



# БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 7 \* № 9 \* 1981

УДК 547.458.02:541.63

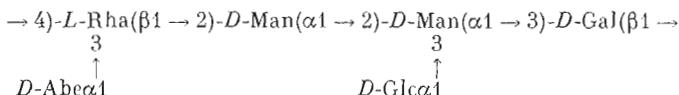
## ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ СПЕЦИФИЧЕСКИХ О-АНТИГЕННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ

### IV. О-АНТИГЕННЫЙ ПОЛИСАХАРИД *SALMONELLA NEWPORT*

Липкин Г. М., Кочетков Н. К.

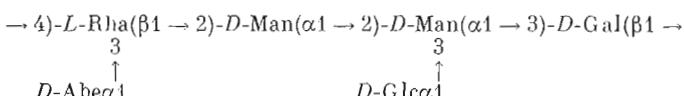
Институт органической химии им. И. Д. Зелинского  
Академии наук СССР, Москва

Проведен конформационный анализ О-антителного полисахарида *Salmonella newport* с гексасахаридной повторяющейся единицей:



Показано, что самой низкоэнергетической является максимально развернутая конформация. Взаимодействия боковых остатков с основной цепью обусловливают их направленную ориентацию к невосстанавливющему концу полимера.

Результаты конформационных расчетов полисахаридов *Salmonella* серотипов B и E представлены в предыдущих работах этой серии [1–3]. В настоящем сообщении излагаются результаты теоретического конформационного анализа О-специфического полисахарида бактерии *Salmonella newport*, принадлежащего к серотипу C2. Рассмотрением полисахарида серотипа C2 практически завершается анализ пространственного строения О-антителных бактерий рода *Salmonella*, для которых достоверно установлены первичные структуры [4] и получены иммунохимические данные [5]. Исследуемый полисахарид имеет регулярное строение и содержит гексасахаридные повторяющиеся единицы следующей структуры [6] \*:



Разветвления основной цепи в виде остатков арабинозы и глюкозы обусловливают специфические антигенные свойства данного полисахарида [5].

Регулярные конформации рассматриваемого полимера определяются 12 углами вращения вокруг гликозидных связей C1–O ( $\phi$ ) и O–C ( $\psi$ ). Методика конформационного анализа, используемые энергетические функции и отсчет углов вращения описаны в работе [1]. Коэффициенты функци-

\* Принятые сокращения: Rha – рамноза, Abe – арабиноза, Man – манноза, Gal – галактоза.

\* В некоторых звеньях рамнозы и глюкозы в положении 2 присутствуют О-ацетильные группы [6].

ций невалентных взаимодействий взяты из работы [7]. Использованные рентгеновские данные по структурам углеводных остатков даны в работах [1–3].

При минимизации потенциальной энергии полимера в качестве иулеровых приближений для параметров  $\phi_1 \dots \phi_6$  принимались углы вращения в локальных минимумах потенциальной поверхности каждого дисахаридного звена, т. е. рассматривались структуры, оптимальные по ближним взаимодействиям. Энергетические и геометрические параметры локальных конформеров дисахаридов, представленных в полимере *S. newport*, даны в табл. 1. В случаях возможного образования водородных связей расчеты проведены как с использованием потенциала водородной связи, так и без него. Это сопряжено с тем, что атомы O2 остатков рамнозы и глюкозы частично ацетилированы, что препятствует образованию водородных связей Abe(O2...O2)Rha и Glc(O2...O4)Man. В этом случае, как показал расчет, в основной цепи может быть реализована только единственная водородная связь Man(O5...O2)Gal. Таким образом, в данном полимере водородные связи не играют существенной роли для формирования структуры. Принимая во внимание этот факт, а также то обстоятельство, что расчеты были проведены применительно к водной среде (см. [1]), конформационный анализ всего полисахарида *S. newport* осуществлен без учета водородных связей. Тем не менее в конечных структурах анализируются все возможные способы образования водородных связей.

Из анализа конформаций трисахаридных звеньев основной цепи исследуемого полисахарида вытекает, что в трисахаридах Man-Man-Gal, Man-Gal-Rha и Gal-Rha-Man крайние углеводные остатки пространственно удалены друг от друга и располагаются в *транс*-положении относительно центрального остатка, т. е. их конформации относятся к развернутому шейпу *e* (см. [1]). В этот же шейп также входят структуры участка Rha-Man-Man, в которых дисахаридный фрагмент Man-Man представлен состояниями (1) или (2) (идентификаторы соответствуют номеру дисахаридного конформера в табл. 1). Действительно, при таких конформациях фрагмента Man-Man связи C2—O2 невосстановляющего остатка и C1—O1 восстановляющего остатка имеют противоположную направленность, что обеспечивает образование вытянутой структуры остова. Напротив, в состоянии 3 указанные связи направлены в одну сторону, что приводит к изгибу полисахаридной цепи. В этом случае конформеры трисахарида Rha-Man-Man относятся к шейпу *f*.

