



УДК 577.114.5.088.53 : 579.841.11

СТРОЕНИЕ О-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПОЛИСАХАРИДА
PSEUDOMONAS AERUGINOSA 013, СОДЕРЖАЩЕГО
5,7-ДИАЦЕТАМИДО-3,5,7,9-ТЕТРАДЕЗОКСИ-*D*-
ГЛИЦЕРО-*L*-ГАЛАКТО-НОНУЛОЗОНОВУЮ КИСЛОТУ
И 2-АЦЕТАМИДИНО-2,6-ДИДЕЗОКСИ-*L*-ГАЛАКТОЗУ

Кшрель Ю. А., Виноградов Е. В., Шапков А. С.,
Дмитриев Б. А., Кочетков Н. Ю.

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

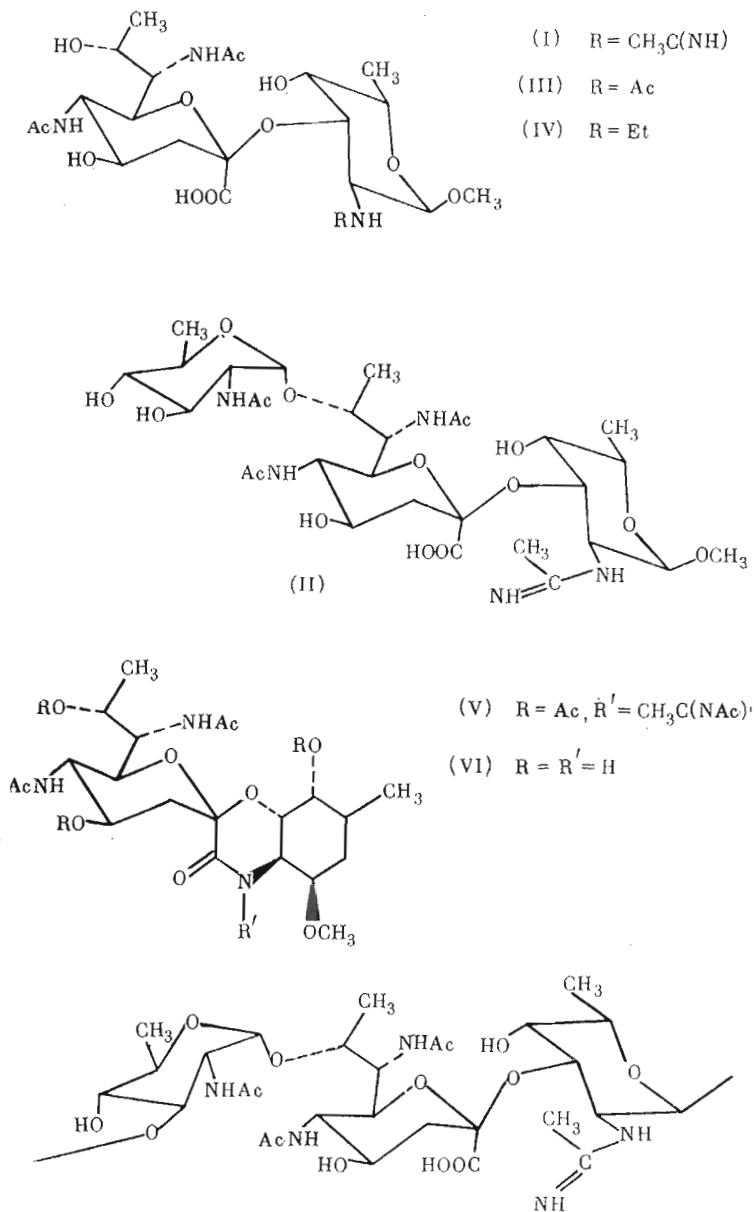
Производные 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксиглицеро-*L*-манно-нонuloзоновой (псевдааминовой) кислоты были идентифицированы нами в бактериальных липополисахаридах [1, 2]. В настоящем сообщении приведены данные по структурному анализу О-специфического полисахарида (ПС) *P. aeruginosa* 013, в составе которого обнаружен *D*-глицеро-*L*-галактоизомер псевдааминовой кислоты.

