

Кононов Леонид Олегович

ХИМИЯ УГЛЕВОДОВ И ГЛИКОБИОЛОГИЯ

<https://углеводы.su>

Добрый день!

Меня зовут Кононов Леонид Олегович.

В ближайший месяц мы с вами будем изучать основы химии углеводов и гликобиологии.

Обратите внимание на адрес этого сайта. Там размещены все материалы, имеющие отношение к данному курсу. В частности, там есть файлы книг и статей из списка рекомендованной литературы. Я буду выкладывать туда слайды лекций. Этот сайт можно также использовать для связи со мной.

Расписание лекций и семинаров в 2024 г.

2

Время:

понедельник: 14.30–16.00
16.15–17.45

Даты:

ЛЕКЦИИ

Февраль: 12, 19, 26

Март: 04, 11, 18

СЕМИНАРЫ

Февраль: 12

Март: 04, 11, 18

ЭКЗАМЕН

Апрель : 22 – дату необходимо согласовать заранее

Следите за информацией на сайте углеводы.su

Сдача экзамена возможна только вместе с одной из групп!

Мы будем встречаться в этой аудитории по понедельникам.

По поводу экзамена. Он будет в апреле. Но дату экзамена необходимо согласовать заранее. Мои предложения см. на экране и на сайте. Уточните в учебной части и сообщите мне.

Хочу обратить ваше внимание на следующее. Сдача экзамена возможна только вместе с одной из групп.

Дополнительной возможности сдать экзамен в индивидуальном порядке не будет.

Темы занятий

3

ЛЕКЦИИ:

1. Введение в гликобиологию. Стереохимия углеводов.
2. Химические свойства. Синтез.
3. Гликопротеины
4. Гликолипиды, полисахариды, протеогликаны
5. Структурный анализ гликопротеинов и олигосахаридов.
6. Углевod-связывающие белки.
7. Медицинская гликобиология.

СЕМИНАРЫ:

1. Стереохимия углеводов (основы: проекции Фишера, Хеуорса для моносахаридов).
2. Стереохимия углеводов (более сложные вопросы стереохимии).

ЭКЗАМЕН:

- 1) задача (см. семинары),
- 2) два вопроса: химия + гликобиология (см. вопросы к экзамену).

Сначала вы прослушаете семь лекций.

А затем у нас будет два или три семинара, на которых мы будем решать задачи по темам, которые, с одной стороны, обычно представляют наибольшую трудность, а с другой - наверняка вам пригодятся в дальнейшем.

Семинары необходимо посещать, т.к. на экзамене наряду с теоретическим вопросом вам будет предложено решить задачу. Если теорию можно прочитать в книгах, то с задачами ситуация посложнее.

Я не буду останавливаться на программе курса. С ней вы можете ознакомиться самостоятельно.

А вот пару слов о рекомендуемой литературе скажу.

Список рекомендуемой литературы

4

все файлы – на сайте углеводы.su Пароль: ****

IN ENGLISH:

6. *Essentials of glycobiology*, A. Varki et al. (Eds.), 4th edn., 2022.
Открытый доступ к книге (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK579918>).
Доступен файл 1-го издания (1999).
7. *Comprehensive Glycoscience. From Chemistry to System Biology*, 2007.
9. *Handbook of Chemical Glycosylation: Advances in Stereoselectivity and Therapeutic Relevance*, 2008. Глава 1: Ch1_General Aspects.
42. I. Robina, et al. Glycosylation Methods in Oligosaccharide Synthesis. *Curr. Org. Synth.*, 2008. Доступен файл обобщающего обзора (2005; 75 стр.).

ПО-РУССКИ:

3. Т. С. Орецкая и др., *Моно- и дисахариды*, 2010, тт. 1 и 2.
13. Н. К. Кочетков и др. *Химия углеводов*. 1967.
15. А. Ф. Бочков и др., *Углеводы*. 1980.
16. Р. Хьюз. *Гликопротеины*. 1985.

Примечание: Нумерация литературы соответствует списку на сайте углеводы.su

В целом, содержание лекций и логика изложения во многом соответствуют книге *Essentials of glycobiology*, что можно перевести как ОСНОВЫ ГЛИКОБИОЛОГИИ. Это наше основное пособие. Книга написана как учебник для студентов и аспирантов. Если вы ее прочтете и усвоите то, что там написано, то сдадите экзамен без проблем (по крайней мере, теоретический вопрос).

Содержание сильно зависит от издания. Последнее (четвертое) издание более структурировано, содержит меньше деталей и частных и дает более четкое представление о предмете. В предыдущем (втором) издании можно найти больше подробностей по ряду вопросов, иллюстрации также более разнообразны. Лично мне больше всего нравится первое издание. Оно больше всего похоже на учебник. На сайте есть файл. У этой книги только один недостаток – она написана по-английски.

Однако эта книга мало освещает химические аспекты углеводов, хотя базовая информация там определенно есть. Напомню, что наш курс называется “ХИМИЯ УГЛЕВОДОВ И ГЛИКОБИОЛОГИЯ”. Вопросы химического синтеза олигосахаридов и методов создания гликозидных связей хорошо изложены книге *Handbook of Chemical Glycosylation*. Прежде всего, обратите внимание на первую вводную главу. Для сдачи экзамена я рекомендую ознакомиться с чуть более ранним обобщающим обзором, где эти вопросы освещены более подробно и глубоко. Файл доступен на сайте под номером 42.

Так случилось, что книг на русском языке немного. Поэтому хорошим дополнением являются отечественная книга *Углеводы* и переводная книга *Гликопротеины*. Хотя они изданы давно, они по-прежнему актуальны и являются хорошим введением в гликобиологию, особенно для начинающих.

Основная книга практически по всем разделам химии углеводов на русском языке – это *Химия углеводов*, написанная Кочетковым и его сотрудниками полвека назад. Так называемая, ЧЕРНАЯ КНИГА. И хотя некоторые частности, без сомнения, устарели, основы химии углеводов там изложены очень хорошо. Я рекомендую эту вроде бы антикварную книгу как источник базовой информации по химии углеводов.

Обязательно ознакомьтесь с двухтомником Орецкой, используемым на химфаке МГУ. Для нашего курса там нужно далеко не все, но вводные главы первого тома и главы по стереохимии моносахаридов в первом и втором томах надо прочитать.

По ходу изложения материала я иногда буду упоминать отдельные книги и обзоры из списка литературы, имеющие отношение к той или иной частной проблеме. В таком случае с ними рекомендуется ознакомиться (это вам поможет на экзамене). Это в основном будут отдельные главы из книги под номером 7 - *Comprehensive Glycoscience*. Там есть практически все! Предупреждаю, что это издание для профессионалов, а не учебник.

Подчеркну, что нумерация литературы в презентации соответствует списку на сайте.

Для вашего удобства файлы всех нужных книг и статей доступны на сайте. Для загрузки файлов вам будет нужен пароль. Вот он. Запишите его сейчас.

Лекция 1

Введение в гликобиологию

Стереохимия моно- и олигосахаридов

С оргвопросами покончено.

У кого-нибудь есть вопросы?

Теперь приступим собственно к материалу сегодняшней лекции.

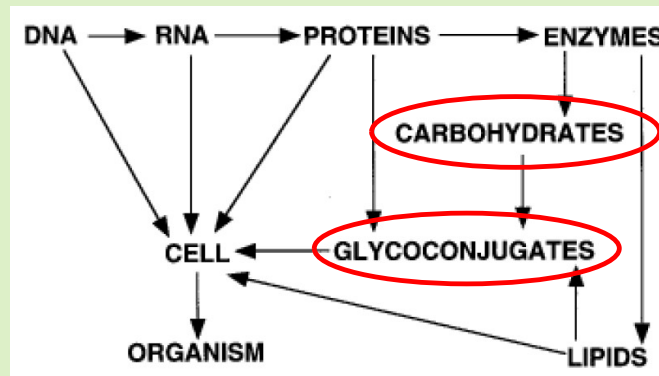
Сначала будет небольшое введение в гликобиологию.

Место гликобиологии в молекулярной биологии 6

Традиционный взгляд (сформулирован в 1950-е гг.):

DNA → RNA → PROTEIN → CELL → ORGANISM

Современный взгляд (сформулирован в 1980-е гг.):



Essentials of glycobiology, A. Varki, et al. (Eds.), 1st edn., 1999, p. 7.

Как вы хорошо знаете в живых системах биологическая информация идет от ДНК к РНК и затем к белку. Это так называемая центральная догма молекулярной биологии.

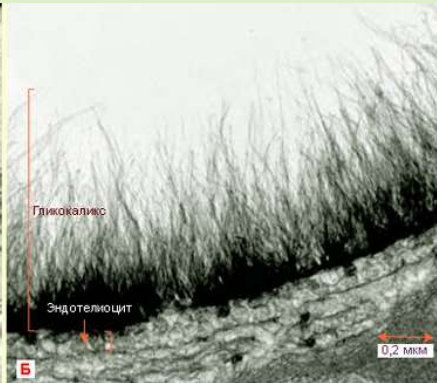
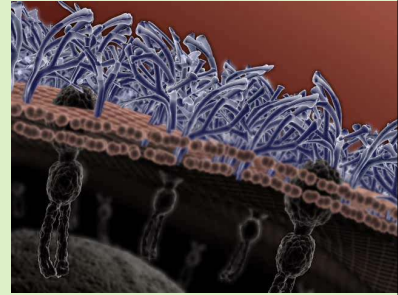
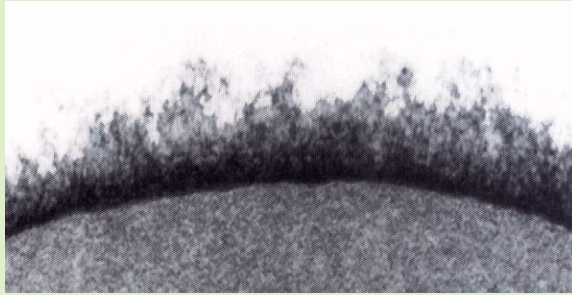
Обычно также принято предполагать, что эти процессы определяют строение и функции клетки и даже организма. Таков традиционный взгляд.

Однако достижения последних 40 лет заставляют пересмотреть эту стройную картину. Как это обычно бывает, все оказалось гораздо сложнее. Для адекватного понимания того, как функционируют клетки, как они взаимодействуют с внешними агентами и между собой приходится принимать в расчет присутствие в клетках других классов веществ – и прежде всего углеводов.

В ходе наших занятий мы познакомимся с основными известными данными о структуре, биосинтезе и функционировании в биологических системах различных углеводов и углеводов-содержащих молекул, называемых гликоконъюгатами. Эта область науки получила название гликобиология. Она непосредственно связана с биомедицинскими и биотехнологическими исследованиями и ее значимость растет с каждым годом.

Гликокаликс

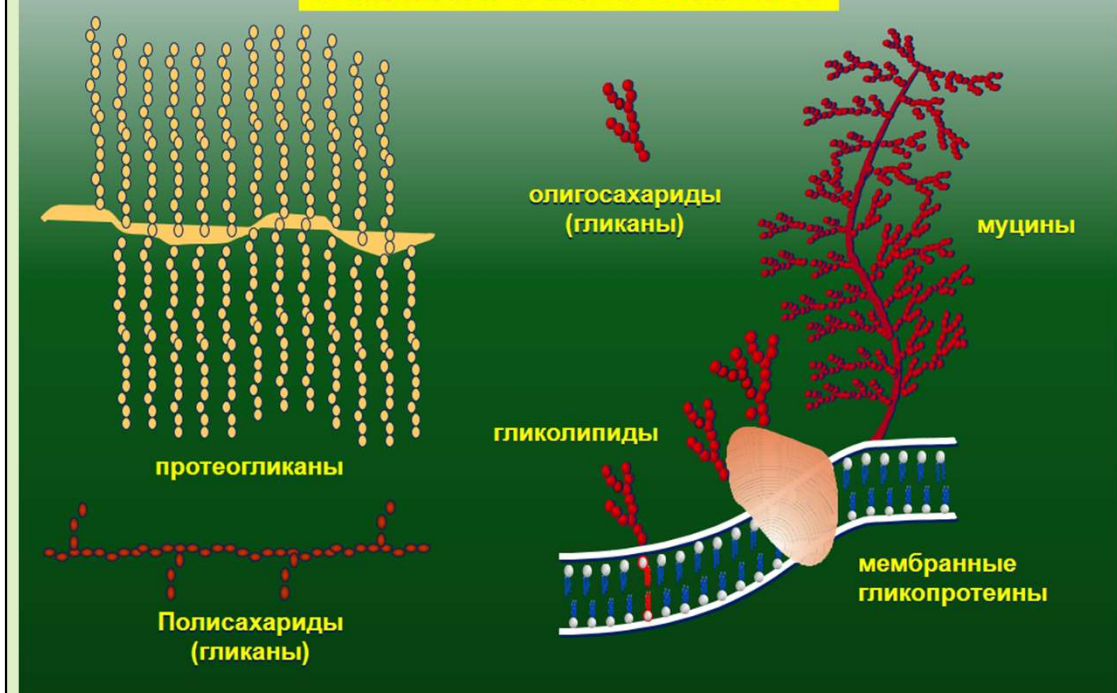
7



На электронных микрофотографиях хорошо видно, что на поверхности большинства клеток находится довольно толстый слой каких-то рыхлых нитевидных образований, похожих на ворс. Толщина этого слоя может достигать многих сотен нанометров. Эта обогащенная углеводами периферическая зона на поверхности клеток получила название гликокаликс. Размер гликокаликса особенно велик на эндотелиальных клетках, выстилающих кровеносные сосуды или желудочно-кишечный тракт.

Установлено, что ворсинки гликокаликса образованы различными углеводсодержащими молекулами, как это схематически показано на картинке сверху справа.

Гликаны и гликоконъюгаты



Гликокаликс состоит из протеогликанов, гликопротеинов и гликолипидов.

Особенно значительны по размерам углеводные цепи муцинов – гликопротеинов, являющихся главной составной частью вязкого слизистого геля, который покрывает большинство эпителиальных поверхностей и служит селективным защитным барьером между плазматической мембраной и окружением клетки. Муцины входят также в состав слюны, желудочного и кишечного соков.

Углеводные компоненты гликокаликса включают как соединения, ковалентно связанные с белками и, в меньшей степени, с липидами клеточной поверхности, так и нековалентно присоединенные к ним дополнительные гликопротеины и полисахариды. Некоторые из этих адсорбированных макромолекул являются компонентами внеклеточного матрикса, что затрудняет его разграничение с гликокаликсом и клеточной мембраной.

Вы могли заметить, что на этом слайде углевод-содержащие молекулы разделены на две категории гликаны и гликоконъюгаты. Гликаны построены из моносахаридных остатков. К ним относятся олигосахариды и полисахариды. В гликоконъюгатах гликан

присоединен к неуглеводной части молекулы. В гликопротеинах - это белок, в гликолипидах - это липид. На следующих лекциях мы рассмотрим строение всех этих молекул подробнее.

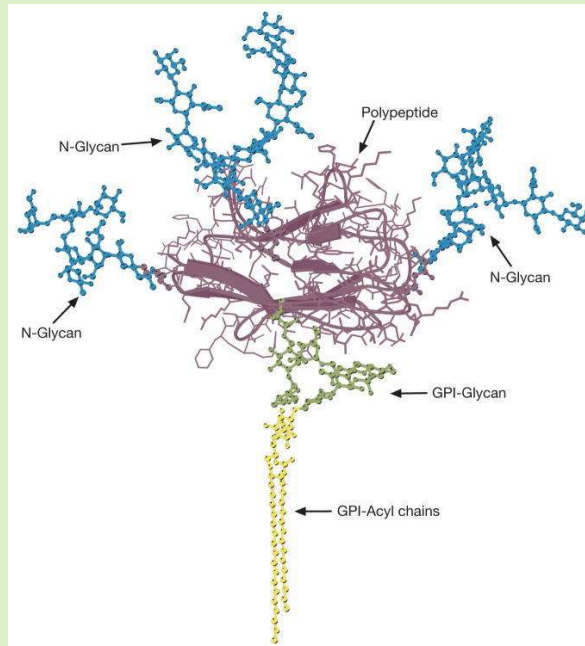
Доля гликанов в составе гликоконъюгатов гликана может достигать 85% (масс.)

9

ПРИМЕР:

сильно гликозилированный гликопротеин Thy-1
(THYmocyte differentiation antigen 1)

На долю гликанов приходится 30% молекулярной массы гликопротеина Thy-1
(M_w 25 кДа \rightarrow 37 кДа)



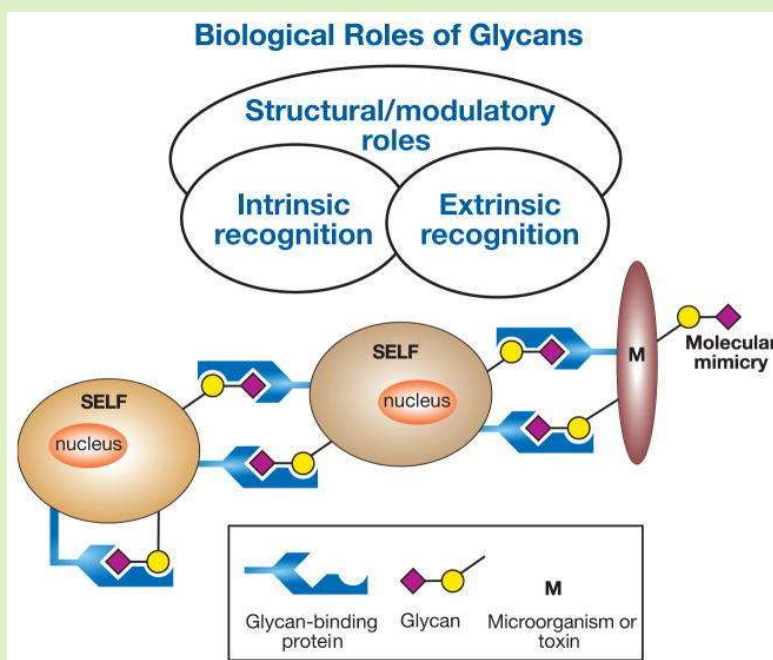
Essentials of Glycobiology
Second Edition

Chapter 1, Figure 3

В гликоконъюгатах может содержаться небольшое количество углеводного компонента, даже всего лишь один моносахаридный остаток. Таковы гликопротеины цитозоля, несущие на полипептидной цепи только моносахаридный остаток N-ацетилглюкозамина.

Но чаще доля углеводов весьма значительна, и МАССОВАЯ доля гликана может достигать 85% от общей массы гликоконъюгата.

Вот этот гликопротеин (Thy-1), являющийся маркером Т-лимфоцитов, является примером сильно гликозилированного гликопротеина. На долю гликанов приходится 30% молекулярной массы гликопротеина. Синим цветом помечены N-гликановые цепи, а зеленым – углеводный фрагмент гликозилфосфатидилинозитного якоря, который закрепляет этот белок в клеточной мембране.



Essentials of Glycobiology
Second Edition

Chapter 6, Figure 1

Как и в случае других биомакромолекул, биологические функции гликанов варьируют от сравнительно незначительных на первый взгляд до жизненно важных для развития, роста, функционирования или выживания организма, который их синтезирует. Многим гликанам еще не приписаны функции, либо потому, что этот вопрос просто не изучался, либо потому, что не совсем понятно какую функцию искать. На протяжении многих лет выдвигались разнообразные теории по поводу функций гликанов. И хотя для каждой из теорий существуют весомые доказательства, известны и факты, противоречащие им. Это не удивительно, принимая во внимание огромное разнообразие структур гликанов в природе. Дополнительную сложность создает тот факт, что многие гликаны являются мишенями для связывания микробов и микробных токсинов. Т.е. присутствие гликанов может оказаться вредным для организма, который их синтезирует.

