



УДК 547.458.1:543.429.23:544.15

РАСЧЕТНЫЕ МЕТОДЫ КОНФОРМАЦИОННОГО АНАЛИЗА УГЛЕВОДОВ

© 2007 г. А. Г. Гербст, А. А. Грачев, А. С. Шашков, Н. Э. Нифантьев[#]

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, 119991, Москва, В-334, Ленинский просп., 47

Поступила в редакцию 04.09.2006 г. Принята к печати 07.09.2006 г.

Все большее число работ в современных исследованиях углеводов посвящается изучению пространственных механизмов их участия в процессах клеточного узнавания и направленному дизайну ингибиторов указанных процессов. Развитие этого направления невозможно без совершенствования методов теоретического конформационного анализа углеводов. В представляемом обзоре проводится обобщение литературных данных по возможности применения различных молекулярно-механических силовых полей, методов квантовой механики и молекулярной динамики для изучения конформаций гликозидной связи, а также кратко обсуждается возможность анализировать реакционную способность углеводов с помощью расчетных методов.

Ключевые слова: углеводы, конформационный анализ; молекулярная механика; силовое поле; молекулярная динамика; квантовая механика; ЯМР.

ВСТУПЛЕНИЕ

Конформационный анализ природных соединений является одним из важнейших методов исследования их пространственной организации, определяющей процессы распознавания в живых системах. Одна из ветвей теоретического конформационного анализа связана с представлением о молекуле как о механической системе, в которой атомы рассматриваются в виде точечных масс. Такая модель основывается на приближении Борна–Оппенгеймера, согласно которому потенциальная энергия молекулы с хорошей точностью описывается непрерывной функцией координат ядер. Основы этого направления молекулярного моделирования были заложены Т.Л. Хиллом [1], Ф.Н. Уэстхаймером [2] и А.И. Китайгородским [3]. По идее авторов, химические связи характеризуются некоторыми “естественными” длинами и валентными углами, а конформации реальных молекул устанавливаются такими, чтобы по возможности сохранить эти величины. Стерические эффекты моделируются ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями.

Если система напряжена, то молекула деформируется в предсказуемом направлении согласно градиенту энергии “напряжения”, и эта деформация может быть рассчитана. Этот метод называется молекулярной механикой, подробно его теория изложена в монографии [4].

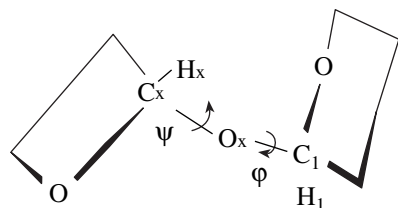
Молекулярная механика относится к группе эмпирических методов. В ней используется понятие силового поля, представляющего собой набор уравнений, описывающих изменения энергии молекулы при отклонении ее геометрии от “идеальной”, и параметров, входящих в эти уравнения. Эти параметры являются эмпирическими и могут быть найдены путем калибровки при сопоставлении расчетных данных с экспериментальными результатами или с результатами расчета методом более высокого уровня теории – неэмпирическим или полуэмпирическим. В данном обзоре вначале рассматривается применение методов молекулярной механики для конформационного анализа углеводов, а затем обсуждается использование методов более высокого уровня теории. В заключение обсуждаются методики изучения конформационного пространства гликозидных связей и некоторые специфические моменты конформационного анализа углеводов.

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ КОНФОРМАЦИОННОГО АНАЛИЗА УГЛЕВОДОВ

Впервые термин “конформационные свойства гликозидной связи” был введен в пионерской работе Лемье и Кото [5], которые изучали углеводы с агликоном неуглеводной природы с помощью спектроскопии ¹³C-ЯМР, оптических методов и конформационных расчетов. Для описания конформации гликозидной связи используются торсионные углы, описывающие вращение вокруг связей C1–Ox и Cx–Ox, где x – положение глико-

Сокращения: МД – молекулярная динамика; ППЭ – поверхность потенциальной энергии.

[#] Автор для связи (тел./факс: (495) 135-8784; эл. почта: nen@ioc.ac.ru).

Рис. 1. Углы ϕ и ψ при гликозидной связи.

зилирования. Эти углы обозначаются символами ϕ и ψ соответственно (рис. 1).

В результате своих исследований Лемье и Кото пришли к выводу, что в случае объемных агликонов (циклогексила и его производных) преимущественной является *gosh*-ориентация агликона по отношению к связи C1–O5 углеводного остатка, т.е. модуль угла ϕ практически равен 60° . В этой же работе была предпринята попытка связать значения химических сдвигов ^{13}C с другим параметром гликозидной связи – величиной угла ψ .

Исторически молекулярная механика была первой из группы методов, использовавшихся для моделирования конформаций гликозидных связей. В качестве источников экспериментальных данных наиболее часто применялась спектроскопия ЯМР (для жидкой фазы) или кристаллография (для твердой фазы). Для конформационного анализа углеводов было предложено большое количество силовых полей, которые с тем или иным успехом использовались или используются до сих пор.

ОБЗОР СИЛОВЫХ ПОЛЕЙ, ПРИМЕНЯЮЩИХСЯ ДЛЯ КОНФОРМАЦИОННОГО АНАЛИЗА УГЛЕВОДОВ

Силовые поля, применяемые в конформационном анализе углеводов, можно разделить на две большие группы [6]. К первой относятся те, что используют так называемое приближение “жестких моносахаридных звеньев”. Их появление и широкое распространение в свое время было обусловлено невысоким уровнем развития компьютерной техники, что вынуждало сводить все вычисления к возможному разумному минимуму.

В данной группе силовых полей учитываются лишь ван-дер-ваальсовы взаимодействия между гликозидными остатками, а непосредственно для гликозидной связи вводится дополнительный энергетический терм, отвечающий за так называемый экзоаномерный эффект, т.е. дополнительное невалентное взаимодействие атома кислорода гликозидной связи с атомом кислорода в цикле (рис. 2).

Конформации самих углеводных циклов (а иногда и гидроксильных групп) в данном приближении считаются неизменными. В англоязычной ли-

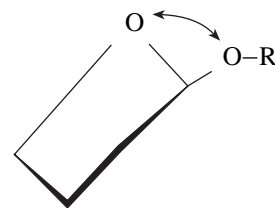


Рис. 2. Возникновение экзоаномерного эффекта.

тературе эта группа силовых полей получила название **Hard Spheres Plus Exo-Anomeric Effect** и обозначается аббревиатурой HSEA [7, 8]. Следует обратить внимание, что в силовых полях этой группы не учитывались электростатические взаимодействия, вследствие чего было невозможно корректное моделирование влияния растворителя или образования водородных связей. Кроме того, отсутствие учета возможных искажений конформаций гликозидного кольца делало невозможным использование силовых полей HSEA в молекулярно-динамических симуляциях (подробнее о молекулярной динамике будет рассказано ниже).

Для преодоления данного ограничения при использовании силовых полей HSEA применялся так называемый алгоритм Монте-Карло [9, 10]. Этот алгоритм с успехом привлекался для моделирования характеристик ЯМР олигосахаридов до середины 1990-х гг., в частности, он входил в состав программного продукта GEGOP (**GEometry of GlycO-Proteins**). Примеры использования метода Монте-Карло можно найти в работах [11–14].

С помощью силовых полей HSEA было проведено достаточно много расчетов, и часто результаты удовлетворительно совпадали с экспериментальными данными ЯМР. Из самых значительных работ, в которых использовались силовые поля HSEA, следует, в первую очередь, назвать работы Лемье [8, 15]. Еще в начале 1990-х гг. встречались публикации с применением силового поля HSEA, например работа [11], но по мере возрастания сложности исследуемых объектов (в цитируемой работе речь идет о конформационном анализе дисахаридов, содержащих две заряженные группы) авторам приходилось делать искусственные допущения.

В настоящее время, в связи с увеличением производительности вычислительной техники, более продуктивным является использование силовых полей, относящихся к другой группе. В них уже включена возможность учета электростатических взаимодействий, образования водородных связей, изменения конформации гликозидных колец с сохранением при этом учета экзоаномерного эффекта. Подробности можно найти в обзоре Вудса [6], в котором рекомендовано относить к данной группе только силовые поля, предназначенные в первую очередь для расчета конформа-

ций макромолекул (биополимеров) и позднее адаптированные для конформационного анализа углеводов, такие, как AMBER [16–18], CHARMM [19, 20] и GROMOS [21]. В эту группу Вудсом включаются также силовые поля TRIPOS [22, 23] и CVFF [24].

В особую группу Вудсом выделены силовые поля MM2 [25] и MM3 [26], из-за более сложного вида потенциалов, описывающих деформации связей, наличия так называемых “перекрестных термов” (“cross terms”), а также некоторых особенностей в учете этими силовыми полями электростатических взаимодействий. В самом деле, во время написания цитируемого обзора обычной практикой для силовых полей MM2 и MM3 при моделировании электростатических взаимодействий было использование приближения взаимодействия связевых диполей, тогда как все остальные перечисленные выше силовые поля используют заряд-зарядовые взаимодействия. При этом величины зарядов, как правило, являются неотъемлемой встроенной частью таких силовых полей, как AMBER, GROMOS, TRIPOS и другие, в то время как в силовых полях MM2/3 можно использовать заряды, взятые из внешних источников, например, из квантово-механических расчетов.

Кроме перечисленных, можно упомянуть еще силовое поле MM+, разработку компании Hypercube, входящую в их известный программный продукт HyperChem [27]. MM+ является модификацией силового поля MM2, однако для конформационного анализа углеводов используется сравнительно редко из-за того, что данное силовое поле в программе HyperChem параметризовано для моделирования очень широкого спектра соединений, и поэтому некоторые моменты, специфические для углеводов, с его помощью могут описываться некорректно.

