



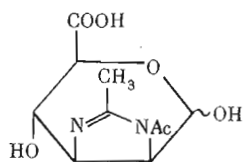
УДК 577.114.5.088 : 579.841.11

СТРОЕНИЕ О-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПОЛИСАХАРИДА  
*PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ИММУНОТИП 3;  
ПЕРЕСМОТР СТРУКТУРЫ АЦЕТАМИДИНОВОГО ПРОИЗВОДНОГО  
2,3-ДИАМИНО-2,3-ДИДЕЗОКСИ-*D*-МАННУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

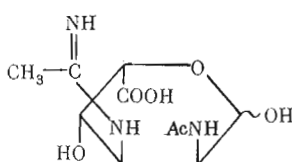
Бнирель Ю. А., Парамонов Н. А., Виноградов Е. В.,  
Шашков А. С., Дмитриев В. А., Кочетков Н. К.

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

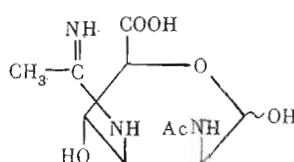
В ходе изучения строения О-антигенов бактерий *Pseudomonas aeruginosa* мы получили кислый О-специфический полисахарид при расщеплении 1%  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$  ( $100^\circ\text{C}$ , 3 ч) липополисахарида иммунотипа 3, выделенного из сухих клеток по методу [1]. По данным  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра, он был идентичен исследованному нами ранее полисахариду *P. aeruginosa* ОЗ(а), 3с, содержащему, по данным [2], в составе трисахаридного повторяющегося звена N-ацетил-*D*-фукозамин, 2,3-диацетиамидо-2,3-дидезокси-*L*-гулуруоновую кислоту и циклическое ацетиамидиновое производное 2,3-диамино-2,3-дидезокси-*D*-маннуруоновой кислоты (I). Структура (I) для этого необычного моносахарида была предложена [2, 3] на базе данных  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров, основных свойств входящей в его состав азотсодержащей функции и ее гидролитического превращения в ацетиамидную группу. Позднее [4] в составе полисахарида *P. aeruginosa*, иммунотип 7, было идентифицировано ациклическое 3-ацетиамидиновое производное 2,3-диамино-2,3-дидезокси-*L*-гулуруоновой кислоты (II). В связи с этим нами было предпринято повторное исследование полисахарида иммунотипа 3 с целью подтвердить структуру моносахарида (I) или пересмотреть ее в пользу ациклической структуры (III).



(I)

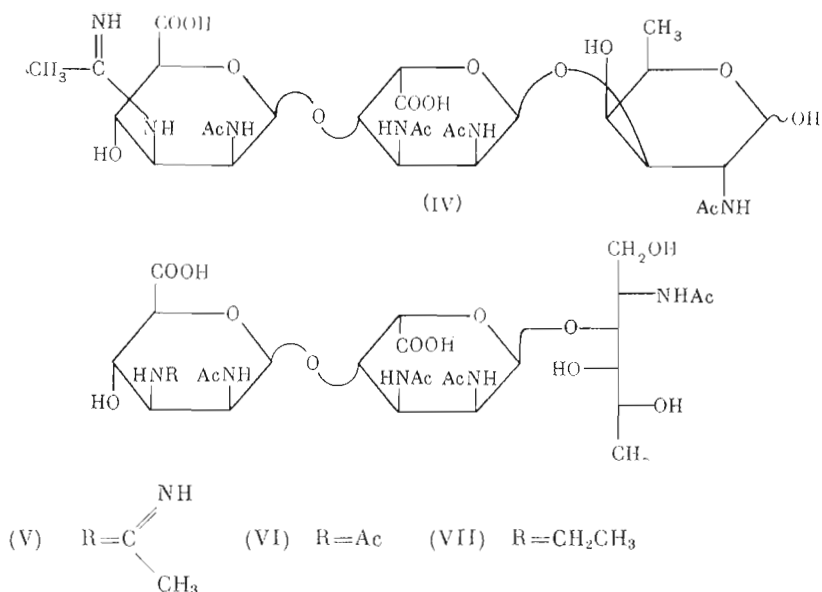


(II)



