



УДК 547.458.2 : 577.114.012.7

КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ УГЛЕВОДНЫХ ЦЕПЕЙ
ГРУППОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Веровский В. Е., Липланд Г. М., Кочетков Н. К.

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

Проведен теоретический конформационный анализ ди- и триантенных углеводных цепей групповых веществ. Показано, что такие О-гликозилирующие олигосахариды могут образовывать компактные Y-образные структуры с эффективными невалентными взаимодействиями между остатками ветвей.

Данное сообщение, как и сообщение [1], посвящено конформационному анализу углеводных цепей группоспецифических веществ крови. Такие гликопротеины, по-видимому, имеют своеобразную компактную структуру, в которой пептидная цепь окружена углеводной оболочкой [2]. Возможность взаимодействий между углеводными цепями в О-гликозилированных белках показана также в нашей работе [3]. Поэтому представляет интерес исследовать пространственное строение олигосахаридов групповых веществ и выявить те структуры, которые возможны в плотноупакованных углеводных образованиях. Решение такой задачи важно для понимания макромолекулярной организации групповых веществ крови.

В исследованиях Деревицкой, Арбатского и Кочеткова группового вещества со специфичностью Н [4, 5] выделено 29 типов различных углеводных цепей. В зависимости от числа остатков и типов разветвлений от дисахарида кора $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}^*$, посредством которого осуществляется связь углеводов с пептидной цепью, все олигосахариды разделены на 6 серий. Лактозаминные фрагменты, присоединенные к кору, представляют собой ветви цепей. Некоторые из них содержат на невозстанавливаемом конце дисахарид $\text{Fuc}\alpha 1-2\text{Gal}$, который является иммунодетерминантным в групповых веществах со специфичностью Н.

Ранее [1] нами были рассмотрены три- и гексасахариды первых двух серий. В данной работе приводятся результаты расчета окта-, нона- и ундекасахаридов, представителей серий 4, 5 и 6. Их структурные формулы приведены в табл. 1. Так как каждая серия включает не менее 5 типов углеводных цепей, нами выбраны те из них, вклад которых максимален (более 50%). В рассматриваемых олигосахаридах число ветвей (в данном случае это трисахаридные остатки $\text{Fuc}\alpha 1-2\text{Gal}\beta 1-4\text{GlcNAc}$ - и $\text{GlcNAc}\alpha 1-4\text{Gal}\beta 1-4\text{GlcNAc}$ -) равно двум или трем, т. е. они являются ди- и триразветвленными, или, как их иногда называют, ди- и триантенными. Ветви (антенны), присоединенные к кору посредством связей $\beta 1-3\text{Gal}$, $\beta 1-6\text{Gal}$, $\beta 1-6\text{GalNAc}$, будем обозначать буквами А, В, С (табл. 1) соответственно.

Конформационный анализ углеводных цепей с использованием атомных потенциальных функций нами подробно описан в работах [6, 7]. При оценке потенциальной энергии конформаций учитывались невалентные и электростатические взаимодействия, водородные связи и торсионный вклад. Для функций невалентных взаимодействий использована параметризация Скотта и Шераги [8].

Конформации углеводных цепей задаются углами вращения вокруг гликозидных связей $\varphi(\text{C1}-\text{O})$ и $\psi(\text{O}-\text{CX})$ (CX — атом углерода агликона, X может быть равен 2—4 или 6). Для звеньев с типом связывания 1→6

* Все моносахариды, за исключением фукозы, — D-конфигурации.

также учитывается угол вращения ω вокруг связи C5—C6. Углы вращения между остатками олигосахаридов при нумерации от восстанавливающего остатка N-ацетилгалактозамина указаны в табл. 1. Так, конформации олигосахаридов (IV) определяются 22 углами вращения. Углы равны нулю при *cis*-ориентации соответствующих связей (см. [7]). Для структур моносахаридных остатков использованы данные рентгеноструктурного анализа. Соответствующие ссылки приведены в работе [1]. Валентный угол при атоме кислорода гликозидной связи принят равным 117 или 111,5° при связывании по типу 1→6 [9].

Таблица 1

Олигосахаридные цепи групповых веществ [5]

