



УДК 547.458.02:543.63

**КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ УГЛЕВОДНЫХ ЦЕПЕЙ  
ГРУППОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ КРОВИ***Липкинд Г. М., Веровский В. Е., Кочетков Н. К.**Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Академии наук СССР, Москва*

Проведен теоретический конформационный анализ двух углеводных цепей, представленных в группоспецифическом веществе крови со специфичностью *H*. Показано, что гексасахарид Fuc α1-2Gal β1-3GalNAc (Fuc α1-2Gal β1-4GlcNAc β1-6) \* может образовывать плоскую структуру с эффективными дисперсионными взаимодействиями концевых остатков во всех трисахаридных звеньях молекулы. При этом иммунодетерминантные остатки фукозы способны участвовать в межмолекулярных взаимодействиях.

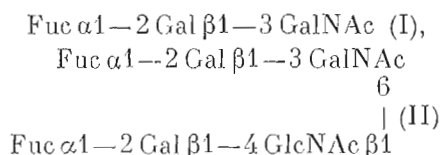
Настоящее сообщение открывает серию публикаций, посвященных теоретическому конформационному анализу углеводных цепей группоспецифических веществ крови (ГВК).

ГВК представляет собой гликопротеины с молекулярными массами 10<sup>5</sup>–10<sup>6</sup> [1], в которых полипептидная цепь, являющаяся скелетом макромолекулы, связана с многочисленными углеводными цепями. Исследования методом акваметрического титрования показали, что только небольшая часть потенциальных центров гидратации способна к взаимодействиям с молекулами воды [2]. Эти данные подтверждают предположение, что ГВК имеют компактную структуру, причем углеводы образуют внешнюю область молекулы ГВК и, по-видимому, плотно упакованы (см. [3]).

Представления о пространственной структуре углеводных цепей существенны для понимания макромолекулярной организации ГВК и, в частности, пространственной организации антигенных участков этих важных биополимеров.

Точные данные о структуре, размерах и гетерогенности углеводных цепей ГВК получены в работах Деревницкой, Арбатского и Кочеткова [4, 5]. При исследовании препарата из слизистой желудка свиньи показано, что углеводные цепи гетерогенны, но построены по одному типу. Они содержат от 3 до 12 и более моносахаридных остатков. В зависимости от числа остатков и типов разветвлений у входящего в корд дисахида Galβ1-3GalNAc, с помощью которого осуществляется связь углеводных цепей с пептидным остовом, все олигосахаридные цепи ГВК были разделены на шесть серий [5].

В данной работе рассмотрены конформационные состояния двух представителей олигосахаридов серий I и II:



Отметим, что именно эти олигосахариды наиболее часто встречаются среди углеводных цепей ГВК.

Конформационный анализ углеводных цепей с использованием атомных потенциальных функций подробно описан нами в предыдущих работах [6, 7]. При оценке потенциальной энергии конформеров во внимание принимались невалентные и электростатические взаимодействия, водо-

\* Все моносахариды – *D*-ряда, фукоза – *L*-ряда.

## Геометрические и энергетические параметры дисахаридных звеньев олигосахаридов

Номера конформаций	Gal $\beta$ 1-3GalNAc				Номера конформаций	GlcNAc $\beta$ 1-6GalNAc			
	$\varphi, \psi$ , град	$U$ , ккал/моль	водородные связи			$\varphi, \psi$ , град	$U$ , ккал/моль	водородные связи	
			Gal	GalNAc				GlcNAc	GalNAc
1	20, -60	-4,0	O5...O4		$\omega - 60^\circ$ (gt)				
2	60, 20	-2,6			1	60, 100	-1,5		
3	-20, 40	-2,5			2	60, 180	-1,4		
Gal $\beta$ 1-4GlcNAc					3	40, -100	-1,5		
Номера конформаций	$\varphi, \psi$ , град	$U$ , ккал/моль	водородные связи		4	-40, -140	-0,5		
			Gal	GlcNAc	$\omega 60^\circ$ (tg)				
1	40, 0	-3,9	O5...O3		1	60, 140	-3,5	O5...O4	
2	-40, -20	-2,0			2	20, -80	-3,5		
3	20, 180	-2,0			3	-40, -140	-0,7		
Fuc $\alpha$ 1-2Gal					$\omega 180^\circ$ (gg)				
Номера конформаций	$\varphi, \psi$ , град	$U$ , ккал/моль	водородные связи		1	60, 120	-1,1		
			Fuc	Gal	2	60, -120	-2,1		
1	20, 20	-4,1	O2...O3		3	-20, 160	-0,4		
2	-20, -20	-3,7	O2...O3						

