



УДК 547.458'118'915.5.057:577.124.5+579.842.14

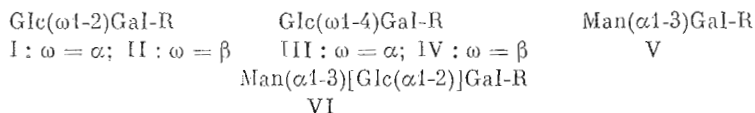
## ПРЕВРАЩЕНИЕ МЕТИЛГЛИКОЗИДОВ ДИ- И ТРИСАХАРИДОВ В МОРАПРЕНИЛПИРОФОСФАТНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОСЛЕДНИХ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ МАННОЗИЛТРАНСФЕРАЗ *Salmonella kentucky*

Нечаев О. А., Сизова О. В., Дружинина Т. Н.,  
Торгов В. И., Шибасев В. Н.

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

Недавно мы сообщили [1, 2] о синтезе ряда производных дисахаридов и разветвленных трисахаридов, в которых остаток метил-β-D-галактопиранозида моногликозилирован по 2-, 3- или 4-положению, а также дигликозилирован по O2, O3 или O3, O4. Полипренилпирофосфатные производные некоторых полученных олигосахаридов представляют значительный интерес для проводимой в нашей лаборатории работы по изучению акцепторной специфичности маннозилтрансфераз, участвующих в биосинтезе O-специфических полисахаридов салмонелл серогрупп С<sub>2</sub> и С<sub>3</sub> [3] и разработке химико-ферментативного синтеза разветвленных полисахаридов [4, 5]. В связи с этим встает задача эффективного перехода от β-метилгликозидов олигосахаридов к соответствующим α-гликозилфосфатам, исходным веществам для синтеза полипренилпирофосфатолигосахаридов.

На примере дисахаридов (I)–(V) и разветвленного трисахарид (VI) \* нам удалось решить эту задачу. Ацетилирование гликозидов (ряд а) и последующий ацетоллиз действием 2% серной кислоты в уксусном ангидриде (4 ч, 20°С) приводили с выходами, близкими к количественным, к соответствующим перацетатам, которые реакцией с безводной фосфорной кислотой [6–8] были переведены с выходами 40–60% после омыления и очистки ионообменной хроматографией в соответствующие гликозилфосфаты ряда б.



а : R = (β)OMe; б : R = (α)P; в : R = (α)PPMpr, Mpr = WT<sub>3</sub>C<sub>6-8</sub>

Структура олигосахаридфосфатов подтверждена аналитическими данными и спектрами <sup>13</sup>C-ЯМР. Данные по спектрам <sup>13</sup>C-ЯМР впервые полученных в данной работе соединений (Iб), (IIб) и (VIб) приведены в табл. 1, для остальных фосфатов они совпадают с описанными ранее [7, 8].

Превращение гликозилфосфатов в морапсенилпирофосфатолигосахариды (ряд в) было проведено фосфоимидазолным методом [5, 9], для активации морапсенилфосфата использовали N, N'-карбонилдимидазол [10]. Целевые соединения (Iв)–(VIв) были очищены ионообменной хроматографией на DEAE-целлюлозе и получены с выходами 25–30%, их строение было подтверждено результатами деградации [9].

Инкубация дисахаридных производных (Iв)–(IVв) с GDP-[<sup>14</sup>C]Man и препаратом растворимых гликозилтрансфераз из *Salmonella kentucky*

\* Gal, Man, Glc – D-, Rha – L-конфигурации; аббревиатуру преолов см. Eur. J. Biochem., 1987, v. 167, p. 181–184.

Данные  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров олигозилфосфатов (Iб), (IIб), (VIб) \*

Соединение	Остаток сахара	Химические сдвиги, $\delta$ , м. д.						КССВ, Гц	
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	$J_1, \rho$	$J_2, \rho$
Iб	-2Gal $\alpha$	93,43	74,87	69,01	70,73	72,98	62,44	5,2	7,4
	Glc $\alpha$	98,02	72,81	74,18	70,73	73,18	61,78		
IIб	-2Gal $\alpha$	95,78	79,31	69,49	70,56	72,34	62,33	5,2	7,4
	Glc $\beta$	105,22	74,60	76,90	70,85	77,20	61,91		
VIб	-2,3Gal $\alpha$	92,23	71,00	70,00	65,55	72,23	62,12	5,5	7,4
	Glc $\alpha$	95,62	72,23	74,17	70,88	72,94	61,70		
	Man $\alpha$	96,26	71,64	71,50	68,26	73,91	62,00		

\* Отнесение сигналов, отличающихся менее чем на 0,5 м. д., может быть обратным.

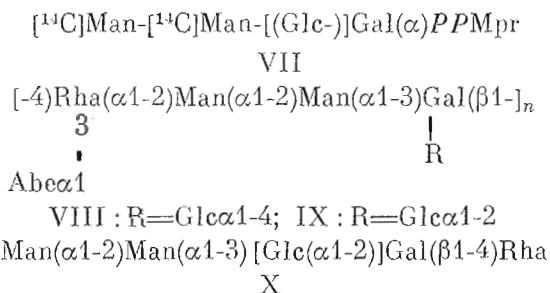
Таблица 2

Включение  $^{14}\text{C}$ маннозы из GDP- $^{14}\text{C}$ Man в мораренилпирофосфаттетрасахариды (VII)

Исходное соединение	Радиоактивность, имп/мин	Исходное соединение	Радиоактивность, имп/мин
Iв	7104	IVв	3486
IIв	3890	Gal( $\alpha$ )PPMpr	101 000
IIIв	3160	K *	760

\* Опыт в отсутствие экзогенных субстратов.