Номер	Серия	Формула
(I)	4	$ \begin{array}{c} \text{A} \\ \begin{array}{c} \overset{5}{\text{Fuc}\alpha 1} \xrightarrow{\varphi_4, \psi_4} \overset{4}{2\text{Gal}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_3, \psi_3} \overset{3}{4\text{GlcNAc}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_2, \psi_2} \downarrow \\ \begin{array}{c} \overset{3}{\text{Gal}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_1, \psi_1} \overset{1}{3\text{GalNAc}} \\ \uparrow \\ \overset{6}{\text{Fuc}\alpha 1} \xrightarrow{\varphi_7, \psi_7} \overset{7}{2\text{Gal}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_6, \psi_6} \overset{6}{4\text{GlcNAc}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_5, \psi_5, \omega} \uparrow \end{array} \end{array} \end{array} $
(II)	4	$ \begin{array}{c} \text{B} \\ \begin{array}{c} \text{GlcNAc}\alpha 1 \xrightarrow{\quad} 4\text{Gal}\beta 1 \xrightarrow{\quad} 4\text{GlcNAc}\beta 1 \xrightarrow{\quad} \downarrow \\ \begin{array}{c} \overset{3}{\text{Gal}\beta 1} \xrightarrow{\quad} \overset{1}{3\text{GalNAc}} \\ \uparrow \\ \text{Fuc}\alpha 1 \xrightarrow{\quad} 2\text{Gal}\beta 1 \xrightarrow{\quad} 4\text{GlcNAc}\beta 1 \xrightarrow{\quad} \uparrow \end{array} \end{array} \end{array} $
(III)	5	$ \begin{array}{c} \text{C} \\ \begin{array}{c} \text{Fuc}\alpha 1 \xrightarrow{\quad} 2\text{Gal}\beta 1 \xrightarrow{\quad} 4\text{GlcNAc}\beta 1 \xrightarrow{\quad} \downarrow \\ \begin{array}{c} \overset{3}{\text{Gal}\beta 1} \xrightarrow{\quad} \downarrow \\ \begin{array}{c} \overset{3}{\text{GalNAc}} \\ \uparrow \\ \text{GlcNAc}\beta 1 \xrightarrow{\quad} \uparrow \end{array} \end{array} \end{array} \end{array} $
(IV)	6	$ \begin{array}{c} \text{A} \\ \begin{array}{c} \overset{5}{\text{GlcNAc}\alpha 1} \xrightarrow{\varphi_4, \psi_4} \overset{4}{4\text{Gal}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_3, \psi_3} \overset{3}{4\text{GlcNAc}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_2, \psi_2} \downarrow \\ \begin{array}{c} \overset{3}{\text{Gal}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_1, \psi_1} \downarrow \\ \begin{array}{c} \overset{1}{3\text{GalNAc}} \\ \uparrow \\ \overset{6}{\text{Fuc}\alpha 1} \xrightarrow{\varphi_7, \psi_7} \overset{7}{2\text{Gal}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_6, \psi_6} \overset{6}{4\text{GlcNAc}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_5, \psi_5, \omega_5} \uparrow \end{array} \end{array} \end{array} \end{array} $ $ \begin{array}{c} \text{B} \\ \begin{array}{c} \overset{11}{\text{Fuc}\alpha 1} \xrightarrow{\varphi_{10}, \psi_{10}} \overset{10}{2\text{Gal}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_9, \psi_9} \overset{9}{4\text{GlcNAc}\beta 1} \xrightarrow{\varphi_8, \psi_8, \omega_8} \downarrow \\ \begin{array}{c} \overset{6}{\text{Gal}\beta 1} \xrightarrow{\quad} \uparrow \\ \begin{array}{c} \overset{1}{3\text{GalNAc}} \\ \uparrow \\ \overset{6}{\text{Fuc}\alpha 1} \xrightarrow{\quad} \uparrow \end{array} \end{array} \end{array} \end{array} $

Примечание. В таблице указаны нумерация остатков (начиная с восстанавливающего) и углы вращения φ , ψ , а также ω в дисахаридных звеньях. Буквами А, В и С обозначены ветви олигосахаридов. Остаток GalNAc в гликопротеинах имеет α -конфигурацию.

На первом этапе расчета рассматривались ближние взаимодействия в пределах дисахаридных звеньев и взаимодействия между концевыми остатками трисахаридов. Найденные оптимальные значения углов вращения в ди- и трисахаридных фрагментах принимались в качестве пулевых приближений для варьируемых параметров при минимизации потенциальной энергии углеводных цепей в целом (табл. 1).

Ди- и трисахаридные звенья. Значения углов вращения и энергий оптимальных конформаций дисахаридов, представленных в рассматриваемых олигосахаридных цепях, приведены в табл. 2. Они соответствуют минимумам на конформационных картах φ — ψ . На всех дисахаридных звеньях с типом связывания 1→2, 1→3 и 1→4 возможно образование внутримолекулярных водородных связей между остатками. Это обстоятельство обуславливает энергетическую предпочтительность соответствующих конформеров (табл. 2). В углеводных цепях групповых веществ такие водородные связи реальны, поскольку, как уже отмечалось, доступность цепей для молекул растворителя (воды) невелика. Отметим, что в

структурах, приведенных в табл. 1, атомы O5 и соответствующие гидроксильные группы остатков участвуют в образовании только одной водородной связи, т. е. отсутствует конкурентное ослабление одних водородных связей другими.

Дисахаридные звенья GlcNAc β 1-3Gal и GlcNAc α 1-4Gal являются более конформационно жесткими: диапазон допустимых значений угла φ (C1—O) находится в пределах 60° (рис. 1), так как ацетамидная группа обуславливает запрет *транс*-ориентации агликона относительно связи C1—O5 N-ацетилглюкозамина. Таким образом, в этих дисахаридах оптимальные

Таблица 2

Геометрические и энергетические параметры дисахаридных звеньев олигосахаридов

Дисахариды	<i>n</i>	φ, ψ , град	<i>U</i> , ккал/моль	Водородные связи
Gal β 1-3GalNAc	1	20, -60	-4,0	O5...O4
	2	60, 20	-2,6	
	3	-20, 40	-2,5	
GlcNAc β 1-3Gal	1	30, -60	-4,3	O5...O4
	2	20, 20	-2,1	
Gal β 1-4GlcNAc	1	40, 0	-3,9	O5...O3
	2	-40, -20	-2,0	
	3	20, 180	-2,0	
GlcNAc α 1-4Gal	1	-30, 15	-5,6	O5...O3
	2	-20, -30	-4,7	
Fuc α 1-2Gal	1	20, 20	-4,1	O2...O3
	2	-20, -20	-3,7	O2...O3

Дисахарид	<i>n</i>	φ, ψ, ω , град	<i>U</i> , ккал/моль
GlcNAc β 1→6Gal	<i>gt</i>		
	1	60, 100, -60	-2,0
	2	60, 180, -60	-2,3
	3	40, -100, -60	-2,1
	<i>tg</i>		
	1	60, 140, 60	-2,8
	2	20, -80, 60	-3,3
	<i>gg</i>		
	1	60, 120, 180	-2,0
2	60, -120, 180	-2,1	

по невалентным взаимодействиям значения угла φ (C1—O) одновременно оптимальны и по критерию *экзо*-аномерного эффекта (см. [10]).