Таким образом, все структуры рассматриваемого полисахарида, цепь которого включает в себя трисахаридные звенья четырех типов, можно отнести к двум шейпам *eeee* и *feee*. Этот вывод подтверждается расчетами величин трансляций *h* повторяющейся единицы вдоль оси спирали. Если в первом случае они составляют 10,5–16,5 Å, то во втором — 4–9 Å. Распространенное представление, согласно которому в полисахаридных цепях, содержащих связи типа 1→2, имеются резкие изгибы, не носит универсального характера. На данном конкретном примере видно, что в зависимости от конформационного состояния соответствующего фрагмента могут реализоваться как развернутые, так и свернутые структуры полимера.

Расчеты показали, что в оптимальных конформациях основной цепи полисахарида *S. newport* реализуются только ближние взаимодействия в пределах дисахаридных звеньев; какие-либо дополнительные взаимодействия отсутствуют. Напротив, моносахаридные остатки боковых цепей весьма эффективно контактируют с остатками основной цепи, что приводит к некоторому детерминированию их конформационных состояний. Характерная особенность отмеченных взаимодействий состоит в том, что абеквоза и глюкоза вступают в контакты только с соседними моносахаридными остатками, расположенными в сторону невосстановляющего конца полимера. Расчеты показали, что такие взаимодействия имеют место во фрагментах Man-Gal-Rha (Abe) и Rha-Man-Man (Glc).

Таблица 1

Геометрические ( $\varphi$ ,  $\psi$ , град) и энергетические ( $U$ , ккал/моль)\* параметры дисахаридных фрагментов полисахарида *S. neoprontii*

\* Величины в скобках отвечают конформациям с водородными связями.

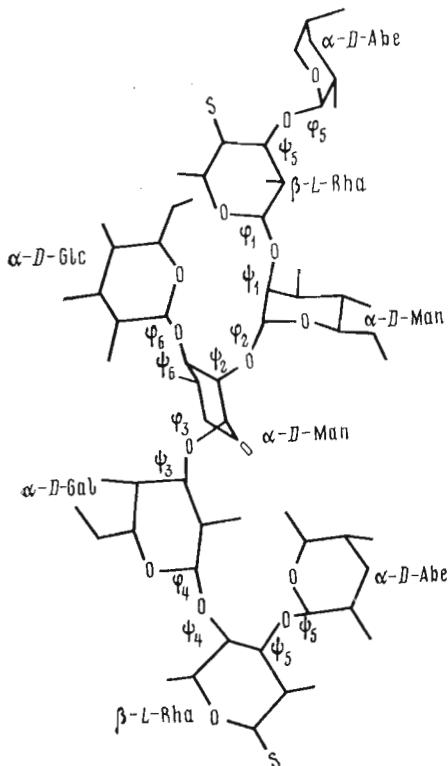
Таблица 2

Энергии ( $U$ , ккал/моль) и параметры спиралей повторяющегося гексасахаридного звена в конформациях полисахарида *S. newport*\*

| Конформационное состояние |      | <i>U</i> | <i>n</i> | <i>h</i> | Конформационное состояние |          | <i>U</i> | <i>n</i> | <i>h</i> |
|---------------------------|------|----------|----------|----------|---------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Шейп <i>eeee</i>          |      |          |          |          | Шейп <i>feee</i>          |          |          |          |          |
| 1111                      | -1,1 | 3,2      | 14,6     |          | 1311                      | 1,2      | -3,2     | 4,8      |          |
| 1211                      | 1,0  | -3,6     | 10,2     |          | 1321                      | 2,6      | 2,6      | 9,3      |          |
| 1121                      | 0,8  | 2,4      | 15,4     |          | 2311                      | 0,9      | -3,3     | 9,0      |          |
| 1221                      | 3,4  | 2,3      | 14,5     |          | 2321                      | 2,0      | -3,7     | 4,6      |          |
| 2111                      | 1,0  | -14,0    | 10,4     |          | 3311                      | 1,5      | 3,1      | 5,7      |          |
| 2211                      | 0,9  | 7,7      | 9,1      |          | 3321                      | $\infty$ | 3,3      | 0,3      |          |
| 2121                      | 1,7  | 4,0      | 16,3     |          |                           |          |          |          |          |
| 2221                      | 2,4  | 6,2      | 11,2     |          |                           |          |          |          |          |
| 3111                      | 1,3  | -6,1     | 14,6     |          |                           |          |          |          |          |
| 3211                      | 1,1  | -5,2     | 10,4     |          |                           |          |          |          |          |
| 3121                      | 3,0  | 3,5      | 16,5     |          |                           |          |          |          |          |
| 3221                      | 3,3  | 3,5      | 10,3     |          |                           |          |          |          |          |