(серогруппа C<sub>3</sub>) в ранее описанных условиях [3] приводила к образованию производных радиоактивных тетрасахаридов общей формулы (VII) (табл. 2). Эффективность маниозилирования с дисахаридными акцепторами маза по сравнению с аналогичной реакцией с участием Gal( $\alpha$ )PPMpr, однако возможность получения с помощью ферментативной реакции производных разветвленных олигосахаридов с различными типами связей между остатком галактозы главной цепи с остатком глюкозы в ответвлении не вызывает сомнений. Это открывает путь к химико-ферментативному синтезу полисахаридов, содержащих разветвления, присоединенные разными типами гликозидных связей.



Полученные результаты показывают, что ферментативная система проявляет заметное предпочтение к использованию в качестве акцептора соединения (Iв), производного дисахаридов с  $\alpha 1-2$ -связью. Это кажется удивительным, поскольку O-специфический полисахарид *S. kentucky*, по литературным данным [11], имеет структуру (VIII) с  $\alpha 1-4$ -связью между остатками глюкозы и галактозы. В связи с этим мы провели исследование структуры полисахарида использованного нами штамма микроорганизма.

Оказалось, что этот O-специфический полисахарид в отличие от полисахарида штамма, изученного в работе [11], имеет структуру (IX). Вы-

вод об  $\alpha 1$ -2-связи между остатками глюкозы и галактозы вытекает из идентификации с помощью ГЖХ-масс-спектрометрии 4,6-ди-О-метилдальциты при анализе методом метилирования, а также из обнаружения среди продуктов частичного кислотного гидролиза полисахарида разветвленного пентасахарида (X). Структура продукта (X) однозначно следует из его  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра при сравнении со спектрами модельных соединений, в том числе разветвленных олигосахаридов, синтезированных нами ранее [1, 2]. Этот результат хорошо объясняет наблюдаемую специфичность фермента, участвующего в биосинтезе О-специфического полисахарида.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Нечаев О. А., Торгов В. И., Шibaев В. Н., Мамян С. С. // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 3. С. 359–370.
2. Нечаев О. А., Торгов В. И., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 9.
3. Дружинина Т. Н., Гоголашвили Л. М., Сизова О. В., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 12. С. 1583–1596.
4. Шibaев В. Н., Дружинина Т. Н., Гоголашвили Л. М., Кочетков Н. К., Рожнова С. Ш., Килюко В. А. // Докл. АН СССР. 1983. Т. 270. № 4. С. 897–899.
5. Торгов В. И., Дружинина Т. Н., Нечаев О. А., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 7. С. 947–957.
6. Danilov L. L., Troitzky M. F., Utkina N. S., Shibaev V. N., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1980. V. 87. № 1. P. 141–146.
7. Торгов В. И., Паносян К. А., Смелянский А. Т., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 1. С. 83–90.
8. Торгов В. И., Паносян К. А., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 4. С. 562–564.
9. Danilov L. L., Maltsev S. D., Shibaev V. N., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1981. V. 88. № 2. P. 203–211.
10. Белоусова З. П., Пурьгин П. П., Данилов Л. Л., Шibaев В. Н. // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. № 3. С. 379–384.
11. Hellerqvist C. C., Hoffman J., Lindberg B., Svensson S. // Acta chem. scand. 1972. V. 26. № 8. P. 3282–3286.

Поступило в редакцию  
14.VI.1988

#### TRANSFORMATION OF DI- AND TRISACCHARIDE METHYLGLYCOSIDES INTO MORAPRENYL PYROPHOSPHATE DERIVATIVES AND THEIR USE FOR INVESTIGATION OF SUBSTRATE SPECIFICITY OF MANNOsylTRANSFERASES FROM *SALMONELLA KENTUCKY*

NECHAEV O. A., SIZOVA O. V., DRUZHININA T. N., TORGOV V. I., SHIBAEV V. N.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences  
of the U S S R, Moscow*

$\alpha$ -Moraprenyl pyrophosphate derivatives of the oligosaccharides Glc $\alpha$ 1-2Gal, Glc $\beta$ 1-2Gal, Glc $\alpha$ 1-4Gal, Glc $\beta$ 1-4Gal, Man $\alpha$ 1-3Gal, and Man $\alpha$ 1-3(Glc $\alpha$ 1-2)Gal have been synthesized from corresponding  $\beta$ -methylglycosides by means of acetolysis, MacDonald reaction and phosphoimidazolidate pyrophosphate approach. The study of substrate specificity of soluble mannosyltransferases from *S. kentucky* towards the moraprenyl derivatives showed that the first of the above compounds is the best substrate for the enzymes. The structure of O-antigenic polysaccharide from *S. kentucky* is reinvestigated.