родные связи и торсионный вклад. Для функций невалентных взаимодействий использована параметризация, приведенная в работе [8].

Конформационные состояния трисахарида Fuc $\alpha$ 1-2Gal $\beta$ 1-3GalNAc определяются четырьмя углами вращения вокруг гликозидных связей:  $\varphi(C1-O)$ ,  $\psi(O-C2)$  в звене Fuc-Gal и  $\varphi(C1-O)$ ,  $\psi(O-C3)$  в звене Gal-GalNAc. Для гексасахаридов необходимо также учесть угол вращения  $\omega$  вокруг связи C5-C6 остатка GalNAc в звене GlcNAc $\beta$ 1-6GalNAc. Таким образом, его конформации определяются 11 углами вращения. Углы равны нулю при *цис*-ориентации соответствующих связей (см. [3]). Для структур моносахаридных остатков  $\alpha$ -Fuc,  $\beta$ -Gal,  $\alpha$ -GalNAc,  $\beta$ -GlcNAc использованы данные рентгеноструктурного анализа [9-10].

На первом этапе расчета рассматривались ближние взаимодействия в пределах дисахаридных звеньев и средние взаимодействия в пределах трисахаридных звеньев (см. [6]). Найденные значения допустимых углов вращения принимались в качестве нулевых приближений для варьируемых параметров при минимизации потенциальной энергии молекул.

*Gal $\beta$ 1-3GalNAc.* Этот дисахарид является общим структурным элементом всех олигосахаридных цепей ГВК. В самой предпочтительной конформации 1 (табл. 1) имеет место образование внутримолекулярной водородной связи Gal(O5...O4)-GalNAc. Две другие конформации (2 и 3, табл. 1) изоэнергетичны. Однако если в первой из них связь O-C3 N-ацетилгалактозамина находится в *гош*-ориентации относительно связи C1-O5 остатка галактозы, что является оптимальным расположением по критерию *экзо*-аномерного эффекта [11], то во второй — приблизительно в *транс*-ориентации.

*Gal $\beta$ 1-4GlcNAc.* Одно или последовательность из нескольких таких

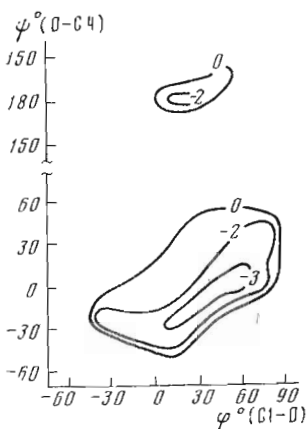


Рис. 1

Рис. 1. Конформационная карта  $\varphi$ - $\psi$  дисахарида Gal $\beta$ 1-4GlcNAc

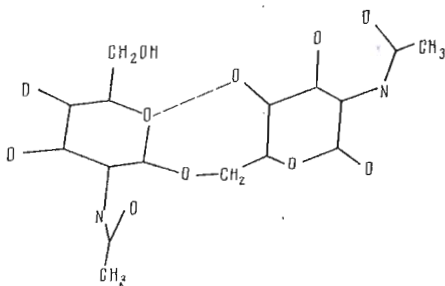


Рис. 2

Рис. 2. Модель оптимальной конформации (1,  $\omega$  60°) дисахарида GlcNAc $\beta$ 1-6GalNAc. Пунктиром показана водородная связь O5...O4

дисахаридных звеньев в углеводных цепях разделяют кор и иммунодетерминантные остатки.

