2DGlc\alpha 1-OMe$ к дисахариду $DMan\alpha 1-3DMan\alpha 1-OMe$, в которых остальные структурные факторы совпадают, приводит к обращению закономерностей в спектрах ЯЭО (табл. 1). Действительно, в этих дисахаридах замещение имеет место по соседним экваториальным гидроксильным группам гликозилируемого остатка, которые расположены по разные стороны от стандартной плоскости пиранозного кольца. Вследствие этого с гликозилирующим остатком пространственно сближенным оказывается то экваториальный заместитель в положении $(n-1)$ кольца агликона (в данных примерах протон H_{n-1}), то экваториальный заместитель в положении $n+1$ (O_{n+1}), т. е. результат оказывается равнозначным изменению ориентации заместителя при α -углеводе.

В качестве структурного фактора 5 мы указали номер β -углерода с экваториальным протоном $(n-1$ или $n+1)$ относительно номера n α -углеродного атома агликона. Замена агликона с аксиальным заместителем у атома $C4$ (галактопиранозы) на агликон с аксиальным заместителем у $C2$ (маннопиранозу) приводит к обращению зависимости ЯЭО, что становится очевидным при сопоставлении дисахаридов $DMan\alpha 1-3DGal\beta 1-OMe$ и $DMan\alpha 1-3DMan\alpha 1-OMe$ (табл. 1). Таким образом, изменение номера β -углерода, связанного с экваториальным протоном, с большего на меньший по сравнению с номером α -углерода агликона вызывает такое же изменение соотношения ЯЭО, как изменение любого из рассмотренных ранее факторов. В соответствии с этим при одновременном изменении фактора 5 (H_{n-1} на H_{n+1} или H_{n+1} на H_{n-1}) и какого-нибудь другого фак-

тора, например конфигурации одного из остатков, мы получаем дисахарид, входящий в ту же конформационную группу, что и исходный. В качестве примера приведем следующие пары дисахаридов из табл. 1:



Для каждой пары соответствующие конформационные карты очень близки (ср. рис. 1, 2 [6] рис. 2, 3 [8]), также близким оказывается соотношение ЯЭО на экваториальном протоне при β -углероде и на протоне H_a ($\sim 1:1$ в первом случае и $\sim 1:10$ — во втором (табл. 1)).

Наконец, представляет интерес сопоставить два дисахариды из табл. 1 ($LRha\beta 1-2LRha\alpha 1-OMe$ [7] и $DGlc\beta 1-4DXyl\beta 1-OMe$ [4]), в которых, несмотря на различия в типах связей, 1-2 и 1-4, фактор 3 сохраняется. Оба дисахариды различаются двумя факторами 4 и 5, тем не менее наблюдаемые закономерности в спектрах ЯЭО двух дисахаридов близки (табл. 1).

Общие закономерности в спектрах ЯЭО в первой и второй сериях дисахаридов табл. 1 находят подтверждение и в других параметрах спектров ядерного магнитного резонанса, например в величинах β -эффектов гликозилирования в спектрах ^{13}C -ЯМР. β -Эффект гликозилирования представляет собой разность между химическим сдвигом атома углерода в β -положении к углероду, образующему гликозидную связь, и химическим сдвигом того же атома в остатке в свободном состоянии. Найдено [11], что во всех дисахаридах первой серии β -эффекты гликозилирования для атомов углерода, несущих экваториальные протоны, составляют $-2 \div -5$ м.д., т. е. химические сдвиги соответствующих атомов углерода наблюдаются в более сильных полях, чем сигналы этих же атомов в свободных остатках, тогда как для дисахаридов второй серии, для которых ЯЭО на экваториальных протонах в β -положении практически не наблюдаются, β -эффекты гликозилирования также близки к нулю. Например, для дисахариды $LRha\beta 1-3DGal\beta 1-OMe$ β -эффект гликозилирования для атома C_4 остатка галактозы равен $-3,1$ м.д., а для дисахариды $LRha\alpha 1-3DGal\beta 1-OMe$ только $-0,7$ м.д. [8]. Симбатность величин β -эффектов гликозилирования величинам ЯЭО на экваториальных протонах подтверждает высказанную ранее гипотезу [11], что они обусловлены « γ -гош»-взаимодействием протонов, т. е. протонов H_1' и H_4 в случае гликозил-1-3-галактозидов и H_1' и H_2 в случае гликозил-1-3-маниозидов (гликозил-1-3-рамнозидов). Таким образом, β -эффекты гликозилирования в дисахаридных звеньях определяются также пятью структурными факторами, сформулированными в начале статьи.

