



УДК 577.114.5.088.53 : 579.842.14.083.3

СТРОЕНИЕ О-СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДНЫХ ЦЕПЕЙ
ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ *CITROBACTER* O32
И *SALMONELLA ARIZONAE* O64 (ARIZONA 29)

Кочарова Н. А., Виноградов Е. В., Гнирель Ю. А.,
Шапков А. С., Кочетков Н. К., Станиславский Е. С.*,
Холодкова Е. В.*

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

* Институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова Минздрава СССР, Москва

Несмотря на интенсивные исследования, строение О-антигенных липополисахаридов многих энтеробактерий остается неизвестным. В настоящем сообщении приведены данные по изучению оказавшихся близкородственными по структуре О-специфических полисахаридных цепей липополисахаридов двух малозученных видов *Citrobacter* O32 (штамм 44038) и *Salmonella arizonae* O64 (Arizona 29, штамм 40034).

Липополисахариды, полученные экстракцией сухих клеток по методу [1] в модификации [2], были расщеплены 1% CH_3COOH (100°C , 3 ч), и О-специфические полисахариды были выделены гель-фильтрацией на геле Sephadex G-50. ^{13}C -ЯМР-спектр полисахарида *Citrobacter* O32 содержащая сигналы с различной интегральной интенсивностью, что указывало на нерегулярный характер полимера, наиболее вероятно вследствие нестехиометрического О-ацетилирования (в спектре присутствовал сигнал CH_3 О-ацетильной группы при 21,4 м. д.). Действительно, спектр полисахарида после О-деацетилирования действием раствора $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{N}$ (2%, 60°C , 1,5 ч) был типичным для регулярного полисахарида, построенного из повторяющихся пентасахаридных звеньев (таблица). Кислотный гидролиз полисахарида (4 М HCl , 100°C , 3 ч) с последующей идентификацией моносахаридов обычными методами показал, что в повторяющееся звено входят D-галактоза, N-ацетил-D-глюкозамин и N-ацетил-D-галактозамин в соотношении 2 : 1 : 2.

О-Деацетилированный полисахарид был подвергнут распаду по Смитту, который привел к олигозидам (I) и (II) с трейтом в качестве агликона, разделенным ВЭЖХ на обращенной фазе в воде. Сольволиз полисахарида безводным HF (-40°C , 0,5 ч) протекал избирательно по гликозидной связи одного из остатков галактозы и дал пентасахарид, превращенный восстановлением NaBH_4 в олигозид (III). Сольволиз соединения (III) безводным HF в более жестких условиях (0°C , 1 ч) привел к олигозиду (IV).

Состав и строение олигозидов (I)–(IV) и О-деацетилированного полисахарида исследовались с помощью кислотного гидролиза, метилирования и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии с использованием данных по константам спин-спинового взаимодействия $^1J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ [3] (таблица). В результате были установлены их структуры, приведенные на схеме. В боковой цепи олигозида (II) находится продукт распада по Смитту терминального остатка N-ацетилглюкозамина, который не отщепился при мягком кислотном гидролизе окисленного полисахарида. Для локализации О-ацетильной группы был применен анализ метилированием в условиях Хакомори [4] при укороченном (до 15 мин при 0°C) времени контакта полимера с диметилнатрием *, что позволяет предотвратить О-деацетилирование. Найденное таким путем положение ацетильной группы при O6 остатка галактозы, гликозили-

* Метилсульфинилметанид натрия.