Конформационные состояния звеньев GlcNAc β 1-6GalNAc и GlcNAc β 1-6Gal определяются 3 углами вращения — φ , ψ и ω . Возможные значения углов φ и ψ найдены по конформационным картам φ (C1—O) — ψ (O—C6), построенным при условии равенства угла ω 60, 180 и -60°, что соответствует минимумам торсионного потенциала для связей C5—C6. Значение угла ω 60° отвечает *транс*-ориентации связей O—C6 и C5—O5 и *гош*-ориентации связей O—C6 и C5—C4 в остатках β -Gal или β -GalNAc, т. е. конформеру *tg*. Углы ω 180 и -60° отвечают *gg*- и *gt*-конформерам. Три сечения (ω 60, 180 и -60°) поверхности потенциальной энергии дисахаридов очень близки. Так как в данном случае невосстанавливающим остатком является N-ацетилглюкозамин, то по-прежнему предпочтительны значения угла φ (C1—O), близкие 60° (табл. 2). Таким образом, в звеньях с типом связывания 1→6 конформационно лабильным параметром является угол вращения ψ вокруг связи O—C6, который может изменяться в интервале от -120 до 120°.

Энергии невалентных взаимодействий во всех оптимальных конформациях молекул GlcNAc β 1-6GalNAc и GlcNAc β 1-6Gal близки (табл. 2). То, что в случае *tg*-конформеров энергии несколько ниже, связано с допол-

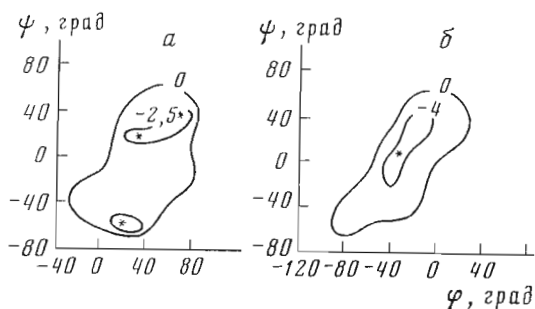


Рис. 1. Конформационные карты φ - ψ -дисахаридов GlcNAc β 1-3Gal (а) и GlcNAc α 1-4Gal (б). Знаком * помечены положения минимумов

нительными взаимодействиями между остатками. Так, в структуре с углами вращения φ , ψ и ω 20, -80 и 60° ацетамидная группа остатка β -GlcNAc располагается параллельно кольцу восстанавливающего остатка на расстоянии ван-дер-ваальсовых контактов.

Рассматривая *gg*-конформеры, следует подчеркнуть, что они не обнаружены в рентгеноструктурных исследованиях как моносахаридов с галакто-конфигурацией, так и дисахаридов и олигосахаридов с типом связывания 1 \rightarrow 6, в которых на восстанавливающем конце находится остаток галактозы [11]. Учет только невалентных и электростатических взаимодействий не объясняет факт отсутствия таких конформаций (табл. 2). По-видимому, при ориентации, задаваемой углом ω 180° , между гликозидным атомом кислорода и атомом O4 галактозы имеют место также и неблагоприятные электронные взаимодействия. Относительное расположение указанных атомов в *gg*-конформерах такое же, как и в случае аксиальных гидроксильных групп, находящихся по одну сторону кольца моносахарида. Дестабилизация, обусловленная таким 1,3-диаксиальным взаимодействием (эффект Хасселя-Отара), по оценкам Энджиала [12], составляет 2,1 ккал/моль. Эта величина, по-видимому, характеризует также и относительную нестабильность *gg*-конформеров гликозил-1 \rightarrow 6-галактозидов по отношению к конформерам *gt* и *tg*. Таким образом, при обсуждении общих энергий форм олигосахаридных цепей следует принимать во внимание этот инкремент неустойчивости *gg*-конформеров.

Обратимся к анализу тех дополнительных взаимодействий, которые могут иметь место на трисахаридных фрагментах структур, представленных в табл. 1. Наглядным примером того, насколько существенным может быть влияние взаимодействия концевых остатков на конформационные состояния, является ситуация, возникающая в случае трисахарида Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc. Если в звене Gal β 1-4GlcNAc представлен конформер 1 (табл. 2), в котором φ 40° , энергия дисперсионных взаимодействий между фукозой и N-ацетилглюкозаминном составляет -2 ккал/моль. Напротив, конформер 2 (φ -40°) в трисахариде реализоваться не может из-за невалентных отталкиваний указанных остатков (см. табл. 2 в работе [1]). Таким образом, свобода вращения составляющих этот фрагмент дисахаридных звеньев существенно уменьшалась, притом в звене Gal β 1-4GlcNAc запрещенной становится область значений угла φ , неудовлетворительная по критерию экваномерного эффекта ($\varphi < 0$). Подчеркнем, что в отличие от Лемье [10] этот результат получен при учете только внутримолекулярных невалентных взаимодействий.

Итак, для трисахарида Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc наиболее оптимальной является конформация 11 (числовые идентификаторы соответствуют номерам конформеров дисахаридов в табл. 2) с внутримолекулярными водородными связями на каждом звене (рис. 2а). В такой структуре все три пиранозных кольца располагаются примерно в одной плоскости и имеется внутренняя область с контактами неполярных групп и атомов (водорода). Отметим, что метильная группа в положении 6 остатка фукозы и оксиметильная группа N-ацетилглюкозамина находятся на расстоянии

ван-дер-ваальсовых контактов. На реальность предложенной конформации Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc указывают спектры ^{13}C -ЯМР олигосахаридов, содержащих такой фрагмент [13], в которых наблюдается смещение сигнала атома C6 фукозы на 0,6 м.д. в сильное поле по сравнению с сигналом C6 в спектре метил- α -L-фукопиранозиды.