В самой низкоэнергетической конформации этого дисахарида возможно образование водородной связи Gal(O5...O3)GlcNAc. В отличие от дисахарида Gal $\beta$ 1-3GalNAc связь C2-O2 галактозы и ацетамидная группировка направлены в противоположные стороны относительно остова молекулы. Углы вращения  $\varphi$ (C1-O) и  $\psi$ (O-C3) в данной конформации (40, 0°) близки к значениям углов вращения, предложенным для этого дисахарида (50, 10°) в работе [11], где авторы заведомо предполагают *гош*-ориентацию агликона относительно связи C1-O5 невосстанавливающего остатка. Сходство обоих результатов позволяет усомниться в главенствующей роли *экзо*-аномерного эффекта в установлении оптимальных конформаций олигосахаридов.

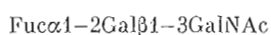
На потенциальном сечении рассматриваемого дисахарида имеется минимум, в котором значение угла  $\psi$  близко к 180° (рис. 1). Этот минимум является узким и высокоэнергетичным по сравнению с низкоэнергетической областью, расположенной вблизи  $\psi \sim 0^\circ$ , поэтому в данном дисахариде вклад конформера 3 (табл. 1) в конформационное равновесие невелик и составляет не более 10%.

*Fuc* $\alpha$ 1-2Gal. Этот дисахарид является иммунодетерминантным в ГВК со специфичностью H. Два его оптимальных конформера близки по углам вращения  $\varphi$ ,  $\psi$  и характеризуются наличием внутримолекулярной водородной связи Fuc(O2...O3)Gal (табл. 1). Лемье и сотр., предложившие для данного дисахарида значения  $\varphi$  50° и  $\psi$  20° [11], не учитывают возможность образования внутримолекулярных водородных связей, что в случае олигосахаридов является весьма грубым приближением. Вышеуказанная водородная связь между остатками фукозы и галактозы возможна в конформации, в которой значение угла  $\varphi$  ( $\sim 0^\circ$ ) не является оптимальным по критерию *экзо*-аномерного эффекта.

GlcNAc $\beta$ 1-6GalNAc. Информация о возможных пространственных формах этого дисахарида получена из конформационных карт  $\varphi$  (C1-O) —  $\psi$  (O-C6), построенных при трех значениях угла  $\omega$  (C5-C6), соответствующих минимумам торсионного потенциала: 60 (tg), 180 (gg) и -60° (gt) (см. [7]). Отметим, что на трех сечениях потенциальной поверхности дисахарида положения локальных минимумов примерно одинаковы. В большинстве случаев угол  $\varphi$  равен 60° (табл. 1), что соответствует *гош*-ориентации связи O-C6 мостика относительно связи C1-O5 N-ацетилглюкозамина. По невалентным взаимодействиям такие конформеры предпочтительны для звена с типом связывания  $\beta$ 1 $\rightarrow$ 6. Угол  $\psi$  в данном случае явля-

**Энергии взаимодействия (ккал/моль) концевых остатков  
трисахаридных звеньев**

Для дисахаридных звеньев указаны номера конформеров табл. 1



Конформеры дисахариды Gal-GalNAc	Конформеры дисахариды Fuc-Gal		Конформеры дисахариды Gal-GlcNAc	Конформеры дисахариды Fuc-Gal	
	1	2		1	2
1	-2,8	-3,3	1	-2,0	-2,3
2	-5,0	-3,9	2	$\infty$	$\infty$
3	$\infty$	$\infty$	3	-2,1	-3,0



Конформеры дисахариды Gal-GalNAc	Конформеры дисахариды Gal-GalNAc									
	$\omega -60^\circ (gt)$				$\omega 60^\circ (tg)$			$\omega 180^\circ (gg)$		
	1	2	3	4	1	2	3	1	2	3
1	-0,1	-0,1	-0,1	-0,2	-0,9	-2,7	-	0,0	-1,8	-0,6
2	-0,2	-0,1	0,0	0,0	-0,3	-2,3	-0,5	-0,1	-0,6	-0,6

ется конформационно-лабильным параметром. Так, в случае *gt*-конформеров диапазон допустимых значений угла  $\psi$  составляет  $\sim 180^\circ$  (табл. 1).