**Химические сдвиги в ^{13}C -ЯМР-спектрах (м. д.) полисахарида (ПС)
Citrobacter O32 и его производных ***

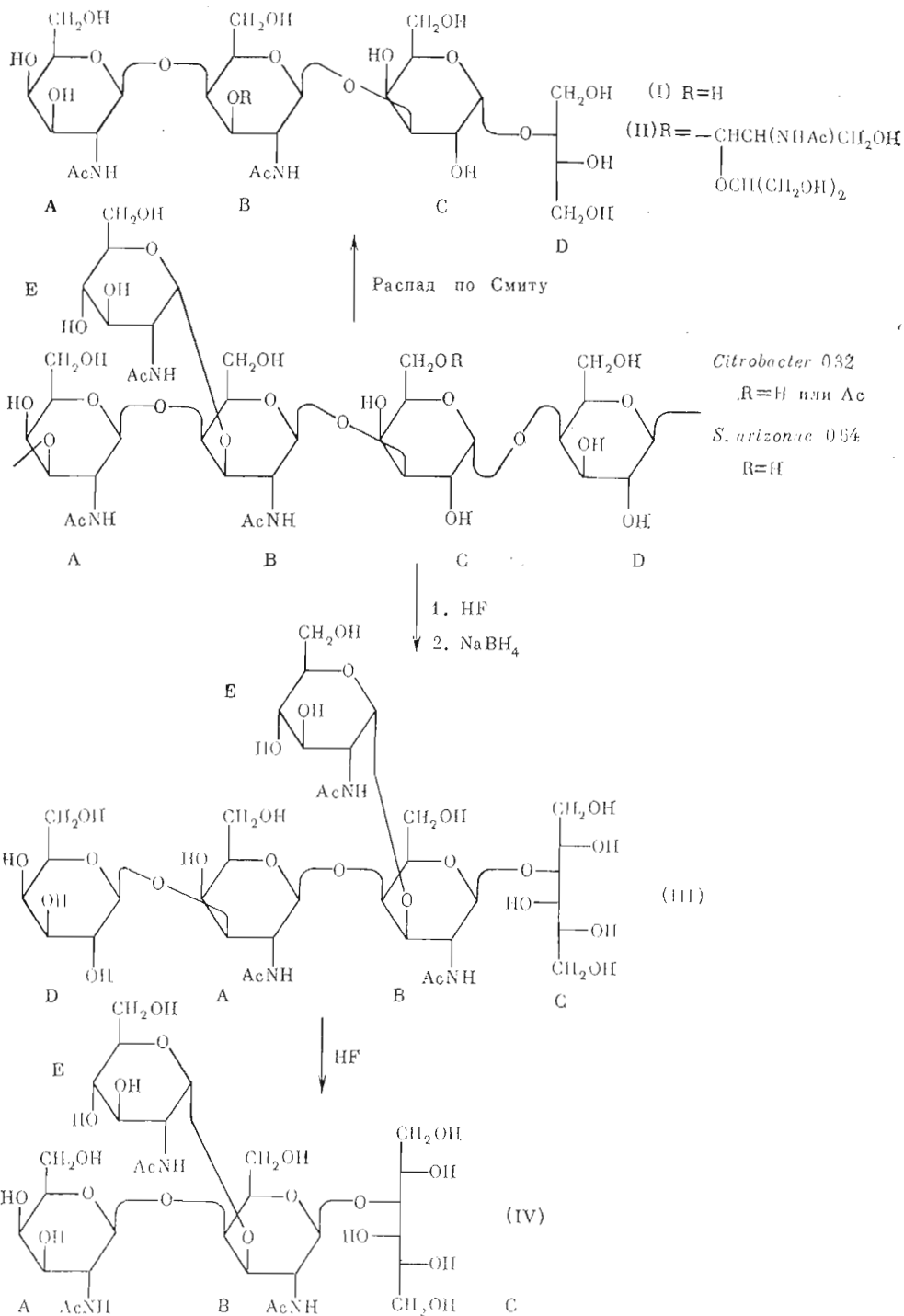
Соединение	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Звено А						
Исходный ПС	100,3	54,5	79,2	69,4	76,1	61,7
О-Деацетилованный ПС **	100,3 (163,5)	54,5	79,2	69,4	76,1	61,6
Олигосахарид (I)	103,5	54,1	72,5	69,2	76,0	61,8
(II)	102,3	54,2	72,5	69,2	76,2	61,9
(III)	99,8	53,8	70,4	69,2	76,1	62,0
(IV)	100,3	54,8	72,5	69,1	76,6	61,0
Звено В						
Исходный ПС	104,3	52,2	78,5	70,7	75,5	61,4
О-Деацетилованный ПС **	104,3 (161,1)	52,2	78,4	70,7	75,5	61,4
Олигосахарид (I)	104,3	54,1	72,2	76,1	75,3	62,3
(II)	104,3	52,8	80,9	75,3	75,5	62,3
(III)	102,6	52,1	79,0	73,5	75,2	61,5
(IV)	102,7	52,3	79,0	73,7	75,2	61,6
Звено С						
Исходный ПС	101,7	68,6	80,2	70,2	69,6	64,9
О-Деацетилованный ПС **	101,7 (170,9)	68,8	80,4	70,1	71,7	61,8
Олигосахарид (I)	101,5	69,1	80,0	70,4	72,0	62,3
(II)	101,4	69,0	79,9	70,4	71,9	62,1
(III)	63,5	68,8	77,7	70,7	71,0	63,9
(IV)	63,7	68,4	77,7	70,8	70,8	64,1
Звено D						
Исходный ПС	106,0	72,2	73,6	78,7	76,3	62,2
О-Деацетилованный ПС **	105,9 (163,5)	72,0	73,6	78,7	76,3	62,1
Олигосахарид (I)	62,6	81,4	72,4	63,6		
(II)	62,6	81,5	72,0	62,6		
(III)	105,7	71,7	73,5	69,6	76,1	62,0
Звено E						
Исходный ПС	97,1	54,8	71,8	71,1	73,5	62,0
О-Деацетилованный ПС **	97,1 (173,3)	54,7	71,7	71,0	73,4	61,9
Олигосахарид (II)	101,0	54,7	61,2	62,1	73,2	62,7
(III)	96,2	54,5	71,8	71,0	72,4	62,0
(IV)	96,2	54,9	71,4	71,0	72,0	62,0

