

Рис. 1. Модель повторяющегося звена основной цепи полисахарида *S. typhimurium*  $\rightarrow 2$ )-*D*-Man( $\alpha 1 \rightarrow 4$ )-*L*-Rha( $\alpha 1 \rightarrow 3$ )-*D*-Gal( $\alpha 1 \rightarrow$

в настоящее время практически отсутствуют, теоретический расчет возможных конформаций О-антигенных полисахаридов, учитывая их биологическое значение, представляет существенный интерес. Настоящая работа является первой попыткой этого рода.

Конформационный анализ полисахарида проведен на основе механической модели молекулы [6, 7] с использованием эмпирических энергетических функций при учете минимизации потенциальной энергии напряжений молекулы.

Конформации олиго- и полисахаридных цепей (при допущении жесткости пиранозных колец) определяются углами вращения вокруг гликозидных связей  $C1-O$  ( $\Phi$ ) и  $O-C$  ( $\Psi$ ), где атом углерода относится к моносахариду агликона. Так как в основной цепи полисахарида *S. typhimurium* имеются три пары различных дисахаридов, то ее регулярные конформации определяются 6 углами вращения:  $\Phi_1$ ,  $\Psi_1$ ,  $\Phi_2$ ,  $\Psi_2$ ,  $\Phi_3$  и  $\Psi_3$  (рис. 1). В полимере с разветвленной цепью необходимо учесть еще углы вращения  $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$  в дисахариде *D*-Abe( $\alpha 1 \rightarrow 3$ )-*D*-Man. За нуль отсчета  $\Phi = \Psi = 0^\circ$  принято такое расположение колец, при котором связи  $C1-H$  и  $C4-H$  (или  $C3-H$ ,  $C2-H$ ) находятся в плоскости гликозидных связей и занимают *cis*-положение по отношению к ним. Положительное направление вращения соответствует движению по часовой стрелке, если смотреть от атома  $C1$  к мостиговому атому кислорода и от последнего — к атому углерода.

Структуры сахарных остатков  $\alpha$ -*D*-Man,  $\alpha$ -*L*-Rha,  $\alpha$ -*D*-Gal взяты из рентгенографических и нейтронографических исследований метил- $\alpha$ -*D*-маннопиранозиды [8],  $\alpha$ -*L*-рамнозы [9] и  $\alpha$ -*D*-галактозы [10]. В остатках маннозы и галактозы пиранозное кольцо имеет стандартную форму кресла  ${}^4C_1$ , а в случае *L*-Rha —  ${}^4C'$ . С целью реализации алгоритма матричных преобразований вдоль цепи полимера по координатам атомов в кристаллографических ячейках находили координаты атомов колец в декартовых системах, нулевые точки которых совпадали с атомами  $C1$ . Атомы кислорода  $O6$  фиксировали в положениях, найденных в работах [8–10]. Валентный угол у мостигового кислорода, включенного в гликозидные связи, на основе анализа структурных данных взят равным  $117^\circ$  [11].

При оценке потенциальной энергии конформеров во внимание принимались невалентные и электростатические взаимодействия, водородные связи и торсионная энергия. Для функций невалентных взаимодействий принята параметризация из работы [12]. Заряды на атомах углеводов по методу Дель Ре неоднократно рассчитывались и даны, например, в работе [13]. Так как в расчете протоны гидроксильных групп не учитывались, то на соответствующих атомах кислорода заряд принимался равным суммарному заряду гидроксильной группы ( $-0,15$  э.е.). Для учета влияния водного окружения в работе использовались завышенное значение эффективной диэлектрической проницаемости, взятое равным 10 [14], и мень-

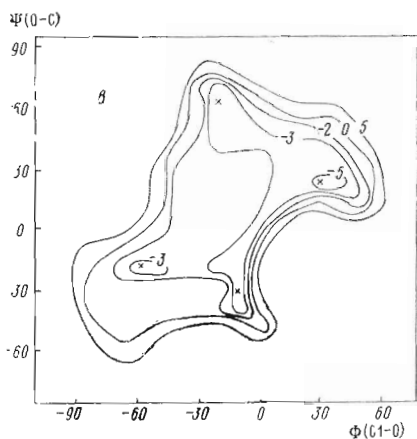
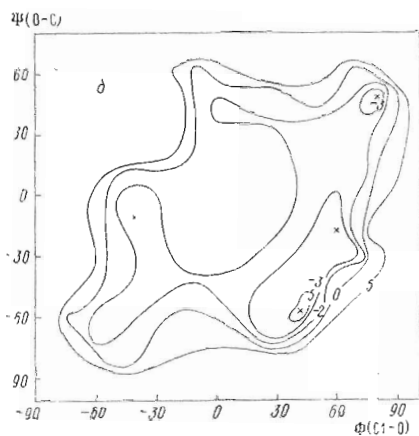
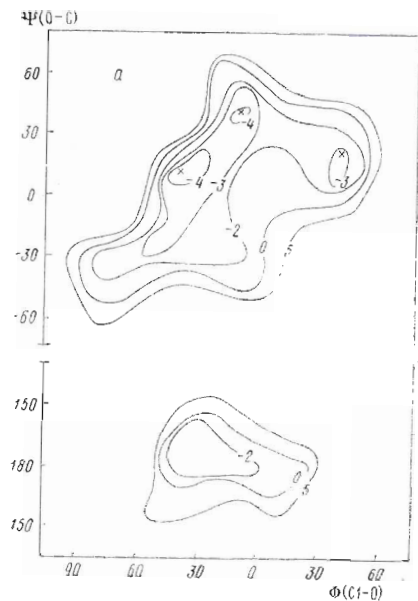


Рис. 2. Разрешенные области конформационных карт дисахаридов  $D\text{-Man}(\alpha 1 \rightarrow 4)\text{-L-Rha}$  (а),  $L\text{-Rha}(\alpha 1 \rightarrow 3)\text{-D-Gal}$  (б) и  $D\text{-Gal}(\alpha 1 \rightarrow 2)\text{-D-Man}$  (в). Знаком  $\times$  помечены локальные минимумы

шая энергия водородных связей. Образование водородной связи описывалось потенциалом типа Морзе [14]. Равновесное расстояние между атомами кислорода в связях  $O-H \dots O$  принято равным  $2,8 \text{ \AA}$  [15], энтальпия образования оптимальной водородной связи  $O-H \dots O$  в воде  $-2 \text{ ккал/моль}$  (см. [16]). Для барьеров вращения вокруг гликозидных связей в торсионном потенциале с тройной симметрией использовано значение  $0,9 \text{ ккал/моль}$  [17].

Конформационный анализ полисахарида серотипа  $B$  *S. typhimurium* был разбит на два этапа. Сначала рассматривалось строение только его основной цепи, а затем всего разветвленного полимера. При минимизации потенциальной энергии различных конформаций полисахаридов в качестве нулевых приближений для геометрических параметров  $\Phi_1, \Psi_1, \dots, \Phi_n, \Psi_n$  принимались углы вращения в локальных минимумах потенциальной поверхности каждого дисахаридного звена, т. е. отбирались структуры, оптимальные по ближайшим взаимодействиям.

Основная цепь полисахарида *S. typhimurium* с повторяющимся звеном  $\rightarrow 2)\text{-D-Man}(\alpha 1 \rightarrow 4)\text{-L-Rha}(\alpha 1 \rightarrow 3)\text{-D-Gal}(\alpha 1 \rightarrow 1)$ . На первом этапе расчета рассматривались ближние взаимодействия в пределах каждой пары моносахаридных остатков.

Энергетические и геометрические параметры дисахаридов

Номер конформации	<i>D</i> -Man( $\alpha 1 \rightarrow 4$ )- <i>L</i> -Rha				<i>L</i> -Rha( $\alpha 1 \rightarrow 3$ )- <i>D</i> -Gal				<i>D</i> -Gal( $\alpha 1 \rightarrow 2$ )- <i>D</i> -Man						
	$\Phi_1, \Psi_1$ , град		<i>U</i> , ккал/моль	Водородные связи		$\Phi_2, \Psi_2$ , град		<i>U</i> , ккал/моль	Водородные связи		$\Phi_3, \Psi_3$ , град		<i>U</i> , ккал/моль	Водородные связи	
				Man	Rha				Rha	Gal				Gal	Man
1	-40, 10	-4,7	O5...O3		40, -60	-5,0	O5...O4		30, 20	-5,0	O2...O3				
2	-10, 40	-3,9	O5...O3		60, -20	-3,4			-10, -30	-4,5	O2...O3				
3	-30, -170	-3,0			80, 50	-2,9	O5...O2		-20, 60	-3,6					
4	40, 20	-3,0			-40, -10	-2,5			-60, -20	-3,0					

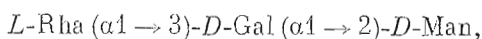
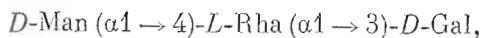
*Конформации дисахаридных звеньев.* На конформационных картах  $\Phi, \Psi$  (рис. 2) приведены низкоэнергетические эквипотенциали (разрешенные области) потенциальной поверхности дисахаридов *D*-Man( $\alpha 1 \rightarrow 4$ )-*L*-Rha, *L*-Rha( $\alpha 1 \rightarrow 3$ )-*D*-Gal и *D*-Gal( $\alpha 1 \rightarrow 2$ )-*D*-Man (типы связывания в формулах далее будут опускаться). Если на картах Rha-Gal и Gal-Man выделяется только одна область допустимых значений углов  $\Phi$  и  $\Psi$ , то в случае Man-Rha имеется вторая низкоэнергетическая область, существенно более узкая, локализованная в районе угла  $\Psi$   $180^\circ$  (рис. 2а). Следует отметить, что на приводимых в литературе конформационных картах дисахаридов с типом связывания 1 $\rightarrow$ 4 этот минимум отсутствует (см., например, [18]) и лишь в работе [19], в которой были использованы те же потенциалы невалентных взаимодействий, что и в данном сообщении, локальный минимум со значением  $\Psi$   $180^\circ$  также был выявлен. Значения углов вращения и энергий во всех найденных локальных минимумах потенциальной поверхности рассматриваемых дисахаридов приведены в табл. 1.

Расчет оптимальных конформаций дисахаридов показал, что в каждом из них возможно образование внутримолекулярных водородных связей. Именно они и обуславливают предпочтительность конформеров 1 перед другими. В случае дисахаридов Man-Rha в водородной связи участвуют циклический атом кислорода O5 остатка маннозы и гидроксил O3-N маннозы. К конформации 3, в которой  $\Psi_1 \sim 180^\circ$ , водородных связей нет, и она более высокоэнергетична, чем другие. Вполне вероятно, что именно по этой причине угол  $180^\circ$  в кристаллических структурах олигосахаридов не обнаружен [19]. Для дисахаридов Rha-Gal возможны водородные связи двух типов: Rha(O5...O4)Gal и Rha(O5...O2)Gal, которые удовлетворяют критериям оптимальности. В этом случае энергетический проигрыш варианта 3 варианту 1 в 2 ккал/моль (табл. 1) обусловлен только невалентными взаимодействиями. В случае Gal-Man одна и та же водородная связь реализуется в двух близких по энергиям конформерах 1 и 2, в которых, однако, значения углов  $\Phi, \Psi$  существенно разнятся ( $\sim 50^\circ$ ). Отметим, что данные табл. 1 были рассчитаны как с учетом, так и без учета электростатических взаимодействий, в результате чего показано, что эта составляющая полной энергии в установлении относительной стабильности конформаций дисахаридов не играет заметной роли.

В конформационном анализе углеводов акцентируется внимание на экзоаномерном эффекте, который характеризует *син*-аксиальное взаимодействие электронов у атомов кислорода O5 и O1 [20]. Оно минимально, когда агликон находится в *госи*-ориентации по отношению к связи C1-O5 [20]. Действительно, кристаллографические данные для  $\alpha$ -аномеров олигосахаридов дают углы  $\Phi$ (C1-O), равные приблизительно  $-60^\circ$ , однако разброс в значениях этого угла составляет не менее  $70^\circ$  ( $-60^\circ \div$

$\div 10^\circ$  [19]). Если обратиться к конформационным картам для дисахаридов Man-Rha и Gal-Man (рис. 1а, в), то видно, что оптимальный по экзаномерному эффекту угол  $\Phi - 60^\circ$  является крайним допустимым значением на потенциальной поверхности дисахаридов, а наблюдаемое смещение экспериментальных значений углов  $\Phi$  в сторону больших величин находится в соответствии с близкими невалентными взаимодействиями. Найденные предпочтительные конформеры рассматриваемых дисахаридов (табл. 1) оказались также удовлетворительными по критерию экзаномерного эффекта, который специально во внимание не принимался.

*Конформации трисахаридных звеньев.* Для того чтобы выяснить, имеет ли место энергетическая детерминация конформеров при взаимодействиях моносахаридных остатков, разделенных одним остатком, проведем расчет трисахаридов, составляющих основную цепь О-антигена:



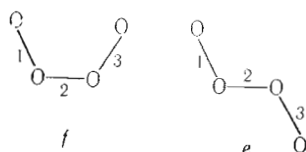
В отличие от близких взаимодействий у дисахаридов энергии контактирования концевых остатков рассматриваемых молекул ( $U_{1-3}$ ) характеризуют взаимодействия в углеводной цепи, которые мы будем называть средними. Для обозначения конформационных состояний будем использовать идентификаторы, в которых каждая из цифр является номером конформера соответствующего дисахаридного звена (табл. 1). Например, у трисахарида Gal-Man-Rha идентификатор 13 означает, что  $\Phi_3 30^\circ$ ,  $\Psi_3 20^\circ$ ,  $\Phi_1 -30^\circ$ ,  $\Psi_1 -170^\circ$ . При минимизации потенциальной энергии трисахаридов дополнительные водородные связи по сравнению с приведенными в табл. 1 не найдены.

В трисахариде Man-Rha-Gal, в котором концевые остатки маннозы и галактозы присоединены в положениях 1 и 4 остатка рамнозы, взаимодействия между ними несущественны. В случае Rha-Gal-Man связывание с галактозой имеет место в положениях 1 и 3, а так как вектор C1-C3 короче вектора C1-C4, то это может приводить к большему сближению крайних моносахаридов. Действительно, когда звено Rha-Gal находится в конформации 3 ( $\Phi_2 80^\circ$ ,  $\Psi_2 50^\circ$ , табл. 1), энергия  $U_{1-3}$  достигает  $-1,5 \div -2$  ккал/моль. Таким образом, контактирование остатков рамнозы и маннозы в Rha-Gal-Man вполне компенсирует локальный энергетический проигрыш на звене Rha-Gal в конформации 3 ( $\sim 2$  ккал/моль, табл. 1). В еще большей степени эффективность средних взаимодействий проявляется в последовательности Gal-Man-Rha, в большинстве конформаций которой энергии  $U_{1-3}$  ниже  $-1$  ккал/моль.

На формах 43 ( $\Phi_3 -60^\circ$ ,  $\Psi_3 -20^\circ$ ,  $\Phi_1 -30^\circ$ ,  $\Psi_1 -170^\circ$ ) и 44 ( $\Phi_3 -60^\circ$ ,  $\Psi_3 -20^\circ$ ,  $\Phi_1 40^\circ$ ,  $\Psi_1 20^\circ$ ) следует остановиться особо. В них кольца остатков галактозы и рамнозы располагаются друг над другом и настолько сближены, что энергии дисперсионных взаимодействий составляют  $-4$  и  $-3$  ккал/моль, т. е. вполне достаточны, чтобы скомпенсировать отсутствие в цепи двух водородных связей. Поэтому в данном трисахариде конформации 11 и 21 с двумя водородными связями изоэнергетичны конформации 43. Напомним, что в конформере 43 угол  $\Psi_1 \sim 180^\circ$ , т. е. реализация такого значения  $\Psi$  становится более вероятной в олигосахаридах.

Из анализа конформаций трисахаридов следует, что в некоторых из них концевые остатки сближены, в других удалены. Если в трисахариде выделить векторы, соединяющие только гликозидные атомы кислорода (в полисахаридной цепи левый атом кислорода относится к предшествующему конкретному трисахариду остатку), то в первом случае виртуальные векторы 1 и 3 находятся в *цис*-ориентации, во втором — в *транс*-ориента-

ции, как показано на схеме:



Итак, структуры могут быть свернутыми — *f* («folding») или развернутыми — *e* («extended»). Множество конформаций трисахаридов можно разделить на пространственные группы *f* и *e*, которые мы в дальнейшем будем называть шейпами. Подчеркнем важность введения такой обобщенной характеристики, ибо очевидно, что шейпы *f* на трисахаридных звеньях обуславливают изменение направления хода полимерной цепи, т. е. ее изгибы. Все конформации трисахаридов Man-Rha-Gal и Rha-Gal-Man относятся к шейпу *e*. Только у Gal-Man-Rha представлен шейп *f*, когда дисахарид Man-Rha находится в нетривиальном состоянии с  $\Psi_1 \sim 180^\circ$  (3, табл. 1). Шейп *f* ярко выражен в конформациях 43 и 33 этого трисахариды. Сочетания 13 и 23 приводят к небольшому изменению кривизны цепи.

*Конформации основной полимерной цепи полисахарида (I)*. Энергии повторяющегося звена  $\rightarrow 2$ -D-Man ( $\alpha 1 \rightarrow 4$ )-L-Rha ( $\alpha 1 \rightarrow 3$ )-D-Gal ( $\alpha 1 \rightarrow$  в конформациях полисахарида (I), полученные при минимизации потенциальной энергии полимера, приведены в табл. 2. Очевидно, что все структуры, в которых угол  $\Psi_1$  на звене Man-Rha имеет значения, близкие к нулю (варианты 1, 2 и 4, табл. 1), относятся к шейпу *eee*. Когда угол  $\Psi_1 \sim 180^\circ$ , то в цепи представлен шейп *eeef* (соответствующий ему ряд энергий в табл. 2 выделен особо). Так как условия междоцепочечной упаковки в кристалле и эффекты внешней среды в растворе могут в существенной степени определять реализацию структуры типа *eee* или *eeef*, рассмотрим отдельно относительные энергии конформеров в этих семействах.

*Шейп eee*. В развернутых конформациях шейпа *eee* взаимодействия осуществляются только в пределах ди- и трисахаридных фрагментов, а более дальние контакты не возникают. Самыми предпочтительными являются конформации 111, 112 и 211, максимально насыщенные внутримолекулярными водородными связями. В них неконкурирующие между собой водородные связи возможны на каждом дисахаридном звене: Man(O5...O3)Rha, Rha(O5...O4)Gal, Gal(O2...O3)Man. Эти структуры также оптимальны и по критерию экзоаномерного эффекта, и только в конформации 111 угол  $\Phi_3$  несколько превышает допустимое значение.

Конкретные величины углов вращения и параметров спиралей в предпочтительных конформациях даны в табл. 3. Параметры спиралей рассчитаны по алгоритму [21]. Спирали 211 и 111 являются правыми с приблизительно 2—3 остатками на виток. В данных структурах длина трансляция вдоль оси максимальна и составляет  $\sim 11,5 \text{ \AA}$ . Модель оптимальной по внутримолекулярным взаимодействиям развернутой конформации 111 полисахарида (I) дана на рис. 3. Плоскости остатков маннозы располагаются приблизительно перпендикулярно оси спирали. Удивительно, что при наличии типа связывания  $1 \rightarrow 2$  возможны растянутые цепи полимера.

Кроме названных к низкоэнергетическим следует отнести также конформации 131 и 411, в которых локальные энергетические проигрыши и отсутствие некоторых водородных связей компенсируются дополнительными взаимодействиями типа  $1 \rightarrow 3$ . Так как в случае 131 на трисахариде Rha-Gal-Man сближены остатки рамнозы и маннозы, это приводит к меньшей растянутости данного звена, вследствие чего трансляция вдоль оси спирали на  $2,5 \text{ \AA}$  меньше максимальной.

Энергии повторяющихся трисахаридных звеньев в конформациях основной цепи полисахарида *S. typhimurium*

Шейп <i>eee</i>						Шейп <i>eef</i>	
идентификаторы углов вращения	U, ккал/моль	идентификаторы углов вращения	U, ккал/моль	идентификаторы углов вращения	U, ккал/моль	идентификаторы углов вращения	U, ккал/моль
111	-15,8	211	-15,0	411	-14,9	311	-15,2
112	-15,3	212	-14,5	412	-14,2	312	-14,9
113	-14,6	213	-14,0	413	-13,6	313	-15,4
114	-14,3	214	-13,6	414	-14,7	314	-18,1
121	-14,3	221	-13,7	421	-13,3	321	-15,2
122	-13,7	222	-13,0	422	-12,6	322	-13,4
123	-13,0	223	-12,5	423	-12,0	323	-17,4
124	-12,7	224	-12,1	424	-13,1	324	-23,0
131	-15,3	231	-14,5	431	-14,5	331	-16,4
132	-14,0	232	-13,0	432	-12,8	332	-17,4
133	-13,1	233	-12,4	433	-12,0	333	-15,8
134	-13,3	234	-12,5	434	-13,8	334	∞
141	-14,4	241	-14,3	441	-13,4	341	-14,4
142	-13,7	242	-14,3	442	-12,4	342	-14,2
143	-12,2	243	-12,7	443	-11,0	343	-12,5
144	-12,1	244	-12,1	444	-12,3	344	-13,4

Таблица 3

Углы вращения (град) и параметры спиралей предпочтительных развернутых конформаций шейпа *eee* основной цепи полисахарида *S. typhimurium*

Идентификаторы углов	U, ккал/моль	$\Phi_1$	$\Psi_1$	$\Phi_2$	$\Psi_2$	$\Phi_3$	$\Psi_3$	$n^*$	$h, \text{Å}^{**}$
111	-15,8	-37,8	11,8	37,8	-60,0	33,3	16,9	3,5	11,4
211	-15,0	-12,5	40,4	37,8	-60,0	35,0	16,5	2,4	11,8
131	-15,3	-38,4	11,5	80,7	51,4	30,2	16,7	-2,1	9,3
411	-14,9	40,3	17,4	37,9	-60,0	35,5	17,9	-2	10,9

\*  $n$  — число мономеров в витке. (знак «минус» относится к левым спиральям).

\*\*  $h$  — трансляция мономерного звена вдоль оси.

*Шейп eef*. В выгодных конформациях шейпа *eef* основной цепи полисахарида *S. typhimurium* образует изгибы, вследствие чего могут реализоваться более дальние, чем рассмотренные ранее, взаимодействия. Действительно, в конформациях 324, 323, 314 и 332 (табл. 4) контактируют между собой остатки  $n$  и  $n+3$ ,  $n+4$ ,  $n+5$ , а соответствующие энергии взаимодействия равны  $-1 \div -4$  ккал/моль (табл. 4).

В самой низкоэнергетической конформации 324, модель которой приведена на рис. 4, остаток рамнозы одного мономера находится в такой близости от остатка галактозы следующего звена, что между ними образуется водородная связь  $\text{Rha}_2(\text{O5} \dots \text{O3})\text{Gal}_6$ , в целом энергия  $U_{2-6} = -4,4$  ккал/моль. Такие более дальние дополнительные взаимодействия компенсируют в случае 324 энергетический проигрыш, связанный с отсутствием водородных связей на трех дисахаридных звеньях, и обуславливают меньшую внутримолекулярную энергию по сравнению с растянутыми структурами полисахарида (I) (ср. табл. 3 и 4). По критерию экзоаномерного эффекта конформация 324 также оптимальна. В этой глобальной структуре шейпа *eef* соседние трисахариды располагаются приблизительно антипараллельно один относительно другого (рис. 3), и она топологически весьма напо-

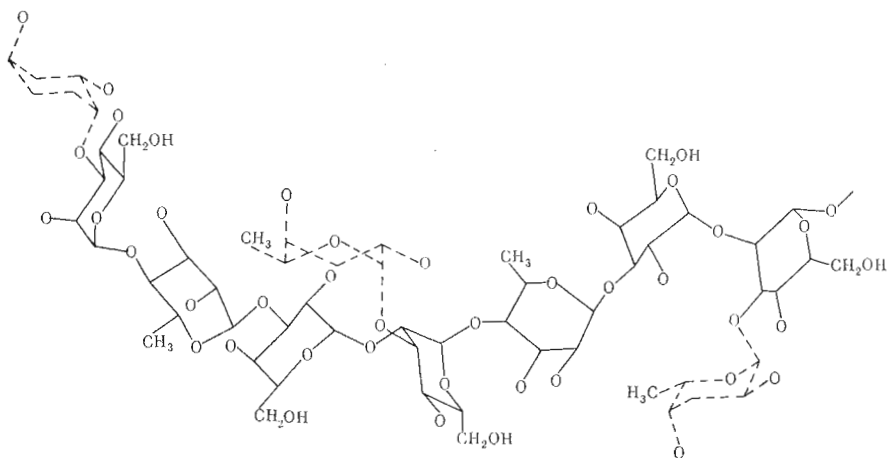


Рис. 3. Молекулярная модель О-антигенного полисахарида *S. typhimurium* в развернутой конформации 111. Пунктиром показаны боковые остатки абеквзы

минает кросс- $\beta$ -форму, обнаруженную в изолированных полипептидных цепях, например в poly(O-ацетилсерине) [22]. В отличие от полипептидов в полисахаридах стабильность кросс-формы обусловлена не образованием внутримолекулярных водородных связей, а эффективными дисперсионными взаимодействиями. Компактность данного типа структур отражается и в величинах трансляций вдоль оси спирали, которые примерно в 2 раза меньше, чем в конформациях шейна *eee* (табл. 3 и 4).

Таким образом, расчет выявил наиболее предпочтительные по внутримолекулярной энергии конформации основной цепи О-антигена *S. typhimurium*. Вместе с тем анализ пространственного строения полимерной структуры с повторяющейся единицей  $\rightarrow 2$ )-*D*-Man ( $\alpha 1 \rightarrow 4$ )-*L*-Rha ( $\alpha 1 \rightarrow 3$ )-*D*-Gal ( $\alpha 1 \rightarrow$  показал, что в полисахаридах со специфической последовательностью типов связывания остатков конформационные преобразования (даже в пределах одной области потенциальной поверхности) могут

Таблица 4

Углы вращения (град), общие энергии, а также энергии некоторых межостаточных взаимодействий (ккал/моль) и параметры спиралей в предпочтительных складчатых конформациях шейна *eef* основной цепи полисахарида *S. typhimurium*

Идентификаторы углов	$U$	$U_{1-3}$	$U_{1-6}$	$U_{1-8}$	$U_{2-6}$	$U_{3-4}$	$U_{3-6}$	$\Phi_1$
324	-23,0	-0,9	-1,0		-4,4	-3,8	-1,7	-16,0
323	-17,4	-1,0				-1,6	-3,0	-24,7
314	-18,1	-0,5			-1,0	-4,0	-1,2	-11,2
332	-17,4	-0,8	-1,5	-1,5		-0,7	-0,7	-26,1

Идентификаторы углов	$\Psi_1$	$\Phi_2$	$\Psi_2$	$\Phi_3$	$\Psi_3$	$n$	$h, \text{ \AA}$
324	-170,3	60,5	-15,0	-63,3	-12,9	2,3	5,0
323	-169,0	61,2	-22,0	-21,2	66,7	3,4	3,1
314	-175,6	38,6	-59,6	-69,4	-17,1	-2,1	6,8
332	-169,0	75,8	-47,5	-11,6	-28,7	2,8	2,9

Примечание. Индексы при  $U$  соответствуют номерам взаимодействующих остатков.



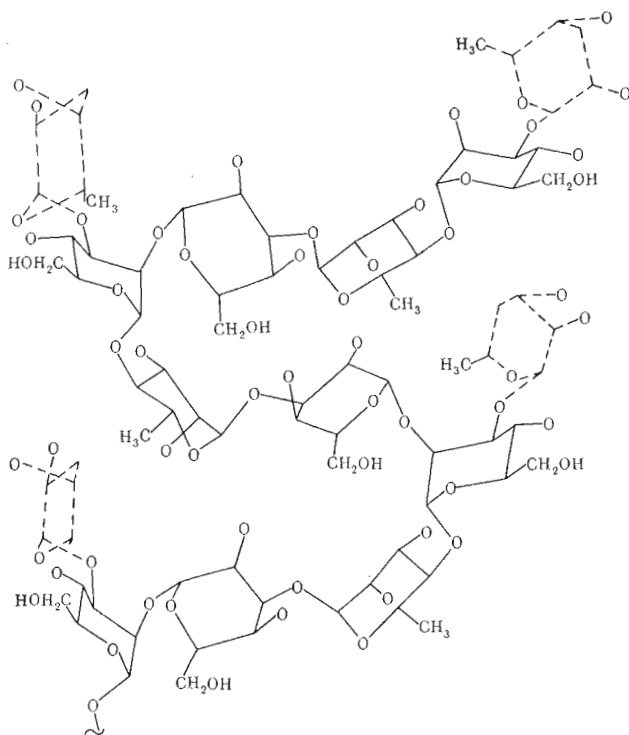


Рис. 4. Молекулярная модель О-антигенного полисахарида *S. typhimurium* в складчатой конформации 324. Пунктиром показаны боковые остатки абеквоты

сопровождаться взаимной компенсацией различных видов взаимодействий (в основном невалентных и водородных связей), вследствие чего в растворах для таких полимеров возможен большой набор упорядоченных конформеров.

*О-Специфический полисахарид Salmonella typhimurium (II). Конформации бокового остатка абеквоты.* Оптимальные значения углов вращения  $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$  на дисахаридном звене *D*-Abe( $\alpha 1 \rightarrow 3$ )-*D*-Man, включенном в основную цепь полимера (I), находили из построения конформационных карт  $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$  при фиксации значений  $\Phi_1$ ,  $\Psi_1 \dots \Psi_6$  по данным табл. 2–4, т. е. в качестве начальных приближений для структуры основной цепи полисахарида *S. typhimurium* были взяты уже найденные для полисахарида (I) конформации. Однако при минимизации потенциальной энергии полимера (II) учитывались углы вращения как в боковой ( $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$ ), так и в основной цепях, т. е. 8 углов  $\Phi$ ,  $\Psi$ . Такая процедура позволяет учесть взаимообусловленность конформационных состояний основной и боковой цепей.

Расчет показал, что независимо от структуры основной цепи характер сечения  $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$  и положения локальных минимумов в существенной степени определяются конформационным состоянием предшествующего звена Gal-Man, т. е. углами  $\Phi_3$ ,  $\Psi_3$ , что хорошо видно из рис. 5. Значения углов вращения  $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$  в оптимальных ориентациях остатка абеквоты относительно остова полисахарида (II) при определенных комбинациях  $\Phi_3$ ,  $\Psi_3$  и энергии ближних взаимодействий абеквоты с маннозой даны в табл. 5. Эти остатки связаны между собой следующими водородными связями: Abe(O2...O4)Man ( $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$  0,  $-40^\circ$  и  $40$ ,  $20^\circ$ ) и Abe(O5...O4)Man ( $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$   $-60^\circ$ ,  $-60^\circ$ ). Энергия невалентных взаимодействий ниже в случае образования первой водородной связи. Поскольку в димере Abe-Man представлен тип связывания  $1 \rightarrow 3$ , это исключает водородные связи

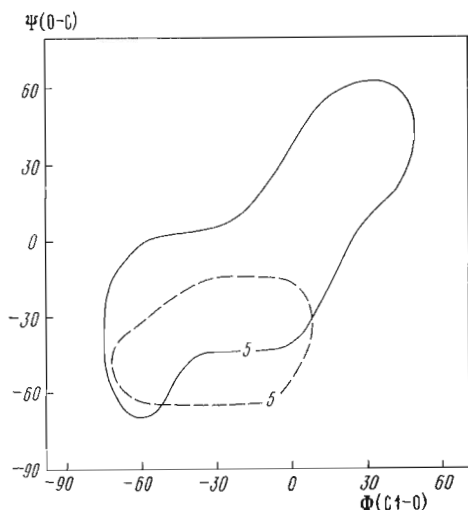


Рис. 5. Области значений углов  $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$  абеквозы в полисахариде *S. typhimurium* в пределах эквипотенциали 5 ккал/моль при условии, что пары углов  $\Phi_3$ ,  $\Psi_3$  равны  $30^\circ$ ,  $30^\circ$  (пунктир) и  $10^\circ$ ,  $30^\circ$  (сплошная линия)

абеквозы с остатками сахаров основной цепи полисахарида. Как видно из таблицы, в некоторых случаях энергии дисперсионных взаимодействий абеквозы с галактозой могут достигать значительной величины: от  $-3,5$  до  $-5$  ккал/моль. Они минимальны, когда звено Gal-Man находится в конформации 3. Величины  $U_{s-(n-1)}$  в большей степени зависят от углов  $\Phi_3$ ,  $\Psi_3$ , чем от углов  $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$ . Остаток абеквозы также контактирует с остатком Rha $_{n-2}$ . Естественно, что энергии таких взаимодействий  $U_{s-(n-2)}$  должны определяться тремя парами углов:  $\Phi_2$ ,  $\Psi_2$ ;  $\Phi_3$ ,  $\Psi_3$  и  $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$ . Однако при трех конформационных состояниях (1, 2, 3, табл. 1) фрагмента Rha-Gal величины  $U_{s-(n-2)}$  адекватны (табл. 5), и только когда  $\Phi_2 = -40^\circ$ ,  $\Psi_2 = -10^\circ$ , т. е. соответствуют конформеру 4 табл. 1, они существенно различны (табл. 5). Максимальное сближение абеквозы с Rha $_{n-2}$  имеет место при конформации 1 разделяющего их дисахарида Gal-Man, т. е.  $\Phi_3 = 30^\circ$ ,  $\Psi_3 = 20^\circ$ . Тогда энергия  $U_{s-(n-2)}$  может быть равна  $-3,4$  ккал/моль. Если звено Rha-Gal принимает конформацию 4 (табл. 5), указанные остатки оказываются настолько сближенными, что между ними возникают невалентные отталкивания; поэтому структуры 141, 241, 341 и 441 полимера (II) просто нереальны.

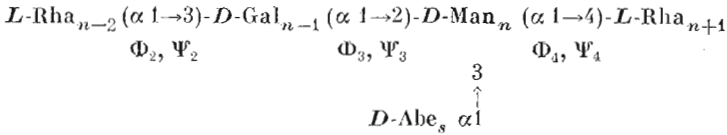
Суммированием данных табл. 5 можно получить общую энергию взаимодействия абеквозы с основной цепью. Рассмотрим энергии взаимодействия боковой цепи с остатками основной цепи для случая, когда при данной конкретной структуре остова абеквоза занимает самую предпочтительную ориентацию. Если звено Gal-Man имеет конформацию 1 или 2, т. е. углы  $\Phi_3$ ,  $\Psi_3$  равны  $30^\circ$ ,  $20^\circ$  или  $-10^\circ$ ,  $-30^\circ$ , то самой низкоэнергетической комбинацией для  $\Phi_4$ ,  $\Psi_4$  остатка абеквозы являются углы  $0^\circ$ ,  $-40^\circ$ . Если  $\Phi_3$ ,  $\Psi_3$  равны  $-20^\circ$ ,  $60^\circ$ , то наиболее вероятными параметрами абеквозы оказываются углы  $\Phi_4 = 40^\circ$ ,  $\Psi_4 = 20^\circ$ . Когда звено Gal-Man принимает конформацию 4 ( $\Phi_3 = -60^\circ$ ,  $\Psi_3 = -20^\circ$ ), то в конформации абеквозы, определяемой углами  $\Phi_4 = -60^\circ$  и  $\Psi_4 = 0^\circ$ , весьма эффективны взаимодействия с галактозой ( $\sim -5$  ккал/моль), вследствие чего предпочтительной становится эта конформация абеквозы. Суммарные энергии взаимодействия бокового остатка в его самой оптимальной ориентации с основной цепью полисахарида для четырех конформационных состояний звеньев Gal-Man рав-

Gal(O2...O3)Man в основной цепи полимера (II). Это обстоятельство тем не менее не приводит к заметным изменениям углов  $\Phi_3$ ,  $\Psi_3$  в оптимальных конформациях полисахарида (II) по сравнению с полисахаридом (I). При наличии бокового остатка абеквозы в маннозе роль атома O3 как партнера в водородной связи выполняет атом O4.

Из анализа взаимодействий абеквозы с остатками основной цепи вытекает одна важная особенность: абеквоза если и вступает в контакты, то только с остатками, предшествующими маннозе, с которой она связана со стороны восстанавливающего конца цепи. Напротив, энергия взаимодействия абеквозы с остатком рамнозы во фрагменте -Man(Abe)-Rha близка к нулю.

В табл. 5 также приведены энергии взаимодействия ( $U_{s-(n-1)}$ )

Энергии взаимодействий (ккал/моль) бокового остатка абеквозы с остатками основной цепи в пентасахариде *S. typhimurium*



$\Phi_3, \Psi_3$	$\Phi_4, \Psi_4$	$U_{s-n}$	$U_{s-(n-1)}$	$U_{s-(n-2)}$ ( $\Phi_2, \Psi_2$ 40, -60; 60, -20; 180, 50 град)	$U_{s-(n-2)}$ ( $\Phi_2, \Psi_2$ -40, -10, град)
град					
30, 20	0, -40	-4,7	-3,7	-3,4	$\infty$
	-60, -60	-3,9	-3,0	-1,5	$\infty$
-10, -30	0, -40	-4,7	-3,5	-0,2	-2,0
	40 20	-5,0	-3,4	-0,2	-0,5
	-60, -60	-3,9	-3,5	-0,2	-0,5
-20, 60	0, -40	-4,7	-1,3	-0,2	-2,0
	40, 20	-5,0	-1,3	-0,2	-2,0
	-60, -60	-3,9	-1,3	-0,2	-2,0
-60, -20	0, -40	-4,7	-2,0	0,0	0,0
	40, 20	-5,0	-2,5	0,0	0,0
	-60, 0	-3,3	-5,0	0,0	0,0

ны соответственно -11,8; -8,5; -6,5 и -8,3 ккал/моль. Если углы  $\Phi_2, \Psi_2$  в дисахариде Rha-Gal равны -40, -10°, т. е. соответствуют состоянию 1, то в этом случае ряд энергии следующий:  $\infty$ ; -10,1; -8,0; -8,3 ккал/моль.

*Шейн еее.* Для конформаций шейпа *еее* суммы энергий  $U_{s-n}, U_{s-(n-1)}, U_{s-(n-2)}$  характеризуют взаимодействия абеквозы с основной цепью полисахарида (II). Все остальные составляющие ( $U_{s-(n-3)}$  и т. д.) равны нулю. Из табл. 5 видно, что наличие бокового остатка в полисахариде (II) обуславливает существенную энергетическую детерминацию конформационного состояния 1 фрагмента Gal-Man ( $\Phi_3$  30°,  $\Psi_3$  20°) или форм 11, 21 и 31 звена Rha-Gal-Man. Но, как было показано ранее (см. табл. 3), именно этот конформер (Gal-Man) представлен в наиболее выгодных структурах шейпа *еее* неразветвленной цепи полисахарида (I). Суммирование данных табл. 3 и 5 дает энергии тетрасахаридного мономера в полимере (II), по которым можно заключить, что внутримолекулярные энергии минимальны в следующих развернутых конформациях шейпа *еее*: 111, 211, 131, 411,  $\Phi_4 \sim 0^\circ, \Psi_4 -40^\circ$  ( $U -26 \div -27$  ккал/моль). Их относительные энергии точно такие же, как среди конформеров табл. 3, относящихся к основной цепи полисахарида (I). Углы вращения  $\Phi_1, \Psi_1, \dots, \Phi_4, \Psi_4$  в глобальном варианте 111 равны -37,6; 12,1; 37,0; -59,4; 37,8; 16,3; 1,8; -40,0°, т. е. в пределах нескольких градусов адекватны таковым в конформации 111 полимера (I) (табл. 3).

Таким образом, боковые остатки наиболее оптимально упаковываются в самых низкоэнергетических структурах остова. Ориентация абеквозы в полисахариде (II) показана на модели (рис. 3). Специфика последовательности (Man(Abe)-Rhe-Gal)<sub>n</sub>, очевидно, в том и состоит, что характер взаимодействий бокового остатка с основной цепью приводит к его направленной ориентации к невосстанавливающему концу полимера, т. е. остов как бы выталкивает абеквозу на поверхность. Концевая абеквоза (прежде всего ее атом O4, не участвующий во внутримолекулярных водородных связях) в наибольшей степени предрасположена к участию в межмолекулярных взаимодействиях, например при комплексообразовании с антителом. Так как антигены серотипов A и D *S. typhimurium* имеют ответвления в виде других 3,6-дидезоксигексоз, то естественно предположить близкую пространственную организацию трех O-антигенов полисахаридов из *S. typhimurium* — A, B и D, а их главные серологические от-

личия связать только с химической природой остатков паратозы, абеквозы, тивелозы. Это действительно соответствует иммунохимическим данным. Наряду с рядом общих, так называемых иммунологических факторов антигены *A*, *B* и *D S. typhimurium* различаются факторами 2, 4 и 9 [23], которые относят за счет различий в указанных 3,6-дидезоксигексахсахарах.

*Шейп eef*. В складчатых конформациях полисахарида (II), относящихся к шейпе *eef*, взаимодействия абеквозы с соседними остатками также характеризуются данными табл. 5, так как было показано, что они не зависят от значений углов  $\Phi_1$ ,  $\Psi_1$ , определяющих тип этого шейпа. Из табл. 5 следует, что средние взаимодействия с боковой цепью максимально стабилизируют конформеры 311, 321 и 331. Однако в двух структурах шейпа *eef* — 324 и 314, самых низкоэнергетических в неразветвленном полимере (I) (табл. 4), абеквоза контактирует с удаленными остатками основной цепи. Например, абеквоза повторяющегося звена 3 взаимодействует с остатками маннозы и рамнозы полимера (I), вследствие чего составляющие энергии  $U_{s-(n-5)}$  и  $U_{s-(n-6)}$  не равны нулю.

В структуре 324 при ориентации абеквозы  $\Phi_4 -40^\circ$ ,  $\Psi_4 0^\circ$  каждый из этих вкладов равен  $-1,5$  ккал/моль. Поэтому в целом энергия взаимодействия абеквозы с остовом составляет такую же величину, как и в случае структур 311, 321 и 331, а именно  $-11,5$  ккал/моль. Для другого конформера абеквоза ( $\Phi_4 40^\circ$ ,  $\Psi_4 20^\circ$ ) в структурах 314 и 324 суммы  $U_{s-(n-5)}$  и  $U_{s-(n-6)}$  равны  $-2$  ккал/моль. Структуры 323 и 332 полимера (I), выделенные в табл. 4, в полисахаридах (II) мало вероятны, так как в них ориентация остатка абеквозы менее выгодна, чем в указанных выше структурах. Так, в конформации 323 энергия взаимодействия с абеквозой составляет всего  $-6,5$  ккал/моль. Из проведенного анализа следует, что энергии, приходящиеся на мономерное звено -Man(Abe)-Rha-Gal-полисахарида (II), минимальны в следующих конформациях шейпа *eef*: 324 ( $\Phi_1 -128^\circ$ ,  $\Psi_1 -169,1^\circ$ ,  $\Phi_2 58,8^\circ$ ,  $\Psi_2 -14,6^\circ$ ,  $\Phi_3 -65,1^\circ$ ,  $\Psi_3 -14,5^\circ$ ,  $\Phi_4 -43,6^\circ$ ,  $\Psi_4 6^\circ$ ,  $U -34$  ккал/моль), 314 ( $\Phi_4 40^\circ$ ,  $\Psi_4 20^\circ$ ,  $U -28,5$  ккал/моль) и 331 ( $\Phi_4 0^\circ$ ,  $\Psi_4 -40^\circ$ ,  $U -28$  ккал/моль). В компактной кросс-структуре 324 в изгибах основной цепи сближены соседние повторяющиеся звенья, и, кроме того, боковые ответвления абеквозы взаимодействуют с моносахаридными остатками предшествующего повторяющегося звена (см. модель такой конформации на рис. 3), в результате чего на каждом изгибе образуется кольцо из 7 углеводных остатков. Вместе с тем и в структуре 324 концевая абеквоза свободна и предрасположена к дополнительным межмолекулярным взаимодействиям.

Таким образом, в пределах единичной полисахаридной цепи возможны образования с плотной внутримолекулярной упаковкой, которые могут быть весьма стабильны, если принять во внимание гидрофобные взаимодействия. В кристаллическом состоянии, когда существенно эффекты межмолекулярной упаковки полимерных цепей для O-специфического полисахарида *S. typhimurium*, наиболее вероятна реализация самых выгодных развернутых конформаций — 111 и 211 шейпа *eee*. Отметим, что в O-антигене *Klebsiella K57* рентгеноструктурное исследование [24] указывает как раз на растянутый характер цепи. В том случае, когда межмолекулярные взаимодействия не играют существенной роли, что может быть в водной среде, вполне вероятно существование кросс-структуры 324 шейпа *eef*. Не исключено, что на поверхности микробной клетки гидрофобные взаимодействия могут обуславливать образование кросс-формами отдельных O-специфических полисахаридов компактных стоп.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Lüderitz O. (1973) Eur. J. Biochem., 38, 453–488.
2. Lüderitz O., Galanos C., Lehman V., Rietschel E. T. (1974) Ж. гигиены, эпидемиол., микробиол. и иммунол., 18, 377–387.
3. Lindberg B., Svensson S. (1973) MTP Intern. Rev. Sci. Org. Chem., Ser. I, vol. 7, Carbohydrates, pp. 319–344, Butterworth, London.

