

О НОВОЙ ОБЛАСТИ СТЕРЕОХИМИИ САХАРОВ —
ИЗУЧЕНИИ ИХ КОНФОРМАЦИЙ

Б. Н. Степаненко

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|---|------|
| I. Введение | 1437 |
| II. Конформации моносахаридов | 1438 |
| А. Конформации шестичленных колец моносахаридов | 1438 |
| Б. О конформации пятичленных колец моносахаридов | 1444 |
| В. О конформации ациклических колец моносахаридов | 1445 |
| III. О конформациях олигосахаридов | 1446 |
| IV. О конформациях полисахаридов | 1447 |
| V. Некоторые частные аспекты изучения конформаций углеводов | 1448 |
| VI. Конформационные представления в биохимии | 1450 |

I. ВВЕДЕНИЕ

Последнее десятилетие в химии углеводов знаменуется возникновением и бурным развитием новой области — области изучения конформаций углеводов¹⁻⁴. Не будет преувеличением сказать, что вновь наступившая в химии углеводов эра, являющаяся новым этапом развития стереохимии сахаров, по своей значимости не уступает эре, последовавшей после открытия циклических форм углеводов и таутомерии открытых и циклических форм.

Несмотря на все это данные о конформациях углеводов, необходимые как химикам, так и биохимикам, пока мало используются в нашей стране. Сведения о конформациях углеводов в настоящее время настолько расширились, что не могут быть охвачены в одном обзоре, поэтому целью настоящей статьи является лишь изложение основных воззрений и рассмотрение некоторых примеров, иллюстрирующих практическое значение новой области.

Как известно, конформациями называются формы молекул, возникающие у соединений жирного ряда вследствие свободного вращения атомных групп вокруг простых одинарных связей, или же — в случае циклических соединений — вследствие вращения и изменения взаимного положения отдельных частей молекул, в обоих случаях целостность связей, соединяющих атомы, не нарушается, что отличает взаимные переходы конформационных форм от изомеризации.

В случае циклогексана, который можно рассматривать как модель пиранозы, — наиболее распространенной формы сахаров, — наряду с нестойкими переходными формами, содержание которых обычно ничтожно мало, могут существовать две стабильных формы: форма кресла и форма лодки (ванны) (схема 1). Из них более стойкой является форма кресла, поскольку в ней содержится наименьшее число «заслоняющих» друг друга водородных атомов. По содержанию энергии они отличаются на 5,6 ккал с меньшим содержанием у формы кресла, вследствие чего при обычных условиях циклогексану свойственна почти исключительно (на 99%) конформация кресла. Переход этих форм

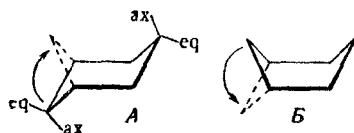


Схема 1. Наиболее стойкие А — форма кресла, Б — форма лодки, ах — аксиальные атомы (или группы); еа — экваториальные атомы (или группы)

может быть представлен как результат вращения части молекулы, как показано на схеме 1 стрелками, и связан с затратой или выделением энергии. Чтобы пользоваться в дальнейшем терминами, перешедшими в конформационную химию сахаров из химии алициклических соединений, следует напомнить, что часть атомов водорода циклогексана в конформации кресла занимает положение, близкое к плоскости, в которой находится большая часть молекулы. Такие атомы называются экваториальными. Другая часть атомов водорода занимает положение, близкое к перпендикулярному к плоскости молекулы. Такие водороды или заместители называются аксиальными (схема 1).

Теперь, после рассмотрения превращений конформационных форм на более простом примере — циклогексане — перейдем к углеводам.

Эволюция наших представлений о строении моносахаридов (глюкозы) представлена в приведенной ниже схеме 2.

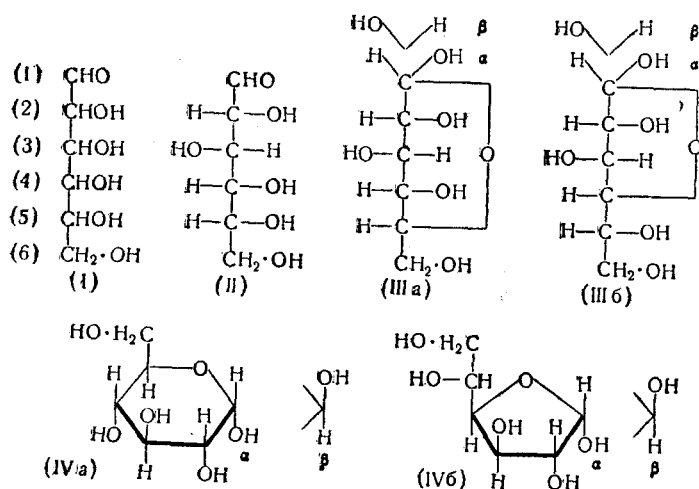


Схема 2. Эволюция представлений о строении глюкозы (1870—1925).

После формулы (I), предложенной Байером и Фиттигом (1870—1871 гг.), отражающей лишь наличие в молекуле пяти спиртовых и одной альдегидной группы на основании работ главным образом Фишера (1890—1891), была предложена конфигурационная формула (II) (см. исторический очерк⁵). Колли (1870) и Толленс (1883) впервые предложили циклические формулы, которые в дальнейшем превратились в формулы α- и β-глюкопираноз (IIIa) и глюкофураноз (IIIб). С 1925 г. Хеуорз ввел в обиход циклические формулы, которые были первой попыткой отразить геометрическую форму молекулы в виде шестичленного кольца (IVa и IVб). В течение 25 лет мы пользовались такими формулами, но с начала пятидесятых годов на смену этим формулам стали приходить конформационные формулы, которые, во-первых, гораздо точнее воспроизводят форму молекулы, во-вторых, объясняют многие факты, которые не могли быть объяснены ранее.

Ниже мы последовательно рассмотрим конформации пираноз, фураноз и открытых форм, а также олиго- и полисахаридов.

II. КОНФОРМАЦИИ МОНОСАХАРИДОВ

А. Конформации шестичленных колец моносахаридов

Формулы Хеуорза не вполне состоятельны уже потому, что плоскостное шестичленное кольцо было бы очень напряженным, оно не могло бы существовать при обычных условиях. В настоящее время рабо-

тами Ривса^{6,7} и многих других авторов показано, что подобно циклогексану, пиранозы существуют главным образом в двух основных наименее напряженных формах — форме кресла и форме лодки.

Эти конформации пираноз очень сходны с конформациями циклогексанов, отличаясь от них только немного меньшим перекашиванием в кольце и большей лабильностью.

