









Наблюдаемые [4, 5] и рассчитанные (в скобках) величины химических сдвигов ( $\delta$ , м. д.) сигналов в спектрах  $^{13}\text{C}$ -ЯМР О-специфических полисахаридов *Escherichia coli* O1A, O1B и O1C

Моносахаридное звено	C1	C2	C3	C4	C5	C6
<i>E. coli</i> O1A						
-2,3)- $\alpha$ -L-Rha-(1-	102,5 (102,9)	78,1 (78,2)	80,3 (80,3)	72,5 (72,1)	70,5 (70,2)	17,8 (18,1)
-3)- $\alpha$ -L-Rha-(1-	103,2 (103,5)	71,1 (71,4)	79,5 (79,1)	72,6 (72,9)	70,4 (70,0)	17,9 (18,0)
-3)- $\beta$ -L-Rha-(1-	101,6 (101,9)	71,7 (71,4)	81,5 (81,5)	72,3 (72,5)	73,3 (73,2)	17,9 (18,0)
-4)- $\beta$ -D-GlcNAc-(1-	103,2 (103,6)	57,3 (57,0)	74,8 (75,2)	78,2 (77,9)	75,8 (75,8)	61,7 (61,8)
$\beta$ -D-ManNAc-(1-	101,1 (101,3)	54,3 (54,3)	73,3 (73,3)	68,0 (67,9)	77,3 (77,6)	62,2 (62,1)
<i>E. coli</i> O1B*						
-2,3)- $\alpha$ -L-Rha-(1-	102,2 (102,7) [102,7]	78,1 (78,2) [79,2]	80,0 (80,3) [80,3]	72,4 (72,1) [72,1]	70,6 (69,9) [69,9]	17,9 (18,1) [18,1]
-2)- $\alpha$ -L-Rha-(1-	101,2 (101,3) [101,7]	78,8 (78,8) [79,8]	71,2 (71,3) [71,3]	73,4 (73,5) [73,5]	70,4 (70,0) [70,0]	17,9 (18,0) [18,0]
-2)- $\alpha$ -D-Gal-(1-	98,6 (100,3) [99,1]	74,8 (78,2) [75,1]	70,2 (69,5) [70,2]	70,8 (70,6) [70,6]	72,1 (72,2) [72,2]	61,9 (62,4) [62,4]
-3)- $\beta$ -D-GlcNAc-(1-	102,8 (103,9) [103,9]	55,9 (55,8) [55,8]	78,6 (81,9) [79,2]	72,7 (71,9) [71,9]	76,8 (77,2) [77,2]	61,9 (62,1) [62,1]
$\beta$ -D-ManNAc-(1-	101,0 (100,8) [101,3]	54,2 (54,3) [54,3]	73,3 (73,3) [73,3]	68,1 (67,9) [67,9]	77,4 (77,6) [77,6]	61,8 (62,1) [61,8]
<i>E. coli</i> O1C						
-2,3)- $\alpha$ -L-Rha-(1-	102,2 (102,7)	78,2 (78,2)	80,0 (80,3)	72,5 (72,1)	70,3 (69,9)	18,0 (18,1)
-2)- $\alpha$ -L-Rha-(1-	101,7 (102,1)	78,7 (78,8)	71,4 (71,3)	73,7 (73,5)	70,7 (70,0)	18,0 (18,0)
-3)- $\alpha$ -D-Gal-(1-	100,6 (101,0)	69,4 (68,9)	77,7 (78,5)	70,1 (70,2)	72,2 (72,2)	61,9 (62,4)
-3)- $\beta$ -D-GlcNAc-(1-	103,0 (103,9)	55,7 (55,8)	81,5 (81,9)	72,2 (71,9)	76,7 (77,2)	61,8 (61,8)
$\beta$ -D-ManNAc-(1-	101,0 (101,3)	54,3 (54,3)	73,4 (73,3)	68,3 (67,9)	77,5 (77,6)	62,1 (62,1)

\* В квадратных скобках приведены химические сдвиги, полученные при расчете с учетом отклонений от аддитивности в спектре трисахарида (29) (см. выше).

группа повторяющихся звеньев (11)–(22), которые удовлетворяли данным анализа методом метилирования.

Выявленные структуры характеризовались очень близкими значениями S-факторов, что не позволяло достаточно корректно выделить среди них наиболее вероятную без привлечения дополнительных данных. Легко видеть, что среди структур (11)–(22) только повторяющееся звено (11), характеризующееся наименьшим S-фактором, содержит (1  $\rightarrow$  3)-связанный глюкозаминил-рамнозидный



определены различиями конформаций трисахаридов и образующих их дисахаридных фрагментов.

Таким образом, компьютерный анализ спектра  $^{13}\text{C}$ -ЯМР полисахарида О1В еще раз показал [8—10, 12], что присутствие в полисахаридной цепи (1 → 2)-связи может ограничивать в некоторых случаях применение рассмотренного метода компьютерного структурного анализа. Можно, однако, ожидать, что модификация компьютерной программы и дополнение баз спектральных данных, используемых в расчетах, величинами отклонений от аддитивности в линейных трисахаридов с терминальной (1 → 2)-связью позволят в дальнейшем проводить структурный анализ полисахаридов, как линейных, так и разветвленных, содержащих фрагменты типа (25)—(28).

Сказанное можно проиллюстрировать результатами расчета спектра полисахарида О1В, проведенного с учетом отклонений от аддитивности, наблюдаемых в спектре трисахаридов (29) [13]



содержащего, как и полисахарид О1В, фрагмент (25). Использованные в расчете величины отклонений от аддитивности (для C1 Rha +3,4 м. д., для C1, C2 Gal -2,7 и -3,3 м.д., а также для C3, C4 GlcNAc -2,7 и 1,8 м. д. соответственно) получены сравнением данных спектра трисахаридов (29) и данных теоретически рассчитанного для него спектра по методу [14]. Полученные в этом случае величины химических сдвигов атомов углерода для полисахарида О1В приведены в таблице в квадратных скобках. Необходимо отметить, что проведенный расчет был успешным — правильное повторяющееся звено (24) характеризовалось в данном случае наименьшим  $S$ -фактором, равным 1,1, а повторяющееся звено (23), вероятность которого была на втором месте, имело  $S$ -фактор 2,0.

В заключение отметим, что практическое использование рассмотренной модификации компьютерного структурного анализа полисахаридов будет возможно после накопления достаточной базы спектральных данных для линейных трисахаридов с терминальной (1 → 2)-связью. Недавно были уже опубликованы синтез и спектральные исследования некоторых из необходимых модельных трисахаридов [13, 15—17].

### Экспериментальная часть

Компьютерный анализ данных спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР полисахаридов проводился в недиалоговом режиме с использованием персонального компьютера IBM PC/AT 286 (Tandon), как описано ранее [2]. Программа написана на языке Турбо Паскаль 5.5.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1990. V. 198. № 2. P. 399—402.
2. Lipkind G. M., Nifant'ev N. E., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1992. V. 237. P. 11—22.
3. Kocharova N. A., Knirel Y. A., Shashkov A. S., Nifant'ev N. E., Kochetkov N. K., Varbanets L. D., Moskalenko N. V., Brovarskaya O. S., Muras V. A., Young J. M. // Carbohydr. Res. 1993. In Press.
4. Jann B., Shashkov A. S., Gupta D. S., Panasenko S. M., Jann K. // Carbohydr. Polymers. 1992. V. 18. P. 51—57.
5. Gupta D. S., Shashkov A. S., Jann B., Jann K. // J. Bacteriol. 1992. V. 174. № 24. P. 7963—7970.
6. Baumann H., Jansson P.-E., Kenne L., Widmalm G. // Carbohydr. Res. 1991. V. 211. № 2. P. 183—190.
7. Jansson P.-E., Kenne L., Widmalm G. // Carbohydr. Res. 1987. V. 168. № 1. P. 67—77.
8. Jansson P.-E., Kenne L., Widmalm G. // Carbohydr. Res. 1989. V. 188. N 1. P. 169—191.
9. Sidorczyk Z., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Zych K., Knirel Y. A., Kochetkov N. K. // Eur. J. Biochem. In press.

10. Shashkov A. S., Vinogradov E. V., Knirel Y. A., Nifant'ev N. E., Kochetkov N. K., Dabrowski J., Kholodkova E. V., Stanislavsky E. S. // Carbohydr. Res. 1993. V. 241. P. 177—188.
11. Kochetkov N. K., Lipkind G. M., Shashkov A. S., Nifant'ev N. E. // Carbohydr. Res. 1991. V. 221. P. 145—168.
12. Кочетков Н. К., Виноградов Е. В., Книрель Ю. А., Шашков А. С., Липкинд Г. М. // Биоорганическая химия. 1992. Т. 18. № 1. С. 116—125.
13. Kovac P., Edgar K. J. // J. Org. Chem. 1992. V. 57. N 8. P. 2455—2467.
14. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1988. V. 175. P. 59—75.
15. Adeyeye A., Jansson P.-J., Kenne L., Magnusson G. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2. 1991. P. 963—973.
16. Nifant'ev N. E., Shashkov A. S., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1992. V. 226. P. 331—336.
17. Торгов В. И., Нечаев О. А., Усов А. И., Шигаев В. Н. // Биоорганическая химия. 1981. Т. 17. № 3. С. 424—426

Поступила в редакцию  
25.III.1993

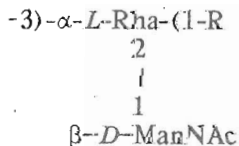
N. E. Nifant'ev, A. S. Shashkov, G. M. Lipkind,  
N: K. Kochetkov, B. Jann\*, K. Jann\*

COMPUTER-ASSISTED STRUCTURAL ANALYSIS  
OF THE *Escherichia coli* O1A, O1B, AND O1C SPECIFIC  
POLYSACCHARIDES

N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry,  
Russian Academy of Sciences, Moscow;

\* Max-Planck Institute of Immunobiology, Freiburg, Germany

A computer evaluation of  $^{13}\text{C}$ -NMR data for the title polysaccharides based on the monosaccharide and methylation analysis data led to the structure of the repeating unit of the O1A polysaccharide as well as to several probable structures of the O1C polysaccharide, of which the correct one was inferred by means of a single NOE experiment. The analysis of the spectrum of the O1B polysaccharide was unsuccessful, due to the presence in its structure of the fragment  $\alpha$ -L-Rha-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-Gal-(1  $\rightarrow$  3)-D-GlcNAc with the terminal (1  $\rightarrow$  2)-linkage, whose spectral data could not be calculated by additive schemes using only glycosylation effects. However in reevaluation of the O1B spectral data by taking into account the deviations from additivities of the chemical shifts values in spectra of the related trisaccharides, to reveal the most probable structure of the O1B's repeating unit.



R

O1A	-3)- $\alpha$ -L-Rha-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -L-Rha-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-GlcNAc-(1-
O1B	-2)- $\alpha$ -L-Rha-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-Gal-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-GlcNAc-(1-
O1C	-2)- $\alpha$ -L-Rha-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-Glc-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-GlcNAc-(1-