Эффективное сближение концевых остатков легко реализуется в случае трисахаридных фрагментов, включающих звенья с типом связывания 1 \rightarrow 6. В трисахаридах GlcNAc β 1-3(GlcNAc β 1-6)Gal и Gal β 1-3(GlcNAc β 1-6)GalNAc оно возможно в семействе *tg*-конформеров при условии образования водородной связи на звеньях со связью 1 \rightarrow 3. Так, при углах вращения 20, -80 , 60° в звене GlcNAc β 1-6Gal (или GalNAc) и 30, -60° в другом

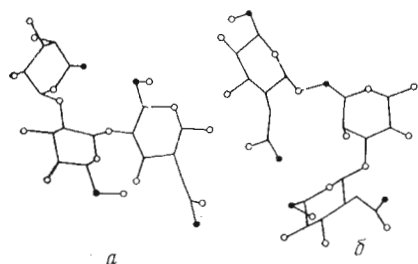


Рис. 2

Рис. 2. Оптимальные конформации (11 и 12, ω 60° , соответственно) трисахаридов Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc (a) и GlcNAc β 1-3 (GlcNAc β 1-6)Gal (б). Знаками ● выделены группы CH_3 или CH_2 , а ○ — атомы кислорода

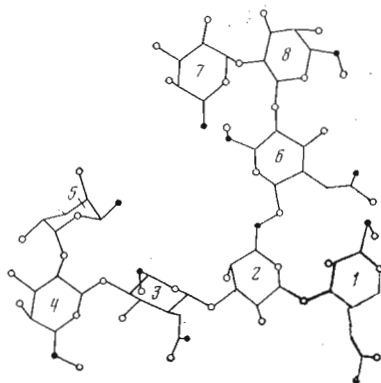


Рис. 3

Рис. 3. Низкоэнергетическая *gt*-конформация диантенного олигосахарида (1) (табл. 1) — 1111-111, ω -60°

звене (конформация 12, ω 60 , согласно табл. 2; вторая цифра идентификатора, включая значение ω , относится к дисахариду со связью β 1 \rightarrow 6) оказываются на расстояниях ван-дер-ваальсовых контактов ацетамидная группа остатка GlcNAc β 1-6 и кольцо (прежде всего его атомы водорода) другого невозстанавливающего остатка (рис. 2б); энергия дисперсионных взаимодействий между ними составляет $-2,5$ ккал/моль. Более детально средние энергии взаимодействий во всех конформациях указанных трисахаридов даны в табл. 2 работы [1].

Для другого трисахаридного фрагмента, GlcNAc β 1-6Gal β 1-3GalNAc, сближение концевых остатков оптимально в случае *gg*- и *gt*-конформеров при условии образования водородной связи звеном Gal β 1-3GalNAc. Так, при углах вращения φ , ψ и ω в звене GlcNAc β 1-6Gal 60 , 100 , -60 и 20 , -60° в звене Gal β 1-3GalNAc (конформер 11, ω -60) энергия дисперсионных взаимодействий остатков β -D-GlcNAc и α -D-GalNAc составляет $-2,5$ ккал/моль. Подчеркнем, что на трисахаридном фрагменте становятся недопустимыми углы вращения 40 , -100 , -60° звена GlcNAc β 1-6Gal (табл. 2) из-за возникновения невалентных отталкиваний указанных остатков. Естественно, что конформер 3 дисахарида GlcNAc β 1-6Gal невозможен и в структурах олигосахаридов.

Диантенные олигосахаридные цепи (структуры (I) и (II) табл. 1). Основываясь на результатах предварительного анализа ближних и средних взаимодействий, рассмотренных в предыдущем разделе, при расчете углеводных цепей (I) и (II) для дисахаридного кора Gal β 1-3GalNAc и трисахаридов антенн (Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc и GlcNAc α 1-4Gal β 1-4GlcNAc) принимались во внимание только структуры с внутримолекулярными водородными связями, т. е. (I) и (II), согласно табл. 2. Что касается звеньев GlcNAc β 1-3Gal и GlcNAc β 1-6Gal, углы вращения которых задают ориента-

ции антенн, то для них учитывались все возможные конформеры, указанные в табл. 2.

Оптимизированные значения энергий конформаций октасахаридов даны в табл. 3. Из расчета следует, что более низкоэнергетическими являются конформации, в которых звено GlcNAc β 1-3Gal представлено состоянием 1 табл. 2. Какие-либо дополнительные взаимодействия между остатками (по сравнению с близкими) при наличии состояния 2 отсутствуют. Поэтому в табл. 3 приведены результаты расчета для структур с внутримолекулярной водородной связью в этом звене. Для обозначения конформаций использованы числовые идентификаторы — номера конформеров дисахаридов из табл. 2; первая цифра определяет значения ϕ_1 , ψ_1 , вторая — ϕ_2 , ψ_2 и т. д.

В олигосахаридах (I) и (II) остатки 1–5, включающие ветвь А (см. табл. 1), образуют благодаря внутримолекулярным водородным связям в каждом звене относительно жесткую структуру. В тетрасахаридном фрагменте (олигосахарид (I)) с восстанавливающим остатком α -D-GalNAc все остатки располагаются примерно вдоль линии, по отношению к которой концевая фукоза (или N-ацетилглюкозамин) занимает перпендикулярное положение. Так как в трисахариде ветви В Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc возможна только одна конформация, пространственные формы молекул прежде всего определяются конформационными состояниями звена GlcNAc β 1-6Gal.

Рассмотрим пространственное строение октасахаридов в пределах групп *gg*-, *gt*- и *tg*-конформеров. Характерная особенность структур семейств *gg*- и *gt*-конформеров состоит в приблизительно перпендикулярном расположении антенны В по отношению к остальной части молекулы, т. е. они имеют Т-образную форму. Дополнительные взаимодействия между остатками ветвей А и В не обнаружены, поэтому величины общей энергии конформаций октамеров коррелируют с относительными значениями энергий составляющих их ди- и трисахаридных звеньев.

Выше было отмечено, что значение угла ω 180° маловероятно. То обстоятельство, что в октасахаридах отсутствуют какие-либо факторы, стабилизирующие *gg*-конформации (напротив, по невалентным взаимодействиям они являются самыми высокоэнергетическими, табл. 3), позволяет заключить, что такие структуры углеводных цепей не реализуются. Также укажем на то, что из-за расположения трисахаридов ветвей А и В в разных плоскостях взаимодействия между боковыми углеводными цепями в таких конформациях в групповых веществах не были бы оптимальными.

