



УДК 577.114.012.7

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ И ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ О-АНТИГЕННОГО ПОЛИСАХАРИДА *PSEUDOMONAS CERACIA* ШТАММА 3181

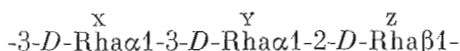
II. ПОЛИСАХАРИД

*Липкинд Г. М., Шаиков А. С., Книрель Ю. А.,
Кочетков Н. Б.*

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

Обсуждается пространственное строение полисахарида *Pseudomonas ceracia* штамма 3181 в водном растворе на основе данных по ядерным эффектам Оверхаузера, полученным при предоблучении аномерных протонов каждого из трех остатков *D*-рамнозы повторяющегося звена, и теоретического конформационного анализа. Показано, что конформационные состояния свободных дисахаридов и соответствующих дисахаридных звеньев полисахарида близки. Найдено, что множество конформаций полисахарида можно описать одним типом пространственной структуры (шейпом), который имеет развернутую форму с характерными изгибами в звеньях *D*-Rha α 1-2-*D*-Rha β 1-3-*D*-Rha.

В предыдущем сообщении (часть I [1]) нами проведен конформационный анализ дисахаридов, моделирующих дисахаридные звенья полисахарида *Pseudomonas ceracia* штамма 3181. В настоящей работе мы представляем экспериментальные данные по ядерным эффектам Оверхаузера (ЯЭО), полученным при предоблучении аномерных протонов полисахарида для каждого из трех остатков X, Y, Z *D*-рамнозы повторяющегося трисахаридного звена [2, 3]:



и результаты теоретического конформационного анализа этого полисахарида.

Ядерные эффекты Оверхаузера. Полученные ранее результаты конформационного анализа, включая расчетные средние значения ЯЭО для дисахаридов (часть I [1]), могут быть основой для обсуждения ЯЭО, наблюдаемых в полисахариде *P. ceracia*. Это следует из рассмотрения пространственной структуры полисахарида (см. следующий раздел этой статьи), поскольку конформационные состояния его дисахаридных звеньев определяются главным образом близкими взаимодействиями.

Спектр ¹H-ЯМР полисахарида *P. ceracia* и разностные спектры до и после предоблучения аномерных протонов (спектры ЯЭО) остатков X, Y и Z *D*-рамнозы повторяющегося звена приведены на рис. 1. Сами величины ЯЭО даны в табл. 1. Прежде всего обращают на себя внимание большие по модулю величины ЯЭО (до 27%) и их отрицательный знак. Отметим, что теория предсказывает обращение знаков ЯЭО и увеличение их предельных абсолютных величин при увеличении времен корреляции τ_c рассматриваемых объектов (см. [4]), что характерно для всех полимеров, имеющих в растворах время корреляции порядка 10⁻⁹ с. Во всяком случае, большие отрицательные ЯЭО уже наблюдались для водных растворов полисахаридов [5].

Общее увеличение эффектов в полисахаридах позволяет обнаружить ЯЭО для протонов, довольно удаленных в пространстве от предоблучаемо-

Сокращения: ЯЭО — ядерный эффект Оверхаузера, КСВВ — константы спин-спинового взаимодействия.