В семействе *gt*-конформеров нельзя выделить вариант, в котором имеются характерные ближние взаимодействия между остатками. Напротив, в ряду *tg*-конформеров они есть. Так, в конформере 1 (табл. 1) возможно образование внутримолекулярной водородной связи GlcNAc(O5...O4)GalNAc (рис. 2), а в конформере 2 ацетамидная группа N-ацетилглюкозамина располагается параллельно кольцу N-ацетилгалактозамина на расстоянии ван-дер-ваальсовых контактов. Стабилизирующий эффект дисперсионных взаимодействий оказывается адекватным эффекту образования внутримолекулярной водородной связи в варианте 1 (табл. 1). В конформации 3, неудовлетворительной как по невалентным взаимодействиям, так и по критерию *экзо*-аномерного эффекта, такие дополнительные взаимодействия отсутствуют. В целом конформации *tg* следует признать наиболее вероятными пространственными формами данного дисахариды.

*gg*-Конформеры, которые по невалентным взаимодействиям более высокоэнергетичны, чем *tg*-конформеры, но тем не менее не запрещены, не обнаружены в рентгеноструктурных исследованиях дисахаридов и олигосахаридов с типом связывания 1 $\rightarrow$ 6, в которых на восстанавливающем конце находится остаток галактозы [12]. Действительно, в *gg*-конформерах по сравнению с ранее рассмотренными конформациями (*gt* и *tg*) оказываются максимально сближенными атом O4 N-ацетилгалактозамина и гликозидный атом кислорода, что обуславливает электростатическую дестабилизацию таких форм.

*Трисахаридные звенья.* В данном разделе рассмотрены взаимодействия между концевыми остатками в трисахаридных звеньях и проанализирована их роль в дифференциации конформационных состояний олигосахаридов.

*Fuc* $\alpha$ 1-2*Gal* $\beta$ 1-3*GalNAc*. Энергии взаимодействия концевых остатков фукозы и N-ацетилгалактозамина при всевозможных конформациях дисахаридных звеньев трисахариды даны в табл. 2. При конформации 3 звена Gal $\beta$ 1-3GalNAc остатки фукозы и N-ацетилгалактозамина оказываются на недопустимо близких расстояниях, что делает этот конформер нерезальным в трисахариде. Таким образом, невалентные взаимодействия допускают только *гош*-ориентацию агликона вокруг связи C1-O остатка галактозы (состояния 1 и 2, табл. 1). Так как конформационные парамет-

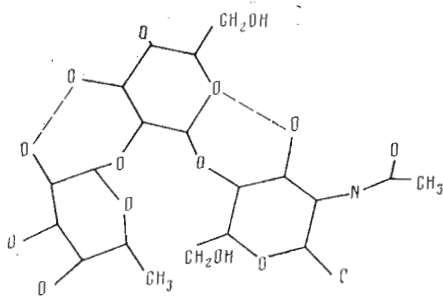


Рис. 3

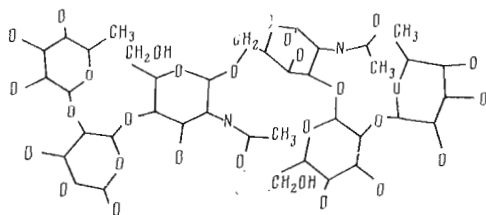
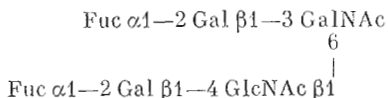