Конформации типа *gt* могут быть реальными пространственными формами олигосахаридов (I) и (II). В структурах 1111-211, ω –60° или 1111-111, ω –60°, табл. 3 (дефисом отделен идентификатор боковой цепи), антенны образуют между собой угол ~90° (рис. 3), но при этом через все остатки можно провести среднюю плоскость, т. е. молекула в целом имеет плоское строение. Такие структуры, не самые оптимальные по внутримолекулярным взаимодействиям, тем не менее допускают удовлетворительную межмолекулярную упаковку углеводных цепей.

В семействе *tg*-конформеров обе антенны, А и В, располагаются примерно одинаково относительно кора и цепи принимают Y-образную форму. В то время как в случае *gg*- и *gt*-конформеров взаимодействия между остатками в октасахаридах (I) и (II) идентичны, в ряду *tg*-конформеров имеются отличия. В октасахариде (II) (невосстанавливающим остатком антенны А является α -D-GlcNAc) заметные дополнительные взаимодействия между остатками ветвей отсутствуют. Параметры ди- и трисахаридных звеньев соответствуют их оптимальным значениям в свободных молекулах (табл. 2). Так, в конформации 1111-211, ω 60°, по-прежнему существенны дисперсионные взаимодействия между остатками N-ацетилглюкозамина во фрагменте GlcNAc β 1-3(GlcNAc β 1-6)Gal. Из-за сближения антенн область пространства между ними недоступна для молекул растворителя.

В октасахариде (I) с двумя невосстанавливающими остатками фукозы оба трисахаридных звена Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc в *tg*-конформациях рас-

Конформеры *	Олигосахарид (I)						
	U , ккал/моль	φ_1	ψ_1	φ_2	ψ_2	φ_3	ψ_3
<i>tg</i> 1111-111, ω 60°	-34,5	37,4	-58,4	24,1	-65,2	49,8	0,0
1111-211, ω 60°	-34,5	38,9	-59,3	18,1	-63,8	44,3	-3,6
<i>gt</i> 1111-111, ω -60°	-32,4	37,6	-60,0	-33,0	-61,0	45,3	-1,0
1111-211, ω -60°	-32,1	31,5	-64,3	35,1	-63,2	47,2	-2,6
<i>gg</i> 1111-111, ω 180°	-31,1	33,1	-69,1	20,1	-60,1	40,6	0,0
1111-211, ω 180°	-31,6	37,3	-60,2	29,6	-66,8	45,0	1,5

* Первая цифра идентификатора соответствует значениям углов φ_1 , ψ_1 (табл. 2) и т. д.

полагаются примерно в одной плоскости и параллельно друг другу, вследствие чего фукоза антенны В (остаток 8, табл. 1) оказывается обращенной во внешнюю область молекулы, а фукоза (5) антенны А сближается с остатками галактозы (7) и N-ацетилглюкозамина (6) антенны В. Такое сближение частей молекулы достигается за счет отклонения угла φ_2 от оптимального значения на 20° и ослабления внутримолекулярной водородной связи O5...H—O4 в звене GlcNAc β 1-3Gal. В самой низкоэнергетической конформации 1111-111, ω 60° (рис. 4) существенные изменения также претерпевает угол ψ_3 в дисахариде GlcNAc β 1-6Gal (от 145 до 178°, табл. 2 и 3). Такие конформационные перестройки приводят к компактной структуре, в которой дисперсионные взаимодействия между остатками 5 и 6, а также 5 и 7 в целом составляют -3,5 ккал/моль. В этой структуре внутреннее ядро образовано в основном контактами неполярных групп и атомов водорода углеводных остатков, например с метильными водородами ацетамидной группы остатка фукозы (5). Из потенциальных водородных связей между остатками ветвей А и В можно указать только на одну — между атомом O4 фукозы (5) и гидроксилом при атоме C6 галактозы (7). В другой оптимальной конформации (1111-211, ω 60°) взаимодействия между остатками 5,6 и 5,7 слабее (-2 ккал/моль). Эта структура стабилизируется взаимодействиями в трисахаридном фрагменте GlcNAc β 1-3(GlcNAc β 1-6)Gal.

Характерная особенность *tg*-конформеров рассматриваемых молекул (I) и (II) состоит в том, что концевой остаток фукозы (8) антенны В, присоединенной к кору посредством связи β 1 \rightarrow 6, обращен во внешнюю область молекулы (рис. 4) и является самым доступным для межмолекулярных взаимодействий. Напротив, фукоза антенны А «экранирована» внутренними контактами.

Конформационный анализ олигосахаридов (I) и (II) (представителей серии 4 углеводных цепей групповых веществ) указывает на преимущество структур с внутримолекулярными водородными связями во всех звеньях, за исключением звена со связью β 1 \rightarrow 6. Дисахарид GlcNAc β 1-6Gal представляет собой шарнир, который связывает более жесткие структурные элементы молекул. Для реальных в рассматриваемых олигосахаридах *tg*- и *gt*-конформеров положения подвижной ветви определяются углом ψ_3 , допустимые значения которого находятся в диапазоне углов, указанных в табл. 3, т. е. в случае *tg* — в пределах 180–270°, а в случае *gt* — 100–180°.

Структуры семейства *tg*-конформеров являются самыми низкоэнергетическими и компактными и благодаря своей плоской пространственной форме допускают плотную упаковку углеводных цепей. Отмеченное своеобразие таких конформаций весьма важно, так как в молекулах групповых веществ крови углеводные цепи прежде всего контактируют между собой, а не с молекулами воды [2]. Поэтому *tg*-конформации (табл. 3) являются наиболее вероятными пространственными формами олигосахаридов из серии 4.