В отличие от циклогексанов, имеющих две более стабильные конформации, пиранозы вследствие наличия гетероатома и асимметрических углеродных атомов имеют 8 таких конформаций: 2 — кресла и 6 — лодки (схема 3). Первые две конформации имеют обозначение

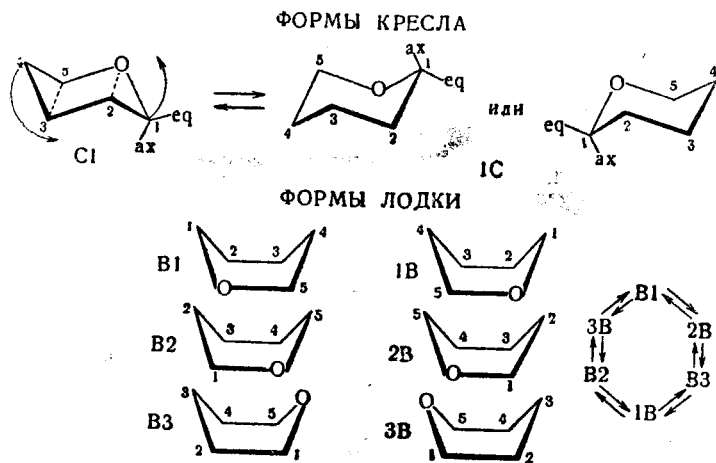


Схема 3. Конформации пиранозного кольца; справа внизу — схема возможных конформационных переходов

С — от английского слова chair — кресло, вторые — обозначение В — от английского слова boat — лодка.

Три конформации лодки (1, 2 и 3), как видно из схемы, отличаются различным положением в кольце атома кислорода. В схеме 3 конформации левой части схемы являются зеркальными изображениями правой части схемы. Это отражено в обозначениях соответствующих конформаций: С1 и IC, В1 и 1В и т. д. Хотя и имеются другие системы обозначений^{8,9}, мы будем пользоваться обозначениями, предложенными Ривсом*.

Взаимные переходы конформаций пиранозных колец можно представить следующим примером (схема 3): при вращении в форме С1 части молекулы с С₁ вверх, а части молекулы с С₄ — вниз получается конформация IC (если мысленно перевернуть ее на 180°, то мы увидим эту конформацию, как зеркальное изображение конформации С1). Очень важно, что при таком превращении те группы, которые занимали в конформации С1 экваториальные положения, займут в IC аксиальные положения и наоборот. При вращении в конформации С1 части молекулы с вершиной у С₁ кверху, и при сохранении других частей молекулы в прежнем состоянии получается конформация В1 и т. д. Вза-

* Были высказаны предложения обозначать расположение гидроксильных групп, в первую очередь полуацетальных¹⁰. Тогда к обозначению основной конформации кресла или лодки — С, В₁, В₂, В₃ — прибавляют букву А или Е, означающие аксиальное или экваториальное положение полуацетального гидроксильного атома. Более полно конформацию описывают, указывая экваториальное или аксиальное расположение всех гидроксильных групп, начиная с полуацетального и следуя затем порядку нумерации атомов углерода в цепи. Так, обычная конформация для α-D-галактозы обозначается как С (а е е а е) (буквы а и е обозначают аксиальное и экваториальное положения гидроксильных групп, начиная с первого)¹¹.

имные переходы конформаций лодки представлены в правой нижней части схемы 3.

Таким образом, для каждой пиранозы — α - и β - можно допустить возможность существования 8 названных более стойких конформаций, не говоря о переходных «скошенных» формах.

Практически, однако, картина несколько упрощается, поскольку степень стабильности разных конформаций различна. При различных конформационных превращениях объемистые группы обычно стремятся занять экваториальные положения. Это явление, ранее известное в химии алициклических соединений благодаря работам Хассела и сотрудников¹², оказалось особенно важным в конформационном анализе сахаров.

Один из главных основоположников этой новой главы стереохимии сахаров — Ривс⁷ установил 3 основных фактора нестабильности конформаций пиранозных колец:

1. Наличие аксиальных групп, иных чем атомы водорода (для свободных сахаров — наличие аксиальных гидроксильных групп).

2. Наличие так называемого $\Delta 2$ эффекта, т. е. наличие аксиального гидроксильного у C_2 , $C-O$ -связь которого делит пополам угол, образованный двумя $C-O$ -связями у первого углеродного атома.

Пространственное расположение связей $C-O$ у C_1 и C_2 представлено на схеме 4. Такое расположение, обуславливающее неблагоприятное дипольное взаимодействие в данной конформации, является особенно сильно действующим фактором нестабильности.

3. Третьим фактором нестабильности является наличие аксиальной 5-оксиметильной группы на той же стороне кольца, где находятся и другие объемистые аксиальные заместители (эффект Хассел—Отара)^{12, 13}. Ривс считал, что эти факторы нестойкости обладают аддитивностью, и условно принимал первый фактор — каждый объемистый аксиальный заместитель — за единицу, второй фактор — $\Delta 2$ -эффект за 2,5 единицы и третий фактор — эффект Хассел—Отара — за 0,5 единицы.

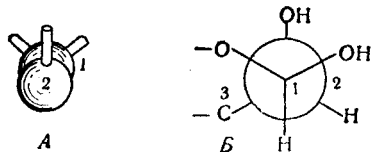


Схема 4. Схема $\Delta 2$ -эффекта: связь $C-O$ у второго углеродного атома делит пополам угол, образованный $C-O$ -связями первого углеродного атома. А — модель, показанная со стороны второго углеродного атома; Б — схема, показанная со стороны первого углеродного атома.

Эти предсказания с поразительной точностью подтвердились экспериментами самого Ривса, а потом и ряда других авторов. Не имея возможности останавливаться подробно на этих экспериментальных данных, мы все же упомянем о некоторых из них.

Ривс подтвердил свои предсказания исследованием медно-аммиачных комплексов различных замещенных и незамещенных гликозидов. Медно-аммиачный ион может образовать с диольными группировками, т. е. с двумя спиртовыми гидроксильными группами, комплекс в виде пятичленного кольца, в котором два атома — атомы C , два атома — атомы O и пятый — медно-аммиачный ион.

Для образования комплекса необходимы следующие условия: 1) соседнее расположение гидроксильных групп (это правило имеет лишь небольшое число исключений), и 2) поскольку соседние гидроксильные группы могут быть в пространстве направлены в разные стороны, для комплексообразования необходимо, чтобы расстояние между центрами кислородных атомов не превышало определенной величины порядка 2,86 Å.

На схеме 5 представлены возможные взаимные положения связей, направленных от соседних углеродных атомов к кислородным атомам диольных группировок во всех возможных конформациях пираноз. Если проецировать направления этих связей на плоскость, перпендикулярную С—С-связи, то проекционные углы будут иметь различные величины, практически постоянные в стабильных конформациях. По условию этот угол будет отрицательным, если измерять его со стороны ближайшей группы по ходу часовой стрелки или положительным при измерении против хода часовой стрелки. Комплексообразование возможно лишь при проекционных углах 0 и $\pm 60^\circ$; лишь при этих условиях расстояние между двумя кислородными атомами не превышает предельно допустимой величины 2,86 Å. При углах ± 120 и 180° расстояния между кислородными атомами равны соответственно 3,45 и 3,71 Å и комплексообразования не происходит.

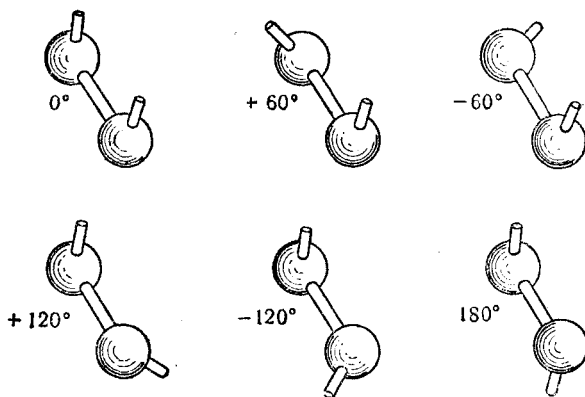


Схема 5. Возможные положения связей, направленных от соседних углеродных атомов к кислородным атомам диольных группировок во всех возможных конформациях пираноз.