ПС был получен при расщеплении (1% CH_3COOH , 100° С, 3 ч) липополисахарида, выделенного из бактериальных клеток по методу [3]. По данным ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектров, ПС построен из трисахаридных повторяющихся звеньев, включающих два 6-дезоксигексозамина (δ_{C} 94,2 и 96,6 (2 C1), 52,3 и 54,5 (2 C2), 16,9 и 18,0 (2 C6)), имеющих α -конфигурацию ($J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ 170—172 Гц * [4]), и диаминопроизводное 3,9-дидезоксинонuloзоновой кислоты (δ_{H} 1,27 (3 H, д, $J_{3,9}$ 6 Гц, H9), 1,60 (т, $J_{\text{за.зе}} \approx J_{\text{за.4}} \approx 12$ Гц, H3a), 2,57 (дд, $J_{\text{зе.4}}$ 4 Гц, H3e); δ_{C} 173,3 (C1), 104,6 (с*, C2), 53,8 и 54,5 (два атома C, связанных с атомом N), 42,3 (т*, C3), 15,0 (C9)). В спектрах присутствовали также сигналы трех N-ацетильных групп (δ_{H} 1,91; 1,92; 2,01 (каждый по 3H, с); δ_{C} 23,0; 23,1; 23,15 (3 CH_3), 174,7; 175,0; 175,1 (3 CO)) и имеющей таутомерный характер ацетамидиновой группы (δ_{H} 2,24 (3 H, с); δ_{C} 20,4 (CH_3), 167,5 (N—C=N); ср. δ_{H} 2,32, δ_{C} 18,6 и 168,5 соответственно для гидрохлорида ацетамида [5]). ПС был нейтральным по данным электрофореза на бумаге, что согласовывалось с одновременным присутствием кислой карбоксильной и основной ацетамидиновой функции. При гидролизе ПС (2 М HCl, 100° С, 4 ч) были идентифицированы *D*-хиновозамин и *L*-фукозамин, тогда как альдулозоновая кислота обнаружена не была, вероятно, из-за ее лабильности.

Сольволиз ПС действием HF в метаноле (20° С, 4 ч) привел к метилгликозидам олигосахаридов (I) и (II). По данным ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектров и кислотного гидролиза, олигосахарид (I) построен из фукозамина и альдулозоновой кислоты, несущих две ацетамидные и одну ацетамидиновую группу, а олигосахарид (II) включает все компоненты повторяющегося звена ПС. Состав олигомеров (I) и (II) был подтвержден их молекулярными массами (534 и 721 соответственно, определены методом масс-спектрометрии бомбардировки быстрыми атомами). При распаде по Смитсу трисахарид (II) превращался в дисахарид (I); следовательно, на невостанавливаемом конце трисахарида находится хиновозамин. Сравнение положений сигналов C8 и C9 альдулозоновой кислоты (70,1 и 19,7 м. д.) в ^{13}C -ЯМР-спектре димера (I) и в спектре тримера (II) (73,5 и 15,3 м. д. соответственно) доказывало [6], что этот моносахарид в тримере (II) замещен в положе-

* Звездочкой отмечены данные спектров ^{13}C -ЯМР, снятых без подавления спин-спиновых взаимодействий C—H.

ние 8, а в димере (I) находится на невозстанавливающем конце. Фукозамин в производных (I) и (II) имеет α -конфигурацию (δ_C 98,1, $^1J_{C1}$ на 172 Гц*, C1 [4]) и замещен в положении 3, как это следовало из относительно слабополюного химического сдвига сигнала C3 при 74,9 м. д. [6].



O-Специфический полисахарид *P. aeruginosa* 013

При щелочном гидролизе (0,5 М NaOH, 70° С, 1 ч) ацетамидиновая группа в дисахариде (I) превращалась в ацетамидную группу (δ_H 1,97 (3 H, c); δ_C 23,2 (CH₃), 175,5 (CO)), а при ее восстановительном дезаминировании (LiBH₄, изопропанол — вода (1:1), 70° С, 2,5 ч) образовывалась этиламиногруппа (δ_H 1,24 (3 H, т, $J_{1,2}$ 7,4 Гц, H2), 2,99 и 3,09 (2 дк, $J_{1,1'}$ 12,5 Гц, H1); δ_C 11,8 (C2), 43,1 (τ^* , C1)). Происходящие при этом значительные смещения сигнала C2 фукозамина от 52,5 м. д. в спектре исходного дисахариде (I) до 49,4 и 56,6 м. д. в спектрах образовавшихся олигосахаридов (III) и (IV) соответственно свидетельствовали, что моносахаридом, несущим ацетамидиновую группу, является фукозамин.

Ацетилирование димера (I) (уксусный ангидрид — пиридин (1:1), 20° С, 18 ч) сопровождалось внутримолекулярным ацилированием ацетамидиновой группы альдулозоновой кислотой с образованием трициклического дисахарида (V). При его дезацетилировании (0,1 М MeONa, 20° С, 2 сут) в результате расщепления ацетамидиновой группы был получен дисахарид (VI). Присутствие в димерах (V) и (VI) шестичленного лактамного цикла подтверждалось их молекулярными массами (684 и 475 соответственно, определены методом масс-спектрометрии), а также значительным смещением сигнала С2 альдулозоновой кислоты (до 98 м. д.) в ¹³С-ЯМР-спектре дисахарида (VI) по сравнению с его положением вблизи 104 м. д. в спектрах олигосахаридов (I)—(IV). Таким образом, химические превращения дисахарида (I) хорошо объясняются присутствием в нем ацетамидиновой функции, которая ранее в природных углеводах обнаружена не была.

