



УДК 547.458.2:577.114.012.7

КОНФОРМАЦИОННЫЕ СОСТОЯНИЯ ДИСАХАРИДОВ
И β -ЭФФЕКТЫ ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ В СПЕКТРАХ ^{13}C -ЯМР

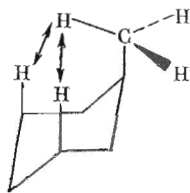
Липкин Г. М., Кочетков Н. К.

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

Проведен конформационный анализ ряда гликозил-1 \rightarrow 3-галактозидов, различающихся абсолютными конфигурациями и конфигурациями аномерного центра невосстанавливающего остатка. Рассчитаны изменения положений сигнала атома С4 галактозы в спектрах ^{13}C -ЯМР в этой серии молекул.

В данной работе проведен теоретический конформационный анализ ряда дисахаридов с использованием атом-атомных потенциальных функций и предпринят поиск зависимости значений β -эффектов гликозилирования, наблюдаемых в спектрах ^{13}C -ЯМР таких молекул, от их пространственного строения.

В спектроскопии ^{13}C -ЯМР накоплен обширный материал, из которого следует, что внутримолекулярные пространственные стерические возмущения в амнических соединениях могут вызывать изменения химических сдвигов определенных атомов углерода [1]. Например, присутствие CH_3 -группы в аксиальном положении в серии замещенных метилциклогексанов обуславливает смещение сигнала γ -углерода в высокое поле на 6 м.д. по сравнению с незамещенным циклогексаном [2]. Этот эффект связан с близостью атомов водорода в γ -положении кольца и метильной группы, и его определяют как « γ -*gosh*»-взаимодействие.



Подобное « γ -*gosh*»-взаимодействие протонов может быть представлено и в сахарах [1]. В исследованиях спектров ^{13}C -ЯМР олигосахаридов [3] найдены характерные смещения сигналов β -углеродных атомов гликозилируемого остатка (агликона), ближайших к гликозидному атому (рис. 1). Относительное смещение сигнала углерода в β -положении агликона по сравнению с незамещенным моносахаридом представляет собой β -эффект гликозилирования. Эти величины особенно выразительны тогда, когда присутствуют 3-О-замещенные остатки с галакто- или манно-конфигурацией, тогда как при глюко-конфигурации они близки к нулю [3]. Отсюда естественно допустить, что в случае гликозил-1 \rightarrow 3-галактозидов β -эффекты гликозилирования обусловлены пространственным сближением атома водорода при атоме С4 галактозы и атома Н1' невосстанавливающего остатка, в результате чего между ними может возникнуть « γ -*gosh*»-взаимодействие, которое наблюдается в производных метилциклогексана (атомы Н1' и Н4 в таких дисахаридах, так же как и возмущающие друг друга протоны в метилциклогексане, разделены пятью связями (рис. 1)). Как показывают результаты настоящей работы, другой, близкий к агликону протон при атоме С2' невосстанавливающего остатка не может возмущать указанный протон галактозы, так как конформации, в которых сближены Н2' и Н4, невыгодны по энергетическому критерию.

Для гликозил-1 \rightarrow 3-галактозидов, как следует из спектров ^{13}C -ЯМР работы [3], β -эффекты определяются конфигурацией гликозидного центра

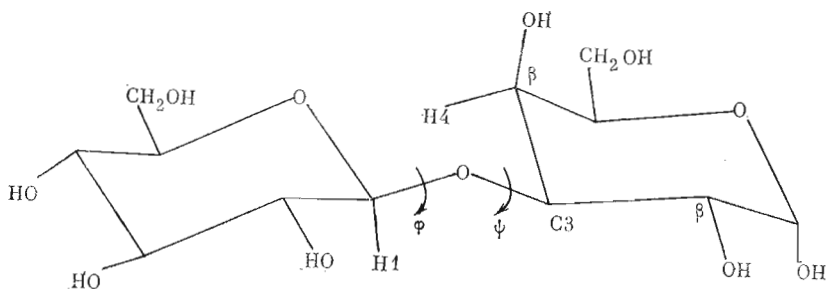


Рис. 1. Структура гликозил-1→3-галактозида с указанием углов вращения φ (C1'-O) и ψ (O-C3)

невосстанавливающего остатка и абсолютной конфигурацией связанных между собой остатков. Величины β -эффектов не превышают 2 м.д., если восстанавливающий остаток имеет β -D- или α -L-конфигурацию, но составляют не менее 3 м.д., если его конфигурация α -D или β -L. Таким образом, « γ -*gosh*»-взаимодействия соответствующих протонов в данной серии молекул неодинаковы, что, на наш взгляд, непосредственно связано с конформационными различиями дисахаридов.

С целью исследования связи между конформационными состояниями дисахаридов и наблюдаемыми величинами β -эффектов в спектрах ^{13}C -ЯМР нами проведен теоретический конформационный анализ гликозилгалактозидов с типом связывания 1→3*:

<i>D</i> -Glc α 1-3- <i>D</i> -Gal	<i>L</i> -Gal α 1-3- <i>D</i> -Gal
<i>D</i> -Glc β 1-3- <i>D</i> -Gal	<i>L</i> -Gal β 1-3- <i>D</i> -Gal
<i>L</i> -Rha α 1-3- <i>D</i> -Gal	<i>D</i> -Man α 1-3- <i>D</i> -Gal
<i>L</i> -Rha β 1-3- <i>D</i> -Gal	<i>D</i> -Man β 1-3- <i>D</i> -Gal

В таком ряду структур у восстанавливающего остатка имеет место обращение как абсолютной конфигурации, так и конфигурации аномерного центра, а также конфигурации при атоме C2', что позволяет проследить влияние указанных факторов на пространственное строение молекул. Для первых пяти дисахаридов имеются экспериментальные данные по β -эффектам гликозилирования [3], а для последних трех отсутствуют.