Рис. 4

Рис. 3. Модель оптимальной конформации (11) трисахарида  $Fuc\alpha 1-2Gal\beta 1-4GlcNAc$ . Пунктиром показана водородная связь

Рис. 4. Молекулярная модель низкоэнергетической конформации



ры двух форм (1 и 2, табл. 1) дисахарида  $Fuc\alpha 1-2Gal$  близки, то для рассматриваемого трисахарида мы можем выделить только две возможные конформации — 11 и 21\*, которые изоэнергетичны. Это обусловлено тем, что конформер 11 стабилизирован внутримолекулярной водородной связью в звене Gal-GalNAc, а конформер 21 — сильными дисперсионными взаимодействиями концевых остатков трисахарида (−5 ккал/моль, табл. 2). В конформации 11 можно выделить внешнюю сферу, образованную гидроксильными группами трех остатков, и внутреннее ядро, где существенны ван-дер-ваальсовы контакты неполярных групп — атомов водорода, метильных групп фукозы и ацетамидной группировки N-ацетилгалактозамина. В этой конформации все три остатка находятся приблизительно в одной плоскости.

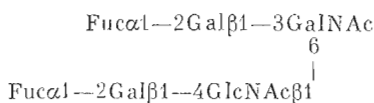
В конформации 21, которая пространственно подобна конформации 11, ацетамидная группа α-Gal располагается под гидрофобной частью кольца фукозы, при этом атом H5 фукозы оказывается сближен с атомом кислорода ацетамида. Не исключено, что такое положение протона H5 и является причиной смещения химического сдвига атома H5 фукозы в более слабое поле по сравнению со свободным α-метил-фукозидом, как отмечалось в работе [11].

$Fuc\alpha 1-2Gal\beta 1-4GlcNAc$ . Из расчета трисахарида следует, что конформационная свобода составляющих его дисахаридных звеньев уменьшилась по сравнению со свободным состоянием. Так, для звена Gal-GlcNAc недопустимым становится конформер 2 с транс-ориентацией агликона относительно связи C1—O5 галактозы (табл. 2). Таким образом, это звено в олигосахаридах находится в состоянии 1, которое характеризуется наличием внутримолекулярной водородной связи Gal(O5...O4)GlcNAc. В преимущественной конформации трисахарида 11 (рис. 3) можно выделить внешнюю полярную область и внутреннее ядро, образованное контактирующими неполярными группами. В этой конформации наблюдается сближенность заместителей при атомах C5 фукозы и N-ацетилглюкозамина, а все три пиранозных кольца располагаются приблизительно в одной плоскости.

$Gal\beta 1-3GalNAc(GlcNAc\beta 1-6)$ . В этом трисахаридах, включающем связь типа 1→6, дисперсионные взаимодействия концевых остатков существенны только в случае реализации для звена GlcNAc-GalNAc tg-конформеров. Так, если это звено находится в конформации 2, ω 60° (табл. 1), то независимо от конформации звена Gal-GalNAc сближенными оказываются ацетамидная группировка N-ацетилглюкозамина и кольцо концевой остатка галактозы. Благодаря дополнительным взаимодействиям в трисахаридах

\* Первая цифра соответствует номеру конформера звена Gal-GalNAc, вторая — номеру конформера звена Fuc-Gal (см. табл. 1).