Если сопоставить низкоэнергетические структуры диантенных углеводных цепей, присоединенных к белку O-гликозидной и N-гликозидной свя-

(I) (табл. 1), а также энергии конформаций октасахарид (II)

Олигосахарид (I)									Олигосахарид (II)
φ_4	ψ_4	φ_5	ψ_5	ω	φ_6	ψ_6	φ_7	ψ_7	U, ккал/моль
20,2	24,7	59,2	176,6	60	53,0	0,0	20,1	25,3	-34,5
17,9	22,7	33,8	-78,0	56,5	45,0	0,0	20,0	22,3	-34,3
19,8	21,7	63,0	102,1	-64	45,2	-1,0	20,2	22,0	-33,1
22,3	23,0	58,3	175,1	-60,1	47,3	-2,6	22,3	23,3	-33,0
20,0	20,3	46,5	137,1	180,0	40,5	0,0	20,0	20,3	-30,1
23,5	22,1	57,7	178,2	180,0	48,2	1,5	23,6	22,2	-31,1

зьями (ср. и с результатами работы [6]), то можно отметить, что в первом случае наиболее вероятны Y-формы цепей, тогда как во втором — T-образные формы без взаимодействий между остатками ветвей. По-видимому, это не случайно, так как для N-гликозилированных белков характерно наличие единичных углеводных цепей, не образующих компактную оболочку вокруг пептидного остова.

Нонасахаридная цепь с тремя ветвями (структура (III), табл. 1). В этом олигосахариде по сравнению со структурой (I) имеется дополнительная ветвь С, включающая только один остаток N-ацетилглюкозамина, связанного с восстанавливающим остатком цепи. Для анализа взаимодействий, в которые может вступать этот остаток, достаточно рассмотреть пентасахаридный фрагмент молекулы $\text{GlcNAc}\beta 1-3(\text{GlcNAc}\beta 1-6)\text{Gal}\beta 1-3(\text{GlcNAc}\beta 1-6)\text{GalNAc}$. В этом пентасахариде, как оказалось, помимо ранее рассмотренных средних взаимодействий на трисахаридных звеньях $\text{GlcNAc}\beta 1-3(\text{GlcNAc}\beta 1-6)\text{Gal}$ и $\text{Gal}\beta 1-3(\text{GlcNAc}\beta 1-6)\text{GalNAc}$ важны только взаимодействия двух остатков N-ацетилглюкозамина, связанных с кором посредством связей $\beta 1 \rightarrow 6$.

Энергии взаимодействия указанных остатков, полученные при оптимизации пентасахариде, с учетом всех конформеров связей $\beta 1 \rightarrow 6$ приведены в табл. 4. Эти энергии минимальны в том случае, когда в звеньях $\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow 3\text{Gal}$ и $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 3\text{GalNAc}$ представлены состояния с внутримолекулярными водородными связями. Из данных табл. 4 следует, что наиболее оптимально такое расположение остатков $\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow 6$ по отношению друг к другу, которое достигается в случае близости углов вращения на двух связях $\beta 1 \rightarrow 6$. Тогда указанные остатки оказываются параллельно расположенными в пространстве и энергии дисперсионных взаимодействий между ними составляют $-2 \div -4$ ккал/моль (табл. 4). Таким образом, антенны В и С потенциально предрасположены к взаимодействиям тогда, когда на двух звеньях со связями $\beta 1 \rightarrow 6$ представлены конформеры *tg-tg*, *gt-gt* или *gg-gg*. Комбинации конформеров *gt-tg* или *gt-gg* недопустимы из-за наличия запрещенных контактов между остатками N-ацетилглюкозамина. Напротив, в конформерах *tg-gt* или *gg-gt* они максимально удалены и не взаимодействуют между собой.

Расчет рассмотренного пентасахариде и структуры (I) позволяет сделать заключение о пространственном строении углеводной цепи (III). В октасахариде (I) самыми низкоэнергетическими являются конформации типа *tg*, в которых углы вращения на дисахариде $\text{GlcNAc}\beta 1-6\text{Gal}$ равны 59, 177, 60 или 34, -89, 56° (табл. 3). Но при *tg*-ориентации антенны В дополнительный остаток N-ацетилглюкозамина в наонасахариде вступает в эффективные взаимодействия в том случае, когда в звене $\text{GlcNAc}\beta 1-6\text{GalNAc}$ также представлен *tg*-конформер и углы вращения φ , ψ и ω равны указанным углам вращения в звене $\text{GlcNAc}\beta 1-6\text{Gal}$. В первой структуре существенны взаимодействия остатков N-ацетилглюкозамина, присоединенных к кору связями $\beta 1 \rightarrow 6$, во второй они слабее, но имеются дисперсионные взаимодействия концевых остатков в трисахаридном фрагменте $\text{Gal}\beta 1-3(\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow 6)\text{GalNAc}$.

Триантенная ундекасахаридная цепь (структура (IV), табл. 1). Полученные при минимизации потенциальные энергии конформаций ундекасахарида приведены в табл. 5. В данном примере варьируемыми параметрами являлись все 22 угла вращения (табл. 1). В качестве нулевых приближений для углов вращения в звеньях GlcNAc β 1-6Gal и GlcNAc β 1-6GalNAc принимались все значения, указанные в табл. 2.

При анализе углеводной цепи IV те структурные закономерности, которые были выявлены на пентасахаридном фрагменте с 3 ветвями в виде остатков β -D-GlcNAc, получили свое дальнейшее подтверждение. Для ундекасахарида самыми низкоэнергетическими также являются структуры,

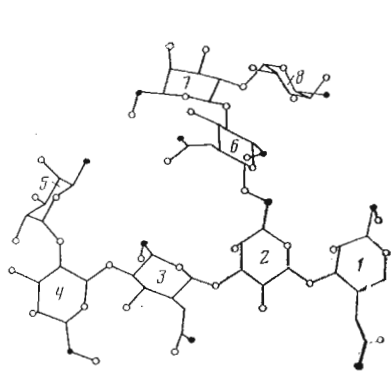


Рис. 4

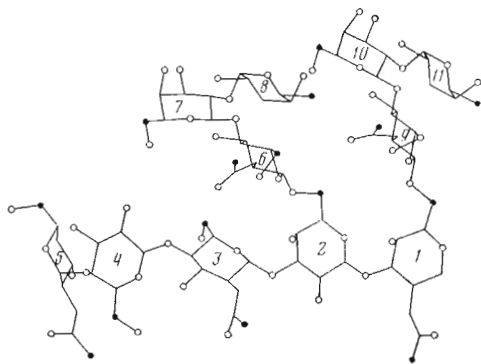


Рис. 5

Рис. 4. Низкоэнергетическая *tg*-конформация олигосахарида (I) — 1111-111, ω 60°

Рис. 5. Оптимальная конформация *tg-tg* (1111-111-111, ω_5 60°, ω_8 60°) триантенного олигосахарида (IV) (табл. 1). В проекции на плоскость C3—C1—C5 концевых остатка α -D-GalNAc