Ниже мы рассмотрим некоторые примеры применения упомянутых силовых полей в конформационном анализе олигосахаридов.

CHARMM. Для конформационного анализа углеводов чаще используют специальные модификации этого силового поля: CHEAT93 [28] или CHEAT95 [29], названия которых происходят от английского: Carbohydrate Hydroxyl Groups are represented as Extended AToms. В этом силовом поле гидроксильные группы представлены как отдельные атомы специального типа (extended atoms). При создании этого поля авторы исходили из предположения, что в полярной среде (водный раствор) доля внутримолекулярных водородных связей незначительна. Поэтому параметризация этого “гидроксильного атома” подбиралась так, чтобы эффект образования таких связей был минимален¹.

¹ Надо отметить, что самые последние теоретические исследования показывают, что даже в водном растворе углевода доля внутримолекулярных водородных связей может достигать до 25% [30].

Примеры использования данных силовых полей можно найти, в частности, в работе [31].

TRIPOS. Данное силовое поле – часть коммерческого программного комплекса SYBYL [32]. В работе [33] проведено изучение серии циклодекстринов (циклических β -(1 \rightarrow 4)-связанных олигомеров глюкозы) с числом звеньев от 6 до 8. Кроме нативных циклодекстринов, изучались также соответствующие сполна метилированные производные.

С точки зрения конформационного анализа, работа [33] представляет интерес, поскольку в ней проводилось сопоставление результатов, полученных с использованием силовых полей TRIPOS и MM+ (один из редких случаев, когда это поле применялось в конформационном анализе углеводов). Помимо этого, авторы изучали также влияние парциальных атомных зарядов на результаты, получаемые с помощью силового поля MM+. Для расчета этих зарядов в работе использовались низкоуровневое полуэмпирическое приближение CNDO и более совершенное AM1.

Авторы нашли, что, хотя некоторые параметры и изменяются довольно сильно при смене силового поля, в целом MM+ и TRIPOS предсказывают схожие тенденции в изменении конформаций исследованных циклодекстринов при их *O*-метилировании.

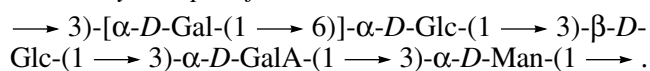
Силовое поле TRIPOS использовалось также для исследований других типов углеводных производных. Так, в работе [34] оно было успешно применено для конформационного анализа сполна *O*-ацетилированного диглюкопиранозиламина (*N*-гликозид).

GROMOS. В конце 1990-х гг. группа авторов из Голландии занялась исследованием возможности применения данного силового поля для конформационного анализа углеводов. Оно обладало способностью хорошо воспроизводить водородные связи, образуемые между молекулами воды и углевода при моделировании растворов. В то же время этими исследователями было показано, что в своем изначальном варианте GROMOS характеризуется двумя недостатками, которые, с нашей точки зрения, являются общим слабым местом молекулярно-механических силовых полей при моделировании углеводных структур. Во-первых, при использовании GROMOS некорректно описывается конформация гидроксиметильной группы при C5 [35], а во-вторых, некорректно учитывается экзаномерный эффект [36].

Была проведена работа по репараметризации данного силового поля [37]. В качестве модельного соединения был выбран метил- β -*D*-глюкопиранозид, для которого, кроме всего прочего, расчеты с помощью силового поля GROMOS в его стандартной параметризации предсказывали заниженную разницу в энергиях между конформа-

циями 4C_1 и 1C_4 . Любопытно, что, по данным авторов работы [37], при использовании силового поля MM3 в этом случае результат оказывался ближе к реально наблюдаемому. Модификация силового поля GROMOS, полученная в результате репараметризации, была протестирована авторами на примере молекулярно-динамической симуляции β -D-фруктофуранозида. Было найдено, что конформация фуранозидного кольца корректно описывается созданным в работе силовым полем. Также авторы наблюдали корректное воспроизведение водородных связей при явном учете молекул воды.

CVFF95. Данное силовое поле является частью коммерческого пакета INSIGHT II/DISCOVER (BIOSYM Technologies, США). В работе [38] оно было применено для конформационного анализа фрагмента бактериального полисахарида из *Chamaecytisus proliferus*



Для сравнения в той же работе было использовано силовое поле MM3. С помощью обоих силовых полей авторам удалось показать значительную подвижность вокруг гликозидных связей в изучаемой структуре. Кроме этого, силовое поле CVFF успешно использовалось для молекулярно-динамического исследования олигосахаридов, соответствующих повторяющимся звеньям полисахаридов клеточной стенки бактерий *Streptococcus* группы A [39].

P1MM95 и QVBMM. Перед тем как перейти к рассмотрению силовых полей AMBER, MM2 и MM3, кратко упомянем о силовом поле P1MM95 [40], которое применялось, в частности, для конформационного анализа циклофруктинов [41] и гетероаналогов мальтозы [42] (рис. 3). В работе [42] была обнаружена тенденция к увеличению подвижности в агликоне в ряду O–S–Se, что соответствует представлениям о снижении экзоаномерного эффекта в этом ряду.

В литературе упоминаются также сведения о силовом поле QVBMM (Quantized Valence Bonds' Molecular Mechanics) [43]. Его разработчик ставил перед собой задачу воспроизведения так называемого "обратного аномерного эффекта" [44–46], наблюдаемого в гликозиламинах, гликозилимидазолах, гликозилпиридиниевых солях и подобных структурах. В результате им было получено силовое поле, описывающее конформации олигосахаридов с явным учетом свободных электронных пар. Это позволяет, в частности, моделировать некоторые аспекты реакционной способности гидроксильных групп.

AMBER. На применении этого силового поля для конформационного анализа углеводов следует остановиться особо. Существует несколько его модификаций, но для углеводов обычно исполь-

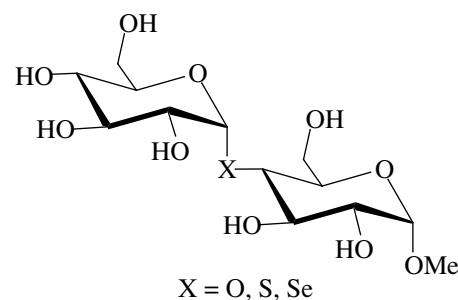


Рис. 3. Гетероаналоги мальтозы, исследованные в работе [42].

зуется параметризация, предложенная в уже упоминавшейся работе [18], либо более поздняя модификация из работы [47]. Как уже упоминалось ранее, для таких силовых полей, как AMBER, характерно наличие "встроенных" парциальных атомных зарядов. В последней из цитируемых работ такие заряды являлись одним из объектов оптимизации. В результате авторы предложили два разных набора парциальных зарядов для α - и β -гликозидов. Кроме того, были модифицированы и ван-дер-ваальсовы параметры.

Нужно отметить, что различные версии силового поля AMBER часто применяются для расчета межмолекулярных взаимодействий: адсорбции [48], адгезии [49] и т.п., поэтому в обсуждаемой работе присутствует также описание оптимизации так называемых межмолекулярных термов. Для оптимизации авторы везде использовали данные расчетов *ab initio*.

Еще одна более поздняя модификация силового поля AMBER приведена в работе [50]. Целью авторов являлось создание такой версии AMBER, которая была бы способна воспроизводить энергетические и геометрические характеристики углеводов, получаемые при расчетах по методу функционала плотности. Полученная в результате модификация AMBER была названа авторами AMB99C.

Силовое поле AMBER является одним из наиболее широко применяемых в конформационном анализе углеводов. Поскольку не все коммерческие программные продукты изначально включают его в себя, была создана программа, позволяющая конвертировать параметры AMBER (в том числе параметры, специально подобранные для углеводов) для использования в коммерческих пакетах [51].

MM2 и MM3. Эти силовые поля следует рассматривать в одном разделе, так как исторически MM3 является более поздней модификацией MM2. До того, как силовое поле MM3 получило широкое распространение, было опубликовано несколько работ, в которых для конформационного

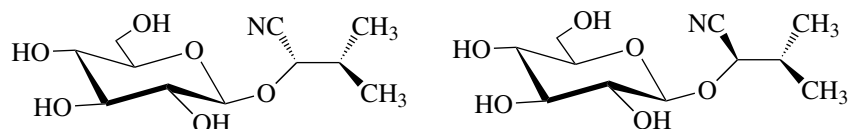


Рис. 4. Диастереомерные структуры, идентифицированные с помощью силового поля MM2 [53].

анализа углеводов использовалось поле MM2 [52–54]. В работе [53] на основании результатов расчетов с использованием силового поля MM2 и экспериментов по ЯЭО были идентифицированы два диастереомера гетеродендрина (рис. 4).

В настоящее время, однако, применение силового поля MM2 в конформационном анализе углеводов практически полностью заменено использованием поля MM3, которое в различных своих вариантах входит в состав многих программных комплексов как коммерческих, так и свободных.

Еще в 1995 г. на примере исследования конформаций лактозы и ее *C*-гликозидного аналога было продемонстрировано, что поле MM3 позволяет достаточно корректно учитывать влияние экзаномерного эффекта. В работе [55] конформационный расчет предсказал значительное увеличение подвижности агликона при переходе от *O*- к *C*-гликозиду, что и было подтверждено практически с помощью экспериментов по ЯЭО.

В 1997 г. поле MM3 было применено для исследования сиалиллактонов [56]. В том же году появилось два сообщения об успешном применении поля MM3 с использованием различных значений диэлектрической проницаемости для конформационного анализа α -метиллактозида [57] и для моделирования водородных связей в различных таутомерах фруктозы [58].

В 1996 г. на примере полисахарида с достаточно сложным пентасахаридным повторяющимся звеном (рис. 5), продуцируемого *Lactobacillus sake* 0–1, была показана возможность применения силового поля MM3 и в конформационном анализе бактериальных полисахаридов [59]. В дальнейшем таким

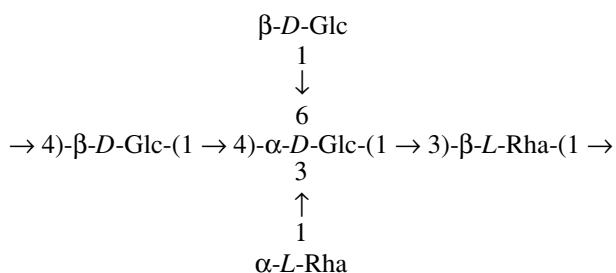


Рис. 5. Модифицированное повторяющееся звено полисахарида, продуцируемого *L. sake* 0–1, изученное с помощью силового поля MM3 [59].

же образом были исследованы олигосахаридные фрагменты полисахарида рамногалактуронана [60]. Из более поздних работ по изучению фрагментов полисахаридов с использованием силового поля MM3 можно упомянуть работу [61].

В некоторых исследованиях отмечают и погрешности, допускаемые силовым полем MM3. Так, в работе [62] при исследовании дезокси- и дидезоксиальдопираноз отмечено, что, хотя силовое поле MM3 в целом правильно предсказывает величины констант спин-спинового взаимодействия Н–Н, оно все же переоценивает энергетическую предпочтительность β -аномера в рассмотренных случаях. Возможно, это стоит отнести за счет того, что в расчете не совсем корректно происходит учет экзаномерного эффекта. К тому же следует отметить, что авторы в своей работе применяли достаточно старую версию силового поля MM3(92). Кроме того, в работах [63, 64] было найдено, что расчеты с использованием силового поля MM3 в тетрасахаридах дают лучший результат для гликозидных связей, в неконцевых участках углеводной цепи. В качестве экспериментального метода авторы применяли измерение дальних констант спин-спинового взаимодействия С–Н.

В заключение рассмотрения молекулярно-механических силовых полей хотелось бы отметить несколько работ, в которых проводится сопоставление результатов, получающихся при расчетах силовыми полями MM2/3 и AMBER [65–67]. Из указанных работ можно сделать вывод, что данные силовые поля в целом с близкой достоверностью воспроизводят геометрические и спектральные (ЯМР) характеристики углеводных структур. В работе [68] можно найти сопоставление результатов расчетов конформаций углеводов с использованием порядка 20 различных модификаций известных силовых полей.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ КВАНТОВОЙ МЕХАНИКИ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ КОНФОРМАЦИЙ УГЛЕВОДОВ

Кроме молекулярной механики, для моделирования углеводных структур используются также методы более высокого уровня теории – полуэмпирические и неэмпирические квантово-механические расчеты. Этот подход сравнительно недавно начал входить в широкую практику из-за высоких

требований таких расчетов к производительности компьютера. Однако уже сейчас можно сделать некоторые обобщения.

Важным вкладом в изучение основных закономерностей поведения гликозидных связей являются работы Тварошки с сотр. [69–75], которые в 1994–2002 гг. опубликовали ряд исследований, посвященных изучению применения квантово-химических методов для моделирования углеводов.

В работе [69] рассмотрены результаты анализа конформации гидроксиметильной группы в гексахсах. В качестве объектов исследования была выбрана серия из восьми известных гексоз, которые изучались с помощью полуэмпирического приближения INDO. В качестве экспериментального критерия правильности проведенных расчетов авторы использовали величины вицинальных гетероядерных констант $^3J_{C,H}$. В своей следующей работе они продолжили это исследование уже с применением метода функционала плотности (функционал B3LYP) [70]. В данной работе были исследованы 16 структур: модельные соединения (различные 2,3-дидезоксипроизводные глюкозы и галактозы) и несколько природных углеводных молекул. Изучалось вращение не только гидроксиметильной, но и метоксиметильной группы. Кроме того, авторами проводился учет влияния растворителя (воды или метанола). Для экспериментального подтверждения расчетных данных опять использовались величины дальних C–H констант спин-спинового взаимодействия.

В ходе исследования авторами было показано, что конформационное равновесие при вращении гидроксиметильной группы чрезвычайно чувствительно к эффектам растворителя, кроме того, на него оказывает влияние присутствие внутримолекулярной водородной связи. Исследования позволили также установить, что *gauche*-ориентация гидроксиметильной группы не связана с чисто стереоэлектронными эффектами, т.е. с тем, что ранее называлось *gauche*-эффектом [71].

Методами более высокого уровня Тварошкой с сотр. были исследованы кривые потенциальной энергии при изменении угла ϕ [72, 73] в гликозидной связи и угла, описывающего вращение бокового заместителя [74]. Из-за того, что в те годы, когда были проведены эти исследования, подобные вычисления еще требовали достаточно большого количества времени, авторы использовали только модельные структуры – производные тетрагидропирана. Так, зависимость потенциальной энергии от угла ϕ исследовалась на примере аксиального и экваториального изомеров 1-метокситетрагидропирана.

На примере 12 модельных диметоксипроизводных тетрагидропирана методами *ab initio* с использованием базисных наборов 6-31G* и 6-31 + G* были изучены потенциальные кривые при вращении

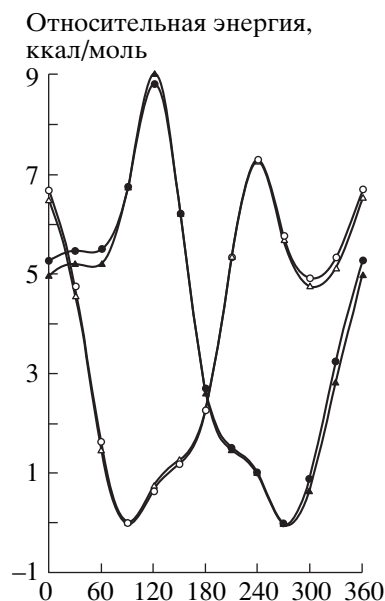


Рис. 6. Потенциальные кривые вращения бокового заместителя в положении C2 [74].

бокового заместителя. Отметим, что авторы исходили из того, что на гликозидную C–O-связь, описываемую углом ϕ , оказывает влияние только экзаномерный эффект. С точки зрения квантовой механики, он представляет собой взаимодействие через пространство орбиталей на внутрициклическом и внециклическом атомах кислорода, поэтому влияние заместителей в кольце на величину угла ϕ ими не изучалось.

Для вращения бокового заместителя авторами была обнаружена значительно большая конформационная подвижность, чем при вращении вокруг гликозидной связи. Это выразилось в том, что полученные потенциальные кривые включали три минимума, один из которых лежал заметно выше двух других по энергии. Оба этих минимума, в свою очередь, имели приблизительно одинаковую энергию.

Исключение составили ситуации, когда заместитель находился в положении C2, при экваториальной ориентации агликона. Потенциальные кривые для этих случаев представлены на рис. 6. Видно, что фактически присутствует лишь один доступный минимум, что свидетельствует о некотором уменьшении подвижности.

В 1998 г. Тварошкой и Карвером было опубликовано исследование экзаномерного эффекта методами квантовой механики различного уровня. Оно также было проведено на модельных соединениях (экваториальный и аксиальный изомеры 2-гидрокситетрагидропирана) [75]. Из полученных результатов стоит упомянуть различие, найденное авторами для энергетической предпочтительности аксиального или экваториального

изомера в вакууме и в водной среде. Оказалось, что в газовой фазе аксиальный изомер является энергетически более выгодным, в то время как в воде более предпочтительна экваториальная ориентация. Это показывает существенную разницу в сольватации аксиального и экваториального изомеров.

Чуть ранее экзаномерный эффект также был исследован методами квантовой механики в работе [76]. Кроме модельных соединений (аксиальных изомеров 2-гидрокси- и 2-метокситетрагидропирана) авторы изучали α -D-глюкопиранозу и метил- α -D-глюкопиранозид. Их выводы, в общем, согласуются с выводами, приведенными в работе [75]. Интересно отметить, что этими же авторами проводилось сопоставление результатов квантово-механических расчетов с результатами, полученными с использованием силового поля MM3(94) [76]. Показано, что в этой версии силового поля может недооцениваться влияние экзаномерного эффекта.

Изучение ориентации гидроксильных групп рассмотрено в работе [77], в которой использовалось полуэмпирическое приближение AM1, а в качестве объекта исследования были выбраны фукопираноза и дисахарид β -D-Манp-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcNAc-OMe.

Проведенный расчет энергий конформеров со всеми возможными взаимными ориентациями гидроксильных групп показал, что изменение их конформации ведет к значительным изменениям энергии: до 8 ккал/моль для моносахарида и до 4 ккал/моль для дисахаридов, без изменения конформации гликозидной связи. Вместе с тем, многие из начальных структур при геометрической оптимизации превращались в другие конформеры. Таким образом, был сделан вывод о том, что, хотя и не все из возможных ротамеров участвуют в конформационном равновесии, ориентация гидроксильных групп может играть очень существенную роль.

Квантово-механические расчеты использовались для предсказания ЯМР-характеристик углеводов [78]: было проведено исследование зависимости химического сдвига аномерного атома углерода ^{13}C от конформации гликозидной связи. Сопоставление рассчитанных величин химических сдвигов ^{13}C с экспериментальными показало, что наилучшее совпадение (расхождение до 0.3–1.5 м.д.) достигается при учете всех конформеров, существующих вокруг гликозидной связи с учетом их Больцмановских весов. При учете одного лишь конформера, соответствующего глобальному минимуму, расхождение достигает нескольких миллионных долей.

В настоящее время, в связи с развитием компьютерной техники, методы квантовой химии находят все более широкое применение в исследо-

ваниях углеводов как для изучения их реакционной способности, так и для конформационного анализа [79, 80].

СОПОСТАВЛЕНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ И КВАНТОВОЙ МЕХАНИКИ

Выше уже упоминалась работа [76], в которой проводилось сравнение точности силового поля MM3(94) с точностью расчетов *ab initio*. В данном разделе рассматриваются еще несколько работ на подобную тему с тем, чтобы дать более полное представление об областях использования молекулярной и квантовой механики в конформационном анализе углеводов.

В первую очередь остановимся на работе Френча с сотр. [81], в которой исследовалась конформация гидроксиметильной группы в β -D-глюкозе методами *ab initio* различного уровня, а также молекулярной механики (силовое поле MM3(94)). Интересно, что, в отличие от последующих результатов авторов [76], в работе [81] было найдено, что как квантовая, так и молекулярная механика предсказывают геометрические параметры молекулы, близкие к тем, которые могут быть найдены экспериментально в кристаллической фазе. Наибольшие ошибки в молекулярно-механических расчетах были найдены для геометрических параметров, находящихся в непосредственной близости от аномерного центра. Этот факт, на наш взгляд, согласуется с выводом, сделанным авторами позднее [76], о плохом моделировании экзаномерного эффекта силовым полем MM3(94).

В работе [82] было отмечено, что моделирование α -(1 \rightarrow 2)-фукозидной связи в дифукозидах с использованием силового поля MM3 приводит к неправильным результатам. Удовлетворительное совпадение рассчитанных величин ЯЭО с экспериментальными было получено авторами при использовании метода функционала плотности (функционал PBE).

Прямое сопоставление результатов расчетов полуэмпирическими методами (приближение AM1) и методами молекулярной механики было сделано в работе [83], где на примере метил- α -лактозида и C-гликозидного аналога лактозы было проведено сравнение нескольких молекулярно-механических силовых полей и полуэмпирического приближения AM1. Конформационное распределение, полученное с помощью силовых полей MM3, CVFF и AMBER, наилучшим образом отвечает результатам экспериментов ЯМР, в то время как приближение AM1 иногда дает даже качественно неверные результаты.

В настоящий момент методы молекулярной и квантовой механики используются чаще как дополнение друг к другу [84]. Так, в работе [85] рас-

сма тривалась более современная модификация силового поля ММ3–ММ3(96). Были получены удовлетворительные результаты, хотя и отмечалось, что методы более высокого уровня теории дают несколько лучшее совпадение.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ КОНФОРМАЦИОННОГО РАВНОВЕСИЯ

По сути своей задача конформационного анализа сводится к изучению поверхности (еще употребляют термин “гиперповерхность”) потенциальной энергии (ППЭ). Существует несколько алгоритмов решения этой задачи.

Давно известен подход к изучению конформаций, в частности конформаций гликозидных связей, состоящий в построении так называемых рамачандрановских карт, или “конформационных” карт. При сканировании торсионных углов (обычно – одного или двух) происходит систематический перебор значений исследуемых параметров с геометрической оптимизацией в каждой точке. В ходе этой оптимизации торсионные углы фиксируются путем специальной модификации торсионного потенциала. Числовым параметром такой модификации является так называемая “силовая постоянная”. Задачей исследователя является подбор шага по каждой из координат и, главным образом, значения этой силовой постоянной. Слишком большие значения силовых постоянных приводят к тому, что алгоритмы оптимизации могут не сойтись до нужного градиента, а слишком маленькие – к значительным отклонениям фиксируемых параметров от требуемых значений. После построения конформационной карты и определения энергетических минимумов можно вычислить некоторые усредненные характеристики системы (ЯЭО, химические сдвиги и другие). Усреднение происходит по энергии с учетом больцмановского фактора:

$$\langle y \rangle = \frac{\sum_i y_i \exp(-\Delta U_i/kT)}{\sum_i \exp(-\Delta U_i/kT)}$$

На рубеже 1990-х и 2000-х гг. Сторцем была проведена систематизация имеющихся знаний о методе сканирования торсионных углов. Так, в работе [86] было проведено исследование, ставившее своей целью максимально разрешить проблему многих локальных минимумов для олигосахаридов, которая проистекает, как уже было сказано, из возможности разных ориентаций боковых гидроксильных групп. В цитируемой работе объектом исследования служил дисахарид (α -D-Galp-(1 \rightarrow 3)- α -D-Galp).

В данном соединении кроме боковых гидроксильных групп присутствуют также гидроксиметильные группы, что дополнительно осложняло

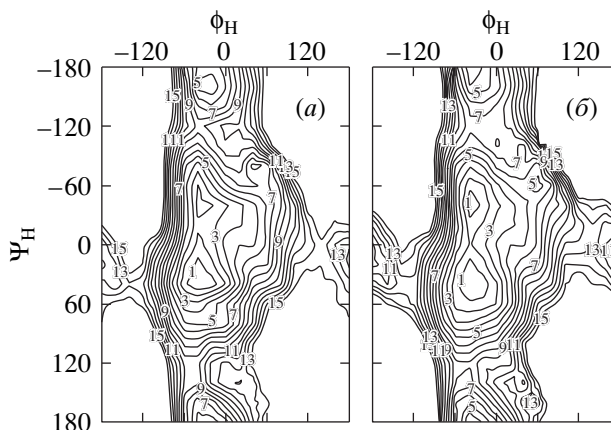


Рис. 7. Конформационные карты, полученные в работе [86] при использовании “драйвера 2” (а) и “драйвера 4” (б).

расчетную задачу. Автор предложил построить в данном случае так называемую “адиабатическую карту”, т.е. выбрав в качестве стартовых точек несколько конформаций (различающихся ориентациями гидроксильных и гидроксиметильных заместителей), построить, исходя из них, несколько конформационных карт, а затем в каждой точке конформационного пространства выбрать ту, что имеет минимальную энергию.

Поскольку алгоритм сканирования углов заключается в систематической геометрической оптимизации исследуемой структуры при торсионных углах ϕ и ψ , зафиксированных на определенных значениях, то возможны два варианта:

а) стартовой геометрией в каждой новой точке является та, что получена при предыдущей оптимизации;

б) стартовой геометрией в каждой новой точке является одна и та же один раз заданная конформация.

Обе эти возможности были изучены автором цитируемой работы. По не указанной причине они были названы им, соответственно, “драйвер 2” и “драйвер 4”. В ходе работы автором было найдено, что более разумным выбором для построения конформационной карты является использование “драйвера 4”. В самом деле, при использовании “драйвера 2” возможно появление и накопление в структуре геометрических искажений, возникших на каком-то этапе как результат выбора нереалистичной стартовой геометрии. Впрочем, в обсуждаемой работе конформационные карты, построенные автором для изучаемого дисахариды обоими способами, различались не сильно (рис. 7). Тем не менее с выводом автора работы [86] относительно предпочтительности “драйвера 4” следует согласиться.

В дальнейшем Сторцем и Черезо было предложено некоторое видоизменение рассмотрен-

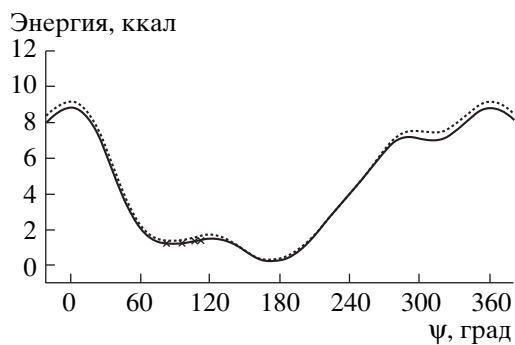


Рис. 8. Пример двумерного среза конформационных карт из работы [87].

ной методики [87]. Оно основывалось на том наблюдении, что для подавляющего большинства олигосахаридов угол ϕ меняется в очень узких пределах по сравнению с углом ψ . Принято считать, что такая ограниченность угла ϕ связана с влиянием экзаномерного эффекта. Авторы, однако, выдвигают предположения, согласно которым этот эффект может быть не единственной причиной ограничения конформационной подвижности. В обсуждаемой работе было предложено упростить задачу и вместо трехмерных графиков, проекциями которых фактически являются конформационные карты, строить двумерные срезы, т.е. отслеживать изменение энергии только в зависимости от угла ψ (рис. 8). Были проанализированы данные для 20 соединений. В результате были сделаны следующие выводы о причинах предпочтительности описанного подхода: во-первых, требуются меньшие затраты компьютерного времени, а во-вторых, такие графики легче анализировать. В частности, авторы сообщают, что смогли легко проследить энергетические тенденции, имеющие место при вариациях типов гликозидной связи (экваториально-аксиальная, экваториально-экваториальная и т.п.).

Впоследствии Сторц и Черезо [88] распространили рассмотренный подход и на трисахариды, но с использованием “стандартных” конформационных карт, отображающих зависимость энергии сразу от двух углов ψ в обеих гликозидных связях.

Соглашаясь в целом с выводами авторов, стоит отметить, однако, что в некоторых случаях, возможно, предпочтительней потратить чуть больше времени на расчет, но получить более полную картину конформационного состояния олигосахаридов. Даже применение описанного подхода к трисахаридам, на наш взгляд, не сильно приближает ситуацию к построению единой N -мерной гиперповерхности вместо нескольких визуально воспринимаемых конформационных карт в координатах ϕ/ψ , а такая замена как раз и является одним из главных упрощений метода сканирования торсионных углов.

Из рутинных работ, демонстрирующих применение сканирования торсионных углов для построения конформационных карт, можно указать [63, 64, 82, 89–94].

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА

Помимо систематического сканирования торсионных углов, существует еще один способ для исследования ППЭ. Он заключается в численном интегрировании уравнений движения молекул (как движения молекулы в целом, так и внутреннего движения). Теоретически такое движение должно отвечать реальной динамике молекулы, поэтому данный подход получил название молекулярная динамика (МД) [95]. Задачей экспериментатора в этом случае является правильный выбор длины траектории МД и шага по времени: слишком большие величины шагов приводят к нереалистичным результатам, слишком маленькие увеличивают время расчета, при этом практически не влияя на практическую адекватность симуляции.