\*  $n$  — число остатков в витке (знак «минус» соответствует левым спиралям),  $h(\text{\AA})$  — трансляция повторяющейся единицы вдоль оси спирали;  $n$  и  $h$  рассчитаны по алгоритму [8].

Из трех допустимых конформационных состояний свободного дисахарида Abe-Rha (табл. 1) в полимере практически реально только состояние (1); состояние (2) в этом случае недопустимо из-за невалентных отталкиваний атомов абеквозы и галактозы. Энергия дисперсионных взаимодействий с оством при ориентации абеквозы, соответствующей состоянию (3), значительно слабее, чем в случае (1) ( $-1,7$  и  $-3,5$  ккал/моль соответственно). Энергия дисперсионных взаимодействий глюкозы с соседними остатками рамнозы и маннозы при различных конформациях трисахарида Rha-Man-Man в среднем составляет от  $-2,5$  до  $-3$  ккал/моль,



Модель низкоэнергетической развернутой конформации (1111, табл. 2) О-антителного полисахарида *Salmonella newport*

конформации возможны три водородные связи: Man(O5...O2)Gal, Abe(O2...O2)Rha, Glc(O2...O4)Man. Несколько проигрывает ей по энергии конформация (1121), характеризующаяся отсутствием внутри молекулярной водородной связи в основной цепи и более вытянутой формой остива ( $h=15,5 \text{ \AA}$ ). Такие развернутые конформации особенно благоприятны для обеспечения хороших межмолекулярных контактов и, как следствие, плотной упаковки молекул, т. е. наиболее реальны также и для кристаллического состояния.

Сpirали шейпа *feee* обладают большими радиусами, вследствие чего их возможности для образования эффективных межмолекулярных контактов значительно хуже. Учитывая, что спирали этого шейпа не обладают какими-либо энергетическими преимуществами, следует признать, что они менее реальны, чем развернутые структуры шейпа *eeee*.

В полисахариде *S. newport* структуры с конформационным состоянием участка Gal-Rha —  $\phi = 30^\circ$  и  $\psi = -170^\circ$  (конформер (3), табл. 1) имеют развернутый характер ( $h > 11-12 \text{ \AA}$ ) и являются малореальными; локальные энталпийный и энтропийный проигрыши на этом звене в состоянии (3) не компенсируются средними и дальними взаимодействиями. Напротив, в складчатых конформациях полисахарида *S. typhimurium* (см. [1]) такие взаимодействия существенны.

Геометрические и энергетические параметры спиралей с конформационным состоянием (2) на звеньях Gal-Rha близки к указанным в табл. 2; углы вращения  $\phi$ ,  $\psi$  в конформерах (1) и (2) Gal-Rha различаются незначительно (см. табл. 1).

причем для ориентации (1) глюкозы она несколько ниже, чем для состояния (2). Самая плотная упаковка основной и боковой цепей достигается при наиболее предпочтительном состоянии (11) звена Rha-Man-Man и ориентации (1) звена Glc-Man. В этом случае энергия взаимодействий глюкозы с остатками рамнозы и маннозы равна  $-3,8 \text{ ккал/моль}$ . Таким образом, взаимодействия боковых цепей с оством дополнительно стабилизируют наиболее низкоэнергетическую конформацию основной цепи.

Энергии повторяющегося гексасахаридного звена в конформациях полисахаридной цепи *S. newport* при оптимальных ориентациях боковых остатков ((1) у абеквазы и (1) у глюкозы) даны в табл. 2. Самая низкоэнергетическая спираль (1111) оптимальна как по ближним взаимодействиям основной цепи, так и по взаимодействиям боковых остатков с оством. Она относится к шейпу *eeee* и представляет собой развернутую структуру (величина трансляции на звено составляет  $14,6 \text{ \AA}$ ) с осью симметрии третьего порядка и углами вращения  $\phi_1 = -56,2^\circ$ ,  $\psi_1 = -20,1^\circ$ ,  $\phi_2 = -35,1^\circ$ ,  $\psi_2 = -16,9^\circ$ ,  $\phi_3 = -25,9^\circ$ ,  $\psi_3 = 42,2^\circ$ ,  $\phi_4 = 25,1^\circ$ ,  $\psi_4 = -35,0^\circ$ ,  $\phi_5 = -49,6^\circ$ ,  $\psi_5 = -27,8^\circ$ ,  $\phi_6 = 11,0^\circ$ ,  $\psi_6 = 32,7^\circ$ . В такой