(III)

Полисахарид был подвергнут сольволизу безводным HF ( $20^\circ\text{C}$ , 4 ч), и в результате избирательного расщепления гликозидных связей фукозамина был получен в качестве единственного продукта трисахарид (IV). По данным  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра, на его восстанавливающем конце находился остаток фукозамина ( $\delta_{\text{C}}$  92,3, C1 $\alpha$ , 96,2, C1 $\beta$ ), который при восстановлении  $\text{NaBH}_4$  в воде ( $20^\circ\text{C}$ , 20 ч) превращался в фукозаминитол ( $\delta_{\text{C}}$  62,0, C1, 20,4, C6), давая олигосахарид (V). Ацетиамидиновая группа ( $\delta_{\text{C}}$  19,9,  $\text{CH}_3$ , 167,3,  $\text{N}=\text{C}-\text{N}$ ) ни при сольволизе HF, ни при восстановлении не затрагивалась.



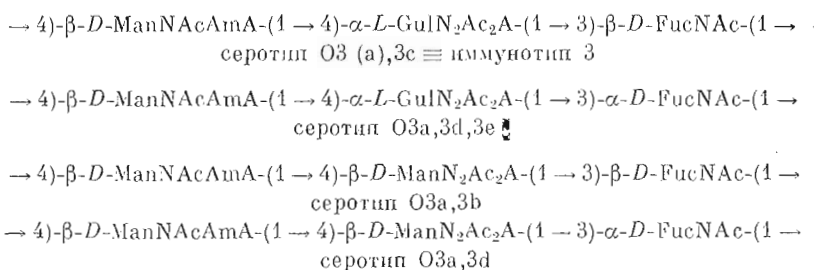
В масс-спектрах олигосахаридов (IV) и (V), полученных при бомбардировке быстрыми атомами аргона, присутствовало по одному интенсивному пику с  $m/z$  721 и 723 соответственно, принадлежащему иону  $[M + H]^+$ , что позволяло определить молекулярные массы олигомеров (IV) и (V) как 720 и 722 соответственно. Эти данные не соответствовали предложенной ранее [2] циклической структуре ацетамидинового производного (I), но хорошо согласовывались с его ациклической структурой (III). В пользу приведенных на схеме структур (IV) и (V) свидетельствовала также практически полная идентичность их масс-спектров со спектрами их аналогов, полученных из полисахарида иммунотипа 7 и содержащих изомерное соединению (III) ациклическое ацетамидиновое производное (II) [4].

Ацетамидиновое производное (III) вступало также в химические реакции, характерные для *гуло*-изомера (II) [4]. Так, при обработке олигосахарид (V) 5% водным  $Et_3N$  ( $60^\circ C$ , 4 ч) произошло превращение звена (III) в соответствующее диацетамидное производное и образовался олигосахарид (VI), в котором все аминогруппы аминосахаров ацетилированы ( $\delta_C$  23,1—23,5, 5  $CH_3$ ). Восстановительное дезаминирование ацетамидиновой функции в этиламиногруппу ( $\delta_C$  11,6,  $CH_3$ , 42,5,  $CH_2$ ) протекало при действии на олигомер (V)  $LiBH_4$  в 60% изопропанол при  $70^\circ C$  и приводило к олигосахариду (VII). Эта же реакция производного (II) осуществлялась в значительно более мягких условиях ( $NaBH_4$  в воде,  $20^\circ C$ , 20 ч [4]), тогда как для восстановительного дезаминирования 2-ацетамино-2,6-дидезокси-*L*-галактозы из полисахарида *P. aeruginosa* O13 требовались те же условия [5], что и для восстановления (III).

