

# УГЛЕВОДЫ

---

Строение углеводов  
и углеводсодержащих  
биополимеров

Синтез углеводов  
и углеводсодержащих  
биополимеров

Отдельные представители углеводов  
и углеводсодержащих  
биополимеров



**Колли Александр Андреевич** (1840—1916), русский химик-органик. Окончил Московский университет (1860), в 1876—1903 гг.— профессор Московского Высшего технического училища. Основные работы — в области химии углеводов. Одним из первых установил строение глюкозы (1870). Первым синтезировал дисахариды (1879).

Углеводы относятся к числу наиболее распространенных в природе органических соединений: они являются компонентами клеток любых организмов, в том числе бактерий, растений и животных. Среди них встречаются как достаточно простые соединения с молекулярной массой около 200, так и гигантские полимеры, молекулярная масса которых составляет несколько миллионов. Углеводы появляются в растениях уже на ранних стадиях превращения углекислого газа в органические соединения в процессе фотосинтеза. Животные не способны сами синтезировать углеводы из углекислого газа и поэтому полностью зависят от растений как их поставщиков.

Функции углеводов в клетках весьма разнообразны. Они служат источником и аккумулятором энергии клеток (крахмал, гликоген), выполняют скелетные функции в растениях и некоторых животных, например в крабах, креветках, служат основой клеточной стенки бактерий, входят в состав некоторых антибиотиков. Большинство животных белков имеют детерминанты углеводной природы, являясь гликопротеинами. Нельзя забывать и о том, что углеводы D-рибоза и D-дезоксирибоза — одни из главных компонентов нуклеиновых кислот. В последние годы большое внимание привлекают функции углеводов как рецепторов клеточной поверхности и антигенных детерминант природных биополимеров.

**Исторический очерк.** Еще в древние века человечество познакомилось с углеводами и научилось использовать их в практической деятельности. Хлопок, древесина, лен, тростниковый сахар, мед, крахмал — это лишь некоторые из углеводов, сыгравшие важную роль в развитии цивилизации.

В индивидуальном виде первые моносахариды — глюкоза и фруктоза — были выделены в конце XVIII — начале XIX века, однако установление их структуры стало возможным лишь с развитием учения о строении органических соединений. Определение элементного состава глюкозы, фруктозы, маннозы и других углеводов показало, что они имеют общую формулу  $C_n(H_2O)_n$ , т. е. как бы состоят из углерода и воды; отсюда углеводы и получили свое название.

Р. Фиттиг и А. Байер первыми предложили в 1868 — 1870 гг. правильную формулу глюкозы, однако оставалось неясным, каким образом моносахариды, имеющие идентичную формулу, могут различаться по физико-химическим свойствам. Это противоречие удалось разрешить Э. Фишеру с помощью стереохимических представлений Я. Г. Вант-Гоффа: он определил относительную конфигурацию ряда моносахаридов (глюкозы, фруктозы, маннозы, арабинозы), что заложило основу современной химии углеводов. Многие свойства моносахаридов тем не менее оставались необъясненными. В частности, число изомерных моносахаридов и их производных было вдвое больше, чем следовало из положений стереохимической теории, что свидетельствовало о наличии дополнительного асимметрического атома углерода. А. А. Колли объяснил этот парадокс образованием оксидного цикла за счет альдегидной группы и одного из гидроксильных, однако размер цикла — трехчленный — был предсказан им неправильно. Экспериментальное доказательство размера лактольного кольца было получено лишь в 20-х годах нашего века У. Хеурсом, применившим для решения задачи метод метилирования.

Одновременно было начато изучение строения полисахаридов, что также стало возможным благодаря работам У. Хеурса. Полисахариды, входящие в состав растений, бактерий и животных тканей, надолго привлекли внимание исследователей. Бактериальные полисахариды, образующие основные антигенные детерминанты бактерий и определяющие их серотип, и до настоящего време-

ни вызывают повышенный интерес прежде всего в плане получения вакцин к патогенным бактериям.

В дальнейшем внимание исследователей было привлечено к изучению углеводов-содержащих смешанных биополимеров — гликопротеинов, гликолипидов, протеогликанов и т. д., которые составляют основу клеток и жидкостей животных организмов и играют ключевую роль в процессах жизнедеятельности. Долгое время считалось, что высокомолекулярные углеводы представляют собой энергетический резерв клетки и не имеют никаких других существенных биологических функций. Отношение к гликоконъюгатам резко изменилось после того, как в 1969 г. обнаружилось, что опухолевая трансформация животных клеток приводит к заметному изменению спектра гликопротеинов и гликолипидов клеточных мембран. Стало очевидным, что такие изменения могут играть роль в распознавании опухолевых клеток иммунной системой организма и в метастазировании. Возникло более общее предположение, что углеводные детерминанты гликоконъюгатов клеточной поверхности участвуют в межклеточном узнавании. Эти гипотезы стимулировали изучение структуры углеводных цепей гликоконъюгатов, и заметные успехи были достигнуты в 70 — 80-е годы благодаря работам А. Кобаты, С. Корнфельда, С.-И. Хакомори и др. Сложность задачи потребовала привлечения всего арсенала химических, биохимических и физико-химических методов анализа. Среди исследованных гликопротеинов — групповые вещества крови, иммуноглобулины, компоненты системы комплемента, гликопротеины мембран животных клеток.

Важную роль в понимании химических свойств сахаров, особенно их циклических форм, сыграло развитие учения о конформациях молекул. основополагающими стали работы, выполненные в 50-е годы Р. Лемье. Действенным инструментом изучения конформаций сахаров в растворе становится ядерный магнитный резонанс. Многочисленные данные накоплены о конформациях сахаров в кристаллах с помощью рентгеноструктурного анализа, который успешно используется и при исследовании пространственной структуры углеводсодержащих биополимеров.

В 50-е годы работами Л. Лелуара, обнаружившего уридиндифосфатглюкозу, а позднее полипренильные производные сахаров, было положено начало изучению процесса биосинтеза углеводных цепей углеводсодержащих биополимеров.

Большой путь прошла и синтетическая химия углеводов. Полный синтез моносахаридов (глюкозы, маннозы и фруктозы), осуществленный еще в конце XIX в. Э. Фишером, в настоящее время не находит применения — гораздо легче получить моносахариды из природных источников. В те же годы Э. Фишером был разработан метод получения гликозидов простейших спиртов, однако начало направленному синтезу гликозидов и олигосахаридов было положено в 1901 г. В. Кёнигсом и Э. Кнорром, предложившими использовать в качестве гликозилирующего агента гликозилгалогениды. Классический метод Кёнигса — Кнорра и его модифицированные варианты оставались единственными способами гликозилирования сложных спиртов до 60-х годов нашего столетия, когда в ряде стран, в том числе в СССР, были разработаны рациональные методы синтеза углеводов (ортоэфирный, оксазолиновый и др.). Несмотря на большие трудности, это направление существенно продвинулось вперед, в настоящее время осуществлен химический синтез многих сложных гетероолигосахаридов (состоящих из различных моносахаридных остатков), полисахаридов и неогликопротеинов (см. с. 490).

Биоорганическая химия углеводов достигла значительного прогресса в синтезе, изучении структуры и выяснении биосинтеза углеводов и углеводсодержащих биополимеров. На повестке дня сегодня — познание роли углеводных цепей гликоконъюгатов в процессе жизнедеятельности растительных и животных организмов.



**Лелуар [Leloir] Луис Федерико** (р. 1906), аргентинский биохимик. Окончил университет в Буэнос-Айресе (1932), с 1962 г. — заведующий кафедрой биохимии этого университета. Основные работы — по изучению биосинтеза и обмена углеводов. Выделил глюкозодифосфат (1948) и уридиндифосфатглюкозу (1951). Лауреат Нобелевской премии по химии (1970).

# Строение углеводов и углеводсодержащих биополимеров

## Первичная структура и химические свойства углеводов и углеводсодержащих биополимеров

Все известные углеводы можно подразделить на три больших класса — моносахариды, олигосахариды и полисахариды. Отдельную группу составляют углеводсодержащие смешанные биополимеры.

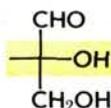
**Моносахаридами** являются полигидроксикарбонильные соединения общей формулы  $C_n(H_2O)_n$ ; кроме гидроксильных и карбонильных групп, они могут содержать тиольные, карбоксильные и аминогруппы. К моносахаридам принято относить также продукты их окисления или восстановления, лишенные карбонильной группы.

**Полисахариды** представляют собой продукты поликонденсации моносахаридов. Это типичные полимеры, часто построенные из тысяч моносахаридных остатков, причем молекулярная масса отдельных молекул, входящих в состав образца, может существенно различаться.

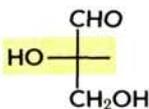
**Олигосахариды** составляют промежуточный класс между моносахаридами и полисахаридами и содержат от двух до десяти моносахаридных остатков.

### Моносахариды

Моносахариды представляют собой полигидроксикальдегиды и полигидроксикетоны, которые называются соответственно *альдозами* и *кетозами*. В зависимости от числа углеродных атомов в цепи моносахариды делятся на триозы, тетрозы, пентозы, гексозы и высшие сахара. Характерная особенность этих соединений состоит в наличии асимметрических атомов углерода, число которых растет по мере удлинения цепи. Простейшими альдегидоспиртами, имеющими один асимметрический атом углерода, являются триозы — стереоизомеры глицеринового альдегида, изображенные в проекциях Фишера.



D-Глицериновый альдегид

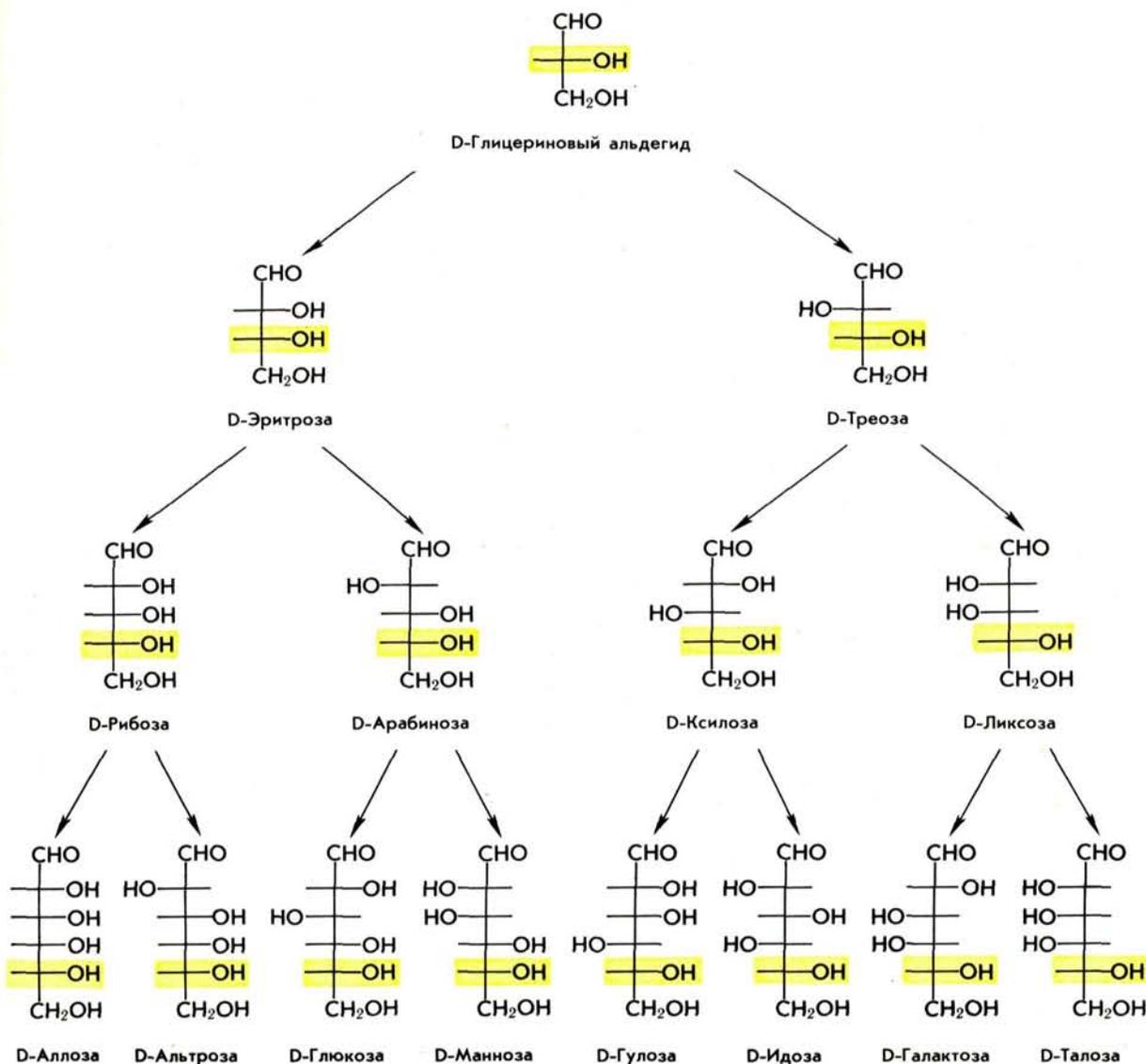


L-Глицериновый альдегид

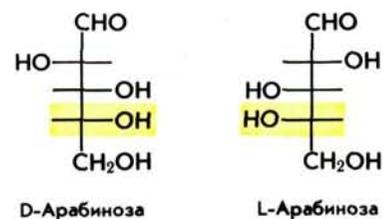
Построение фишерских проекций предусматривает следующее: объемная модель соединения (в данном случае глицеринового альдегида) располагается над плоскостью чертежа так, чтобы угол, образуемый углерод-углеродными связями, был обращен к плоскости и при проецировании цепь углеродных атомов расположилась бы вертикально. При этом C-атом с наименьшим порядковым номером (у альдоз — альдегидный атом углерода) должен быть вверху, а два заместителя при асимметрическом атоме углерода (атом водорода и гидроксильная группа) окажутся справа и слева. Если OH-группа находится справа, такой изомер относится

к D-ряду, если слева — к L-ряду. При увеличении числа асимметрических атомов каждый из них рассматривается независимо от других и обладает D- или L-конфигурацией в соответствии с расположением связанной с ним гидроксильной группы. Моносахарид в целом относят к D-ряду, если наиболее удаленный от альдегидного асимметрический C-атом имеет D-конфигурацию.

Ниже изображены альдозы D-ряда, родоначальником которых является D-глицериновый альдегид



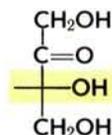
Для перехода от моносахарида D-ряда к L-ряду необходимо изменить на противоположную конфигурацию всех асимметрических углеродных атомов.



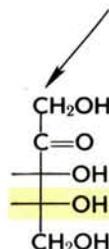
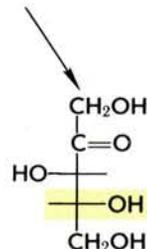
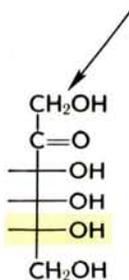
Простейшей кетозой, обладающей асимметрическим С-атомом, является тетроза — D-тетрулоза. Ниже изображены кетозы D-ряда:



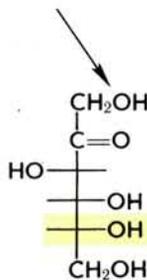
**Хеурс [Haworth] Уолтер Норман** (1883—1950), английский химик-органик. Образование получил в Манчестерском и Гёттингенском университетах, в 1912—1948 гг. — профессор Бирмингемского университета. Основные работы посвящены химии углеводов. Доказал, что глюкоза, галактоза и манноза содержат шестичленные циклы (формулы Хеурса). Изучал строение витамина С и впервые синтезировал его (1933, совместно с Т. Рейхштейном). Лауреат Нобелевской премии по химии (1937).



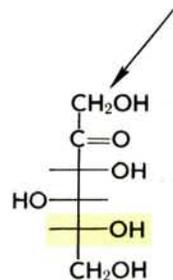
D-Тетрулоза (эритрулоза)

D-Рибулоза  
(D-эритро-пентулоза)D-Ксилулоза  
(D-трео-пентулоза)

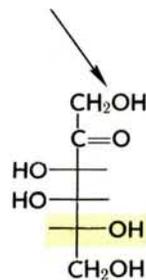
D-Псилоза



D-Фруктоза



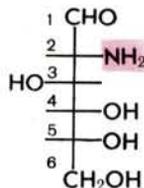
D-Сорбоза



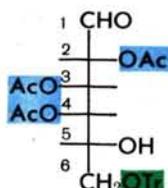
D-Тагатоза

Наличие в молекуле асимметрических атомов углерода делает моносахариды оптически активными соединениями, причем величина удельного вращения является характеристическим параметром моносахарида.

Номенклатура моносахаридов основывается на соединениях с неразветвленной цепью атомов углерода. Углеродные атомы нумеруют таким образом, чтобы карбонильный углерод имел наименьший номер. Заместители (атомы, функциональные группы) получают тот же номер, что и углеродный атом, с которым они соединены. Если в молекуле имеется более одной функциональной группы, они перечисляются в алфавитном порядке. Отсутствие OH-группы отражается префиксом «дезокси».



2-Амино-2-дезоксид-  
D-глюкоза  
(D-глюкозамин)



2, 3, 4-три-O-ацетил-  
6-O-третил-D-глюкоза

Нередко при написании моносахаридных звеньев (прежде всего в олиго- и полисахаридах) используют буквенные обозначения:

Ara — Арабиноза	Gal — Галактоза
GalNAc — N-Ацетилгалактозамин	Glc — Глюкоза
GlcNAc — N-Ацетилглюкозамин	GlcA — Глюкуроновая кислота
ManNAc — N-Ацетилманнозамин	Xyl — Ксилоза
MurNAc — N-Ацетилмурамовая кислота	Man — Манноза
NeuNAc — N-Ацетилнейраминавая кислота	Rha — Рамноза
	Rib — Рибоза
	Fru — Фруктоза
	Fuc — Фукоза



**Кёнигс [Koenigs] Вильгельм** (1851—1906), немецкий химик-органик. Образование получил в Берлине; работал в лаборатории Ф. Кекуле, а затем А. Байера в Мюнхене. Известен работами по синтезу различных алифатических, ароматических и гетероциклических соединений. Впервые синтезировал хинолин (1879) и пиперидин (1881). Предложил (1901, совместно с Е. Кнорром) способ синтеза гликозидов сахаров.

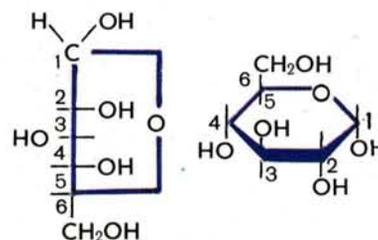
**Циклические формы и таутомерия моносахаридов.** Приведенные структуры являются ациклическими; в действительности, моносахариды находятся главным образом в полуацетальных циклических формах, которые возникают в результате взаимодействия карбонильной группы моносахарида с одной из его гидроксильных групп.

Впервые предположение о циклической форме сахаров было высказано А. А. Колли в 1870 г., однако лишь в 20-е годы нашего века У. Хеурсом был экспериментально определен размер лактольного цикла для некоторых моносахаридов. У. Хеурс предложил называть сахара с шестичленным циклом *пиранозами*, а с пятичленным — *фуранозами*. Большинство пентоз и гексоз образуют пиранозный цикл в результате взаимодействия карбонильной группы с гидроксильной при С-5. У альдоз фуранозный цикл образуется с участием гидроксильной при С-4.

Циклические формы моносахаридов принято изображать в перспективных формулах, предложенных У. Хеурсом. Например, пиранозная форма D-глюкозы в формулах Э. Фишера и У. Хеурса.

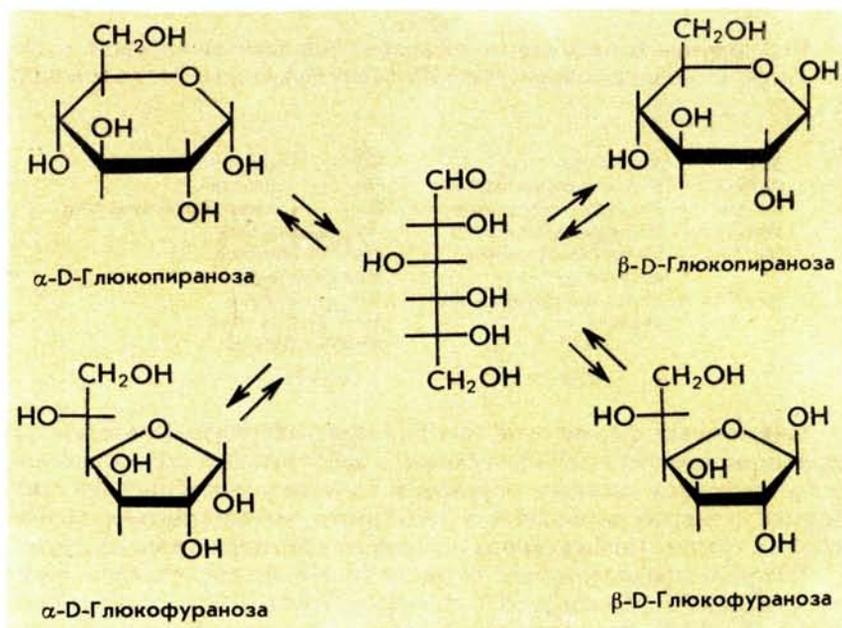
Для перехода от первых формул ко вторым необходимо придерживаться следующего правила: сверху от плоскости молекулы располагают группы, находящиеся при углеродных атомах с L-конфигурацией (кроме С-5 в пиранозах и С-4 в фуранозах), снизу — при углеродных атомах с D-конфигурацией; для боковой цепи, находящейся при С-5 в пиранозах и С-4 в фуранозах, правило обратное.

Легко видеть, что в результате взаимодействия карбонильной и гидроксильной групп альдозы образуется новый асимметрический центр при С-1, что влечет за собой появление еще одной пары стереомеров (аномеров) для каждого моносахарида. Стереомер, имеющий одинаковую конфигурацию при С-1 и последнем асимметрическом атоме (определяющем принадлежность моносахарида к D- или L-ряду), называется  $\alpha$ -аномером, стереомер с противоположной конфигурацией при этих двух атомах называется  $\beta$ -аномером. В соответствии с данным правилом производные альдоз по С-1 относят к  $\alpha$ - или  $\beta$ -аномерам.



D-Глюкопираноза

Обычно в растворах одновременно присутствуют различные таутомерные формы одного и того же моносахарида, находящиеся в динамическом равновесии друг с другом; при нарушении соотношения форм система возвращается в состояние равновесия (явление *мутаротации*), что можно заметить по изменению величины удельного вращения раствора. В обычных условиях равновесие существенно смещено в сторону  $\alpha$ - и  $\beta$ -пираноз; относительное содержание  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров в значительной степени определяется конформацией пиранозного кольца.



Гидроксил, образующийся при C-1 в результате циклизации, называется полуацетальным, а углеродный атом (C-1) — аномерным. Полуацетальный гидроксил резко отличается по свойствам от других гидроксильных групп молекулы. Он легко может замещаться на другие нуклеофильные группировки, в результате чего образуются различные производные сахаров по C-1: гликозиды, гликозилгалогениды, 1-O-ацильные производные и т. д.

Углеводы — полифункциональные соединения: их химические свойства обусловлены как наличием карбонильной и гидроксильных групп, так и их взаимным расположением, т. е. стереохимическими особенностями данного моносахарида.

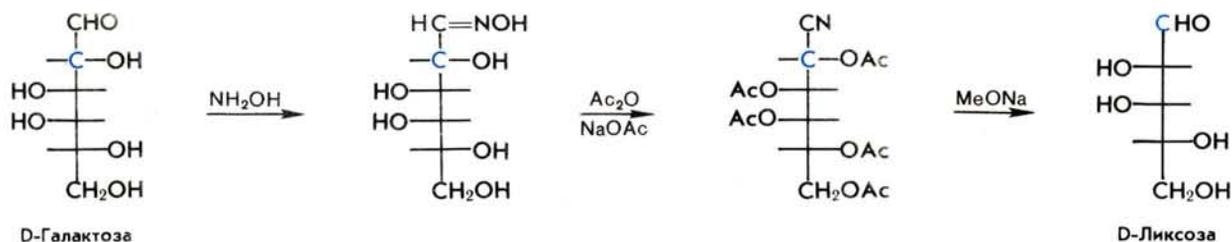
Строение большинства моносахаридов было установлено к концу XIX в. с использованием комплекса химических методов. В настоящее время при определении строения необычных моносахаридов, нередко встречающихся в составе антибиотиков и бактериальных полисахаридов, применяются, как правило, спектральные методы анализа, однако во многих случаях химические превращения остаются необходимым этапом исследования структуры.

Ниже рассмотрены превращения сахаров, которые могут быть использованы при установлении строения этого класса соединений.

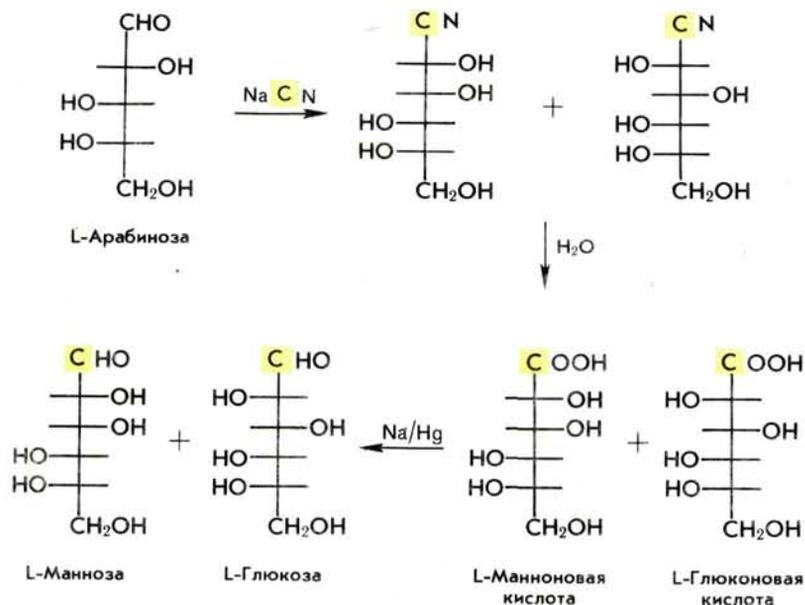
**Реакции карбонильной группы.** Несмотря на то, что в таутомерной смеси моносахаридов равновесие смещено в сторону циклических (полуацетальных и полукетальных) форм, некоторое коли-

чество ациклической формы присутствует в растворе, что позволяет сахарам вступать в реакции, характерные для альдегидов и кетонов.

