



УДК 577.114.5.088.53:579.841.11

## АНТИГЕННЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ БАКТЕРИЙ

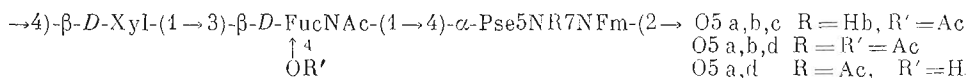
### 18\*. СТРУКТУРА О-СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДНЫХ ЦЕПЕЙ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* O5 (ЛАНИ)

*Книрель Ю. А., Кочарова Н. А., Шапков А. С.,  
Дмитриев В. А., Кочетков Н. Б., Станиславский Е. С.\*,  
Машилова Г. М.\**

*Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Академии наук СССР, Москва;  
\* Институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова Минздрава СССР, Москва*

Полисахаридные цепи липополисахаридов *P. aeruginosa* O5a,b,c, O5a,b,d и O5a,d (классификация Лани) построены из *D*-ксилозы, *N*-ацетил-*D*-фукозаминна (FucNAc) и производного 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксип-*L*-глицеро-*L*-манно-нонулозоновой (псевдаминовой) кислоты (Pse5N7N), несущего в качестве *N*-ацильных заместителей ацетильную или (*R*)-3-гидроксипутирильную (Hb) и формильную (Fm) группы. Липополисахариды серотипов O5a,b,c и O5a,b,d содержали также О-ацетильную группу.

При расщеплении липополисахаридов 1% уксусной кислотой полисахаридные цепи деполимеризовались в результате разрыва гликозидной связи псевдаминовой кислоты и образовались трисахариды, представляющие собой их химические повторяющиеся звенья. На основании анализа этих трисахаридов методами <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии установлены следующие структуры О-специфических полисахаридов:



Полисахарид серотипа O5a,d идентичен по структуре ранее изученному полисахариду *P. aeruginosa*, иммунотип 6.

В ходе систематического химического и иммунохимического исследования О-антигенов бактерий нами ранее было найдено, что кислотность полисахаридных цепей липополисахаридов (ЛПС) *Pseudomonas aeruginosa* O10 [2], иммунотип 6 [3] и *Shigella boydii*, тип 7 [2], обусловлена производными не встречавшейся ранее в природе 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксип-*L*-глицеро-*L*-манно-нонулозоновой кислотой, которая была названа нами псевдаминовой кислотой [2]. В настоящем сообщении приведены данные по структурному анализу О-специфических полисахаридных цепей ЛПС *P. aeruginosa* O5, также содержащих ди-*N*-ацильные производные псевдаминовой кислоты.

ЛПС *P. aeruginosa* O5a, b, c, O5a, b, d и O5a, d (классификация Лани [4]) были выделены из сухих бактериальных клеток по методу [5]. Они были активны в реакции пассивной гемагглютинации с гомологичными О-антисыворотками в разведении 1 : 800—1 : 1600, а также давали перекрестные реакции между собой, хотя и при несколько меньшем разведении (1 : 100—1 : 200). ЛПС обладали высокой ингибирующей активностью в гомологичных тест-системах ЛПС/анти-О-сыворотка (табл. 1) и, кроме того, были активны в гетерологичных тест-системах ЛПС O5a, b, d/анти-O5a, b, d-сыворотка и ЛПС O5a, d/анти-O5a, d-сыворотка приблизительно в таких же минимальных дозах, что и в гомологичной тест-системе. В тест-системе ЛПС O5a, b, c/анти-O5a, b, c-сыворотка ЛПС O5a, b, d и O5a, d практически не тормозили реакцию пассивной гемагглютинации, что указывало на некоторую серологическую обособленность O5a, b, c-антигена.

\* Сообщение 17 см. [1].

Сокращения: Pse5N7N — 5,7-диамино-3,5,7,9-тетрадезоксип-*L*-глицеро-*L*-манно-нонулозоновая (псевдаминовая) кислота, Hb — (*R*)-3-гидроксипутирил, Fm — формил.