Комплексообразование можно обнаружить наиболее просто спектрофотометрически, а также по изменению плоскости оптического вращения. Последнее представляет особый интерес. Изменение вращения даже при наличии комплексообразования может не происходить, если проекционный угол С—О-связей соседних атомов будет равен 0° , так как вновь образующийся пятичленный цикл будет симметричным. Если проекционный угол равен $+60$ или -60° , то при образовании комплекса пятичленный цикл будет перекошенным, асимметрическим, причем, очевидно, в зависимости от направления проекционных углов $+60$ или -60° вновь появляющееся вращение будет правым или же левым. Поскольку, например, в гликопиранозидах свободны 2, 3 и 4 гидроксильные группы, Ривс подобрал такие замещенные гликозиды, которые допускали образование лишь 2, 3 комплексов или же 3, 4 и показал, что первые, т. е. 2, 3 комплексы являются левовращающими, а 3, 4 комплексы — правовращающими. Таким образом, на основании того, происходит ли и как вращение медно-аммиачных комплексов (и изменяется ли и как вращение медно-аммиачных комплексов) различных пиранозидов и их замещенных можно было судить, каковы фактически проекционные углы соседних атомов в разных частях молекулы и, следовательно, какая конформация или конформации характерны для данных гликозидов или их производных.

В табл. 1 представлены в очень сокращенном виде данные о конформациях, полученные при изучении медно-аммиачных комплексов и данные, предсказанные на основании учета факторов неустойчивости. Как видно, соответствие очень хорошее; некоторым исключением в табл. 1 (стр. 1442) являются гулопиранозиды, которые фактически находятся в одной конформации.

В настоящее время существует большой арсенал средств для выяснения конформаций. Помимо изучения медно-аммиачных комплексов и изучения влияния щелочей на вращение сахаров¹⁴ широко применяют-

ТАБЛИЦА 1

| Метилгликопиранозид | Тип комплекса | Конформация на основании | |
|-----------------------------|---------------------|--------------------------|--------------------------------|
| | | комплекс-образования | расчета фактора неустойчивости |
| α -D-маннопиранозид | правовращающий | C1 | C1 |
| β -D-маннопиранозид | правовращающий | C1 | C1 |
| α -L-рамнопиранозид | левовращающий | 1C | 1C |
| α -D-альтропиранозид | право—левовращающий | C1, 1C | C1, 1C |
| β -D-альтропиранозид | право—левовращающий | C1, 1C | C1, 1C |
| α -D-гулопиранозид | правовращающий | 1C | C1, 1C |
| α -D-идопиранозид | компенсация | 1C | 1C |
| β -D-ксилопиранозид | компенсация | C1 | C1 |
| β -D-ксилопиранозид | компенсация | C1 | C1 |
| β -D-рибопиранозид | компенсация | C1 | C1 |
| α -D-ликсопиранозид | право—левовращающий | C1, 1C | C1, 1C |

ся и другие методы. Так, из химических методов можно назвать реакцию окисления свободных сахаров бромом по методу Исбелла и Пигмэна¹⁵. При этом гораздо легче окисляется экваториальный гликозидный гидроксил. Из физических методов полезной оказалась ИК-спектроскопия^{16, 17}, позволяющая различать экваториальное и аксиальное положение водорода у C₁ альдопираноз. Экваториальное положение связи C₁—H обуславливает пик в области 844 см⁻¹, а аксиальная связь C₁—H пик в области 891 см⁻¹. Для изучения кристаллических сахаров применяется рентгеноструктурный метод (см. исследование α -D-глюкозы¹⁸, α -L-рамнозы¹⁹, β -D-арабинозы²⁰).

Лемье с сотрудниками^{21, 22} в последние годы применили для изучения конформаций протонно-магнитный резонанс. Применяются и другие методы, как, например, изучение рефракции (метилгликозидов²³). Интересно, что эти методы почти во всех случаях подтвердили данные Ривса, полученные им при изучении медно-аммиачных комплексов.

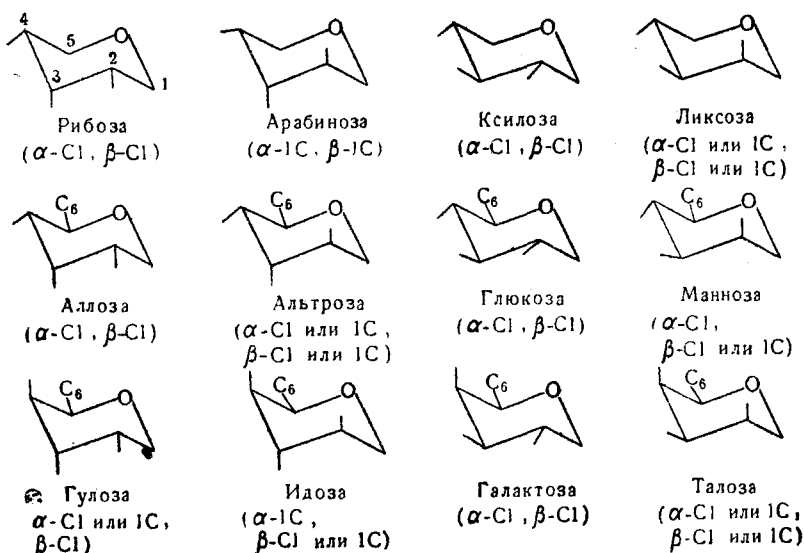


Схема 6. C1-конформации некоторых важнейших пираноз (пентоз и гексоз). На схематических конформационных формулах кроме колец отмечены лишь связи, идущие к гидроксильным группам и шестому углеродному атому (в гексозах)

Совокупность результатов, полученных всеми перечисленными методами, позволяет утверждать, что преимущественными конформациями для α - и β -пираноз и пиранозидов являются формы кресла, обычно $1C_1$; для L -арабинозидов, L -галактозидов и некоторых других — формы $1C_4$. На схеме 6 представлены некоторые важнейшие пента- и гексапиранозы в $1C_1$ конформациях. В случаях нестойких конформаций $1C_1$ и $1C_4$, близких по запасу энергии, присутствуют одновременно обе формы (например, в случае ликозы, альтрозы, талозы и некоторых других).

Наиболее стабильна $1C_1$ конформация β -глюкозы (схема 7), которая не имеет факторов неустойчивости: все ее гидроксилы и оксиметильная группа находятся в экваториальном положении. Производные глюкозы также оказались, как правило, наиболее стабильными по сравнению с производными других сахаров²⁴. Некоторые случаи, в которых производные α -глюкозы оказались прочнее производных β -глюкозы, что казалось непонятным с точки зрения конформационных представлений (например, большая стойкость α -метилглюкопиранозид²⁵, пентаацетил- α - D -глюкопиранозы²⁶, ацетогалогено- α - D -глюкопиранозы²⁷) — нашли свое объяснение с электронной точки зрения²⁸.