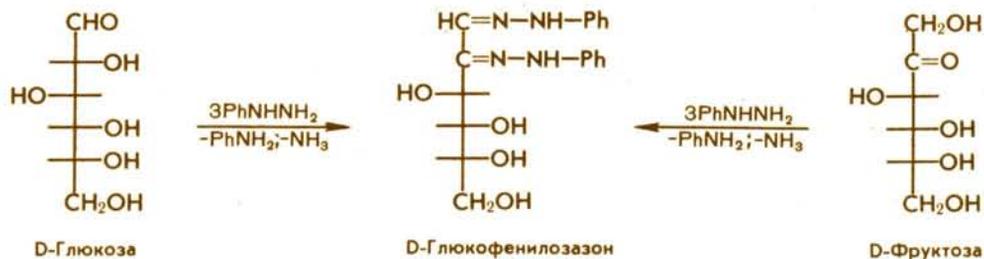
Так, при реакции моносахаридов с гидроксиламином получают смеси оксимов циклических и ациклических форм. При действии на них уксусного ангидрида одновременно происходят ацетилирование и дегидратация с образованием нитрила альдоновой кислоты. Обработка полученного нитрила метилатом натрия приводит к деацетилированию и отщеплению молекулы синильной кислоты. Таким путем углеродная цепь альдозы укорачивается на один атом



Удлинение цепи может быть достигнуто циангидриновым методом. Взаимодействие альдозы с цианидом натрия приводит к смеси двух изомерных нитрилов альдоновых кислот, легко гидролизующихся в альдоновые кислоты (Г. Килиани). Последние при восстановлении амальгамой натрия дают альдозы (Э. Фишер)

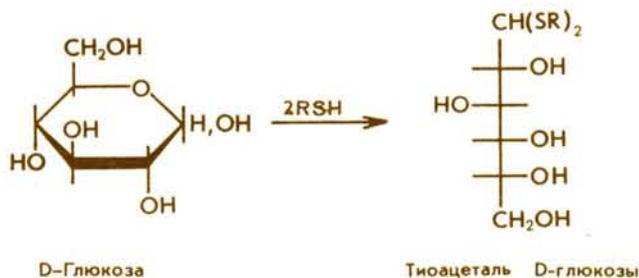


Реакции моносахаридов с гидразинами обычно приводят к смесям таутомерных гидразонов, поэтому их, как правило, не применяют для выделения и идентификации моносахаридов. Однако при использовании избытка арилгидразина образуются озоны, открытие которых Э. Фишером стимулировало быстрое развитие химии углеводов в конце прошлого века



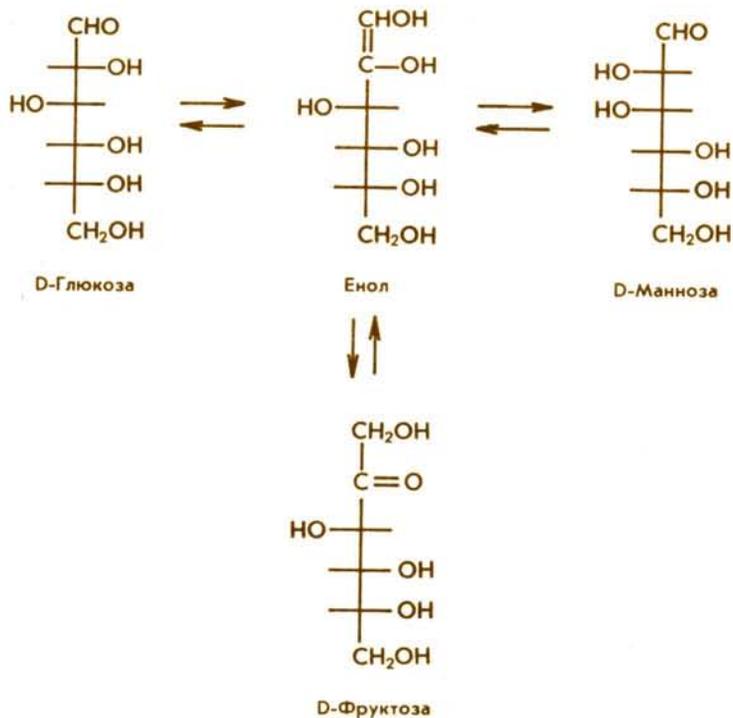
При образовании озона расходуется 3 моля фенилгидразина; полученный фенилгидразон окисляется второй молекулой фенилгидразина с превращением гидроксильной группы, находящейся рядом с альдегидной, в карбонильную. С последней взаимодействует третья молекула фенилгидразина, приводя к озону. Вследствие того что асимметрический центр при С-2 моносахарида исчезает, изомеры, отличающиеся лишь конфигурацией этого атома, образуют одни и те же озоны (например, D-глюкоза, D-манноза и D-фруктоза). Реакция позволяет определять родство различных моносахаридов.

При действии на моносахариды тиолов в кислой среде образуются тиацетали, имеющие ациклическую структуру



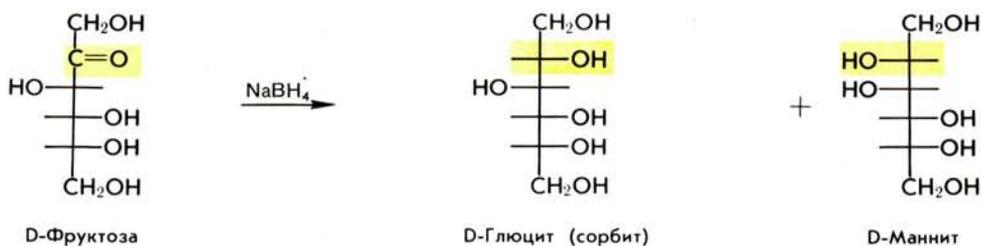
Тиацетали устойчивы в щелочной, нейтральной и слабокислой средах, но легко регенерируют исходный моносахарид при обработке бромом в уксусной кислоте и представляют поэтому значительный интерес для синтетической химии углеводов.

Среди реакций, обусловленных наличием как карбонильной, так и гидроксильных групп, важную роль играет катализируемая кислотами и основаниями енолизация альдозы, ведущая к превращению ее в эпимер (стереоизомер, отличающийся конфигурацией при С-2) и соответствующую кетозу (реакция Лобри де Брюина — Альберда ван Экенштейна)



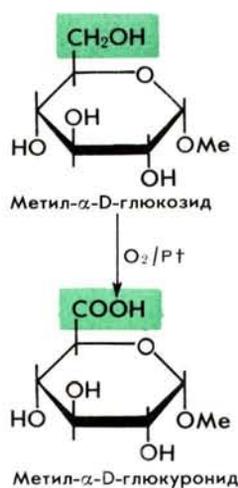
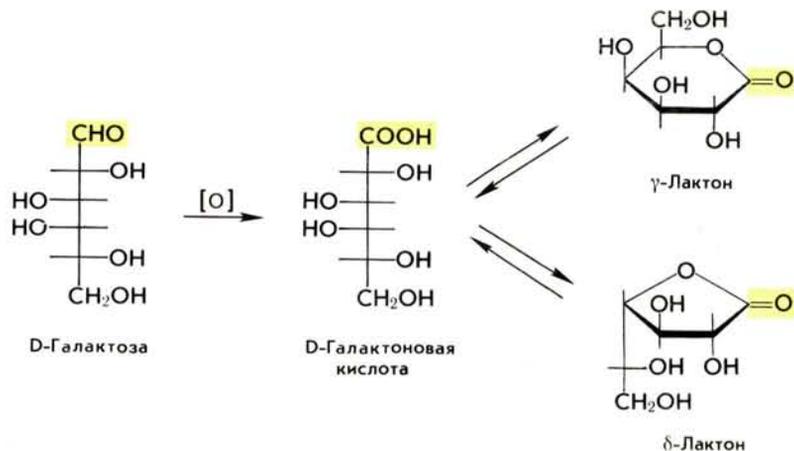
Поскольку реакция протекает легко, ее следует принимать во внимание при работе со свободными углеводами.

При восстановлении карбонильной группы моносахаридов получают полиолы (альдиты). Альдозы образуют лишь один полиол, кетозы дают смесь двух стереоизомеров; так, из D-фруктозы образуются D-глюцит и D-маннит



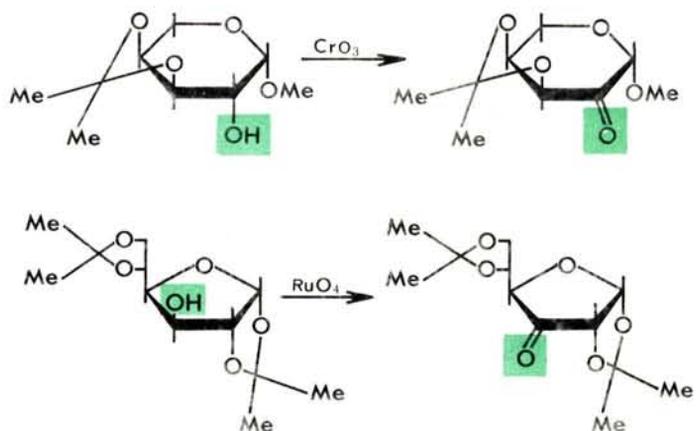
Восстановление обычно проводится боргидридом натрия в воде или спирте, реже амальгамой натрия.

При действии мягких окислителей, например брома, свободные моносахариды окисляются до альдоновых кислот, которые обычно выделяются в виде  $\gamma$ - и  $\delta$ -лактонов:



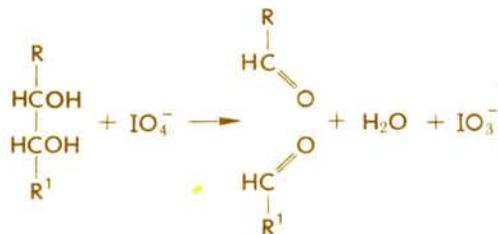
**Окисление углеводов.** Для окисления гидроксильных групп углеводов полуацетальная группа должна быть защищена; как правило, приходится также защищать и те гидроксильные группы, которые не должны быть окислены. Избирательное окисление первичных спиртовых групп в моносахаридах может быть достигнуто применением платиновых катализаторов, в результате образуются уронеовые кислоты.

Окисление вторичных спиртовых групп обычно проводится у избирательно защищенных производных; в качестве окислителей используются оксид хрома (VI) в пиридине, диметилсульфоксид в уксусном ангидриде или тетраоксид рутения



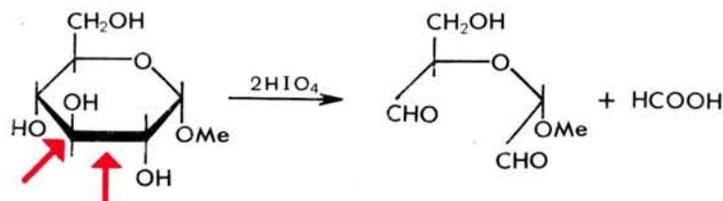
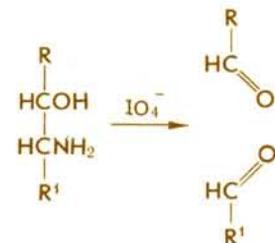
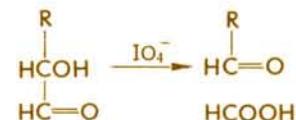
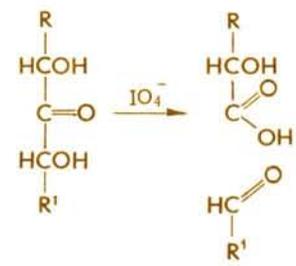
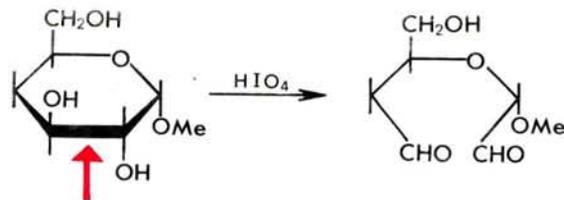
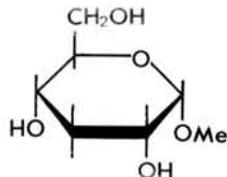
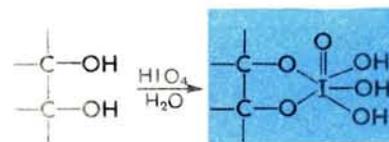
Важное значение для выяснения строения сахаров имеет реакция избирательного окисления  $\alpha$ -гликольной группировки, которая протекает под действием иодной кислоты и периодатов.

Кроме  $\alpha$ -гликолей, окислению периодатом подвергаются  $\alpha$ -гидроксикарбонильные соединения,  $\alpha$ -аминоспирты,  $\alpha$ -кетональдегиды и  $\alpha$ -дикетоны.



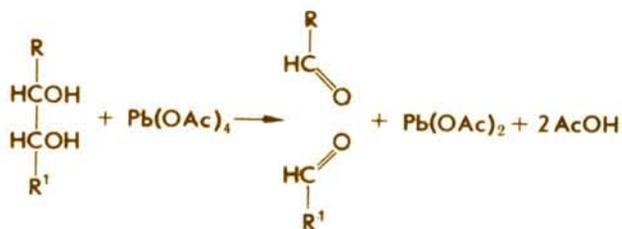
На окисление каждой  $\alpha$ -гликольной группировки расходуется 1 моль  $\text{HIO}_4$ ; при этом из первичной спиртовой группы образуется формальдегид, а из среднего звена 1, 2, 3-триольной группировки — муравьиная кислота. Реакция протекает через стадию образования пятичленного цикла, получающегося в результате присоединения к диольной группировке гидратированной формы иодной кислоты.

Поскольку реакция проходит количественно, она широко используется при анализе моно-, олиго- и полисахаридов. В зависимости от строения углевода окисление протекает по-разному. Так, например, окисление метил- $\alpha$ -D-глюкопиранозидов идет с выделением муравьиной кислоты и требует 2 моля иодной кислоты; при окислении 4-дезоксипроизводного  $\alpha$ -D-метилглюкозида расходуется 1 моль иодной кислоты, а его 3-дезоксипроизводное не подвергается окислению

Метил- $\alpha$ -D-глюкопиранозидМетил-4-дезоксид- $\alpha$ -D-глюкопиранозидМетил-3-дезоксид- $\alpha$ -D-глюкопиранозид

В результате по расходу иодной кислоты и составу продуктов реакции можно судить о строении исходного сахара.

Подобно иодной кислоте и ее солям действует на  $\alpha$ -гликольные группировки тетраацетат свинца:



Однако если окисление периодатом проводят в водной среде, то окисление тетраацетатом свинца — в уксусной кислоте, бензоле или хлороформе, что позволяет вводить в реакцию соединения, нерастворимые в воде.

**Реакции гидроксильных групп.** Моносахаридам свойственны все реакции, характерные для гидроксилсодержащих соединений: они образуют сложные и простые эфиры, ацетали и кетали, подвергаются реакциям замещения и элиминирования. Благодаря присутствию наряду с гидроксильными группами карбонильной функции некоторые из этих реакций протекают с большей легкостью, чем с обычными спиртами.

Сахара дают сложные эфиры как с органическими, так и с неорганическими кислотами (ацетаты, бензоаты, трифторацетаты, карбонаты). Сложноэфирные группировки легко вводятся и легко удаляются, что позволяет широко использовать их в качестве защитных группировок при синтезе углеводов.

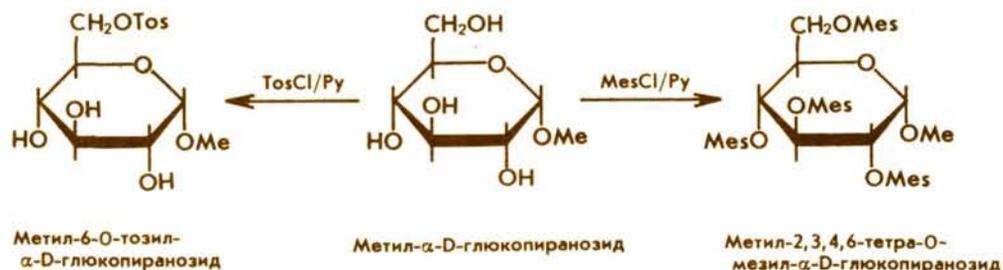
Широкое применение нашло ацетилирование. Его обычно проводят с помощью уксусного ангидрида в пиридине (при охлаждении) или в присутствии ацетата натрия (при нагревании). При избытке ангидрида образуются полные ацетаты. Если же берется рассчитанное количество ацилирующего агента, то при проведении реакции в пиридине можно получать производные, избирательно ацетилированные по отдельным гидроксилам. В первую очередь реагирует первичная спиртовая группа (при С-6 в гексахозах), затем гидроксилы при С-2, С-3 и наиболее трудно при С-4. Однако при избирательном ацилировании (особенно при ацетилировании) надо считаться с возможностью миграции ацильных группировок.

Удаление ацильных групп достигается обработкой сахара абсолютным метанолом в присутствии алкоголятов металлов или триэтиламина.

В последние годы применение в синтезе находят хлорацетильные производные, получающиеся при обработке сахаров ангидридом или хлорангидридом хлоруксусной кислоты в симметричном коллидине. Главное достоинство хлорацетильной защитной группировки — возможность ее количественного селективного удаления действием тиомочевины, т. е. в условиях, при которых не затрагиваются ацетильные группы.

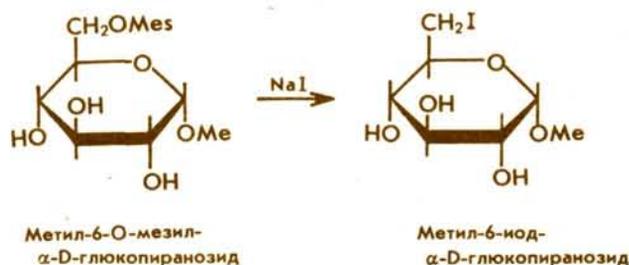
В химии углеводов широко используются также эфиры сульфокислот, в частности толуолсульфокислоты (тозилаты) и метансуль-

фоукислоты (мезилаты). Если мезилирование, как правило, может быть проведено по всем гидроксилам, то тозилрование в обычных условиях (т. е. в пиридине при охлаждении) идет лишь по гидроксилу при С-6

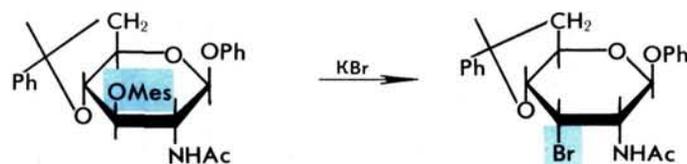


Регенерация исходных моносахаридов из их сульфонов может быть достигнута гидрированием над никелем Ренея, действием алюмогидрида лития и т. п., однако чаще эти сложные эфиры используются для дальнейших превращений.

Действительно, тозилокси- и мезилокси группы легко подвергаются нуклеофильному замещению, что дает возможность получать различные производные сахаров, например галогенпроизводные



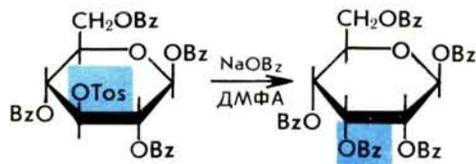
Замещение при вторичном гидроксиле протекает с большим трудом и сопровождается обращением конфигурации



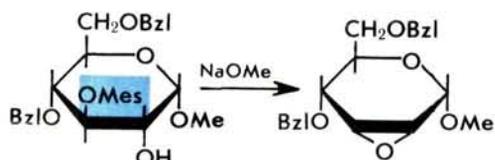
Если использовать в качестве атакующей бензилоксигруппу, можно перейти от одного моносахарида к другому



**Кун (Kuhn) Рихард** (1900—1967), немецкий химик и биохимик. Окончил Мюнхенский университет (1922); с 1929 г. — профессор Гейдельбергского университета и директор Института химии в Гейдельберге. Основные работы посвящены химии витаминов и каротиноидов. Установил строение  $\alpha$ - и  $\beta$ -изомеров каротина (1933), разработал метод их синтеза. Выделил витамин  $B_2$  (рибофлавин) и расшифровал структуру флавинадениндуклеотида. Выделил витамин  $B_{12}$  из дрожжей и установил его строение. Лауреат Нобелевской премии по химии (1938).



Реакция внутримолекулярного замещения позволяет перейти от сульфоноватов к ангидросахарам

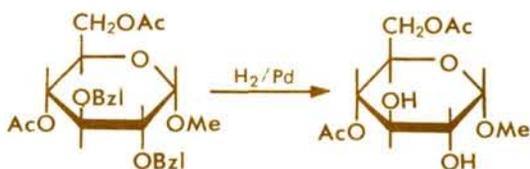


Из простых эфиров моносахаридов наиболее изучены метиловые, бензиловые и трифенилметиловые (тритиловые).

Метиловые эфиры сахаров широко используются для установления строения олиго- и полисахаридов. В качестве метилирующего агента применяются иодистый метил или диметилсульфат в присутствии основания. В последние годы широкое распространение получили методы Р. Куна (метилирование иодистым метилом в диметилформамиде в присутствии оксидов серебра или бария) и С.-И. Хакомори (метилирование в диметилсульфоксиде в присутствии диметилсульфенилнатрия). Последний метод дает практически количественное алкилирование всех гидроксильных групп, что особенно важно при метилировании олиго- и полисахаридов.

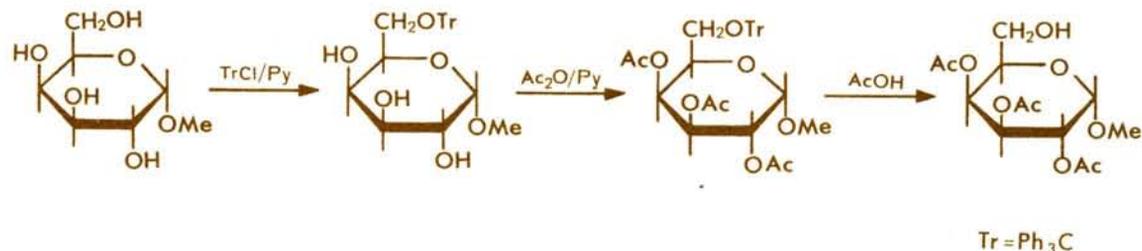
Деметилирование проходит с большим трудом; наилучшие результаты получаются при использовании треххлористого бора в дихлорметане. Легче всего деметируется полуацетальный гидроксил.

Бензиловые эфиры сахаров нашли применение как промежуточные продукты при синтезах: бензильная группа, устойчивая как в кислой, так и в щелочной средах, легко удаляется при каталитическом гидрировании над платиной или палладием



Бензилирование осуществляется действием на моносахарид бромистого бензила в диметилформамиде в присутствии оксидов серебра и бария, щелочей или гидроксида натрия.

Тритиловые эфиры широко используются в химии углеводов для защиты первичной спиртовой группы: из-за объемности

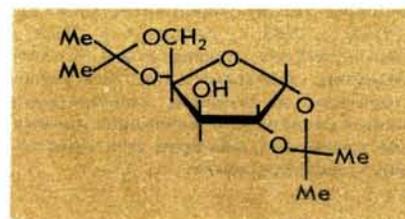


трифенилметильной группировки реакция с вторичными гидроксилами идет лишь в специально подобранных условиях. Тритиловые эфиры получают обработкой моносахаридов трифенилхлорметаном в пиридине. Удаление тритильной группировки может быть достигнуто действием кислот или каталитическим гидрированием над палладием. В качестве примера можно привести получение производного галактозы со свободной гидроксильной группой при С-6.

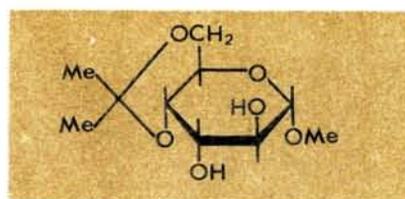
Для специфической защиты одновременно двух гидроксильных групп применяют алкилиденные производные моносахаридов, образующиеся при их реакции с альдегидами или кетонами под действием кислотных катализаторов. Чаще всего применяют ацетон или бензальдегид, реже ацетальдегид и циклогексанон.

При конденсации свободных моносахаридов с ацетоном в присутствии серной кислоты или хлорида цинка образуются изопропилиденные, или ацетоновые, производные. Эти соединения содержат пятичленный диоксолановый цикл, иногда — шестичленный 1,3-диоксановый.

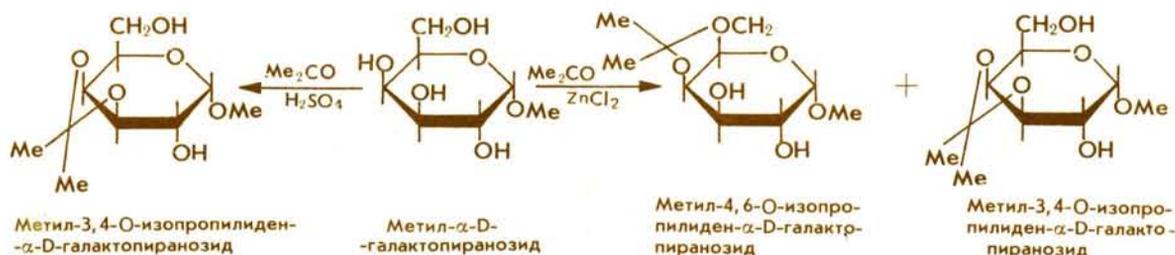
Изопропилиденные производные хорошо известны как для циклических (пиранозных и фуранозных), так и для ациклических форм моносахаридов, причем в зависимости от условий могут образовываться различные изомеры. Так, при ацетонировании метил- $\alpha$ -D-галактозида в присутствии серной кислоты образуется только 3,4-О-изопропилиденное производное, а в присутствии хлорида цинка — также и 4,6-О-изопропилиденное производное



1,2,5,6-Ди-О-изопропилиден- $\alpha$ -D-глюкофураноза



Метил-4,6-О-изопропилиден- $\alpha$ -D-альтропиранозид

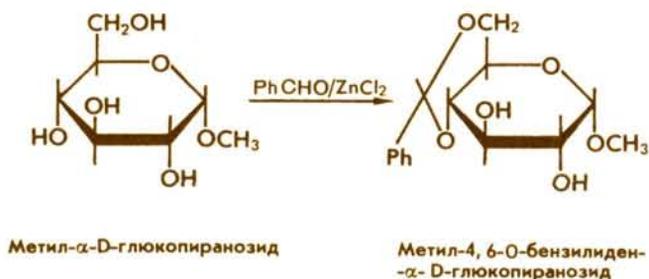




**Хакомори [Nakomori] Сен-Итиро** (р. 1929), американский биохимик. Окончил Тохоку университет в Сендае (1952), с 1963 г. работает в США в Вашингтонском университете (Сиэтл). Известен работами по выяснению структуры и функции гликолипидов животных клеток и изучению изменений клеточных мембран при онкогенной трансформации.

Изопропилиденные и другие алкилиденные защитные группировки легко удаляются в условиях мягкого кислотного гидролиза, например в разбавленной уксусной кислоте. Благодаря различной стабильности изопропилиденных циклов по отношению к гидролизу (что связано со стереохимическими особенностями молекулы) можно осуществлять избирательное отщепление одной из этих группировок.

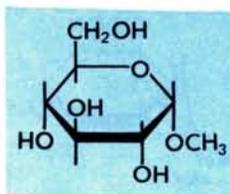
Конденсация моносахаридов с бензальдегидом в присутствии хлорида цинка приводит к бензилиденным производным в виде двух диастереомеров. Как правило, образуется шестичленный 1,3-диоксанный цикл (гликопиранозиды дают исключительно 4,6-О-бензилиденные производные)



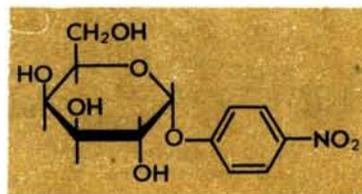
Бензилиденная защита может быть снята не только в кислых условиях (как изопропилиденная), но и с помощью каталитического гидрирования.

## Гликозиды

Гликозиды образуют обширный класс соединений, а гликозидная связь — основной тип связи во всех важнейших природных углеводсодержащих соединениях. Наиболее распространена O-гликозидная связь, которая соединяет моносахаридные остатки друг с другом (в олиго- и полисахаридах) или с неуглеводными компонентами (в гликозидах и углеводсодержащих биополимерах). В природе существуют соединения и с N-, C- и S-гликозидными связями. Наиболее известными и широко распространенными представителями N-гликозидов являются нуклеозиды, C- и S-гликозиды встречаются редко.



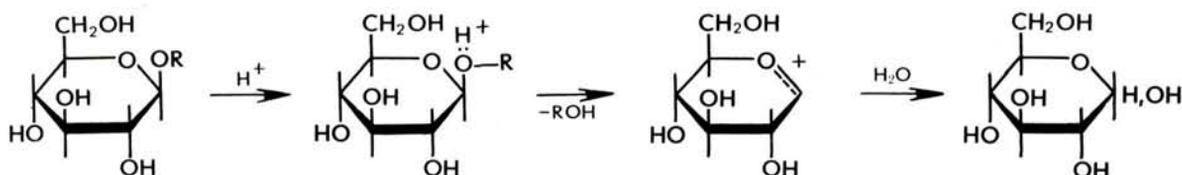
Метил- $\alpha$ -D-глюкопиранозид



p-Нитрофенил- $\alpha$ -D-галактопиранозид

Согласно принятой номенклатуре в названии гликозидов на первом месте указывается наименование заместителя при аномерном центре (агликона), затем его конфигурация и, наконец, название углеводного остатка.

Химические свойства O-гликозидов, так же как и других гликозидов, определяются структурой моносахаридного остатка и природой агликона. Общим свойством их является сравнительная легкость протекания кислотного гидролиза, приводящего к исходному моносахариду



Большинство гликозидов (кроме гликозидов с электроотрицательными заместителями в  $\beta$ -положении к гликозидной связи) устойчиво в щелочной среде.

Для установления строения гликозида необходимо выяснить природу углеводного остатка и агликона, а также конфигурацию гликозидной связи. Наиболее мощным средством решения этих вопросов служат физико-химические методы анализа: ЯМР и масс-спектрометрия. Относительная простота спектров ЯМР гликозидов дает возможность определить не только основные структурные черты гликозидного остатка и агликона, но и конфигурацию гликозидной связи. Масс-спектрометрия позволяет провести дальнейшую детализацию структуры производных гликозидов.