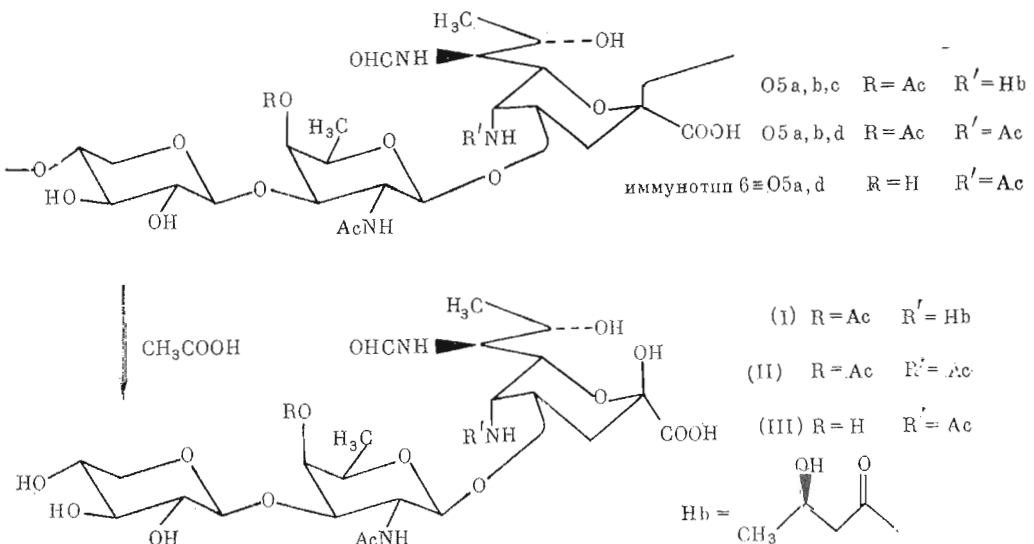
## Ингибирование пассивной гемагглютинации ЛПС

Ингибирующий ЛПС	Минимальная ингибирующая доза (мкг) в тест-системе ЛПС/анти-О-сыворотка *		
	ЛПС О5а,b,c/ /анти-О5а,b,c	ЛПС О5а,b,d/ /анти-О5а,b,d	ЛПС О5а,d/ /анти-О5а,d
О5а,b,c	<u>5</u>	5	0,31
О5а,b,d	~1000	<u>2,5</u>	0,16
О5а,d	>1000	10	<u>0,16</u>

\* Подчеркнуты дозы в гомологичных тест-системах.

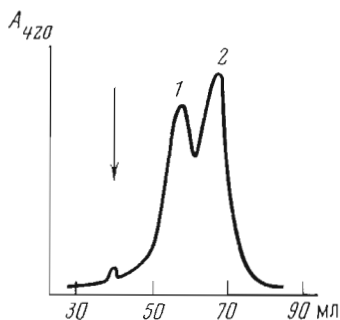
В  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектрах ЛПС были хорошо различимы сигналы моносахаридов, входящих в повторяющиеся звенья полисахаридных цепей, тогда как сигналы компонентов олигосахарида кора и липида А практически не проявлялись. В спектре ЛПС О5а, d присутствовали сигналы двух метильных групп дезоксисахаров при 16,3 и 17,8 м.д., метиловой группы дезоксисахара при 35,4 м.д., двух N-ацетильных групп ( $\delta$  23,1 и 23,6,  $2\text{CH}_3$ ; 174,7 и 175,3,  $2\text{CO}$ ), одной формильной группы при 164,7 м.д. (синглет в спектре, снятом без подавления C—H-взаимодействий), карбоксильной группы при 176,0 м.д., трех углеродных атомов, связанных с азотом (при 46,5, 52,0 и 53,5 м.д.), 10 углеродных атомов, связанных с кислородом, в области 63,9–81,2 м.д., а также трех аномерных атомов углерода при 99,4, 99,8 и 105,5 м.д. Этот спектр был идентичен спектру ЛПС *P. aeruginosa*, иммунотип 6, структура полисахаридной цепи которого, приведенная на схеме, была установлена нами ранее [3]. Таким образом, О-специфический полисахарид О5а, d, как и полисахарид иммунотипа 6, имеет повторяющееся звено, включающее D-ксилозу, N-ацетил-D-фукозамин и 5-N-ацетил-7-N-формилсевдаминовую кислоту.