Glycobiology vol. 3 no. 2 pp. 97-130, 1993

SPECIAL INVITED REVIEW

Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct

Ajit Varki¹

Glycobiology Program, UCSD Cancer Center, and Division of Cellular and Molecular Medicine, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

¹Correspondence to: University of California, San Diego, Cancer Center, 0063, 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA 92093, USA

Many different theories have been advanced concerning the biological roles of the oligosaccharide units of individual

in a number of monographs (1-148). These include a purely structural conformation and stability of protein structures for microorganisms, toxins, and cells, the modulation of protein function of ligands for specific binding and targeting, cell-matrix interactions and biosynthesis. Most of these discussions have focus

biosynthesis. *Science*, 241, 1092-1096.

1046. Carlson J., Sakamoto, Y., Laurell, C.B., Madison, J., Watkins, S. and Putnam, F.W. (1992)

Alloalbuminemia in Sweden: structural study and phenotypic distribution of nine albumin variants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 8225-8229.

1047. Caspacci, M.R. (1989) Altering the genome by homologous recombination. *Science*, 244, 1288-1292.

1048. Yost, H.J. (1992) Regulation of vertebrate left-right asymmetries by extracellular matrix. *Nature*, 357, 158-161

1049. Grosveld, F. and Kollas, G. (1992) *Transgenic Animals*. Academic Press, San Diego.

Received on December 31, 1992; accepted on January 19, 1993

31. (a) A. Varki. Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct. *Glycobiology* 1993, 3, 97.

В списке рекомендуемой литературы указан солидный обзор 1993 года, в заголовке которого написано: «Все теории о биологических функциях углеводов - правильны!», а в тексте обсуждается более тысячи ссылок. Представляете масштаб?!

Glycobiology vol. 3 no. 2 pp. 97–130, 1993

SPECIAL INVITED REVIEW

Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct

Ajit Varki¹

Glycobiology Program, UCSD Cancer Center, and Division of Cellular and Molecular Medicine, University of California, San Diego, La Jolla, CA 92093, USA

¹Correspondence to: University of California, San Diego, Cancer Center, 0063, 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA 92093, USA

Many different theories have been advanced concerning the biological roles of the oligosaccharide units of individual

in a number of monographs (1–148). These include a purely structural conformation and stability of protein structures for microorganisms, toxins, and cells, the modulation of protein function of ligands for specific binding and targeting, cell–matrix interactions and biosynthesis. Most of these discussions have focus

biosynthesis. *Science*, 241, 1092–1096.

1046. Carlson J., Sakamoto, Y., Laurell, C.B., Madison, J., Watkins, S. and Putnam, F.W. (1992)

Alloalbuminemia in Sweden: structural study and phenotypic distribution of nine albumin variants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 8225–8229.

1047. Caspacci, M.R. (1989) Altering the genome by homologous recombination. *Science*, 244, 1288–1292.

1048. Yost, H.J. (1992) Regulation of vertebrate left–right asymmetries by extracellular matrix. *Nature*, 357, 158–161

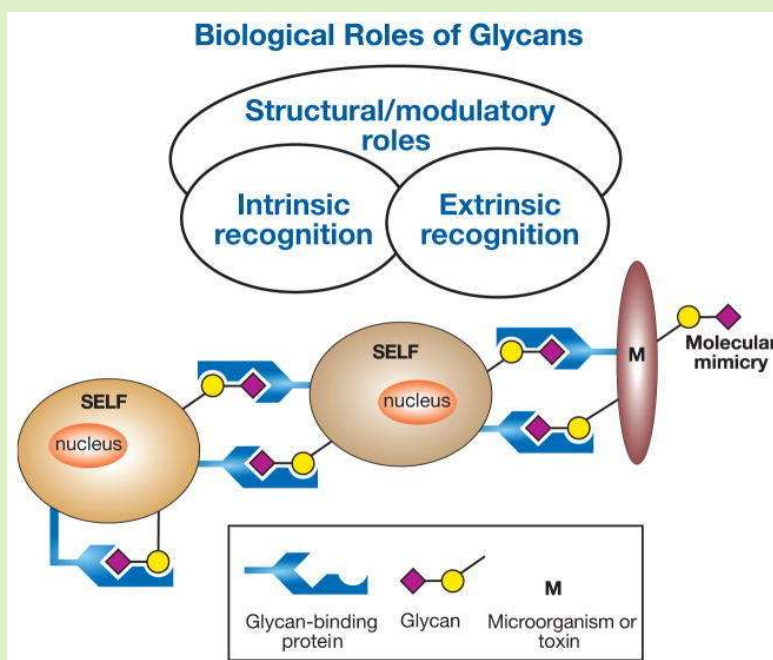
1049. Grosveld, F. and Kollas, G. (1992) *Transgenic Animals*. Academic Press, San Diego.

Received on December 31, 1992; accepted on January 19, 1993

31. (b) A. Varki. Biological roles of glycans. *Glycobiology* 2017, 27, 3–49.

Несколько лет назад появилась новая версия этого обзора. За четверть века прояснилось многое из того, что раньше относилось к разряду гипотез.

Если вы хотите узнать обо всем этом подробнее, есть смысл почитать этот обзор. Но я бы начал с учебника, и лишь затем читал обзор.



Essentials of Glycobiology
Second Edition

Chapter 6, Figure 1

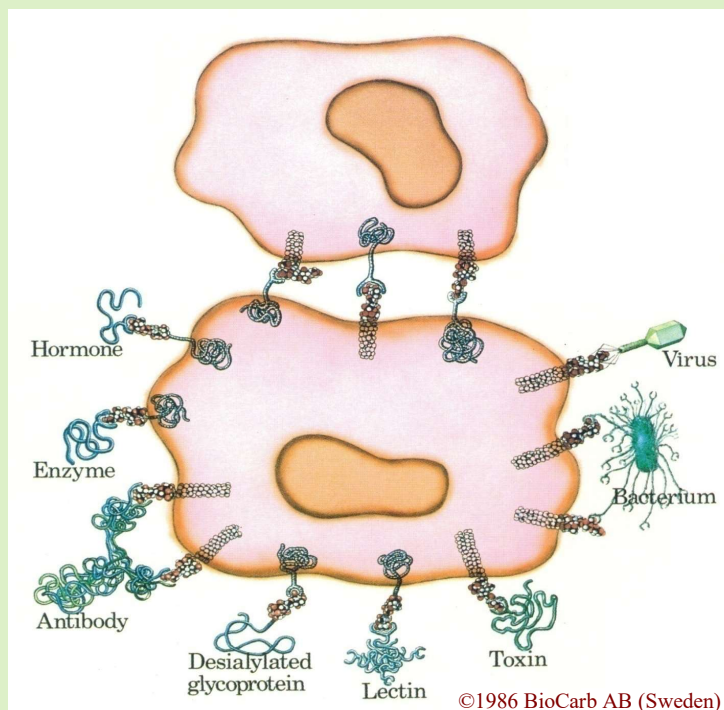
Среди функций углеводных цепей клеток животных можно условно выделить:

- специфические, связанные с процессами коммуникации клеток, узнавания «своих» и распознавания «чужих», а также
- так называемые «неспецифические», в том числе структурные и модулирующие функции.

Начнем с первых.

Взаимодействие с:

- ▶ другими клетками организма:
 - ▶ межклеточное узнавание
 - ▶ адгезия и пролиферация клеток
- ▶ бактериями и вирусами
- ▶ токсинами и антителами
- ▶ лектинами
- ▶ ферментами углеводного метаболизма
- ▶ гормонами



Взаимодействия углеводов поверхности клетки крайне разнообразны и могут включать следующие варианты, схематически представлены на этой картинке, впервые нарисованной более 35 лет назад, в 1986 г.

Среди специфических взаимодействий – и взаимодействие с другими клетками организма:

- межклеточное узнавание
- адгезия и пролиферация клеток

Это – и взаимодействие с

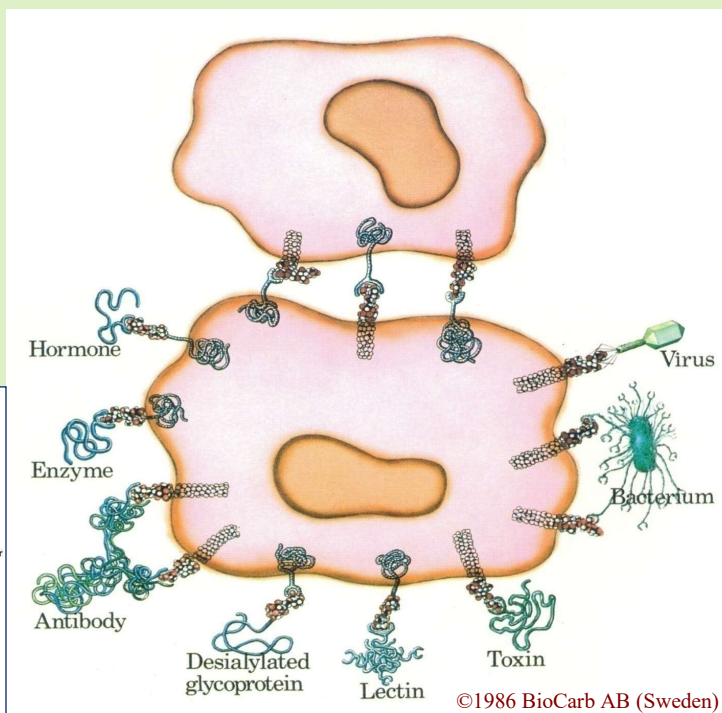
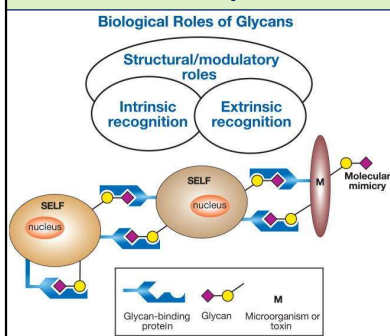
- бактериями и вирусами
- токсинами и антителами
- лектинами
- ферментами углеводного метаболизма
- гормонами

Углевод-связывающие белки – необходимые участники

15

Гликобиология изучает не только гликом, но и соответствующий ему протеом:

- лектины
- ферменты углеводного метаболизма
- антитела к углеводам



Необходимыми участниками процесса узнавания углеводов являются углевод-связывающие белки.

Это

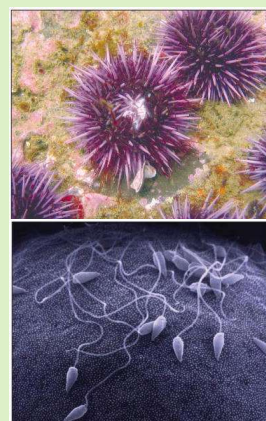
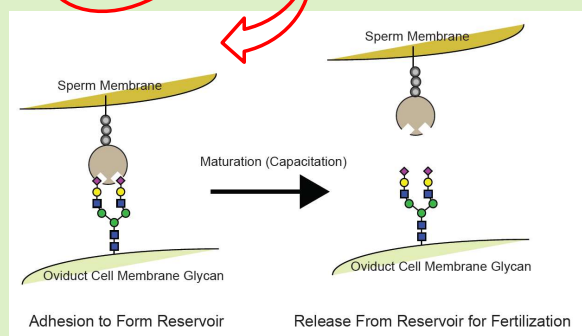
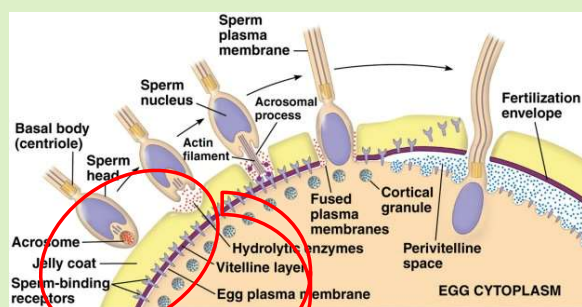
- лектины
- ферменты углеводного метаболизма
- антитела к углеводам

Поэтому гликобиология изучает не только гликом, но и соответствующий ему протеом.

А теперь несколько примеров важности углевод-белковых взаимодействий и структуры гликана.

Роль углеводов в процессе оплодотворения

16



Слиянию сперматозоида с яйцеклеткой предшествует его связывание с гликанами на поверхности яйцеклетки и его активация (capacitation).

7. *Comprehensive Glycoscience. From Chemistry to System Biology*, 2007, Ch. 3.23.5.3, p. 505 (2217).

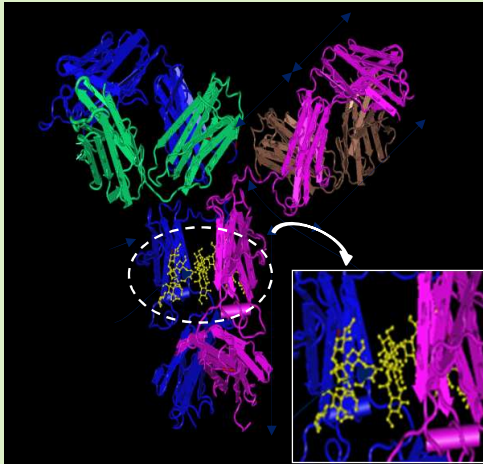
Получены многочисленные свидетельства участия гликанов и углевод-связывающих белков в различных стадиях репродуктивных процессов. Наиболее изученными в этом отношении организмами являются морские ежи. Именно на них были сделаны основные открытия, касающиеся роли гликанов в видо-специфическом связывании сперматозоида с яйцеклеткой и блокировании полиспермии.

На этом слайде показано связывание сперматозоида с гликанами на поверхности яйцеклетки, что приводит к его активации (capacitation), высвобождению содержимого акросомного пузырька, ферменты которого разрушают защитную гелеобразную оболочку яйцеклетки, состоящую из сильно гликозилированных муцино-подобных белков. Этот процесс предшествует слиянию сперматозоида с яйцеклеткой и собственно оплодотворению.

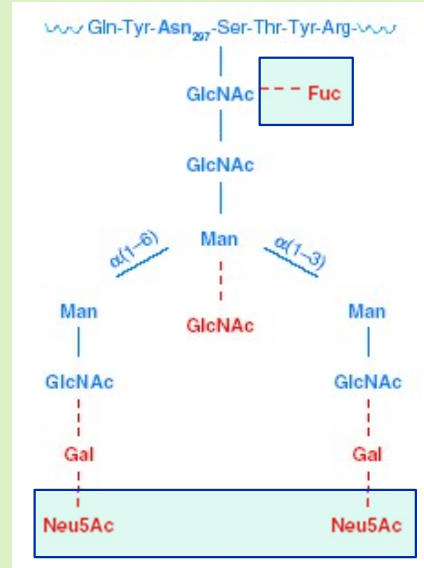
N-цепи иммуноглобулина IgG человека

17

Только вариант без фукозы взаимодействует с цитотоксичными клетками



Противовоспалительный эффект Neu5Ac-варианта



Следующий пример. Иммуноглобулин человека.


Оказывается, в зависимости от строения олигосахаридных цепей этого гликопротеина зависят его свойства, и очевидно, функции.

Так, только вариант без внутренней фукозы взаимодействует с цитотоксичными клетками. Обратите внимание на то, как глубоко «закопан» этот моносахаридный остаток!

А вариант этого белка, несущий дополнительно остатки N-ацетилнейраминной кислоты (обозначается как Neu5Ac) проявляет противовоспалительный эффект.

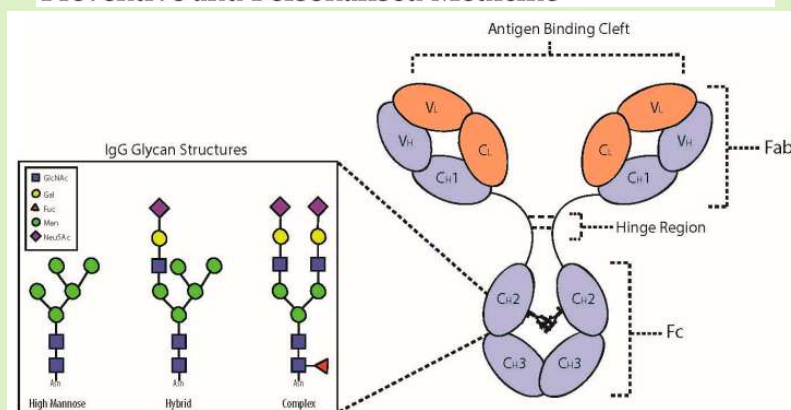
N-цепи иммуноглобулина IgG человека: динамический маркер для предсказательной, профилактической и персонализированной медицины

18

International Journal of
Molecular Sciences 

Review *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 390; doi:10.3390/ijms19020390

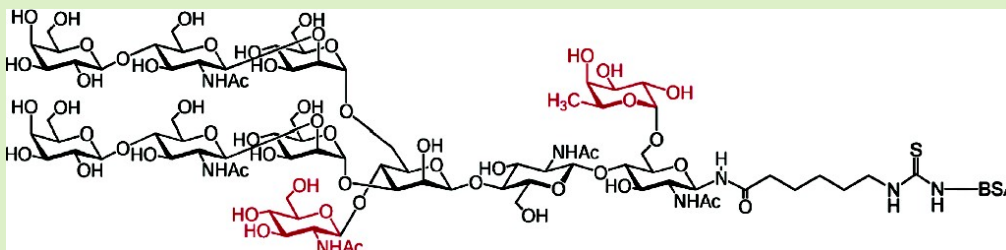
**Unravelling Immunoglobulin G Fc N-Glycosylation:
A Dynamic Marker Potentiating Predictive,
Preventive and Personalised Medicine**



Знание о том, какие углеводные цепи присутствуют в иммуноглобулинах человека, может быть использовано в рамках предсказательной, профилактической и персонализированной медицины.

Неогликопротеины с различными N-гликанами 19

наличие / отсутствие остатка



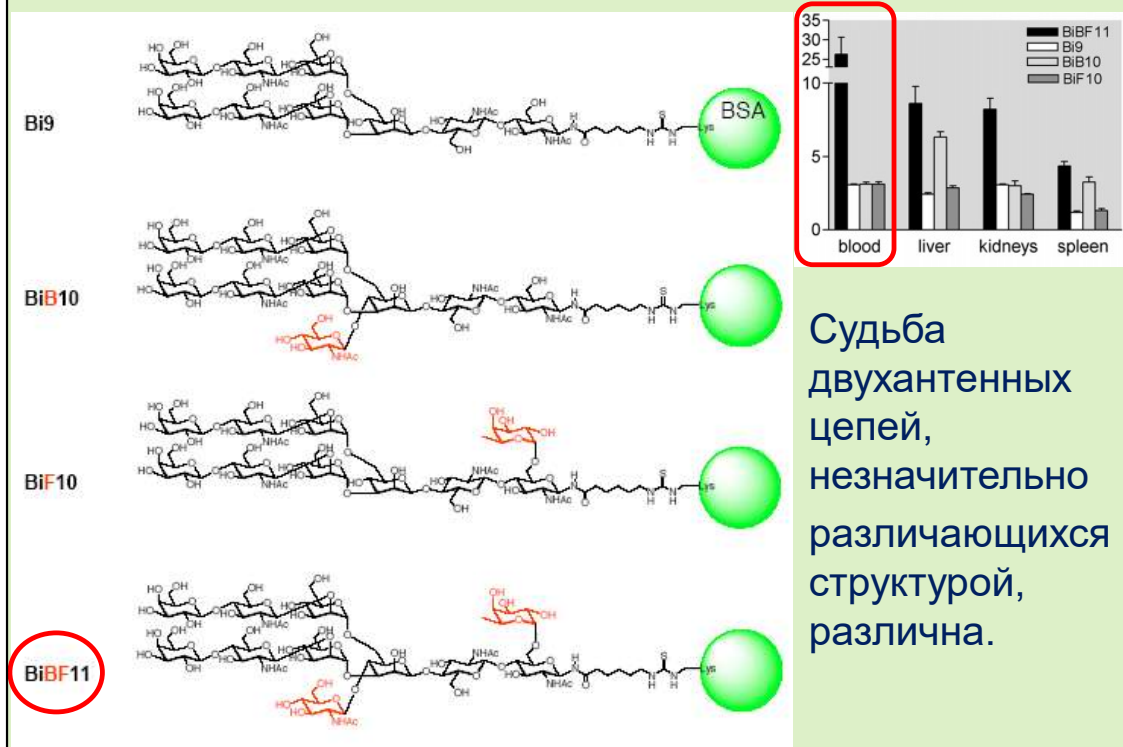
наличие / отсутствие остатка

S. André *et al. Biochemistry* 2007, 46, 6984. DOI: 10.1021/bi7000467.

Следующий пример.