Локализация ацетамидиновой группы в положении 3 остатка (III) следовала из значительного смещения сигнала  $C3$  этого моносахарида к 54,6 и 61,4 м.д. в  $^{13}C$ -ЯМР-спектрах олигосахаридов (VI) и (VII) соответственно по сравнению с его положением при 57,5—57,7 м.д. в спектрах соединений (IV) и (V) (отношение этого сигнала в спектрах (IV) и (V) к  $C3$  остатка (III) было сделано на основании его смещения к 55,9 м.д. в спектре полисахарида, вызванного гликозилированием этого моносахарида в положение 4).

Так как конфигурация ацетамидинового производного была установлена ранее [2] при анализе полисахарида *P. aeruginosa* O3(a),3с, полученные данные показывают, что полисахарид иммунотипа 3 содержит 3-ацетамино-2-ацетидамо-2,3-дидезокси-*D*-маннуроновую кислоту. Таким образом, повторяющиеся звенья этого полисахарида и идентичного ему полисахарида серотипа O3(a),3с, а также пересмотренные в соответствии с новыми данными повторяющиеся звенья остальных полисахаридов

*P. aeruginosa* серогруппы O3 [2, 3] имеют следующие структуры:



где ManNAcAmA — остаток (III), GulN<sub>2</sub>Ac<sub>2</sub>A и ManN<sub>2</sub>Ac<sub>2</sub>A — остатки соответствующих 2,3-диацетамидо-2,3-дидезоксиуруновых кислот.

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

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Вестфаль О., Янн К. В кн.: Методы химии углеводов/Ред. Кочетков Н. К. М.: Мир, 1965, с. 325—332.
2. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. Eur. J. Biochem., 1983, v. 134, № 2, p. 289—297.
3. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. Eur. J. Biochem., 1982, v. 128, № 1, p. 81—90.
4. Книрель Ю. А., Парамонов Н. А., Виноградов Е. В., Шапков А. С., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1986, т. 12, № 7, с. 848—850.
5. Книрель Ю. А., Виноградов Е. В., Шапков А. С., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1986, т. 12, № 6, с. 992—994.

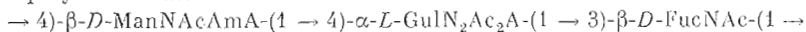
Поступило в редакцию  
13.II.1986

#### STRUCTURE OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* IMMUNOTYPE 3 O-SPECIFIC POLYSACCHARIDE; REVISION OF THE STRUCTURE OF ACETAMIDINO DERIVATIVE OF 2,3-DIAMINO-2,3-DIDEOXY-D-MANNURONIC ACID

KNIREL Y. A., PARAMONOV N. 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 side chain of *P. aeruginosa* immunotype 3 lipopolysaccharide is composed of N-acetyl-D-fucosamine (FucNAc), 2,3-diacetamido-2,3-dideoxy-L-guluronic acid (GulN<sub>2</sub>Ac<sub>2</sub>A) and 3-acetamido-2-acetamido-2,3-dideoxy-D-mannuronic acid (ManNAcAmA). The latter sugar is identified on the basis of solvolysis with anhydrous hydrogen fluoride, <sup>13</sup>C NMR spectroscopy and fast-atom bombardment mass spectrometry analysis, as well as of reactions of acetamido function (alkaline hydrolysis to acetamido group and reductive deamination to ethylamino group). Earlier, in the course of investigation of *P. aeruginosa* O3 lipopolysaccharides, the structure of 1-methyl-2-imidazoline was erroneously ascribed to the acetamido group. The following structure was established for the repeating unit of immunotype 3 polysaccharide which is identical to *P. aeruginosa* O3(a),3c polysaccharide:



Технический редактор *Е. С. Кузьмишкина*

Сдано в набор 18.04.86 Подписано к печати 09.06.86 Т-14862 Формат бумаги 70×108<sup>1/16</sup>  
Высокая печать Усл. печ. л. 12,6 Усл. кр.-отг. 11,6 тыс. Уч.-изд. л. 14,4 Бум. л. 4,5  
Тираж 905 экз. Зак. 2489

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Наука»,  
103717 ГСП, Москва, К-62, Подсосенский пер., 21  
2-я типография издательства «Наука». 121099, Москва, Г-99, Шубинский пер., 6