С длинами траекторий ситуация другая – они должны быть как можно больше, но, с другой стороны, это требует увеличения времени расчета. В работе [96] можно найти описание влияния длины траектории на результат молекулярно-динамического эксперимента. Были исследованы энергии образования комплексов α -пиненов с α -циклодекстрином и показано, что для корректного воспроизведения энергий межмолекулярного взаимодействия в этом случае необходимы времена симуляции, существенно превышающие 2 нс.

Несмотря на то что для реалистичных симуляций требуется значительно большее время расчета, чем для сканирования торсионных углов, этот подход уже очень давно привлекает внимание исследователей, занимающихся конформационным анализом углеводов. В первую очередь это произошло потому, что, как уже было сказано, МД может описывать движение молекулы как единого целого, а значит, возможно, открывается путь к расчетам многомолекулярных систем, например, углеводов в растворах или в комплексах с природными рецепторами. Это обстоятельство является чрезвычайно важным для исследования природных полисахаридов, конформации которых интересно знать в первую очередь в водных средах. Существует много работ, посвященных данной тематике, например [39, 97–105]. Простые олигосахариды также часто исследовались с помощью МД [12, 106–112].

В большинстве из отмеченных выше ссылок при учете влияния растворителя речь идет о включении молекул воды в расчет в явном виде. Существует иной способ моделирования конденсированной фазы (реальные газы, разбавленные

растворы и т.п.). Он является разновидностью МД и носит название стохастической динамики. Его основным уравнением является уравнение Ланжевена [113]:

$$m \frac{d^2 x}{dt^2} = F(t) - \zeta \frac{dx}{dt} + R(t),$$

где x – координата частицы с массой m , t – время, $F(t)$ – так называемая “систематическая” сила, ζ – коэффициент трения, $R(t)$ – случайная сила.

Без последних двух слагаемых это уравнение фактически является уравнением молекулярной динамики. Коэффициент трения моделирует присутствие вязкости в среде, а случайная сила R – стохастические столкновения с другими частицами.

Примеров применения стохастической динамики для конформационного анализа углеводов несколько меньше, чем обычной МД. В основном, они тоже связаны с моделированием фрагментов бактериальных полисахаридов [14, 39, 107, 110, 114, 115].

Еще одна разновидность МД носит в англоязычной литературе название “annealing” (“закалка”). Поскольку МД пытается описать реальное движение молекулы, очевидно, что должна присутствовать зависимость от температуры. В стандартных молекулярно-динамических протоколах используется режим постоянной температуры. В случае описываемого варианта динамики вначале моделируется разогрев системы до определенной температуры. В результате появляется возможность пересечения энергетических барьеров, недоступных при обычной температуре. Пример использования такого подхода для конформационного анализа углеводов можно найти в работах [116, 117], в которых проводилось изучение конформаций β -(1 \rightarrow 4)-связанного димера *N*-ацетилглюкозамина и фрагментов РНК.

Во всех цитированных выше работах стандартная процедура верификации результатов молекулярно-динамического эксперимента состоит в вычислении усредненных по ансамблю конформеров величин ЯЭО и констант спин-спинового взаимодействия. Возможно также усреднение энергии межмолекулярного взаимодействия, что обуславливает принципиальную применимость данной методики для моделирования таких свойств углеводов, как способность связываться с природными рецепторами преимущественно белковой природы. В реальности методом МД можно достоверно моделировать взаимодействие лишь небольших молекул [96].

Следует обратить внимание на то, что в случае молекулярно-динамического расчета усреднение происходит по времени, а не по энергиям, как при вычислении характеристик углеводов из конформационных карт, построенных систематическим

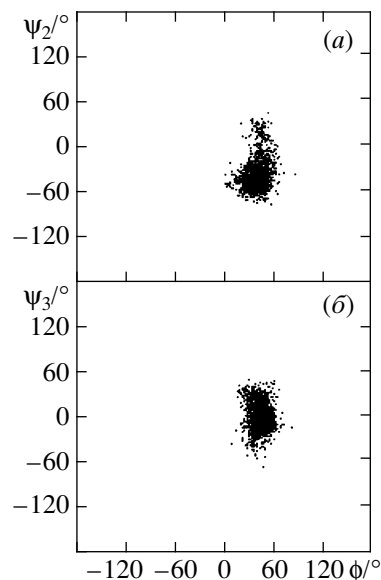


Рис. 9. Пример визуализации результатов расчета методом МД. Взято из работы [107].

сканированием торсионных углов. При проведении расчета лишь предполагается, что частота, с которой в молекулярно-динамической траектории будет встречаться та или иная конформация, пропорциональна больцмановскому фактору. Предположение это требует, чтобы система находилась в состоянии термодинамического равновесия. Для того чтобы можно было обоснованно утверждать, что система именно такова, нужно выполнение одного из двух условий:

- высокая температура, обеспечивающая быстрое усреднение;
- достаточно долгое время симуляции.

Первый вариант не всегда подходит, так как повышение температуры само по себе может изменять положение равновесия. Второй вариант требует, как можно понять, увеличения времени расчета.

При проведении молекулярно-динамических расчетов может возникнуть необходимость в визуализации полученных результатов по типу того, как это делается при построении конформационных карт. В данном случае на карте будут присутствовать скопления точек в областях, являющихся конформационно предпочтительными для исследуемой молекулы (рис. 9).

Ясно, что достоверность такого представления будет возрастать пропорционально длине траектории, что служит еще одной причиной для ее увеличения. Даже на современных компьютерах не всегда МД является оптимальной методикой расчета, особенно если речь идет о больших системах.

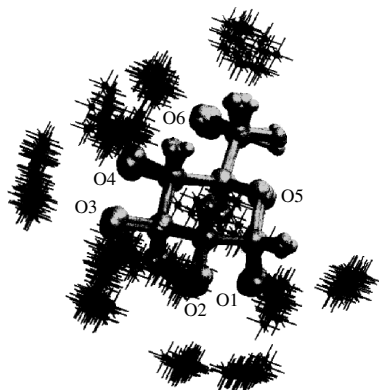


Рис. 10. Молекула глюкозы в окружении молекул воды по результатам расчета из работы [118].

ОСОБЕННОСТИ МОДЕЛИРОВАНИЯ УГЛЕВОДОВ В РАСТВОРАХ

Когда говорят о моделировании углеводов с учетом эффекта растворителя, прежде всего имеется в виду водная среда. Диметилсульфоксид используется реже, в основном как экспериментальный инструмент для изучения влияния водородных связей на конформацию. Основным вычислительным средством для учета сольватации углеводов, как уже было сказано, является молекулярная механика. Кроме поведения самих углеводов в воде, исследователей интересует также устройство сольватной оболочки углеводов в растворе.

Принято считать, что, несмотря на общую гидрофильность, углеводы имеют и гидрофобные участки, рядом с которыми молекулы воды не группируются. Подобный результат был получен в работе [118], в которой был проделан расчет МД для системы α -D-глюкопираноза/вода. На рис. 10 представлена молекула глюкозы в окружении молекул воды (наложено несколько конфигураций молекул растворителя, возникших в процессе симуляции). Видно, что молекулы воды концентрируются преимущественно у гидроксильных групп, причем даже атом кислорода O5 является слабо сольватированным.

На рис. 11, взятом из той же работы, показано распределение расстояний между атомами кислорода в глюкозе и атомами кислорода молекул воды, сольватирующих данный атом. Из графиков видно, что самые близкие контакты с растворителем наблюдаются у атомов кислорода O3 и O2.

В работе [119] было показано, что число молекул воды в сольватной оболочке α -мальтозы зависит от конформации ее гликозидной связи, хотя и меняется в незначительных пределах (10–11 молекул воды). Конформация другого дисахарида, α , α -трегалозы, в воде была исследована методами МД в работе [120], одним из выводов которой было то,

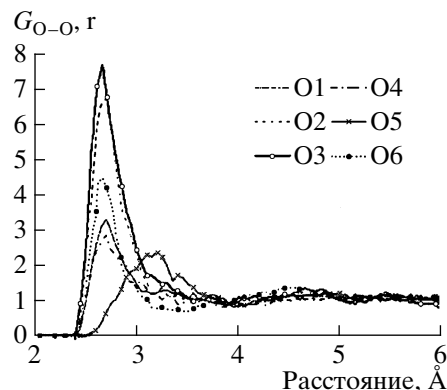


Рис. 11. Распределение расстояний между атомами кислорода в глюкозе и атомами кислорода молекул воды [118].

что в присутствии воды гидроксильные протоны углевода не образуют внутримолекулярных водородных связей, а контактируют исключительно с молекулами воды. Как уже было указано, в работе [31] внутримолекулярные водородные связи все же были найдены. Правда, чаще эти связи образуются через “мостики” из молекул воды. Возможно, это расхождение в результатах связано с тем, что авторы работы [31] использовали большее время молекулярно-динамической симуляции.

Подробнее хотелось бы рассмотреть работу [121]. В ней как с помощью молекулярной динамики, так и сканирования торсионных углов в различных силовых полях изучались конформации нескольких дисахаридов. Для сканирования торсионных углов использовалась так называемая континуальная модель сольватации, в которой сольватация учитывается только через изменение диэлектрической проницаемости среды в расчете. Для всех изученных соединений авторы обнаружили, что картина на конформационной карте заметно меняется при переходе диэлектрической проницаемости ϵ 1 (вакуум) к величинам ϵ для диметилсульфоксида и воды. На рис. 12a–в показано это изменение на примере конформационных карт дисахарида α -L-Fucp-(1 \rightarrow 2)- β -D-GalpOMe. На том же рисунке приведены карты распределения конформаций, полученные в результате молекулярно-динамических симуляций в вакууме и в воде.