Было изучено, насколько сильно могут небольшие вариации структуры гликана влиять на свойства одного и того же гликопротеина. Такие олигосахариды относятся к классу так называемых двухантенных комплексных N-цепей. Варьировали присутствие этих двух моносахаридных остатков, отмеченных цветом. Возможны четыре варианта структуры гликана: без заместителей, по одному в каждом положении и с двумя заместителями. Для исследования были нужны четыре гликопротеина. В данном случае в руках у исследователей отсутствовали образцы природных гликопротеинов с такими олигосахаридами. Поэтому они взяли природный белок – альбумин и химически присоединили к нему необходимые олигосахариды. Это так называемые НЕО-гликопротеины. Здесь уместно отметить, что в гликобиологии часто используют модельные соединения, имитирующие природные соединения. Это связано с крайне малой доступностью природных соединений и их гетерогенностью. Вопросы гетерогенности гликопротеинов и возможности использования неогликопротеинов как замены им мы обсудим в следующих лекциях.

Неогликопротеины с различными N-гликанами 20



Судьба двухантенных цепей, незначительно различающихся структурой, различна.

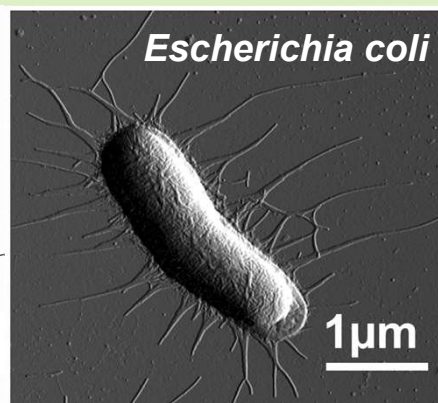
Полученные неогликопротеины были помечены радиоактивным иодом и затем введены в кровь мышам. Через час измерили содержание всех четырех неогликопротеинов в крови и в различных органах. Неожиданно оказалось, что судьба двухантенных цепей, столь незначительно различающихся структурой, крайне различна. Неогликопротеин, содержащий ундекасахарид с двумя модифицирующими заместителями (обведен красным), почему-то не желал выводиться из кровотока. Его содержание в разы превышало содержание остальных неогликопротеинов. Данные обведены красным. Это наблюдение контрастирует с тем, что обычно гликопротеины с терминальным остатком галактозы быстро выводятся из кровотока и попадают в печень. Авторы объяснили этот феномен тем, что введение двух моносахаридов привело к изменению конформации олигосахарида и он больше не узнавался галактоза-связывающим лектином печени.

Из этого следует два вывода:

- Даже один дополнительный моносахаридный остаток вдали от места связывания с углевод-связывающим белком может существенно изменить общую конформацию олигосахарида и промодулировать его способность связываться с этим белком,
- Эти данные удалось получить только благодаря тому, что стали доступны существенные количества вот таких сложных олигосахаридов. Отмечу, что они были получены химическим синтезом. В настоящее время это единственный практически значимый путь их получения. О химическом

синтезе олигосахаридов мы будем говорить на следующей лекции.

P-Фимбрии – PapG: галабиоза
Фимбрии типа 1 – FimH: манноза



7. *Comprehensive Glycoscience. From Chemistry to System Biology*, 2007, Ch. 3.28.3.1, p. 636 (2346).
22. *Glycoscience and Microbial Adhesion*. K. Lindhorst, S. Oscarson (Eds.), 2009, 186 pp.
61. A. Bernardi, *et al.* Multivalent glycoconjugates as anti-pathogenic agents. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4709.

К настоящему времени накопилось достаточно много весьма убедительных данных в пользу того, что всякая бактериальная инфекция начинается со связывания бактерии с поверхностными углевод-содержащими молекулами клеток хозяина.

Распознавание углеводов поверхности клетки-хозяина лектином бактерии является первым этапом бактериальной адгезии и последующей инвазии.

На концах фимбрий (другое название – пили) бактерий расположены адгезины – белки, специфично связывающиеся с определенными углевод-содержащими структурами на поверхности животной клетки. Так, например, адгезины фимбрий типа 1 уропатогенных штаммов кишечной палочки способны узнавать гликопротеины, содержащие маннозу, а адгезины P-фимбрий – гликолипиды глобо-серии, содержащие дисахарид галабиозу. При этом штаммы бактерии, вырабатывающие адгезин PapG, вызывают заболевания почек (пиелонефрит), в то время как другие штаммы бактерий, вырабатывающие адгезин FimH, вызывают воспаления нижних отделов мочевых путей.

У тех редко встречающихся людей, у которых нет фактора P (в крови и на эпителии), эпителиальные клетки мочевых путей не связывают бактерии кишечной палочки, несущие P-фимбрии. Такие индивиды значительно меньше подвержены инфекциям этой бактерии по сравнению с другими людьми. Однако экспериментально установлено, что если их эпителиальные клетки покрыть синтетическим гликолипидом, содержащим галабиозу, то эти клетки приобретают способность связываться с *E. coli*.

Углеводы поверхности клеток – сайты присоединения бактериальных патогенов

22

Organism	Target tissue	Carbohydrate	Structure
<i>E. coli</i> Type 1	Urinary	Man α 3Man α 6Man	GP
<i>E. coli</i> P	Urinary	Gal α 4Gal	GL
<i>E. coli</i> S	Neural	NeuAc (α 2-3)Gal β 3GalNAc	GL
<i>E. coli</i> CFA/1	Intestinal	NeuAc (α 2-8)	GP
<i>E. coli</i> F1C	Urinary	GalNAc β 4Gal β	GL
<i>E. coli</i> F17	Urinary	GlcNAc	GP
<i>E. coli</i> K1	Endothelial	GlcNAc β 4GlcNAc	GP
<i>E. coli</i> K99	Intestinal	NeuAc(α 2-3)Gal β 4Glc	GL
<i>C. jejuni</i>	Intestinal	Fuc α 2Gal β GlcNAc	GP
<i>H. pylori</i> NP 2005	Stomach	NeuAc(α 2-3)Gal β 4GlcNAc Fuc α 2Gal β 3(Fuc α 4)Gal	GP GP
<i>K. pneumoniae</i>	Respiratory	Man	GP
<i>N. gonorrhoea</i>	Genital	Gal β 4Glc(NAc)	GL
<i>N. meningitidis</i>	Respiratory	[NeuAc(α 2-3)] Gal β 4GlcNAc β 3Gal β 4GlcNAc	GL GL
<i>P. aeruginosa</i>	Respiratory	L-Fuc	GP
	Respiratory	Gal β 3Glc(NAc) β 3Gal β 4Glc	GL
<i>S. typhimurium</i>	Intestinal	Man	GP
<i>S. pneumoniae</i>	Respiratory	NeuAc α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β 1- 3Gal β 1-4Glc	GL
<i>S. suis</i>	Respiratory	Gal α 4Gal β 4Glc	GL

GP = glycoprotein, GL = glycolipids

На этом слайде перечислены структуры углеводов поверхности клеток – сайты присоединения различных бактериальных патогенов. Он призван проиллюстрировать разнообразие углеводных структур, узнаваемых бактериями.

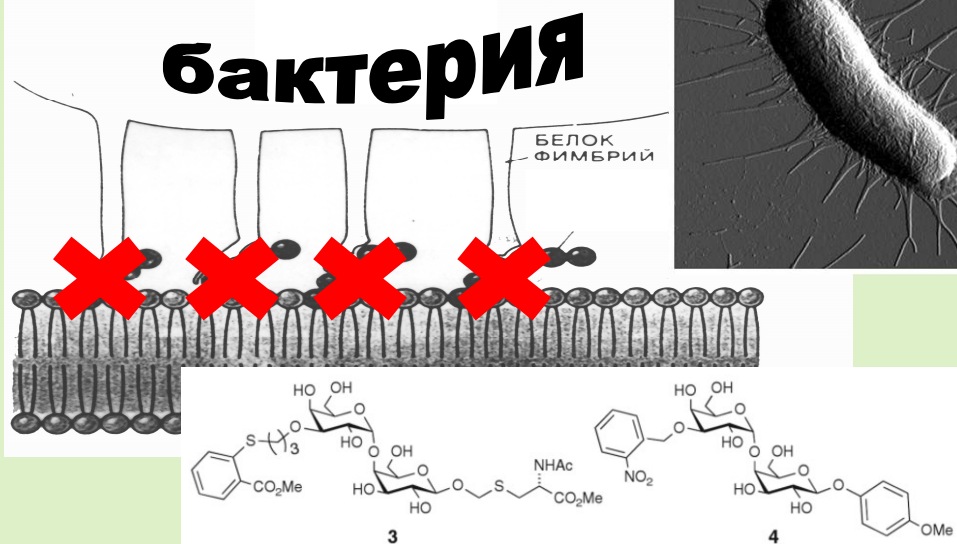
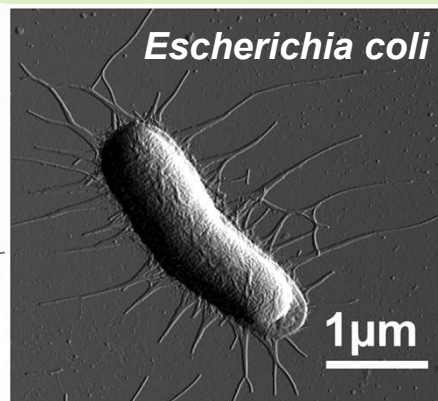
О важности этих процессов углевод-белкового узнавания свидетельствует следующий факт.

Было установлено, что многим известные гастрит и язва желудка связаны с инфицированием бактерией *Helicobacter pylori*, живущей в кислом содержимом желудка и в его слизистой оболочке. “За открытие бактерии *Helicobacter pylori* и ее роли при гастрите и язвенной болезни” в 2005 г. была присуждена Нобелевская премия по медицине и физиологии.

Интересен фактически философский вопрос, зачем клетки животных создают на своей поверхности весьма специфичные сайты для присоединения патогенных бактерий. Т.е. создают в мощной системе защиты лазейки для врага. В литературе даже сравнивают этот феномен с предательством.

Ингибирование связывания лектина бактерии с углеводами клетки – антиадгезионная терапия 23

P-Фимбрии – PapG: галабиоза
Фимбрии типа 1 – FimH: манноза



Изучение бактериальной адгезии ведется уже многие годы и является одним из самых разработанных направлений исследований в гликобиологии. Действительно, если научиться ингибировать связывание лектина бактерии с углеводами клетки, то это может явиться основой антиадгезионной терапии. В некоторых случаях это действительно удается. Здесь показаны структуры ингибиторов адгезина PapG, которые были успешно использованы для терапии пиелонефрита. Бактерии «предпочитают» связываться с этими веществами, а не с остатками галабиозы на эпителиальных клетках почек.

Примеры «неспецифических» функций гликанов

24

гликомолекула	функция
GP1-якорь гликопротеинов	конструкционный материал
О- и N-цепи гликопротеинов Пример: муцины ЖКТ	защита белка от протеолиза
О- и N-цепи гликопротеинов Примеры: IgG	стабилизация оптимальной конформации белка
О- и N-цепи гликопротеинов Примеры: липопротеины	гидрофилизация клетки, увеличение растворимости белка
О- и N-цепи гликопротеинов Пример: рекомбинантные ГП	защита от действия собственного иммунитета
Сиалированные и сульфатированные цепи гликопротеинов	поддержка локального значения pH; развернутая конформация гликопротеинов
Муцины, протеогликаны	увеличение вязкости среды, барьерная функция
О- и N-цепи гликопротеинов	секреция

Наряду со «специфическими» функциями гликанов, примеры которых только что были приведены, можно условно выделить и другие, «неспецифические» функций углеводов в живых системах.

ЧИТАТЬ

Это и конструкционный материал, и стабилизация оптимальной конформации белка, и поддержание локальной кислотности.

Это и увеличение растворимости липофильных белков путем их гидрофилизации.

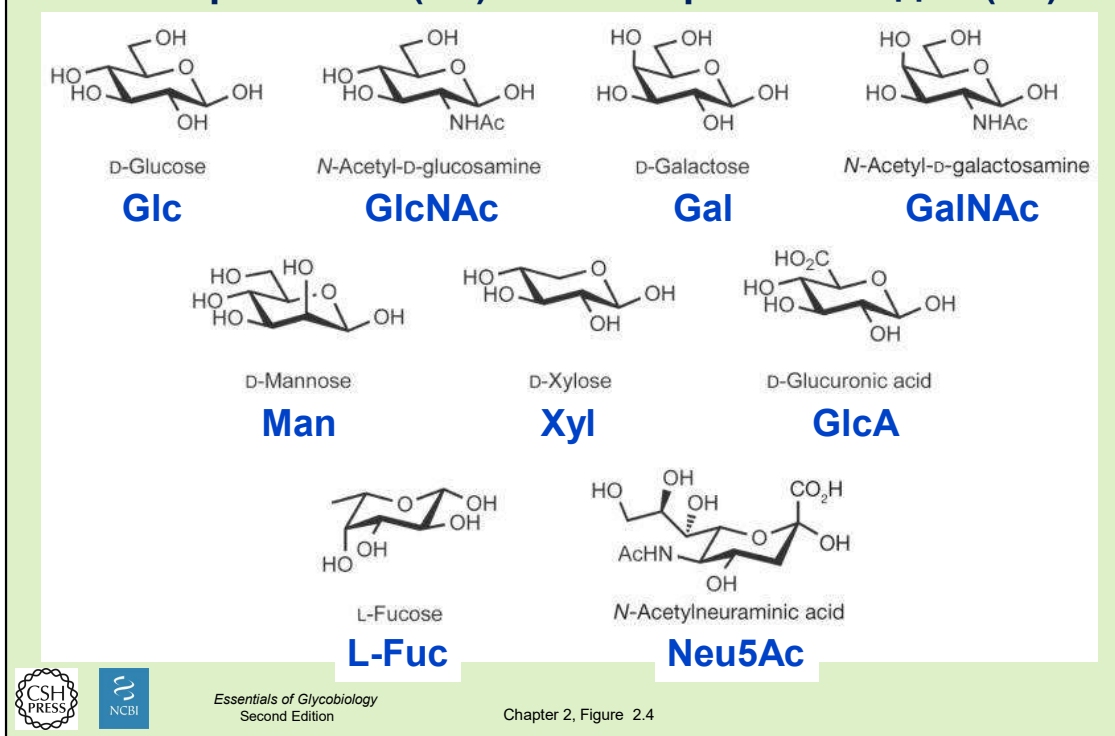
Это и барьерная функция, достигаемая, например путем увеличения вязкости среды.

Наконец это секреторная функция. Многие гликопротеины выполняют функции гормонов.

Ну и конечно всем известна энергетическая функция гликанов. Это резервный полисахарид крахмал в растениях и гликопротеин гликоген в животных, содержащий родственный гликан.

С некоторыми из них мы познакомимся ближе на следующих лекциях.

Типичные моносахариды углеводных цепей гликопротеинов (ГП) и гликофинголипидов (ГЛ)²⁵



На этом слайде приведены структуры типичных моносахаридов углеводных цепей гликопротеинов и гликофинголипидов.

Это три гексозы (т.е. шестиуглеродных сахара) – D-глюкоза, D-манноза и D-галактоза.

Одна пентоза – D-ксилоза.

Одна дезоксигексоза – фукоза, которая в клетках животных всегда имеет L-конфигурацию (отмечу, что в бактериях это не так).

Обратите внимание на то, что – вопреки устоявшимся мифам – далеко не все сахара имеют D-конфигурацию.

Два аminosахара – N-ацетилированные производные D-глюкозамина и D-галактозамина, формально получаемые из глюкозы и галактозы заменой одной из гидроксильных групп на аминогруппу.

Из уроновых кислот показана только D-глюкуроновая кислота, формально получаемая из глюкозы заменой гидроксиметильной группы на карбоксильную.

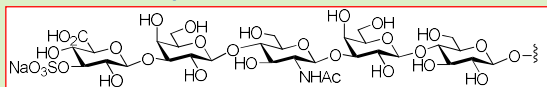
И очень сложный на вид девятиуглеродный сахар - N-ацетилнейраминавая кислота.

Подробнее о способах изображения сахаров мы поговорим сегодня во второй части лекции и на семинарах.

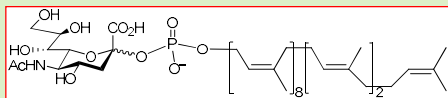
Модификации по гидроксильной и амино группам

26

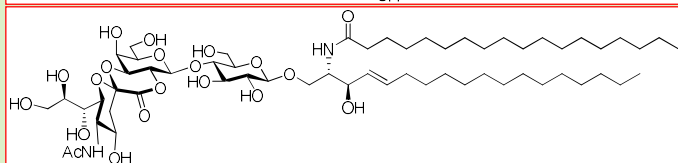
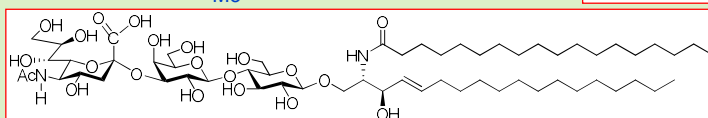
Пентасахарид антигена НК-1



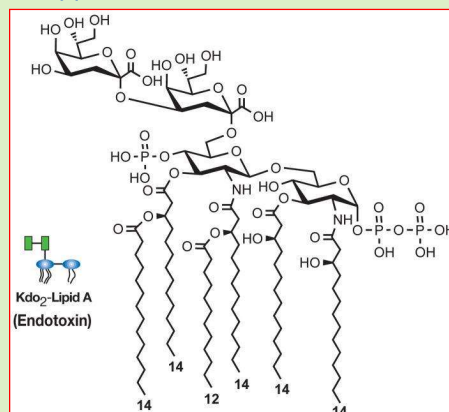
Сиалил(полипренил)фосфат



Ганглиозид G_{M3}: кислота и лактон



Эндотоксин *E. coli*



сульфат
фосфат
ацетил (ацил)
лактон

Отдельно надо отметить возможность модификации моносахаридных остатков по гидроксильной и амино группам.

Это сульфаты, фосфаты, ацетаты, и вообще ацильные заместители и в частности внутримолекулярные сложные эфиры – лактоны.

Вот несколько примеров.

В то время как сульфат всегда находится на периферии молекулы, остаток фосфорной кислоты может быть как терминальным заместителем, так и являться компонентом основной цепи.