Не потеряли своего значения и классические методы анализа, такие, как кислотный гидролиз, периодатное окисление, поляриметрия. Если гликозильный остаток представлен моносахаридом с обычной структурой, эти методы в сочетании с различными видами хроматографии (прежде всего с газожидкостной хроматографией) дают возможность его идентифицировать. В случае необычных по структуре сахаров, входящих, например, в состав некоторых антибиотиков, приходится использовать весь арсенал методов структурного анализа.

Классический метод выяснения конфигурации гликозидной связи основан на определении удельного вращения раствора: согласно правилу Кляйна, молекулярное вращение гликозида является алгебраической суммой молекулярных вращений

агликона и гликозильного остатка (молекулярное вращение  $[M] = \frac{[\alpha] \cdot M}{100}$ , где

$\alpha$  — удельное вращение,  $M$  — молекулярная масса). Молекулярное вращение гликозильного остатка определяется по удельному вращению соответствующего метилгликозида, т. е. гликозида с оптически неактивным агликоном. Таким образом, зная молекулярное вращение агликона и гликозильного остатка, имеющего  $\alpha$ - или  $\beta$ -конфигурацию при C-1, можно по молекулярному вращению гликозида определить, относится ли он к  $\alpha$ - или  $\beta$ -ряду.



Олигосахариды гидролизуются кислотами до моносахаридов по механизму, аналогичному механизму гидролиза О-гликозидов: реакция протекает через образование гликозил-катиона. Восстанавливающие олигосахариды дают реакции, характерные для карбонилсодержащих соединений, окисляются до альдоновых кислот, восстанавливаются до полиолов, образуют озоны. Как и в случае моносахаридов, в водных растворах восстанавливающих олигосахаридов наблюдается мутаротация.

Для гидроксильных и других функциональных групп олигосахаридов характерны те же реакции, что и для составляющих их моносахаридов.

Разделение смесей олигосахаридов проводится сочетанием хроматографических методов. Кислые олигосахариды отделяются от нейтральных ионообменной хроматографией или электрофорезом на бумаге. Разделение нейтральных олигосахаридов осуществляется с помощью хроматографии на бумаге и тонкослойной хроматографии на силикагеле. В последнее время для разделения олигосахаридов все чаще используется ВЭЖХ.

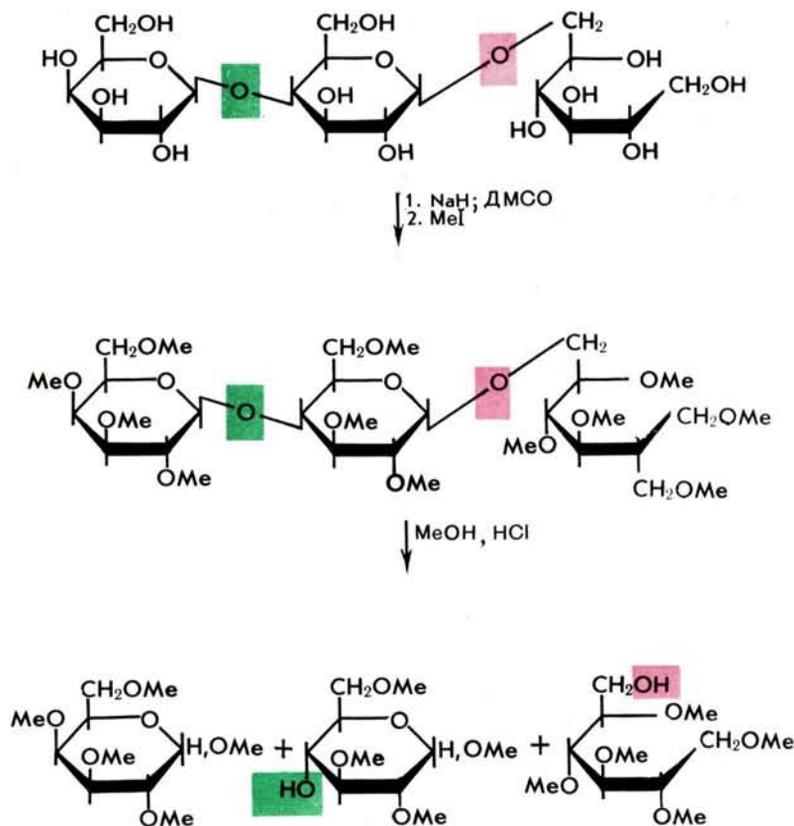
В отличие от химии белков и нуклеиновых кислот, где определение первичной структуры сводится к установлению последовательности аминокислот или нуклеиновых оснований в линейной цепи биополимера, в случае углеводов биополимеров задача существенно усложняется. Для выяснения строения олигосахаридов необходимо определить его моносахаридный состав, последовательность моносахаридных остатков и места разветвления олигосахаридной цепи, места присоединения моносахаридных остатков друг к другу, размеры циклов моносахаридных звеньев, конфигурацию гликозидных связей.

Определение моносахаридного состава проводится анализом продуктов кислотного гидролиза или, чаще, метанолиза сахара. Состав продуктов кислотного гидролизата анализируется с помощью хроматографии или электрофореза на бумаге. Нередко используется коммерческий углеводный анализатор, разделение осуществляется на ионообменных смолах методом распределительной хроматографии в водно-спиртовой смеси или в виде боратных комплексов сахаров. Скорость гидролиза гликозидных связей, образованных остатками нейтральных, amino- и дезокси-сахаров, различна. Легче всего отщепляются остатки сиаловых (N-ацетилнейраминовой, N-гликолилнейраминовой) кислот, труднее всего расщепляются связи, образованные остатками amino-сахаров и уроновых кислот. Фуранозиды гидролизуются значительно быстрее пиранозидов. В итоге при гидролизе олигосахаридов может иметь место неполное расщепление связей или кислотная деструкция образующихся моносахаридов, что искажает результаты анализа. Лучшие результаты дает метанолит в присутствии газообразного хлористого водорода (1,7 н. HCl, 80 °C, 18 ч) — в этом случае образуются метилгликозиды, устойчивые к кислотной деструкции. Качественный и количественный состав продуктов метанолиза определяется методом газожидкостной хроматографии в виде триметилсилильных или трифторацетильных производных.

Определение мест присоединения моносахаридных остатков друг к другу осуществляется исчерпывающим метилированием олигосахаридов с последующим гидролизом и анализом образующихся продуктов. Метилирование в большинстве случаев проводится по методу С.-И. Хакомори (см. с. 468), при этом наряду с гидроксильными группами модификации подвергается также ацетамидная группа N-ацетилгексозаминов. Полнота реакции контролируется ИК-спектроскопией по отсутствию полосы поглощения гидроксильных групп.

Олигосахарид подвергается далее кислотному гидролизу или, лучше, метанолизу, в результате получается набор метилированных моносахаридов со свободными гидроксильными группами, участвующими в образовании гликозидных связей.

По результатам анализа можно судить также о структуре олигосахаридного остова: обнаружение в метилированных продуктах после метанолиза моносахаридов с более чем одной свободной гидроксильной группой свидетельствует о наличии в цепи разветвлений. Одновременно этим путем можно определять концевые моносахаридные остатки. Остаток, локализованный на невосстанавливаемом конце олигосахаридной цепи, не содержит свободных гидроксильных групп, а моносахарид, находившийся на восстанавливаемом конце, легко идентифицировать в виде метилированного полиола в продуктах гидролиза метилированного восстановленного олигосахариды. Таким образом, для трисахаридов анализ метилированием сразу дает последовательность моносахаридных звеньев в молекуле.



Идентификация продуктов проводится методом ГЖХ путем сравнения со стандартными, частично метилированными метилглицозидами. Широкое применение нашел хромато-масс-спектрометрический метод анализа альдитацетатов, получающихся после восстановления боргидридом и ацетилирования продуктов гидролиза.

Кроме того, используется (О. С. Чижов и др.) масс-спектрометрический метод установления строения метилированных метил-

гликозидов, подвергнутых после гидролиза исчерпывающему дейтерометилированию. Расшифровка масс-спектров позволяет однозначно установить положение дейтерометильных групп, отвечающее локализации свободных гидроксильных групп в исходном частично метилированном метилгликозиде.

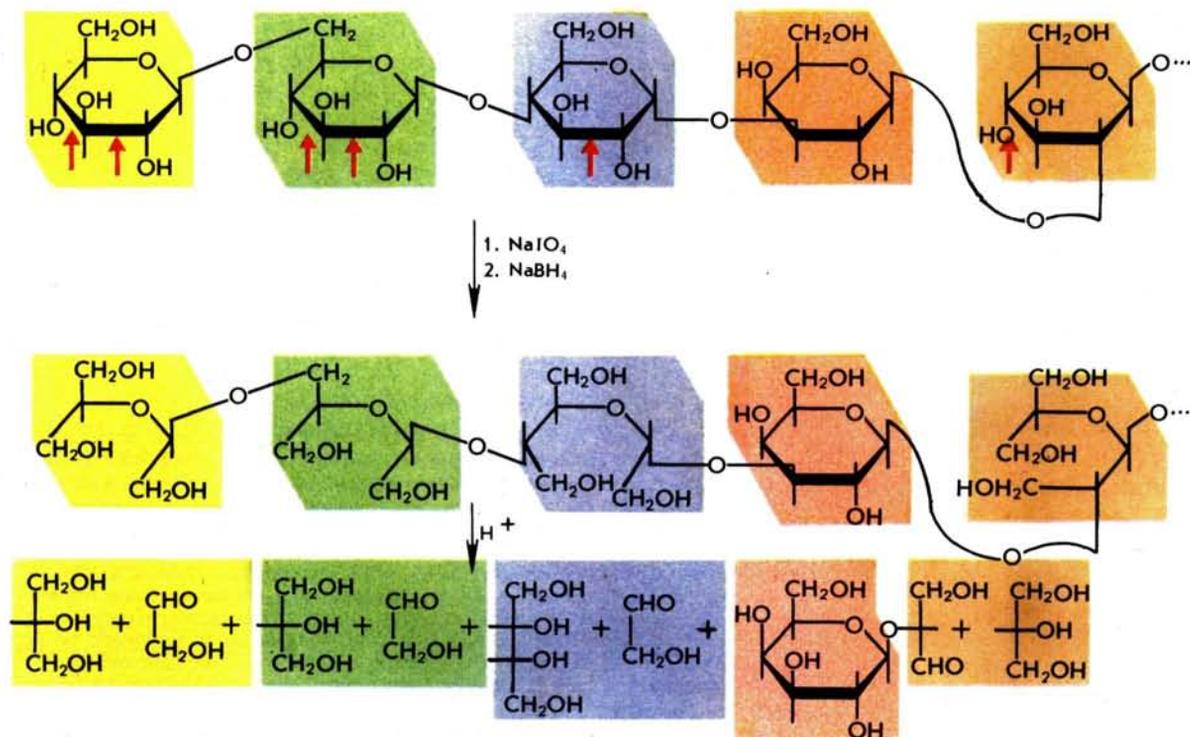
Последовательность звеньев в молекуле гетероолигосахарида определяется главным образом с помощью экзогликозидаз — ферментов, отщепляющих по одному моносахаридному остатку с невосстанавливающего конца молекулы. В таблице 16 приведены данные о специфичности и источниках ферментов, часто используемых для анализа структуры олигосахаридов, входящих в состав животных гликопротеинов.

Гликозидазное расщепление целесообразно проводить в сочетании с методом метилирования; с помощью метилирования определяется концевой невосстанавливающий моносахаридный остаток, далее он отщепляется соответствующей гликозидазой, а затем вновь образовавшийся невосстанавливающий концевой моносахарид идентифицируется с помощью метилирования.

Важным свойством гликозидаз является стереоспецифичность их действия:  $\alpha$ -гликозидаза не расщепляет  $\beta$ -гликозидную связь. Это свойство позволяет однозначно установить конфигурацию гликозидной связи расщепляемого олигосахарида.

К классическим методам структурного анализа углеводсодержащих биополимеров относится периодатное окисление (см. с. 468).

Модификацией метода является деградация по Ф. Смиту, заключающаяся в последовательном окислении сахара периодатом, восстановлении боргидридом и последующем мягком кислотном гидролизе образующегося продукта; сохранившиеся гликозидные связи при этом не затрагиваются.



## Углеводы

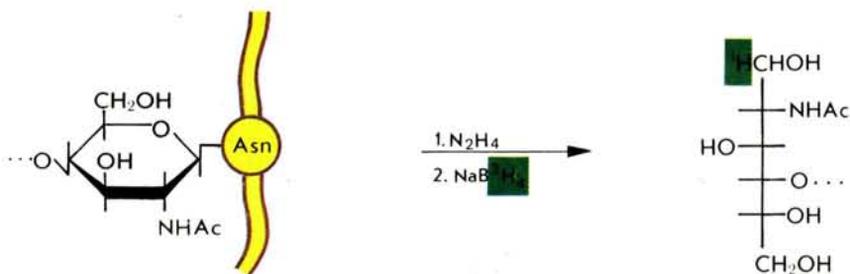
## Гликозидазы, используемые в структурном анализе сахаров



**Кобата [Kobata] Акира** (р. 1933), японский биохимик. Окончил Токийский университет (1956), с 1982 г.— профессор этого университета. Известен трудами по изучению структуры углеводных детерминант гликопротеинов.

Гликозидазы	Источник	Специфичность
Нейраминидаза	<i>Clostridium perfringens</i> <i>Vibrio cholerae</i>	$\alpha$ -NeuNAc-(2→6)-D-GalNAc $\alpha$ -NeuNAc-[2→3(6)]-D-Gal
$\beta$ -Галактозидаза	<i>Clostridium perfringens</i>	$\beta$ -D-Gal-[1→4(3)]-D-GlcNAc
$\beta$ -Маннозидаза	Мука бобов канавалии Яйцевод кур Улитка	Не определена
$\alpha$ -Маннозидаза	Мука бобов канавалии <i>Aspergillus niger</i>	$\alpha$ -D-Man-[1→2(6,3)]-D-Man
$\alpha$ -Фукозидаза	<i>Clostridium perfringens</i> <i>Aspergillus perfringens</i>	$\alpha$ -L-Fuc-(1→2)-D-Gal
$\beta$ -N-Ацетилглюкозаминидаза	Эмульсин миндаля <i>Clostridium perfringens</i>	$\alpha$ -L-Fuc-[1→3(4)]-D-Gal Широкая
$\alpha$ -Галактозидаза	Мука бобов канавалии <i>Aspergillus niger</i>	Широкая
$\alpha$ -N-Ацетилгалактозаминидаза	<i>Aspergillus niger</i>	Широкая

Оригинальная методика анализа структуры олигосахаридов, входящих в состав животных гликопротеинов, разработана А. Кобатой. На первой стадии олигосахаридные цепи отщепляются от полипептидной части молекулы обработкой безводным гидразином, а затем восстанавливаются  $\text{NaB}^3\text{H}_4$ , давая меченные тритием производные



Последующие этапы анализа проводятся следующим образом: после кислотного гидролиза в виде радиоактивно меченного полиола идентифицируется моносахарид, находившийся на восстанавливающем конце цепи. Далее путем восстановления моносахаридов  $\text{NaB}^3\text{H}_4$  и анализа смеси образующихся радиоактивно меченных альдитов определяется моносахаридный состав. Последовательность моносахаридов устанавливается с помощью экзогликозидаз: уменьшение молекулярной массы радиоактивно меченного олигосахарида, о котором судят по данным гель-фильтрации на биогеле Р—4, свидетельствует об отщеплении соответствующего (отвечающего специфичности фермента) моносахарида. Число отщепившихся остатков удается определить, оценивая уменьшение молекулярной массы в условных «глюкозных единицах» (для этого используется колонка, калиброванная олигомерами глюкозы разной длины). Наконец, анализ положения гликозидных связей проводится обычным образом с помощью метилирования. На различных этапах анализа широко практикуется сравнение с заведомыми образцами олигосахаридов.

Полисахариды (гликаны) представляют собой высокомолекулярные соединения, образующиеся при поликонденсации моносахаридов. В состав гомополисахарида входит один, а гетерополисахарида — несколько типов моносахаридных остатков. Чаще всего в составе полисахаридов встречается D-глюкоза, но широко распространены также полисахариды, содержащие D-маннозу, D-галактозу, D-фруктозу, D-глюкозамин. Нередко полисахариды имеют заместители неуглеводной природы — остатки серной, фосфорной или органических кислот.

Большинство полисахаридов имеют тривиальные названия, часто в соответствии с источником, из которого они были выделены: целлюлоза, крахмал, хитин. Основой более строгой номенклатуры служит моносахаридный состав полисахарида: D-глюканом называется полисахарид, построенный из остатков D-глюкозы, а D-галакто-D-маннаном — из остатков D-галактозы и D-маннозы.

Молекулярная масса полисахаридов колеблется в широких пределах — от нескольких тысяч до нескольких миллионов. Любой образец полисахарида в строгом смысле слова не гомогенен, а представляет собой смесь полимергомологов. Для определения средних молекулярных масс полисахаридов используются в основном физические методы — осмометрия, светорассеяние и ультрацентрифугирование.

Широко варьируют и физические свойства полисахаридов. Большинство из них растворимы в воде, в то же время некоторые линейные полисахариды, являющиеся структурными компонентами клеточных стенок, в воде не растворяются и даже почти не набухают.

Полимерная природа полисахаридов определяет и их основные химические свойства. Вклад альдегидной группы незначителен, основную функциональную нагрузку несут гидроксильные группы. Как и в олигосахаридах, гликозидные связи в полисахаридах чувствительны к действию кислот.

Одна из сложностей работы с полисахаридами заключается в том, что не существует строгих критериев их гомогенности. Считается, что полисахарид индивидуален, если аналитические методы (хроматография, электрофорез, ультрацентрифугирование) не обнаруживают примесей, а различные способы очистки не меняют мономерный состав полисахарида и его физико-химические свойства.

Методы выделения полисахаридов весьма разнообразны. К ним относятся экстракция (водой, щелочами, разбавленными кислотами), осаждение (спиртом, сульфатом аммония, бромидом цетилтриметиламмония и цетилпиридиния), хроматография (ионообменная, гельфильтрация), ультрафильтрация и ультрацентрифугирование.

Для установления строения полисахаридов необходимо охарактеризовать полимерные молекулы в целом с учетом регулярности их построения и определить молекулярную массу. Основным способом выяснения структуры полисахарида является расщепление полимера на олигосахаридные фрагменты, установление строения каждого фрагмента и воссоздание на их основе структуры исходного полимера. Большинство полисахаридов построено из повторяющихся олигосахаридных блоков: в этом случае задача сводится к расщеплению полисахаридной цепи, выделению повторяющегося звена и анализу его структуры.

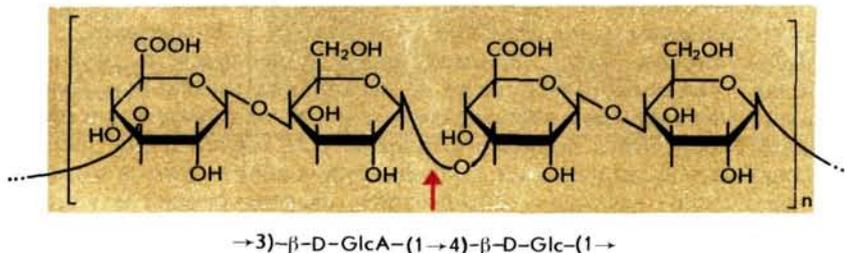
В структурном анализе полисахаридов широко используются *полный и частичный кислотный гидролиз*. В связи с различной устойчивостью гликозидных связей к кислотному гидролизу и с раз-



**Кочетков Николай Константинович** (р. 1915), советский химик-органик, академик АН СССР (1979). Окончил Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова (1939), с 1966 г. — директор Института органической химии АН СССР. Предложил ряд новых методов синтеза углеводов, осуществил направленный синтез сложных полисахаридов. Исследовал структуру полисахаридов микробного происхождения.

личной растворимостью полисахаридов условия гидролиза существенно варьируют. Для полного расщепления наиболее часто используется 2 — 4 н. соляная (100 °С, 3 — 4 ч) или 2 н. серная кислоты (100 °С, 2 — 4 ч).

При частичном гидролизе гомополисахаридов в зависимости от условий получается набор олигосахаридов различной длины. В случае гетерополисахаридов нередко удается подобрать условия, при которых наблюдается предпочтительный гидролиз определенного типа связи, что приводит к образованию характеристических олигосахаридных фрагментов; такие фрагменты получаются, в частности, при гидролизе полисахаридов, состоящих из чередующихся остатков нейтральных сахаров и урановых кислот, например капсулярного полисахарида типа III пневмококков



Модификации кислотного гидролиза — ацетоллиз и метанолиз — имеют в ряде случаев преимущества перед обычным гидролизом. При ацетоллизе (обработка 2 — 4%-ным раствором серной кислоты в смеси уксусной кислоты и уксусного ангидрида) устойчивость некоторых гликозидных связей отличается от таковой при гидролизе, что позволяет получить разные структурные фрагменты. Хорошие результаты дает сольволиз жидким фторидом водорода, проведение которого в различных температурных режимах позволяет расщеплять полисахариды с различной степенью избирательности.

Важным методом частичного расщепления полисахаридов является ферментативный гидролиз; при этом используются эндоферменты, расщепляющие полисахариды в середине цепи. Наиболее известный из таких ферментов — лизоцим, расщепляющий β(1 → 4)-гликозидные связи между остатками N-ацетилмуравьей кислоты и N-ацетилглюкозамина в полисахариде (мурейне) клеточной стенки бактерий (см. с. 190).

Основная сложность применения к полисахаридам метода метилирования заключается в трудности достижения полноты реакции; поэтому, как правило, используется многократная обработка полисахаридов метилирующими агентами. Наилучшие результаты дает метилирование по Хакомори. Часто используемым вариантом гидролиза метилированных полисахаридов, помимо метанолиза, является частичный гидролиз 90%-ной муравьиной кислотой с последующим гидролизом серной кислотой в более мягких условиях, чем это требовалось бы для расщепления интактного метилированного полисахарида.

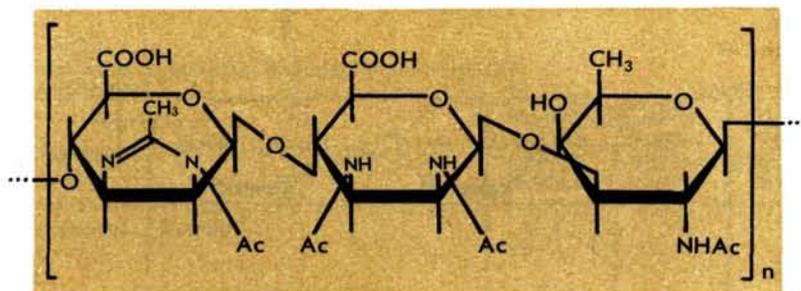
Периодатное окисление применяется практически во всех случаях установления строения полисахаридов. Наиболее часто используется расщепление по Смитту; во многих случаях оно помогает определить размер цикла и положение гликозидных связей. При окислении разветвленных полисахаридов по соотношению

образующихся глицерина (из концевых невосстанавливающих звеньев) и эритрита (из звеньев, находящихся в середине цепи) можно определить число разветвлений. Так, при расщеплении амилопектина глицерин и эритрит образуются в соотношении 1 : 15, что свидетельствует о том, что один концевой моносахарид (и следовательно, одно разветвление) приходится на каждые 15 звеньев полисахаридной цепи.

Классическая схема установления строения полисахаридов, включающая в качестве основных этапов определение моносахаридного состава, типов замещения, последовательности и аномерной конфигурации моносахаридных остатков, применима только к полисахаридам, которые количественно расщепляются в условиях кислотного гидролиза (ацетолиза, метанолиза) до соответствующих моносахаридных единиц.

При анализе полисахаридов необычного строения, состоящих из сахаров, разрушающихся в условиях деполимеризации, или из сахаров, гликозидные связи которых не поддаются кислотному расщеплению, классическая схема становится неэффективной из-за невозможности преодолеть даже первый ее этап, т. е. определить моносахаридный состав полимера.

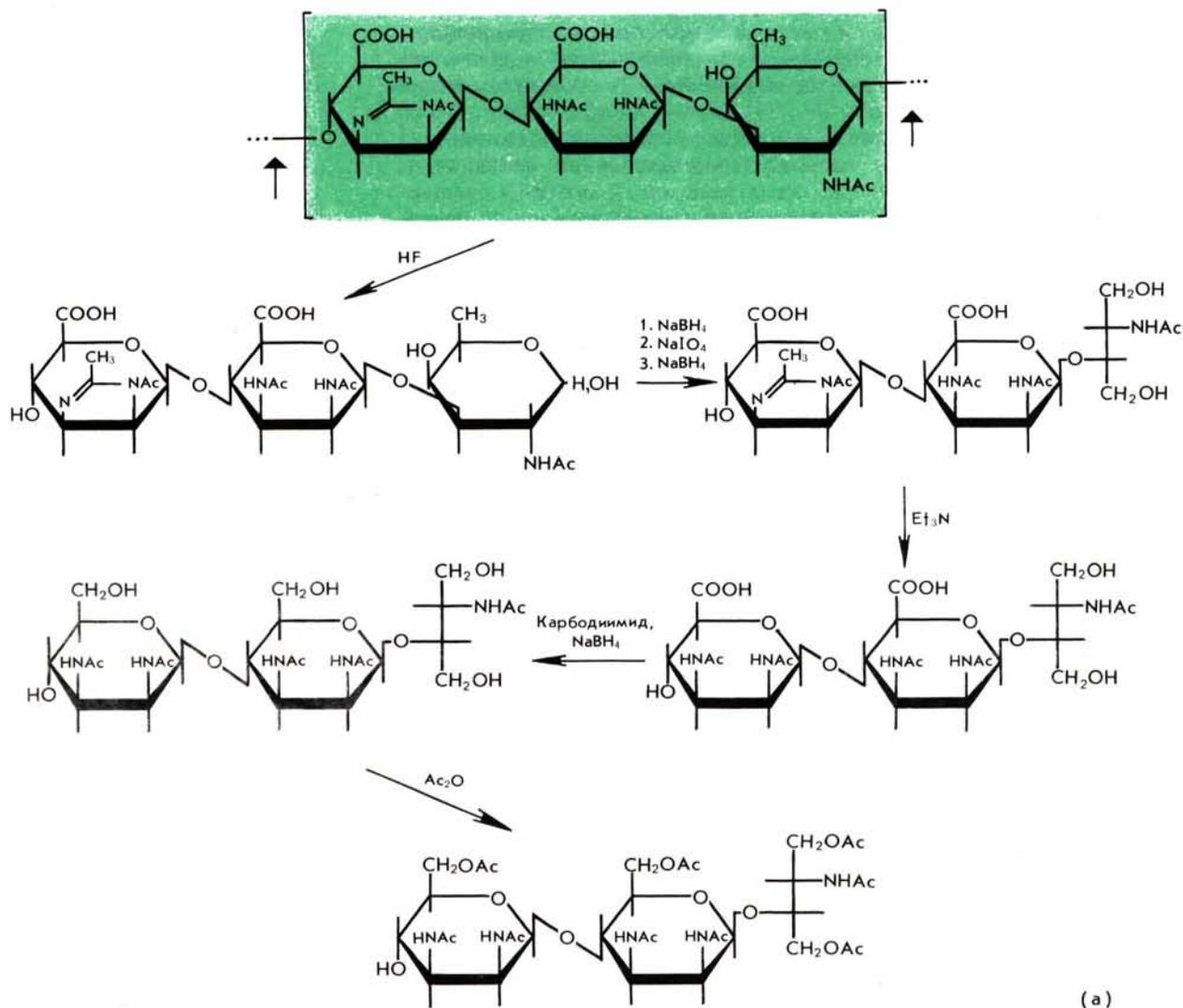
В качестве примера полисахаридов, структуры которых не смогли быть расшифрованы классическими методами, могут служить бактериальные полисахариды *Pseudomonas aeruginosa* групп 0:3 и 0:6. Такие полисахариды являются кислыми гексозаминогликанами, полностью построенными из различных аminosахаров (среди них присутствуют диаминоуроновые кислоты — ранее не встречавшиеся в природе сахара с необычными химическими свойствами). Ниже приведена структура одного из этих полисахаридов — полисахарида *P. aeruginosa* 0:3 *a*, *b*.