Видно, что при обоих способах расчета происходит уменьшение числа доступных конформаций. Авторы в своих выводах отмечают это совпадение, но тем не менее настаивают на том, что для более адекватного расчета требуется большее время симуляции в МД и улучшенная параметризация термов силовых полей, отвечающих за электростатические взаимодействия и водородные связи, в случае сканирования торсионных углов.

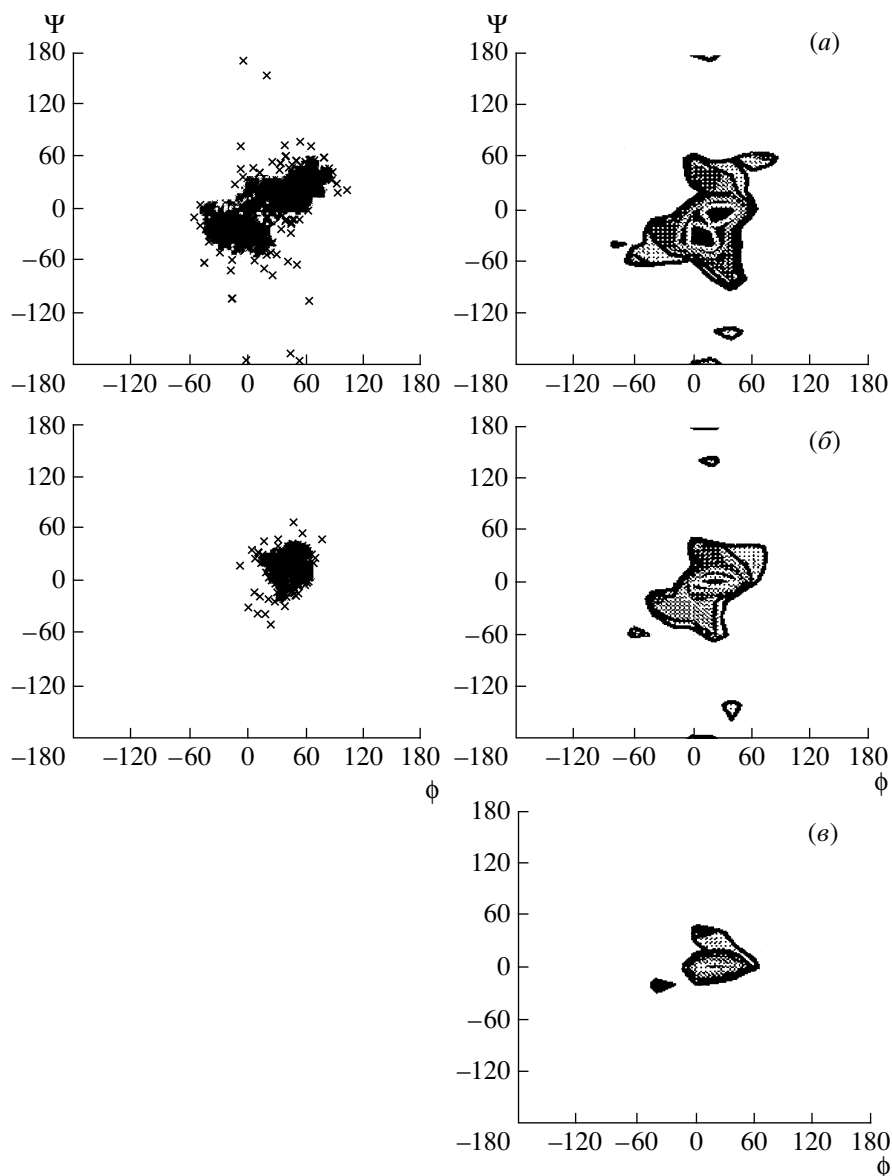


Рис. 12. Картины конформационных распределений, полученные в работе [121] для дисахарида α -L-Fuc-(1 \rightarrow 2)- β -D-Gal-OMe. Слева: вверху – конформационное распределение из расчета МД в вакууме; внизу – то же в воде. Справа – результат сканирования торсионных углов: *a* – в вакууме, *б* – в DMSO, *в* – в воде.

ИССЛЕДОВАНИЯ ИОННЫХ УГЛЕВОДНЫХ СТРУКТУР

Интересных работ на эту тему не так уж и много. Кроме уже упоминавшейся работы [11], выполненной с неизбежными для поля HSEA грубыми приближениями, можно упомянуть более позднюю публикацию [122], в которой описывается конформационное исследование нескольких дисахаридных фрагментов гомополигликуронанов. Для исследования этих соединений авторами было использовано силовое поле ММ3 с алгоритмом сканирования торсионных углов. Никаких неожиданных результатов в этой работе получено, на наш взгляд, не было, и интересна она мо-

жет быть только с общей методологической точки зрения. То же самое можно сказать про уже цитировавшиеся нами работы Сторца с соавт. [90, 91], в которых проводилось изучение дисахаридных фрагментов карагинанов.

Несколько больший интерес представляет сообщение [123], в котором показано, что в сполна фосфорилированном инозитоле при смене рН, по данным спектров ЯМР, происходит инверсия кольца. Для объяснения данного эффекта авторами было предпринято теоретическое исследование с применением методов самого разного уровня теории, начиная от молекулярной механики (силовое поле AMBER) и заканчивая неэмпирическим мето-

дом функционала плотности. Также были использованы полуэмпирические приближения РМЗ и АМ1. Отметим, что при моделировании данного соединения авторами использовалось приближение неполной диссоциации.

Приближение неполной диссоциации использовалось также в работе [94] для сульфатных групп при конформационном анализе линейных трисульфатированных трифукозидов. Для разветвленных трисульфатированных трифукозидов [82] авторами чуть позднее было найдено, что результаты расчета с приближением частичной диссоциации и без него не сильно различаются.

ПРАКТИЧЕСКИ ПОЛЕЗНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ, КОТОРЫЕ МОЖНО ПОЛУЧИТЬ МЕТОДАМИ ТЕОРЕТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ УГЛЕВОДОВ

Методы теоретического конформационного анализа в первую очередь направлены на исследование низкомолекулярных олигосахаридов. Изучение углеводных структур, представляющих собой фрагменты полисахаридов, позволяет получить представление о пространственной форме полимерных цепей и, таким образом, строить предположения о механизмах их биологического действия. В частности, в результате изучения ряда сульфатированных и свободных олигофукозидов авторами данного обзора были построены модели цепей природных полисахаридов фукоиданов, обладающих несколькими типами биологической активности.

Нами уже упоминалось, что МД может быть применена для расчета энергий взаимодействия углеводов с небольшими (чаще всего модельными) рецепторами. С этой целью можно применять и комбинированный подход [124]. Конформация рецептора (или углевода и рецептора одновременно) рассматривается в приближении неподвижных остатков ("rigid body"), которое в свое время использовалось в силовых полях HSEA. Для расчета же межмолекулярных взаимодействий привлекается силовое поле более высокого уровня, например, AMBER. Расчет в этом случае ведется с использованием метода Монте-Карло или еще не упоминавшегося в данном обзоре генетического алгоритма [125].

Оценка реакционной способности углеводов также является практически ценной и иногда может быть осуществлена достаточно простыми средствами. Например, в работе [126] упоминавшееся нами ранее молекулярно-механическое силовое поле QVВММ было использовано для оценки реакционной способности гидроксильных групп в углеводах. С помощью того же силового

поля был исследован механизм окисления моносахаридов бромом, триоксидом хрома и озоном [127].

Альтернативный подход к оценке реакционной способности углеводов с привлечением комбинации молекулярно-механических и полуэмпирических методов (РМЗ) был использован в работе [128], также в работе авторов данного обзора [129], где была показана возможность анхимерного содействия из положения С3 в реакциях фукозилирования.

В работе [130] методами молекулярного моделирования были изучены физико-химические свойства водных растворов углеводов. Авторами была предложена модель, позволяющая проводить расчет энергий взаимодействия молекул углеводов с молекулами растворителя (воды). В результате был осуществлен расчет таких важных свойств сахаров, как растворимость и давление насыщенных паров их водных растворов.

Важным моментом при конформационном анализе является верификация результатов расчетов с помощью экспериментальных данных, полученных физико-химическими методами. В случае углеводов это, как правило, характеристики спектров ядерного магнитного резонанса: величины химических сдвигов ^{13}C , ядерных эффектов Оверхаузера и констант спин-спинового взаимодействия. Ранее в данном обзоре упоминалось про возможность расчета этих параметров исходя из конформационного распределения. Кроме этих методов для верификации результатов можно использовать данные по оптическому вращению. Пример такого подхода можно найти в работе [131].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно сказать, что на данном этапе для изучения конформаций гликозидных связей существует богатый арсенал методов. С учетом прогресса в компьютерной технике стало возможно проводить конформационный анализ углеводов с привлечением методов высокого уровня теории: *ab initio* и функционала плотности, которые в некоторых случаях могут служить для уточнения результатов, полученных методами молекулярной механики. Тем не менее, поскольку углеводы являются достаточно сложными системами, для которых интересно знать состояние, в первую очередь, в водных растворах, при их моделировании все еще требуется использовать различного рода приближения и упрощения. Основным методом, применяемым для экспериментального подтверждения результатов моделирования, остается ЯМР: методики регистрации ЯЭО, констант спин-спинового взаимодействия и другие позволяют подтверждать результаты теоретиче-