Спин-спиновое взаимодействие протонов Н5 и Н7 альдулозоновой кислоты с протонами NH в ¹H-ЯМР-спектре димера (V) показывало, что ацетамидные группы находятся в положениях 5 и 7 этого остатка. Большие величины констант спин-спинового взаимодействия ($J_{3a,4}$ 13,4, $J_{4,5}$ 9,4 и $J_{5,6}$ 10 Гц) указывали на аксиальную ориентацию протонов Н4, Н5 и Н6, т. е. на *арабино*-конфигурацию фрагмента С4—С6 высшего сахара. О *трео*-конфигурации фрагмента С6—С7 свидетельствовала небольшая величина константы спин-спинового взаимодействия ($J_{6,7}$ 2,5 Гц, ср. $J_{6,7}$ 1,2 и 10 Гц для ацетилированных производных нейраминовой [7] и псевдааминовой кислот [2], имеющих *трео*- или *эритро*-конфигурацию этого фрагмента соответственно).

Сравнение химического сдвига сигнала С9 альдулозоновой кислоты в ¹³С-ЯМР-спектре дисахарида (I) (19,7 м. д.) и эффектов гликозилирования этого моносахарида по О8 в спектре димера (II) (−4,4 м. д. для С9 и +2,5 м. д. для С1 фукозамина) с данными для модельных соединений (N-ацетильные производные *D*- и *L*-треонина и -аллотреонина, а также их O- α -*D*-галактопиранозильные производные [8]) показало, что фрагмент С7—С9 высшего сахара гомоморфен фрагменту С2—С4 *D*-треонина. Таким образом, этот фрагмент имеет *D*-*трео*-конфигурацию, и новый высший сахар представляет собой 5,7-диацетамидо-3,5,7,9-тетрадезоксид-*D*-глицеро-*L*-галакто-нонупулозоновую кислоту.

Разница химических сдвигов протонов Н3е и Н3а в ¹H-ЯМР-спектре дисахарида (I) (0,98 м. д.) характерна для аксиальной ориентации карбоксильной группы альдулозоновых кислот [7]. Следовательно, новый моносахарид имеет β -конфигурацию.

Сравнение положения сигнала С3 хиновозамина при 72,6 и 76,8 м. д. в ¹³С-ЯМР-спектрах трисахарида (II) и ПС соответственно показало, что этот остаток замещен в ПС в положении 3 [6]. Таким образом, ПС является линейным и его повторяющееся звено имеет структуру, приведенную на схеме.

Авторы благодарят Ю. Н. Елькина за съемку масс-спектров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., L'vov V. L., Kocharova N. A., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K. Carbohydr. Res., 1984, v. 133, № 2, p. C5—C8.
2. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Kochetkov N. K., L'vov V. L., Dmitriev B. A. Carbohydr. Res., 1985, v. 141, № 2, p. C1—C3.
3. Вестфаль О., Янь К. В кн.: Методы химии углеводов. М.: Мир, 1967, с. 325—332.
4. Bock K., Pedersen C. J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 1974, p. 293—297.
5. Häfelinger G. In: The chemistry of amidines and imidates/Ed. Patai S. L.: Wiley, 1975, p. 1—84.
6. Шашков А. С., Чижов О. С. Биоорганическая химия, 1976, т. 2, № 4, с. 437—497.
7. Vliegthart J. F. G., Dorland L., van Halbeek H., Havercamp J. In: Sialic acids/Ed. Shauer R. Wien: Springer-Verlag, 1982, p. 127—172.
8. Pavia A. A., Lacombe J. M. J. Org. Chem., 1983, v. 48, № 15, p. 2564—2568.

Поступило в редакцию
30.XII.1985

STRUCTURE OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* 013 O-SPECIFIC
POLYSACCHARIDE CONTAINING 5,7-DIACETAMIDO-3, 5, 7,
9-TETRADEOXY-D-GLYCERO-L-GALACTO-NONULOSONIC ACID AND
2-ACETAMIDINO-2, 6-DIDEOXY-L-GALACTOSE

KNIREL Yu. A., VINOGRADOV E. V., SHASHKOV A. S.,
DMITRIEV B. A., KOCHETKOV N. K.

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

O-Specific polysaccharide chain of *P. aeruginosa* 013 (Lányi) lipopolysaccharide is composed of N-acetyl-D-quinovosamine (QuiNAc), acetamidino derivative of L-fucosamine (FucNAc), and 5,7-diacetamido-3,5,7,9-tetra-deoxy-D-glycero-L-galacto-nonulosonic acid (Sug). On solvolysis with HF in methanol, the polysaccharide afforded methylglycosides of a disaccharide and a trisaccharide both containing fucosamine and ulosonic acid derivatives. Chemical transformations (alkaline hydrolysis, reductive deamination, acetylation accompanied by intramolecular acylation of acetamidino group by ulosonic acid), ^1H and ^{13}C NMR analysis and mass spectral data proved the following structure of the trisaccharide unit of the polysaccharide:

