

Данные ЯМР-спектров моносахарида (I) (δ , м.д.; КССВ $^3J_{\text{H, H}}$, Гц)*

Атом	Номер атома С или Н									
	1 ($J_{1,2}$)	2 ($J_{2,3}$)	3 ($J_{3,4}$)	4 ($J_{4,5}$)	5 ($J_{5,6a}$)	6a ($J_{6a,6b}$)	6b ($J_{5,6b}$)	2' ($J_{2',3'}$)	3'	
αH	5,24 [5,228] (3,1)	3,63 [3,614]	3,63 [3,643]	3,51 [3,510] (9,0)	3,82 [3,833] (2,0)	3,76 [3,762] (12,5)	3,81 [3,835] (5,5)	4,41 [4,435] (7,0)	1,46 [1,462]	
αC	93,0 [92,8]	72,2 [72,0]	83,0 [82,8]	70,6 [70,1]	72,6 [72,2]	61,8 [61,5]		78,7	19,6 [19,3]	
βH	4,64 [4,634] (7,8)	3,32 [3,328]	3,45 [3,448]	3,51 [3,512] (8,7)	3,48 [3,458]	3,73 [3,720] (12,3)	3,90 [3,889] (5,6)	4,41 [4,435] (7,0)	1,45 [1,455]	
βC	97,0 [96,8]	74,8 [74,4]	85,6 [85,4]	70,6 [70,1]	76,9 [76,6]	61,9 [61,5]		79,5	19,6 [19,3]	

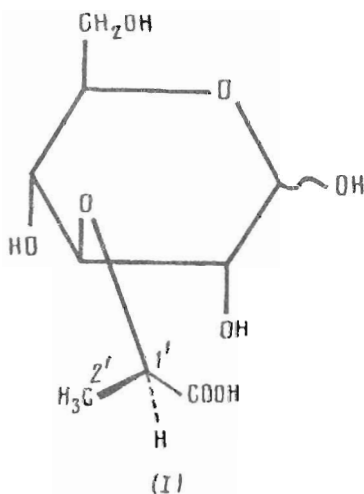
* В квадратных скобках приведены соответствующие величины для R-изомера D-глюколактонной кислоты из работы [3].

оптического вращения рамнозы и полученного при ее мягком кислотном мета-нолизе метилрамнозида установлено, что этот моносахарид имеет *L*-конфигурацию. *D*-Конфигурация глюкозамина определена на основании величины удельного оптического вращения его хлоргидрата.

Моносахарид (I), имевший подвижность на бумаге R_{Gal} 0,3 и электрофоретическую подвижность E_{Gal} 0,8, дополнительно очищен анионообменной ВЭЖХ на сорбенте TSK DEAE 3SW. В его 1H -ЯМР-спектре (табл. 1) присутствовали три серии сигналов, две из которых принадлежали остаткам α - и β -гликопиранозы, а третья отвечала этилиденовой группе: $CH_3(H3')$ при 1,46 м. д. (дублет, $J_{2',3}$ 7,0 Гц) и $CH(H2')$ при 4,41 м. д. (квартет). Протоны этилиденовой группы не имели спин-спиновых взаимодействий с протонами остатка глюкозы, и, по-видимому, эти две части молекулы соединены через атом кислорода.

Этот вывод подтверждался данными ^{13}C -ЯМР-спектра моносахарида (I), в котором наряду с сигналами остатков α и β -гликопиранозы присутствовали линии резонанса *O*-этилиденовой группы: $CH_3(C3')$ при 19,6 м. д. и $CH(C2')$ при 78,7 и 79,5 м. д. (α - и β -серия соответственно). Сигналы $C3\alpha$ и $C3\beta$ в этом спектре смещены в слабое поле на 9,0 и 8,6 м. д. соответственно по сравнению с их положением в спектре глюкозы [2], что характерно для замещения остатка глюкозы в моносахариде (I) в положение 3.