Конформации рассматриваемых дисахаридов определяются углами вращения вокруг гликозидной связи C1'-O(φ) и O-C3(ψ) (рис. 1). Угол φ равен нулю при *цис*-ориентации связей C1'-H1' и O-C3 во фрагменте H1'-C1'-O-C3, а $\psi=0^\circ$ при *цис*-ориентации связей C1'-O и C3-H3. Положительное направление вращения соответствует движению по часовой стрелке, если смотреть от атома C1' к мостиковому атому кислорода, и т. д.

При расчете величины смещения сигнала атома C4 галактозы в спектрах ^{13}C -ЯМР дисахаридов мы исходим из предположения, что « γ -*gosh*»-взаимодействие эффективно только в тех конформерах, в которых расстояние между атомами водорода H1' восстанавливающего остатка и H4 галактозы меньше суммы их ван-дер-ваальсовых радиусов, т. е. 2,4 Å [4], в остальных случаях оно отсутствует. Далее, если принять, что максимальное изменение химического сдвига атома углерода, обусловленное этим взаимодействием, равно смещению сигнала атома C1' в метилциклогексане, т. е. -6 м.д., то в определенной конформации дисахаридов в соответствии с ее относительной энергией ΔU величина β -эффекта, согласно закону Больцмановского распределения, может составлять $-6e^{\Delta U/RT}$ м.д., если расстояние между указанными выше протонами меньше 2,4 Å, знак «минус»

* Далее конфигурационные символы при изображении остатков *D*-галактозы, *D*-маннозы и *L*-рамнозы опускаются.

соответствует сдвигу сигнала в высокое поле. Таким образом, среднюю величину β -эффекта гликозилирования ($\langle \delta \rangle$ м.д.) в дисахаридах, которая определяется характером конформационного распределения, можно рассчитать по формуле

$$\langle \delta \rangle = \frac{\sum_{\Phi} \sum_{\Psi} \delta e^{-\Delta U_{\Phi, \Psi} / kT}}{\sum_{\Phi} \sum_{\Psi} e^{-\Delta U_{\Phi, \Psi} / kT}}, \quad \delta = -6 \text{ м. д. при } r(\text{H}1' - \text{H}4) \leq 2,4 \text{ \AA}$$

$$\delta = 0 \text{ м. д. при } r(\text{H}1' - \text{H}4) > 2,4 \text{ \AA}$$

Принятое нами предельное значение смещения сигнала в спектрах ^{13}C -ЯМР, вызванное пространственным « γ -*gou*»-взаимодействием, вполне допустимо и для углеводов, поскольку в этих объектах величина β -эффекта не превышает 6 м.д. Например, в метил-3-О-метил- α -D-галактозиде сдвиг сигнала атома С4 по сравнению с метил- α -D-галактозидом равен -5,8 м. д. [5].

При определении энергии конформеров учитывались невалентные и электростатические взаимодействия, торсионная энергия и образование водородных связей. С целью анализа зависимости расчетных величин смещения сигнала $\langle \delta \rangle$ от выбора атом-атомных потенциальных функций мы воспользовались параметризацией функций, предложенной Скоттом и Шерагой [4] и Журкиным с соавт. [6]. Второй набор функций получен в предположении больших значений ван-дер-ваальсовых радиусов атомов и близок к функциям Момани и соавт. [7]. Водородные связи и электростатические взаимодействия аппроксимировались в расчете на водную среду, так как β -эффекты гликозилирования определены в $^2\text{H}_2\text{O}$. Образование водородных связей $\text{OH} \dots \text{O}$ учитывалось с помощью потенциала типа Морзе [8], в котором оптимальное значение энергии варьировалось от -1 до -2 ккал/моль. Такие величины соответствуют приблизительным оценкам энергий водородных связей в водной среде [9]. Энергия электростатических взаимодействий оценивалась в монопольном приближении при использовании величины эффективной диэлектрической проницаемости 16 [8] и зарядов атомов углеводов остатков из работы [10]. Для барьеров вращения вокруг связей $\text{C}1' - \text{O}$ и $\text{O} - \text{C}3$ принято значение 0,9 ккал/моль [11].

Представление о потенциальной поверхности дисахаридов получено из построения конформационных карт $\varphi(\text{C}1' - \text{O}) - \psi(\text{O} - \text{C}3)$ при изменении углов вращения через каждые 10° . Данные по структурам соответствующих аномеров остатков глюкозы, маннозы, рамнозы и галактозы взяты из рентгенографических и нейтронографических исследований [12-15]. Валентный угол при атоме кислорода гликозидной связи принят равным 117° [16].

Прежде всего рассмотрим пространственное строение дисахаридов $\text{Rha}1\text{-}3\text{Gal}$ и $\text{Glc}1\text{-}3\text{Gal}$, для которых экспериментально определены β -эффекты гликозилирования в спектрах ^{13}C -ЯМР.

Rha α 1-3*Gal*. На конформационной карте дисахарида (рис. 2) имеется единственная область низких значений энергий в пределах значений углов φ и ψ от -60° до $+60^\circ$. Однако контур, ограничивающий конформеры с относительной энергией, не превышающей 1 ккал/моль, узок, особенно по углу φ ($20-60^\circ$, рис. 2а). Самой низкоэнергетической является конформация, в которой углы вращения φ и ψ равны 40° и -50° . Эта структура оптимальна по невалентным взаимодействиям (часть I табл. 1). Вместе с тем атомы кислорода O5 рамнозы и O4 галактозы в ней сближены настолько, что возможно образование внутримолекулярной водородной связи $\text{O}5' \dots \text{H} - \text{O}4$ (часть II табл. 1). Таким образом, она является предпочтительной независимо от параметризации потенциальных функций. Второй по величине энергии минимум на потенциальной поверхности дисахарида отвечает углам 60° , 30° , т. е. отличается от предыдущего прежде всего значением угла ψ . Внутримолекулярная водородная связь в этом минимуме отсутствует.