Необходимость структурного анализа подобного рода полисахаридов привела к созданию нового подхода, разработанного в СССР Б. А. Дмитриевым и Н. К. Кочетковым. В его основе лежит получение максимальной информации о структуре полисахарида методами  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии, дальнейшее его расщепление на олигосахариды жидким фторидом водорода и определение структуры последних с помощью ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии и химических превращений. При данном подходе моносахаридный состав полисахарида определяется как результат установления полной структуры, а не предшествует структурному анализу, как это имеет место в классической схеме. Таким путем и была установлена структура изображенного выше полисахарида. В результате расщепления молекулы и ряда химических превращений был получен сахарид, структуру которого удалось установить спектроскопическими методами. На основании его строения была реконструирована структура промежуточных продуктов превращений и нативного полисахарида.

Трисахарид, представляющий собой повторяющееся звено нативного полисахарида и полученный в результате обработки последнего жидким фторидом водорода, имел в своем составе, помимо N-ацетилфукозамина, два неизвестных кислых диаминосахара. После частичной деградации N-ацетилфукозамина периодатом, раскрытия 2-имидазолинового цикла триэтиламиноом, восстановления карбоксильных групп боргидридом натрия в присутствии карбодимида и ацелирования был получен сахарид (*a*), структуру которого удалось полностью расшифровать по данным  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Неизвестные сахара оказались производными 2,3-диамино-2,3-дидезокси-D-маннуровой кислоты.

Современная ЯМР-спектроскопия ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , двумерная) является мощным инструментом анализа структуры полисахаридов и используется в подавляющем большинстве исследований. Этот метод позволяет определять как состав, места замещения и последовательность моносахаридных остатков биополимера, так и его пространственное строение.



## Гликопротеины

Гликопротеинами называются смешанные биополимеры, в которых молекула белка содержит ковалентно присоединенные олигосахаридные цепи. Длина олигосахаридных цепей и их число в гликопротеинах варьируют в широких пределах. Молекула белка может содержать одну (интерлейкин 2 человека) или несколько сотен

(муцины подчелюстных желез животных) углеводных цепей. В свою очередь, в состав углеводной цепи входит от 2 до 20 моносахаридных звеньев. Характеристики некоторых природных гликопротеинов представлены в таблице 17.

Гликопротеины входят в состав всех органов, тканей и клеток организма человека и животных; они содержатся в секреторных жидкостях и плазме крови. Функции гликопротеинов чрезвычайно разнообразны. Среди них встречаются ферменты, гормоны, белки иммунной системы, компоненты плазмы крови, муцины, рецепторы клеточных мембран и т. д.

При выделении гликопротеинов из природных источников используется набор хроматографических и электрофоретических методов, характерных для химии белков. В процессе выделения необходимо учитывать возможную микрогетерогенность гликопротеина по углеводному компоненту: во многих случаях часть молекул имеет олигосахаридные цепи, недостроенные по терминальным сахарам (в первую очередь по остаткам сиаловых кислот), что заметно сказывается на физико-химических свойствах, в частности на заряде молекул.

Широкое применение для очистки растворимых и мембранных гликопротеинов находит аффинная хроматография на иммобилизованных *лектинах*, таких как конканавалин А, агглютинины зародышей пшеницы и бобов клецелины, лектин чечевицы.

Лектинами (старое название — фитогемагглютинины) называют углеводсвязывающие белки (за исключением ферментов — глюкозидгидролаз, гликозилтрансфераз и др., также способных образовывать комплексы с углеводами). Лектины были впервые выделены в конце XIX в. из растительных источников (из бобовых культур) и обнаружены по способности агглютинировать эритроциты животных. Прошло более полувека, прежде чем было показано, что агглютинацию можно

Таблица 17.

## Характеристика природных гликопротеинов

Гликопротеины	Представители	Молекулярная масса (тыс.)	Число полипептидных цепей	Число углеводных цепей	Содержание углеводов (%)	Типы углеводных цепей
Белки плазмы крови	Фетuin	48,4	1		22,6	N-гликозидные, O-гликозидные
	Трансферрин человека	77	1	1	5,9	N-гликозидная
Защитные белки	Иммуноглобулин М человека	180 (мономер)	4	10	10,3	N-гликозидные
	γ-Интерферон человека	25	1	2	30	N-гликозидные
	C1-компонент системы комплемента человека	393–410	6		8	N-гликозидные, O-гликозидные
Гормоны	Хорионический гонадотропин человека	38	2	7	30–33	N-гликозидные, O-гликозидные
	Тиростимулирующий гормон быка	28	2		23	N-гликозидные, O-гликозидные
Ферменты	Церулоплазмин человека	32	1	4	7–7,9	N-гликозидные
	Панкреатическая рибонуклеаза В быка	14,7	1	1	8,6	N-гликозидная
Муцины	Гликопротеин подчелюстной железы барана	1000	1	800	37–40	O-гликозидные
Рецепторы	Рецептор интерлейкина 2 человека	55	1		40	N-гликозидные, O-гликозидные

предотвратить добавлением определенного сахара. На этом основании был сделан вывод, что явление агглютинации обусловливается взаимодействием лектина с углеводными цепями гликоконъюгатов поверхности эритроцитов. Каждый лектин имеет сродство к определенному сахариду (или небольшому числу близких по структуре сахаров), при этом, как правило, очень важную роль играет конфигурация заместителя у гликозидного центра. Так, наиболее известный лектин конканавалин А имеет сродство к остаткам  $\alpha$ -D-манно- и  $\alpha$ -D-глюкопираноз, но не к их  $\beta$ -аналогам. Большинство лектинов способно взаимодействовать с соответствующим моносахаридным остатком, лишь если он находится на невосстанавливающем конце углеводной цепи. Обычно лектины имеют более одного углеводсвязывающего центра. В таблице 18 приведены данные о свойствах ряда лектинов.

Выделение лектинов чаще всего проводится методом аффинной хроматографии с использованием в качестве лиганда соответствующего сахара.

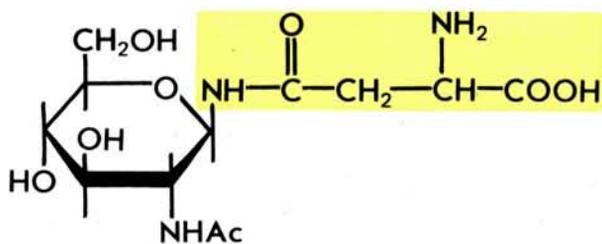
Наиболее изучен лектин из бобов *Canavalia ensiformis* — конканавалин А. Это белок с молекулярной массой 102 000, построенный из четырех идентичных субъединиц и имеющий четыре центра связывания углеводов. При понижении рН и температуры конканавалин А переходит в форму димера. Полипептидные цепи белка имеют не совсем обычную укладку, в которой отсутствуют  $\alpha$ -спиральные участки, — более 50% цепи мономера образуют трехслойную  $\beta$ -структуру. Для связывания углеводов важны ионы металлов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ ; пока не заняты два участка связывания металлов, присоединение углеводов не происходит.

Важное применение лектины находят в клеточной биологии и иммунологии, где используются как инструменты контроля за состоянием клеточной поверхности и как митогены, вызывающие бласт-трансформацию лимфоцитов. Отметим, что первые из обнаруженных лектинов — ризин из бобов клещевины *Ricinus communis* и абрин из бобов лакричника *Abrus precatorius* — были использованы П. Эрлихом в ставших классическими опытах по изучению антителообразования.

Лектины встречаются не только в растениях, они были обнаружены во многих животных клетках, в том числе в гепатоцитах, макрофагах, клетках легкого, сердца и т. д. Наиболее изученный из животных лектинов — лектин печени млекопитающих, специфичный к остаткам  $\beta$ -D-галактозы, ответствен за удаление из кровотока дезаилированных гликопротеинов. Аналогичную функцию выполняет млекопитающе-специфичный лектин поверхности макрофагов: он связывает и таким образом способствует уничтожению макрофагами комплексов антиген — антитело, образованных иммуноглобулинами класса М.

Функциональная роль лектинов не ясна. Высказывались предположения, что в растениях они выполняют функцию антител, необходимы для транспорта сахаров, служат связывающим звеном в превращениях ферментов-гликопротеинов в мультиферментные комплексы. Однако многочисленные данные указывают на то, что лектины являются компонентами систем, обеспечивающих узнавание и адгезию клеток.

Наиболее распространенным типом связи в животных гликопротеинах является *N*-гликозидная связь, образуемая остатками *N*-ацетилглюкозамина и  $\beta$ -амидной группой аспарагина



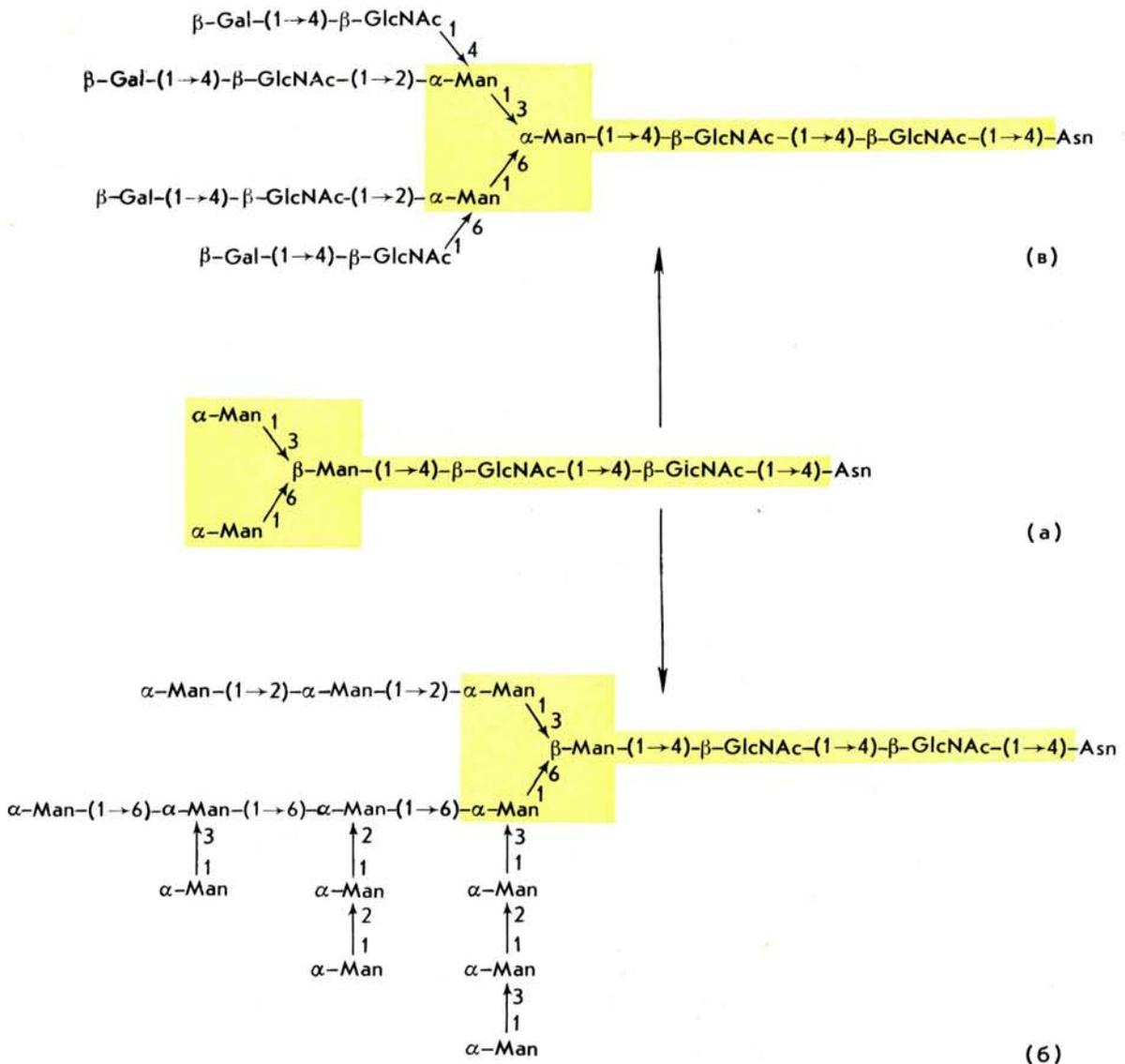
$\beta$ -D-GlcNAc-Asn

Сигнальной последовательностью для присоединения олигосахарида служит триплет аминокислот Asn-X-Ser(Thr), где X — любая аминокислота, кроме пролина. *N*-Гликозидные олигосахаридные цепи обнаружены в таких гликопротеинах, как иммуноглобулины, фетуин, антигены тканевой совместимости и т. д. *N*-Гликозиламид-

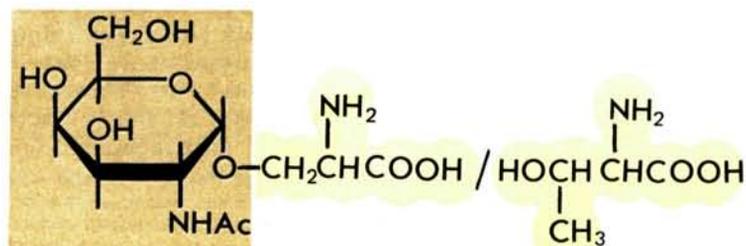
ная связь относительно устойчива в мягких щелочных и кислотных условиях, но расщепляется при более жестком гидролизе (2 н. HCl, 100 °C, 10 — 12 мин или 0,2 — 2 н. NaOH, 100 °C, 16 ч).

Среди N-гликозидных цепей гликопротеинов различают цепи, обогащенные остатками маннозы, и цепи сложного типа. К первым относятся олигосахариды, в состав которых входят лишь остатки N-ацетилглюкозамина и D-маннозы. Углеводные цепи сложного типа, помимо названных сахаров, содержат остатки D-галактозы, L-фукозы и N-ацетил- или N-гликолилнейраминовой кислот.

Базовой структурой всех N-гликозидных цепей является фрагмент (а). В олигосахаридах (б), обогащенных остатками маннозы, к нему присоединяются дополнительные остатки  $\alpha$ -D-маннозы, а в гликозидных цепях сложного типа (в) — дисахариды  $\beta$ -D-Gal-(1→4)- $\beta$ -D-GlcNAc и терминальные сахара — сиаловые кислоты и фукоза. В зависимости от числа дисахаридных блоков («антенн») цепи сложного типа называются биантенными, триантенными и т. д.



Другим типом связи в животных гликопротеинах является *O*-гликозидная связь между остатками *N*-ацетилгалактозамина и гидроксильной группой серина или треонина. Этот тип связи характерен для муцинов, групповых веществ крови, гликофорина мембран эритроцитов и т. д. *O*-Гликозидная связь может быть расщеплена в мягких щелочных условиях (0,1 н. NaOH, 37 °С).



$\alpha$ -D-GalNAc-Ser/Thr

Таблица 18.

Лектины

Название, источник	Сокращенное название	Углеводная специфичность	Число углеводсвязывающих центров	Молекулярная масса (тыс.)	Митогенная активность
Конканавалин А (Canavalia ensiformis)	Con A	$\alpha$ -D-Man (Glc)	4	102	+
Лектин чечевицы (Lens culinaris)		$\alpha$ -D-Man (Glc)	2	60	+
Лектин арахиса (Arachis hypogaea)	PNA	$\beta$ -D-Gal		110	+
Лектин сои (Glycine max)	SBA	$\alpha, \beta$ -D-GalNAc (Gal)	2	120	+
Лектин проростков пшеницы (Triticum vulgare)		GlcNAc- $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)-GlcNAc	4	36	(в форме полимера) -
Лектин фасоли (Phaseolus vulgaris)	PHA	GalNAc		120	+
Лектин клещевины (Ricinus communis)	RCI	$\beta$ -D-Gal	2	120	-
Лектин садовой улитки (Helix pomatia)		GalNAc	6	79	-
Лектин краба (Limulus polyphemus)		NeuNAc	18	335	

Во многих гликопротеинах, как сывороточных, так и мембранных, одновременно присутствуют и N- и O-гликозидные цепи. Гораздо реже встречаются другие типы углевод-белковых связей. В коллагенах, например, обнаружена связь, образованная остатками  $\beta$ -D-галактозы и гидроксипролина, в растительных гликопротеинах — остатками L-арабинозы и гидроксипролина, а в гликопротеинах дрожжей — D-маннозы и серина или треонина и т. д.

При анализе структуры углеводных цепей гликопротеинов важным этапом является определение моносахаридного состава. Здесь используются обычные методы структурного анализа углеводов, а именно: кислотный гидролиз или метанолиз с последующим хроматографическим разделением продуктов. По моносахаридному составу, как правило, можно судить и о типе углевод-белковых связей, в частности наличие N-ацетилгалактозамина говорит о присутствии O-гликозидных цепей.

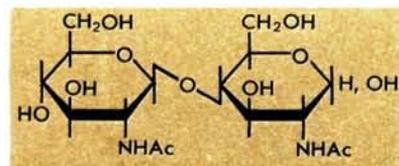
Тип углевод-белковой связи диктует тактику получения индивидуальных олигосахаридных цепей. O-Гликозидные цепи отщепляются в условиях мягкого щелочного гидролиза в присутствии 1 M боргидрида натрия для предотвращения деструкции олигосахарида, при этом терминальный восстанавливающий моносахарид превращается в полиол. Интактные N-гликозидсвязанные олигосахариды удается получить лишь нагреванием (100 °C, 5 ч) гликопротеина с безводным гидразином.

В последние годы широкое применение нашли эндогликозидазы, прежде всего эндо- $\beta$ -N-ацетилглюкозаминидазы, гидролизующие гликозидную связь в хитобиозильном остатке, соединенном с аспарагином полипептидной цепи. Обнаружена и эндо- $\beta$ -N-ацетилглюкозаминидаза, гидролизующая связь между терминальным N-ацетилглюкозаминим и аспарагином. Названные ферменты способны расщеплять гликозидные связи как в гликопептидах, так и в интактных гликопротеинах, что открывает возможность изучения биологической роли углеводных детерминант. Ферменты из разных источников отличаются по специфичности: возможность гидролиза определяется строением значительной части олигосахарида, а не только структурой моносахаридного звена, гликозидная связь при котором расщепляется.

В большинстве случаев N-гликозидные цепи получают не в виде олигосахаридов, а в виде гликопептидов. С этой целью проводится исчерпывающий протеолиз с использованием проназы. Двух-, трехкратная обработка гликопротеина проназой позволяет получать гликопептиды, содержащие минимальное число аминокислотных остатков, в предельном случае лишь один аспарагин, который может быть отщеплен от олигосахарида с помощью другого фермента — гликозиласпарагиназы.

Определение структуры олигосахаридных цепей проводится стандартными методами, описанными ранее. При исследовании гликопротеинов животного происхождения задача облегчается тем, что в их составе встречаются лишь семь моносахаридов: N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин, нейраминная кислота, манноза, галактоза, фукоза и глюкоза. Более того, в большинстве случаев структуры углеводных цепей определенного типа, выделенных из разных гликопротеинов, оказываются построенными из одинаковых блоков.

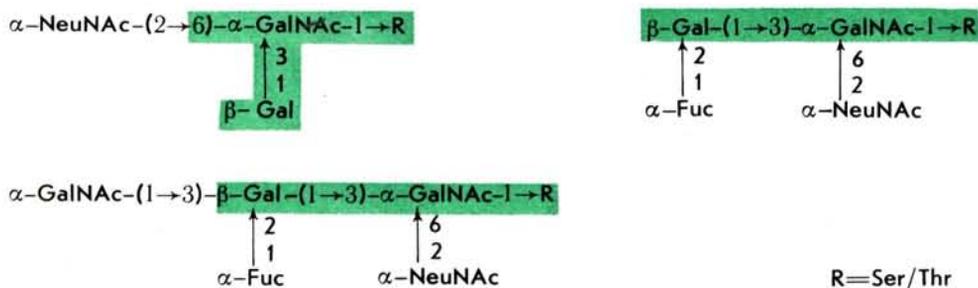
Общие черты обнаруживаются и в структуре O-гликозидных цепей. Как правило, базовую часть их составляет дисахарид  $\beta$ -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 3)-D-GalNAc, присоединенный  $\alpha$ -связью к серину или треонину полипептида. К базовому олигосахариду могут быть присоединены остатки терминальных сахаров — нейраминной кислоты и фукозы.



$\beta$ -GlcNAc-(1 $\rightarrow$ 4)-GlcNAc  
Хитобиоза

Ниже приведены структуры O-гликозидсвязанных олигосахаридов из муцинов подчелюстных желез.

Базовый фрагмент может быть также представлен дисахаридом  $\beta$ -D-GalNAc-(1 $\rightarrow$ 3)-GalNAc, в котором остаток N-ацетилглюкозамина служит отправной точкой для образования сложных цепей с терминальными последовательностями, характерными для групповых веществ крови.



Определение мест привязки олигосахаридных цепей в белках проводится путем подбора таких условий расщепления полипептидной цепи, которые позволили бы получить фрагменты, несущие лишь по одной углеводной цепочке. После определения последовательности аминокислот и положения углеводной цепи в гликопептиде локализуют его положение в исходной молекуле.

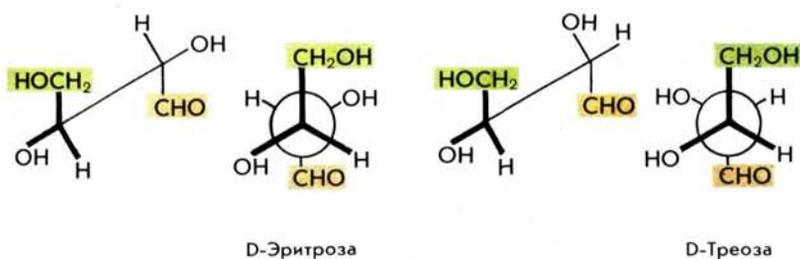
Анализ первичной структуры углеводных биополимеров — гораздо более сложная задача, чем структурный анализ белков и нуклеиновых кислот. Несмотря на значительные успехи, достигнутые в последние годы, универсальная схема исследования структуры олиго- и полисахаридов отсутствует. Как следствие, автоматизация определения первичной структуры таких биополимеров на сегодня невозможна.

## Пространственное строение углеводов

**Конформации моносахаридов и их производных.** Циклические формулы Хеурса не вполне точно отражают действительную структуру молекул моносахаридов. Благодаря свободному вращению групп вокруг ординарных связей они могут принимать различные конформации.

Конформации ациклических и циклических форм моносахаридов наглядно изображаются перспективными, или проекционными, формулами (формулами Ньюмена). Ниже представлены наиболее стабильные конформации D-эритрозы и D-треозы.

Стабильность этих конформаций, называемых трансoidными, обусловлена наибольшей удаленностью друг от друга объемистых заместителей ( $\text{CH}_2\text{OH}$  и  $\text{CHO}$ ). В соединениях с длинной цепью углеродных атомов наиболее выгодной оказывается конформация, при которой цепь имеет зигзагообразный характер.



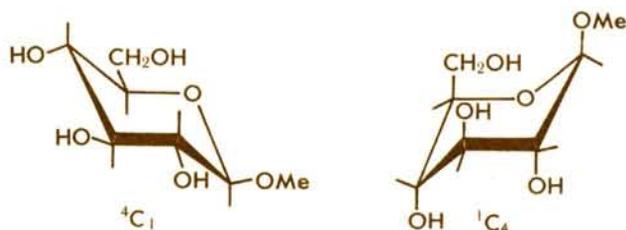
D-Эритроза

D-Треоза

Конформации пираноз и их производных сходны с конформациями циклогексана, однако наличие кислородного атома в цикле увеличивает их возможное число. В подавляющем большинстве случаев реализуется одна из изображенных ниже конформаций типа «кресло» ( ${}^4\text{C}_1$  или  ${}^1\text{C}_4$ ), конформации типа «ванна» практически не встречаются.

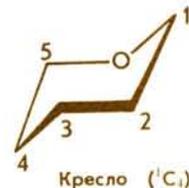
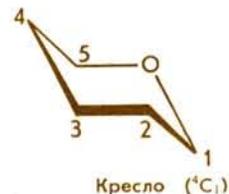
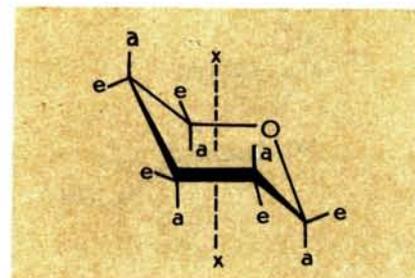
Какая из них окажется более выгодной — зависит от размера и расположения соответствующих группировок в конкретном моносахариде. Заместители со связями, параллельными оси  $\text{X} - \text{X}$ , называют аксиальными (а). Если же связь заместителя с кольцом образует с осью  $\text{X} - \text{X}$  тетраэдрический угол, такой заместитель называют экваториальным (е).

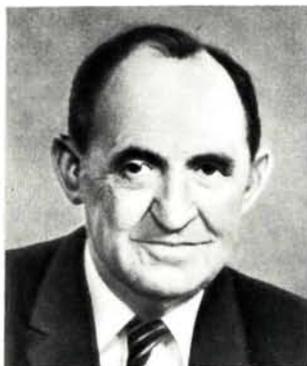
Конформация с наименьшим числом объемистых аксиальных группировок (в частности,  $\text{CH}_2\text{OH}$ -,  $\text{NHAc}$ -,  $\text{OH}$ -групп) наиболее стабильна, поэтому из двух конформаций, приведенных для метил- $\beta$ -D-глюкопиранозида, безусловно, предпочтительной окажется конформация  ${}^4\text{C}_1$ , в которой все гидроксильные, а также объемистая метилольная группировки расположены экваториально.



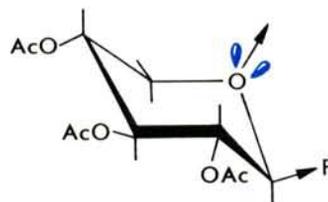
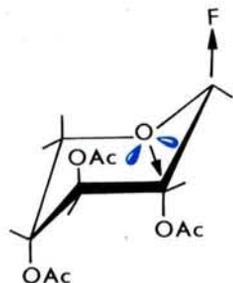
Конформация  ${}^4\text{C}_1$  является предпочтительной для большинства альдогексоз D-ряда, хотя, например, в случае D-идозы преимущественной оказывается конформация типа  ${}^1\text{C}_4$ .

Существенный вклад в стабильность конформаций пираноз вносит так называемый *аномерный эффект* — диполь-дипольное взаимодействие электроотрицательного заместителя при C-1 с неподеленной парой электронов атома кислорода цикла, в результате которого заместитель при C-1 стремится принять аксиальное положение. Для галогенпроизводных этот эффект настолько значителен, что, например, 2,3,4-три-O-ацетил- $\beta$ -D-ксилопиранозилфторид в растворе имеет конформацию  ${}^1\text{C}_4$  с тремя аксиальными ацетильными группами.

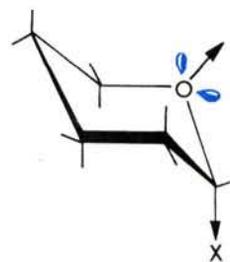
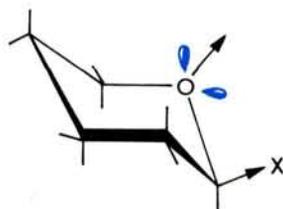
Кресло ( ${}^1\text{C}_1$ )Кресло ( ${}^4\text{C}_1$ )Ванна ( ${}^1\text{A}_B$ )



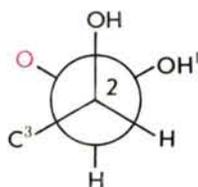
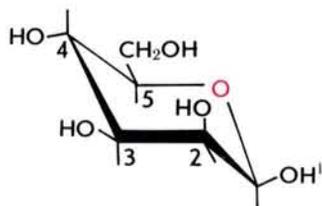
**Лемье [Lemieux] Раймонд Ургель** (р. 1920), канадский химик-органик. Окончил университет Альберта в Эдмонтоне (1943), с 1961 г. — профессор этого университета. Основные работы — в области химии углеводов. Осуществил химический синтез многих сложных сахаридов. Внес значительный вклад в конформационный анализ углеводов с помощью метода ЯМР.



Другим следствием эффекта является то, что незамещенные альдозы D-ряда в водном растворе имеют преимущественно  $\alpha$ -конфигурацию гидроксильной группы при С-1.