Из ацильных заместителей самым распространенным является ацетил. При ацетилировании гидроксильных групп образуются сложные эфиры – ацетаты. При ацетилировании аминогрупп – ацетамидные производные.

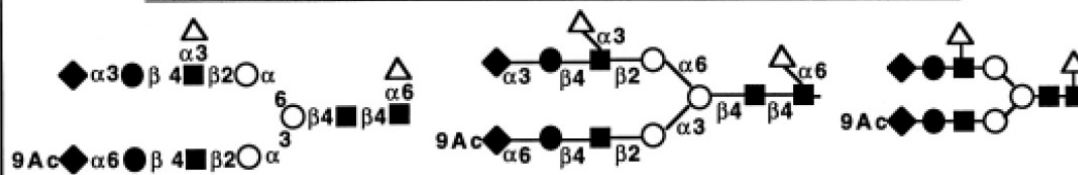
Остатки жирных кислот могут ацилировать как гидроксильные группы, так и аминогруппы. Это типичное замещение в липиде А, являющемся компонентом эндотоксина бактерий. Про эти структуры у нас будет более подробный разговор на третьей лекции.

Символы моносахаридов и типов связей (старая система)

27

▲ = Glucose (Glc)	● = Hexose, unspecified (Hex)	△ = Fucose (Fuc)
○ = Mannose (Man)		▽ = Xylose (Xyl)
● = Galactose (Gal)		◆ = Sialic acid, unspecified (Sia)
■ = N-acetylglucosamine (GlcNAc)		◇ = Glucuronic acid (GlcA)
□ = N-acetylgalactosamine (GalNAc)		◇ = Iduronic acid (IdoA)
▣ = N-acetylhexosamine, unspecified (HexNAc)		◇ = Uronic acid, unspecified (HexA)
Ac = O-acetyl	P = Phosphate	S = O-Sulfate
		NS = N-Sulfate
		NH ₂ = free amino group

EXAMPLES OF SYMBOLIC REPRESENTATIONS USED IN THIS BOOK



Essentials of Glycobiology
First Edition

Chapter 1, p. 11, Figure 1.4.



















При чтении литературы вам встретятся краткие трехбуквенные обозначения моносахаридных остатков. Они показаны в скобках. В последнее время в гликобиологической литературе для обозначения моносахаридов в составе олигосахаридов все чаще используют вот такие пиктограммы. На этом слайде приведен первоначальный черно-белый вариант, в котором различия в форме и заливке определяют моносахаридный остаток.

Предусмотрены специальные символы для обозначения модификации моносахаридных остатков по гидроксильной и amino группам (сульфаты, фосфаты, ацетаты).

С этими обозначениями вы встретитесь в более старых черно-белых публикациях.

Символы моносахаридов (новая система)

28

 Galactose (Gal)	 Xylose (Xyl)
 N-Acetylgalactosamine (GalNAc)	 N-Acetylneuraminic acid (Neu5Ac)
 Galactosamine (GalN)	 N-Glycolylneuraminic acid (Neu5Gc)
 Glucose (Glc)	 2-Keto-3-deoxynononic acid (Kdn)
 N-Acetylglucosamine (GlcNAc)	 Fucose (Fuc)
 Glucosamine (GlcN)	 Glucuronic acid (GlcA)
 Mannose (Man)	 Iduronic acid (IdoA)
 N-Acetylmannosamine (ManNAc)	 Galacturonic acid (GalA)
 Mannosamine (ManN)	 Mannuronic acid (ManA)



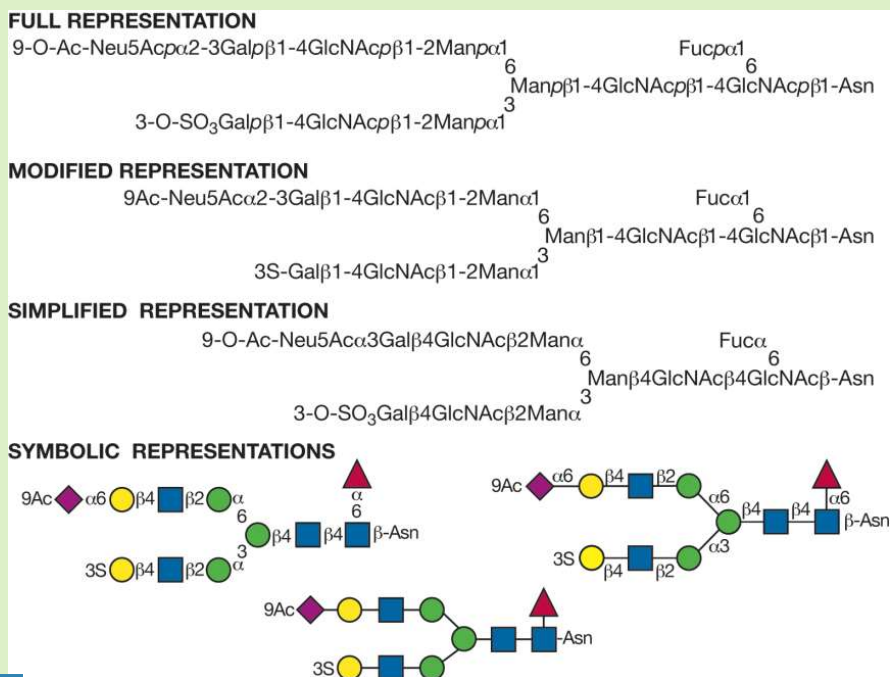
Essentials of Glycobiology
Second Edition

Chapter 1, Figure 5

В дальнейшем эта система обозначений была модифицирована и в настоящее время она является общепринятой.

Форма пиктограмм совпадает у моносахаридов, относящихся к одному классу (например, символы всех гексоз круглые, аминсахара – квадраты, все кислоты - ромбы).

Для различения отдельных представителей был добавлен цвет.

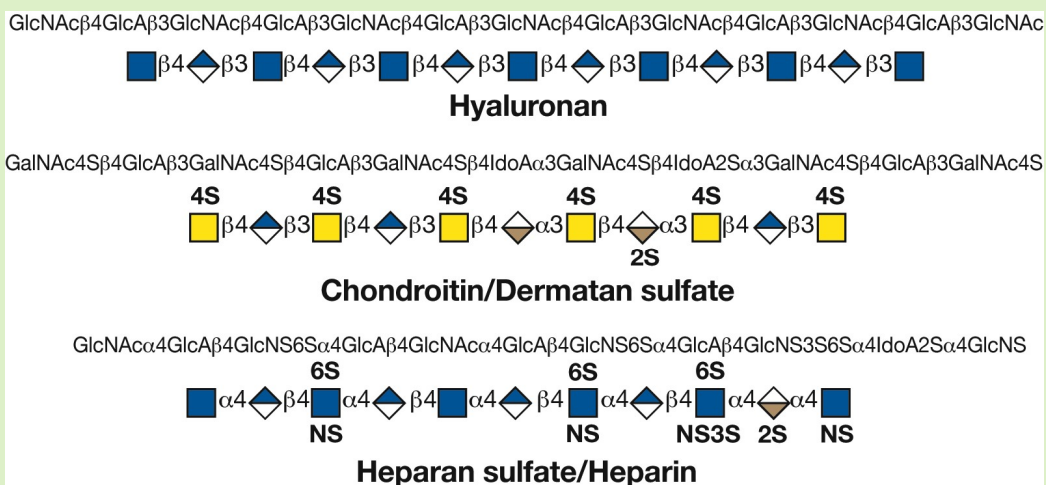


Essentials of Glycobiology
Second Edition

Chapter 1, Figure 5

Для полного описания структуры олигосахарида необходимо указать также положение замещения и конфигурацию аномерного центра. Это можно сделать вот такими способами. Вам встретятся все варианты.

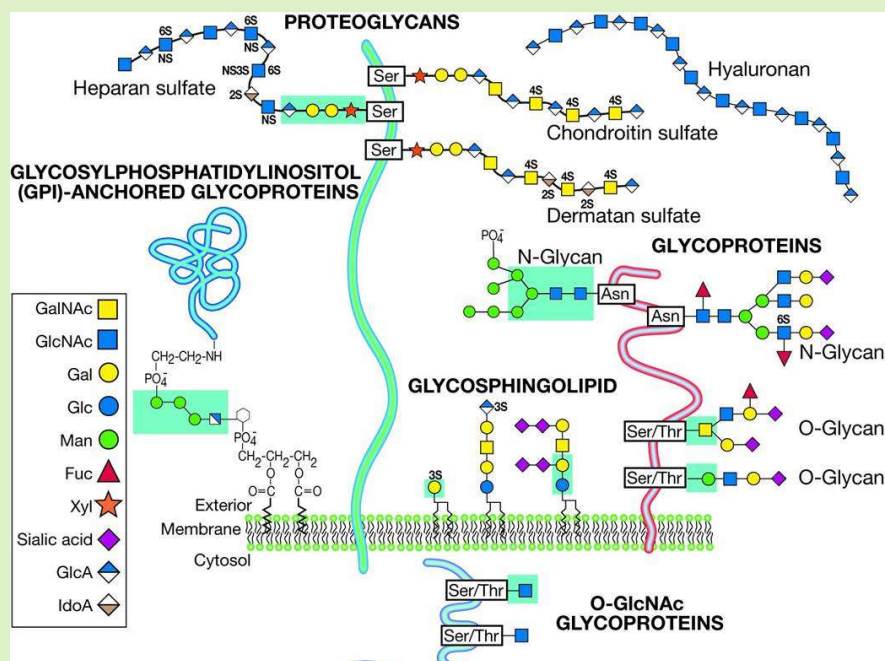
Здесь приведены примеры гликанов N-цепей гликопротеинов. О гликопротеинах мы будем говорить на третьей лекции.



А вот так можно изображать структуру полисахаридов.
 Это гиалуриновая кислота, это хондроитин-сульфат, а это гепарин.
 О полисахаридах мы будем говорить на четвертой лекции.

Основные классы гликанов животных

31



10. *The Sugar Code. Fundamentals of glycosciences*, 2009, 569 pp.
49. H.-J. Gabius, *et al. Trends Biochem. Sci.* **2011**, 36, 298.
62. D. Solisa, *et al. Biochim. Biophys. Acta* **2015**, 1850, 186.

The Sugar Code
Гликокод

А вот так с помощью этих символов можно изобразить структуру основных классов гликанов животных.

Обратите внимание на присутствие разнообразных неуглеводных заместителей, модифицирующих в определенных местах углеводную цепь.

Это сульфатная группа в протеогликанах и гликолипидах.

Это фосфатная группа в гликопротеинах и гликолипидах. Напомню, что фосфат может быть боковым заместителем, а может быть частью главной цепи.

О гликопротеинах мы будем говорить на третьей лекции.

О гликолипидах, протеогликанах и полисахаридах мы будем говорить на четвертой лекции.

На этом слайде хорошо видно, что в отличие от белков и нуклеиновых кислот углеводы способны образовывать огромное разнообразие как линейных, так и разветвленных структур, только некоторые из которых показаны здесь.

Такая ситуация создает фантастические возможности для кодирования информации с помощью углеводных структур. Углеводы – очень подходящая материальная основа для кодирования информации, в некотором смысле даже более подходящая, чем белки и нуклеиновые

кислоты. Например, две одинаковые аминокислоты можно соединить друг с другом только одним способом (из них получается только один дипептид). То же и с двумя одинаковыми нуклеотидами – из них более одного динуклеотида никак не получится. Однако из двух молекул глюкозы, соединяя их друг с другом по-разному, можно получить целых девять разных дисахаридов. Начиная с трисахарида, возможно образование разветвленных структур.

В настоящее время, по аналогии с генетическим кодом, для биологической информации, записанной языком углеводных структур, употребляется выражение Sugar Code, т.е. углеводный код или гликокод.

Гликобиология занимается его расшифровкой.

Именно об этом мы будем говорить на всех лекциях.

Лекция 1

Введение в гликобиологию

Сtereoхимия моно- и олигосахаридов

7. *Comprehensive Glycoscience. From Chemistry to System Biology*, Kamerling, J. et al. (Eds.), 2007, Ch. 1.01, p. 1-16.
13. Н. К. Кочетков и др. *Химия углеводов*, 1967, с. 17-31.
18. М.А. Маслов, Н.Г. Морозова. *Основы химии углеводов. Часть 1*. 2005, с. 4-10.
3. Ю. С. Шабаров и др., *Моно- и дисахариды*, 2010, *Часть I*, с. 24-43, *Часть II*, с. 39-50.

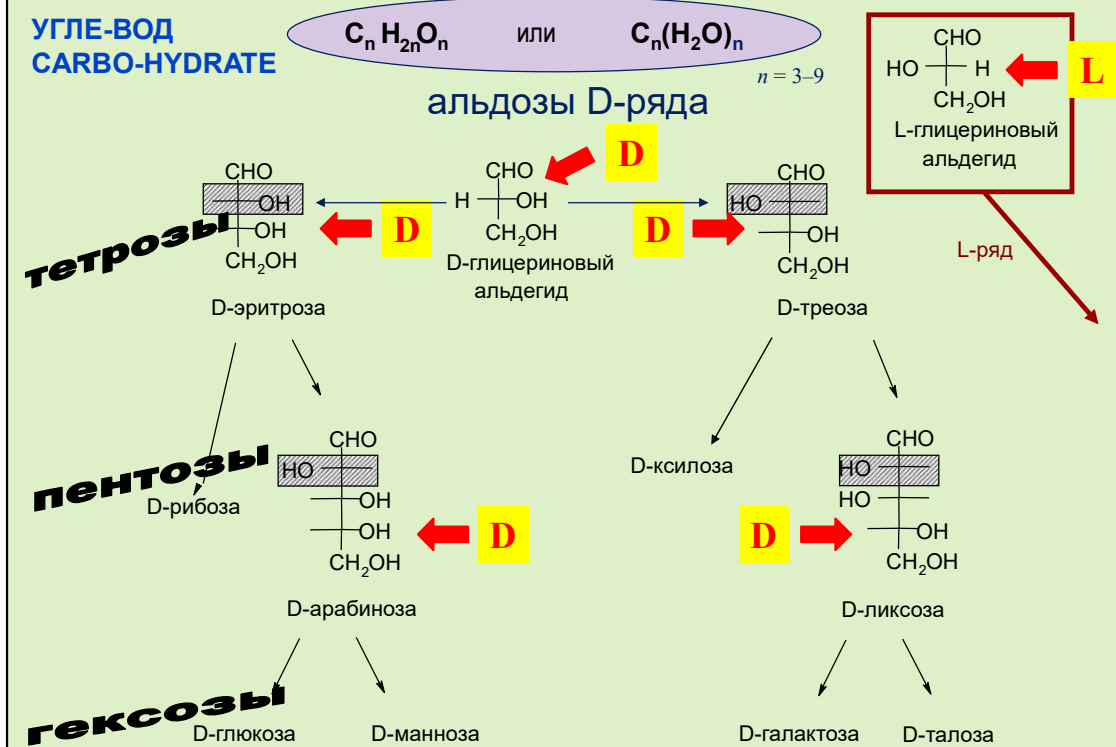
Важно понимать, что на самом деле скрывается за такими красивыми обозначениями.

Поэтому теперь перейдем ко второй части лекции, посвященной номенклатуре и стереохимии углеводов. На самом деле, именно пространственное распределение определенных атомов моно-, олиго- и полисахаридов определяет их химические, физические и биологические свойства. Немного преувеличивая, можно сказать, что почти все определяется стереохимией.

Сегодня мы ограничимся только стереохимией моно- и олигосахаридов.

Строение моносахаридов

33



Все сложные углеводы могут путем кислотного гидролиза быть расщеплены на моносахариды, которые дальше не расщепляются.

Как же устроены моносахариды, из которых построены более сложные углеводы?

Название УГЛЕ-ВОД само говорит за себя. Формально, на один атом углерода приходится одна молекула воды. Английское название CARBO-HYDRATE предлагает считать углеводы гидратами углерода.

Все типичные углеводы являются гидроксиальдегидами или гидроксикетонами. Их называют также альдозами и кетозами.

Во всех присутствует цепь хиральных гидроксиметиленовых фрагментов и оксо-группа альдегида или кетона.

Простейшей трехуглеродной альдозой является глицериновый альдегид. Это – триоза (не путать с трЕозой- четырехуглеродным сахаром с трео-конфигурацией!). Молекулы триоз содержат три атома углерода.

Присоединение одной гидроксиметиленовой группы дает тетрозы, двух – пентозы, трех – гексозы и т.д. Название отражает общее число углеродных атомов в молекуле моносахарида.

В молекуле глицеральдегида присутствует один хиральный центр, что приводит к существованию двух энантиомерных глицеральдегидов – родоначальников D- и L-рядов альдоз. D-глицеральдегид показан слева, у него гидроксильная группа на этой схеме направлена вправо. Справа показан L-глицеральдегид, у него гидроксильная группа на этой схеме

направлена влево. Это условные схемы, называемые проекциями Фишера. Об этой проекции – на следующих слайдах. Сейчас важно, что положение заместителя справа и слева от вертикальной линии, обозначающей углеродную цепь, соответствует противоположным ОТНОСИТЕЛЬНЫМ конфигурациям соответствующего хирального центра, обозначаемого пересечением вертикальной и горизонтальной линий.

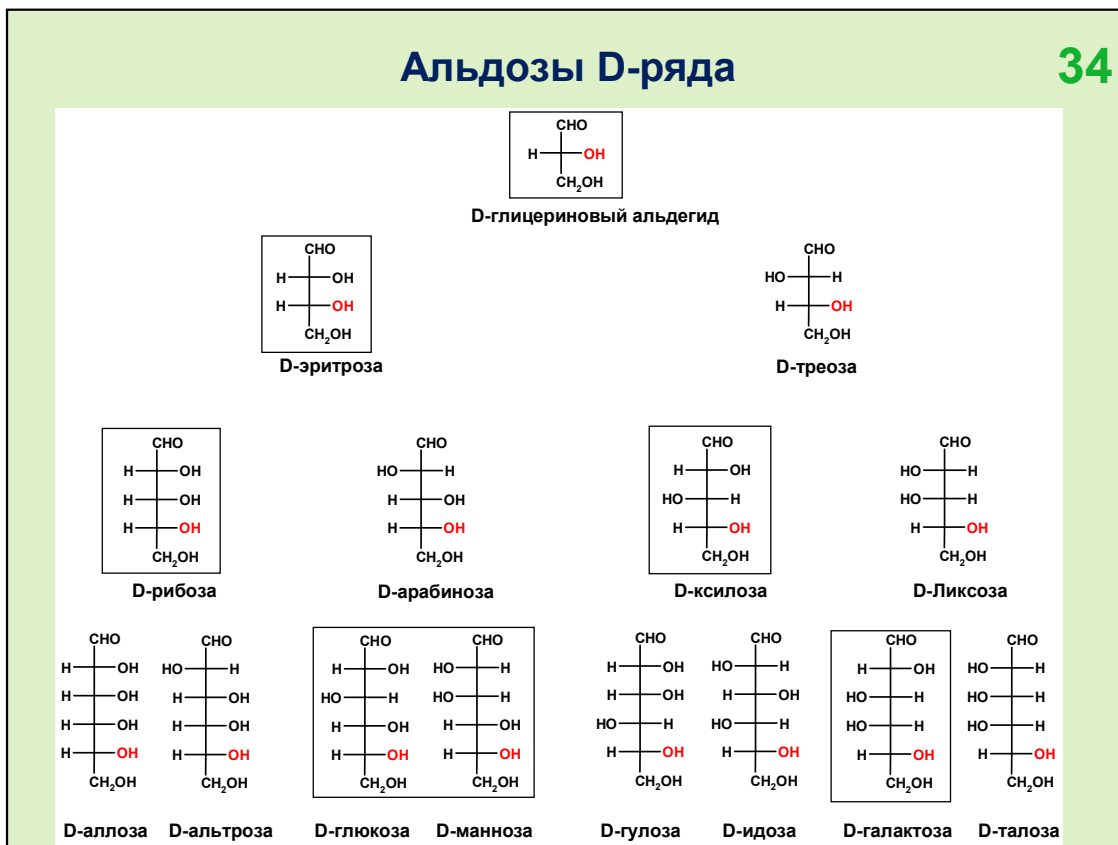
Слово ряд возникает вследствие того, что на основе этих двух родоначальных триоз могут быть построены – и формально и химически – все остальные альдозы.