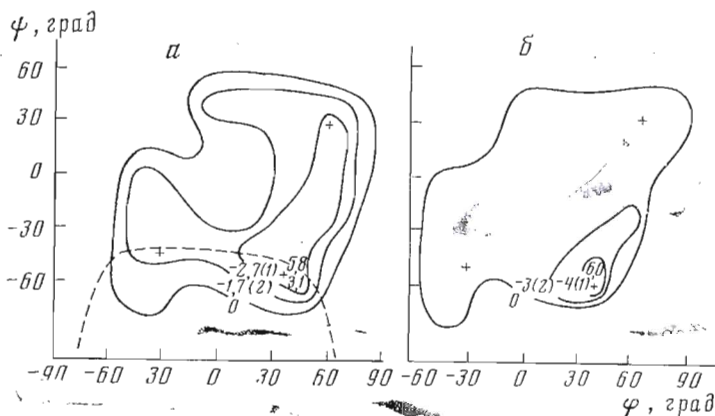


Рис. 2. Конформационные карты $\varphi(C1'-O)-\psi(O-C3)$ дисахарида Rha α 1-3Gal, построенные без учета образования внутримолекулярных водородных связей (а) и с учетом ($U_{в.с.}^{opt} = -2$ ккал/моль) (б). На эквипотенциалах указаны как абсолютные, так и относительные (в скобках) значения энергий. Знаком «+» помечены положения минимумов. В пределах пунктирного контура находятся конформации с расстояниями между атомами водорода H1' и H4, не превышающими 2,4 Å. Цифры на картах соответствуют абсолютным значениям β -эффектов при данных φ и ψ .

Отметим, что для дисахарида Rha α 1-3Gal наиболее предпочтительны конформации, в которых угол φ (C1'-O) соответствует *gauche*-ориентации связи O-C3 агликона относительно связи C1'-O5 невозстанавливающего остатка, т. е. близок к 60°. Такие конформации оптимальны и по критерию *экзо*-аномерного эффекта [17], по которому для агликона предпочтительна *gauche*-ориентация. Напротив, третий конформер (табл. 1), неудовлетворительный по этому критерию, является более высокоэнергетическим (на ~1,5 ккал/моль). Таким образом, меньшая вероятность *транс*-конформеров по углу φ отражается также в энергиях невалентных взаимодействий дисахарида.

В самой низкоэнергетической конформации (φ, ψ 40, -50°) атомы водорода H1' равнозны и H4 галактозы находятся на расстоянии 2,2 Å, т. е. меньшем суммы ван-дер-ваальсовых радиусов водородов, вследствие чего возможно « γ -*gauche*»-взаимодействие указанных протонов с величиной β -эффекта на атоме C4 галактозы ~-6 м.д. (рис. 2а). Из этого следует, что если вклад такой структуры в конформационном равновесии дисахарида значителен, то величина смещения сигнала углерода должна быть существенной. Однако экспериментальная величина β -эффекта в дисахариде Rha α 1-3Gal в растворе 2H_2O составляет всего -0,7 м.д. [3]. Обратимся к расчетным результатам.

Статистический расчет β -эффекта при использовании параметризации, не учитывающей образования водородных связей, приводит к величинам, близким к наблюдаемой: -1,37 м.д., если принять во внимание потенциалы Скотта и Шераги, и -1,28 м.д. — с потенциалами Журкина и др. (табл. 2). Малая величина β -эффекта говорит о том, что в конформационном равновесии дисахарида Rha α 1-3Gal наряду с низкоэнергетической конформацией (φ, ψ 40, -50°), в которой сближены протоны H1' и H4, с преимущественным весом (78%, табл. 3) представлены структуры, в которых указанные атомы удалены друг от друга. На конформационной карте на рис. 2а в пределах контура 1 ккал/моль им соответствует область со значениями углов ψ от -30 до 30°. Итак, для рассматриваемого дисахарида нельзя выделить единственное жесткое конформационное состояние. В водном растворе молекулы Rha α 1-3Gal имеет место такое конформационное равновесие, характер которого обуславливает практическое отсутствие β -эффекта гликозилирования.

Статистический расчет β -эффекта в варианте, допускающем возможность образования водородных связей, дает явно завышенные значения смещения сигнала атома C4 галактозы. Так, при допущении, что энтропия оптимальной водородной связи равна -2 ккал/моль, получаем $\langle \delta \rangle =$

Рассчитанные средние значения величины β -эффекта на атоме С4 галактозы в спектрах ^{13}C -ЯМР (в м.д.) гликозил-1 \rightarrow 3-галактозидов

Параметризация водородной связи	Rha α 1-3Gal		Rha β 1-3Gal		Glc α 1-3Gal		Glc β 1-3Gal	
	А *	Б	А	Б	А	Б	А	Б
$U_{\text{в.с.}}^{\text{опт**}} = -1$	-1,37	-1,28	-3,21	-3,18	-5,21	-5,3	-1,75	-1,35
$U_{\text{в.с.}}^{\text{опт}} = -2$	-2,28	-1,73	-2,43	-2,13	-4,67	-4,83	-3,0	-2,72
Опытные величины [3]	-0,7		-2,9		-3,65		-2,0	
Параметризация водородной связи	Man α 1-3Gal		Man β 1-3Gal		L-Gal α 1-3Gal		L-Gal β 1-3Gal	
	А		А		А		А	
$U_{\text{в.с.}}^{\text{опт**}} = -1$	-4,0		-1,8		-0,95		-3,65	
$U_{\text{в.с.}}^{\text{опт}} = -2$								
Опытные величины [3]	-		-		-0,5		-	

* Данные столбцов А получены при использовании потенциалов Скотта и Шераги [5], столбцов Б — при использовании потенциалов Журкина и др. [6] при $T=293\text{K}$.