Еще один фактор, заметно влияющий на стабильность конформаций, — так называемый  $\Delta^2$ -эффект: при аксиальном расположении гидроксильной группы при С-2 и экваториальном расположении заместителя при С-1 кислородные атомы двух таких группировок, а также кислорода цикла оказываются сближенными, что приводит к их сильному отталкиванию.

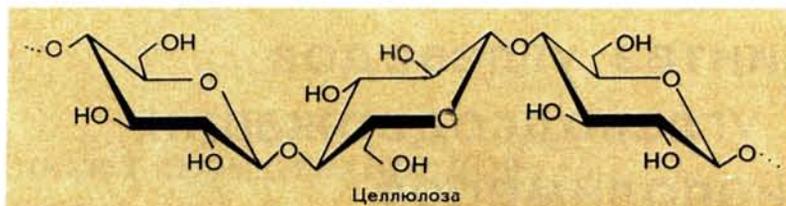


С. Энджиэлом и Р. Лемье был определен вклад рассмотренных «факторов неустойчивости», а также взаимодействий других атомов пираноз в конформационную стабильность моносахаридов и на этой основе разработана система оценки выгодности той или иной конформации, позволяющая предсказывать предпочтительную конформацию моносахарида. Рассчитанные конформации в большинстве случаев хорошо согласуются с экспериментальными данными, однако встречаются и исключения. В частности, аксиальное расположение объемистого заместителя может оказаться более выгодным за счет образования водородной или ионной связи, диполь-дипольного взаимодействия и т. д.

Основным физико-химическим методом изучения конформаций сахаров в растворе служит протонный магнитный резонанс. По величине химического сдвига протонов и константам их спин-спинового взаимодействия можно судить о том, занимают ли они аксиальное или экваториальное положение. Для оценки конформаций сахаров в кристаллах применяется рентгеноструктурный анализ.

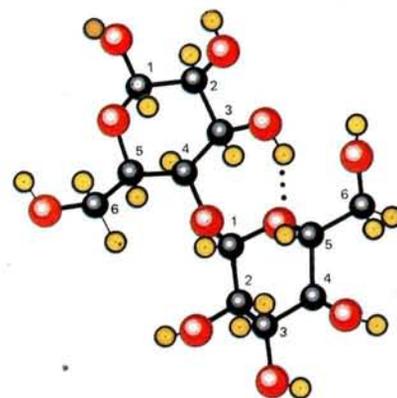
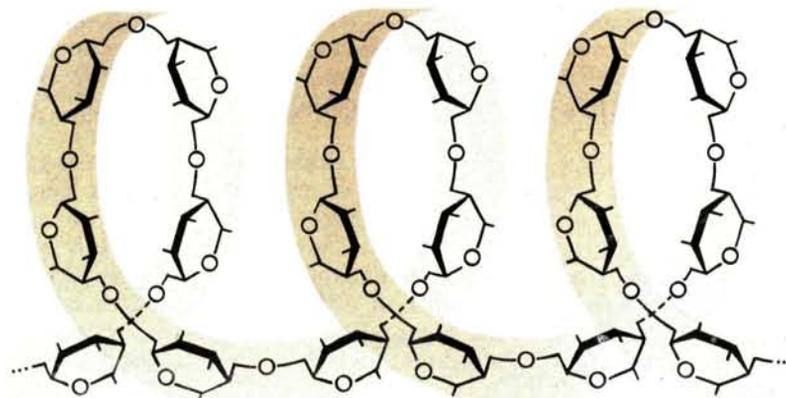
**Пространственная структура олиго- и полисахаридов.** Пространственное строение полисахаридов определяется прежде всего первичной структурой макромолекулы. Неразветвленные полисахариды с  $\beta(1 \rightarrow 4)$ -гликозидными связями, такие как целлюлоза и хитин, образуют фибриллярные структуры, для которых характерна линейная конформация молекул, закрепленная водородными связями. Подобные макромолекулы, располагаясь приблизительно парал-

тельными пучками, образуют структуры, регулярные в трех измерениях, что характерно для кристаллов. Наиболее мощным инструментом изучения пространственного строения подобных полисахаридов оказался рентгеноструктурный анализ. Изучение рентгенограмм позволило определить тип и рассчитать параметры элементарной кристаллической ячейки целлюлозы (а также хитина и ряда других линейных полисахаридов), определить конформацию моносахаридных остатков. Так, для целлюлозы и хитина было показано, что их мономерные звенья имеют конформацию  ${}^4C_1$



Конформация молекулы целлобиозы — дисахаридного фрагмента целлюлозы (в кристалле) — стабилизируется внутримолекулярной водородной связью кислорода цикла с водородным атомом при С-3 соседнего остатка глюкопиранозы.

В отличие от целлюлозы, линейные молекулы амилозы имеют спиральную конформацию, причем каждый виток спирали состоит из шести  $\alpha$ -D-глюкопиранозильных остатков:



Целлобиоза

Данные о конформации этих остатков достаточно разноречивы.

Как показывают результаты рентгеноструктурного анализа, в молекулах разветвленных полисахаридов — амилопектина, гликогена, декстранов — также могут встречаться кристаллические участки, если расстояние между разветвлениями цепи достаточно для образования структуры, регулярной в трех измерениях. На этих участках макромолекулы имеют линейную конформацию. Однако, как правило, для макромолекул разветвленных полисахаридов характерна сферическая форма и отсутствие квазикристаллической струк-

туры. Так, расчет пространственной структуры полисахаридных цепей гликогена показывает, что молекула имеет спиральную конформацию, причем каждый виток спирали состоит из 5,82 глюкозных остатков, а расстояние между витками спирали составляет 2,07 нм.

С отсутствием кристаллической структуры связаны такие свойства разветвленных полисахаридов, как легкая растворимость в воде при молекулярной массе порядка нескольких миллионов.

## Синтез углеводов и углеводовсодержащих биополимеров

Синтез углеводов, как правило, проводится на основе доступных природных моносахаридов. Это обусловливается широкой распространенностью в природе многих сахаров. Полный синтез углеводов, начиная с простых химических соединений (например, глицеринового альдегида), вполне осуществим, но практического применения не находит.

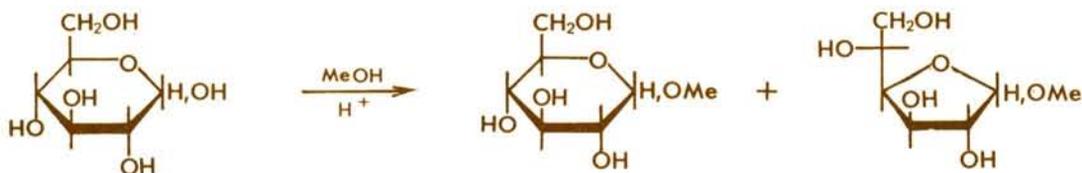
Гликозидный полуацетальный гидроксил в циклических формах моносахаридов резко отличается по свойствам от остальных гидроксильных. Индукционный эффект кислорода цикла облегчает легкий разрыв связи между С-1 и кислородным атомом группировки, находящейся при аномерном центре, и делает возможным протекание многочисленных нуклеофильных реакций при гликозидном атоме, в том числе образование новых гликозидных связей. Реакции, приводящие к созданию гликозидной связи, называются гликозилированием. Гликозилированию могут подвергаться спирты, тиолы, амины: соответственно будут образовываться О-, S- или N-гликозидные связи.

Наиболее актуальной проблемой является стереонаправленное создание О-гликозидной связи, т. е. гликозилирование гидроксилсодержащих соединений, поскольку именно этот тип связи наиболее распространен в природе. Сложность таких синтезов — следствие полифункциональности сахаров, обуславливающей необходимость защиты всех ОН-, SH- и NH-групп в молекуле гликозилирующего агента, а также возможность образования смеси  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров, во многих случаях (особенно для олигосахаридов) трудноразделимой.

## Синтез гликозидов

Гликозиды простейших спиртов можно получить по реакции Фишера, обрабатывая моносахариды соответствующими спиртами в присутствии кислых катализаторов. Реакция приводит к образованию смеси фуранозидов и пиранозидов, соотношение между которыми определяется условиями синтеза.

Для получения более сложных соединений используют направленные методы создания гликозидной связи, позволяющие не только гликозировать любой агликон, но и задать необходимую конфигурацию связи.



## Синтез олигосахаридов

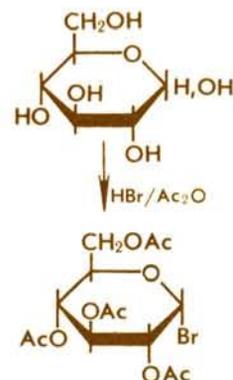
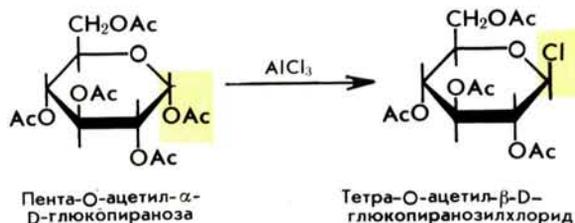
В большинстве случаев синтез олигосахаридов осуществляется на основе входящих в их состав моносахаридов путем создания новых гликозидных связей. В отдельных случаях удается получить менее доступный олигосахарид из более доступного обращением конфигурации гидроксильных групп при определенных атомах или заменой гидроксила на другую функциональную группу.

В основном в качестве гликозилирующих агентов в синтезе олигосахаридов используются гликозилгалогениды.

Гликозилгалогениды не встречаются в природе. В свободном состоянии они нестабильны, поэтому их получают в виде производных, чаще всего в виде ацетатов (ацилгалогенозов).

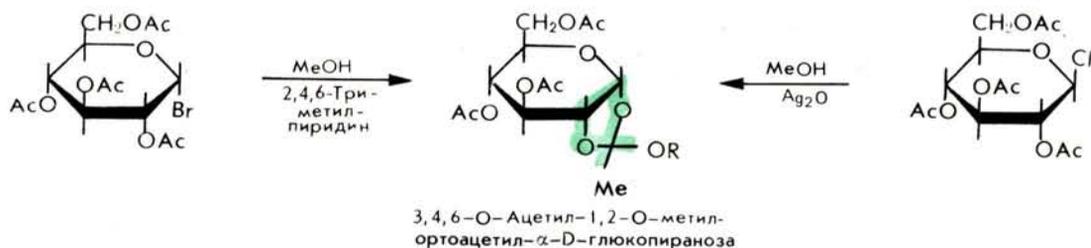
Ацилгалогенозы образуются при действии на моносахарид галогеноводорода в уксусной кислоте, уксусном ангидриде или ацетилхлориде. В этих условиях получается наиболее стабильный аномер, например 2,3,4,6-тетра-О-ацетил- $\alpha$ -D-глюкопиранозилбромид. Стабильность в данном случае определяется аномерным эффектом: для гексоз D-ряда предпочтительным является  $\alpha$ -аномер.

Для синтеза нестабильных 1,2-*транс*-ацилгалогенозов сложный эфир моносахарида (например, полный ацетат или бензоат) обрабатывают хлоридом алюминия или четыреххлористым титаном в неполярных растворителях (бензоле, четыреххлористом углеводе)



Реакции ацилгалогенозов (рис. 258), основанные на нуклеофильном замещении атома галогена, чрезвычайно многочисленны и позволяют перейти к различным производным сахаров: алкил- и арилгликозидам, N- и C-гликозидам, гликалям и т. д. Реакции протекают стереонаправленно, с образованием главным образом 1,2-*транс*-гликозидов, однако всегда получается некоторое количество *цис*-изомера. В определенных условиях конденсация 1,2-*транс*-ацилгалогенозов со спиртами (в присутствии акцептора протонов — оксида серебра, третичных аминов) или 1,2-*цис*-

ацилгалогеноз (в нитрометане в присутствии 2,4,6-триметилпиридина) приводит к ортоэфирам сахаров. Ортоэфиры сахаров также широко используются как промежуточные соединения в синтезе 1,2-транс-гликозидов и олигосахаридов. Они устойчивы к действию оснований, но чрезвычайно лабильны в присутствии кислотных агентов.



Наиболее старым, но до настоящего времени находящим применение методом гликозилирования является метод Кёнига — Кнорра, в котором гликозилирующим агентом служит ацилиро-

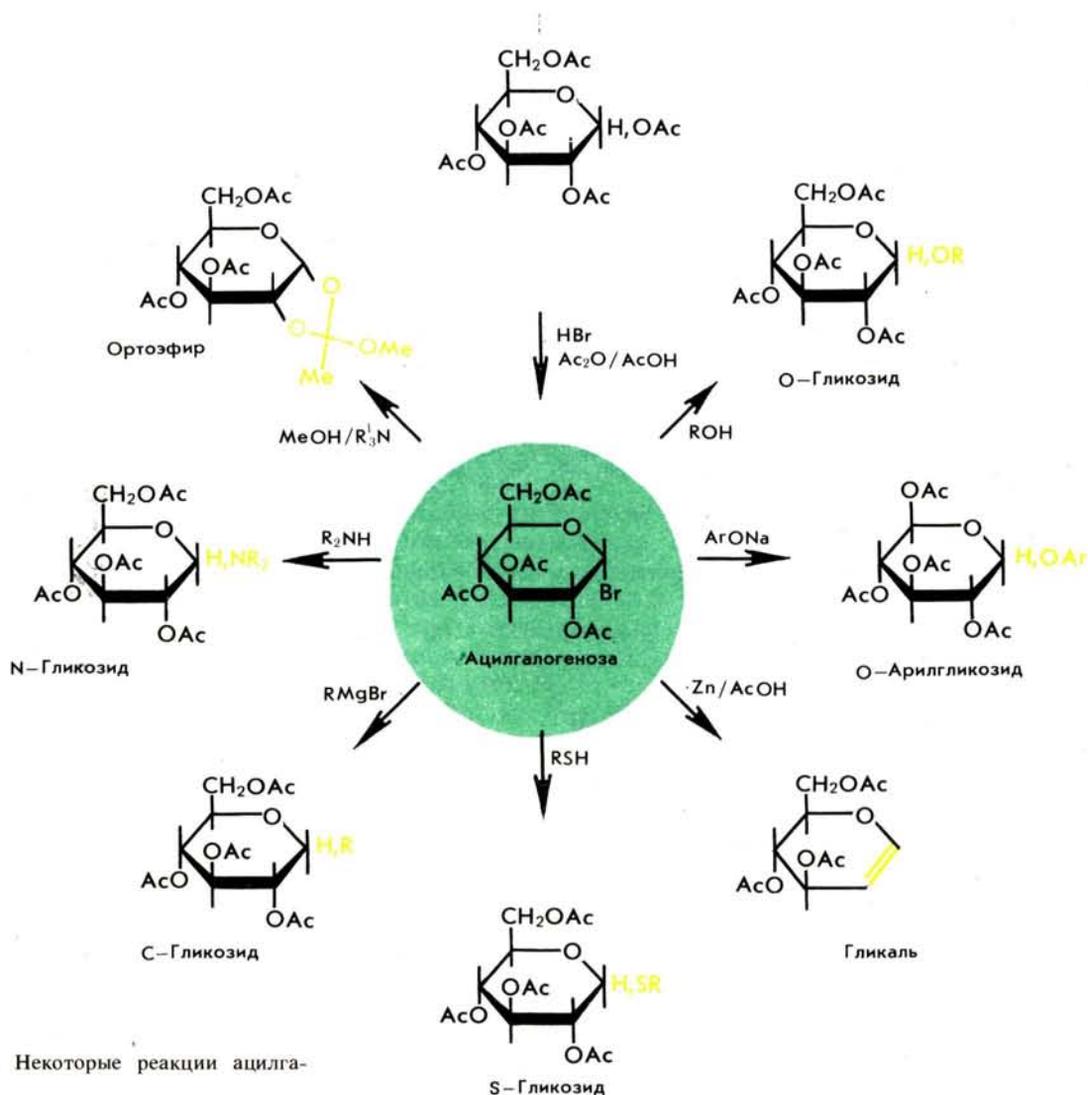
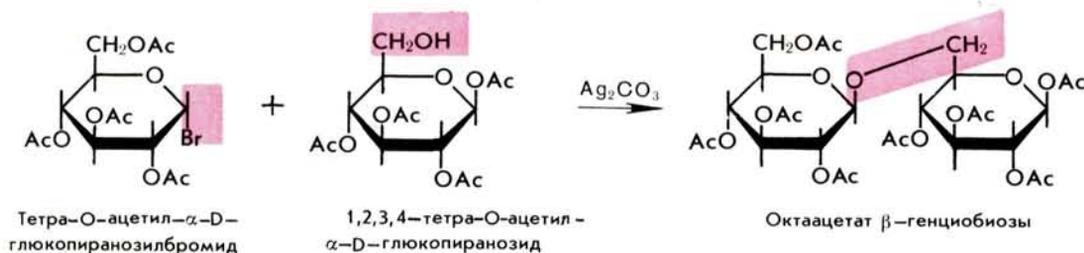


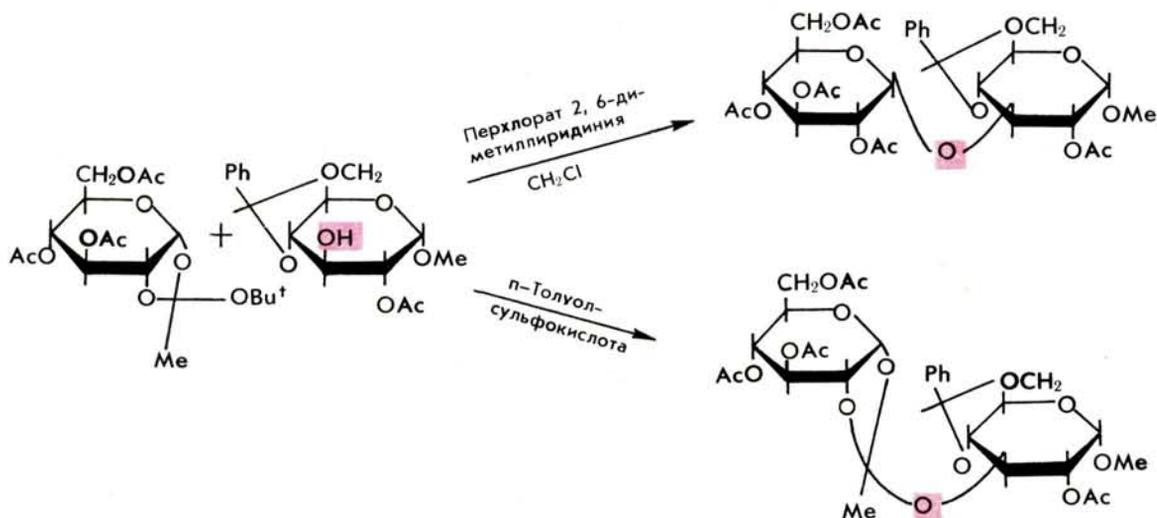
Рис. 258. Некоторые реакции ацилгалогеноза.

ванный  $\alpha$ -D-гликозилгалогенид. Реакция с гидроксилсодержащим компонентом в присутствии оксида или карбоната серебра приводит к образованию 1,2-транс-гликозидной связи. Оксид и карбонат серебра играют двойную роль: с одной стороны, они облегчают диссоциацию связи C-1 — галоген, являясь таким образом катализатором реакции, с другой стороны, служат акцептором протонов, образующихся в ходе превращения



Недостатками метода являются образование в ходе реакции воды, разлагающей ацилгалогенозу, и гетерогенность реакционной смеси. Лучшие результаты дает применение в качестве катализатора и акцептора протонов растворимого цианида ртути — модификация Б. Хельфериха, широко используемая в настоящее время. Даже в случае гликозилирования малореакционноспособных вторичных гидроксильных групп сахаров выходы достигают 80%, однако по сравнению с оригинальным вариантом метода Кёнигса — Кнорра модификация Хельфериха обладает пониженной стереоспецифичностью. Катализаторами реакции могут также быть перхлорат или трифторметансульфонат (трифлат) серебра.

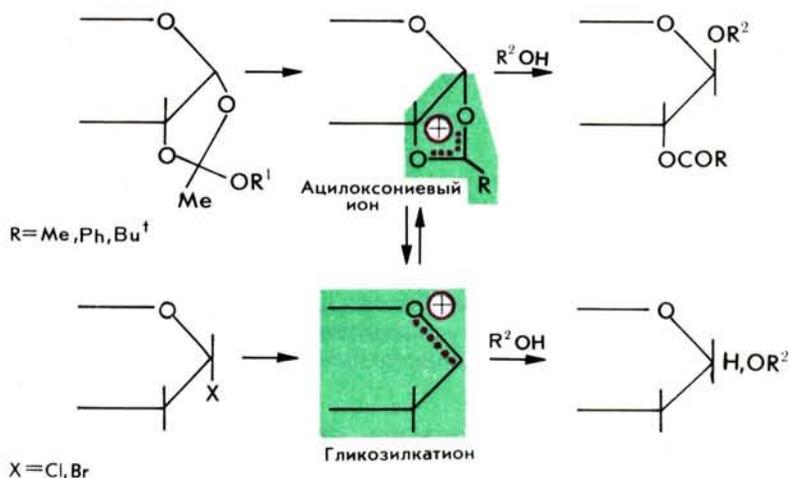
Н. К. Кочетковым предложено использовать в роли гликозилирующих агентов в синтезе 1,2-транс-гликозидов 1,2-ортоэфир сахара с применением в качестве катализатора перхлората 2,6-диметилпиридиния. При замене катализатора (например, на *n*-толуолсульфокислоту) и растворителя реакция протекает по другому направлению, в сторону переэтерификации. Ортоэфирным методом удается гликозировать сахара с малореакционноспособными гидроксильными группами.



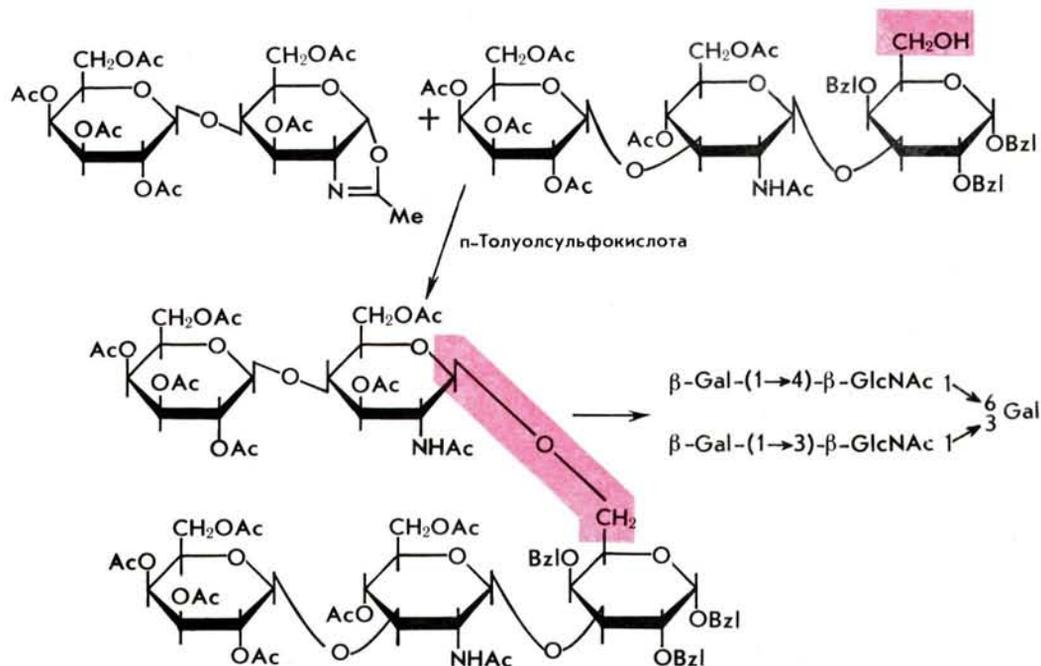


**Хорлин Анатолий Яковлевич** (р. 1930), советский химик-органик. Окончил Московский государственный университет (1954), работает в Институте биорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР. Исследовал химическое строение действующих начал растений дальневосточной флоры (лимонник китайский, растения семейства аралиевых), а также гликозидов три-терпенового ряда. Автор трудов по синтезу олигосахаридов, выяснению механизма действия и специфичности гликозидаз.

И в случае гликозилгалогенидов, и в случае ортоэфиров сахаров истинными гликозилирующими агентами являются образующиеся на промежуточной стадии гликозил-катион или ацилоксониевый ион

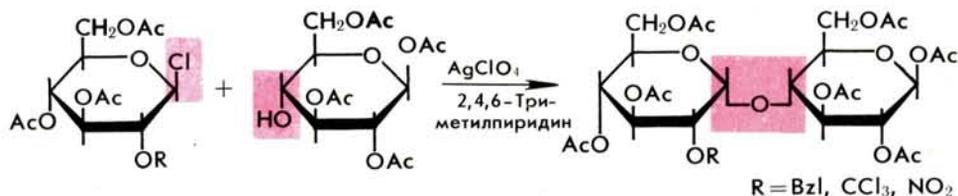


Гликозилгалогениды ацилированных 2-амино-2-дезоксахаров чрезвычайно неустойчивы и легко превращаются в соответствующие 1,3-оксазолиновые производные. Последние в присутствии кислых катализаторов легко реагируют с гидроксилсодержащими соединениями с образованием 1,2-*транс*-гликозидной связи. Оксазолиновый метод был разработан А. Я. Хорлиным в конце 60-х годов на примере многих сахаров. Возможности метода можно продемонстрировать синтезом тетрасахарида, входящего в состав групповых веществ крови II

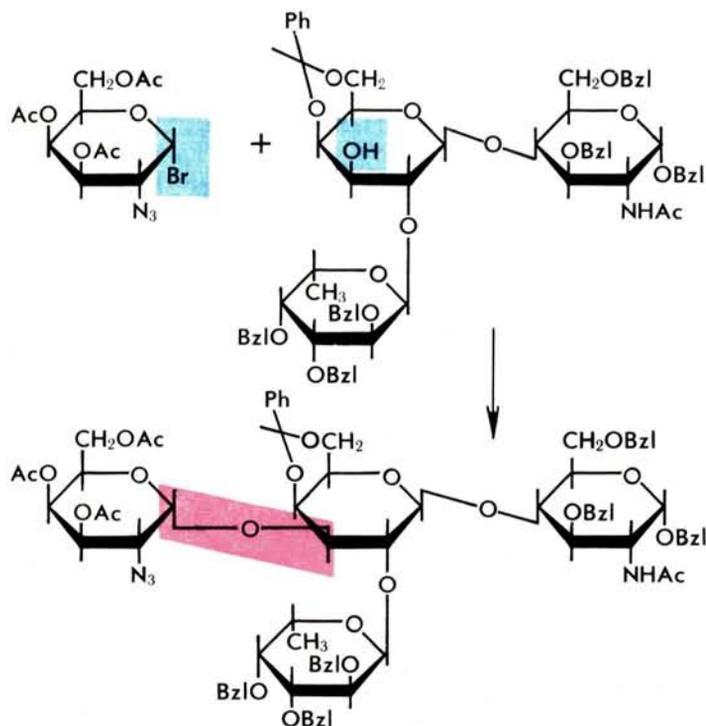


Такие реакции приводят к 1,2-*транс*-гликозидам из-за «соучастия» ацильной группы при С-2 (взаимодействия кислородного атома карбоксила ацильной группы с углеродным атомом аномерного центра), благодаря которой реакция протекает через стадию образования оксазолиниевого иона: последний вследствие стерических затруднений подвергается атаке с противоположной от ацил-оксониевого цикла стороны.