## Энергии оптимальных конформаций гексасахаридов



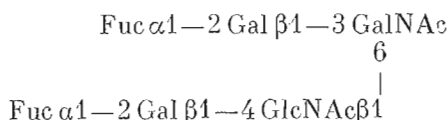
Номера конформеров звена со связью 1→6	GlcNAc-GalNAc *							U, ккал/моль
	Конформация 1			U, ккал/моль	Конформация 2			
	φ	ψ	ω		φ	ψ	ω	
1	60	100	-60	-24,1	60	100	-60	-24,3
2	60	180	-60	-23,5	60	180	-60	-23,5
3	20	-100	-60	-23,8	20	-100	-60	-23,9
4	-20	-140	-60	-23,0	-20	-140	-60	-21,5
1	40	160	60	-27,4	60	140	60	-27,7
2	0	-100	60	-28,4	40	-80	60	-27,8
3		-			0	-120	60	-24,4
1	60	120	180	-23,4	60	120	180	-23,7
2	40	-140	180	-24,1	-60	-120	180	-24,3
3	-20	160	180	-22,6	-20	-160	180	-21,0

\* Звенья Fuc-Gal и Gal-GlcNAc представлены конформерами 1 (табл. 1).

энергия, стабилизирующая конформации 12 ( $\omega 60^\circ$ ) и 22 ( $\omega 60^\circ$ ) (второй цифровой идентификатор относится к дисахариду GalNAc $\beta 1-6$ GalNAc) составляет  $-2,5$  ккал/моль (табл. 2). В случае реализации в дисахариде GlcNAc $\beta 1-6$ GalNAc *gt*-конформеров концевые остатки в олигосахариде удалены друг от друга и не взаимодействуют между собой. Это характерно и для вариантов *gg*-семейства (за исключением конформации 12,  $\omega 180^\circ$ ).

В целом можно отметить, что рассматриваемый трисахарид принимает компактную структуру при реализации в звене GlcNAc-GalNAc *tg*-конформеров, самых низкоэнергетичных по критерию близких взаимодействий.

В другом трисахаридном звене рассматриваемого гексасахаридов, имеющем связь 1→6, Gal $\beta 1-4$ GlcNAc $\beta 1-6$ GalNAc, заметные дисперсионные взаимодействия концевых остатков отсутствуют.



Минимизация потенциальной энергии для различных конформеров данной олигосахаридной цепи проведена с учетом двух состояний трисахаридов Fuc $\alpha 1-2$ Gal $\beta 1-3$ GalNAc (11, 21), двух состояний трисахаридов Fuc $\alpha 1-2$ Gal $\beta 1-4$ GlcNAc (11, 31) и 10 состояний дисахаридов GlcNAc $\beta 1-6$ GalNAc (табл. 1). Энергии оптимальных конформаций гексасахаридов, а также углы вращения в гибком фрагменте со связью 1→6 (для остальных звеньев углы вращения близки к углам, приведенным в табл. 1) даны в табл. 3.

Анализ допустимых структур семейств *tg*, *gg* и *gt* показал, что какие-либо дополнительные взаимодействия по сравнению с рассмотренными ранее взаимодействиями в ди- и трисахаридных звеньях в гексасахариде отсутствуют. Поэтому разница в энергии его конформеров в основном определяется данными, приведенными в табл. 1 и 2. Условно пространственное строение олигосахаридов можно представить в виде двух вращающихся друг относительно друга по связи 1→6 плоскостей, в которых находятся конформационно-жесткие трисахаридные фрагменты Fuc-Gal-GalNAc и Fuc-Gal-GlcNAc.

В случае *gt*-конформеров олигосахаридов все остатки располагаются приблизительно в одной плоскости. При этом трисахариды Fuc-Gal-GalNAc

и Fuc-Gal-GlcNAc максимально удалены друг от друга и в центральном звене Gal-GlcNAc-GalNAc взаимодействия концевых остатков отсутствуют. В целом *gt*-конформеры относятся к высокоэнергетическим формам гексасахарида (табл. 3). В структурах такого типа можно выделить более гидрофобные и более гидрофильные части.

Конформации семейства *gg* также имеют вытянутую форму, однако для них характерно перпендикулярное расположение плоскостей двух конформационно-жестких трисахаридов в пространстве. Так как такие структуры не обладают какими-либо энергетическими преимуществами, а значение угла  $\omega$   $180^\circ$  наименее вероятно для звена GlcNAc $\beta$ 1—6GalNAc (см. предыдущий раздел), следует признать, что *gg*-конформеры также мало вероятны для рассматриваемого гексасахарида.