в которых в звеньях со связями β 1 \rightarrow 6 представлены одинаковые конформеры (табл. 5) и соответствующие углы вращения близки (табл. 6). Вместе с тем энергетическая дифференциация конформаций становится более существенной. Так, в ундекасахариде выделяется конформация, энергия которой значительно ниже (табл. 5). Кроме того, многие конформации, не запрещенные на пентасахариде, становятся нереальными из-за наличия недопустимых пространственных контактов между концевыми остатками антенн (ср. табл. 4 и 5).

Рассмотрим три низкоэнергетические структуры ундекасахарида, в которых звенья GlcNAc β 1-6Gal и GlcNAc β 1-6GalNAc находятся в состояниях *tg*, 1-*tg*, 1; *gt*, 1-*gt*, 1 и *gg*, 2-*gg*, 2 (табл. 5). Допустимые конформации с разными состояниями этих звеньев (например, *tg-gt* или *gg-tg*) имеют более высокие энергии, поскольку остатки ветвей пространственно удалены и не взаимодействуют между собой.

В глобальной конформации *tg-tg* (1111-111-11, ω_5 60°, ω_8 60°) все три антенны в виде лучей отходят от дисахаридного ядра (рис. 5), но таким образом, что остатки антенны В находятся на расстояниях ван-дер-ваальсовых контактов с остатками антенн А и С. Эта конформация имеет плоскую форму, но вместе с тем представляет собой компактную структуру. Антенны В и С занимают по отношению друг к другу примерно параллельное положение, вследствие чего энергии дисперсионных взаимодействий между одноименными остатками (β -GlcNAc, 6 и 9; β -Gal, 7 и 10; α -Fuc, 8 и 11; рис. 5) составляют не менее -2 ккал/моль. Остаток галактозы (10) ветви С эффективно взаимодействует также с остатками 7 и 8 ветви В, и соответствующие энергии равны ~ -2 ккал/моль. В целом энергия дополнительных средних взаимодействий в ундекасахаридах по сравнению с пентасахаридным фрагментом составляет около -10 ккал/моль. Так же как *tg*-конформации октасахаридов, *tg-tg*-конформации олигосахаридов с тремя антеннами наиболее благоприятны в образовании компактных углеводных оболочек молекул групповых веществ.

Если средняя антенна В имеет ориентацию *gt*, то допустимой ориентацией антенны С также является только *gt*. Другие значения угла ω (60 или 180°) в звене GlcNAc β 1-6GalNAc в этом случае запрещены. В оптимальной структуре *gt-gt* (1111-111-111, $\omega_5 -60^\circ$, $\omega_8 -60^\circ$) обе ветви, связанные с кором связью $\beta 1 \rightarrow 6$, располагаются параллельно друг другу и в одной плоскости наряду с ветвью А. Однако дисперсионные взаимодействия между одноименными остатками указанных ветвей составляют $-1 \div -2$ ккал/моль, т. е. слабее, чем в случае описанной выше структуры *tg-tg*. Поэтому в целом энергия этой конформации превышает энергию глобальной конформации.

Таблица 4

Энергии взаимодействия между остатками GlcNAc β 1 \rightarrow 6 в пентасахариде
GlcNAc β 1-3(GlcNAc β 1-6)Gal β 1-3(GlcNAc β 1-6)GalNAc

Конформеры звена GlcNAc β 1-6Gal	Конформеры звена GlcNAc β 1-6GalNAc *							
	<i>tg</i>		<i>gt</i>			<i>gg</i>		
	1	2	1	2	3	1	2	
<i>tg</i>	1	-4,2	-0,9	-	-	-	-	-3,4
	2	-2,1	-2,5	-	-	-	-	-3,4
<i>gt</i>	1	∞	∞	-3,4	-2,7	-2,2	∞	∞
	2	∞	∞	-1,8	-2,0	-1,7	∞	∞
	3	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
<i>gg</i>	1	-1,5	-	-	-	-	-3,2	-1,0
	2	-2,5	-	-	-	-	-	-3,0

* Конформеры обозначены согласно табл. 2. В звеньях с связью $\beta 1 \rightarrow 3$ представлены состояния 1. Прочерки означают отсутствие взаимодействий остатков.

Таблица 5

Энергии оптимальных конформаций ундекасахарида (IV)

Конформеры звена GlcNAc β 1-6Gal	Конформеры звена GlcNAc β 1-6GalNAc							
	<i>tg</i>		<i>gt</i>			<i>gg</i>		
	1	2	1	2	3	1	2	
<i>tg</i>	1	-54,5	-49,8	-45,5	-43,2	∞	-46,8	-46,0
	2	∞	∞	∞	∞	-46,2	-47,1	∞
<i>gt</i>	1	∞	∞	-49,2	∞	∞	∞	∞
	2	∞	∞	-46,1	∞	-46,1	∞	∞
<i>gg</i>	1	-45,6	-46,5	-42,3	-42,6	-43,0	∞	∞
	2	-43,7	-45,8	-41,5	-42,7	-44,3	-43,1	-47,8

В конформации *gg-gg* (1111-211-211, $\omega_5 180^\circ$, $\omega_8 180^\circ$) плоскости антенн В и С располагаются перпендикулярно плоскости, занимаемой остатками кора и антенной А. Несмотря на наличие взаимодействий между остатками ветвей В и С, общий проигрыш в энергии невалентных взаимодействий структурам *tg-tg* значителен (см. табл. 5). Таким образом, для структур, в которых в двух звеньях со связью $\beta 1 \rightarrow 6$ или в одном из них представлены конформеры *gg*, неудовлетворительные по *син-аксиальному* взаимодействию атомов кислорода оксиметильной группы и гидроксила в четвертом положении в пределах самих остатков β -Gal и β -GalNAc, каких-либо стабилизирующих взаимодействий не обнаружено. Поэтому они нереальны для ундекасахарида (IV).