Из приведенной на рисунке модели конформации (1111) следует, что углеводная цепь остава имеет плавные внутренние изгибы, в которые вписываются остатки боковых цепей, обеспечивая образование плотно упакованной внутримолекулярной структуры. Вместе с тем как абеквоза, так и глюкоза вполне доступны для межмолекулярных взаимодействий. Так, у абеквозы в области контактирования с оставом находятся неполярные группы C4—H, C3—H, C5—H, а атомы кислорода O4 и O2 располагаются, напротив, с внешней стороны спирали. Атомы O2, O3 и O4 глюкозы также неэкранированы какими-либо внутримолекулярными контактами. В обоих остатках атомы O4 наиболее удалены от оси спирали.

Характерная особенность первичной структуры исследуемого полисахарида состоит в том, что она обусловливает такую пространственную организацию полимера, при которой боковые моносахаридные остатки ориентируются к невосстанавливающему концу, экспонированному от поверхности клетки во внешнюю среду. Таким образом, они в наибольшей степени предрасположены к участию в комплексообразовании с антителом. Именно с абеквазой и глюкозой сопряжены иммунобиологические детерминанты *S. newport* и факторы 8 и 6, этого антигена [5].

Полисахарид *S. typhimurium* с существенно иной первичной последовательностью имеет сходную с полисахаридом *S. newport* пространственную структуру [1] и обладает фактором 4, также сопряженным с абеквойзой. Следствием этого является тот факт, что оба антигена дают кроссреакции с антисывороткой лошади [5].

## ЛИТЕРАТУРА

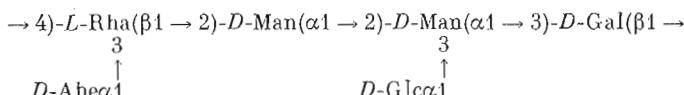
- Липкин Г. М., Кочетков Н. К. Теоретический конформационный анализ специфических О-антителенных полисахаридов. I. О-антителенный полисахарид *Salmonella typhimurium*.—Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 12, с. 1817–1829.
  - Липкин Г. М., Кочетков Н. К. Теоретический конформационный анализ специфических О-антителенных полисахаридов. II. О-антителенный полисахарид *Salmonella anatum*.—Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 1, с. 111–121.
  - Липкин Г. М., Кочетков Н. К. Теоретический конформационный анализ специфических О-антителенных полисахаридов. III. О-антителенный полисахарид *Salmonella newington*.—Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 3, с. 391–400.
  - Jann K., Westphal O. Microbial polysaccharides.—The antigens, 1975, v. III, p. 1–125.
  - Lüderitz O., Westphal O., Staub A. M., Nitaido H. Isolation and chemical and immunological characterization of bacterial lipopolysaccharides.—Microbiol. toxins, 1971, v. 4, p. 145–233.
  - Hellerqvist G. G., Hoffman J., Lindberg A. A., Lindberg B., Svensson S. Sequence analysis of the polysaccharides from *Salmonella newport* and *Salmonella kentucky*.—Acta chem. scand., 1972, v. 26, № 8, p. 3282–3286.
  - Журкин В. Б., Полтев В. И., Флорентьев В. А. Атом-атомные потенциальные функции для расчета нуклеиновых кислот.—Молекулярн. биол., 1980, т. 14, № 5, с. 1116–1130.
  - Shimanouchi T., Mizushima S. On the helical configuration of polymer chain.—J. Chem. Phys., 1955, v. 23, № 4, p. 701–711.

Поступила в редакцию  
20.II.1984

THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF SPECIFIC O-ANTIGENIC  
POLYSACCHARIDES. IV. O-ANTIGENIC POLYSACCHARIDE FROM  
*SALMONELLA NEWPORT*

LIPKIND G. M., KOCHETKOV N. K.  
*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy  
of Sciences of the USSR, Moscow*

Semi-empirical potential energy calculations were performed for *Salmonella newport* O-specific polysaccharide containing a hexasaccharide repeat unit:



The fully extended conformation was found to have the lowest energy. The orientation of side chains towards the non-reducing end of the polymer was shown to stem from their specific interactions with the main chain.