ских расчетов, а также дают дополнительные данные о конформациях углеводных молекул.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hill T.L. // J. Chem. Phys. 1948. V. 16. P. 938–949.
- Westheimer F.N. // J. Chem. Phys. 1947. V. 15. P. 252.
- Китайгородский А.И. Органическая кристаллохимия. М.: Изд-во Акад. наук СССР, 1955.
- Буркерт У., Эллингджер Н. Молекулярная механика. М.: Мир, 1986.
- Lemieux R.U., Koto S. // Tetrahedron. 1974. V. 30. P. 1933–1944.
- Woods R.J. // Glycoconjugate J. 1998. V. 15. P. 209–216.
- Bock K. // Pure Appl. Chem. 1983. V. 55. P. 605–622.
- Thogersen H., Lemieux R.U., Bock K., Meyer B. // Can. J. Chem. 1982. V. 60. P. 44–57.
- Peters T., Meyer B., Stuike-Prill R., Somorjai R., Brisson J.-R. // Carbohydr. Res. 1993. V. 238. P. 49–73.
- Weimar T., Meyer B., Peters T. // J. Biomol. NMR. 1993. V. 3. P. 399–414.
- Zsiška M., Meyer B. // Carbohydr. Res. 1993. V. 243. P. 225–258.
- Mimura M., Kitamura S., Gotoh S., Takeo K., Urakawa H., Kajiwara K. // Carbohydr. Res. 1996. V. 289. P. 25–37.
- Stuike-Prill R., Pinto B.M. // Carbohydr. Res. 1995. V. 279. P. 59–73.
- Höög C., Widmalm G. // Glycoconjugate J. 1998. V. 15. P. 183–186.
- Lemieux R.U., Bock K. // Arch. Biochem. Biophys. 1983. V. 221. P. 125–134.
- Woods R.J., Dwek R.A., Edge C.J., Fraser-Reid B.J. // Phys. Chem. 1995. V. 99. P. 3832–3846.
- Glennon T.M., Zheng Y.-J., LcGrand S.M., Shutzberg B.A., Merz K.M., Jr. // J. Comput. Chem. 1994. V. 15. P. 1019–1040.
- Homans S.W. // Biochemistry. 1990. V. 29. P. 9110–9118.
- Ha S.N., Giamonna A., Field M., Brady J.W. // Carbohydr. Res. 1988. V. 180. P. 207–221.
- Rasmusen K. // Acta Chem. Scand. 1982. V. A36. P. 323–327.
- Koehler J.E.H., Saenger W., van Gunstersen W.F. // Eur. Biophys. J. 1987. V. 15. P. 197–210.
- Clark M., Cramer R.D., van Opdenbosch N.J. // Comput. Chem. 1989. V. 10. P. 982–1012.
- Hagler A.T., Lifson S., Dauber P. // J. Am. Chem. Soc. 1979. V. 101. P. 5122–5130.
- Prabhakaran M., Harvey S.C. // Biopolymers. 1987. V. 26. P. 1087–1096.
- Allinger N.L. // J. Am. Chem. Soc. 1977. V. 99. P. 8127–8134.
- Allinger N.L., Yuh Y.H., Lii J.-H. // J. Am. Chem. Soc. 1989. V. 111. P. 8551–8566.
- HyperChemTM. Hypercube, Inc., 1115 NW 4th Street, Gainesville, Florida 32601, USA.
- Groothenus P.D.J., Haasnoot C.A.G. // Mol. Simul. 1993. V. 10. P. 75–95.
- Kouwijzer M.L.C.E., Groothenus P.D.J. // J. Phys. Chem. 1995. V. 99. P. 13426–13436.
- Almond A. // Carbohydr. Res. 2005. V. 340. P. 907–920.
- Kouwijzer M.L.C.E., Schrijvers R., Haasnoot C.A.G., Groothenus P.D.J. // J. Mol. Struct. (Theochem). 1997. V. 395–396. P. 201–210.
- Tripos Associates Inc., 1699 South Hanley Road, Suite 303, St. Louis, Missouri 63144, USA (314 647 1099).
- Reinhardt R., Richter M., Mager P. // Carbohydr. Res. 1996. V. 291. P. 1–9.
- Imberty A., Gruza J., Mouhous-Riou N., Bachet B., Perez S. // Carbohydr. Res. 1998. V. 311. P. 135–146.
- Klewinghaus P., van Eijck B.P., Kouwijzer M.L.C.E., Kroon J. // J. Mol. Struct. (Theochem). 1997. V. 395–396. P. 289–295.
- Kruiskamp P.H. PhD thesis. University of Utrecht. 1998.
- Spieser S.A.H., van Kuik J.A., Kroon-Batenburg L.M.J., Kroon J. // Carbohydr. Res. 1999. V. 322. P. 264–273.
- Poveda A., Santamaría M., Bernabé M., Prieto A., Bruix M., Corzo J., Jiménez-Barbero J. // Carbohydr. Res. 1997. V. 304. P. 209–217.
- Höög C., Rotondo A., Johnston B.D., Pinto B.M. // Carbohydr. Res. 2002. V. 337. P. 2023–2036.
- Smith A.E., Lindner H.J. // J. Comput. Aided Mol. Des. 1991. V. 5. P. 235–262.
- Immel S., Schmitt G.E., Lichtenthaler F.W. // Carbohydr. Res. 1998. V. 313. P. 91–105.
- Weimar T., Kreis U.C., Andrews J.S., Pinto M.B. // Carbohydr. Res. 1999. V. 315. P. 222–233.
- Box V.G.S. // J. Mol. Struct. 2000. V. 522. P. 145–164.
- Box V.G.S. // Heterocycles. 1982. V. 19. P. 1939.
- Tvaroška I., Bleha T. // Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 1989. V. 47. P. 45.
- Juaristi E., Cuevas G. // Tetrahedron. 1992. V. 48. P. 5019–5087.
- Glennon T.M., Merz K.M., Jr. // J. Molec. Struct. (Theochem). 1997. V. 395–396. P. 157–171.
- Montero E., Vallmitjana M., Pérez-Pons J.A., Querol E., Jiménez-Barbero J., Javier Cañada F. // FEBS Lett. 1998. V. 421. P. 243–248.
- Poveda A., Jiménez-Barbero J. // J. Chem. Soc. Rev. 1998. V. 27. P. 133–143.
- Momany F.A., Willet J.L. // Carbohydr. Res. 2000. V. 326. P. 194–209.
- Dejoux A., Cieplak P., Hannick N., Moyna G., Dupradeau F.-Y. // J. Mol. Model. 2001. V. 7. P. 422–432.
- Molina J.M., Olea D.P., Baer H.H. // Carbohydr. Res. 1995. V. 273. P. 1–10.
- Lankhorst P.P., Smeets J.W.H., Haasnoot C.A.G. // Carbohydr. Res. 1995. V. 269. P. 17–27.
- Ferro D.R., Gajdoš J., Ragazzi M., Ungarelli F., Piani S. // Carbohydr. Res. 1995. V. 277. P. 25–38.
- Espinoza J.-F., Martín-Pastor M., Asensio J.L., Dietrich H., Martín-Lomas M., Schmidt R.R., Jiménez-Barbero J. // Tetrahedron Lett. 1995. V. 36. P. 6329–6332.