Интересно, что в оптимальных конформациях ундекасахарида (IV), так же как и в случае октасахарарида (I), один невосстанавливающий оста-

ток фукозы (II, рис. 5) находится во внешней сфере молекулы и доступен для межмолекулярных взаимодействий, например в иммунохимических реакциях, тогда как другой (8) эффективно участвует во внутримолекулярных контактах, т. е. выполняет структурную функцию. Внешним остатком всегда является фукоза ветви, связанной с кором связью $\beta 1 \rightarrow 6$. Не случайно в групповом веществе со специфичностью Н иммунодетерминантный остаток фукозы с максимальным весом присутствует на невосстанавливающих концах именно таких ветвей [5]. Разная доступность концевых остатков фукозы в углеводных цепях групповых веществ подтверждается экспериментальными исследованиями. Например, при кислотном гидролизе группового вещества [14] из 12% остатков фукозы в исходном образце значительная часть (4%) не подверглась модификации и сохранилась в структуре.

Таблица 6

Углы вращения в низкоэнергетических конформациях ундекасахарида (IV)
(табл. 1)

Конформеры	U , ккал/моль	φ_1	ψ_1	φ_2	ψ_2	φ_3	ψ_3	φ_4	ψ_4	φ_5	ψ_5	ω_5
<i>tg,1-tg,1</i>	-54,5	32	-61	20	-60	60	0	-30	12	58	179	59
<i>gt,1-gt,1</i>	-49,2	38	-54	20	-60	60	0	-30	11	57	96	-61
<i>gg,2-gg,2</i>	-47,8	51	-48	20	-60	60	0	-30	11	62	185	178

Конформеры	φ_6	ψ_6	φ_7	ψ_7	φ_8	ψ_8	ω_8	φ_9	ψ_9	φ_{10}	ψ_{10}
<i>tg,1-tg,1</i>	41	-61	20	22	61	181	61	44	-59	20	22
<i>gt,1-gt,1</i>	43	-63	19	21	62	107	-59	44	-60	20	22
<i>gg,2-gg,2</i>	43	-60	20	21	67	182	188	43	-60	20	21

Таким образом, анализ пространственного строения ди- и триантенных углеводных цепей групповых веществ показывает, что такие цепи включают как конформационно-жесткие, так и конформационно-лабильные участки. Если к первым относятся концевые ветви с иммунологическими детерминантами, то вторые являются внутренними и определяют взаимное положение ветвей. В зависимости от конформаций звеньев с связями $1 \rightarrow 6$ (*tg* или *gt*) олигосахариды принимают Т- или Y-образные пространственные формы. Оба типа структур допускают возможность взаимодействий между углеводными цепями. Вместе с тем в плотноупакованных углеводных оболочках групповых веществ более вероятны Y-образные структуры, которые являются самыми компактными по внутримолекулярным невалентным взаимодействиям остатков моносахаридов и в наибольшей степени потенциально предрасположены к межмолекулярным контактам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Липкин Г. М., Веровский В. Е., Кочетков Н. К. Биоорг. химия, 1982, т. 8, № 7, с. 963-970.
2. Шерман Ф. Б., Хургин Ю. И. В кн.: Конформационные измерения биополимеров в растворах. Тбилиси: Мецниереба, 1980, с. 146.
3. Липкин Г. М., Аванов А. Я., Кочетков Н. К. Биоорг. химия, 1982, т. 8, № 4, с. 512-523.
4. Derivitskaya V. A., Arbatsky N. P., Kochetkov N. K. Eur. J. Biochem., 1978, v. 86, № 2, p. 423-437.
5. Derivitskaya V. A. Pure Appl. Chem., 1981, v. 53, № 1, p. 89-106.
6. Липкин Г. М., Веровский В. Е., Кочетков Н. К. Биоорг. химия, 1982, т. 8, № 7, с. 954-962.
7. Липкин Г. М., Кочетков Н. К. Биоорг. химия, 1980, т. 6, № 12, с. 1817-1829.
8. Scott R. A., Scheraga H. A. J. Chem. Phys., 1966, v. 44, № 8, p. 3054-3068.
9. Arnott S., Scott W. E. J. Chem. Soc., Perkin Trans. II, 1972, № 3, p. 324-335.
10. Lemieux R. U. Chem. Soc. Rev., 1978, v. 7, № 4, p. 423-452.
11. Tvaroška I., Perez S. S., Marchessault R. H. Carbohydr. Res., 1978, v. 61, p. 97-106.
12. Angyal S. J. Angew. Chem., Int. Ed. Engl., 1968, v. 8, № 1, p. 157.

13. Шашков А. С., Усов А. И., Книрель Ю. А., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. Био-
орган. химия, 1981, т. 7, № 9, с. 1364-1371.

14. Kabat E. A. Blood-group substances. New York - London: Acad. Press, 1956, p. 213.

Поступила в редакцию
6.VIII.1982

CONFORMATIONAL ANALYSIS OF CARBOHYDRATE CHAINS OF BLOOD-GROUP SUBSTANCES

VEROVSKY V. E., LIPKIND G. M., KOCHETKOV N. K.

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

Theoretical conformational analysis of bi- and three-antennary carbohydrate chains of H-specific group substances has been carried out. It has been shown that O-glycosylating oligosaccharides can form compact Y-shaped structures with effective non-bonded interactions between the antennae residues.