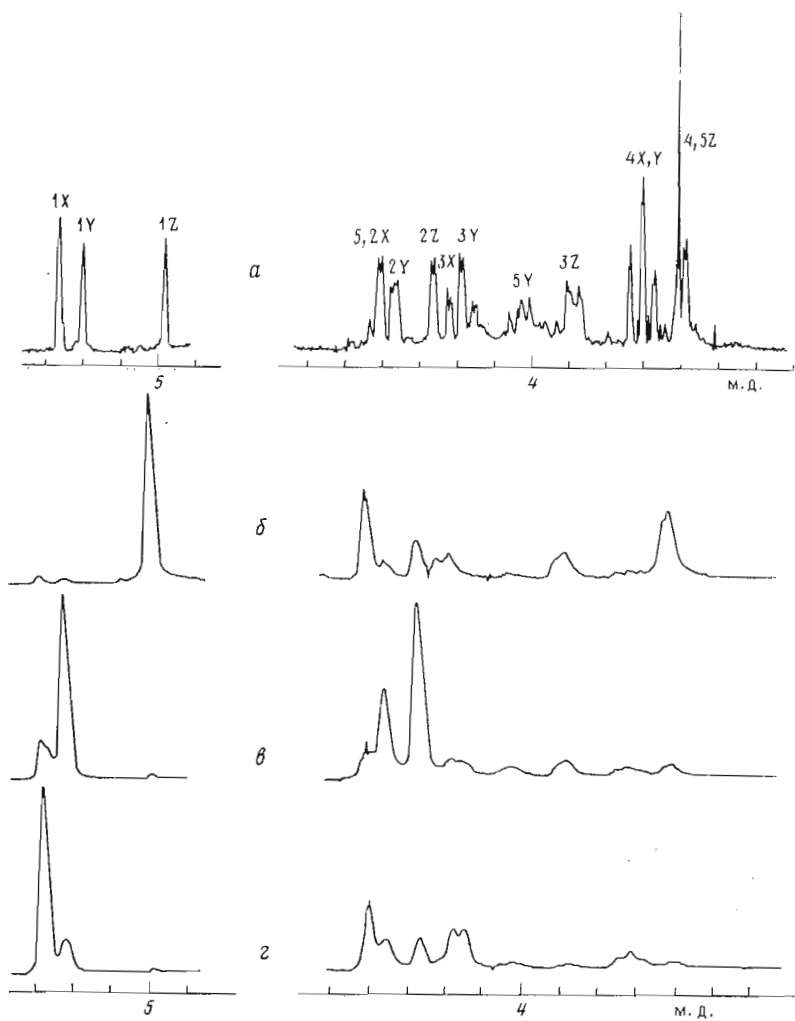


Рис. 1. Спектр ^1H -ЯМР и спектры ЯЭО полисахарида *P. seracia*: а — ^1H -ЯМР-спектр (слабозольная область); ЯЭО при предоблучении протона Н1 остатков Z (б), Y (в), X (г)

го, например, для Н3 и Н5 в α -аномерах *D*-рамнозы при предоблучении Н1 того же остатка (табл. 1). В моно- и дисахаридах подобные эффекты не наблюдаются из-за их малой абсолютной величины. Так, для метил- α -*D*-маннозида [6] или для дисахарида *L*-Rha α 1-3-*L*-Rha α 1-ОМе (табл. 3 в [1]) ЯЭО на протонах Н3 и Н5 при предоблучении Н1 того же остатка равны нулю, тогда как для остатков α -*D*-рамнозы (X и Y) в полисахариде *P. seracia* $\sim -4\%$ (табл. 1). Подчеркнем, что появление указанных ЯЭО в полисахариде в пределах отдельных остатков обусловлено только увеличением «чувствительности» метода (ростом абсолютных значений ЯЭО) и не сопряжено с какими-либо конформационными эффектами.

Наличие сильного спин-спинового взаимодействия в системе также может приводить к наблюдаемым ЯЭО, которые теоретически [4] должны быть равны нулю. Такой пример приведен в работе [6], где наблюдался ЯЭО на протоне Н4 метил- β -*D*-маннопиранозида при насыщении протона Н1. Несмотря на применение нами методики ТОЕ, частично исключающей влияние спиновой диффузии на ЯЭО [7], это влияние при общем увеличении эффектов Оверхаузера и малых временах релаксации в полимерах остается заметным и измеримым. Так, ЯЭО $-4,5\%$, наблюдаемый для протона Н4 остатка X при предоблучении протона Н1 остатка Z (табл. 1, звено *D*-Rha β 1-3-*D*-Rha), как показывает теоретический расчет

ЯЭО, наблюдаемые при предоблучении аномерных протонов H1
моносахаридных остатков полисахарида

X Y Z
P. seracia -3-D-Rha α 1-2-D-Rha α 1-2-D-Rha β 1-

D-Rha α 1-3-D-Rha			D-Rha α 1-2-D-Rha			D-Rha β 1-3-D-Rha		
Предоблучение H1 остатка X			Предоблучение H1 остатка Y			Предоблучение H1 остатка Z		
Остатки	Наблюдаемые протоны	ЯЭО, %	Остатки	Наблюдаемые протоны	ЯЭО, %	Остатки	Наблюдаемые протоны	ЯЭО, %
Y	H2	-3	Z	H1	-3	X	H2	-16
	H3	-16		H2	-27		H3	-9,5
	H4	-6		H3	-5		H4	-4,5
X	H2	-12	Y	H2	-21	Z	H2	-7,5
	H5	-3		H3	-4		H3	-9
				H5	-4,5		H5	-18

для дисахарида D-Rha β 1-3-D-Rha α 1-OMe (табл. 2 в [1]), невозможно объяснить сближением указанных протонов в допустимых конформациях, поскольку расстояния между ними превышают 4 Å. Если же учесть существенное спин-спиновое взаимодействие между атомами водорода H4 и H3 остатка X и значительный ЯЭО на последнем (табл. 1), предположение о вкладе спиновой диффузии в ЯЭО на протоне H4 позволяет объяснить относительно большой по модулю ЯЭО для протона H4 (по сравнению с наблюдаемым в дисахариде, табл. 1 в [1]).