Агликон с экваториальными протонами при обоих β -углеродах. Мы располагаем данными для серии дисахаридов с тало-конфигурацией гликозилируемого остатка (табл. 2). При облучении аномерного протона H_1' наряду с протонами H_3 значительный ЯЭО наблюдается только на одном из экваториальных протонов остатка талозы — H_3 или H_4 (табл. 2).

Если сопоставить ЯЭО в гликозил-1-3-талозидах с ЯЭО в гликозил-1-3-галактозидах с экваториальным протоном при атоме C_4 и гликозил-1-3-маниозидах (гликозил-1-3-рамнозидах) с экваториальным протоном при C_2 при условии одинаковых абсолютных конфигураций связанных остатков и одинаковой конфигурации межзвенной гликозидной связи, то можно увидеть, что для двух гликозилталозидов ($DMan\alpha 1-3DTal\beta 1-OMe$ и $LRha\beta 1-3DTal\beta 1-OMe$) реализуется ситуация, подобная той, которая имеет место в соответствующих гликозилгалактозидах, тогда как для второй пары ($DMan\beta 1-3DTal\beta 1-OMe$ и $LRha\alpha 1-3DTal\beta 1-OMe$) — сходная с соответствующими гликозилманиозидами. В целом картина ЯЭО для гликозил-1-3-талозидов является как бы суммарной по отношению к двум сопоставляемым типам дисахаридов с экваториальным протоном при одном из β -углеродов. В этом обнаруживается генетическая связь дисахаридов с экваториальным протоном при одном из β -углеродов агликона и дисахаридов с экваториальными протонами при обоих β -углеродных атомах. Действительно, в дисахариде $DMan\alpha 1-3DGal\beta 1-OMe$ наблюдается ЯЭО на протоне H_3 , а также в ~ 2 раза больший ЯЭО на протоне H_4 , в диса-

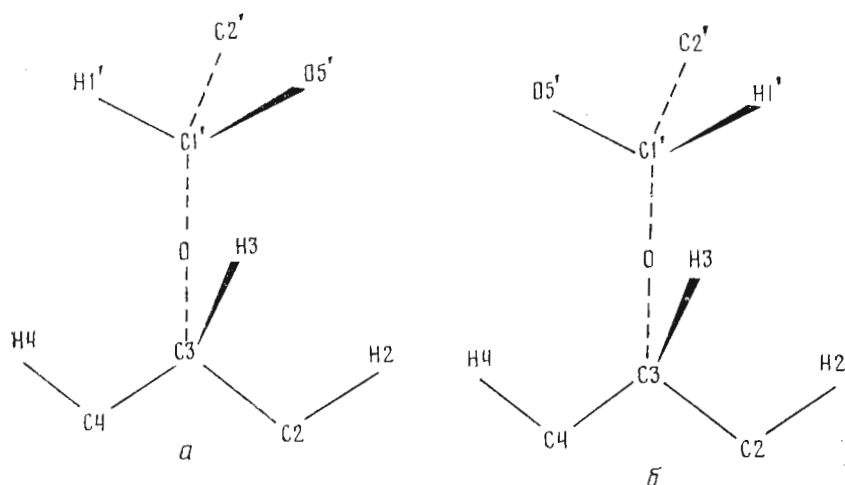


Рис. 4. Пространственное расположение ряда групп атомов в дисахаридах $DMan\alpha 1-3DTal\beta 1-OMe$ (а) и $DMan\beta 1-3DTal\beta 1-OMe$ (б)

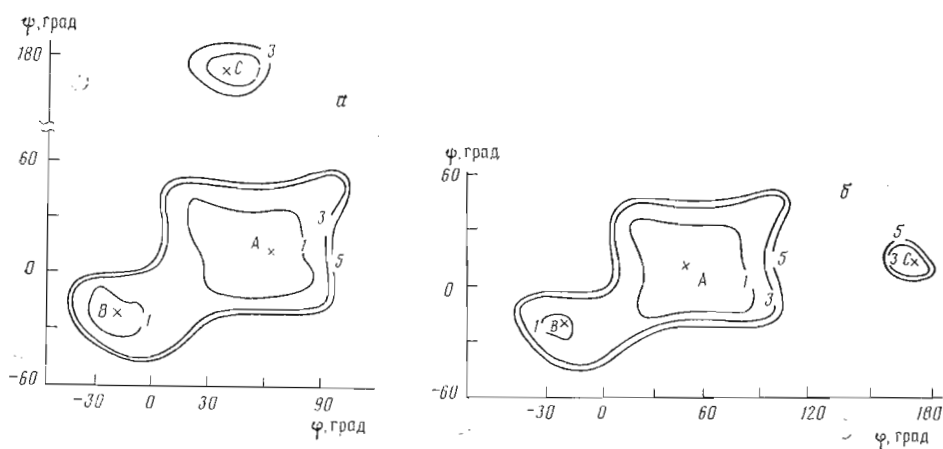


Рис. 5. Конформационные карты $\phi-\psi$ для дисахаридов $DGlc\beta 1-4LRha\alpha 1-OMe$ (а) и $DGlc\beta 1-4DGal\beta 1-OMe$ (б) (см. подпись к рис. 2)