** Величины $U_{\text{в.с.}}^{\text{опт}}$ (в ккал/моль) соответствуют оптимальным энергиям водородной связи в потенциале Морзе [8].

Таблица 3

Статистические веса * конформаций с расстояниями между атомами водорода Н1' и Н4, не превышающими 2,4 А в гликозил-1 \rightarrow 3-галактозидах

Дисахариды	%	Дисахариды	%
Rha α 1-3Gal	22	Rha β 1-3Gal	54
Glc β 1-3Gal	29	Glc α 1-3Gal	86
Man β 1-3Gal	30	Man α 1-3Gal	66
L-Gal α 1-3Gal	16	L-Gal β 1-3Gal	61

* Определены при учете невалентных и электростатических взаимодействий.

$\approx -3,7$ м.д. (табл. 2). Это сопряжено с тем, что в случае образования водородной связи $\text{O}5' \dots \text{H}-\text{O}4$ с самым большим весом должен быть представлен глобальный конформер (φ, ψ 40, -50°) с энергией $-5,1$ ккал/моль (табл. 1), в котором расстояние между атомами Н1' и Н4 равно 2,2 А. Об этом наглядно свидетельствует форма контура с относительной энергией 1 ккал/моль на потенциальной поверхности, приведенной на рис. 2б. Разительное несоответствие расчетного значения $\langle \delta \rangle$ в данном приближении экспериментальной величине β -эффекта в дисахариде Rha α 1-3Gal ($-0,7$ м.д.) связано с переоценкой веса указанной структуры и роли водородной связи. Таким образом, в условиях водного раствора какой-либо заметный энтальпийный выигрыш, обусловленный образованием водородных связей $\text{O} \dots \text{H}-\text{O}$, в дисахариде отсутствует.

Rha β 1-3Gal. Как и в случае дисахариде Rha α 1-3Gal, на конформационной карте дисахариде Rha β 1-3Gal область отрицательных энергий не-

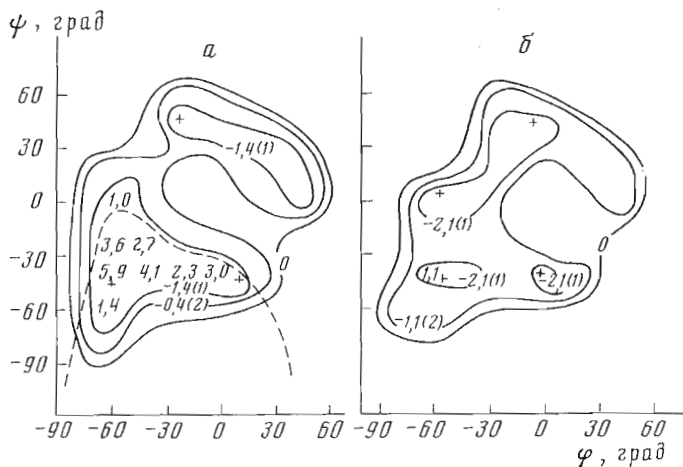


Рис. 3. Конформационные карты дисахарида Rhaβ1-3Gal (см. подпись к рис. 2)

валентных взаимодействий простирается в пределах значений углов вращения φ и ψ от -80 до 60° (рис. 3). Однако контур относительной энергии 1 ккал/моль для этого дисахарида существенно шире и находится приблизительно в том же диапазоне углов φ и ψ . Таким образом, связывание остатков по типу $\beta 1 \rightarrow 3$ сопровождается большей конформационной подвижностью дисахарида, чем в случае $\alpha 1 \rightarrow 3$. Это также отражается в том, что три минимума на конформационной карте с разными значениями угла ψ почти изоэнергетичны (часть I табл. 1).

При учете образования водородных связей самыми низкоэнергетическими являются конформации, в которых значения ψ больше нуля ($\varphi, \psi - 50, 10$ и $-10, 40^\circ$, часть II табл. 1) благодаря реализации внутримолекулярной водородной связи $O5' \dots H-O2$. В данном дисахариде конформация, оптимальная по невалентным взаимодействиям ($\varphi, \psi - 60, -40^\circ$), и конформации с водородной связью пространственно неадекватны. Если в первом случае атомы $N1'$ и $N4$ максимально сближены и находятся на расстоянии 2,1 Å, то во втором — расстояния между этими атомами значительно превышают сумму ван-дер-ваальсовых радиусов (3,1 и 3,8 Å соответственно). Итак, в структурах дисахарида Rhaβ1-3Gal, в которых возможна водородная связь $O5' \dots H-O2$, β-эффект на атоме $C4$ галактозы должен отсутствовать.

То обстоятельство, что экспериментально наблюдаемое значение высокочастотного сдвига сигнала атома $C4$ галактозы в спектре ^{13}C -ЯМР дисахарида Rhaβ1-3Gal велико ($-2,9$ м.д.), позволяет заключить, что статистический вес конформаций, допускающих образование внутримолекулярной водородной связи, на самом деле невелик. Действительно, теоретический расчет величины β-эффекта в приближении, включающем потенциал водородной связи, приводит к явно заниженным значениям ($-1,31$ и $-1,05$ м.д., табл. 2), тогда как при учете только невалентных и электростатических взаимодействий расчетные величины ($-3,21$ при использовании потенциалов Скотта и Шераги и $-3,18$ при использовании потенциалов Журкина и соавт.) близки к экспериментальной оценке. Таким образом, следует признать, что в водном растворе дисахарида Rhaβ1-3Gal, как и в случае ранее рассмотренного дисахарида Rhaα1-3Gal, стабилизирующий энергетический вклад, обусловленный образованием внутримолекулярной водородной связи, отсутствует.