Говоря о преобладании конформации формы кресла для гликозидов и особенно свободных пираноз, нельзя, конечно, забывать, что эти формы не абсолютно стабильны: нельзя исключить (особенно в условиях реакций) возможность их перехода в другие формы, в частности, в промежуточные. Далее, определенное действие может оказывать растворитель. Молекулы воды, в частности, как правило, препятствуют образованию внутримолекулярных водородных связей, которые могут стабилизировать конформации, иногда довольно неблагоприятные. В этой связи следует упомянуть модельные опыты Стейси и сотрудников²⁹, которые показали, что в сухом CCl_4 *цис*-1,3-бензилиденглицерин целиком связан водородом второй гидроксильной группы глицерина (схема 8, I).

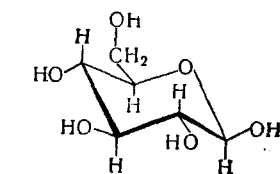


Схема 7. Обычная для глюкозы и глюкозидов $1C_1$ -конформация.

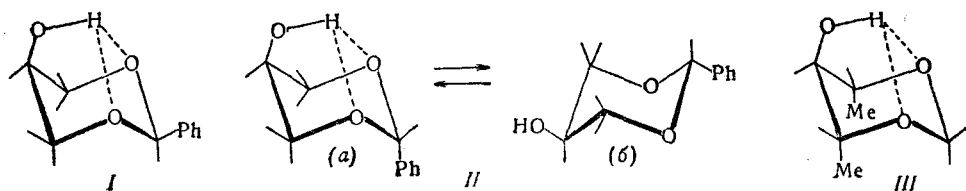
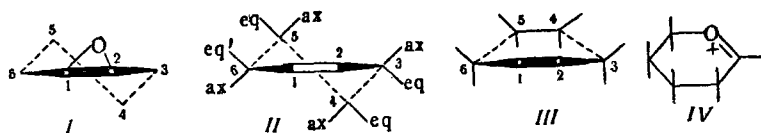


Схема 8. Роль водородных связей в образовании конформаций. I — *цис*-1,3-бензилиденглицерин; II — *транс*-1,3-бензилиденглицерин в двух равновесных конформациях с аксиальным (а) и экваториальным (б) положением фенильной группы; III — 1,5-дидезокси-2,4-метиленирибитол.

тогда как в *транс*-форме (схема 8, II) существует равновесная смесь. В данном случае связыванию *цис*-бензилиденглицерина способствует экваториальное положение фенильной группы. Однако в случае 1,5-дидезокси-2,4-метиленирибитила водородом связывается очень неблагоприятная конформация с двумя метильными аксиальными группами (схема 8, III).

В 1957 г. Ривс и сотрудники¹⁴ обратили внимание на значение формы лодки. Хотя форма кресла и обладает более низкой энергией, при некоторых обстоятельствах эта энергетическая разница может оказаться очень малой, когда конформация лодки позволяет всем объемистым заместителям расположиться экваториально. Возможно, что формы лодки образуются не в геометрически правильных, а в скошенных формах.

Такие конформации могут возникнуть при действии на гликозиды щелочей; в особенности их наличие оказывается необходимым в полисахаридах, о чем будет сказано ниже.



Формы полукресла. В последнее время большое внимание стали привлекать переходные формы, прежде всего форма полукресла. Модели таких форм в области алициклических соединений являются окись циклогексана³⁰ и циклогексен³¹. При помощи дифракции электронов показано, что атомы 6, 1, 2 и 3 в этих соединениях находятся в одной плоскости, а атомы 5 и 4 — выше и ниже этой плоскости (схема 9, I и II). Возможно, что молекулы могут существовать в форме полулодки (схема 9, III), хотя по всем данным эти конформации еще менее стабильны, чем формы полукресла.

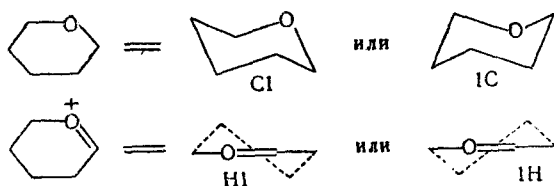


Схема 10. Пиранозное кольцо в формах кресла (C1 и IC) и неопределенный оксониевый ион, образовавшийся из пиранозы, в формах полукресла (H1 и IH).

Конформации типа полукресла, по-видимому, возникают в ряде химических и биохимических реакций сахаров. В частности, по-видимому, в форме полукресла существует образующийся при ряде реакций неопределенный оксониевый ион сахара (схема 9, IV). Причиной возникновения такой конформации является (также, как и для циклогексена) двойная связь. Такой ион, в частности, образуется как промежуточный продукт, при гидролизе гликозидов (стр. 1449). Форму полукресла предлагают обозначать буквой Н; противоположные конформации имеют обозначения IH и H1 (схема 10).

Б. О конформации пятичленных колец моносахаридов

По данным ИК-спектроскопии кольца цикlopentана и тетрагидрофурана не совершенно копланарны, но изогнутость их настолько мала, что их можно считать плоскими. Баркер и Стефенс³² констатировали идентичность ИК-спектров α - и β -фуранозидов, которые оказались неразличимы этим методом вследствие того, что оба аномера имели тот

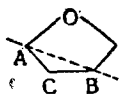


Схема 11. Фуранозное кольцо фрукто- и рибозы. Атом, обозначенный буквой С, на 0,5 Å выступает из плоскости кольца

же проекционный угол от кольца на $C_1 - H$. При рентгеноструктурном исследовании сахарозы³³ и кристаллического цитидина³⁴ во фруктофуранозильной и соответственно рибозифуранозильной части четыре атома фуранозного кольца оказались копланарными, а один на 0,5 Å выступал из этой плоскости. В обоих случаях это был четвертый атом фуранозного кольца, обозначенный на схеме 11 буквой С. По-видимому, небольшой изгиб молекулы по оси АВ облегчает приближение замести-

телей у атомов А, С и В к плоскости кольца. В растворах кольцо фураноз может довольно сильно изгибаться, о чем свидетельствует окисление периодатом. Такое окисление, независимо от конфигурации, происходит с разрывом связи между C_2 и C_3 . Так как окисление ионом периодата происходит через промежуточный комплекс с диолом³⁵, такой изгиб, когда диол является *транс*-диолом, должен быть значительным. Интересно, что когда такое искривление невозможно вследствие фиксации системы мостиком (например в 1,6-ангидроглюкофуранозе), периодатное окисление не наблюдается.

В. О конформации ациклических форм моносахаридов

Углеродная цепь ациклических форм сахаридов, по современным представлениям, принимает зигзагообразную конформацию, с зигзагообразным положением больших заместителей. Так, глюкоза должна иметь конформацию, показанную на схеме 12 (I), что мало похоже на