* Химические сдвиги сигналов CH_2CON 23,4—23,8 м. д., CH_2CON 175—177 м. д. Отнесение сигналов гидроксиметильных групп, за исключением сигнала C6 звена С в спектрах полисахаридов, может быть обратным. В скобках приведены константы спин-спинового взаимодействия $^1\text{J}_{\text{C1, H1}}$ в герцах.

** Спектр О-специфического полисахарида *S. arizonae* O64 полностью идентичен данному спектру.

рованного в положение 3, было подтверждено сравнительным анализом методом ^{13}C -ЯМР-спектроскопии исходного и О-деацетилованного полисахарида с учетом данных по эффектам О-ацетилирования [5]. По данным ^1H и ^{13}C -ЯМР-спектров, степень ацетилирования остатка галактозы не является постоянной и для двух препаратов полисахарида, полученных из различных экспериментов по выращиванию клеток, составляет ~ 40 и ~ 70%.

Таким образом, О-специфический полисахарид *Citrobacter* O32 имеет строение, приведенное на схеме. ^{13}C -ЯМР-спектр О-специфического полисахарида *S. arizonae* O64 был идентичен спектру О-деацетилованного полисахарида *Citrobacter* O32. Следовательно, полисахариды обоих изученных штаммов отличаются друг от друга только отсутствием в полисахариде *S. arizonae* O64 О-ацетильных групп. Идентичные или близкородст-



венные по структуре O-специфические полисахаридные цепи липополисахаридов неоднократно отмечались у представителей различных видов и родов энтеробактерий [6], что свидетельствует в пользу их происхождения от общих родоначальных штаммов.

Авторы благодарят д-ра Б. Лани (Национальный институт гигиены, Будапешт) за предоставление бактериальных культур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вестфаль О., Яни К. // Методы химии углеводов/Ред. Кочетков Н. К. М.: Мир, 1967. С. 325—332.
2. Виноградов Е. В., Книрель Ю. А., Липкин Г. М., Шашков А. С., Кочетков Н. К., Станиславский Е. С., Холодкова Е. В. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 9. С. 1275—1281.
3. Вокс К., Pedersen G. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1974. № 3. P. 293—297.
4. Копрад Г. Е. // Методы исследования углеводов/Ред. Хорлин А. И. М.: Мир, 1975. С. 276—278.
5. Jansson P. E., Kenne L., Schweda E. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1987. № 2. P. 377—383.
6. Kenne L., Lindberg B. // The polysaccharides. V. 2 / Ed. Aspina G. O. N. Y.: Acad. Press, 1983. P. 287—363.

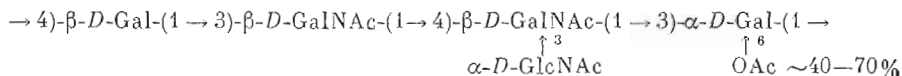
Поступило в редакцию
27.XI.1987

THE STRUCTURE OF THE O-SPECIFIC POLYSACCHARIDE
CHAINS OF THE LIPOPOLYSACCHARIDES
OF *CITROBACTER* O32 AND *SALMONELLA ARIZONAE* O64

KOCHAROVA N. A., VINOGRADOV E. V., KNIREL Yu. A.,
SHASHKOV A. S., KOCHETKOV N. K., STANISLAVSKY E. S.*,
KHOLODKOVA E. V.*

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR;*
* *I. I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera,
Health Ministry of the USSR, Moscow*

On the basis of acid hydrolysis, methylation, Smith degradation, selective cleavage with anhydrous hydrogen fluoride, and ^{13}C NMR analysis, the repeating unit of the O-specific polysaccharide of *Citrobacter* O32 was concluded to have the following structure:



The repeating unit of the *Salmonella arizonae* O64 O-specific polysaccharide has the same structure lacking the O-acetyl group.