То, что β-эффект на дисахариде Rhaβ1-3Gal должен быть ощутимым, подчеркивается распределением расчетных величин β-эффекта в конкретных конформациях дисахарида, приведенных на конформационной карте на рис. 3а. Из рисунка видно, что все конформации в пределах контура с относительной энергией 1 ккал/моль, расположенного в области отрицательных значений ψ , дают вклад в β-эффект, причем в некоторых точ-

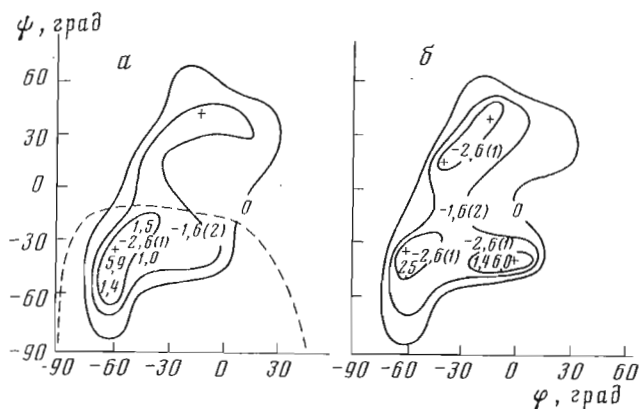


Рис. 4. Конформационные карты дисахарида $\text{Glc}\alpha 1\text{-3Gal}$ (см. подпись к рис. 2)

ках он значителен ($-4 \div -6$ м.д.). Таким образом, в большей части возможных конформаций дисахарида $\text{Rha}\beta 1\text{-3Gal}$ (53%, табл. 3) атомы $\text{H}1'$ и $\text{H}4$ находятся на расстоянии суммы ван-дер-ваальсовых радиусов. Это наглядно проявляется в положении пунктирного контура на рис. 3а, ограничивающего конформации с расстоянием $r(\text{H}1' - \text{H}4) < 2,4$ Å. В этом существенное отличие от конформационного распределения, которое имеет место в дисахариде $\text{Rha}\alpha 1\text{-3Gal}$, где подобное сближение атомов может быть в очень ограниченном диапазоне значений углов φ и ψ , $\sim 20^\circ$ (ср. рис. 2а и 3а). В заключение отметим симбатность расчетных результатов при использовании невалентных функций Скотта, Шераги и Журкина с соавт. (см. табл. 2).

Следует подчеркнуть, что только в том случае, когда принимается во внимание вся потенциальная поверхность дисахарида $\text{Rha}\beta 1\text{-3Gal}$, воспроизводится экспериментальная величина β -эффекта. Таким образом, в водном растворе имеет место конформационное равновесие, которое в данном случае характеризуется широким диапазоном допустимых значений углов вращения φ и ψ : от -60 до $+60^\circ$. Соответствие некоторой конформации дисахарида наблюдаемым экспериментальным характеристикам не может быть доказательством существования только этой конформации. Поэтому выводы Лемье [18] о наличии жестких однозначных структур для целого ряда ди- и олигосахаридов нельзя признать достоверными.

Glc $\alpha 1\text{-3Gal}$. Рассмотрим, как сказывается изменение абсолютной конфигурации невосстанавливающего остатка с *L* на *D* на величинах β -эффектов гликозилирования. Из всех структур дисахарид $\text{Glc}\alpha 1\text{-3Gal}$ является наименее конформационно-лабильным. Так, по невалентным взаимодействиям вероятный диапазон значений углов вращения φ и ψ находится в пределах 40° (рис. 4). На потенциальной поверхности практически выделяется один низкоэнергетический минимум, в котором углы φ , ψ равны -60 и -40° (табл. 1) и атомы $\text{H}1'$ и $\text{H}4$ сближены до расстояния 2,1 Å. Кроме того, и в других конформациях в пределах контура с относительной энергией 1 ккал/моль смещения химического сдвига могут быть значительными (см. рис. 4а). Поэтому неудивительно, что величина β -эффекта, определенная по спектрам ^{13}C -ЯМР, для дисахарида $\text{Glc}\alpha 1\text{-3Gal}$ самая большая ($-3,7$ м.д.). Статистический расчет на основе потенциальной поверхности, приведенной на рис. 4а, также дает значительную величину: $-5,2$ м.д. (табл. 2). Эта оценка превосходит экспериментальную, но правильно описывает тенденцию, найденную в работе [3]. Вместе с тем она реальна, так как, например, в метил-3-О-метил- α -D-галактопиранозиде величина β -эффекта замещения по С3 еще выше: $-5,8$ м.д. [4].

В условиях, при которых становится возможным образование внутримолекулярных водородных связей, в дисахариде $\text{Glc}\alpha 1\text{-3Gal}$ может быть значителен вклад конформеров с внутримолекулярной водородной связью