$^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектры ЛПС О5а, b, c и О5а, b, d в области сигналов моносахаридов практически совпадали со спектром ЛПС О5а, d, что указывало на наличие у них общего углеводного скелета. Различие между ними заключалось в присутствии в спектрах ЛПС О5а, b, c и О5а, b, d сигналов О-ацетильной группы ( $\delta$  24,1,  $\text{CH}_3$ , 174,4,  $\text{CO}$ ), и, кроме того, спектр ЛПС О5а, b, c вместо сигналов одной из N-ацетильных групп содержал сигналы 3-гидроксипутирильной группы ( $\delta$  23,0,  $\text{CH}_3$ , 45,5,  $\text{CH}_2$ , 65,8,  $\text{CHOH}$ , 174,6,  $\text{CO}$ ; ср. с данными для этой группы в ЛПС *P. aeruginosa* О10 [6]).



Для дальнейшего анализа изучаемые ЛПС были расщеплены 1% уксусной кислотой, что привело не только к отделению липидной части, но и к деполимеризации полисахаридных цепей, как это следовало из отсутствия в каждом случае пика, соответствующего O-специфическому полисахариду, на выходной кривой гель-фильтрации углеводной части на сефадексе G-50 (рисунок). Фракция 1 элюировалась в той же области, в которой обычно элюируется олигосахарид кора [7] и его крупные фрагменты, и не содержала компонентов повторяющихся звеньев полисахаридов. Из фракции 2 для ЛПС O5a, b, c, O5a, b, d, O, 5a, d гель-фильтрацией на сефадексе G-15 были выделены соответственно олигосахариды (I)–(III) (схема).

$^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектры олигосахаридов (I)–(III) содержали сигналы тех же моносахаридов и ацильных заместителей, что и спектры соответствующих



Гель-хроматография на сефадексе G-50 деградированного липополисахарида O5a, b, c (контроль по реакции с орцином и серной кислотой). Пик 1 соответствует олигосахариду кора, пик 2 — трисахариду (I). Стрелкой показан свободный объем колонки

ЛПС, и свидетельствовали о тримерном размере. Положение сигналов C1 обоих альдопиранозидов в спектрах олигосахаридов (I)–(III) и соответствующих ЛПС практически совпадало, тогда как сигнал C2 псевдаминной кислоты сместился от 99,6–99,8 м.д. в спектрах ЛПС к 96,3–97,1 м.д. в спектрах трисахаридов. Следовательно, псевдаминная кислота находится на восстанавливающем конце олигосахаридов (I)–(III), и деполимеризация полисахаридных цепей при мягкой кислотной деградации ЛПС происходит в результате разрыва кислотолabileйной гликозидной связи этого моносахарида. В  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектрах олигосахаридов (I)–(III) присутствовала только одна серия сигналов для каждого моносахаридного остатка. Таким образом, псевдаминная кислота в этих олигосахаридов находится в одной из возможных аномерных форм. Химический сдвиг сигнала C6 псевдаминной кислоты в спектрах олигосахаридов (I)–(III) (71,2 м.д.) лишь незначительно отличается от химического сдвига этого сигнала в спектрах соответствующих ЛПС (71,5–71,8 м.д.). Следовательно, так как положение сигнала C6 альдулозоновых кислот очень чувствительно к их аномерной конфигурации [8], расщепление гликозидной связи псевдаминной кислоты не сопровождается ее аномеризацией.

Таким образом, трисахариды (I)–(III) представляют собой химические повторяющиеся звенья полисахаридных цепей соответствующих ЛПС, и, как следует из структуры O-специфического полисахарида O5a, d, идентичной структуре ЛПС иммунотина 6 [3], трисахарид (III) имеет строение, приведенное на схеме.