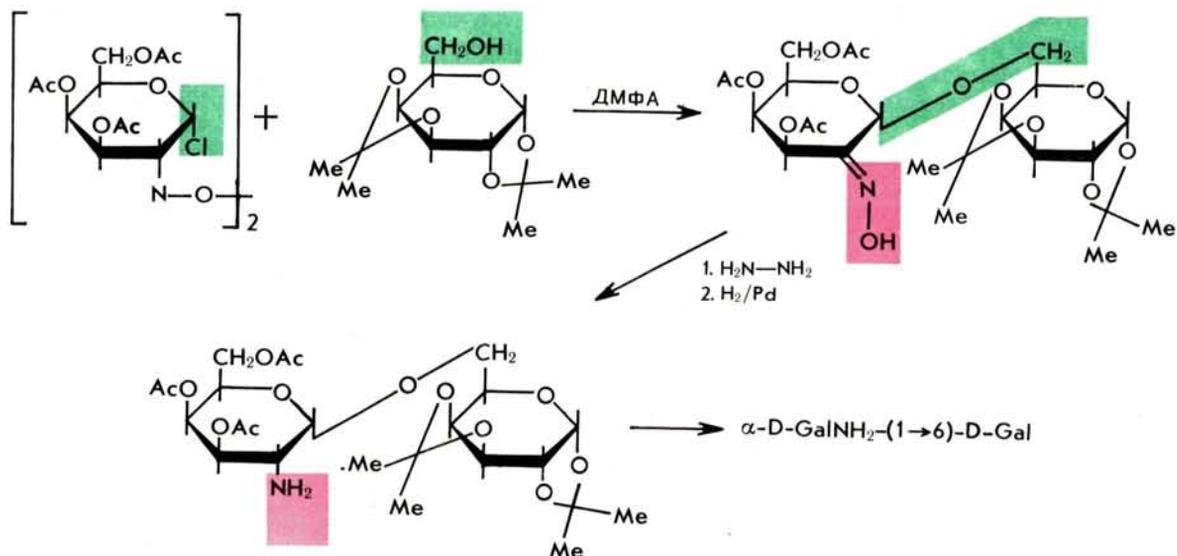
Значительно большие затруднения вызывает синтез 1,2-*цис*-гликозидов, и их удается получить лишь с использованием производных сахаров, имеющих при С-2 заместитель, не способный к «эффекту соучастия». В качестве гликозилирующих агентов часто используют нестабильные β-гликозилгалогениды; в малополярных растворителях в присутствии активных катализаторов (солей серебра) реакция протекает с обращением конфигурации при С-1.



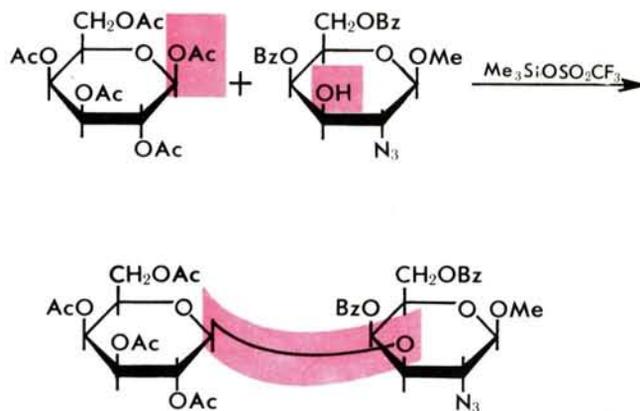
Синтез 1,2-*цис*-гликозидов 2-амино-2-дезоксахаров вызывает еще большие затруднения из-за сложности получения гликозилгалогенидов с иным, нежели ацильная группа, заместителем при С-2. Таким заместителем может служить, например, азидная группа, которая по окончании гликозилирования легко восстанавливается.



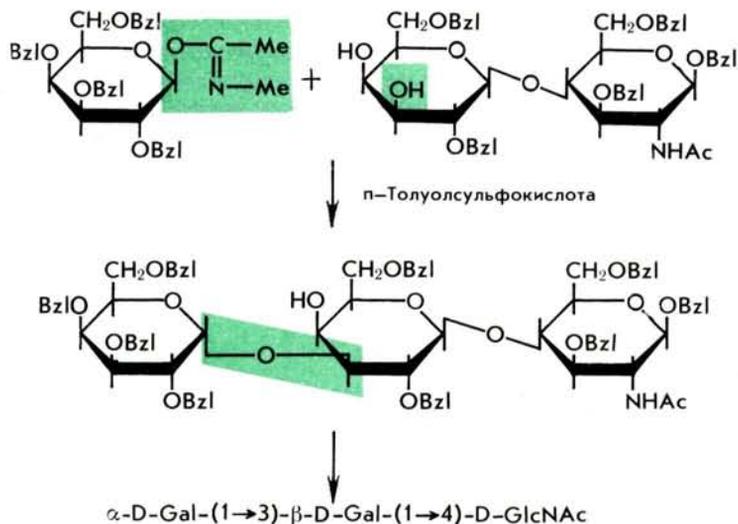
ся в аминогруппу; азидным методом были получены многие олигосахариды, содержащие остатки аминокислот, в частности детерминантный тетрасахарид группы крови А. Недостаток метода заключается в труднодоступности 2-азидогликозилгалогенидов. Поэтому Р. Лемье с соавторами в качестве гликозилирующих агентов были предложены 2-нитрозогликозилгалогениды, образующиеся из доступных гликалей при действии нитрозохлорида



Перечисленные выше методы требуют получения на промежуточной стадии гликозилгалогенидов, что в ряде случаев (особенно для олигосахаридов) оказывается затруднительным. Предложены перспективные методы, позволяющие использовать в качестве гликозилирующих агентов легкодоступные, устойчивые ацетаты сахаров. Таким путем Г. Паульсеном из пентаацетата галактозы и частично защищенного сахара в присутствии катализатора триметилсилитрифлата был получен дисахарид:



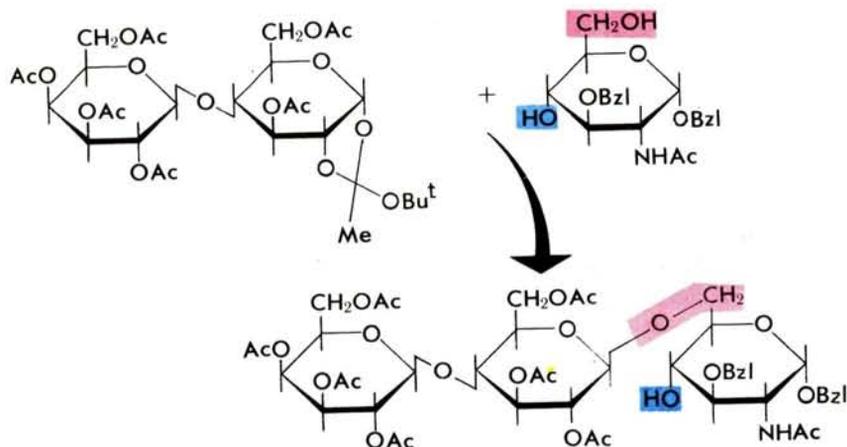
П. Синаи с соавторами предложили применять вместо гликозилгалогенидов в синтезе олигосахаридов с 1,2-*цис*-связями имидаты сахаров, что иллюстрируется синтезом олигосахаридов группы крови В



Метод применим лишь для введения остатков глюкозы, галактозы и фукозы.

Дополнительные сложности в олигосахаридном синтезе вызывают получение защищенного агликонового (спиртового) компонента с единственной свободной гидроксильной группой — той, которая должна быть гликозилирована, а также низкая реакционная способность вторичных гидроксильных групп сахаров. Наиболее активной у гексопираноз является первичная спиртовая группа, далее идут гидроксильные группы при С-2, С-3 и С-4. Поэтому синтез олигосахаридов с (1 → 4)-гликозидными связями вызывает наибольшие затруднения. Предложен ряд методов активации гидроксила при С-4, в том числе специальный подбор заместителей при остальных гидроксильных группах, использование в качестве агликонового компонента ациклических производных сахаров, гликозилирование соединений, несущих при С-4 активирующую группировку (например, 2,3-дифенил-2-циклопропенильную).

В некоторых случаях различная активность гидроксильных групп сахаров позволяет упростить синтез целевого продукта. Так, благодаря различной реакционной способности удалось селективно гликозилировать ОН-6, не защищая ОН-4 в приведенном синтезе олигосахарида



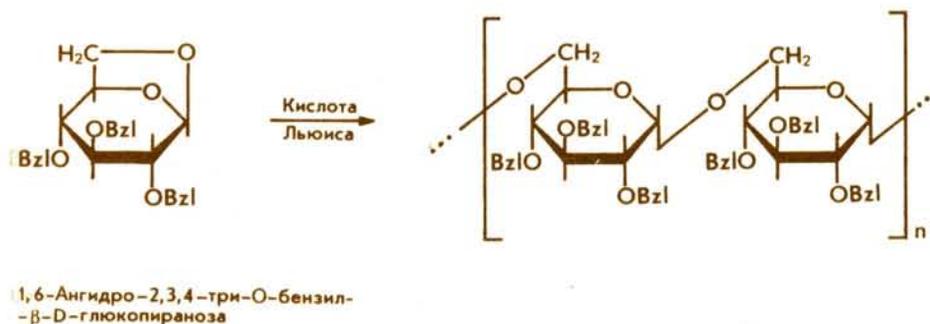
В каждом случае задача выбора защитных групп решается индивидуально. Чаще всего используются тритильные (защита первичного гидроксила), алкилиденные, ацетильные и бензильные группы. При работе с ацетильными защитами всегда приходится учитывать возможность их миграции.

В подавляющем большинстве случаев гликозилирование протекает нестереоселективно, т. е. практически всегда образуется смесь  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров. Такая неоднозначность реакции, а также тот факт, что выходы целевых продуктов, особенно при гликозилировании вторичных гидроксильных групп сахаров, редко превышают 70%, делает пока малоперспективным синтез олигосахаридов на твердом носителе.

## Синтез полисахаридов

Химический синтез полисахаридов является одной из малоразработанных пока областей химии углеводов. Причина, очевидно, заключается не только в сложности решения задачи, но и в отсутствии заметной потребности в синтетических полисахаридах: громадное разнообразие природных полисахаридов и их доступность делают существенно более актуальным изучение их строения и свойств.

Первые попытки направленного синтеза полисахаридов заключались в полимеризации 1,6-ангидрогексоз, в частности левоглюкозана

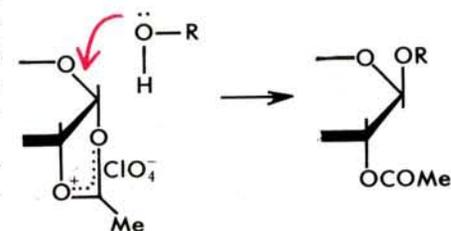
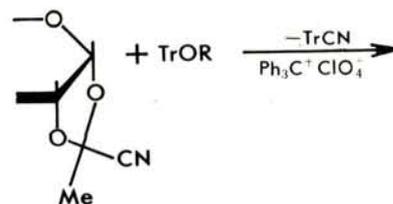
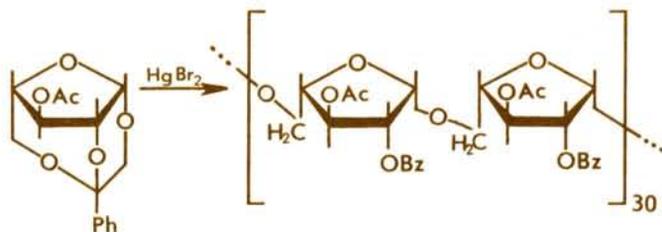


1,6-Ангидро-2,3,4-три-О-бензил- $\beta$ -D-глюкопираноза

В присутствии кислот Льюиса наблюдалось образование высокомолекулярных продуктов с регулярными  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6)-связями. Впоследствии этот подход — использование соответствующих ангидросахаров — был применен для синтеза гомополисахаридов с (1  $\rightarrow$  2)- и (1  $\rightarrow$  3)-гликозидными связями.

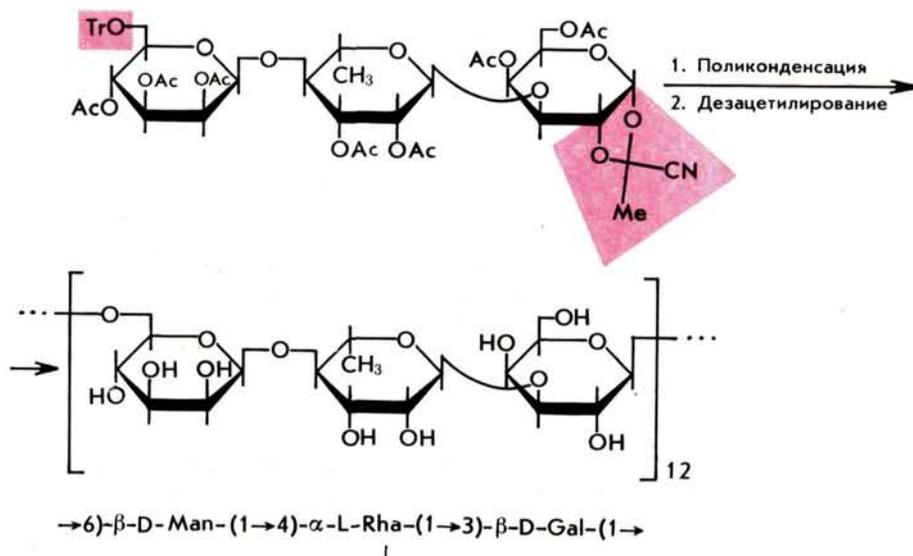
Очевидно, что таким путем может быть получен лишь ограниченный круг гомополимеров. В случае гетерополисахаридов единственный возможный путь синтеза состоит в поликонденсации или полимеризации производных олигосахаридов с единственной свободной (или активированной) гидроксильной группой.

Работы в этом направлении в течение ряда лет проводятся в СССР (Н. К. Кочетков). В качестве гликозилирующих агентов первоначально были использованы ортоэфиры сахаров. Например, из трициклического ортоэфира был получен линейный  $\alpha(1 \rightarrow 5)$ -связанный арабинан со степенью полимеризации, приблизительно равной 60.



Ортоэфиры как исходные соединения для синтеза полисахаридов имеют ряд недостатков, приводящих к образованию побочных продуктов, в частности изомеров с «неправильной» конфигурацией при аномерных центрах, ангидросахаров и т. д. Более перспективными оказались 1,2-О-цианалкилиденные производные, которыми удалось гликозировать тритиловые эфиры сахаров. Катализатор реакции — перхлорат трифенилметания.

С их помощью был осуществлен синтез сложного гетерополисахарида, структура которого соответствовала О-антигенному полисахариду бактерии *Salmonella newington*.

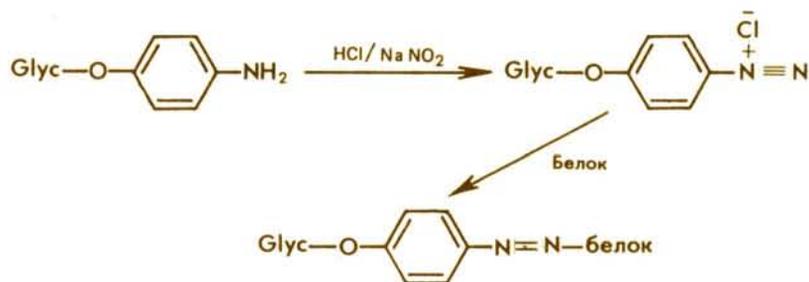


Несмотря на достигнутые успехи, направленный синтез сложных гетерополисахаридов остается трудной задачей, поскольку во многих случаях образуется смесь продуктов с  $\alpha$ - и  $\beta$ -гликозидными связями, низкой остается степень полимеризации. Решение проблемы, по всей видимости, станет возможным лишь в результате более широкого развития методов гликозилирования.

## Синтез неогликопротеинов

Неогликопротеинами называются гликопротеины, полученные химическим синтезом, а именно ковалентным присоединением моно- или олигосахаридов к белкам. Такие искусственные биополимеры могут использоваться для выяснения роли углеводных цепей гликопротеинов, получения антител к углеводным детерминантам заданной структуры, выделения и изучения специфичности лектинов.

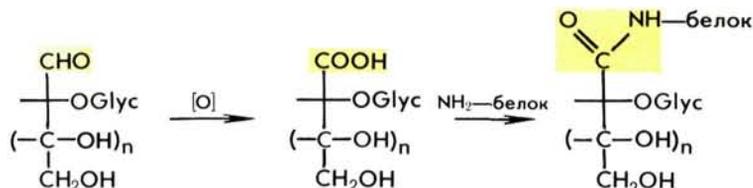
Предложено множество методов присоединения углеводных цепей к белкам. Самый старый из них, разработанный в 1929 г., основан на использовании диазопроизводных



Glyc — гликозильный остаток

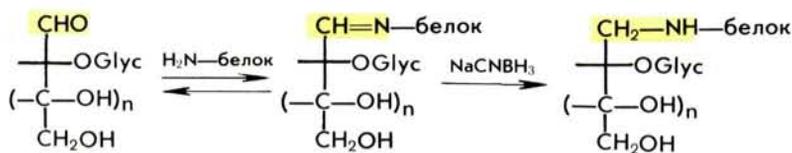
Реакция идет главным образом по остаткам тирозина, гистидина, лизина. Таким путем удастся достичь высокой степени модификации белка, однако применение метода осложняется труднодоступностью многих *p*-аминофенилгликозидов. Недостатком является также то, что в белок вводятся объемистые, гидрофобные фенильные группировки, которые могут существенно влиять на третичную структуру молекулы.

Широко применяется для введения углеводных цепей в белки реакция амидирования. В этом случае терминальный восстанавливающий остаток олигосахарида окисляется до альдоновой кислоты, которая и служит в дальнейшем мостиком между сахаридом и аминогруппами белка. Присоединение проводится методами, используемыми в синтезе пептидов: с помощью водорастворимого карбодиимида, методом смешанных ангидридов или активированных эфиров



Glyc—гликозильный остаток

Простой метод иммобилизации олигосахаридных цепей на белковом коре основан на реакции альдегидной группы углевода с аминогруппами белка и последующем восстановлении образовавшегося основания Шиффа цианоборгидридом натрия

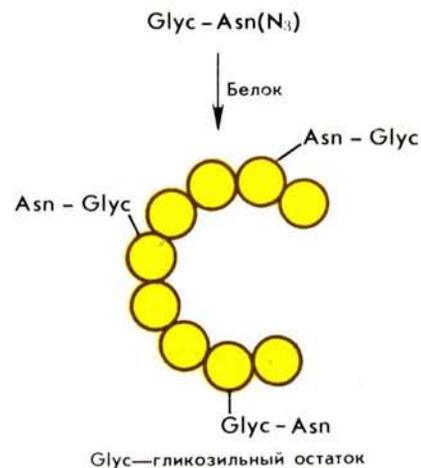


Glyc—гликозильный остаток

Как и при амидировании, этот метод присоединения олигосахаридов приводит к раскрытию цикла терминального восстанавливающего моносахаридного остатка. Недостаток метода состоит в малой скорости протекания реакции, видимо, в результате низкого содержания ациклической формы сахара в растворе.

Для создания связи углеводов — белок применяются и бифункциональные реагенты (в частности, симметричный трихлортриазин), однако основные усилия направлены на развитие методов, при которых образующийся узел связи в минимальной степени отличается от природного. Например, предложено первоначально получать олигосахарид с присоединенным N-гликозидной связью L-аспарагином, а затем вводить его в белок в виде ацилазида. Таким путем удается синтезировать полимер олигосахарид — N-аспарагин — белок, однако по сравнению с природными гликопротеинами полученный негликопротеин содержит «лишний» аспарагин.

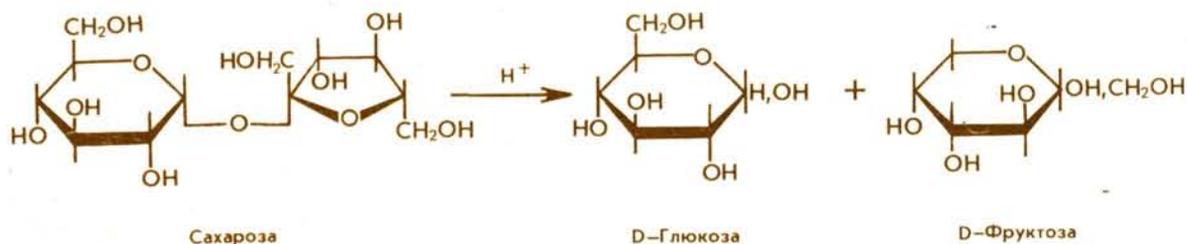
Направленное гликозилирование белков, например, рекомбинантных, полученных в бактериях с целью создания точных копий природных белков, пока неосуществимо ни химическим, ни ферментативным способом. Причина заключается в сложности процесса биосинтеза углеводных цепей: его осуществляет сложный комплекс ферментов — гликозилтрансфераз, каждый из которых присоединяет определенный углеводный остаток. Кроме того, присоединение углеводов начинается уже в процессе биосинтеза полипептидной цепи гликопротеина, поэтому место будущей углеводной цепи оказывается помеченным еще до того, как произойдет формирование третичной структуры белка. В сформировавшейся глобуле места потенциального гликозилирования могут быть недоступными для действия соответствующих ферментов.



# Отдельные представители углеводов и углеводсодержащих биополимеров

## Моносахариды

Среди моносахаридов ранее других стали известны и были изучены *D*-глюкоза и *D*-фруктоза, образующиеся при кислотном гидролизе сахарозы (тростникового сахара):



*D*-Глюкоза (декстроза, виноградный сахар) — самый распространенный моносахарид; в свободном виде она встречается в растениях, особенно плодах, в крови и лимфе человека и животных. Особенно велико содержание *D*-глюкозы в многочисленных олиго- и полисахаридах.

*D*-Фруктоза (плодовый сахар), подобно *D*-глюкозе, содержится в плодах растений, в меде.

*D*-Манноза и *D*-галактоза реже встречаются в свободном состоянии, но широко распространены в виде гликозидов, а также входят в состав полисахаридов (маннанов и галактанов) и гликопротеинов.

Среди пентоз наиболее известны *D*- и *L*-арабинозы, которые обнаружены в природе в некоторых полисахаридах, например в гуммиарабике, а также *D*-ксилоза, содержащаяся в полисахариде ксилане, и *D*-рибоза — компонент нуклеиновых кислот.

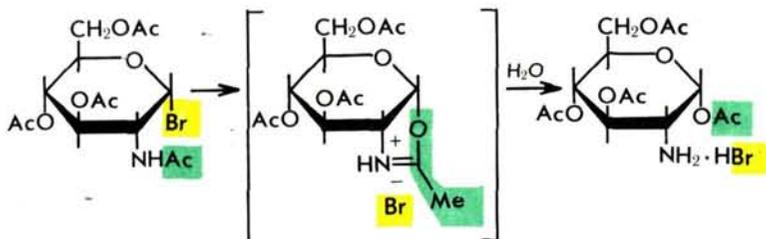
Широко распространены в природе *аминосахара* — моносахариды, в которых одна или несколько гидроксильных групп заменены на аминогруппы. Некоторые из них являются компонентами смешанных биополимеров, другие встречаются в качестве структурных единиц в антибиотиках.

Наиболее распространены производные 2-амино-2-дезоксисахаров: N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин и N-ацетилмуравовая кислота.

N-Ацетилглюкозамин в виде гомополимера хитина формирует скелет насекомых и ракообразных; у бактерий, наряду с N-ацетилмуравовой кислотой, является компонентом клеточной стенки. В животном мире N-ацетилглюкозамин входит в состав мукополисахаридов соединительной ткани (гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфатов, гепарина), групповых веществ крови и других гликопротеинов. Остаток N-ацетилглюкозамина обычно находится на восстанавливающем конце N-гликозидных углеводных цепей животных гликопротеинов, образуя связь углевод — белок. Аналогичную роль, но в O-гликозидных цепях, выполняет N-ацетилгалактозамин, входящий в состав как гликопротеинов, так и гликолипидов. N-Ацетилгалактозамин является детерминантным сахаром групповых веществ крови, определяющим их специфичность.

Свойства аминсахаров со свободной аминогруппой аналогичны свойствам аминов: они легко ацилируются и алкилируются по аминогруппе, дают с ароматическими альдегидами основания Шиффа. Ацилирование аминогруппы можно осуществить избирательно, не затрагивая гидроксильных групп.

Аминсахара проявляют большинство обычных свойств моносахаридов, образуя производные по альдегидной и гидроксильным группам. Однако в ряде случаев их химические свойства оказываются специфичными в силу влияния аминогруппы. Так, 2-амино-

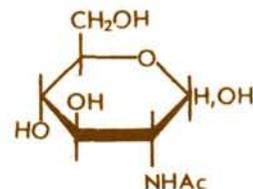


2-дезоксисахара не образуют гликозидов в условиях реакции Фишера. Гликозилгалогениды N-аминасахаров неустойчивы: например, 2-ацетиамидо-3,4,6-три-O-ацетил-2-дезоксид-α-D-глюкопиранозилбромид легко изомеризуется в соответствующий гидробромид.

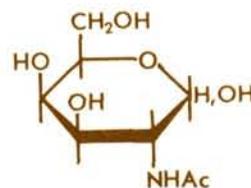
Отдельного упоминания заслуживают N-ацетилнейраминавая кислота и ее производные (сиаловые кислоты), являющиеся компонентами ганглиозидов, олигосахаридов молока, многих животных гликопротеинов и т. д.

Сиаловые кислоты играют важную роль, поскольку они терминируют олигосахаридные цепи смешанных биополимеров. Находясь на невозстанавливающем конце олигосахаридных цепей гликолипидов и гликопротеинов, сиаловые кислоты маскируют антигенные детерминанты биополимера и придают ему отрицательный заряд. Наличие сиаловых кислот на концах олигосахаридных цепей животных гликопротеинов обеспечивает возможность циркуляции последних в кровотоке, предотвращая захват их клетками печени. Входя в состав биополимеров животных клеток, сиаловые кислоты во многом определяют свойства клеточной поверхности. Изменение содержания сиаловых кислот на клеточной поверхности сопровождается такими процессами, как дифференцировка клеток и зло-

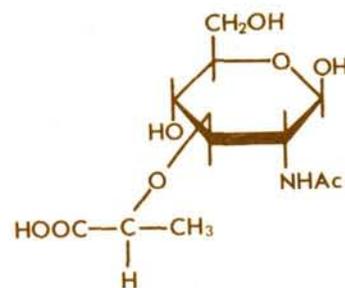
### Отдельные представители углеводов и углеводсодержащих биополимеров



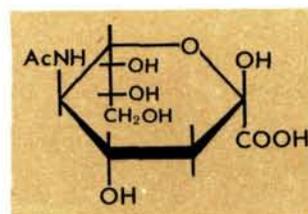
N-Ацетилглюкозамин



N-Ацетилгалактозамин



N-Ацетилмуравовая кислота



N-Ацетилнейраминавая кислота

качественное перерождение. Наличием избыточного количества сиаловых кислот на поверхности объясняют многие свойства опухолевых клеток.

**Дезоксисахара** представляют собой моносахариды, в которых одна или несколько гидроксильных групп заменены атомами водорода. Эти производные моносахаридов, подобно аминсахарам, широко распространены в природе, являясь компонентами гликозидов, олиго- и полисахаридов. Важнейшим представителем дезоксисахаров является 2-дезоксидеокси-D-рибоза, которая входит в фуранозной форме в состав дезоксирибонуклеиновых кислот. Весьма распространены и различные 6-дезоксигексозы, которые встречаются в животных и растительных гликозидах и полисахаридах, гликолипидах и антибиотиках. К этим соединениям относятся хиновоза (6-дезоксиглюкоза), рамноза (6-дезоксиманноза), фукоза (6-дезоксигалактоза). В ряде сердечных гликозидов содержатся 2,6-дидезоксигексозы и их 3-О-метилвые эфиры.

Дезоксисахара по своим химическим свойствам в целом сходны с обычными углеводами. Некоторые особенности характерны лишь для 2-дезоксисахаров, например они чрезвычайно легко дают О-гликозиды.

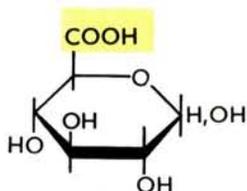
**Альдиты** (полиолы), образующиеся при восстановлении карбонильной группы углеводов, найдены и в природе. Рибит входит в состав теяхойевой кислоты, сорбит обнаружен в ягодах рябины, а маннит — в водорослях. Большое значение имеет ксилит — один из сладчайших полиолов, применяемый в пищевой промышленности в качестве заменителя сахара для больных диабетом.

**Уроновые кислоты** — сахара, в которых первичная спиртовая группа заменена на карбоксильную. Их названия образуют из названия соответствующего моносахарида с прибавлением окончания «уроновая кислота».

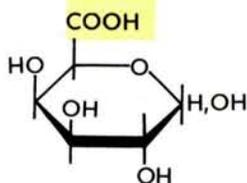
Уроновые кислоты находятся в различных природных источниках, главным образом в связанном виде. Так, D-глюкуроновая кислота входит в состав многочисленных растительных гликозидов (глюкуронидов), например тритерпеновых сапонинов, а также встречается в ряде растительных и бактериальных полисахаридов и в таких мукополисахаридах, как гиалуроновая кислота, гепарин, хондроитинсульфаты.