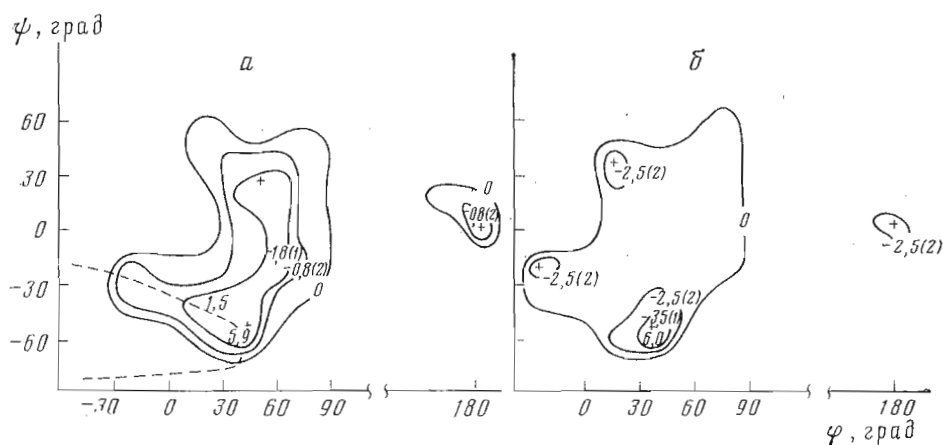


Рис. 5. Конформационные карты дисахарида Glcβ1-3Gal (см. подпись к рис. 2)

O5'...H—O4 (табл. 1). На конформационной карте (рис. 5б) им соответствует низкоэнергетический контур в пределах значений углов φ от -10 до -50° , а ψ от 10 до 50° . Расстояния между атомами H1' и H4 в этом случае велики ($\sim 3 \text{ \AA}$). Поэтому расчетное среднее значение высокопольного смещения сигнала атома C4 галактозы при использовании параметризации, включающей потенциал водородной связи, существенно ниже (табл. 2). Таким образом, в данном примере наблюдается такая же зависимость этой величины от типа силового поля, как и в случае дисахарида Rhaβ1-3Gal. Однако на дисахариде Glcα1-3Gal она менее разительна, так как помимо указанной выше водородной связи O5'...H—O4 в очень узких границах значений φ и ψ возможно образование водородной связи O2'...O4 (табл. 1). В этой структуре расстояние между атомами H1' и H4 равно $2,1 \text{ \AA}$, и ее вклад в конформационное равновесие обуславливает усиление β-эффекта.

Если сопоставить потенциальные поверхности двух структур Glcα1-3Gal и Rhaβ1-3Gal (рис. 3 и 4), которые отличаются друг от друга обращением как конфигурации аномерного центра, так и абсолютной конфигурации невосстанавливающего остатка и для которых тем не менее наблюдаются приблизительно одинаковые β-эффекты гликозилирования в спектрах ^{13}C -ЯМР; то можно отметить существенные отличия. Если на рис. 4а диапазон наиболее вероятных значений углов φ и ψ близок к 40° , то на рис. 3а — к 120° . Таким образом, характер конформационного распределения для этих структур совершенно различен. Тем не менее статистический вес конформаций с расстояниями между атомами H1' и H4, меньшими $2,4 \text{ \AA}$, в которых атом C4 галактозы испытывает пространственные возмущения, для обоих дисахаридов является подавляющим — более 50% (табл. 3). Именно поэтому величины β-эффекта для данных двух дисахаридов значительны. Вместе с тем большая лабильность дисахарида Rhaβ1-3Gal обуславливает несколько меньшую величину β-эффекта по сравнению с Glcα1-3Gal, что отражается как в теоретических, так и экспериментальных оценках (табл. 2).

Glcβ1-3Gal. Конформационные особенности этой структуры те же, что и для дисахарида Rhaα1-3Gal. Для двух соединений контуры относительной энергии 1 ккал/моль на картах, приведенных на рис. 2 и 5, простираются в пределах значений угла φ 0 – 60° , а угла ψ -60 – 30° . Самой низкоэнергетической является одна и та же конформация, характеризующаяся углами вращения φ , ψ 40 , -50° , в которой атомы H1' и H4 сближены до $2,3 \text{ \AA}$. В этой же конформации возможно образование внутримолекулярной водородной связи O5'...H—O4. Таким образом, в данном случае мы имеем пример того, когда при одновременном обращении конфигурации аномерного центра и абсолютной конфигурации невосстанавливающего остатка форма потенциальной поверхности практически сохраняется. Этот вывод также подтверждается тем, что веса конформаций с расстояниями

между атомами $H1'$ и $H4 \leq 2,4 \text{ \AA}$, рассчитанные по сечениям на рис. 2а и 5а, находятся в границах 20–30% (табл. 3). Поэтому неудивительно, что значения β -эффектов в спектрах ^{13}C -ЯМР для дисахаридов $\text{Glc}\beta 1\text{-3Gal}$ и $\text{Rha}\alpha 1\text{-3Gal}$ близки [3].

На конформационной карте дисахарида $\text{Glc}\beta 1\text{-3Gal}$ (рис. 5) также имеется очень узкий минимум, в котором угол φ равен 180° , что соответствует *транс*-ориентации связей $C1'-H$ и $O-C3$. Такой минимум на потенциальных сечениях других дисахаридов отсутствует. Это единственный конформер ($\varphi, \psi 180, 0^\circ$), для которого относительные оценки энергий при использовании различной параметризации функций невалентных взаимодействий неадекватны. Так, в расчете с потенциалами Журкина и соавт. он является высокоэнергетичным (табл. 1). Поэтому реальность такой структуры проблематична.

Из того факта, что величина β -эффекта на дисахариде $\text{Glc}\beta 1\text{-3Gal}$ невелика [3], следует вывод о преимущественном весе конформаций, у которых расстояния между интересующими нас атомами водорода превышают сумму ван-дер-ваальсовых радиусов. Им соответствует область на конформационной карте (рис. 5а), характеризующаяся значениями угла ψ от -30 до $+30^\circ$. Теоретический расчет величины β -эффекта в дисахариде $\text{Glc}\beta 1\text{-3Gal}$ при учете только невалентных и электростатических взаимодействий приводит к значению $-1,8$ м.д. (см. табл. 2), что близко к наблюдаемой экспериментально величине (-2 м.д. [3]). Если бы этот дисахарид в водной среде образовывал внутримолекулярные водородные связи, величина β -эффекта была бы значительной и превышала -4 м.д. (табл. 2), что противоречит опытным данным.