$^1\text{H}$ -ЯМР-спектры олигосахаридов (I)–(III) были полностью расщифрованы с использованием селективного гомоядерного двойного резонанса (табл. 2), и затем с помощью селективного гетероядерного  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  двойного резонанса были отнесены все сигналы в их  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектрах (табл. 3). Сигнал H4 фукозамина был значительно смещен в слабое поле (к 5,25 и 5,21 м.д. соответственно) в  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектрах трисахаридов (I) и (II) по сравнению с его положением (3,84 м.д.) в спектре трисахаридов (III). Такое смещение может быть вызвано только сильным дезэкранирующим эффектом ацетоксигруппы, находящейся при том же углеродном атоме. Таким образом, в ЛПС O5a, b, c и O5a, b, d O-ацетильная группа локализована в положении 4 фукозамина. Сделанный вывод подтверждался более сильнопольным положением сигналов C3 и C5 этого моносахарида при 78,9 и 70,5 м.д. и более слабопольным положением сигнала C4 при 73,6–73,7 м.д. в  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектрах олигомеров (I) и (II) по сравнению с положением этих сигналов (81,2, 71,4 и 71,2 м.д. соответственно) в спектре трисахаридов (III). Эти различия по величине и направлениям соответ-

Некоторые параметры <sup>1</sup>H-ЯМР-спектров трисахаридов (I)–(III)

Трисахарид	Остаток	Протон	δ, м. д. *	Наблюдаемая мультиплетность	КССВ, Гц	
(I)	Xyl FucN	H1	4,37	д **	$J_{1,2}$ 7,5	
		H1	~4,7	д	$J_{1,2}$ ~8	
		H4	5,25	д	$J_{3,4}$ 2,1; $J_{4,5} < 1$	
		H6	1,15 (3H)	д	$J_{5,6}$ 6,4	
	Pse5N7N	H3a	1,88	дд	$J_{3a,4}$ 11	
		H3e	2,06	дд	$J_{3e,4}$ 5,5; $J_{3a,3e}$ 12,5	
		H9	1,07 (3H)	д	$J_{8,9}$ 6,4	
		Hb	2,38 (2H)	д	$J_{2,3}$ 6	
			H4	1,20 (3H)	д	$J_{3,4}$ 6
(II)	Xyl FucN	H1	4,37	д	$J_{1,2}$ 7,5	
		H1	~4,7	д	$J_{1,2}$ ~8	
		H4	5,21	д	$J_{3,4}$ 2,5; $J_{4,5} < 1$	
		H6	1,11 (3H)	д	$J_{5,6}$ 6,4	
	Pse5N7N	H3a	1,89	дд	$J_{3a,4}$ 11	
		H3e	2,09	дд	$J_{3e,4}$ 5,5; $J_{3a,3e}$ 12,5	
		H9	1,07 (3H)	д	$J_{8,9}$ 6,4	
			H4	1,20 (3H)	д	$J_{3,4}$ 6
(III)	Xyl FucN	H1	4,39	д	$J_{1,2}$ 7,5	
		H1	4,60	д	$J_{1,2}$ 7,8	
		H4	3,84	д	$J_{3,4}$ 2,6; $J_{4,5} < 1$	
		H6	1,22 (3H)	д	$J_{5,6}$ 6,4	
	Pse5N7N	H3a	1,88	дд	$J_{3a,4}$ 11,6	
		H3e	2,01	дд	$J_{3e,4}$ 5,0; $J_{3a,3e}$ 12,5	
		H9	1,07 (3H)	д	$J_{8,9}$ 6,4	
			H4	1,20 (3H)	д	$J_{3,4}$ 6

\* Химические сдвиги  $\text{CH}_2\text{COO}$  2,17 м. д.,  $\text{CH}_2\text{CON}$  1,94–2,00 м. д.,  $\text{HCO}$  8,03–8,10 м. д.

\*\* д — дублет.

Таблица 3

Химические сдвиги в <sup>13</sup>C-ЯМР-спектрах, м. д. \*

Соединение	Остаток	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
ЛПС О5a,b,c	Xyl	105,0	73,8	74,7	72,2	63,7				
	FucN	100,2	52,5	78,4	73,8	70,5	16,3			
	PseN <sub>2</sub>		99,6	35,6	73,4	46,6	71,8	53,5	68,3	17,7
	Hb		45,5	65,9	23,1					
ЛПС О5a,b,d	Xyl	105,1	73,8	74,7	72,2	63,8				
	FucN	99,4	52,5	78,5	73,9	70,5	16,3			
	PseN <sub>2</sub>		99,7	35,3	72,2	65,4	71,8	53,5	68,2	17,5
	Xyl	105,5	74,0	74,9	71,9	63,9				
ЛПС О5a,d	FucN	99,4	52,0	81,2	71,7	71,7	16,3			
	PseN <sub>2</sub>		99,8	35,4	72,4	46,5	71,5	53,5	68,5	17,8
	Xyl	105,4	73,6	76,5	70,1	65,9				
	FucN	100,6	52,3	78,9	73,6	70,5	16,3			
(I)	PseN <sub>2</sub>		96,3	34,8	73,2	46,7	71,2	52,3	67,5	16,3
	Hb		45,5	65,9	23,1					
	Xyl	105,4	73,7	76,5	70,1	65,9				
	FucN	99,5	52,4	78,9	73,7	70,5	16,3			
(II)	PseN <sub>2</sub>		97,1	34,8	72,3	46,6	71,2	52,3	67,5	16,3
	Xyl	105,6	73,6	76,3	70,0	65,7				
	FucN	99,4	51,6	81,2	71,2	71,4	16,3			
	PseN <sub>2</sub>		97,1	34,8	72,3	46,6	71,2	52,3	67,5	16,2

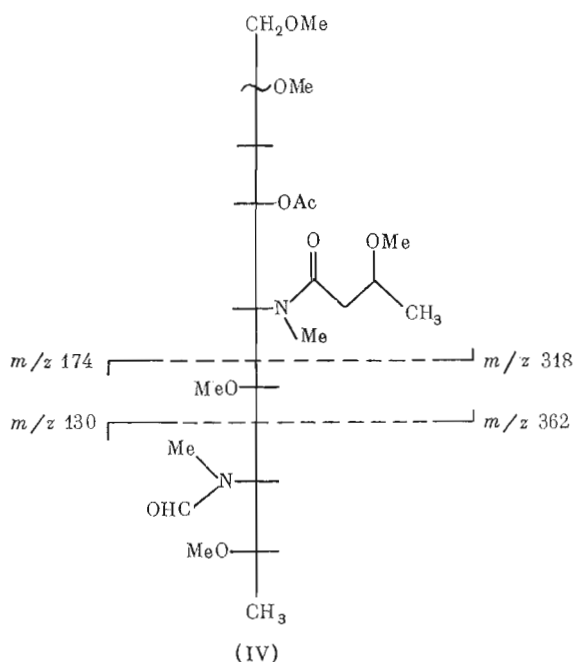
\* Химические сдвиги  $\text{CH}_2\text{COO}$  21,1–21,2 м. д.,  $\text{CH}_2\text{CON}$  23,0–23,6 м. д.,  $\text{HCO}$  164,7–165,1 м. д.,  $\text{CH}_2\text{CO}$  и  $\text{COOH}$  174,6–176,2 м. д.

ствуют α- и β-эффектам О-ацетилирования фукозамина в положение 4 [9].

Сольволиз трисахарид (I) безводным фтористым водородом привел к ксилозе и N-ацетилфукозамину, идентифицированным хроматографией на бумаге. Следовательно, 3-гидроксибутирильная группа находится на остатке псевдааминовой кислоты. Сопоставление <sup>13</sup>C-ЯМР-спектров триса-

харидов (I) и (II) показало, что замена N-ацетильной группы в тримере (II) на 3-гидроксibuтирильную группу в (I) вызывает смещение сигнала C4 псевдааминовой кислоты от 72,3 к 73,2 м.д. и сигнала C1 фукозамина от 99,5 к 100,6 м.д. Эти смещения указывают на то, что замена N-ацильного заместителя происходит вблизи гликозидной связи между этими двумя моносахаридами, т. е. при N5 замещенной в положение 4 псевдааминовой кислоты.

Локализация 3-гидроксibuтирильной группы была подтверждена также анализом методом метилирования. Трисахарид (I) был восстановлен боргидридом натрия по кетогруппе при C2 концевой псевдааминовой кислоты, превращен в метиловый эфир действием диазометана и восстановлен по карбоксильной группе того же остатка боргидридом натрия в растворе борной кислоты. Полученный олигосахарид метилировали по методу [10] и расщепляли безводным фтористым водородом, что привело к разрыву гликозидных связей без затрагивания N-ацильных заместителей. Полученные продукты ацетилировали и методом ГЖХ-масс-спектрометрии идентифицировали производное диамилоальдитола (IV). Присутствие в его масс-спектре пиков фрагментов C1—C5 и C1—C6 с  $m/z$  318 и 362 соответственно доказывало положение 3-метоксибутирильной группы при N5, а наличие пиков фрагментов C7—C9 и C6—C9 с  $m/z$  130 и 174 соответственно подтверждало локализацию формильной группы при N7.



Для определения абсолютной конфигурации 3-гидроксibuтирильной группы трисахарид (I) был подвергнут кислотному гидролизу, и из гидролизата экстракцией этилацетатом была выделена 3-гидроксимасляная кислота. Она была идентифицирована по данным  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектра (табл. 2), который был идентичен спектру этого соединения, выделенного нами ранее при гидролизе O-специфического полисахарида *P. aeruginosa* O10 [6]. На основании оптического вращения,  $[\alpha]_D -17^\circ$ , была установлена (R)-конфигурация 3-гидроксимасляной кислоты из трисахаридов (I).

Приведенные данные позволяют определить строение олигосахаридов (I) и (II), а следовательно, и повторяющихся звеньев полисахаридных цепей ЛПС O5a, b, c и O5a, b, d, которые приведены на схеме. Их структуры подтверждаются результатами полной расшифровки  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров этих ЛПС, выполненной путем сравнения со спектрами олигосахаридов (I) — (III) и ЛПС O5a, d (табл. 3).

Данные по структурам O-специфических полисахаридных цепей ЛПС

позволяют объяснить серологические свойства О-антигенов *P. aeruginosa* O5 и предположительно определить эпитопы О-факторов. Так, взаимосвязи O5-антигенов обусловлены общим углеводным скелетом их полисахаридных цепей, определяющим групповой фактор O5a. Фактор O5c, очевидно, связан с (R)-3-гидроксимасляной кислотой, присутствующей в составе ЛПС O5a, b, c и отсутствующей в двух других ЛПС этой группы; за счет этого фактора объясняется некоторая серологическая обособленность O5a, b, c-антигена (см. выше). Далее, фактор O5d, характерный для ЛПС O5a, b, d и O5a, d, обусловлен ацетильной группой при N5 псевдаминной кислоты, а фактор O5b — присутствующей в ЛПС O5a, b, c и O5a, b, d ацетильной группой при O4 фукозамина.

### Экспериментальная часть

Восходящую хроматографию на бумаге FN-11 выполняли в системе *n*-бутанол — пиридин — вода (6:4:3) при обнаружении веществ на бумаге щелочным раствором нитрата серебра. Гель-фильтрацию осуществили на колонке (70×3,7 см) с сефадексом G-50 и колонке (75×1,5 см) с сефадексом G-15 в 0,025 М пиридин-ацетатном буфере, pH 4,5; элюционные кривые строили с помощью анализатора углеводов Technicon (США). ГЖХ проводили на приборе Pye Unicam 104, модель 64 (Англия), на колонке (150×0,4 см) с 3% OV-1 на диатомите CQ (100—120 меш), газ-носитель — азот, скорость 30 мл/мин. ГЖХ-масс-спектрометрию выполняли на приборе Varian MAT Gnom 111 (США) с использованием той же фазы.

<sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР-спектры снимали на приборе WM-250 (Bruker, ФРГ) в D<sub>2</sub>O при 60°С для ЛПС и 30°С для олигосахаридов с использованием в качестве внутреннего стандарта ацетона (δ<sub>H</sub> 2,23) и метанола (δ<sub>C</sub> 50,15). Оптическое вращение определяли на поляриметре Perkin — Elmer, модель 141, в воде при 20°С. Растворы лиофилизировали или упаривали в вакууме при 40°С. Серологические тесты проводили как описано ранее [11].

**Выделение ЛПС.** Бактериальные культуры *P. aeruginosa* O5a, b, c, O5a, b, d и O5a, d (штаммы 170011, 170012 и 170013) были предоставлены д-ром Лани (Институт гигиены, Будапешт). Клетки выращивали как описано в работе [11]. Высушенные ацетоном клетки (по 30 г каждого штамма) экстрагировали 45% водным фенолом, нуклеиновые кислоты осаждали цетавлоном и ЛПС осаждали этанолом из водного раствора по методу [5]. Выходы ЛПС составляли 10—15% от веса сухих клеток.

**Мягкий гидролиз ЛПС O5a, b, c, O5a, b, d, O5a, d** (по 1 г каждого) проводили нагреванием с 1% уксусной кислотой (100 мл, 100°С, 1,5 ч), осадок липида отделяли центрифугированием, супернатант разделяли гель-фильтрацией на сефадексе G-50, фракцию, содержащую трисахариды (пик 2, рисунок), разделяли гель-фильтрацией на сефадексе G-15 и получили соответственно олигосахариды (I) — (III), выходы 25—30% от веса ЛПС, [α]<sub>D</sub> —63,3, —69,8 и —65,5° (с 1) соответственно.

**Сольволиз трисахарид (I)** (50 мг) проводили безводным фтористым водородом (15 мл, 20°С, 3 ч), свежеперегнаным над трифторидом кобальта [12], избыток реагента удаляли в вакууме, поглощая его твердым гидроксидом натрия, продукт растворяли в 10 мл воды, упаривали, пропускали через колонку (3×1 см) с амберлитом CG-120 (H<sup>+</sup>-форма), элюат упаривали, хроматографией на бумаге идентифицировали ксилозу и N-ацетилфукозамин.

**Гидролиз трисахарид (I)** (60 мг) проводили 2 М соляной кислотой (5 мл, 100°С, 16 ч), гидролизат упаривали, остаток растворяли в 5 мл воды, экстрагировали этилацетатом (5×3 мл), экстракт упаривали, остаток растворяли в 5% водном метаноле, пропускали через слой силикагеля С<sub>18</sub>, получили (R)-3-гидроксимасляную кислоту (4 мг), [α]<sub>D</sub> —17° (с 0,4), ср. [α]<sub>D</sub> —24,5° (вода) [13].

**Анализ методом метилирования.** Трисахарид (I) (30 мг) восстанавливали боргидридом натрия (вода, 30 мг, 20°С, 2 ч), подкисляли концентрированной уксусной кислотой до pH 6, деионизировали гель-фильтрацией на сефадексе G-15, продукт растворяли в 3 мл метанола, этерифицировали избытком раствора диазометана в эфире (20°С, 1 ч), упаривали досуха, остаток растворяли в 3 мл воды, насыщали твердой борной кислотой, добавляли 200 мг боргидрида натрия порциями в течение 4 ч, охлаждая льдом и поддерживая pH 7 одновременным добавлением борной кислоты,

денонизировали гель-фильтрацией на сефадексе G-15, продукт высушивали над пятиокисью фосфора в вакууме (60° С, 3 ч) и метилировали по методу [10].