При этом те, у которых хиральный центр рядом с гидроксиметильной группой, имеет вот такую конфигурацию относятся к D-ряду, вне зависимости от конфигурации остальных атомов. Те альдозы, у которых хиральный центр рядом с гидроксиметильной группой имеет противоположную конфигурацию относятся к L-ряду. Иными словами, АБСОЛЮТНАЯ конфигурация этого центра определяет ФОРМАЛЬНУЮ АБСОЛЮТНУЮ конфигурацию всей молекулы альдозы.

Удлинение цепи альдоз приводит к двум новым альдозам, которые различаются конфигурацией только одного асимметрического центра. Такие соединения называются эпимерами. Так эритроза – эпимер треозы по атому C-2. Напомню, что в органической химии принято давать наименьший номер атома самой старшей функциональной группе, в данном случае альдегидной.

Альдозы D-ряда

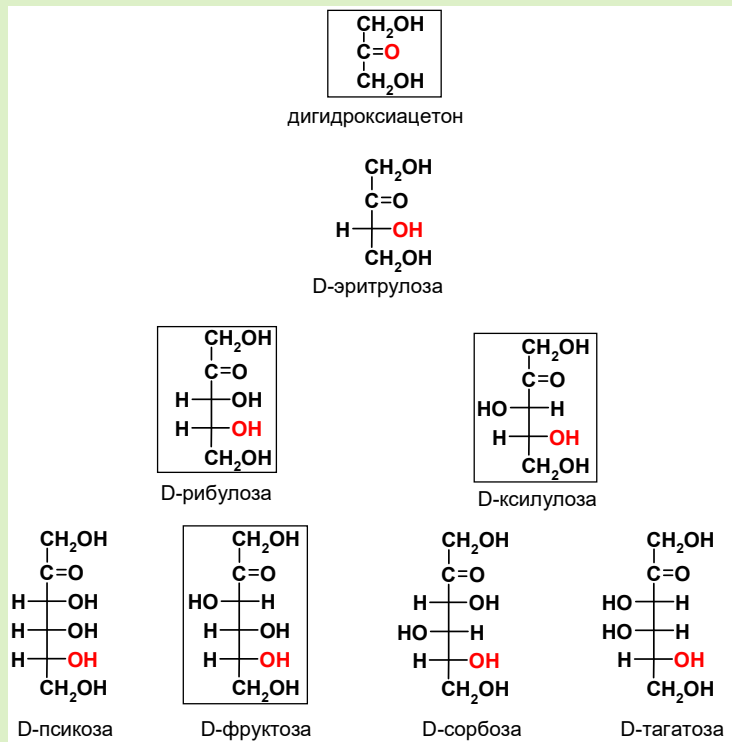
34



На этом слайде приведены все альдозы D-ряда от триозы до гексозы.

Кетозы D-ряда

35

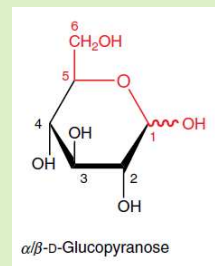


На этом слайде приведены все кетозы D-ряда от триозы до гексозы.

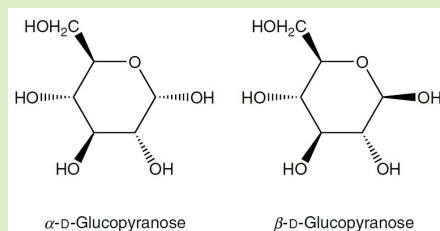
Способы изображения моносахаридов: Glc

36

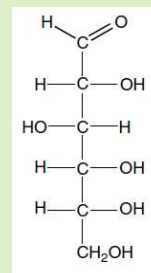
▶ Хеурс



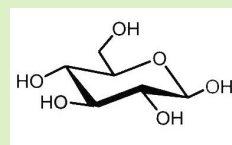
▶ Миллс



▶ Фишер



▶ Конформационный способ («перспективные» формулы)



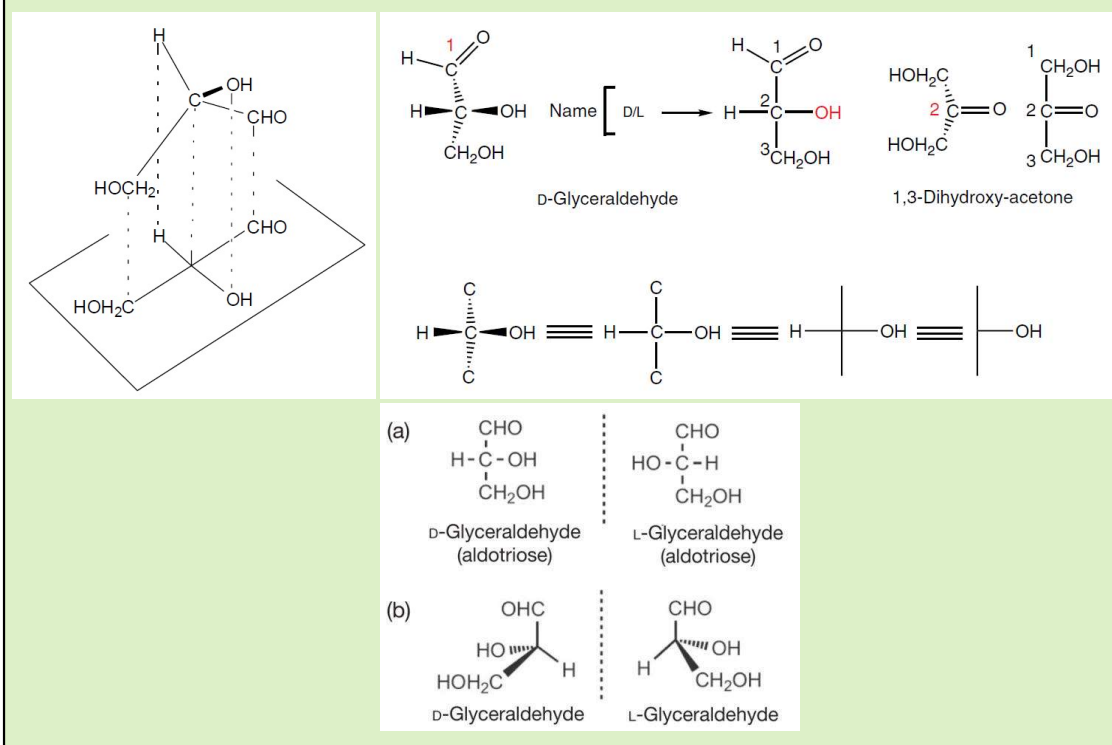
Один и тот же моносахарид можно изобразить по-разному.

Здесь показаны различные способы изображения моносахарида глюкозы, возникшие в различные исторические периоды и отражавшие потребности того времени. Вы встретите в литературе все варианты. Есть ситуации, когда предпочтительнее использовать только какой-то конкретный способ изображения моносахаридов.

Первые три варианта называются проекциями. Каждая из них носит имя человека, ее предложившего. Это проекции Фишера, Хеурса и Миллса. Они преследуют только одну цель: корректно отобразить конфигурацию каждого хирального центра и не более. Для изображения циклических форм моносахаридов в настоящее время используют главным образом проекции Хеурса или Миллса.

Последний вариант здесь условно назван конформационным. В этом случае делается попытка изобразить на плоскости реальное расположение атомов моносахарида в пространстве.

Проекция Фишера: простейшие альдоза/кетоза 37



Что же такое проекция Фишера? Это - наиболее простой и исторически первый способ изображения молекул, содержащих хиральные центры. Это - в то же время самый важный способ, т.к. все остальные варианты изображения моносахаридов базируются на хорошем понимании того, как устроена проекция Фишера. Эта тема обычно достаточно трудна для начинающих, поэтому сегодня я уделю ей достаточно много времени. А потом мы вернемся к ней на семинарах, где мы будем решать задачи.

Рассмотрим построение проекции Фишера для простейшей альдозы – глицеральдегида, молекула которого включает только три атома углерода, средний (центральный) из которых имеет различные заместители и потому является хиральным.

Как известно, заместители вокруг атома углерода располагаются в вершинах тетраэдра. В данном простейшем случае молекулу располагают так, чтобы заместители при центральном атоме углерода попали в вершины тетраэдра, а сам атом располагался в его центре. При этом атом с наименьшим номером – альдегидная группа – располагают «сверху», как это показано здесь. Три атома углерода образуют вертикальную плоскость.

Видно, что альдегидная и гидроксиметильная группы расположены позади центрального атома – дальше от нас (связи помечены штриховкой), а атом водорода и гидроксильная группа расположены ближе к нам (связи помечены сплошными клинышками). При такой ориентации молекулы

углеродная цепь вытянута в линию в вертикальном направлении и выпукла по отношению к нам. На нас смотрит «горб», образованный центральным атомом углерода.

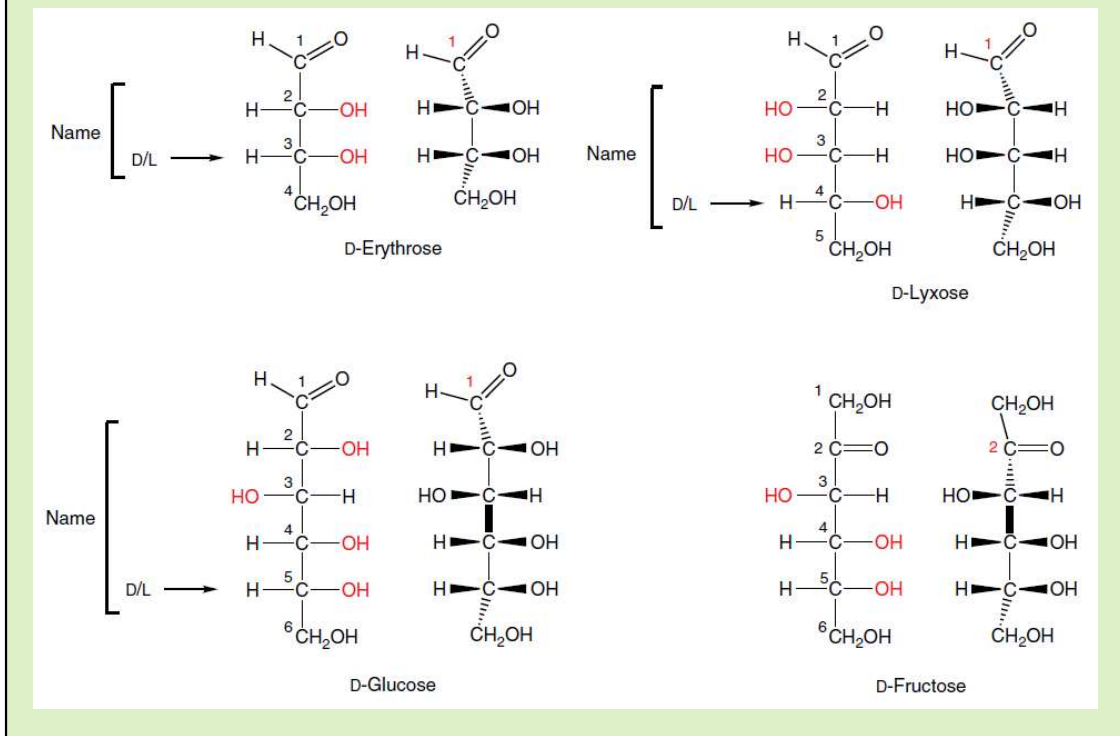
Затем ориентированную молекулу проецируют на плоскость, перпендикулярную плоскости, образованной тремя атомами углерода. Это показано слева. Тогда заместитель, находящийся справа от вертикальной плоскости, в которой лежит углеродная цепь, окажется на проекции справа от вертикали, а расположенный слева – слева. От связей, соединяющих атомы, на проекции остаются перпендикулярные прямые линии, которые пересекаются в месте расположения центрального атома. Получается вот такая картинка (справа). Если гидроксильная группа расположена справа от вертикальной линии, то говорят, что такой хиральный центр имеет D-конфигурацию (это так в нашем примере). Если слева, то L-конфигурацию.

В центре слайда показан переход от клиновидных связей к проекции Фишера для изолированного атома углерода, с одним атомом водорода и одной гидроксильной группой. Символы атомов углерода часто опускают и получают упрощенное изображение проекции Фишера. Пересечения линий обозначают атомы углерода. Такой вариант можно встретить в учебниках.

Можно пойти по этому пути дальше и не изображать атомы водорода вообще, оставив только неводородные заместители. Неявно подразумевается, что атом углерода четырехвалентен и что все не изображенные заместители являются атомами водорода. Этот вариант показан справа. Это - современный вариант проекции Фишера, с которым можно встретиться в реальных научных публикациях.

Все остальные сахара построены из таких хиральных гидроксиметиленовых звеньев. Поэтому их изображение в проекции Фишера базируется на правильном сочленении этих блоков.

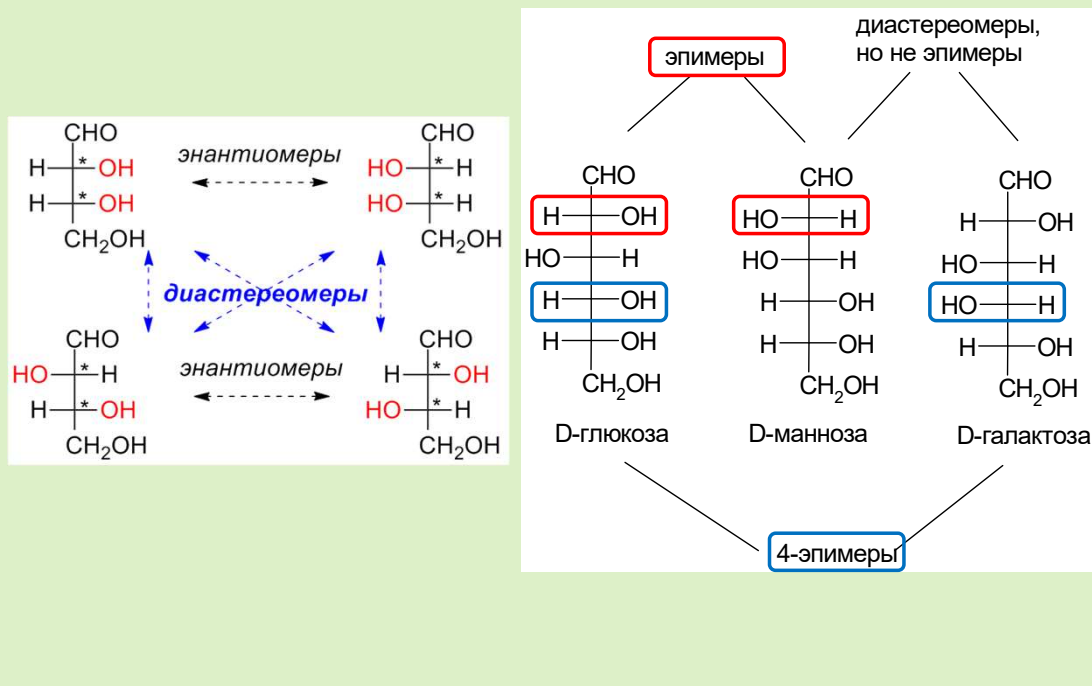
Проекция Фишера: тетроза, пентоза и гексозы 38



Вот четырех-углеродный сахар эритроза. Углеродную цепь вытягивают в плоскую вертикальную линию так, чтобы альдегидная группа располагалась сверху, а выпуклость была направлена на нас. Проецирование на плоскость так ориентированной молекулы дает вот такую проекцию, где обе гидроксильных группы расположены с одной и той же стороны ФОРМАЛЬНОЙ плоскости, включающей ВСЕ атомы углерода. В данном случае справа. Т.е. оба центра имеют D-конфигурацию. Подчеркну, что D- и L-конфигурации можно приписывать каждому из центров по отдельности, рассматривая его изолированно, как мы делали в случае глицеральдегида. А вот конфигурация центра с наибольшим номером определяет АБСОЛЮТНУЮ конфигурацию ВСЕЙ молекулы. Так просто принято считать.

Вот примеры более длинных сахаров. Тот же принцип. Все атомы углерода вытягивают в плоскую линию, располагают ее вертикально так, чтобы сверху был атом с наименьшим номером (у альдоз – альдегидная группа). И затем проецируют на плоскость. Все эти молекулы относятся к D-ряду, т.к. эта гидроксильная группа расположена справа на проекции Фишера.

Мы еще потренируемся на семинарах. Но будет больше толку, если вы заранее прочтаете дома про построение проекции Фишера (например в ЧЕРНОЙ КНИГЕ) и разберетесь сами. Задачи будут не совсем тривиальные. Подготовьтесь.



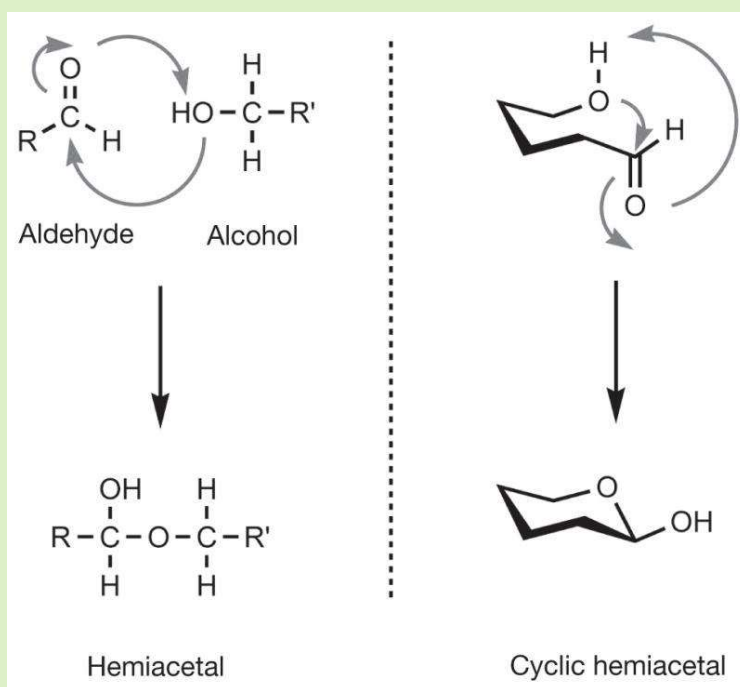
Для описания взаимоотношения конфигураций сахаров часто используют такие термины как энантиомеры, диастереомеры и эпимеры.

Если два стереоизомера имеют противоположные конфигурации ВСЕХ соответствующих стереоцентров, то они являются энантиомерами. Их изображения зеркальны. Энантиомеры существуют и для соединений с одним хиральным центром.

Диастереомерия возникает, когда соединение имеет несколько стереоцентров.

Диастереомеры — стереоизомеры, не являющиеся зеркальными отражениями друг друга.

Эпимеры – это диастереомеры, которые отличаются по конфигурации только ОДНОГО хирального центра.