хариде $DMan\alpha 1-3DMan\alpha 1-OMe$ ЯЭО имеет место только на протоне Н3, а на Н2 отклик отсутствует (табл. 1). в дисахариде $DMan\alpha 1-3DTal\beta 1-OMe$ ЯЭО зафиксирован на протонах Н3 и Н4 (на Н4 несколько больший, чем на Н3), тогда как на протоне Н2 отсутствует (табл. 2). Напротив, в дисахаридах $DMan\beta 1-3DGal\beta 1-OMe$ и $LRha\beta 1-3LRha\alpha 1-OMe$, сопоставляемых с дисахаридом $DMan\beta 1-3DTal\beta 1-OMe$, заметный ЯЭО на протоне Н4 не наблюдается (табл. 1) и этот эффект также не зафиксирован в указанном гликозилталозиде (табл. 2).

Характерная конформационная ситуация для гликозил-1-3-талозидов продемонстрирована на рис. 4 (подобном рис. 2), на котором даны проекции фрагментов дисахаридных структур на плоскость, перпендикулярную плоскости гликозидной связи. Так, если в дисахаридах $DMan\alpha 1-3DTal\beta 1-OMe$ и $LRha\beta 1-3DTal\beta 1-OMe$ в большинстве возможных конформеров протоны Н1' и Н4 располагаются в *цис*-ориентации относительно плоскости гликозидной связи и находятся в ван-дер-ваальсовом касании друг с другом (рис. 4а), то в дисахаридах $DMan\beta 1-3DTal\beta 1-OMe$ и $LRha\alpha 1-3DTal\beta 1-OMe$ в *цис*-позиции располагаются уже протоны Н1' и Н2, тогда как протоны Н1' и Н4 удалены друг от друга (рис. 4б).

При изменении какого-либо одного структурного фактора (1—4) взаимное расположение фрагментов на проекциях меняется на противоположное и, как следствие, имеет место обращение в величинах ЯЭО: для первой пары структур наблюдается ЯЭО на протоне Н4 остатка талозы,

тогда как для второй пары — уже на протоне H2 (табл. 2). Сами дисахариды каждой пары различаются четным числом структурных факторов (факторами 1 и 2).

В тех гликозил-1-3-галактозидах, в которых имеется возможность для эффективных дисперсионных взаимодействий протона H1' с протонами H3 и H4, благодаря которым соответствующие конформеры оказываются самыми низкоэнергетическими, форма потенциальной поверхности оказывается близкой потенциальной поверхности соответствующих гликозил-1-3-галактозидов с пространственно сближенными протонами H1' и H4. Так, в дисахаридах *DManα1-3DTalβ1-OMe* и *DManα1-3DGalβ1-OMe*, так же как и в паре *LRhaβ1-3DTalβ1-OMe* и *LRhaβ1-3DGalβ1-OMe*, энергетически предпочтительна одна и та же конформация с углами вращения φ и $\psi \sim -50$ и $\sim -50^\circ$. Напротив, гликозил-1-3-галактозиды, структуры которых стабилизируются ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями протонов H1' с H3 и H2, конформационно подобны соответствующим гликозил-1-3-маннозидам, как, например, в паре дисахаридов *DManβ1-3DTalβ1-OMe* и *LRhaβ1-3LRhaα1-OMe*.

Агликон с объемными экваториальными заместителями при обоих β-углеродах. В этом случае ввиду отсутствия экваториальных протонов при атомах β-углеродов значительный ЯЭО при предоблучении аномерного протона H1' наблюдается только на протоне агликона H_а, связанном с α-углеродом (табл. 3) [2, 3, 8].