Man\alpha 1-3Gal и *Man\beta 1-3Gal*. Для данных дисахаридов β -эффекты замещения по атому $C3$ остатка галактозы в спектрах ^{13}C -ЯМР не определены. Основываясь на результатах сопоставления экспериментальных величин β -эффектов с расчетными значениями для четырех рассмотренных выше дисахаридов при различной параметризации силового поля (табл. 2), конформационный анализ двух структур *Man\alpha 1-3Gal* проводили с учетом только невалентных и электростатических взаимодействий.

Сопоставление конформационных карт дисахаридов $\text{Glc}\beta 1\text{-3Gal}$ и *Man\beta 1-3Gal* показывает (рис. 5а и 6б), что положения эквипотенциалей с относительной энергией 1 ккал/моль на них одинаковы. Отсюда следует, что изменение конфигурации при атоме $C2'$ существенно не влияет на характер конформационного распределения. Доля конформаций с расстояниями $r(H1'-H4) \leq 2,4 \text{ \AA}$ в обоих случаях составляет около 30% (табл. 3). Вместе с тем диапазон разрешенных конформаций в структуре с невосстанавливающим остатком маннозы несколько больше.

Потенциальные поверхности дисахаридов *Man\beta 1-3Gal* и структуры $\text{Rha}\alpha 1\text{-3Gal}$ очень похожи (рис. 2а) как по форме низкоэнергетических контуров, так и по положению минимумов. Геометрические и энергетические параметры оптимальных конформаций дисахаридов *Man\beta 1-3Gal* почти такие же, как в случае $\text{Rha}\alpha 1\text{-3Gal}$. Кроме того, для двух дисахаридов вес конформаций, способных обуславливать β -эффект, невелик (табл. 3). Поэтому закономерно, что рассчитанные значения β -эффекта в пределах этой пары близки и по абсолютной величине не превышают 2 м.д. ($-1,4$ и $-1,9$ соответственно, табл. 2).

В случае дисахаридов *Man\alpha 1-3Gal* (рис. 6а) статистический расчет смещения сигнала атома $C4$ галактозы в высокое поле в спектре ^{13}C -ЯМР предсказывает величину -4 м.д. (табл. 2). Таким образом, « γ -гош»-взаимодействие протонов $H1$ и $H4$ в этом дисахариде должно быть столь же эффективным, как и в дисахариде $\text{Glc}\alpha 1\text{-3Gal}$. Действительно, на картах рис. 4а и 6б во всех конформациях в пределах эквипотенциала с относительной энергией 1 ккал/моль расстояния между атомами $H1'$ и $H4 \leq 2,4 \text{ \AA}$ (см. также данные табл. 3).

L-Gal\alpha 1-3-D-Gal и *L-Gal\beta 1-3-D-Gal*. Конформационные карты дисахаридов приведены на рис. 7. Расчет на их основе весов конформаций, способных обуславливать β -эффект, дает 16 и 61% соответственно, а самих β -эффектов замещения галактозы — $-0,75$ и $-3,65$ м.д., т. е. при кон-

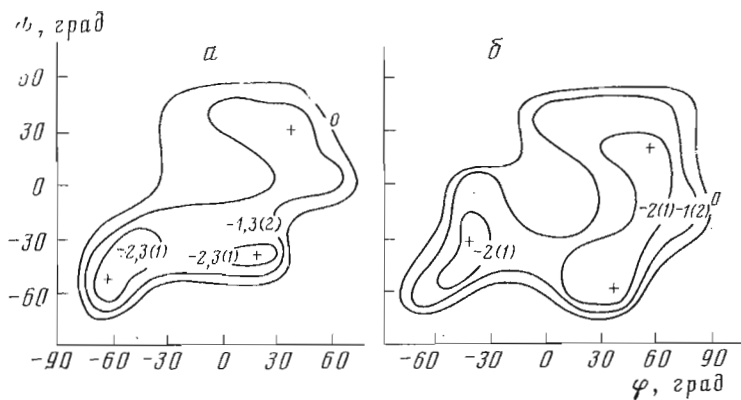


Рис. 6. Конформационные карты дисахаридов $\text{Man}\alpha 1\text{-}3\text{Gal}$ (а) и $\text{Man}\beta 1\text{-}3\text{Gal}$ (б), построенные при учете невалентных и электростатических взаимодействий

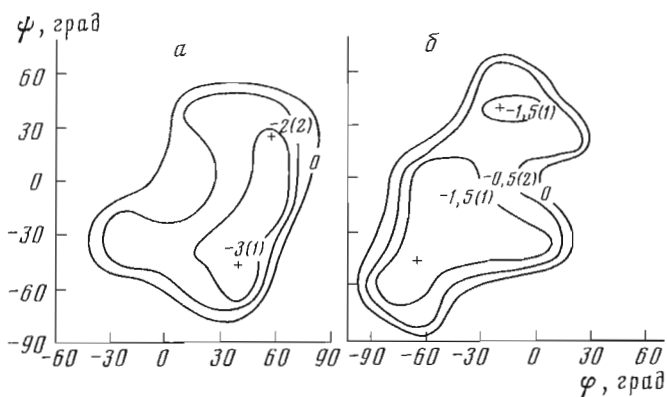


Рис. 7. Конформационные карты дисахаридов $L\text{-Gal}\alpha 1\text{-}3\text{Gal}$ (а) и $L\text{-Gal}\beta 1\text{-}3\text{Gal}$ (б) (см. подпись к рис. 2)

фигурациях связанных остатков $\alpha, L\text{-D}$ он должен быть < 2 м.д. (по абсолютной величине), а в случае $\beta, L\text{-D}$ — > 3 м.д. Такое же соотношение величин β -эффектов наблюдается в дисахаридах $\text{Rha}\alpha 1\text{-}3\text{Gal}$ и $\text{Rha}\beta 1\text{-}3\text{Gal}$ (табл. 2).