В случае *tg*-конформеров все шесть углеводных остатков могут располагаться приблизительно в одной плоскости при условии, что звено со связью 1→6 находится в предпочтительных состояниях 1 или 2 (табл. 1). В этих конформерах для углеводных цепей вполне допустима плотная межмолекулярная упаковка.

При реализации в дисахариде GlcNAc $\beta$ 1—6GalNAc конформации 2 ( $\omega$   $60^\circ$ ), табл. 1, в *tg*-конформерах становятся существенными дисперсионные взаимодействия между концевыми остатками во всех трисахаридных звеньях, представленных в данном гексасахариде. Поэтому в этом случае в отличие от других конформеров остатки N-ацетилглюкозамина и галактозы, сближенные до расстояний ван-дер-ваальсовых контактов, располагаются в пространстве, разделяющем два жестких трисахаридных фрагмента цепи. Таким образом, *tg*-конформации представляют собой наиболее компактные структуры гексасахарида (табл. 3). Такие конформации, оптимальные как по ближним и средним взаимодействиям, так и по критериям межмолекулярной упаковки, являются наиболее вероятными пространственными формами олигосахаридов из серии II углеводных цепей ГВК.

Молекулярная модель характерной *tg*-конформации с углами вращения  $\phi$   $40^\circ$ ,  $\psi$   $-80^\circ$  и  $\omega$   $60^\circ$  в звене GlcNAc-GalNAc и  $\phi$   $60^\circ$ ,  $\psi$   $20^\circ$  в звене Gal-GalNAc (конформеры 2, табл. 1) дана на рис. 4. Структура компактна и имеет плоскую форму. Вместе с тем иммунодетерминантные остатки фукозы, определяющие специфичность H углеводных цепей ГВК, выделенных из слизистой желудка свиньи [4], являются самыми доступными для межмолекулярных взаимодействий. Это в первую очередь относится к гидроксильным группам данных остатков (рис. 4).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Watkins W. M.* Glycoproteins, VBA Library, 1972, v. 5, part B, p. 830—891.
2. *Шерман Ф. Б., Хургин Ю. И.* В кн.: Конформационные изменения биополимеров в растворах. Тбилиси: Мецниереба, 1980, с. 146.
3. *Липкинд Г. М., Аванов А. Я., Кочетков Н. К.* Биоорганич. химия, 1982, т. 8, № 4, с. 512—523.
4. *Derevitskaya V. A., Arbatsky N. P., Kochetkov N. K.* Eur. J. Biochem., 1978, v. 86, № 2, p. 423—437.
5. *Derevitskaya V. A.* Pure Appl. Chem., 1981, v. 53, № 1, p. 89—106.
6. *Липкинд Г. М., Кочетков Н. К.* Биоорганич. химия, 1980, т. 6, № 12, с. 1817—1829.
7. *Липкинд Г. М., Веровский В. Е., Кочетков Н. К.* Биоорганич. химия, 1982, т. 8, № 7, с. 954—962.
8. *Scott R. A., Scheraga H. A.* J. Chem. Phys., 1966, v. 44, № 8, p. 3054—3068.
9. *Longchambon F., Ohannessian J., Avenel D., Neuman A.* Acta cryst., 1975, v. 1331, № 11, p. 2623—2627.
10. *Gilardi R. D., Flippen G. L.* Acta cryst., 1974, v. 1330, № 12, p. 2931—2933.
11. *Lemieux R. M., Bock K., Delbaere L. T. J., Koto S., Rao V. S.* Can. J. Chem., 1980, v. 58, № 6, p. 631—653.
12. *Tvaroska I., Perez S. S., Marchessault R. H.* Carbohydr. Res., 1978, v. 61, p. 97—106.

Поступила в редакцию  
11.I.1982