Ввиду указанных выше особенностей спектров ЯЭО полимеров при сравнении экспериментальных данных для малых олигосахаридов и полисахаридов целесообразно ограничиться для последних рассмотрением только больших по абсолютной величине (>5%) эффектов. В этом случае при сопоставлении значительных ЯЭО в дисахаридах и полисахариде *P. seracia* видно, что экспериментальные и расчетные величины ЯЭО в обоих случаях оказываются адекватными.

В разностном спектре ¹H-ЯМР полисахарида (рис. 1) зафиксирован ЯЭО -27% на агликоновом протоне H2 остатка Z и на протоне H2 остатка Y (-21%, табл. 1) при предоблучении протона H1 остатка Y. Расчетные величины для дисахарида D-Rha α 1-2-D-Rha β 1-OMe по абсолютной величине приблизительно такие же (табл. 5 в [1]), притом в соответствии с опытными данными теоретическая величина ЯЭО на протоне H2 остатка Y меньше, чем для протона H2 остатка Z, что указывает на корректность проведенного расчета ЯЭО. Поэтому естественно считать, что конформационные состояния свободного дисахарида D-Rha α 1-2-D-Rha β 1-OMe и соответствующего звена полисахарида *P. seracia* близки.

При обсуждении звена D-Rha α 1-3-D-Rha (X—Y) прежде всего отметим, что, как и в случае свободного дисахарида L-Rha α 1-3-L-Rha α 1-OMe (табл. 3 в [1]), в полисахариде при предоблучении протона H1 остатка X самый значительный ЯЭО наблюдается на протоне H3 остатка Y (табл. 1), что указывает в целом на близость конформационных состояний этого звена в свободном дисахариде и полисахариде. Что касается относительного увеличения ЯЭО на протоне H4 остатка Y в полисахариде (-6% по данным табл. 1 и 1% по данным табл. 3 работы [1]), то оно может быть обусловлено как небольшим увеличением статистического веса конформера A этого звена, для которого соотношение f_{H4}^{H4}/f_{H3}^{H3} в соответствующем дисахариде составляет 1 : 3 (табл. 4 работы [1]), так и влиянием спиновой диффузии между атомами H3 и H4 в остатке Y.

Основная закономерность, обнаруженная в дисахариде L-Rha β 1-3-L-Rha α 1-OMe, — близость значительных ЯЭО на протонах H3 и H2 (табл. 1 в [1]) при предоблучении аномерного протона гликозидной связи, наблюдается и в соответствующем звене (Z—X) полисахарида *P. seracia*; величины ЯЭО на протонах H2 и H3 остатка X при предоблучении прото-

Химические сдвиги (м. д.) в спектре ^{13}C -ЯМР полисахарида
P. seracia -3-*D*-Rha α 1-3-*D*-Rha α 1-2-*D*-Rha β 1-

Остатки	C1	C2	C3	C4	C5	C6
X	103,2(103,3)	68,7/68,4/	78,5/78,4/	71,7/71,6/	70,3	18,0
Y	102,6	71,3(70,8)	79,0(79,0)	72,7(72,4)	70,2	17,9
Z	98,1/98,3/	78,8	74,5	73,5	73,8	17,9

Примечание. В круглых и косых скобках — химические сдвиги соответствующих атомов углерода вблизи гликозидных связей в дисахаридах *L*-Rha α 1-3-*L*-Rha α 1-OME и *L*-Rha β 1-3-*L*-Rha α 1-OME соответственно [1].