Учитывая кислый характер моносахарида (I), можно предположить, что алкильный заместитель несет при $C2'$ карбоксильную группу (соответствующий сигнал не наблюдается в ^{13}C -ЯМР-спектре из-за его низкой интенсивности), и, таким образом, моносахарид (I) представляет собой 3-*O*-(1-карбоксиитил)глюкозу (гликолактиловую кислоту).



Ранее 3-*O*-[(*R*)-1-карбоксиитил]-*D*-глюкоза была идентифицирована в составе внеклеточного полисахарида *Pseudomonas fragi* путем сравнения ее 1H - и ^{13}C -ЯМР-спектров и удельного оптического вращения с синтетическими образцами соответствующей гликолактиловой кислоты с *R*- и *S*-конфигурацией остатка молочной кислоты [3]. При сравнении этих данных с данными спектров моносахарида (I) (табл. 1) наблюдается практически полное совпадение химических сдвигов 1H - и ^{13}C для соединения (I) и *R*-изомера, описанного в работе [3]. Также близки величины их удельного оптического вращения ($[\alpha]_D + 42$ и $+69^\circ$ соответственно), в то время как *S*-изомер характеризуется величиной $[\alpha]_D - 1,7^\circ$ (вода). Таким образом, можно сделать вывод о том, что моносахарид (I), входящий в состав капсульного и *O*-специфического полисахаридов *A. haloplanktis* КММ 156, также представляет собой 3-*O*-[(*R*)-1-карбоксиитил]-*D*-глюкозу.