Сопоставим конформационные возможности рассматриваемых структур и гликозил-1 \rightarrow 3-галактозидов. Для дисахаридов $L\text{-Gal}\alpha 1\text{-}3\text{Gal}$ и $\text{Glc}\beta 1\text{-}3\text{Gal}$ формы потенциальной поверхности и положения минимумов на ней (рис. 7а и 5а) идентичны, поэтому предсказываемые величины β -эффекта для них близки (табл. 2). Напротив, обращение либо абсолютной конфигурации, либо конфигурации аномерного центра остатка $\alpha\text{-L-Gal}$ приводит к структурам, в которых β -эффект замещения значителен (табл. 2).

Конформационные карты дисахаридов $L\text{-Gal}\beta 1\text{-}3\text{Gal}$ ($\beta, L\text{-D}$) и $\text{Glc}\alpha 1\text{-}3\text{Gal}$ ($\alpha, D\text{-D}$) очень различны: диапазон допустимых углов вращения в первом случае намного больше, чем во втором (рис. 7б и 4а). Однако для обоих соединений вклад в конформационное распределение структур с расстояниями между атомами $\text{H}1'$ и $\text{H}4 \leq 2,4$ является подавляющим (61 и 86% соответственно, табл. 3), что обуславливает β -эффекты гликозилирования, превышающие 3 м.д. (табл. 2).

Таким образом, конформационный анализ гликозил-1 \rightarrow 3-галактозидов позволяет заключить, что при конфигурациях связанных остатков $\beta, D\text{-D}$ и $\alpha, L\text{-D}$ конформационные возможности дисахаридов близки и β -эффекты на атоме $\text{C}4$ гликозилированного остатка галактозы, наблюдаемые в спектрах ^{13}C -ЯМР, должны быть невелики (< 2 м.д.). Напротив, при конфигурациях остатков $\alpha, D\text{-D}$ и $\beta, L\text{-D}$ потенциальные поверхности глико-

зил-1→3-галактозидов существенно различны, но тем не менее статистические веса конформаций, в которых возможны стерические возмущения протона H4 галактозы, составляют не менее 50–60% (табл. 3), поэтому величины β-эффектов превышают 3 м.д.

Из результатов данной работы следует, что метод теоретического конформационного анализа позволяет рассчитывать β-эффекты гликозилирования в спектрах ¹³C-ЯМР олигосахаридов в качественном и количественном согласии с экспериментальными значениями. Исследования потенциальных энергетических поверхностей олигосахаридов вскрывают стереохимическую природу наблюдаемых изменений эффектов гликозилирования при обращении абсолютной конфигурации связанных остатков и конфигурации гликозидного центра невосстанавливающего остатка.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Шашков А. С., Чижов О. С.* Биоорган. химия, 1976, т. 2, № 4, с. 437–497.
2. *Dalling D. K., Grant D. M.* J. Amer. Chem. Soc., 1972, v. 94, № 15, p. 5318–5324.
3. *Шашков А. С., Усов А. И., Книрель Ю. А., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К.* Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 9, с. 1364–1371.
4. *Scott R. A., Scheraga H. A.* J. Chem. Phys., 1966, v. 44, № 8, p. 3054–3068.
5. *Voeller W., Breitmaier E., Rathbone E. B., Stephen A. M.* Tetrahedron, 1973, v. 29, № 23, p. 3845–3848.
6. *Журкин В. Б., Полтев В. И., Флоренцев В. Л.* Молекулярн. биология, 1980, т. 14, № 5, с. 1116–1130.
7. *Momany F. A., Carruthers L. M., McGuire R. F., Scheraga H. A.* J. Phys. Chem., 1974, v. 78, № 16, p. 1595–1620.
8. *Липкин Г. М., Архинова С. Ф., Попов Е. М.* Ж. структурн. химии, 1970, т. 11, № 1, с. 121–126.
9. *Schellman J. A.* Compt. rend. lab. Carlsberg., ser. chim., 1955, v. 29, № 1, p. 223–231.
10. *Rees D. A., Smith P. J. C.* J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 1975, № 8, p. 836–840.
11. *Tvaroška I., Bleha T.* Tetrahedron Lett., 1975, № 4, p. 249–252.
12. *Jeffrey G. A., McMullan R. K., Takagi S.* Acta cryst., 1977, v. B33, № 3, p. 728–737.
13. *Jeffrey G. A., Takagi S.* Acta cryst., 1977, v. B33, № 3, p. 738–742.
14. *Killean R. C. G., Lawrence J. L., Sharma V. C.* Acta cryst., 1971, v. B27, № 3, p. 1707–1710.
15. *Sheldrick B.* Acta cryst., 1976, v. B32, № 4, p. 1016–1020.
16. *Arnott S., Scott W. E.* J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 1972, № 3, p. 324–335.
17. *Сроддарт Дж.* Стерсохимия углеводов. М.: Мир, 1975.
18. *Lemieux R. U.* Chem. Soc. Rev., 1978, v. 7, № 4, p. 423–452.

Поступила в редакцию
6.VII.1982

DISACCHARIDE CONFORMATIONAL STATES AND β-EFFECTS OF GLYCOSYLATION IN ¹³C NMR SPECTRA

LIPKIN G. M., KOCHETKOV N. K.

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

Theoretical conformational analysis of glycosyl-1→3-galactosides differing in absolute configurations or configuration of the anomeric center of nonreducing residue has been carried out. The changes in the chemical shift of galactose C4 atom in the ¹³C NMR spectra of the compounds under study have been calculated.