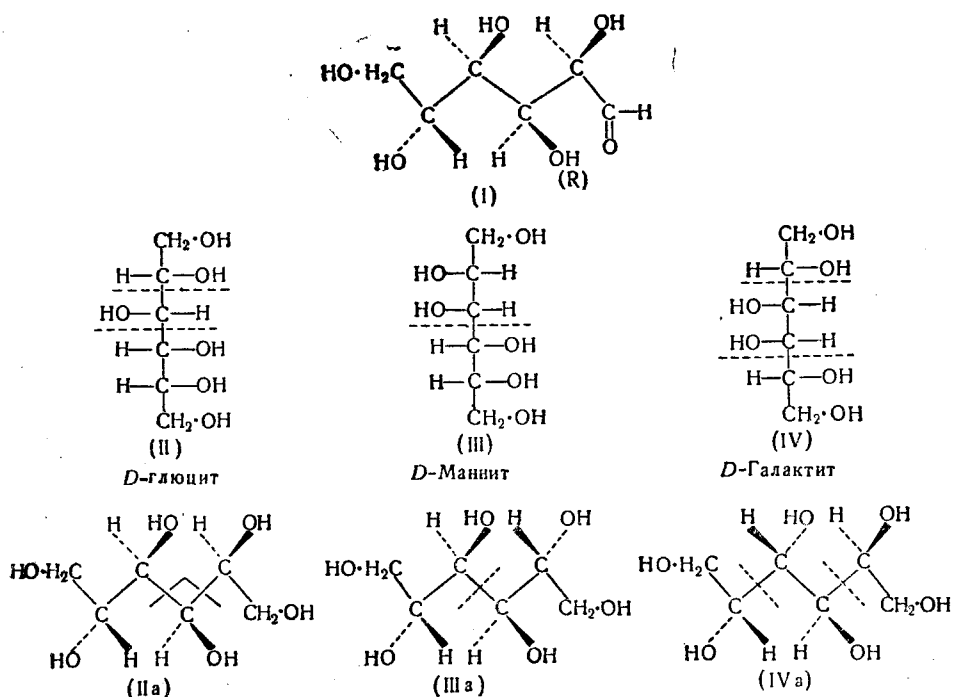


Схема 12. Конформационная формула глюкозы (I), фишеровские и конформационные формулы гекситов: глюцита (II) и (IIa), маннита (III) и (IIIa), галактита (IV) и (IVa)

формулу Фишера. Это вытекает из следующих фактов. В 1957 г. Шварц³⁶, окисляя периодатом гекситы, обнаружил, что при этом преимущественно разрываются связи *транс*-диолов, что на схеме 12 (II), (III) показано пунктиром. Обычно же периодат окисляет преимущественно *цис*-диольные системы. Это необычное окисление гекситов легко объяснимо, если исходить из более близко отражающих действительность конформационных формул. При этом, например, на глюците (IIa) видно, что гидроксилы у C_2 , C_3 и C_4 фактически являются *цис*-гидроксилами и они кажутся *транс*-гидроксилами лишь благодаря условности фишеровских формул, которые, как известно, являются проекцией молекул с углеродной цепью, расположенной в виде дуги, обращенной своей выпуклостью к наблюдателю.

Еще более убедительные доказательства зигзагообразной конформации ациклических форм дали Хью и Брейг³⁷, которые показали, что

большие заместители — R у C₃, затрудняют течение реакций, так как препятствуют приближению реагентов к положению I (схема 12), что объясняется зигзагообразной формой молекулы. Наконец, Литлтон³⁸ при помощи рентгеноструктурного анализа кристаллического глюконата обнаружил зигзагообразную углеродную цепь, лежащую почти в одной плоскости.

III. О КОНФОРМАЦИЯХ ОЛИГОСАХАРИДОВ

Конформации олигосахаридов изучены сравнительно мало. В качестве иллюстрации следует привести работы Бентли^{39, 40} о конформациях целлобиозы и мальтозы.

В целлобиозе оба остатка имеют C1 конформацию (схема 13). О такой конформации редуцирующего остатка говорило быстрое окисление

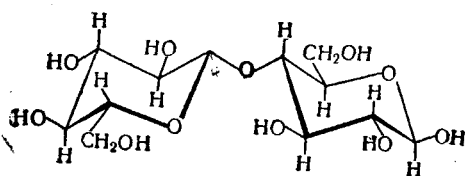


Схема 13. Конформационная формула целлобиозы. Оба остатка глюкозы находятся в конформации C1

бромной водой (сходное с окислением глюкозы), что свидетельствует об экваториальном положении полуацетального гидроксила. Необходимость расположения обоих глюкозных остатков в экваториальном положении заставило отвергнуть предположение о некоторых других возможных конформациях нередуцирующего остатка. Рентгеноструктурные исследования кристаллической целлобиозы еще ранее указы-

вали, что оба глюкозных остатка целлобиозы находятся в конформациях C1⁴¹. Следует упомянуть, что такие же конформации были найдены и в целлюлозе⁴².

В мальтозе редуцирующий глюкозный остаток, так же как в целлобиозе, имеет конформацию C1, о чем, в частности, свидетельствовало быстрое окисление бромом. Нередуцирующий остаток при наличии α -1,4-гликозидной связи не мог быть в конформации C1, поскольку α -полуацетальный гидроксил находится в аксиальном положении, а OH у C₄ — в

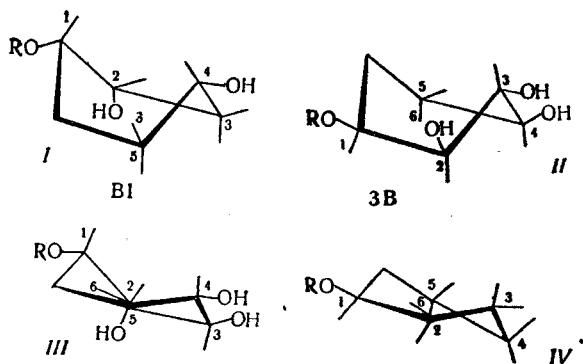


Схема 14. Возможные конформации нередуцирующего остатка в молекуле мальтозы (III и IV); они являются переходными между двумя конформациями формы лодки — B1 и 3B (I и II)

экваториальном. Ряд фактов, полученных при изучении скорости гидролиза мальтозы, скорости периодатного окисления α -метилмальтозида в сравнении с окислением некоторых других гликозидов, изучение поведения медно-аммиачных комплексов и действия щелочей показали^{39, 40}, что нередуцирующий глюкозный остаток в молекуле мальтозы имеет скошен-

ную конформацию, промежуточную при переходе от В1 к 3В. Именно эта конформация подтверждается всеми свойствами мальтозы (схема 14).

Таким образом, целлобиоза и мальтоза отличаются не только разными гликозидными связями (α - и β), но и конформациями нередуцирующего глюкозного остатка.

IV. О КОНФОРМАЦИЯХ ПОЛИСАХАРИДОВ

Эта область наиболее сложна и наименее изучена. Прежде всего нужно указать, что при обсуждении конформаций полисахаридов нужно учитывать две стороны вопроса: 1) конформацию моносахаридных остатков в молекуле и 2) форму всей молекулы, зависящей от взаимного положения моносахаридных остатков, которые могут вращаться вокруг соединяющих эти остатки гликозидных связей.

Исследования свидетельствуют о С1-конформациях глюкозных остатков в целлюлозе⁴².

Для глюкозных остатков амилозы крахмала конформация С1 мало вероятна вследствие аксиального положения α -полуацетального гидроксильного и экваториального положения ОН у С₄.

Ривс⁴³ на основании изучения медно-аммиачных комплексов и действия щелочей пришел к заключению, что глюкозные остатки в амилозе существуют не в одной, а в двух конформациях — конформациях лодки В1 и 3В. При действии щелочей (которые, как известно, изменяют свойства амилозы) происходит изменение конформации В1 в конформацию 3В, т. е. в «щелочной амилозе» все глюкозные остатки находятся в конформации 3В (схема 15). Такое изменение происходит потому, что

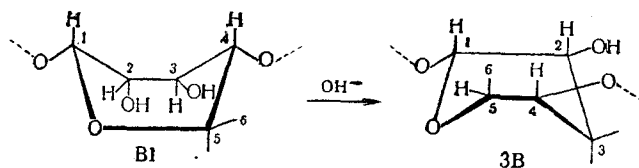


Схема 15. Конформации глюкозных остатков в амилозе: В1 и 3В. При действии щелочей конформация В1 переходит в 3В.