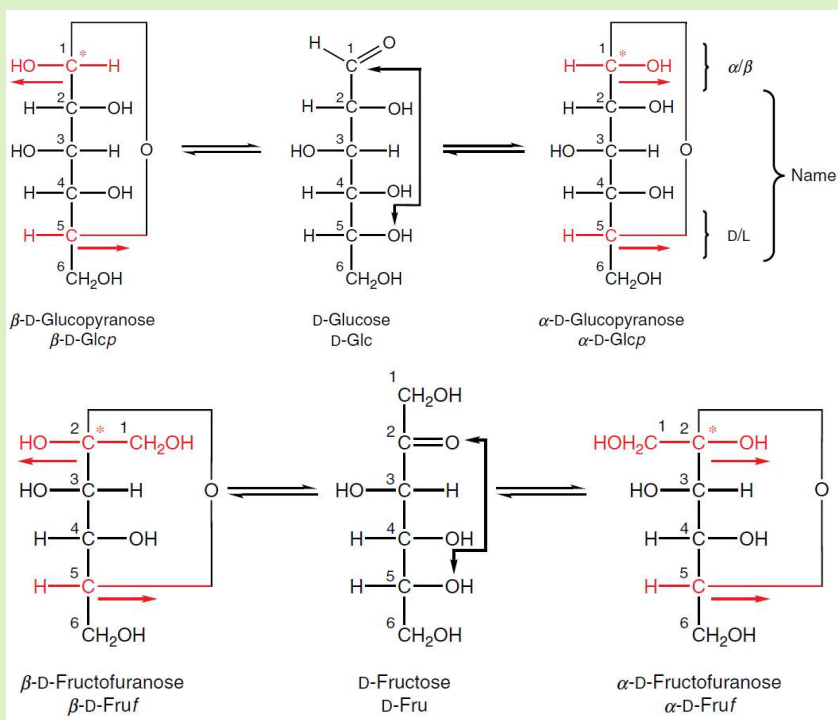


Essentials of Glycobiology
Second Edition

Chapter 2, Figure 2.5

В природе свободные сахара практически всегда присутствуют в циклической форме, образуя внутримолекулярные полуацетали. Полуацеталь возникает в результате нуклеофильной атаки карбонильной группы одной из гидроксильных групп той же молекулы сахара. Это показано на картинке справа.

Проекция Фишера: циклические формы (α и β) 41



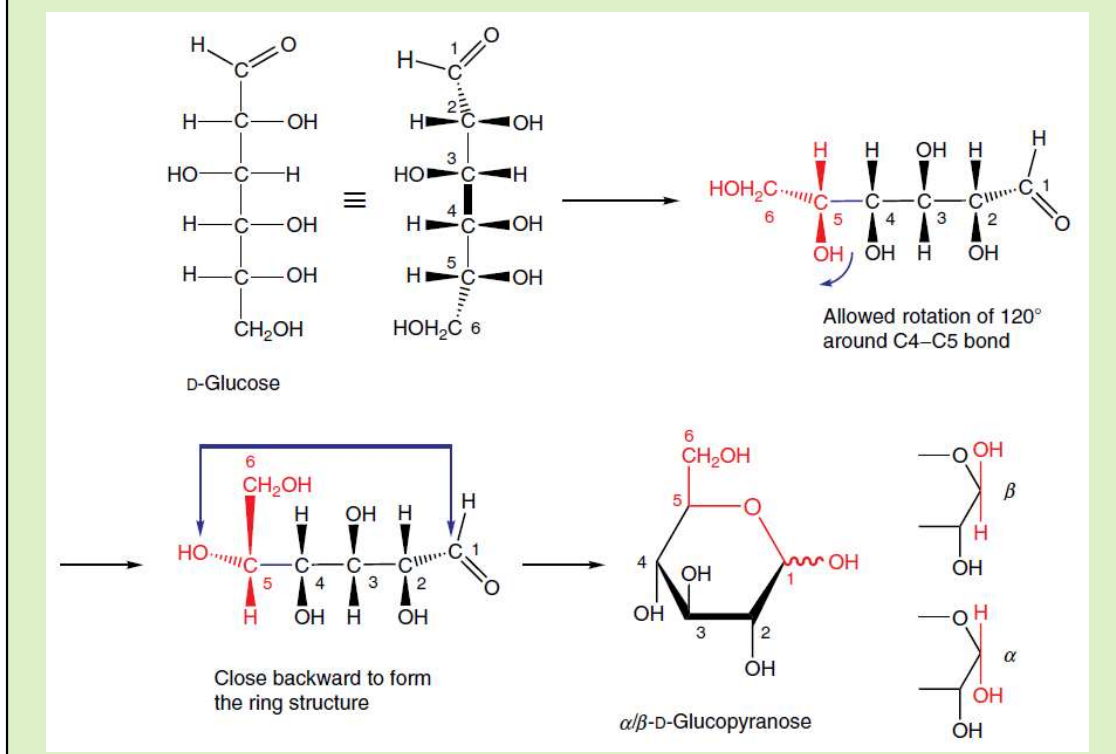
Здесь показано образование циклических полуацеталей глюкозы и фруктозы с использованием проекции Фишера.

В ходе этого процесса возникает дополнительный хиральный центр – при атоме углерода, который до этого входил в состав карбонильной группы. Он называется аномерным центром. Новая гидроксильная группа может иметь две ориентации – вправо или влево на проекции Фишера. Т.е аномерный центр может иметь D- или L-конфигурацию. По ряду причин конфигурацию аномерного центра всегда рассматривают в сравнении с конфигурацией центра с наибольшим номером, которая определяет АБСОЛЮТНУЮ конфигурацию ВСЕЙ молекулы. Если конфигурации этих центров совпадают, т.е. ОБЕ гидроксильных группы направлены в ОДНУ сторону на проекции Фишера (вправо для D-ряда – как на этом слайде), то говорят, что аномерный центр имеет АЛЬФА конфигурацию. Если же конфигурации этих центров РАЗЛИЧАЮТСЯ, т.е. гидроксильные группы направлены в разные стороны, то говорят, что аномерный центр имеет БЕТА конфигурацию.

Кстати, обратите внимание на то, что из рассмотрения проекций Фишера хорошо видно, что конфигурация хиральных центров во фруктозе совпадает с таковой в глюкозе. Однако во фруктозе на один хиральный центр меньше, т.к. оксо-группа расположена при C2. Это кетоза. При образовании циклического полуацетала при C2 соседствуют и гидроксильная группа и гидроксиметильная группа (а не атом водорода как в глюкозе). Остальное все точно так же. Если гидроксильная группа при аномерном центре слева (для D-ряда), то это бета-аномер, а если справа, то это альфа-аномер.

Есть ли сейчас вопросы по поводу проекции Фишера?

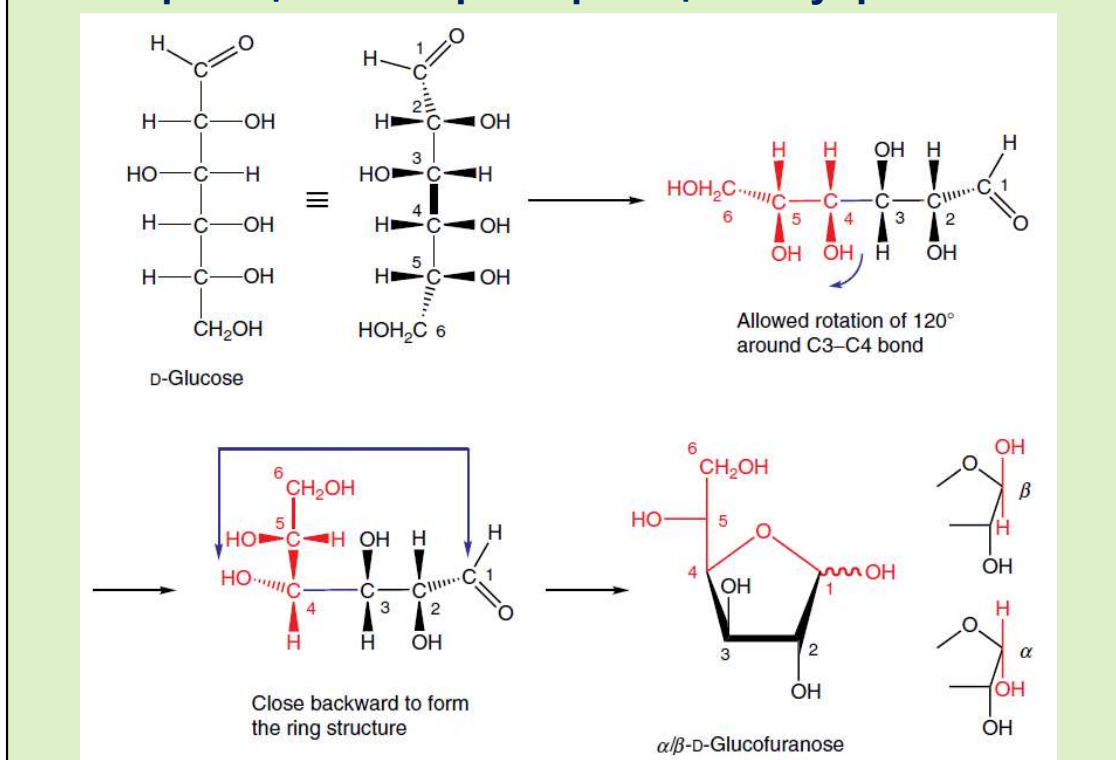
От проекции Фишера к проекции Хеурса: Glcp 42



На практике очень неудобно пользоваться циклическими проекциями Фишера. Хеурс предложил следующую процедуру, которая приводит к новой проекции, крайне популярной и поныне. Рассмотрим пример глюкозы в пиранозной форме, т.е. цикл включает шесть атомов и структура напоминает полностью восстановленный гетероцикл пиран. К сокращенному трехбуквенному обозначению глюкозы в пиранозной форме добавляют латинскую букву *r* и выделяют ее курсивом.

Перед циклизацией повернем на 120 градусов часть молекулы, показанную красным (т.е. атомы C5 и C6), вокруг связи C4-C5. Тогда гидроксильная группа при C5 расположится в ФОРМАЛЬНОЙ плоскости, образованной всеми атомами углерода (за исключением атома C6). При такой ориентации образование цикла между O5 и C1 не приведет к искажению этой плоскости. Этот процесс условно обозначен синими стрелками, которые находятся СЗАДИ рисунка. Если мы посмотрим на эту плоскость после циклизации СБОКУ (со стороны атомов C2 и C3), то атомы C2 и C3 будут ближе к нам, чем остальные атомы ПЛОСКОГО цикла. Это условно обозначено жирной связью между атомами C2 и C3 и клиновидными связями, ведущими к атомам C1 и C4. Две ориентации гидроксильной группы при аномерном центре показаны справа внизу. В альфа-изомере аномерная гидроксильная группа направлена вниз, а в бета аномере – вверх.

От проекции Фишера к проекции Хеурса: Glcf 43



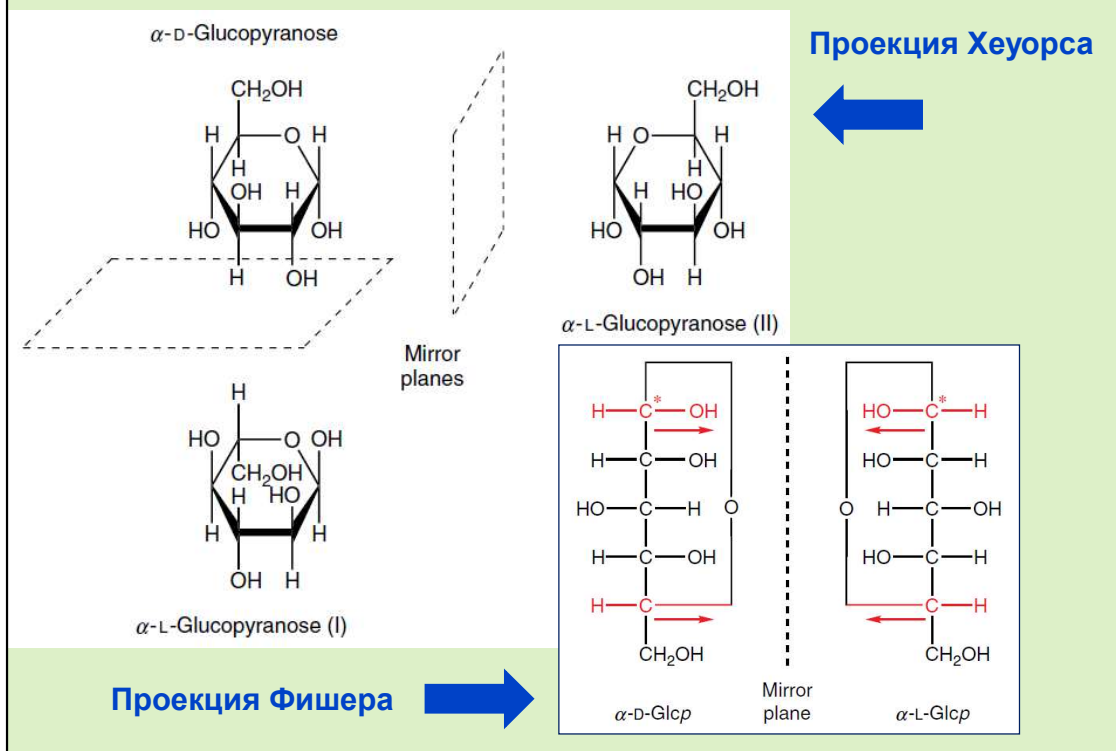
Я не буду детально комментировать образование циклической формы глюкозы с пятичленным циклом, которая называется фуранозной формой. Название связано с тем, что цикл включает пять атомов и структура напоминает полностью восстановленный гетероцикл фуран. К сокращенному трехбуквенному обозначению глюкозы в фуранозной форме добавляют латинскую букву *f* и выделяют ее курсивом.

Здесь все аналогично пиранозе.

Есть только одна особенность, связанная с тем, что заместитель при фуранозном цикле имеет хиральный центр – атом C5. Для изображения его конфигурации необходимо использовать проекцию Фишера. Т.е. здесь мы видим сочетание и проекции Хеурса и проекции Фишера. Обратите внимание на то, что хотя этот центр имеет D-конфигурацию, гидроксильная группа направлено влево. Это связано с «неправильной» ориентацией реперной углеродной цепи фрагмента C6-C5-C4. На этом рисунке атом C4 с наименьшим номером расположен СНИЗУ, а не сверху, как в примерах, которые мы обсуждали раньше. Постарайтесь разобраться в этом сами. Если что-то будет неясно, обсудим на семинаре.

Изображение D- и L-энантиомеров: α -Glc_p

44



Здесь приведены изображения D-глюкозы и L-глюкозы в пиранозной форме с использованием проекции Хеурса и проекции Фишера. Если аномерные конфигурации совпадают, то это – энантиомеры. Их формулы являются зеркальным отражением друг друга. Кстати, это одна из причин широкого использования для углеводов такой альфа/бета-номенклатуры, а не R/S-номенклатуры, популярной в других областях органической химии.

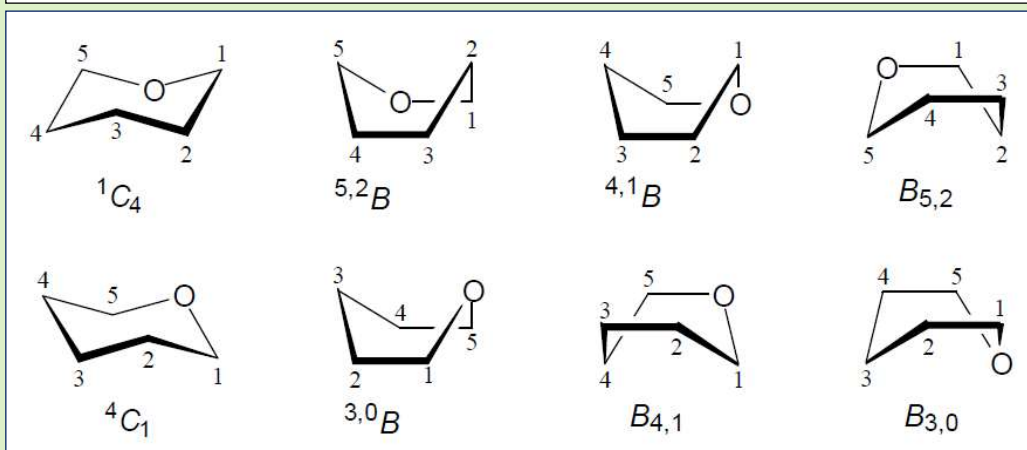
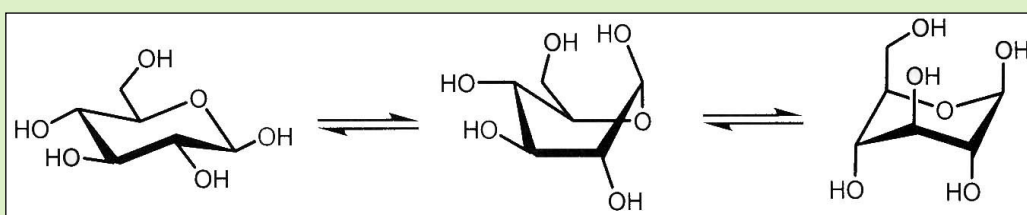
Обратите внимание на различные способы зеркального отражения. Для энантиомера можно нарисовать две эквивалентных проекции Хеурса. Их обе можно встретить в литературе. Разберитесь самостоятельно с ориентацией заместителей. Почему это глюкоза, почему это L-глюкоза, почему это альфа-аномер. Мы будем обсуждать это на семинаре.

Реальная конформация пираноз (обозначения) 45

кресло 4C_1

ванна

кресло 1C_4



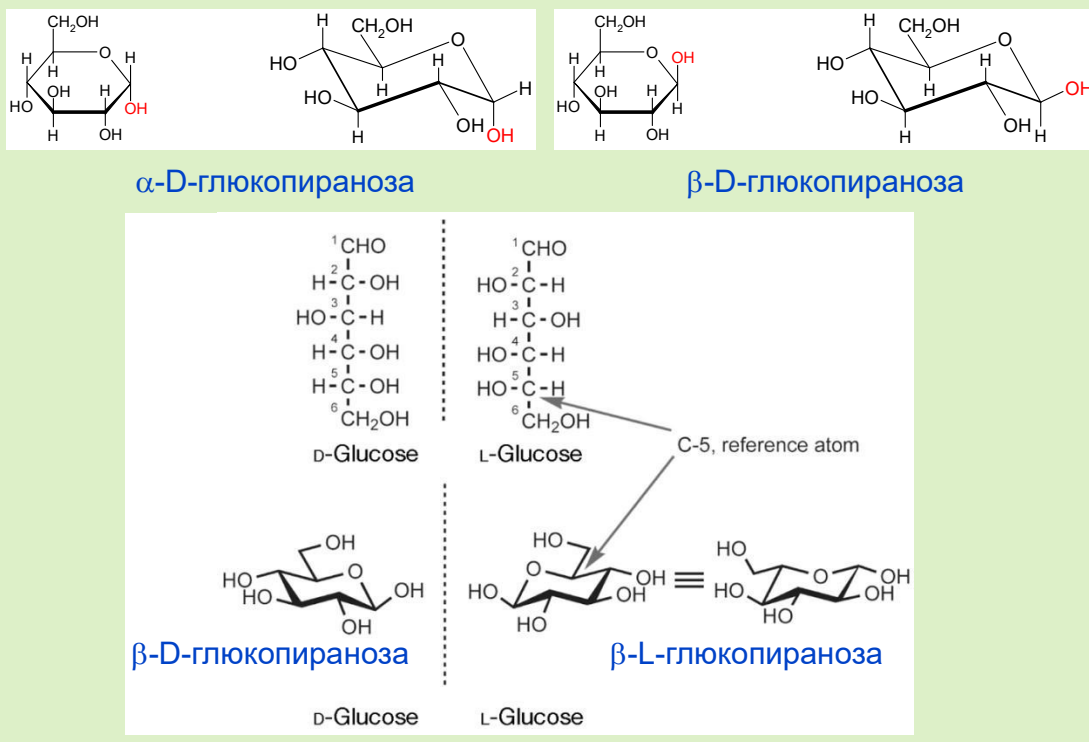
Реальное пространственное строение, т.е. конформация, циклических форм сахаров никак не описывается рассмотренными проекциями.