56. Parrill A.L., Mamuya N., Dolata D.P., Gervay J. // Glycoconjugate J. 1997. V. 14. P. 523–529.
57. Asensio J.L., Martín-Pastor M., Jiménez-Barbero J. // J. Mol. Struct. (Theochem). 1997. V. 395–396. P. 245–270.
58. French A.D., Dowd M.K., Reilly P.J. // J. Mol. Struct. (Theochem). 1997. V. 395–396. P. 271–287.
59. Robijn G.W., Imberty A., van den Berg D.J.C., Ledebøer A.M., Kamerling J.P., Vliegthart J.F.G., Pérez S. // Carbohydr. Res. 1996. V. 288. P. 57–74.
60. Mazeau K., Pérez S. // Carbohydr. Res. 1998. V. 311. P. 203–217.
61. Rosen J., Robobi A., Nyholm P.-G. // Carbohydr. Res. 2002. V. 337. P. 1633–1640.
62. Rockey W.M., Dowd M.K., Reilly P.J., French A.D. // Carbohydr. Res. 2001. V. 335. P. 261–273.
63. Grachev A.A., Gerbst A.G., Ustuzhanina N.E., Khatuntseva E.A., Shashkov A.S., Usov A.I., Nifantiev N.E. // J. Carbohydr. Chem. 2005. V. 24. P. 85–99.
64. Grachev A.A., Gerbst A.G., Ustuzhanina N.E., Khatuntseva E.A., Shashkov A.S., Usov A.I., Nifantiev N.E. // J. Carbohydr. Chem. 2006. V. 25. P. 1–16.
65. Yamada H., Harada T., Takahashi T. // Tetrahedron Lett. 1995. V. 36. P. 3185–3188.
66. Aguilera B., Jiménez-Barbero J., Fernández-Mayoralas A. // Carbohydr. Res. 1998. V. 308. P. 19–27.
67. Gruza J., Koča J., Pérez S., Imberty A. // J. Mol. Struct. (Theochem). 1998. V. 424. P. 269–280.
68. Pérez S., Imberty A., Engelsen S.B., Gruza J., Mazeau K., Jiménez-Barbero J., Poveda A., et al. // Carbohydr. Res. 1998. V. 314. P. 141–155.
69. Tvaroška I., Gajdoš J. // Carbohydr. Res. 1995. V. 271. P. 151–162.
70. Tvaroška I., Taravel F.R., Utille J.P., Carver J.P. // Carbohydr. Res. 2002. V. 337. P. 353–367.
71. Wolfe S. // Acc. Chem. Res. 1972. V. 5. P. 102–111.
72. Tvaroška I., Carver J.P. // J. Phys. Chem. 1994. V. 98. P. 9477–9785.
73. Tvaroška I., Carver J.P. // J. Phys. Chem. 1995. V. 99. P. 6234–6241.
74. Tvaroška I., Carver J.P. // J. Mol. Struct. (Theochem). 1997. V. 395–396. P. 1–13.
75. Tvaroška I., Carver J.P. // Carbohydr. Res. 1998. V. 309. P. 1–9.
76. Cramer C.J., Truhlar D.G., French A.D. // Carbohydr. Res. 1997. V. 298. P. 1–14.
77. Whitfield D.M. // J. Mol. Struct. (Theochem). 1997. V. 395–396. P. 53–59.
78. Swalina C.W., Zauhar R.J., DeGrazia M.J., Moyana G. // J. Biomol. NMR. 2001. V. 21. P. 49–61.
79. Buist P.H., Behrouzian B., MacIsaac K.D., Cassel S., Rollin P., Imberty A., Gautier C., Pérez S., Genix P. // Tetrahedron: Asymmetry. 1999. V. 10. P. 2881–2889.
80. Gascón-López M., Motevalli M., Paloumbis G., Bladon P., Wyatt P.B. // Tetrahedron. 2003. V. 59. P. 9349–9360.
81. Barrows S.E., Dulles F.J., Cramer C.J., French A.D., Truhlar D.G. // Carbohydr. Res. 1995. V. 276. P. 219–251.
82. Gerbst A.G., Grachev A.A., Ustuzhanina N.E., Khatuntseva E.A., Tsvetkov D.E., Usov A.I., Shashkov A.S., Preobrazhenskaya M.E., Ushakova N.A., Nifantiev N.E. // Russ. J. of Bioorg. Chem. 2004. V. 30. P. 137–147 (Герbst А.Г., Грачев А.А., Устюжанина Н.Е., Хатунцева Е.А., Цветков Д.Е., Усов А.И., Шашков А.С., Преображенская М.Е., Ушакова Н.А., Нифантьев Н.Э. // Биоорг. химия. 2004. Т. 30. С. 156–167).
83. Martín-Pastor M., Espinoza J.-F., Asensio J.L., Jiménez-Barbero J. // Carbohydr. Res. 1997. V. 298. P. 15–49.
84. Kawakami J., Kawakami Y., Nakamura K., Kojima H., Ito S., Tamai Y. // Glycoconjugate J. 1998. V. 15. P. 107–113.
85. Thibodeaux D.P., Johnson G.P., Stevens E.D., French A.D. // Carbohydr. Res. 2002. V. 337. P. 2301–2310.
86. Stortz C.A. // Carbohydr. Res. 1999. V. 322. P. 77–86.
87. Stortz C.A., Cerezo A.S. // Carbohydr. Res. 2002. V. 337. P. 1861–1871.
88. Stortz C.A., Cerezo A.S. // Carbohydr. Res. 2003. V. 338. P. 95–107.
89. Stortz C.A. // Carbohydr. Res. 2001. V. 337. P. 2311–2323.
90. Stortz C.A., Cerezo A.S. // J. Carbohydr. Chem. 2002. V. 21. P. 355–371.
91. Stortz C.A., Cerezo A.S. // Carbohydr. Res. 2003. V. 338. P. 1679–1689.
92. Stortz C.A., Cerezo A.S. // J. Carbohydr. Chem. 1998. V. 17. P. 1405–1420.
93. Gerbst A.G., Ustuzhanina N.E., Grachev A.A., Zlotina N.S., Khatuntseva E.A., Tsvetkov D.E., Shashkov A.S., Usov A.I., Nifantiev N.E. // J. Carbohydr. Chem. 2002. V. 21(4). P. 313–324.
94. Gerbst A.G., Ustuzhanina N.E., Grachev A.A., Khatuntseva E.A., Tsvetkov D.E., Shashkov A.S., Usov A.I., Preobrazhenskaya M.E., Ushakova N.A., Nifantiev N.E. // J. Carbohydr. Chem. 2003. V. 22(2). P. 37–50.
95. Verlet I. // Phys. Rev. 1967. V. 159. P. 98.
96. Dodziuk H., Lukin O. // Chem. Phys. Lett. 2000. V. 327. P. 18–22.
97. Kriss C.T., Lou B.-S., Szabó L.S., Mitchell S.A., Hruby V.J., Polt R. // Tetrahedron: Asymmetry. 2000. V. 11. P. 9–25.
98. Frecer V., Ho B., Ding J.L. // Biochim. Biophys. Acta. 2000. V. 1466. P. 87–104.
99. Bruix M., Jiménez-Barbero J., Cronet P. // Carbohydr. Res. 1995. V. 273. P. 157–170.
100. Widmalm G., Byrd R.A., Egan W. // Carbohydr. Res. 1992. V. 229. P. 195–211.
101. Klein R.A., Hartmann R., Egge H., Behr T., Fischer W. // Carbohydr. Res. 1996. V. 281. P. 79–98.
102. Poveda A., Asensio J.L., Martín-Pastor M., Jiménez-Barbero J. // J. Biomol. NMR. 1997. V. 10. P. 29–43.
103. González L., Asensio J.L., Ariosa-Alvarez A., Verez-Bencomo V., Jiménez-Barbero J. // Carbohydr. Res. 1999. V. 321. P. 88–95.
104. Blanco J.L.J., van Rooijen J.J.M., Erbel P.J.A., Leeftang B.R., Kamerling J.P., Vliegthart J.F.G. // J. Biomol. NMR. 2000. V. 16. P. 59–77.

105. Kozar T., Tvaroška I., Carver J.P. // *Glycoconjugate J.* 1998. V. 15. P. 187–191.
106. Spronk B.A., Rivera-Sagredo A., Kamerling J.P., Vliegthart J.F.G. // *Carbohydr. Res.* 1995. V. 273. P. 11–26.
107. Eklund R., Widmalm G. // *Carbohydr. Res.* 2003. V. 338. P. 393–398.
108. Cheetham N.W.H., Dasgupta P., Ball G.E. // *Carbohydr. Res.* 2003. V. 338. P. 955–962.
109. Horita D.A., Hajduk P.J., Lerner L.E. // *Glycoconjugate J.* 1997. V. 14. P. 691–696.
110. Stenutz R., Widmalm G. // *Glycoconjugate J.* 1997. V. 14. P. 973–981.
111. Söderman P., Jansson P.-E., Widmalm G. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* 1998. P. 639–648.
112. Lycknert K., Höög C., Widmalm G. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* 2002. P. 416–421.
113. Chandrasekhar S. // *Rev. Mod. Phys.* 1943. V. 15. P. 1.
114. Hardy B.J., Egan W., Widmalm G. // *Int. J. Biol. Macromol.* 1995. V. 17. P. 149–157.
115. Peterson M.A., Lipkowitz K.B. // *J. Mol. Struct. (Theochem).* 1997. V. 395–396. P. 411–423.
116. Fadrná E., Koča J. // *J. Mol. Struct. (Theochem).* 1997. V. 398–399. P. 523–528.
117. Brady J.W. // *Chem. Phys.* 1997. V. 216. P. 263–273.
118. Leroux B., Bizot H., Brady J.W., Tran V. // *Chem. Phys.* 1997. V. 216. P. 349–363.
119. Fringant C., Tvaroška I., Mazeau K., Rinaudo M., Desbrieres J. // *Carbohydr. Res.* 1995. V. 278. P. 27–41.
120. Bonanno G., Noto R., Fornili S.L. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* 1998. V. 94. P. 2755–2762.
121. Kozar T., von der Leith C.-W. // *Glycoconjugate J.* 1997. V. 14. P. 925–923.
122. Braccini I., Grasso R.P., Pérez S. // *Carbohydr. Res.* 1999. V. 317. P. 119–130.
123. Bauman A.T., Chateauneuf G.M., Boyd B.R., Brown R.E., Murthy P.P.N. // *Tetrahedron Lett.* 1999. V. 40. P. 4489–4492.
124. Morris G.M., Goodsell D.S., Halliday R.S., Huey R., Hart W.E., Belew R.K., Olson A.J. // *J. Comp. Chem.* 1998. V. 19. P. 1639–1662.
125. Bungay S.D., Poirier R.A., Charron R.J. // *J. Math. Chem.* 2000. V. 28. P. 389–401.
126. Box V.G.S., Evans-Lora T. // *J. Mol. Struct.* 2000. V. 516. P. 203–214.
127. Box V.G.S. // *J. Mol. Struct.* 2001. V. 569. P. 167–178.
128. Kurahashi T., Mizutani T., Yoshida J. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* 1999. P. 465–473.
129. Gerbst A.G., Ustuzhanina N.E., Grachev A.A., Khatuntseva E.A., Tsvetkov D.E., Whitfield D.M., Berces A., Nifantiev N.E. // *J. Carbohydr. Chem.* 2001. V. 20. P. 821–831.
130. Jónsdóttir S.Ó., Cooke S.A., Macedo E.A. // *Carbohydr. Res.* 2002. V. 337. P. 1563–1571.
131. Casset F., Imberty A., du Penhoat C.H., Koča J., Pérez S. // *J. Mol. Struct. (Theochem).* 1997. V. 395–396. P. 211–224.

Computation Techniques in the Conformational Analysis of Carbohydrates

A. G. Gerbst, A. A. Grachev, A. S. Shashkov, and N. E. Nifantiev[#]

[#] Phone/fax: +7 (495) 135-8784; e-mail: nen@ioc.ac.ru

Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 47, Moscow, 119991 Russia

A growing number of modern studies of carbohydrates is devoted to spatial mechanisms of their participation in the cell recognition processes and directed design of inhibitors of these processes. Any progress in this field is impossible without the development of theoretical conformational analysis of carbohydrates. In this review, we generalize literature data on the potentialities of using of different molecular-mechanic force fields, the methods of quantum mechanics, and molecular dynamics to study the conformation of glycoside bond. A possibility of analyzing the reactivity of carbohydrates with the computation techniques is also discussed in brief. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2007, vol. 33, no. 1; see also <http://www.maik.ru>

Key words: carbohydrates, conformational analysis; molecular mechanics; force field; molecular dynamics; quantum mechanics; NMR