Метилированный продукт выделяли с помощью патрона с силикагелем С<sub>18</sub> (Sep-Pak) по методу [14], высушивали над пятиокисью фосфора, подвергали сольволизу безводным фтористым водородом как описано выше для трисахарида (1), продукты ацетилировали уксусным ангидридом в пиридине (1 : 1, 1 мл, 100° С, 2 ч) и исследовали методом ГЖХ-масс-спектрометрии. Данные масс-спектра (IV) (*m/z*, в скобках — относительная интенсивность, %): 477 (0,7), 460 (1,3), 447 (3,5), 443 (0,7), 429 (0,4), 415 (2,1), 401 (0,3), 389 (0,7), 363 (1,5), 362 (6,1), 357 (1,2), 344 (0,7), 341 (1,2), 330 (4,7), 329 (6,1), 319 (3,3), 318 (15), 316 (13), 301 (2,6), 300 (2,4), 298 (2,3), 297 (3,9), 290 (9,4), 286 (8,2), 259 (14), 258 (7, 2), 244 (6,1), 228 (7,2), 218 (16), 203 (6,1), 200 (5), 188 (72), 186 (9,4), 184 (18), 174 (6,1), 172 (7,7), 169 (12), 157 (33), 144 (77), 142 (9,4), 130 (18), 116 (9,4), 115 (13), 114 (12), 112 (11), 102 (89), 101 (11), 98 (15), 88 (14), 87 (15), 85 (18), 83 (29), 70 (29), 69 (55), 59 (100), 56 (34), 45 (12), 43 (22).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Книрель Ю. А., Кочарова Н. А., Шашков А. С., Варбанец Л. Д., Кочетков Н. К., Станиславский Е. С., Машилова Г. М. Бюорган. химия, 1986, т. 12, № 9, с. 1268—1273.
2. Knirel Yu. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Kochetkov N. K., G'vov V. L., Dmitriev B. A. Carbohydr. Res., 1985, v. 141, № 2, p. C1—C3.
3. Knirel Yu. A., Kocharova N. A., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K. Carbohydr. Res., 1986, v. 145, № 2, p. C1—C4.
4. Lányi B. Acta microbiol. Acad. sci. hung., 1966/1967, v. 13, p. 295—318.
5. Вестфаль О., Яни К. В кн.: Методы химии углеводов/Ред. Кочетков Н. К. М.: Мир, 1967, с. 325—332.
6. Knirel Yu. A., Vinogradov E. V., G'vov V. L., Kocharova N. A., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K. Carbohydr. Res., 1984, v. 133, № 2, p. C5—C8.
7. Müller-Seitz E., Jann B., Jann K. FEBS Lett., 1968, v. 1, № 5, p. 311—314.
8. Eshenfelder V., Brossmer R., Friebohn H. Tetrahedron Lett., 1975, № 35, p. 3069.
9. Gagnaire D., Mancier D., Vincendon M. Org. Magn. Reson., 1978, v. 11, № 7, p. 344—349.
10. Коурад Г. Е. В кн.: Методы исследования углеводов/Ред. Хорлин А. Я. М.: Мир, 1975, с. 276—278.
11. Dmitriev B. A., Knirel Yu. A., Kocharova N. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. Eur. J. Biochem., 1980, v. 106, № 3, p. 643—651.
12. Mort A. J., Lamport D. A. Anal Biochem., 1977, v. 82, № 2, p. 289—309.
13. Clarke H. T. J. Org. Chem., 1959, v. 24, № 10, p. 1610—1611.
14. Mort A. J., Parker S., Kuo Mao Sung. Anal. Biochem., 1983, v. 133, № 2, p. 380—384.

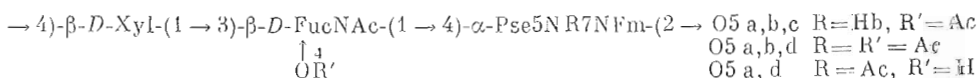
Поступила в редакцию 23.I.1986

#### ANTIGENIC POLYSACCHARIDES OF BACTERIA. 18. STRUCTURE OF O-SPECIFIC POLYSACCHARIDE CHAINS OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* O5

##### (LÁNYI) LIPOPOLYSACCHARIDES

KNIREL Yu. A., KOCHAROVA N. A., SHASHKOV A. S., DMITRIEV B. A., KOCHETKOV N. K., STANISLAVSKY E. S., MASHILOVA G. M.\*  
N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow; \* I. I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Ministry of Public Health of the USSR, Moscow

Polysaccharide chains of *P. aeruginosa* O5a, b, c, O5a, b, d and O5a, d (Lányi classification) lipopolysaccharides contain *D*-xylose, *N*-acetyl-*D*-fucosamine (FucNAc) and a derivative of 5,7-diamino-3,5,7,9-tetraoxo-*L*-glycero-*L*-manno-nonulosonic acid (pseudaminic acid, PseN<sub>2</sub>) carrying acetyl or (*R*)-3-hydroxybutyryl (Hb) and formyl (Fm) groups as *N*-acyl substituents. Degradation of the lipopolysaccharides with dilute acetic acid caused depolymerisation of the polysaccharide chains as a result of cleavage of glycosidic linkage of pseudaminic acid to give trisaccharides representing chemical repeating units of the polysaccharides. Basing on analysis of the trisaccharides using <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy and mass-spectrometry, the following structures of the polysaccharide chains were established:



O5a, d polysaccharide is identical to *P. aeruginosa* immunotype 6 O-specific polysaccharide.