Здесь приведены изображения возможных конформаций пираноз. А сверху показан путь перехода из одной кресловидной конформации глюкозы в другую через промежуточное образование ваннообразной конформации.

Обратите внимание на то, что в одной из них все гидроксильные заместители экваториальны, т.е. расположены близко к усредненной плоскости цикла. А в другой – они аксиальны, т.е. расположены вдоль оси перпендикулярной этой плоскости. В растворах глюкоза существует в энергетически более выгодной конформации 4C_1 с экваториальными заместителями. Это общая закономерность циклических соединений, установленная с помощью так называемого конформационного анализа.

Однако некоторые ее производные могут существовать и в альтернативной конформации 1C_4 .

Конформации моносахаридов: D-Glcp и L-Glcp 46

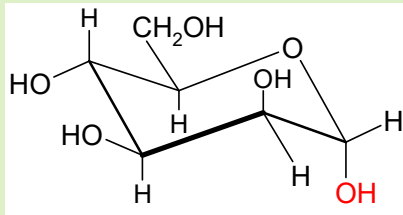


На этом слайде показано соответствие между проекцией Хеурса и «перспективными» формулами для глюкопираноз D- и L-рядов.

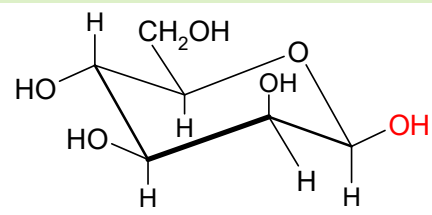
Обратите внимание на то, как изображена бета-L-глюкопираноза, являющаяся зеркальным отражением бета-D-глюкопиранозы.

Вообще-то глюкоза – уникальный сахар с точки зрения стереохимии. В молекуле бета-аномера глюкопиранозы ВСЕ заместители экваториальны! И для D- и L-изомеров!

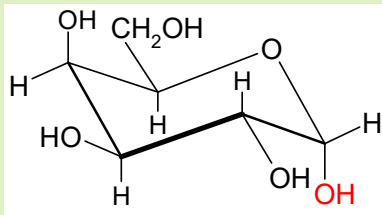
Конформации моносахаридов: D-Манp и D-Galp 47



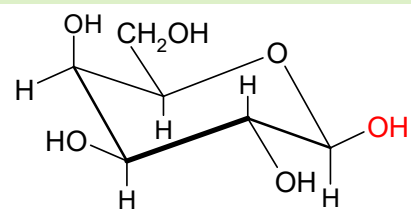
α -D-маннопираноза



β -D-маннопираноза



α -D-галактопираноза

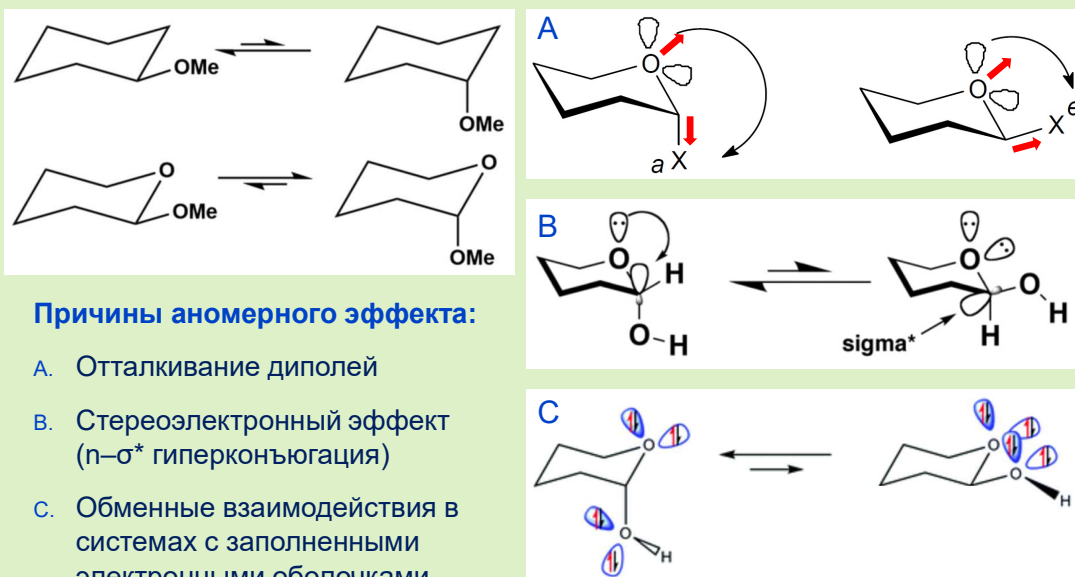
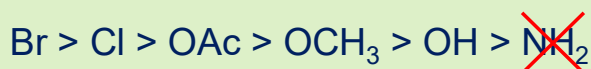


β -D-галактопираноза

На этом слайде показаны «перспективные» формулы для маннопиранозы и галактопиранозы D-ряда.

Аномерный эффект

48



a) Y. Mo, *Nature Chem.* **2010**, 2, 666. DOI: 10.1038/nchem.721.

b) C. O. da Silva, *et al.*, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 299. DOI: 10.1039/c2ob26818c.

В циклических формах сахаров есть одна особая гидроксильная группа при C1, называемая аномерной. Мы о ней уже говорили, она образуется в результате образования циклического полуацетала. Она может иметь две ориентации – альфа и бета. В случае глюкозы это соответствует аксиальной и экваториальной ориентациям.

Оказывается, аксиальная ориентация гидроксильной группы более предпочтительна, хотя рассмотрение стерических взаимодействий в родственных производных циклогексана приводит к выводу о предпочтительности экваториальной ориентации заместителя. Этот феномен получил название аномерного эффекта. Другие полярные группы в аномерном положении также предпочитают находиться в аксиальной ориентации. Этот эффект особенно силен для галоген-производных. Аномерный эффект полностью отсутствует для амино-производных по аномерному положению.

<CLICK>

Существует несколько объяснений существования аномерного эффекта. В учебниках по стереохимии и по углеводам обычно приводят два объяснения, которые, как обычно говорят, взаимно дополняют друг друга:

- A. Взаимное отталкивание диполя пары электронов кислорода и диполя связи с полярным заместителем. Обратите внимание на эти красные стрелки.

В. Стереoeлектронный эффект, связанный с гиперконъюгацией. Речь идет о донировании электронной плотности с атомной орбитали неподеленной пары атома кислорода на антисвязывающую орбиталь σ^* связи C1-гетероатом. Это взаимодействие особенно выгодно при антиперипланарной ориентации соответствующих орбиталей, которая достигается при аксиальной ориентации заместителя в аномерном положении.

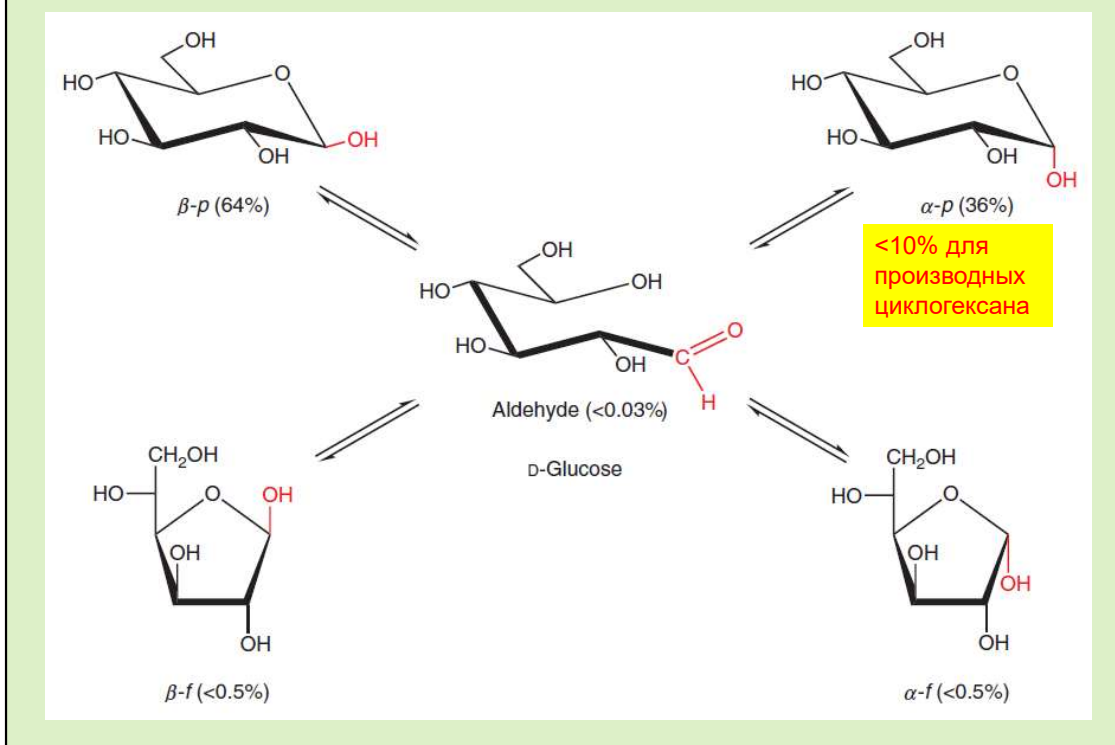
Недавно было показано, что оба этих объяснения несостоятельны. Вот ключевые ссылки для самых любознательных.

Особенно много критики было высказано против второго объяснения, хотя даже в новых книгах по углеводам оно считается общепринятым.

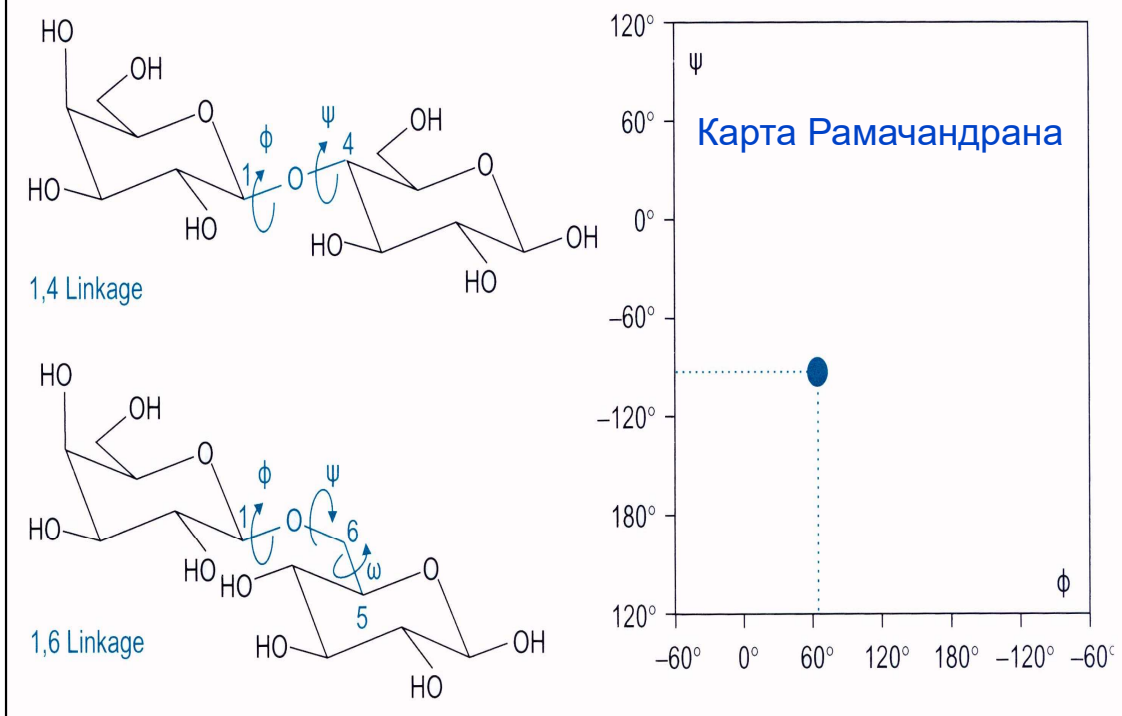
Новое объяснение связывает аномерный эффект с обменными взаимодействиями в системах с заполненными электронными оболочками.

На самом деле вопрос открыт и активная научная дискуссия по этому поводу продолжается.

Таутомерные формы D-глюкозы: аномеризация 49



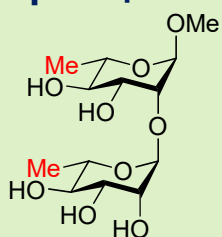
В тех случаях, когда возможно взаимопревращение аномеров, то в смеси возрастает доля аксиального аномера по сравнению с ситуацией без участия аномерного центра. Так доля спирта с аксиальной гидроксильной группой меньше 10% для производных циклогексана, т.е. в случае отсутствия атома кислорода в цикле. А для сахаров она гораздо больше. Для глюкозы ситуация показана на этом слайде. Так доля альфа-аномера с аксиальной гидроксильной группой достигает 36%.



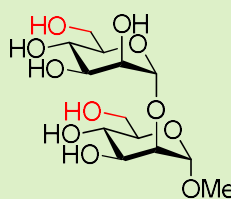
Перейдем теперь к рассмотрению стереохимии олигосахаридов, т.е. закономерностей их пространственной организации.

Оказывается, в большинстве случаев моносахариды в составе олиго- и полисахаридов ведут себя как достаточно жесткие объекты. Возможно лишь вращение вокруг гликозидных связей. Конформация олигосахаридов определяется прежде всего тем, как повернуты моносахаридные остатки друг относительно друга. Поэтому для описания конформации, принимаемой олигосахаридом, достаточно указать только двугранные углы, соответствующие вращению вокруг гликозидных связей. Для описания конформации вокруг гликозидной связи со вторичной гидроксильной группой достаточно знать два угла – ϕ и ψ . А для описания конформации вокруг гликозидной связи с первичной гидроксильной группой к ним надо добавить еще один двугранный угол – ω . Здесь это проиллюстрировано для дисахарида, состоящего из двух остатков глюкозы связанных бета-1-4- и бета-1-6-гликозидными связями. Каждой комбинации двугранных углов соответствует точка на двумерной карте, где в качестве осей выбраны двугранные углы.

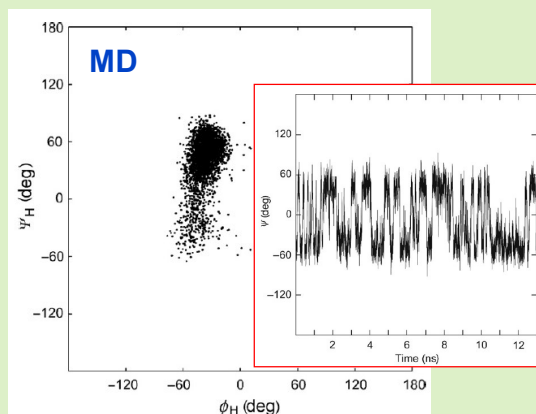
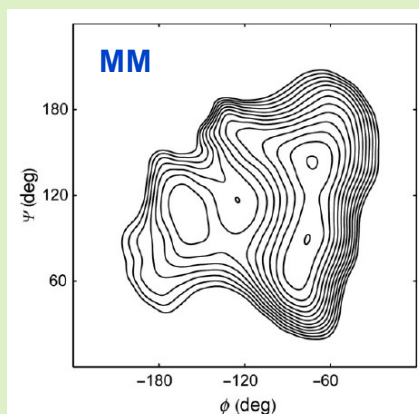
Однако конформации дисахарида, возникающие при вращении вокруг гликозидных связей, имеют разные энергии. Одни из них более выгодны, чем другие. Если на этой карте каждой точке, т.е. конформации дисахарида, сопоставить его энергию, то получится так называемая карта Рамачандрана.



α -L-Rhap-(1→2)- α -L-Rhap-OMe



α -D-Manp-(1→2)- α -D-Manp-OMe



7. *Comprehensive Glycoscience. From Chemistry to System Biology*, 2007, Ch. 2.03.2.3, p. 121 (1063).

Слева показана карта Рамачандрана для вот такого дисахарида. Энергии конформаций были вычислены методом молекулярной механики. Здесь показаны изолинии энергии с инкрементом 0.5 ккал/моль. Хорошо видно, что существуют несколько минимумов энергии. Это означает, что этот дисахарид может легко принимать набор конформаций с близкими энергиями. Наличие нескольких широких минимумов энергии – типичная ситуация для олигосахаридов.

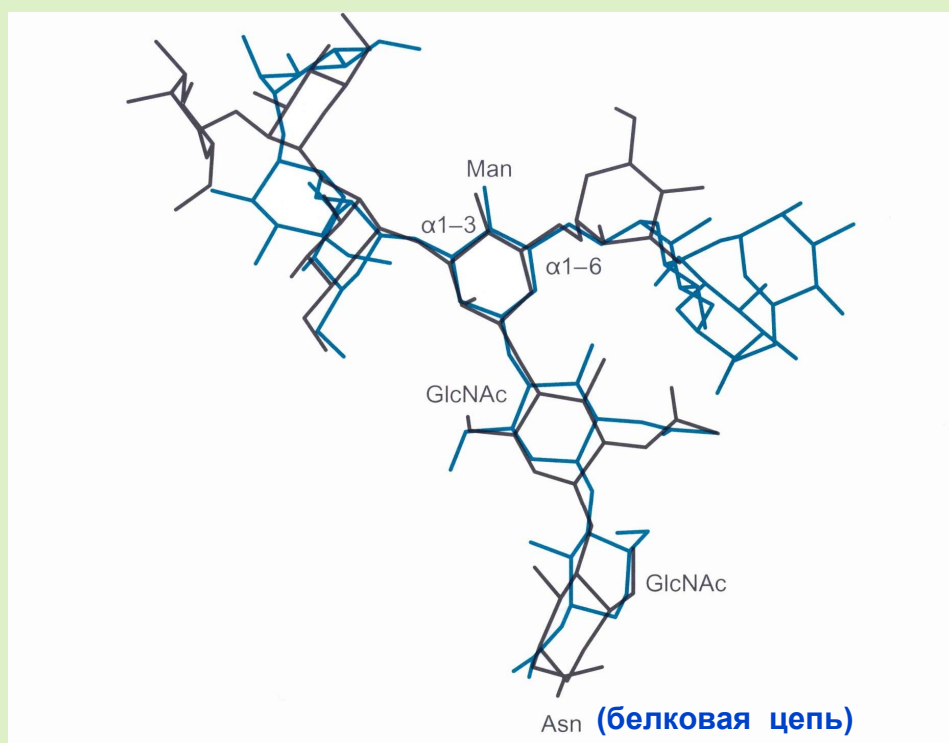
В последнее время для описания конформаций олигосахаридов стали популярны вот такие карты. Каждой точке соответствует конформация, реально достижимая в ходе молекулярно-динамического эксперимента. Величина разброса точек наглядно демонстрирует, насколько данный олигосахарид гибок.