D-Галактуронозная кислота входит в состав растительных полиуронидов (пектиновые вещества), а D-маннуринозная и D-гулуринозная содержатся в альгиновой кислоте (полисахарид бурых водорослей).

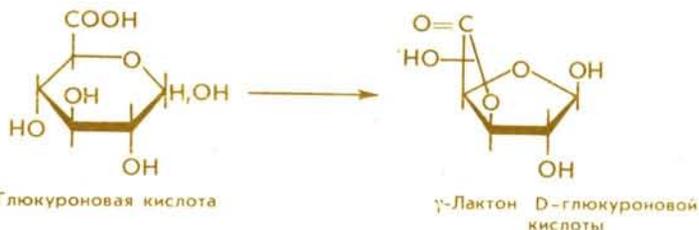
Характерное свойство уроновых кислот заключается в способности образовывать лактоны



D-Глюкуронозная кислота



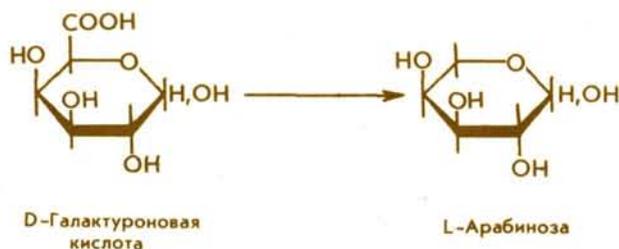
D-Галактуронозная кислота



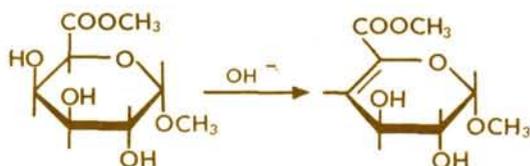
D-Глюкуронозная кислота

γ-Лактон D-глюкурононозной кислоты

Декарбосилирование, происходящее при нагревании солей уроновых кислот с такими металлами, как никель, магний, свинец, ведет к образованию соответствующих пентоз



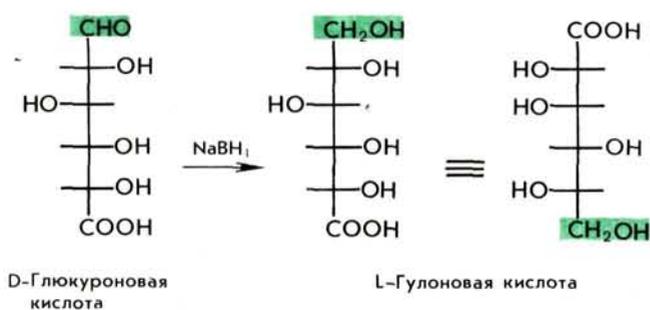
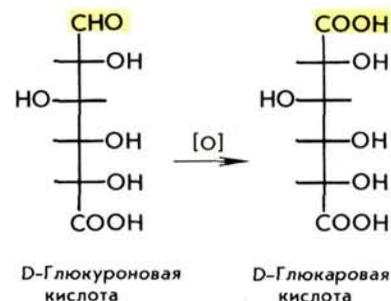
Важной реакцией некоторых уроновых кислот и их производных является отщепление заместителя у С-4 в присутствии оснований, протекающее по принципу  $\beta$ -элиминирования



Глюкурониды в этих условиях достаточно устойчивы.

Окисление уроновых кислот проходит легко и приводит к так называемым *сахарным кислотам*, содержащим две карбоксильные группы. Так, из D-глюкуроновой получается D-глюкарвая кислота (название образуется из названия соответствующего моносахарида с прибавлением окончания «аровая»).

При восстановлении уроновых кислот боргидридом натрия альдегидная группа превращается в первичную спиртовую, в результате чего образуется альдоновая кислота



**Высшие сахара** — моносахариды, содержащие более шести углеродных атомов в цепи. В свободном виде встречаются лишь высшие кетозы (и соответствующие им полиолы), а высшие альдозы входят только в состав липополисахаридов грамотрицательных бактерий. Их свойства не отличаются от свойств обычных моносахаридов; следует лишь отметить их склонность к легкому образованию ангидропроизводных.

## Гликозиды

Гликозиды занимают заметное место как в растительном, так и в животном мире.

Особенно широко гликозиды представлены в растениях: в их число входят пигменты цветов, ароматические вещества, многие природные красители, стимуляторы сердечной деятельности и т. д.

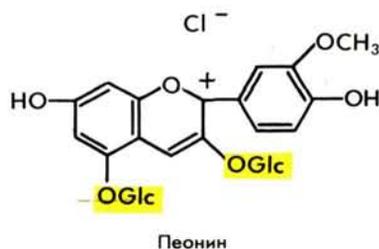
Пигменты цветов, как правило, представляют собой D-гликозиды, у которых агликоном являются флавоны, флавононы, флавонолы или изофлавоны. Примером может служить пигмент темно-красных пионов «пеонин».

Широкую известность получили так называемые сердечные гликозиды — соединения, способные стимулировать сердечную деятельность и тем самым представляющие интерес для медицины. Они встречаются в ряде видов растений, наиболее важными из которых являются *Strophanthus* и *Digitalis*. Типичным для сердечных гликозидов является присутствие дезоксисахара, который чаще всего присоединен к агликону. Структуры агликонов большинства сердечных гликозидов весьма сходны — они представляют собой сложные лактоны стероидной природы.

Хорошо известны и другие природные гликозиды: сапонины, алкалоиды салонин и томатин, цианогенные гликозиды (например, амигдалин, придающий горький вкус миндалю) и т. д. В роли агликонов могут выступать фенолы, енолы, циангидрины, изотиоцианаты, кумарины, стероиды. Углеводная часть чаще всего представлена D-глюкозой, реже D- и L-галактозой, D-маннозой, D-фруктозой, L-рамнозой. Роль растительных гликозидов далеко не всегда ясна. Они могут служить резервными углеводами, стабилизировать лабильные агликоны, регулировать метаболизм растений, удалять продукты метаболизма.

Широко представлены среди бактерий гликозиды-антибиотики. Наиболее хорошо известен стрептомицин, впервые выделенный З. А. Ваксманом из культуры *Streptomyces griseus*. Различными видами актиномицетов продуцируются антибиотики широкого спектра действия — стрептотрицины, в состав которых входит аминоксахар 2-амино-2-дезоксид-Д-гулопираноза.

Гликозиды встречаются и в животном мире. Наиболее известными и распространенными гликозидами являются гликолипиды — ганглиозиды и цереброзиды. В виде гликозидов (глюкуроидов) выделяются из организма в мочу токсические вещества.



## Олигосахариды

Олигосахариды достаточно широко распространены в природе. В растительном мире они играют роль резервных углеводов. Наиболее часто встречаются олигосахариды группы сахарозы. Сахароза (см. с. 462)  $\alpha$ -D-Glc-(1  $\rightarrow$  2)- $\beta$ -D-Fruf присутствует практически во всех растениях (семенах, листьях, плодах, корнях и т. д.). Содержание сахарозы в сахарной свекле составляет 17 — 19%.

При производстве сахара свекла измельчается, обрабатывается горячей водой и полученный сок подвергается очистке многократной обработкой известковым молоком, углекислым и сернистым газами. Очищенный сок упаривается, в результате чего получается густой сироп, содержащий 60 — 65% сухих веществ. Сироп вновь обрабатывается сернистым газом, сгущается в вакуум-аппаратах до образования уфеля — смеси кристаллов сахарозы и патоки, после чего сахароза отде-

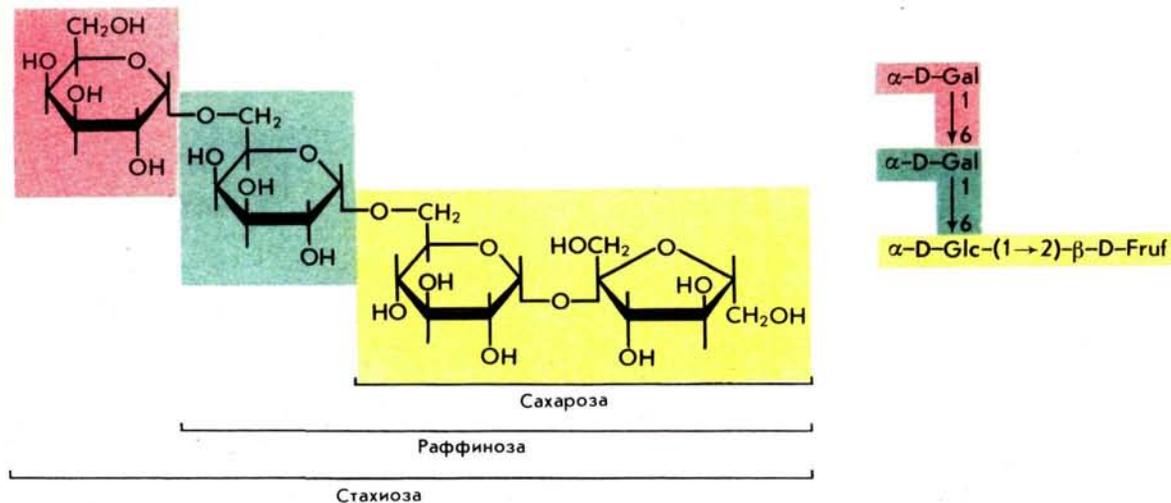
Отдельные представители  
углеводов  
и углеводсодержащих  
биополимеров

ляется центрифугированием. Патока подвергается дальнейшей очистке для выделения дополнительного количества сахарозы.

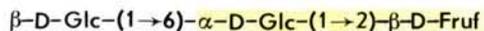
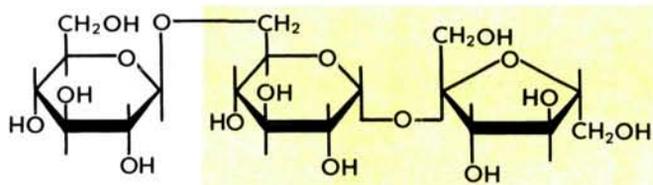
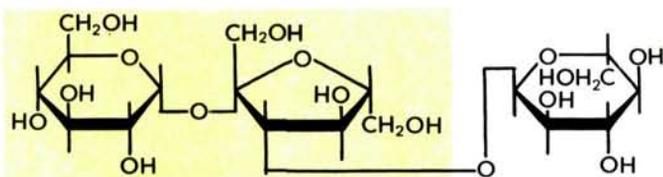
Производство сахара из сахарного тростника, содержащего 13 — 15% сахарозы, начинается с получения сока, который очищается известью и упаривается. Кристаллизующийся сахар-сырец отделяется центрифугированием. При переработке на белый сахар раствор сырца очищается известью и углекислым газом, а затем сгущается до кристаллизации сахарозы.

Потребительский белый сахар-песок содержит не менее 99,75% сахарозы.

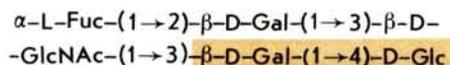
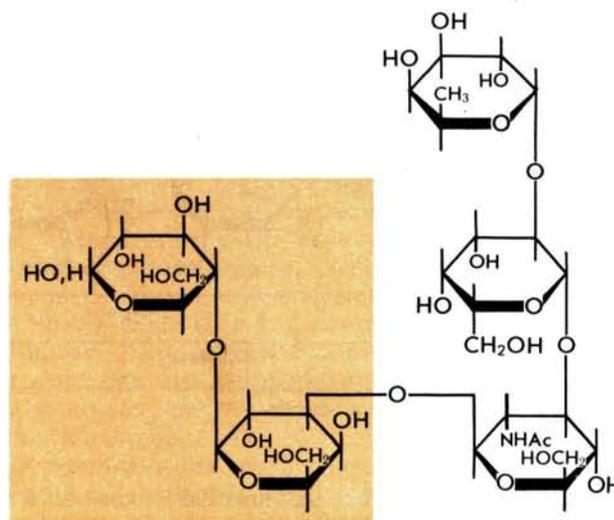
Почти так же широко, как сахароза, в растениях распространены раффиноза и стахиоза



К этой же группе относятся мелецитоза — компонент сладких выделений многих деревьев, в частности лип и тополей, и генцианоза, встречающаяся в корнях растений вида *Gentian*



Второй большой группой природных олигосахаридов являются олигосахариды молока, которые играют важную роль в формировании кишечной флоры новорожденных, необходимой для нормального пищеварения. Они способствуют развитию в пищеварительном тракте микроорганизма *Lactobacillus bifidus*, расщепляющего основной олигосахарид молока — лактозу (см. с. 462) с образованием молочной и уксусной кислот, которые препятствуют размножению патогенных бактерий, в частности тифозной палочки. Структура ряда олигосахаридов женского молока была установлена в 50-е годы работами Р. Куна с соавторами. В их состав входят D-глюкоза, D-галактоза, L-фукоза и N-ацетилглюкозамин, а характеристическим фрагментом является остаток лактозы. Один из наиболее крупных олигосахаридов молока — лакто-N-фукопентаоза



Лакто-N-фукопентаоза

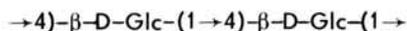
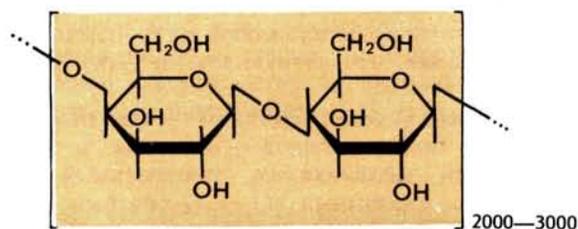
В 1 л женского молока находится около 70 г лактозы и 3 г аминоксодержащих олигосахаридов. В коровьем молоке количество олигосахаридов, содержащих аминоксара, приблизительно в 100 раз меньше.

Наиболее пристальное внимание исследователей в настоящее время привлекают олигосахариды, входящие в состав гликопротеинов.

## Полисахариды

Полисахариды составляют основную массу органического вещества на нашей планете. Достаточно упомянуть тот факт, что из них состоит основная часть растительного мира, где полисахариды выполняют скелетные функции, а также служат резервными углеводами.

Наиболее распространенным полисахаридом является *целлюлоза*, линейный  $\beta$  (1 → 4)-глюкан со степенью полимеризации 2000 — 3000



Обычный ее источник — древесина — содержит около 50% целлюлозы, а хлопок представляет собой почти чистую целлюлозу. Согласно рентгеноструктурным данным, молекулы целлюлозы соединены в пучки, состоящие из параллельных цепей, связанных межмолекулярными водородными связями. Такая конфигурация молекул определяет механические, физические и химические свойства целлюлозы (высокую механическую прочность, нерастворимость в воде, трудность химической модификации).

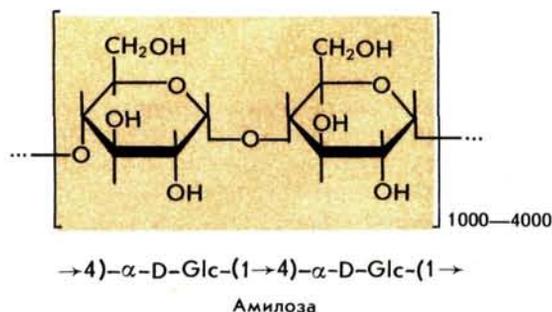
Целлюлозу удается растворить лишь в медноаммиачном растворе или растворе гидроксида натрия. Последний процесс используется для получения целлюлозных нитей и целлофана. Целлюлоза в форме алкоксида обрабатывается сероуглеродом, полученный раствор ксантогената целлюлозы продавливается через фильтры или тонкую щель в раствор кислоты. Целлюлоза и ее производные имеют большое практическое значение: на ее основе производятся пластмассы, взрывчатые вещества, эмульгаторы и т. д.

*Гемицеллюлозы* — смеси полисахаридов клеточной стенки растений, состав которых зависит от вида растения. В зависимости от моносахаридного состава основной цепи гемицеллюлозы делятся на ксиланы, глюкоманнаны и галактаны. Ксиланы, главным источником которых являются древесина лиственных пород и злаки, построены преимущественно из (1 → 4)-связанных остатков  $\beta$ -ксилопиранозы. В основном они содержат остатки L-арабинозы, 4-O-метил-D-глюкуроновой кислоты. Глюкоманнаны, встречающиеся чаще всего в хвойных растениях, имеют главным образом линейную структуру с  $\beta$ (1 → 4)-связями. В некоторых случаях к главной цепи присоединены (1 → 6)-связями остатки D-галактозы.

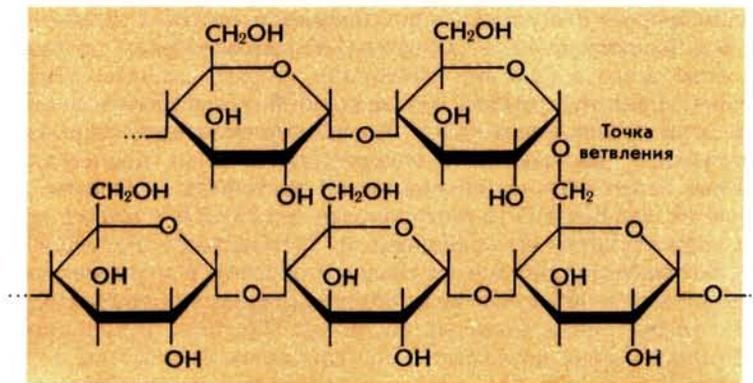
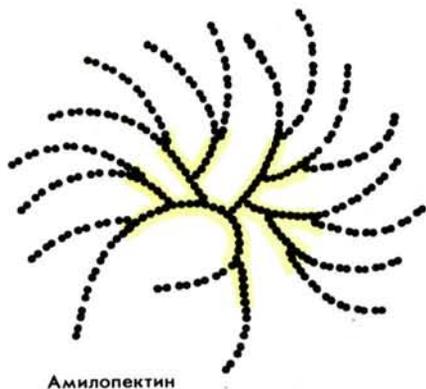
В наземных растениях и водорослях широко представлены *пектиновые вещества* — полиурониды. В растениях основным компонентом их является D-галактуроновая кислота, а в малых количествах присутствуют L-арабиноза и D-галактоза. Растворимые пектиновые вещества находятся главным образом в соках растений, нерастворимые — образуют межклеточные вещества и составляют большую часть стенки молодых растений. Частично этерифицированные полиурониды называются пектиновыми кислотами, а сами полиурониды — пектовыми кислотами. Пектиновые вещества способны образовывать в растворах прочные гели и студни, что обусловлено межмолекулярной ассоциацией. Это находит практическое применение в кондитерской и фармацевтической промышленности.

*Камедями* называются полисахариды, которые при повреждении коры растений выделяются в виде вязких растворов и превращаются в стеклообразную массу. *Слизь* — родственные камедям полисахариды, присутствующие в неповрежденных растениях. Источником слизей служат кора, листья, корни и т. д. Слизь является продуктом метаболизма растений. Камеди образуются в результате патологических процессов — механических или бактериальных повреждений. Оба типа образований представляют гетерополисахариды сложного состава и строения, что затрудняет их структурные исследования.

Главный резервный углевод растений — *крахмал*, представляющий собой смесь полисахаридов — амилозы и амилопектина. *Амилоза* — линейный полисахарид, построенный из остатков  $\alpha$ -D-глюкопиранозы, связанных (1 → 4)-связями. Длина цепей 1000 — 4000 звеньев



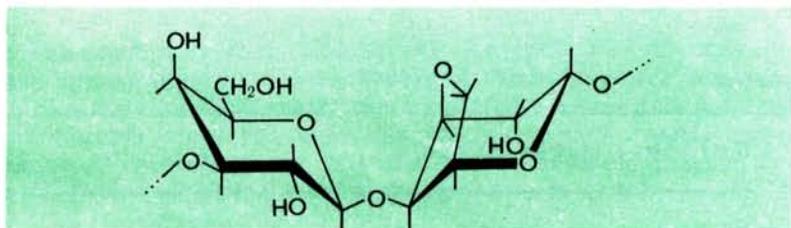
Спиральная конформация молекулы обуславливает возможность комплексообразования с небольшими молекулами, располагающимися вдоль оси спирали. Наиболее известным комплексом такого типа является комплекс с йодом. *Амилопектин* также построен из остатков  $\alpha$ -D-глюкозы, но, в отличие от амилозы, обладает сильно разветвленным строением. Линейные участки состоят из  $\alpha$ (1 → 4)-D-глюкопиранозильных цепей, а в точках ветвления имеются  $\alpha$ (1 → 6)-связи



Крахмал и его производные находят широкое применение в различных областях промышленности.

В ряде высших растений обнаружены фруктаны — полисахариды, состоящие из остатков D-фруктозы, которые выполняют роль пищевого резерва. Один из фруктанов — *инулин* — содержит остатки D-фруктопиранозы, соединенные  $\beta(2 \rightarrow 1)$ -связью.

Богатейший источник полисахаридов — морские водоросли, в которых содержание полисахаридов достигает 80% их сухого веса. Из многих видов красных водорослей в промышленном масштабе получают *агар*, представляющий собой смесь сульфатированных полисахаридов — агарозы и агаропектина. *Агароза* построена из чередующихся остатков D-галактозы и 3,6-ангидро-L-лактозы, связанных попеременно  $\beta(1 \rightarrow 4)$ - и  $\alpha(1 \rightarrow 3)$ -связями



В настоящее время агар и агароза находят широкое применение в биохимических исследованиях. Очищенная от заряженных примесей агароза в водной среде образует гель с большими порами, размер которых определяется ее концентрацией. Следует подчеркнуть, что цепи агарозы в геле связаны не ковалентно, а лишь водородными связями.

Агарозные гели используются для фракционирования белков и нуклеиновых кислот (гель-фильтрация, электрофорез) и их характеристики (иммунодиффузия, иммуноэлектрофорез). В агаровых гелях иммобилизуют бактерии и лимфоидные клетки в молекулярно-биологических и иммунологических исследованиях.

Бурые водоросли содержат смесь линейных полисахаридов — *альгиновых кислот*, в которых мономерными звеньями являются D-маннуроновая и D-гулууроновая кислоты, соединенные  $(1 \rightarrow 4)$ -связями.

Резервным полисахаридом всех животных организмов и некоторых бактерий и дрожжей является *гликоген* —  $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -D-глюкан с  $\alpha$ -D-глюкозильными разветвлениями в положении 6 основной цепи. Будучи родственным амилопектину, гликоген отличается от него большей разветвленностью и более плотной упаковкой молекулы.

В последнее время появились данные, свидетельствующие о том, что по крайней мере в ряде тканей (мышцах кролика, сетчатке глаз быка) полисахаридные цепи гликогена ковалентно соединены с белком, т. е. гликоген является протеогликаном. Например, очищенный гликоген из сетчатки глаза быка содержит 1,5 — 2,0 мг белка на 100 мг глюкозы, причем отделить белковый компонент от полисахаридного не удается даже в сильно диссоциирующих условиях. Исчерпывающий протеолиз приводит к пептидогликану, содержащему лишь одну аминокислоту — тирозин. Следовательно, связь углевод — белок осуществляется через остаток тирозина, причем устойчивость этой связи в щелочной среде свидетельствует о том, что гликан присоединен к гидроксильной группе тирозина, а не к карбоксилу. Ранее такой тип углевод-белковой связи описан не был.

Аналогом целлюлозы как по физико-химическим, так и по биологическим свойствам является *хитин* — основной компонент скелета членистоногих и других беспозвоночных. Линейная полимерная молекула хитина состоит из остатков N-ацетилглюкозамина, соеди-



Агароза

ненных  $\beta(1 \rightarrow 4)$ -связями, и имеет высокоупорядоченную структуру.

Полисахариды (а точнее, протеоглики) соединительной ткани животных имеют общий принцип строения: линейные полимеры содержат чередующиеся остатки аминсахаридов и уроновых кислот. Широко распространена в тканях животных организмов гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, гепарин и др.

Множество полисахаридов различного строения выделено из самых разнообразных классов микроорганизмов. По локализации в клетке их можно разделить на резервные внутриклеточные, внеклеточные и полисахариды клеточной стенки. Из внутриклеточных

Таблица 19.

Строение специфических полисахаридов *Sh. dysenteriae*

Серо-тип	Повторяющееся звено
1	$\rightarrow 2) - \alpha - D - Gal - (1 \rightarrow 3) - \alpha - D - GlcNAc - (1 \rightarrow 3) - \alpha - L - Rha - (1 \rightarrow 3) - \alpha - L - Rha (1 \rightarrow$
2	$\rightarrow 4) - \alpha - D - GalNAc - (1 \rightarrow 4) - \alpha - D - Glc - (1 \rightarrow 4) - \beta - D - Gal - (1 \rightarrow 3) - \alpha - D - GalNAc - (1 \rightarrow$ $\begin{array}{c} 3 \\ \uparrow \\ 1 \\ \alpha - D - 3(4)Ac - GlcNAc \end{array}$
3	$\rightarrow 3) - \beta - D - GalNAc - (1 \rightarrow 3) - \alpha - D - Gal - (1 \rightarrow 6) - \beta - D - Gal - (1 \rightarrow$ $\begin{array}{c} 4 \\ \uparrow \\ 1 \\ \beta - D - GlcLA - (1 \rightarrow 6) - \alpha - D - Glc \end{array}$
4	$\rightarrow 3) - \alpha - D - GlcNAc - (1 \rightarrow 4) - \alpha - D - GlcA - (1 \rightarrow 3) - \alpha - L - Fuc - (1 \rightarrow 3) - \alpha - D - GlcNAc - (1 \rightarrow$ $\begin{array}{c} 4 \\ \uparrow \\ 1 \\ \alpha - L - Ac - Fuc \end{array}$
5	$\rightarrow 4) - \alpha - D - Man - (1 \rightarrow 4) - \alpha - D - Man - (1 \rightarrow 3) - \beta - D - GlcNAc - (1 \rightarrow$ $\begin{array}{c} 3 \\ \uparrow \\ 1 \\ \alpha - D - RhaLA \end{array} \quad \begin{array}{c} 2 \\ \uparrow \\ Ac \end{array}$
6	$\rightarrow 3) - \beta - D - GalNAc - (1 \rightarrow 3) - \alpha - D - Gal - (1 \rightarrow 6) - \alpha - D - Glc - (1 \rightarrow$ $\begin{array}{c} 4 \\ \uparrow \\ X \end{array}$
8	$\rightarrow 3) - \beta - D - GalNAc - (1 \rightarrow 4) - \beta - D - GlcA - (1 \rightarrow 3) - \beta - D - GalNAc - (1 \rightarrow$ $\begin{array}{c} 4 \\ \uparrow \\ 1 \\ \beta - D - Glc(4 \leftarrow 1) - \beta - D - GlcNAc \end{array}$
9	$\rightarrow 3) - \beta - D - Gal - (1 \rightarrow 4) - \beta - D - Man - (1 \rightarrow 4) - \alpha - D - Gal - (1 \rightarrow 3) - \beta - D - GlcNAc - (1 \rightarrow$ $\begin{array}{c} 4/6 \\ \swarrow \searrow \\ CH_2, CCOOH \end{array} \quad \begin{array}{c} 2 \\ \uparrow \\ Ac \end{array}$
10	$\rightarrow 3) - \alpha - D - ManNAc - (1 \rightarrow 3) - \beta - L - Rha - (1 \rightarrow 4) - \alpha - D - GlcNAc - (1 \rightarrow 2) - \beta - D - Man - (1 \rightarrow$

X — неидентифицированный кислый аминсахар

GlcLA — лактозилглюкоза

RhaLA — лактозилрамноза

полисахаридов отметим *декстраны*, продуцируемые некоторыми бактериями родов *Leuconostus* и *Streptococcus*. Они представляют собой глюканы с преобладанием  $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -гликозидных связей и могут быть как линейными, так и разветвленными по положениям 4 или 3 в зависимости от штамма бактерий. Декстраны обладают антигенными свойствами.

Частично деполимеризованные декстраны нашли широкое применение в производстве молекулярных сит — сефадексов. Для получения жесткой структуры цепи декстрана «сшивают» эпихлоргидрином; степень «сшивки» определяет размер пор и соответственно размер фракционируемых молекул. Большое число гидроксильных групп придает гелю ярко выраженный гидрофильный характер, что обуславливает низкий уровень неспецифической сорбции и, как следствие, малые потери биополимеров в процессе разделения. Сефадексы нерастворимы ни в каких растворителях и обладают высокой устойчивостью к действию различных химических агентов: органических растворителей, солевых растворов, слабых кислот и щелочей.