на H1 остатка Z равны -16 и $-9,5\%$ соответственно (табл. 1). Вместе с тем если в дисахаридах ЯЭО больше на протоне H3, чем на протоне H2 (табл. 1 в [1]), то в полисахаридах наблюдается обратная картина. Такое перераспределение ЯЭО на указанных протонах можно было бы связать с изменением конформационного состояния звена *D*-Rha β 1-3-*D*-Rha при включении его в полисахаридную цепь, а именно с увеличением статистического веса конформера A, для которого $f_{\text{H1}}^{\text{H3}} \gg f_{\text{H1}}^{\text{H2}}$ (табл. 2 в [1]). Однако расчет трисахаридных звеньев *D*-Rha α 1-2-*D*-Rha β 1-3-*D*-Rha (см. следующий раздел) показывает, что распределение по конформациям в звеньях *D*-Rha β 1-3-*D*-Rha полисахарида должно оставаться таким же, как в свободном дисахаридах, т. е. уменьшение ЯЭО на протоне H3 не может быть сопряжено с конформационными эффектами.

С другой стороны, выше было отмечено, что наличие ЯЭО на протоне H4 остатка X в полисахаридах (табл. 1) скорее всего обусловлено спин-спиновым взаимодействием протонов H3 и H4. Спин-спиновая диффузия, очевидно, может быть причиной уменьшения эффектов Оверхаузера, в частности на атоме H3 остатка X. В самом деле, сумма ЯЭО на протонах H3 и H4 остатка X почти равна ЯЭО на протоне H2 (табл. 1). Как было показано при рассмотрении модельного дисахарида [1], наблюдение близких ЯЭО на протонах H2 и H3 агликона при предоблучении протона H1 β -связанного остатка равнозначно отражает наличие конформационного равновесия в звене *D*-Rha β 1-3-*D*-Rha.

Таким образом, данные по ЯЭО в полисахаридах *P. seracia* указывают на близость конформационных состояний его дисахаридных звеньев и соответствующих свободных дисахаридов.

Это утверждение подкрепляется сопоставлением данных по химическим сдвигам ядер ^{13}C для соответствующих атомов углерода вблизи гликозидных связей в полисахаридах (табл. 2) и модельных олигосахаридах (табл. 6 в [1] и табл. 2). Экспериментально установлено, что изменение конформационных свойств гликозидных связей всегда сопровождается существенным (до 6 м. д.) изменением химических сдвигов атомов углерода вблизи гликозидных связей [8, 9]. В работе [10] рассмотрена природа этого явления. В нашем случае химические сдвиги таких атомов углерода в свободных дисахаридах и соответствующих дисахаридных фрагментах полисахарида практически совпадают (табл. 2). Например, химические сдвиги атомов C1 невосстанавливающих остатков равнозначны в дисахаридах *L*-Rha α 1-3-*L*-Rha α 1-OME, *L*-Rha α 1-2-*L*-Rha и *L*-Rha β 1-3-*L*-Rha α 1-OME равны 103,3; 102,8 и 98,3 м. д. соответственно (см. [1, 11]), тогда как для остатков X, Y и Z в полисахаридах — 103,2; 102,6 и 98,1 м. д. (табл. 2). Далее, для гликозидированных остатков 1-3-связанных дисахаридов химические сдвиги атомов C2, C3 и C4 практически равны сдвигам этих атомов в соответствующих остатках полисахарида *P. seracia*. Так, в *L*-Rha β 1-3-*L*-Rha α 1-OME положения сигналов атомов C2, C3 и C4 отмечены при 68,4; 78,4 и 71,6 м. д. (табл. 6 в [1]), а для остатка X полисахарида — 68,7; 78,5 и 71,7 м. д. (табл. 2) соответственно.

Конформационный анализ. Конформационные состояния дисахаридных звеньев полисахарида *P. seracia* описаны в работе [1]. Прежде чем

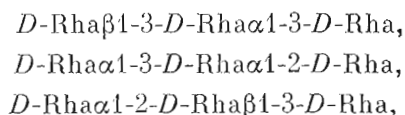
Общие энергии * (ккал/моль), а также энергии взаимодействия между концевыми остатками (в скобках) в оптимальных конформациях трисахарида $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-}D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-}D\text{-Rha}$

Конформеры звена $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-}D\text{-Rha}$ (табл. 5 [1])	Конформеры звена $D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-}D\text{-Rha}$ (табл. 2 [1])			
	A	B	C	D **
A	-8,2 (-2,9)	-7,5 (-2,9)	-7,2 (-3,0)	-
B	-8,0 (-3,0)	-7,2 (-3,0)	-7,0 (-2,9)	-
C	-5,6 (-1,3)	-4,8 (-1,2)	-4,6 (-1,1)	-

* Оценены по функциям Скотта и Шераги [12].