Тем не менее и в этом классе дисахаридов мы можем проиллюстрировать связь ЯЭО с выделенными выше структурными факторами. Так, в 1,4-связанных дисахаридах ЯЭО наблюдаются не только на протоне H4, но и в ряде случаев на протонах гидроксиметильной или метильной группы в положении 5 агликона. Из сопоставления структурных факторов, указанных для каждого дисахарида в табл. 3, легко видеть, что те дисахариды, в которых ЯЭО наблюдается как на атомах H4, так и H6, отличаются друг от друга четным числом факторов, например, как пара дисахаридов *DGlcα1-4LRhaα1-OMe* и *DGlcα1-4DGalβ1-OMe*. Эти же дисахариды отличаются от дисахаридов, в которых отсутствует ЯЭО на протонах H6, нечетным числом факторов, как, например, в паре дисахаридов *DGlcα1-4DGalβ1-OMe* и *DGlcβ1-4DGalβ1-OMe* (табл. 3).

Сохранение закономерностей в спектрах ЯЭО 1,4-связанных дисахаридов, различающихся четным числом структурных факторов, также обусловлено сходством пространственного строения соответствующих структур. Это очевидно, например, из сопоставления конформационных карт $\varphi-\psi$, например, для дисахаридов *DGlcβ1-4LRhaα1-OMe* и *DGlcβ1-4DGalβ1-OMe*. Эти два дисахарида различаются как абсолютной конфигурацией одного из остатков, так и ориентацией заместителя при атоме C4 агликона, тем не менее их конформационные карты удивительно сходны (рис. 5), поэтому соответственно в обоих случаях ЯЭО наблюдается на протонах H4, тогда как на H6 отклика нет (табл. 3).

Таким образом, нами определены структурные факторы 1–5 дисахаридных звеньев, определяющие их конформационные свойства, а также характерные проявления в спектрах ¹H- и ¹³C-ЯМР. Как мы видели, дисахариды с одинаковым набором или отличающиеся от исходного набора четным числом структурных факторов 1–5 имеют близкое пространственное строение. Этот вывод имеет большое значение в структурной химии сахаров, так как позволяет все множество дисахаридных звеньев разбить на небольшое число стереохимических классов. Это обстоятельство позволяет судить о конформационных свойствах какого-либо дисахаридного звена (а также и о его спектрах ЯЭО и эффектах β-гликозильирования в спектрах ¹³C-ЯМР) на основе данных уже исследованных дисахаридов той же стереохимической группы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lipkind G. M., Verovskiy V. E., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1984. V. 133. P. 1–13.
2. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1985. V. 141. P. 191–197.

3. *Shashkov A. S., Lipkind G. M., Kochetkov N. K.* // Carbohydr. Res. 1986. V. 147. P. 175-182.
4. *Мамян С. С., Липкинд Г. М., Шашков А. С., Нифантьев Н. Э., Кочетков Н. К.* // Биооргани. химия. 1986. Т. 12. № 8. С. 1101-1110.
5. *Липкинд Г. М., Шашков А. С., Николаев А. В., Мамян С. С., Кочетков Н. К.* // Биооргани. химия. 1987. Т. 13. № 8. С. 1081-1092.
6. *Липкинд Г. М., Шашков А. С., Книрель Ю. А., Кочетков Н. К.* // Биооргани. химия. 1986. Т. 12. № 6. С. 771-779.
7. *Мамян С. С., Липкинд Г. М., Шашков А. С., Байрамова Н. Э., Николаев А. В., Кочетков Н. К.* // Биооргани. химия. 1988. Т. 14. № 2. С. 205-215.
8. *Липкинд Г. М., Мамян С. С., Шашков А. С., Нечаев О. А., Торгов В. И., Шиббаев В. Н., Кочетков Н. К.* // Биооргани. химия. 1988. Т. 14. № 3. С. 340-351.
9. *Noggle J. H., Schirmer R. E.* The nuclear Overhauser effect. N. Y.: Acad. Press, 1971.
10. *Scott R. A., Scheraga H. A.* // J. Chem. Phys. 1966. V. 44. № 8. P. 3054-3068.
11. *Kochetkov N. K., Chizhov O. S., Shashkov A. S.* // Carbohydr. Res. 1984. V. 133. P. 173-185.

Поступила в редакцию
17.VIII.1987

NUCLEAR OVERHAUSER EFFECT AND STRUCTURAL FACTORS, DETERMINING CONFORMATION OF DISACCHARIDES

LIPKIND G. M., SHASHKOV A. S., MAMYAN S. S., KOCHETKOV N. K.

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

Conformational analysis of 1,2-, 1,3- and 1,4-linked disaccharides built up of aldohexapyranose residues was performed on the basis of interresidue nuclear Overhauser effects in $^1\text{H-NMR}$ spectra and theoretical calculation using atom-atom potential functions. It was shown that the preferred conformation of the disaccharides is determined by the following factors: absolute configurations of monosaccharide residues, configuration and position of the glycosidic linkage, orientation of protons at the aglycon carbon atom involved in the glycosidic linkage and at the adjacent carbons atoms.