<CLICK>

На врезке показана зависимость одного из двугранных углов от времени, показывающая насколько часто достигаются те или иные конформации.

Обратите внимание на то, что эти олигосахариды очень похожи. Относительные конфигурации всех хиральных центров совпадают. Все моносахаридные остатки имеют манно-конфигурацию, т.е. такую же как у маннозы (она показана справа). Различаются только

абсолютные конфигурации. Моносахаридные остатки слева относятся к L-ряду, а справа – к D-ряду. И если бы не замена первичных гидроксильных групп (в маннозе - справа) на атомы водорода (в рамнозе - слева), то эти дисахариды можно было бы считать энантиомерами. Энергии истинных энантиомеров всегда совпадают. И можно было бы ожидать, что достижимые конформации будут близки. Как можно видеть из сравнения этих двух конформационных карт, это не так. Т.е. замена первичных гидроксильных групп на атомы водорода приводит к драматическим последствиям. Дисахарид приобретает гибкость. Это может быть связано со стерическими причинами, т.е. с различными размерами метильной и гидроксиметильной групп. Но могут быть и иные причины. Например, образование внутримолекулярной водородной связи. Мы еще вернемся к этим картам.



В более сложных олигосахаридах отдельные гликозидные связи могут быть более жесткими, чем другие.

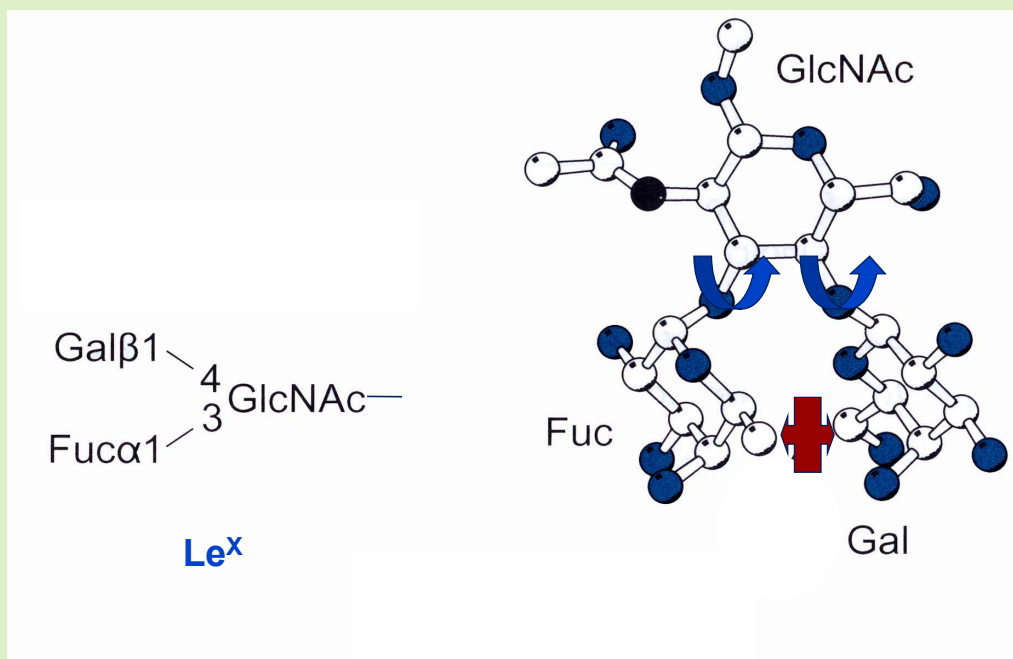
Это удобно визуализировать вот таким образом. На одном рисунке накладывают друг на друга все возможные конформации олигосахарида.

Здесь показано такое наложение для корового участка N-цепей гликопротеинов. Видно, что некоторые моносахаридные остатки закреплены достаточно жестко. Например, вот этот узловый остаток маннозы. А другие моносахаридные остатки могут вращаться более свободно.

Рецепторные олигосахариды, как правило:

53

1) относительно жесткие ...

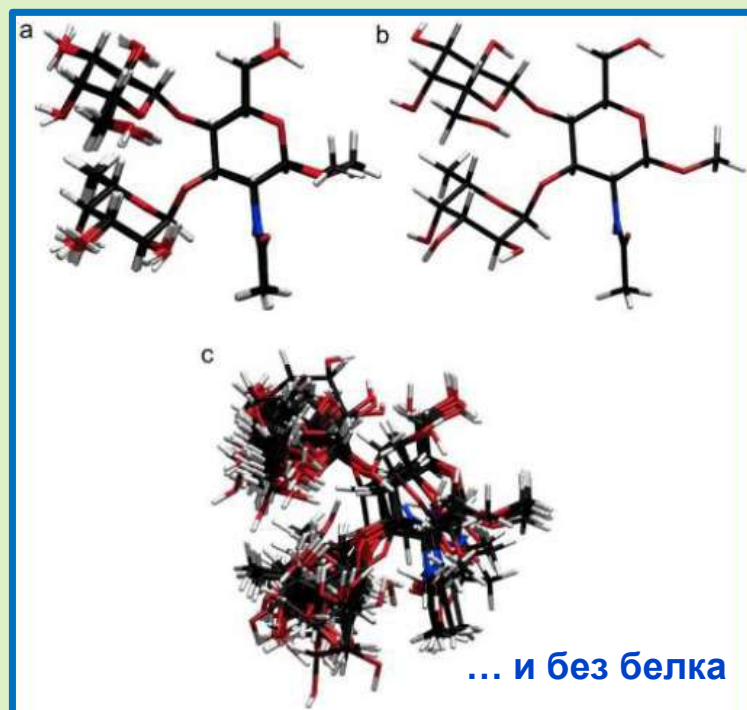


Надо отметить, что можно выявить ряд общих закономерностей в строении рецепторных олигосахаридов, т.е. олигосахаридов, которые способны взаимодействовать с углевод-связывающими белками, образуя с ними комплексы.

Такие олигосахариды обычно достаточно жесткие. Вращение вокруг гликозидных связей затруднено вследствие наличия при определенных ориентациях невыгодных внутримолекулярных контактов, которые система избегает. Так, конформации со сближенными остатками галактозы и фукозы недостижимы.

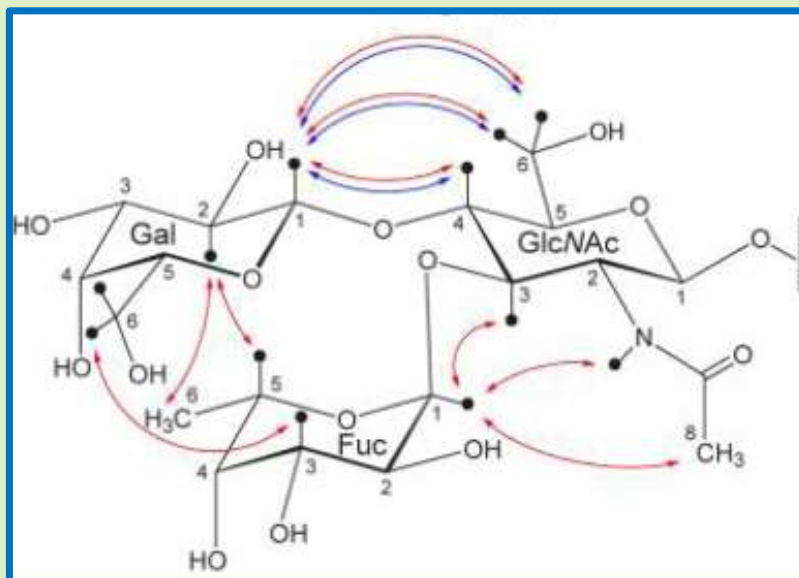
Тот же трисахарид Le^x в комплексе с белком

54



Это хорошо видно в нижней части этого слайда. В то же время гибкость остальных фрагментов этого трисахарида впечатляет.

Образование комплекса с белком приводит к фиксации одной или нескольких близких конформаций этого трисахарида. Говорят, что из множества достижимых конформаций отбирается одна так называемая «биоактивная» конформация. Именно в ней трисахарид способен эффективно связаться с белком.



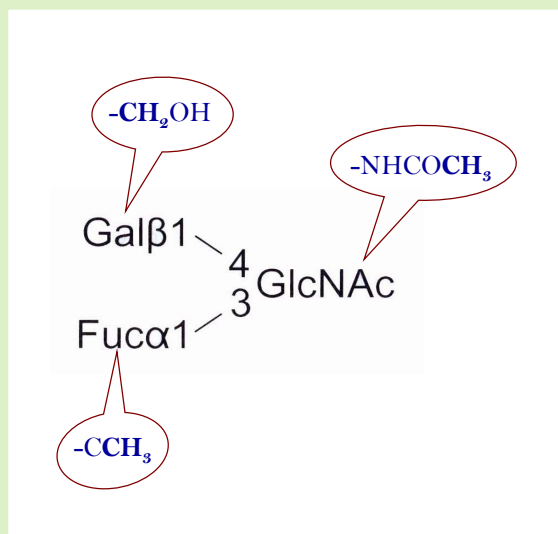
синие стрелки – в отсутствие белка

Это можно экспериментально наблюдать с помощью ЯМР.

В экспериментах по измерению ядерного эффекта Оверхаузера можно увидеть, какие из протонов сближены между собой в пространстве. Таких контактов гораздо больше в присутствии белка, с которым трисахарид образует комплекс. Конформация «замораживается» в масштабе времени ЯМР, что позволяет детектировать эти контакты.

Рецепторные олигосахариды, как правило:
2) имеют гидрофобное “ядро” ...

56

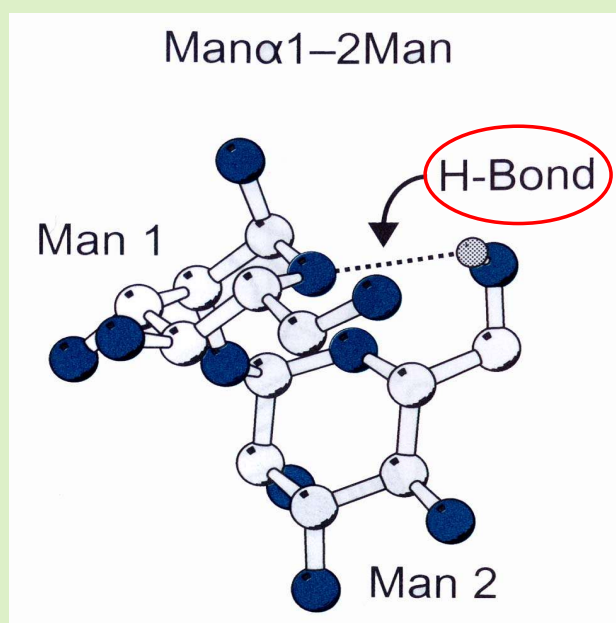


Рецепторные олигосахариды, как правило имеют гидрофобное “ядро”.
В данном случае это - NH и CH₂ группы, метильная группа фукозы и ацетамидная группа глюкозамина.

Рецепторные олигосахариды, как правило:

57

3) содержат внутримолекулярные водородные связи

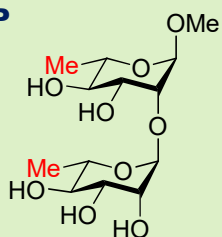


Рецепторные олигосахариды, как правило содержат внутримолекулярные водородные связи, которые помогают уменьшать гибкость, фиксируя одну из конформаций.

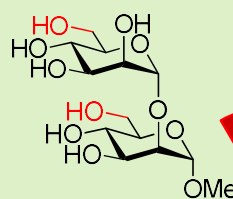
Здесь показан пример дисахарида, содержащего остатки альфа-1-2-связанной маннозы, который уже был показан на слайде с конформационными картами. В этой структуре может образоваться водородная связь между гидроксиметильной группой одного из моносахаридных остатков и атомом кислорода пиранозного цикла другого моносахаридного остатка, что делает показанную конформацию более предпочтительной.

Конформации олигосахаридов: водородная СВЯЗЬ

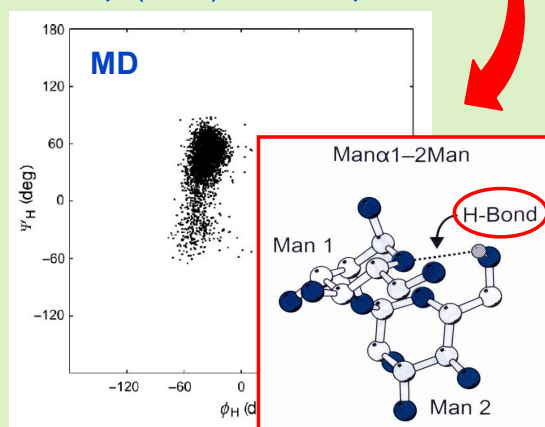
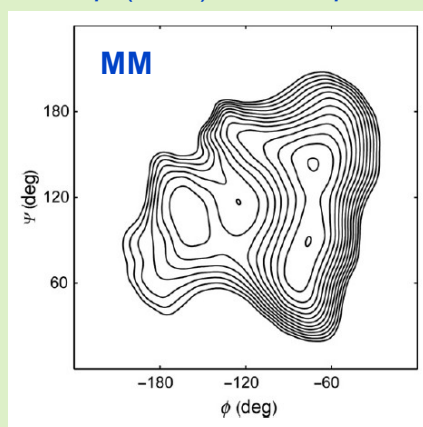
58



α -L-Rhap-(1 \rightarrow 2)- α -L-Rhap-OMe



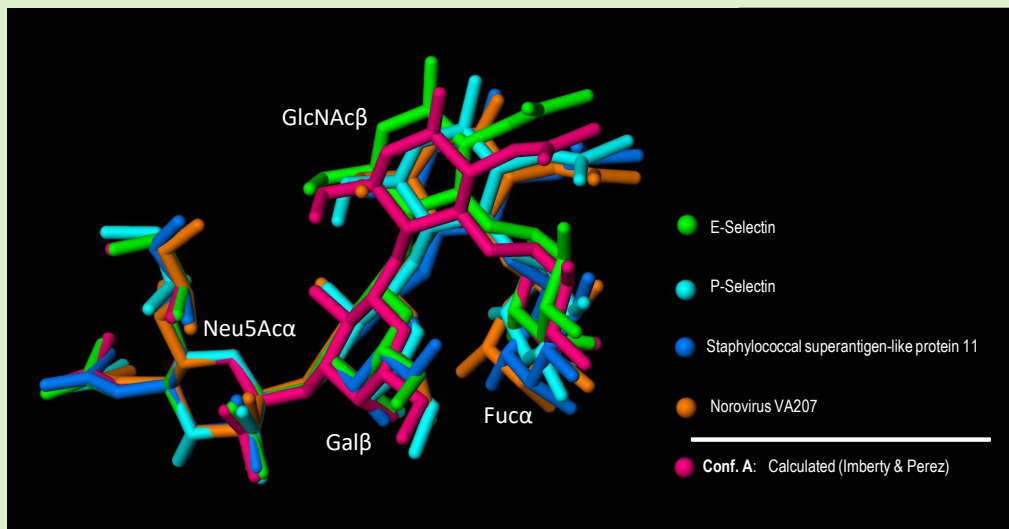
α -D-Manp-(1 \rightarrow 2)- α -D-Manp-OMe



Именно о таком замораживании одной из конформаций вследствие образования водородной связи свидетельствует уменьшенный разброс точек на правой карте, т.е. об уменьшении числа достижимых конформаций. В случае рамнозы (6-дезокси-маннозы), показанном слева, такая водородная связь просто невозможна из-за отсутствия первичной гидроксильной группы. И поэтому дисахарид, состоящий из остатков альфа-1-2-связанной рамнозы гораздо более гибок, чем соответствующий дисахарид, состоящий из остатков маннозы.

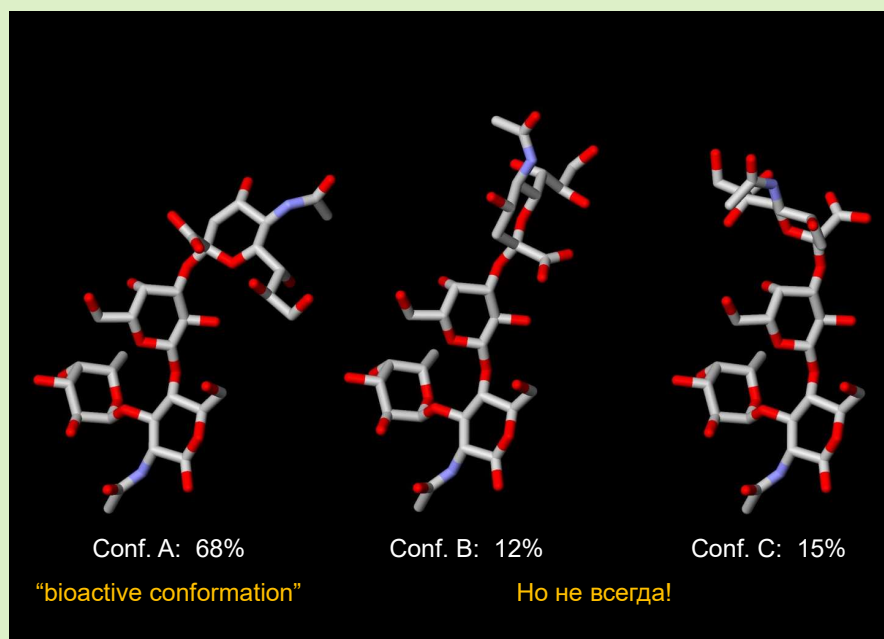
Данные PCA (комплексы с белками): конформация SiaLe^x

59



Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4(Fuca α 1-3)GlcNAc β
(SiaLe^x)

Как я уже отмечал, при связывании олигосахарида с белком из многих пространственных конфигураций олигосахарида обычно отбирается одна «биоактивная» конформация. Особенно хорошо это видно на полученных с помощью PCA структурах комплексов ряда различных белков вот с таким олигосахаридом, название которого нам еще встретится - Сиалил Льюис Икс. Интересно, что эта «биоактивная» конформация совпадает с расчетной конформацией олигосахарида, обладающей минимальной энергией.



A. Imberty, S. Perez. In: *Carbohydrate mimics: Concepts and Methods*. Y. Chapleur Y. (Ed.), Wiley VCH: Weinheim, 1998; pp. 349-364.

7. *Comprehensive Glycoscience. From Chemistry to System Biology*, 2007, Ch. 3.35.2.1.1, p. 807 (2510).

Это так называемая конформация А. Расчеты показывают, что достижимы и другие устойчивые конформации В и С, лишь незначительно отличающиеся по энергии (на 1 ккал/моль). Сходный же набор конформаций был найден экспериментально в растворе с помощью ЯМР. И лишь одна из них - конформация А оказалась «биоактивной», т.е. реализуемой при образовании комплексов с белками.

Однако это происходит далеко не всегда. Все гораздо сложнее. Тот же олигосахарид при связывании с другими лектинами (например, гемагглютинином вируса гриппа или лектинами, узнающими фукозу) может принимать одну из минорных конформаций. Это означает, что бывают случаи, когда при связывании с белком олигосахарид принимает конформацию, которая не является основной в растворе. Обычно речь идет о конформациях вокруг гликозидных связей. Как я уже говорил, сами моносахаридные остатки ведут себя как жесткие структуры. Но известны случаи, когда наблюдается искажение циклов сахаров при связывании с белком.

Все эти примеры показывают, что знание конформаций олигосахаридов крайне важно для понимания закономерностей их функционирования в живых системах.

На сегодня хватит.

Конец лекции 1