** D — конформация, запрещенная по невалентным взаимодействиям в трисахариде.

приступить к рассмотрению пространственной структуры всего полисахарида, целесообразно провести конформационный анализ его трисахаридных звеньев:



поскольку в цепи, включающей 1-2- и 1-3-связанные звенья, у каждого остатка возможно пространственное сближение соседних остатков справа и слева от него. При минимизации потенциальной энергии трисахаридов в качестве нулевых приближений для углов вращения ϕ и ψ были взяты углы оптимальных конформеров A, B, C (а также D) модельных дисахаридов из табл. 2, 4 и 5 работы [1]. Во всех 12 конформерах звена $D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-}D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}3\text{-}D\text{-Rha}$ и 9 конформерах звена $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}3\text{-}D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-}D\text{-Rha}$ заметные невалентные взаимодействия между концевыми остатками (ниже $-0,5 \div -1$ ккал/моль) отсутствуют, т. е. конформационная свобода дисахаридных звеньев в указанных трисахаридах такая же, как в свободных дисахаридах.

Напротив, в трисахариде $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-}D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-}D\text{-Rha}$ концевые остатки оказываются пространственно сближенными до расстояний вандерваальсова касания атомов и существенно взаимодействуют между собой (табл. 3). Более того, если звено $D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-}D\text{-Rha}$ принимает конформацию D с приблизительной *транс*-ориентацией агликона по отношению к связи C1—O5 остатка $\beta\text{-}D\text{-Rha}$ (табл. 2 в [1]), то возникают невалентные отталкивания концевых остатков. Поэтому конформеры трисахарида AD, BD и CD становятся запрещенными. В других шести допустимых конформациях этого трисахарида (AA, AB, AC, BA, BB и BC) энергия притяжения концевых остатков составляет значительную и одинаковую величину: -3 ккал/моль (табл. 3). Отсюда мы видим, что дополнительные взаимодействия в трисахариде $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-}D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-}D\text{-Rha}$ практически не изменяют характер конформационного распределения в дисахаридных звеньях по сравнению с их свободными состояниями (см. табл. 2 и 5 в [1]). Здесь также следует иметь в виду, что состояние C-звена $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-}D\text{-Rha}$, маловероятное в дисахаридах (табл. 5 в [1]), также мало реально и в трисахаридах из-за значительного энергетического проигрыша его конформеров CA, CB и CC (табл. 3).

Несмотря на большие различия в углах вращения ϕ и ψ , все шесть конформеров трисахарида $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-}D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-}D\text{-Rha}$ имеют одинаковую пространственную форму (рис. 2) со сближенными остатками $\alpha\text{-}D$ -рамноз и с остатком $\beta\text{-}D$ -рамнозы в вершине. Очевидно, что такие свернутые структуры обуславливают внутренние изгибы в полисахаридной цепи

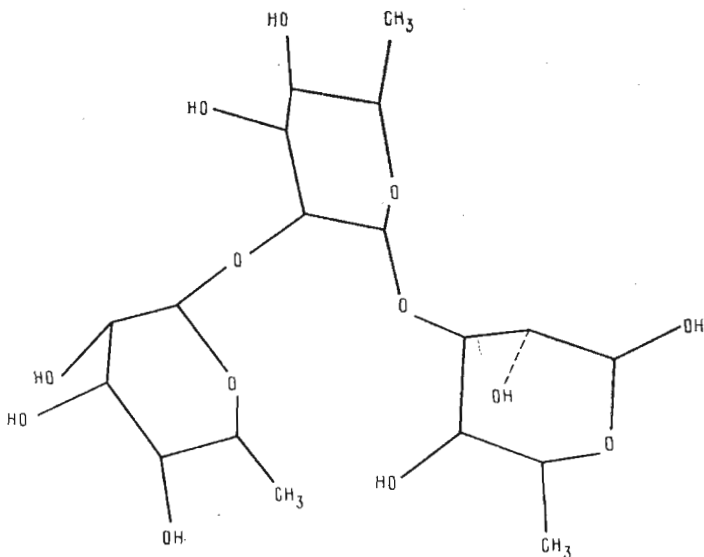


Рис. 2. Пространственная структура трисахаридных звеньев $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-D-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-D-Rha}$

P. seracia на указанных звеньях. Напротив, в конформациях трисахаридов $D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-D-Rha}\alpha 1\text{-}3\text{-D-Rha}$ и $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}3\text{-D-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-D-Rha}$

концевые остатки удалены друг от друга, т. е. эти трисахариды представляют собой развернутые структуры.