при диссоциации в щелочной среде аксиальные гидроксильные группы кольца у С₂, переходят в экваториальные положения. Быть может, эти представления в свете вышеизложенных работ Бентли⁴⁰ о конформациях гексозных остатков в мальтозе подлежат некоторым изменениям, но совершенно очевидно, что останутся ранее не подозревавшиеся различия целлюлозы и амилозы — наличие в первой конформации С1 и наличие во второй не менее чем двух конформаций — конформаций лодки или близких ей скошенных конформаций.

Известно, как часто режим сушки, действие щелочей и тому подобные факторы резко изменяют свойства полисахаридов. Вероятно, причину этих изменений нужно искать в изменениях конформаций моносахаридных остатков, поэтому необходима большая работа в направлении раскрытия истинных причин и механизмов этих изменений.

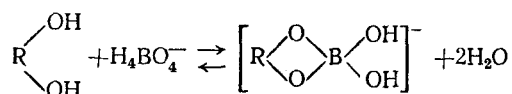
Что касается конформаций молекул полисахаридов в целом, то следует упомянуть недавнюю работу Эверетта и Фостера⁴⁴ по изучению конформаций амилозы в растворе. На основании изучения вязкости в разных растворителях (растворы КС1, КОН) ряда субфракций амилозы авторы пришли к заключению, что молекулы этих полисахаридов представляют собой изогнутые нити, но не спирали; последние, представляющие более прочные структуры палочек, существуют в ряде комплексов амилозы (с иодом, спиртами и т. д.).

V. НЕКОТОРЫЕ ЧАСТНЫЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ КОНФОРМАЦИИ УГЛЕВОДОВ

Вероятно, нет реакций в химии углеводов, для которых не имели бы значения конформационные отношения, и примеры, где их значение особенно велико, можно было бы приводить до бесконечности. Мы остановимся на небольшом их числе.

1. *Мутаротация*. Процесс превращения одной таутомерной формы моносахарида в несколько других с преобладанием одной из них, например, β -D-глюкозы в растворе. глюкозы, получил хорошее объяснение: β -форма глюкозы не имеет аксиальных гидроксильных групп, тогда как полуацетальный гидроксил α -формы является аксиальным. Это и определяет преобладание β -формы. В растворах всех сахаров преобладают те аномерные формы, которые конформационно наиболее стабильны.

2. *Взаимодействие с боратом и электрофорез*. Как известно, анион бората образует комплекс с диолом подходящей стереохимической формы^{45, 46} по следующей схеме:



Благодаря приобретенному заряду сахара получают возможность передвигаться при электрофорезе. Однако скорость передвижения зависит от положения равновесия, которое зависит от стереохимии диолов. Благоприятно расположенные гидроксильные группы образуют стабильные комплексы и сообщают ему высокую скорость передвижения. Изучая скорость передвижения различных замещенных глюкоз, Фостер⁴⁷ показал, что при pH 10 возможны три способа соединения глюкозы с боратом: в положении 2,4 и 4,6 открытой формы глюкозы [см. схема 12, (1)] и 1,2 (цис-диола) для α -формы глюкопиранозы и глюкофуранозы. Хотя возможны и другие места взаимодействия (например, 2,3) — они не имеют существенного значения. Метилксиллопиранозид не обладает подвижностью в боратном буфере, тогда как метиларабопиранозид движется быстро, что связано с образованием комплекса по месту 3,4-диола. Эти и ряд других фактов⁴⁸ находятся в хорошем соответствии с конформационными представлениями, что дает возможность объяснить и в известной степени предсказать поведение различных углеводов при электрофорезе.

3. *Хроматографическое поведение*. Некоторые данные указывают, что экваториальный гидроксил в сахарах сильнее гидратирован⁴⁹. Можно ожидать, что сахара с небольшим числом аксиальных гидроксильных групп будут более растворимы в воде и будут двигаться медленнее в соответствующих системах. Оказалось, что величины R_f свободных сахаров в большинстве случаев можно высчитать² по формуле $R_f = K + (n + a) \alpha$, где K и α — константы для одного ряда (например гексоз), n — число аксиальных гидроксильных групп в молекуле и a — часть аномерного сахара, которая в данном равновесном растворе содержит первый гидроксил в аксиальном положении (например, для глюкозы полуацетальный гидроксил в аксиальном положении имеет α -глюкоза и ее содержание в растворе составляет $\sim 0,34$ всего количества сахара). В приведенном уравнении величины n и a зависят от конформации и, таким образом, подвижность при хроматографии находится в непосредственной зависимости от конформаций. Лишь некоторые сахара, как арабиноза и галактоза, оказались исключением, давая более низкий R_f , чем вычисленный по формуле.

4. *Кислотный гидролиз гликозидов*. В настоящее время накоплен огромный фактический материал о зависимости скорости кислотного гидролиза гликозидов от их строения. До последнего времени в литературе дискутируются два возможных механизма гидролиза, предло-

женных Бантоном с сотрудниками⁵⁰ и Шафизаде⁵¹, с одной стороны, и Эдвардом⁵², — с другой.

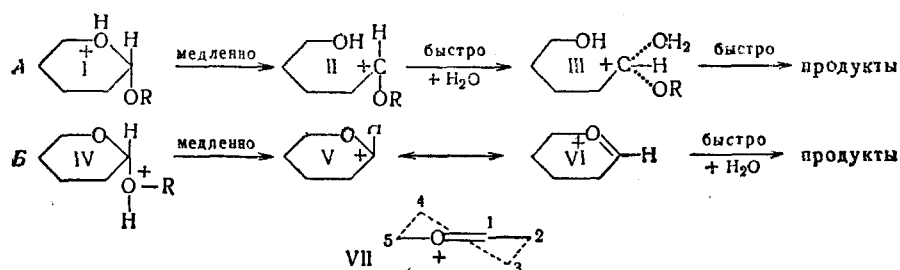


Схема 16. Схемы гидролиза гликозидов: А — по Бантону — Шафизаде, Б — по Эдварду

По схеме Бантона — Шафизаде (схема 16, А), протон присоединяется к кислороду пиранозидного кольца (I), после чего идет медленное (и поэтому определяющее скорость всего процесса гидролиза) раскрытие пиранозного кольца, а затем в две стадии образуются продукты гидролиза. По схеме Эдварда (схема 16, Б), разработанной, преимущественно, на алкилгликозидах, протон присоединяется к кислороду замещенного полуацетального гидроксила (IV), после чего в медленно идущей реакции отщепляется спирт и образуется карбониевый или непредельный оксониевый ион (VI). Последний быстро взаимодействует с водой и дает конечные продукты гидролиза. Непредельный оксониевый ион существует в конформации полукресла Н1. Переход конформации кресла С1, в виде которой существует большинство пиранозидов, в конформацию Н1 (схема 16, VII) сопровождается небольшим вращением атомных групп молекулы вокруг связей 2,3 и 4,5. Поскольку скорость гидролиза определяется скоростью медленно идущей фазы — скоростью образования формы полукресла Н1 — большое значение имеют факторы, влияющие на вращение атомных групп вокруг связей 2,3 и 4,5. При этом, как всегда, объемистые заместители стремятся занять экваториальные положения. Схема Эдварда объясняет с единой точки зрения огромный фактический материал и, по-видимому, в этом ее преимущество перед схемой Бантона². В частности, она объясняет, почему алкилгептозиды более стабильны, чем алкилгексозиды, которые, в свою очередь, стабильнее алкилпентозидов⁵³.