Полисахариды клеточной стенки бактерий, как правило, обладают чрезвычайно сложной структурой, что затрудняет их изучение. Лишь в последнее десятилетие в этой области наметился прогресс. Установлена структура полисахарида клеточной стенки стрептококков, О-специфических полисахаридов бактерий *Shigella dysenteriae* (табл. 19), *Pseudomonas aeruginosa* и т. д.



**Ландштейнер [Landsteiner] Карл** (1868—1943), австрийский иммунолог и патолог, основоположник иммуногенетики. Окончил медицинский факультет Венского университета (1891); работал в лабораториях Вюрцбурга, Мюнхена, Цюриха, Вены, с 1922 г. — профессор Рокфеллеровского института. Открыл группы крови А, В, О(Н) у человека, а также (совместно с А. Винером) резус-фактор крови (1940). Впервые получил искусственные полусинтетические антигены и ввел термин «гаптен». Лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине (1930).

## Гликопротеины

**Иммуноглобулины.** Все 5 классов иммуноглобулинов человека содержат углеводы, причем IgG, IgM и IgE несут только N-гликозидные цепи, а IgA и IgD также и O-гликозидные. N-Гликозид-связанные олигосахариды расположены в Fc-области тяжелых цепей (см. с. 215). В таблице 20 приведены некоторые структуры углеводных цепей разных классов иммуноглобулинов, определенные для миеломных белков в начале 70-х годов С. Корнфельдом с сотрудниками. Как уже упоминалось выше, олигосахаридные цепи IgM и IgG обеспечивают рецепцию комплексов антиген — антитело соответственно макрофагами и клетками печени.

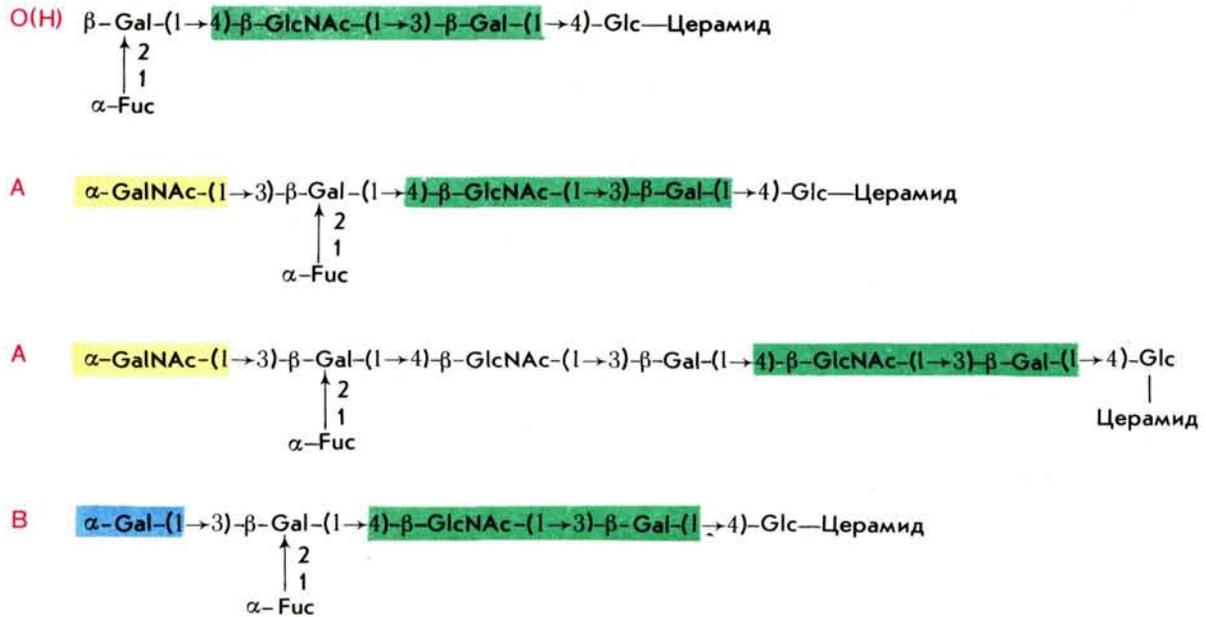
**Групповые вещества крови.** В строгом смысле слова групповыми веществами крови называют серологически различающиеся антигенные детерминанты поверхности эритроцитов человека. Главной системой групповых веществ крови человека является система АВО(Н). Впервые обнаруженные К. Ландштейнером в начале XX века групповые вещества крови привлекли внимание из-за необходимости типирования эритроцитов при переливании крови, что обусловлено наличием в крови человека антител против «чужих» групповых веществ крови. Так, у индивидуумов с группой крови А обнаруживаются антитела против В-детерминант и наоборот, а у людей с группой крови О — и против А-, и против В-детерминант. Работами многих ученых (У. Морган, В. Уоткинс, А. Кобата, С.-И. Хакомори и др.) было показано, что АВО(Н)-антигены имеют углеводную природу и расположены на гликозидных цепях гликоконъюгатов. Ниже приведены структуры антигенных детерминант системы АВО(Н).

Детерминантными сахарами являются  $\alpha$ -L-фукоза для группы крови О(Н),  $\alpha$ -N-ацетилгалактозамин для А и  $\alpha$ -D-галактоза для В.

В мембране эритроцитов антигенные детерминанты групповых веществ крови находятся как на гликолипидах, так и на гликопро-

теинах. В случае гликолипидов детерминантные группировки присоединены к повторяющемуся фрагменту  $\beta$ -D-GlcNAc-(1→3)-D-Gal.

Для гликопротеинов мембран эритроцитов структура цепей, несущих детерминантные группы, еще окончательно не установлена.



Помимо системы АВО (Н), существует еще ряд систем групповых веществ крови — системы Т. Льюиса ( $Le^a$ ,  $Le^b$ ), Ii и т. д., специфичность которых определяется сахарами. Гликопротеины с А-, В- и Н-специфичностью обнаружены и у многих видов животных.

**Муцины** — гликопротеины, секретируемые различными тканями организма и образующие вязкие растворы. Примерами могут служить слюна, секреты кишечника и бронхов. Ими выстланы полости дыхательного и пищеварительного трактов. Муцины выполняют роль смазки, а также защищают ткани от повреждений.

Строение муцинов изучалось многими исследователями, в частности А. Готтшалком, работы которого по структуре углеводных цепей гликопротеинов были выполнены на муцине подчелюстных

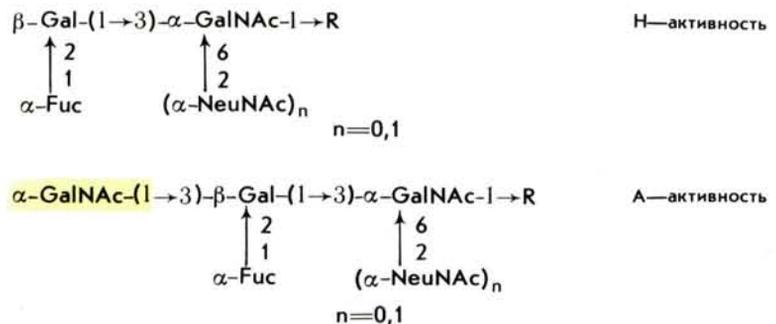


Рис. 259. Олигосахариды муцина подчелюстной железы барана.

желез барана. Для муцинов подчелюстных желез характерно наличие большого числа О-гликозидных цепей, содержащих остатки галактозы, N-ацетилгалактозамина, N-ацетилнейраминовой кислоты и фукозы. Некоторые О-цепи обладают активностью антигенов групп крови (рис. 259).

Таблица 20

Некоторые структуры углеводных цепей миеломных иммуноглобулинов

Иммуноглобулин	N-Гликозидные цепи		O-Гликозидные цепи
	сложного типа	маннозобогатого типа	
IgG		Отсутствуют	Отсутствуют
IgM			Отсутствуют

Иммуноглобулин	N-Гликозидные цепи		O-Гликозидные цепи
	сложного типа	маннозобогатого типа	
IgE			Отсутствуют
IgA		Отсутствуют	$\beta\text{-Gal-(1}\rightarrow\text{3)-GalNAc-O-Ser}$

В муцинах желудка и кишечника встречаются значительно более сложные структуры, причем некоторые также несут детерминанты групп крови системы ABO(H) (рис. 260).

В растворе молекула муцина представляет собой довольно жесткий клубок, состоящий из гибкой, беспорядочно свернутой полипептидной цепи с заключенными внутрь молекулами воды. Такая моле-

кула ведет себя как сферическое тело, что определяет гидродинамические свойства растворов муцинов.

Многие функционально важные белки синтезируются в виде неактивных предшественников, от которых затем отщепляются биологически активные продукты. Зачастую правильное направление фрагментации диктуется олигосахаридными цепями. Например, ряд гормонов гипофиза образуется в результате направленного протеолиза единого предшественника, несущего углеводные цепи, — препроопиомеланокортина (см. с. 271).

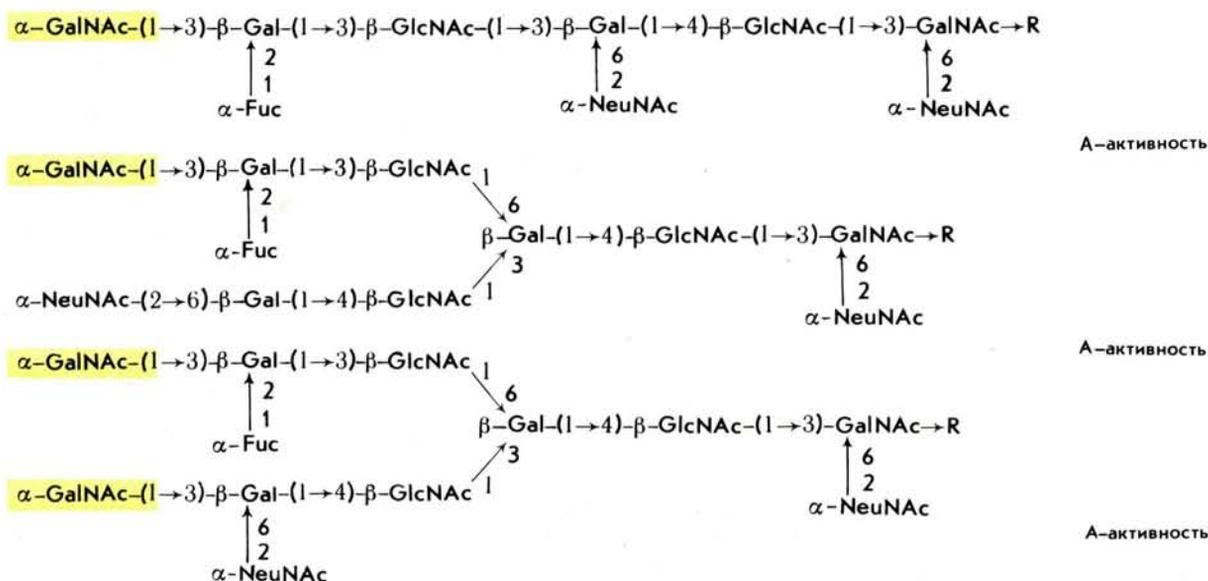
Находящиеся на концах активных фрагментов пары основных аминокислот, очевидно, служат сигнальной последовательностью для трипсиноподобных пептидаз гипофиза, а олигосахаридные цепи контролируют доступность этих участков, влияя на пространственную структуру белка. Если клетки гипофиза инкубировать с туникамицином — антибиотиком, блокирующим биосинтез липидного предшественника N-гликозидсвязанных олигосахаридов и таким образом вызывающим образование белков без N-гликозидных цепей, то образуются лишь незначительные количества названных выше гормонов.

Многочисленные данные свидетельствуют о том, что углеводные цепи участвуют в регуляции *катаболизма гликопротеинов*. Так, десиазированные гликопротеины быстро исчезают из кровотока животных, аккумулируясь в клетках печени. Ответственным за процесс рецепции асиалогликопротеинов является находящийся в плазматической мембране гепатоцитов лектин, специфичный к терминальным остаткам D-галактозы и N-ацетилгалактозамина.

Другим типом клеток животных организмов, участвующих в удалении из кровотока гликопротеинов, являются купферовы клетки (макрофаги печени). В них обнаружен лектин, специфичный по отношению к остаткам D-маннозы и N-ацетилглюкозамина, т. е. к N-гликозидным цепям, обогащенным маннозой.

Таким образом, функция названных лектинов, очевидно, заключается в удалении частично деградированных гликопротеинов и лизосомальных гидролаз (последние несут экспонированные наружу остатки маннозы). В последние годы обнаружено, что

Рис. 260. Олигосахариды муцинов желудка и кишечника.





**Готтшалк [Gottschalk] Альфред** (1894—1973), немецкий химик и биохимик. Образование получил в Бонне (1920), с 1963 г. работал в Институте биохимии Общества М. Планка в Тюбингене. Ему принадлежат широко известные работы по изучению структуры углеводных цепей гликопротеинов.

лектины клеток печени и макрофагов участвуют в утилизации комплексов антиген — антитело.

Углеводные цепи гликопротеинов играют важную роль в процессах межклеточного узнавания.

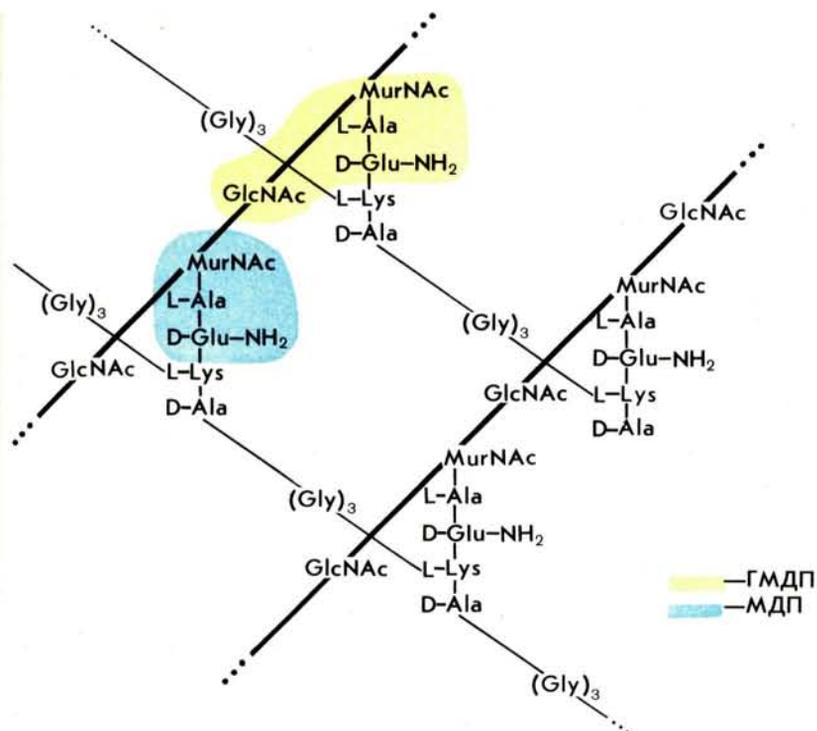
Убедительные данные были получены для слизевика *Dictyostelium discoideum*. Этот миксомицет может существовать в виде одноклеточного или многоклеточного организма, причем переход от первого ко второму сопровождается экспрессией на клеточной поверхности двух лектинов, специфичных к углеводам галакто-ряда, а также лиганда с соответствующим углеводным компонентом. Эти лектины — дискоидины I и II — обладают достаточно высокой углеводной специфичностью, позволяя клеткам *Dictyostelium discoideum* отличать собственные клетки от клеток других видов слизевиков, также несущих галактозо-специфичные лектины. Таким образом, наличие экспонированных остатков углеводов галакто-ряда является необходимым, но не достаточным условием образования межклеточного контакта; достаточным условием служит наличие уникальной сети углеводных детерминант определенной структуры. Названные лектины не являются интегральными мембранными белками, а связаны с гликопротеиновыми рецепторами поверхности клеток.

Углеводные детерминанты используются бактериями для адгезии на животных тканях. Примером могут служить грамотрицательные бактерии, в частности *E. coli*, имеющие на поверхности маннозо-специфичные лектины, а также бактерии *Streptococcus sanguis*, связывающие гликопротеины с  $\alpha$ -NeuNAc-(2→3)- $\beta$ -D-Gal-(1→3)-D-GalNAc-звеном. Бактерии *S. sanguis* ответственны за развитие перидонтита, а приведенный выше структурный фрагмент характерен для муцинов слюны.

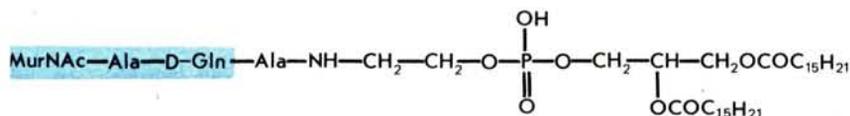
## Углеводсодержащие смешанные биополимеры

Углевод-белковые биополимеры чрезвычайно широко распространены в природе: большинство природных полипептидов несет ковалентно связанные углеводы. Помимо уже рассмотренных гликопротеинов, к таким биополимерам относятся пептидогликаны и протеогликаны.

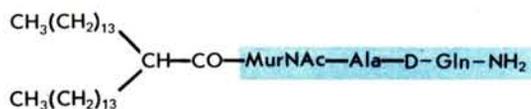
*Пептидогликаны* представляют собой макромолекулы, у которых сравнительно короткие олигопептидные фрагменты присоединены к полисахаридной цепи. Эти фрагменты могут связывать между собой полисахаридные цепи, в результате чего образуется жесткий каркас. Примером служит пептидогликан клеточной стенки бактерий, построенный из остатков N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенных  $\beta$ (1→4)-связями (см. с. 728). Линейный полисахарид связан с полипептидными цепями через лактильные остатки мурамовой кислоты, образуя прочную двумерную решетку. Это — каркас, окружающий бактериальную клетку и обеспечивающий ей защиту от физических воздействий, в том числе шока при попадании в гипотоническую среду. Расщепление протеогликана приводит к смеси гликопептидов, обладающих адьювантной (усиливающей образование антител) и противоопухолевой активностями. Наименьшей структурной единицей, проявляющей такого рода активности, является мурамилдипептид (МДП) — MurNAc-L-Ala-D-GluNH<sub>2</sub>.



Благодаря этим свойствам гликопептиды клеточной стенки бактерий привлекают пристальное внимание исследователей как потенциальные компоненты синтетических вакцин и противоопухолевые средства. Нежелательное свойство гликопептидов клеточной стенки, ограничивающее их применение в медицине, — пирогенность: попадание их в кровотоки вызывает заметное повышение температуры тела. В связи с этим в ряде стран мира, прежде всего во Франции, Японии и СССР, ведутся работы по синтезу апиrogenных гликопептидов, а также аналогов МДП с ярко выраженными иммуномодулирующими свойствами. Французскими учеными Э. Ледерером, Л. Шедидом получен апиrogenный аналог МДП — его бутиловый эфир, мурабутид, который в настоящее время применяется как компонент синтетической вакцины против стрептококковых инфекций. Не менее известны МТП-кефалин (фирма «CIBA — GEIGY», Швейцария) и препарат В-30 (Т. Шива, Япония).



МТП — кефалин



В-30



Ряд гликопептидов синтезирован в СССР (В. Т. Иванов). Среди них ГМДП —  $\beta$ -D-GlcNAc-(1 → 4)-MurNAc-L-Ala-D-GluNH<sub>2</sub> — аналог МДП с более выраженными адьювантными и противоопухолевыми свойствами, промышленный синтез которого налажен в СССР. Молекулярный механизм действия подобных гликопептидов пока не ясен. В 1984 г. Э. Ледерером высказано предположение, что гликопептиды клеточных стенок являются незаменимыми веществами типа витаминов, которые попадают в организм из пищи или кишечной флоры и поддерживают необходимый иммунный статус; в следовых количествах они найдены в мозге и моче здоровых людей.

**Протеогликаны**, в отличие от гликопротеинов, несут на полипептидном коре не олигосахаридные, а полисахаридные цепи. Связь между углеводным и белковым компонентами может быть как O-, так и N-гликозидной, причем наряду с рассмотренными фрагментами GlcNAc-GlcNAO-Asn и GalNAc-Ser/Thr в протеогликанах часто встречается фрагмент Gal-Gal-Xyl-Ser.

Свойства протеогликанов в большой степени определяются углеводным компонентом. Как и полисахариды, они полидисперсны. Молекулярная масса протеогликанов колеблется в широких пределах: так, низкомолекулярная форма гепарина имеет молекулярную массу 10 000 — 15 000, а протеогликан хряща — 4 000 000. Для них характерно образование крупных межмолекулярных агрегатов. Молекула протеогликана содержит от одной (как в низкомолекулярном гепарине) до нескольких десятков полисахаридных цепей, причем к полипептидному кору могут быть присоединены полисахаридные цепи как одного, так и разных типов. Например, молекула протеогликана хряща напоминает ершик для мытья бутылок: полисахаридные цепочки в нем представлены молекулами хондроитин- и кератансульфата (табл. 21).

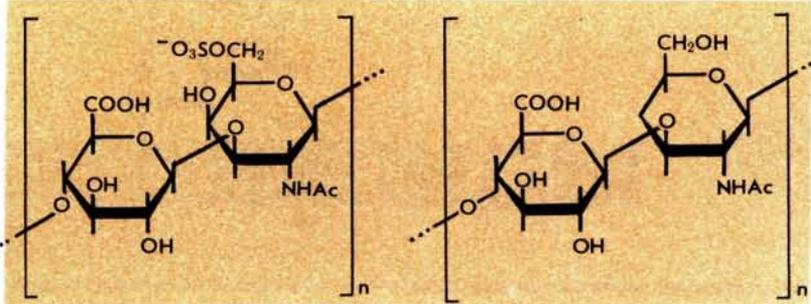
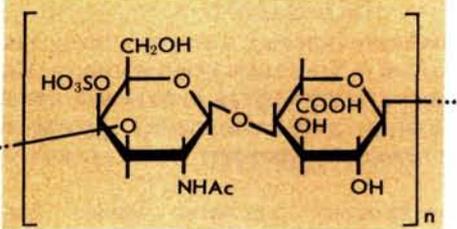
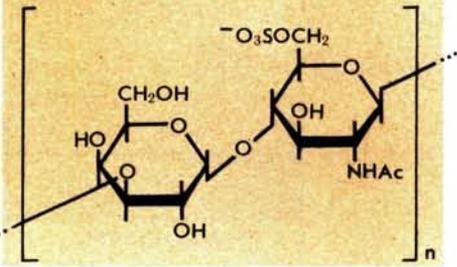
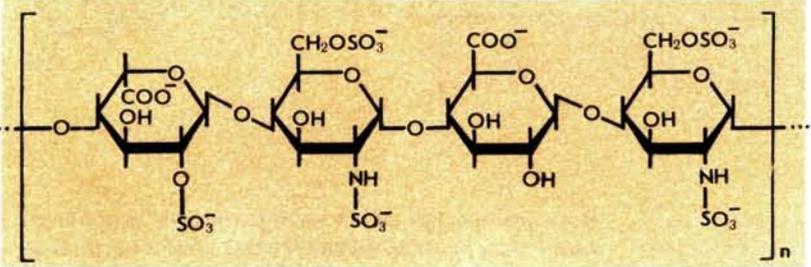
При установлении строения углеводных цепей протеогликанов используются методы, характерные для химии полисахаридов: после выделения индивидуальной полисахаридной цепи устанавливается структура повторяющегося звена и степень полимеризации. Для определения типа связи углевод — белок и структуры фрагмента, участвующего в образовании этой связи, как и при исследовании гликопротеинов, используется щелочной гидролиз в присутствии боргидрида натрия или деградация полипептидной цепи протеиназами.

Наиболее хорошо изучены протеогликаны соединительной ткани: гепарины, хондроитинсульфаты, дерматансульфат, кератансульфат. Эти соединения встречаются прежде всего в межклеточном пространстве соединительной ткани, однако их обнаруживают и внутри клеток. Так, гепарин находится во внутриклеточных гранулах тучных клеток, при получении клеткой определенного сигнала содержимое гранул выбрасывается в межклеточное пространство. Углеводная составляющая протеогликанов соединительной ткани представляет собой гликозаминогликан, построенный из повторяющихся блоков, чаще всего дисахаридных, в состав которых входят остатки уроновых кислот и аминсахаров (табл. 21).

Важная структурная особенность, существенно влияющая на свойства протеогликанов соединительной ткани, — наличие в полисахаридной цепи сульфатных групп, придающих молекуле характер полианиона. Локализуясь на внешней поверхности клеток и образуя таким образом дополнительную оболочку, эти биополимеры заметно влияют на транспорт ионов и белков в клетки.

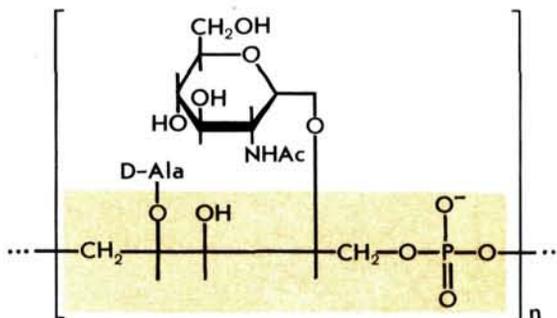
Помимо пептидогликана, основу клеточной стенки грамположительных бактерий составляют *теиховые кислоты*. Они представляют собой биополимеры с молекулярной массой около 2 000 000, построенные из остатков сахаров, D-аланина, многоатомных спиртов и фосфорной кислоты. В клеточной стенке грамотрицательных

Структура полисахаридных фрагментов протеогликанов соединительной ткани

Полисахарид протеогликана	Повторяющийся фрагмент	Число повторяющихся блоков
Хондроитин-сульфаты		10—100
Дерматансульфат		30—80
Кератансульфат		8—40
Гепарин		

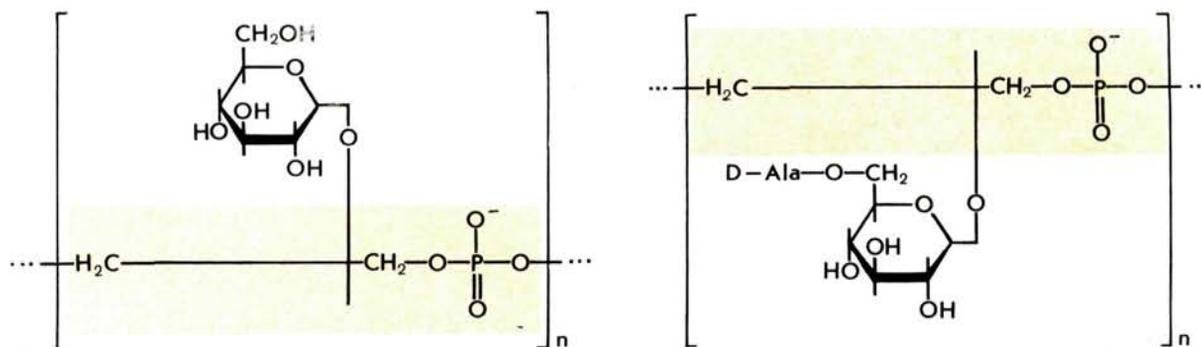
бактерий тейхоевые кислоты ковалентно связаны фосфодиэфирной связью с остатками муравовой кислоты протеогликана. Они являются антигенами, обладающими групповой и видовой специфичностью.

По типу многоатомного спирта различают рибит- и глицеринтейхоевые кислоты. Основа рибиттейхоевой кислоты — полирибит-1,5-дифосфатная цепь



Углеводы в рибиттейхоевых кислотах представлены  $\alpha$ - и  $\beta$ -связанными D-глюкозой и N-ацетилглюкозаминном. Как правило, это моносахариды, однако встречаются тейхоевые кислоты с олигосахаридными (в основном дисахаридными) фрагментами, построенными только из остатков D-глюкозы или L-глюкозы и N-ацетилглюкозамина.

Глицеринтейхоевые кислоты имеют аналогичное строение



В одних из них заместителями при вторичных гидроксильных группах глицерина выступают остатки D-аланина, в других — чередующиеся остатки D-аланина, D-глюкозы или N-ацетилглюкозамина.

Клеточные стенки грамотрицательных бактерий тейхоевых кислот не содержат.