Из дополнительного конформационного анализа трисахаридных звеньев следует, что в полисахаридной цепи *P. seracia* для звеньев $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}3\text{-D-Rha}$ и $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-D-Rha}$ достаточно ограничиться конформационными состояниями *A* и *B*, а для звеньев $D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-D-Rha}$ — *A*, *B* и *C* (табл. 2, 4, 5 в [1]). Однако при таких состояниях дисахаридов, как показывает рассмотрение более длинных олигосахаридных фрагментов, в углеводной цепи реализуются невалентные взаимодействия остатков только в пределах ди- и трисахаридных звеньев, какие-либо более дальние взаимодействия остатков отсутствуют. Поэтому результаты расчета ди- и трисахаридов достаточно полно характеризуют конформационную ситуацию для аналогичных звеньев полисахарида *P. seracia*.

Для того чтобы получить наглядное представление о пространственном строении этого полисахарида, обсудим результаты оптимизации потенциальной энергии двух регулярных структур, в которых во всех дисахаридных звеньях представлены состояния *A* (табл. 2, 4, 5 в [1]) в одном случае и состояния *B* — в другом, т. е. структур *AAA* и *BBB*. При расчете регулярных конформаций переменными были шесть углов вращения φ и ψ вокруг трех гликозидных связей повторяющегося трисахаридного звена полисахарида (табл. 4). Конформация *AAA* является самой низкоэнергетической среди всевозможных конформаций полисахарида. Вместе с тем то, что энергия на одно повторяющееся трисахаридное звено в случае *AAA* ниже на ~ 1 ккал/моль, чем в случае *BBB*, обусловлено только таким же проигрышем энергии в дисахаридном звене $D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-D-Rha}$, когда оно находится в состоянии *B*, т. е. энергетические различия конформации полисахарида *P. seracia* определяются только ближними взаимодействиями в пределах дисахаридных звеньев.

Пространственная организация регулярных конформаций *AAA* и *BBB* оказалась очень похожей, несмотря на значительные различия в углах вращения φ и ψ дисахаридных звеньев, например различия по углу ψ в звеньях $D\text{-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-D-Rha}$ достигают 100° (табл. 4). Эти конформации имеют характерную пространственную форму (рис. 3), включают изгибы в трисахаридных звеньях $D\text{-Rha}\alpha 1\text{-}2\text{-D-Rha}\beta 1\text{-}3\text{-D-Rha}$, тем не

Энергии (ккал/моль) (в расчете на повторяющееся звено), углы вращения φ и ψ (град) и спиральные параметры n и h (Å) в оптимальных и среднестатистической конформациях полисахарида *P. seracia*

Конформации	Энергии	Дисахаридные звенья						n^*	h
		<i>D-Rha</i> β1-3- <i>D-Rha</i>		<i>D-Rha</i> α1-3- <i>D-Rha</i>		<i>D-Rha</i> α1-2- <i>D-Rha</i>			
		φ	ψ	φ	ψ	φ	ψ		
<i>AAA</i> **	-13,7	67	55	-59	-30	-33	-14	2,2	8,4
<i>BBB</i>	-12,5	18	-49	-42	18	-11	37	2,4	9,6
«Средняя»	-11,8	45	23	-45	8	-30	0	2,1	10,0

* Параметры n и h вычислены по алгоритму [13].

** Углы вращения φ и ψ и их средние значения взяты из табл. 2, 4 и 5 работы [1].

менее являются развернутыми. В обоих случаях углеводные остатки располагаются приблизительно в одной плоскости. Обе структуры представляют собой спирали с осью симметрии второго порядка, в которых в каждом витке имеются два повторяющихся трисахаридных звена ($n \sim 2$). Величины трансляции повторяющегося звена h вдоль оси спирали равны 8,4 и 9,6 Å соответственно (табл. 4).

Итак, на примере спиральных конформаций *AAA* и *BBB* мы видим, что в полисахаридах возможна ситуация, когда различные оптимальные конформации имеют одну и ту же пространственную форму. Такое множество конформаций мы определяем как шейп. В случае полисахарида *P. seracia* в водном растворе имеет место распределение по конформациям, которые, однако, характеризуются одним и тем же шейпом. Таким образом, в этом конформационно-лабильном полисахариде инвариантом пространственной структуры является не конформация, а шейп.