Недавно^{54, 55} при изучении кинетики гидролиза фенол- и хлорфенилгликозидов получены данные, находящиеся в хорошем соответствии с конформационными представлениями схемы Эдварда и, в свою очередь, являющиеся новым фактическим материалом, подтверждающим эту схему. По нашим данным, фенол- и *p*-хлорфенилглюкозы [схема 17, (II)] гидролизуются медленнее, чем соответствующие ксилозиды [схема 17, (I)], вследствие наличия у C_5 глюкозидов тяжелого заместителя CH_2OH , который при образовании формы полукресла должен выйти из экваториального положения и несколько приблизиться к аксиальному (схема 17). С другой стороны, гидроксил у C_4 , находящийся

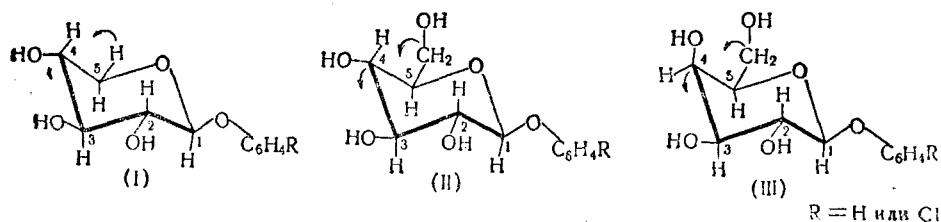


Схема 17. Ксилозиды (I), глюкозиды (II) и галактозиды (III) в конформации С1

ся у галактозидов в аксиальном положении [схема 17, (III)], при образовании формы полукресла будет переходить в положение, близкое к экваториальному, и этим облегчать гидролиз галактозидов по сравнению с глюкозидами.

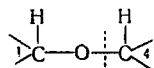
Более медленный гидролиз изучавшихся нами *p*-хлорфенилгликозидов по сравнению с гидролизом соответствующих фенилгликозидов может быть объяснен понижением электронной плотности в бензольном ядре агликона хлорфенола и говорит в пользу присоединения протона к кислородному атому замещенного полуацетального гидроксила, а не к кислородному мостику пиранозидного кольца.

VI. КОНФОРМАЦИОННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ В БИОХИМИИ

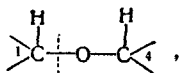
Представления о конформациях пока очень мало используются в биохимии.

Более подробно мы остановимся на работе Майера и Ларнера⁵⁶ о механизме действия α - и β -амилаз. Уже несколько десятков лет остается загадочным вопрос — почему при действии α -амилазы на полисахариды типа крахмала с α -1,4-глюкозидными связями получают сахараиды — мальтозу или ее полимерогомологи — в α -форме, а при действии β -амилазы — мальтоза в β -форме.

Майер и Ларнер вначале исходили из предположения, что, быть может, разный эффект действия амилаз зависит от разных точек приложения. Если при действии α -амилазы разрыв глюкозидного мостика происходит между кислородом и C_4 , то тогда конфигурация у C_1 не должна



измениться и тогда получился бы продукт с α -полуацетальным гидроксилом. Если же при действии β -амилазы связь рвется между C_1 и O,



то тогда, поскольку реакция происходит непосредственно у центра асимметрии C_1 — может измениться конфигурация и может получиться β -гликозидный гидроксил. Для решения этого вопроса расщепление гликогена кристаллическими α - и β -амилазами проводилось в H_2O ¹⁸. Оказалось, что в обоих случаях энзиматически образованные сахара содержат O^{18} в положении 1 (а не 4). Мальтоза в контрольном опыте содержала лишь следы O^{18} . Следовательно, само расщепление связи происходит при действии α - и β -амилаз в одном месте, непосредственно у C_1 . Для объяснения образования разных α - и β -полуацетальных гидроксидов авторы использовали современное представление о гидролизе гликозидов по схеме Эдварда, о которой упоминалось выше, с промежуточным образованием неопределенных оксониевых ионов в конформации полукресла. По-видимому, гидролиз α - и β -амилазами протекает следующим образом (схема 18).

Полигликозидная цепь гликогена с глюкозными остатками в конформации лодки В1 располагается на поверхности энзима (А). Происходит присоединение протона к кислородному мостику (В) с образованием предельного оксониевого иона. Затем происходит расщепление цепи; правая часть участка молекулы (В) с образовавшимся гидроксилом далее (до следующей атаки фермента) не изменяется, и мы ее не пишем. Левая часть, то есть то, что отщепилось (мальтоза

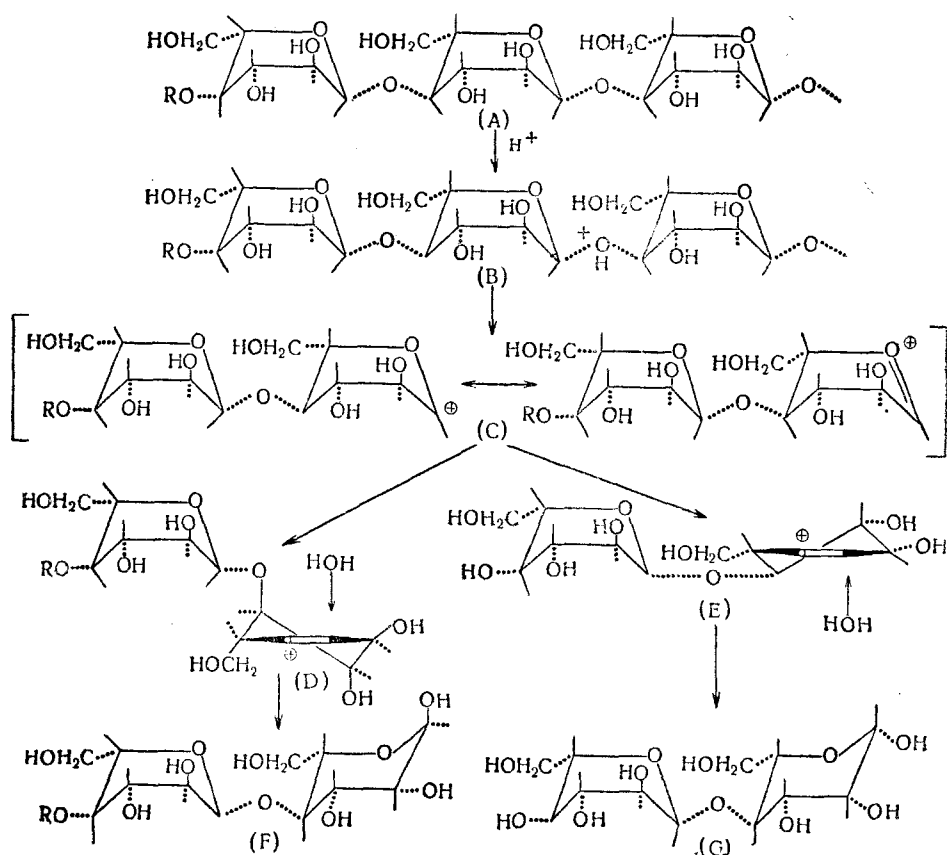


Схема 18. Схема гидролиза гликогена α- и β-амилазой

в случае β-амилазы, тогда R=H, и мальтоза или ее гомологи в случае α-амилозы) представляет собой карбониевый или оксониевый ион (C). Этот неопределенный нестойкий ион должен принять более стойкую конформацию — C1 и в обоих случаях α- и β-амилазы этот переход происходит через форму полукресла. Но в одном случае, вследствие особенностей поверхности α-амилазы, ее стерических особенностей, переход идет через форму H1 (D), а в другом случае — при действии β-амилазы — через 1H (E). В конечном итоге в одном случае получается α-(F); а в другом — β-глюкозидный гидроксил (G).