Для нахождения шейпа регулярного полисахарида, структура которого определяется близкими взаимодействиями, достаточно рассмотреть конформацию со средними значениями углов вращения $\langle\varphi\rangle$ и $\langle\psi\rangle$ на каждом дисахаридном звене. Углы $\langle\varphi\rangle$ и $\langle\psi\rangle$ рассчитываются по соответствующим конформационным картам [1]. Такая среднестатистическая структура и соответствующие ей параметры спирали определяют наиболее характерный шейп для данной полисахаридной цепи, поскольку при ее построении учтено все распределение по конформациям в дисахаридных звеньях. Молекулярная модель среднестатистической конформации полисахарида *P. seracia* показана на рис. 3. Эта конформация имеет те же особенности пространственной организации, что и оптимальные конформации *AAA* и *BBB*, и близкие с ними параметры спиралей ($n = 2$ и $h = 10$ Å, табл. 4), однако она несколько более растянута, чем конформации *AAA* или *BBB*, для которых $h < 10$ Å. В среднестатистической конформации, так же как и в *AAA* и *BBB* (как и в любой другой регулярной конформации полисахарида), остатки α -*D-Rha* располагаются вдоль спиральной оси, а остатки β -*D-Rha* на периферии, в вершинах изгибов цепи (рис. 3).

Отметим условный характер понятий «среднестатистическая структура» и «шейп», поскольку само понятие «вторичная структура» для водных растворов полисахаридов представляет собой идеализацию. Соответствующие ей углы $\langle\varphi\rangle$ и $\langle\psi\rangle$ являются усредненными во времени значениями, сами углы φ и ψ могут изменяться в широких границах, $\sim 100^\circ$ [1]. Тем не менее в случае полисахарида *P. seracia* достаточно большие олигосахаридные фрагменты вдоль его цепи будут принимать конформации, которые относятся к одному и тому же шейпу, изображенному на рис. 3.

Описанный подход существенно отличается от подхода, развиваемого в рамках расчетной модели HSEA [14]. (См. также [5], в которой конформационная гибкость дисахаридных звеньев искусственно занижается введением в расчет неоправданно больших (для водной среды) величин экзо-аномерного эффекта ($\sim 3-5$ ккал/моль) и структура звеньев описывается одной парой углов вращения φ и ψ .)

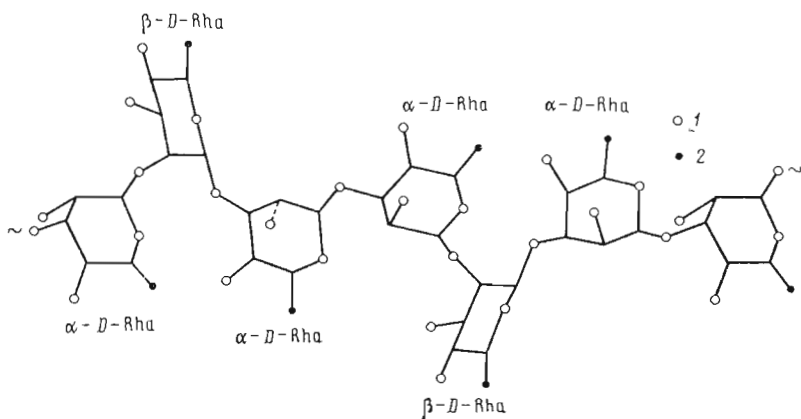


Рис. 3. Молекулярная модель «среднестатистической» конформации (шейпа) полисахарида *P. seracia* (углы вращения φ и ψ даны в табл. 4). 1 — атомы кислорода, 2 — группы CH_3

Таким образом, на основе конформационного анализа полисахарида *P. seracia* найден его шейп (рис. 3) и показано, что распределение по конформациям его дисахаридных звеньев и модельных дисахаридов должно быть близким. Поэтому «дисахаридное приближение» достаточно точно описывает спектроскопические (^1H - и ^{13}C -ЯМР) и конформационные свойства полисахарида *P. seracia*. Из проведенного расчета также следует, что по стереохимическим критериям присутствие в полисахаридной цепи 1-2-связанных остатков β -рамнозы или β -маннозы вполне допустимо. Однако в этом случае в структуре полисахарида образуются изгибы, что приводит к спиральям большого радиуса.

В молекулярном шейпе полисахарида *P. seracia* наиболее доступными для межмолекулярных взаимодействий оказываются остатки β -*D*-рамнозы, расположенные в вершинах изгибов цепи (рис. 3). Такое расположение делает эти остатки эквивалентными терминальным моносахаридам боковых цепей разветвленных полисахаридов, иммунодоминантная роль которых хорошо известна [15]. Это обстоятельство позволяет предположить особую роль остатков β -*D*-рамнозы в проявлении антигенных свойств полисахарида *P. seracia*. Проведенные ранее иммунохимические исследования подтверждают этот вывод [2].

Экспериментальная часть

Спектры ^1H - и ^{13}C -ЯМР полисахарида *P. seracia* (в D_2O) записаны при 40°C на приборе AM-300 МГц (Bruker) с использованием ацетона ($\delta_{\text{H}} 2,23$) и метанола ($\delta_{\text{C}} 50,15$) в качестве внутренних стандартов. Спектры ЯЭО получены при преобладании аномерных протонов по методике ТОЕ [7] в разностном варианте. Временные константы следующие: $t_1 = 4$ с (время преобладания) и $t_2 = 0,5$ с (время прослушивания).

Авторы выражают благодарность Н. В. Танатар за предоставление образца О-специфического полисахарида *P. seracia* штамма 3181.

ЛИТЕРАТУРА

1. Липинд Г. М., Шашков А. С., Клирель Ю. А., Кочетков Н. К. Биоорг. химия, 1986, т. 12, № 6, с. 771—779.
2. Клирель Ю. А., Шашков А. С., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К., Касянчук Н. В., Захарова И. Я. Биоорг. химия, 1980, т. 6, № 12, с. 1851—1859.
3. Shaskov A. S., Knirel Yu. A., Tanatar N. V., Kochetkov N. K. Carbohydr. Res., 1986, v. 146, № 2, p. 346—349.
4. Noggle J. H., Schirmer R. E. The Nuclear Overhauser Effect. N. Y.: Acad. Press, 1971.
5. Bock K., Josephson S., Bundle D. R. J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 1982, № 1, p. 59—70.
6. Brisson J.-R., Carver J. P. Biochemistry, 1983, v. 22, № 6, p. 1362—1368.
7. Wagner G., Wüthrich K. J. Magn. Reson., 1979, v. 33, № 3, p. 675—680.

8. Шашков А. С., Усов А. И., Кхирель Ю. А., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 7, с. 1364—1371.
9. Kochetkov N. K., Chizhov O. S., Shashkov A. S. Carbohydr. Res., 1984, v. 133, p. 173—185.
10. Липкин Г. М., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1983, т. 9, № 3, с. 407—418.
11. Pozsgay V., Nánási P., Neszmélyi A. Carbohydr. Res., 1981, v. 90, № 2, p. 215—231.
12. Scott R. A., Scheraga H. A. J. Chem. Phys., 1966, v. 44, № 8, p. 3054—3068.
13. Shimanouchi T., Mizushima S. J. Chem. Phys., 1955, v. 23, № 4, p. 701—711.
14. Thøgersen H., Lemieux R. U., Bock K., Meyer B. Can. J. Chem., 1982, v. 60, № 1, p. 44—57.
15. Bishop C. T., Jennings H. J. In: The Polysaccharides/Ed. Aspinall G. O. N. Y.: Acad. Press, 1982, v. 1, p. 291—330.

Поступила в редакцию
18.XI.1985

EXPERIMENTAL AND THEORETICAL CONFORMATIONAL ANALYSIS OF THE ANTIGENIC POLYSACCHARIDE OF *PSEUDOMONAS CEPACIA* STRAIN 3181. II. POLYSACCHARIDE

LIPKIND G. M., SHASHKOV A. S., KHIREL Yu. A., KOCHETKOV N. K.

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

The spatial structure of *Pseudomonas cepacia* 3181 polysaccharide in aqueous solution is discussed basing on the data of nuclear Overhauser effect, observed with preirradiation of anomeric protons of all 3 *D*-rhamnose residues in the repeat unit, and theoretical conformational analysis. It is shown that conformational states of the free disaccharides and corresponding disaccharide units of the polysaccharide are similar. All conformations of the polysaccharide may be described by one shape representing an extended structure with characteristic turns in the *D*-Rha α 1-2-*D*-Rha β 1-3-*D*-Rha units.