В приведенную выше схему Майера и Ларнера нужно внести поправку в отношении конформации нередуцирующего остатка глюкозы в мальтозе (должна быть скошенная форма лодки) (см. стр. 1446). Что касается оценки этой схемы, то хотя и нельзя ее считать полностью доказанной, во всяком случае это первое удовлетворительное объяснение различий действия α- и β-амилаз, причем объяснение, основанное на современных представлениях.

Под влиянием альдозаз при конденсации веществ с первичной альдегидной группой с альдегидами образуются продукты, имеющие диольную группировку трео-конфигурации, например: фосфат диоксиацетона + D-глицеральдегид ⇌ D-фруктозофосфат.

Анализ этого явления с позиции конформационных представлений и его значения в биосинтезе были даны Хью и сотрудниками⁵⁷.

Конформационные представления были использованы недавно Валенфельсом при рассмотрении механизма действия галактозидаз⁵⁸. Особенно важное значение конформационные представления должны иметь при анализе специфических иммунохимических реакций.

Не подлежит сомнению, что если в химических реакциях скорость и даже сама возможность протекания многих реакций зависят от конформационных отношений, то в такой же, если не большей степени, это должно быть и в биохимических реакциях. Совершенно очевидно, что механизмы энзиматических реакций нужно также стремиться толковать с учетом конформаций.

ЛИТЕРАТУРА

1. R. Reeves, *Ann. rev. biochem.*, **27**, 15 (1958).
2. R. J. Ferrier, W. G. Overend, *Quart. Rev.*, **13**, 265 (1959).
3. G. Michel, *Bull. Soc. chim. France*, **1960**, 2173.
4. Б. Н. Степаненко, *Усп. химии*, **28**, 521 (1959).
5. Б. Н. Степаненко, «Активные формы» простых сахаров и их отношение к обмену углеводов, Медгиз, 1945.
6. R. Reeves, *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 957 (1951).
7. R. Reeves, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **6**, 107 (1951).
8. J. Isbell, *J. Res. Natl. Bur. Stand.*, **57**, 171 (1956).
9. R. D. Guthrie, *Chem. a. Ind.*, **1958**, 1593.
10. H. Isbell, R. Tipson, *Science*, **130**, 793 (1959).
11. H. Isbell, R. Tipson, *J. Research, NBS*, **64**, A, 171 (1960).
12. O. Hassel *Quart. Rev.*, **7**, 221 (1953).
13. O. Hassel, B. Ottar, *Acta Chem. Scand.*, **1**, 929 (1947).
14. R. Reeves, F. A. Blouin, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 2261 (1957).
15. H. S. Isbell, W. Pigman, *J. Res. Natl. Bur. Stand.*, **10**, 337 (1932).
16. W. Brock-Neely, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **12**, 13 (1957).
17. H. Isbell, F. Smith и другие, *J. Res. Natl. Bur. Stand.*, **59**, 41 (1957).
18. E. McDonald, C. A. Beevers, *Acta Cryst.*, **5**, 654 (1952).
19. McGeachin, C. A. Beevers, Там же, **10**, 227 (1957).
20. Furberg, Hordvik, *Acta Chem. Scand.*, **11**, 1594 (1957).
21. R. Lemieux, R. Kullnig, H. Bernstein, W. Schneider, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 6098 (1958).
22. R. Lemieux, R. Kullnig, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 1005 (1957).
23. R. Kelly, *Can. J. Chem.*, **35**, 149 (1957).
24. R. Hansen, E. Craine, *J. Biol. Chem.*, **205**, 293 (1954).
25. Bollenbeck, *Methyl Glucoside*, Acad. Press, N. Y., 1958, стр. 12.
26. W. Bonner, *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 2659 (1951).
27. R. Lemieux, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **9**, 1 (1954).
28. T. Edwards, *Chem. a. Ind.*, **1955**, 1102.
29. J. Brimacombe, A. Foster, M. Stacey, *Chem. a. Ind.*, **1958**, 1228.
30. B. Ottar, *Acta Chem. Scand.*, **1**, 283 (1947).
31. D. Barton, R. Cookson, W. Klyne, C. Shoppee, *Chem. a. Ind.*, **1954**, 21.
32. G. Barker, Stephens, *J. Chem. Soc.*, **1954**, 4550.
33. R. Beevers, Cochran, *Proc. Roy. Soc.*, **190A**, 257 (1947).
34. Furberg, *Acta Cryst.*, **3**, 325 (1950).
35. G. Buist, C. Bunton, *J. Chem. Soc.*, **1954**, 1406; **1957**, 4567, 4580.
36. J. C. Schwarz, Там же, **1957**, 276.
37. L. Hough, P. Bragg, Там же, **1957**, 4347.
38. C. D. Littleton, *Acta Cryst.*, **6**, 775 (1953).
39. R. Bentley, *Abstr. Div. Carbohydrate Chem., Am. Chem. Soc. 132, Meeting 6D* (N.—Y., September, 1957).
40. R. Bentley, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 1952 (1959).
41. J. Wunderlich, *C. r.*, **240**, 1350 (1955).
42. W. Astbury, M. Davies, *Nature*, **154**, 84 (1944).
43. R. Reeves, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 4595 (1954).
44. W. Everett, J. Foster, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 3464 (1959).
45. A. Foster, *Adv. Carbohydrate Chem.*, **12**, 81 (1957).
46. J. Boeseken, *Adv. Carbohydrate Chem.*, **4**, 189 (1949).
47. A. Foster, *J. Chem. Soc.*, **1953**, 982.
48. A. Foster, Там же, **1957**, 1395.
49. M. Kabagana, D. Patterson, *Canad. J. Chem.*, **36**, 563 (1958).
50. C. Bunton, T. Lewis, D. Llewellyn, Там же, **1955**, 4419.
51. F. Shafizade, *Adv. Carbohydrate Chem.*, **13**, 9 (1958).
52. T. Edwards, *Chem. a. Ind.*, **1955**, 1102.
53. H. S. Isbell, H. L. Frush, *J. Res. Natl. Bur. Stand.*, **24**, 125 (1940).
54. Б. Н. Степаненко, О. Г. Сердюк, Углеводы и углеводный обмен, **40**, Изд. АН СССР, 1962.
55. Б. Н. Степаненко, О. Г. Сердюк, ДАН, **139**, 1132 (1961).
56. F. Meyer, J. Larnier, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 188 (1959).
57. L. Hough, J. K. Jones, *Adv. Carbohydrate Chem.*, **11**, 185 (1956).
58. K. Wallenfels, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **42**, 1715 (1960).