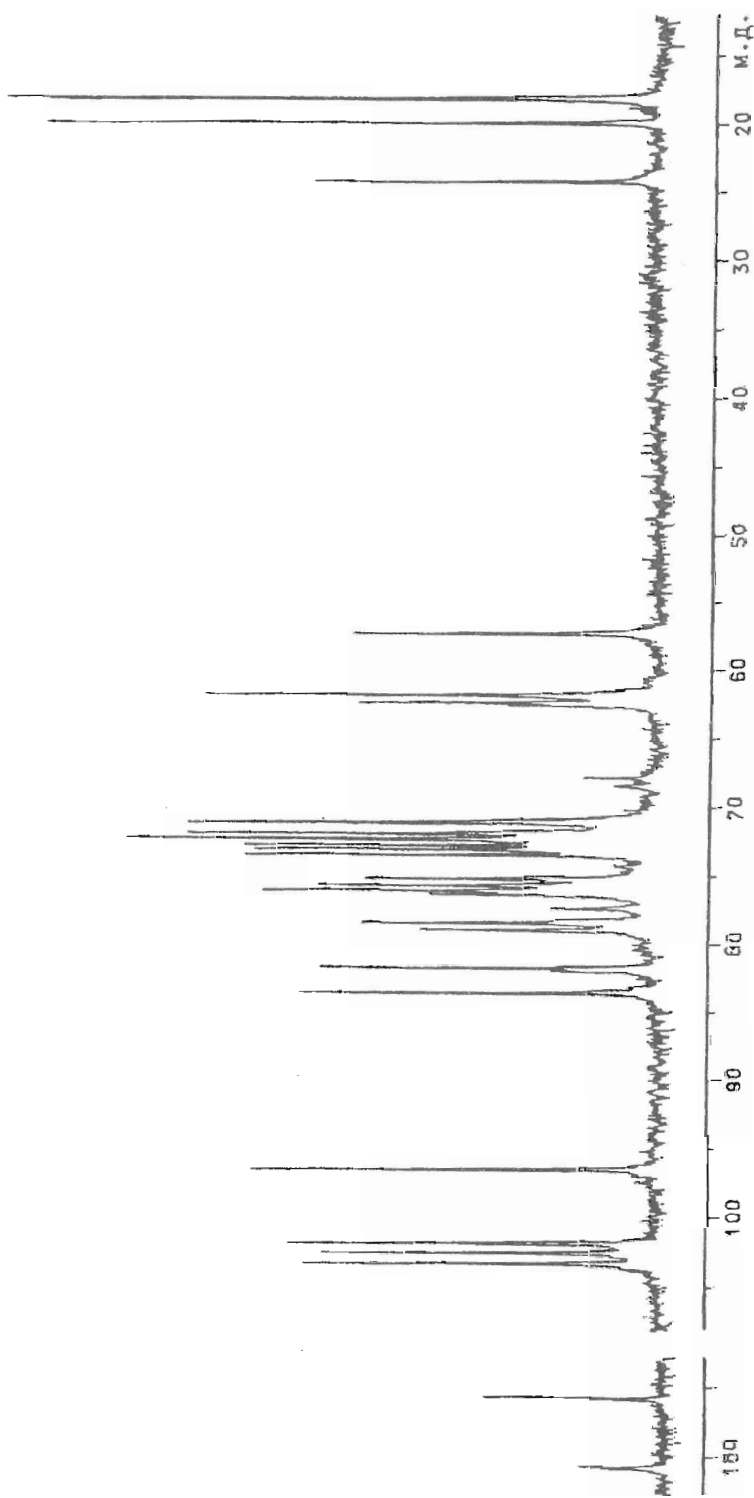


Рис. 1. ^{13}C -ЯМР-спектр полисахарида

Поскольку ^{13}C -ЯМР-спектры обоих полисахаридов были абсолютно идентичны, дальнейшая работа проводилась с капсульным полисахаридом (КПС).

^{13}C -ЯМР-спектр КПС (рис. 1) указывает на регулярный характер и тетрасахаридный размер его повторяющегося звена. В спектре содержатся сигналы дезоксигрупп (С6) двух остатков рамнозы при 18,0 и 18,1 м.д., С2-атома N-ацетилглюкозамина при 57,1 м.д., его ацетамидной группы (CH_3 при 24,1, $\text{C}=\text{O}$ при 175,5 м.д.), С3' и С1' остатка молочной кислоты при 19,8 и 180,5 м.д. соответственно, четырех аномерных атомов углерода в области 96,4—103,1 м.д., двух гидроксиметильных групп (С6 производных гексоз) при 61,7 и 62,2 м.д., а также 16 сигналов вторичных углеродных атомов, связанных с кислородом, в области 71,0—83,5 м.д.

Результаты эксперимента по неселективному переносу поляризации [4] указывают на отсутствие 1→6-связанных моносахаридных остатков. Константы спин-спинового взаимодействия (КССВ), определенные из ^{13}C -ЯМР-спектра, снятого без подавления углерод-протонных взаимодействий, относительно невелики (около 160 Гц) для сигналов С1 при 101,8 и 103,1 м.д., которые принадлежат, таким образом, β-связанным моносахаридным остаткам. Сравнительно большие КССВ (около 170 Гц) для сигналов С1 при 96,4 и 102,3 м.д. свидетельствуют об α-конфигурации соответствующих моносахаридных остатков [5]. Химический сдвиг сигнала С2 остатка N-ацетилглюкозамина указывает на β-конфигурацию его гликозидной связи, так как в случае α-конфигурации этот сигнал резонировал бы в более сильном поле, чем 55 м.д. [6]. Величины КССВ $^1J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ свидетельствуют также о пиранозной форме всех четырех моносахаридных остатков (КССВ фуранозидов имеют величины не менее 173 Гц) [7].

Характер замещения моносахаридных остатков в КПС установлен методом метилирования [8]. С помощью ГЖХ-масс-спектрометрии в виде ацетатов частично метилированных полиолов и метилгликозидов идентифицированы 2,4-ди-О-метилрамноза, 4-О-метилрамноза, 2-(N-метил)ацетида-2-дезоксис-3,6-ди-О-метилглюкоза и 2,4,6-три-О-метил-3-О-(1-метоксикарбонилэтил)глюкоза. Следовательно, полисахарид является разветвленным; терминальный моносахарид представлен остатком глюколактиловой кислоты, в точке разветвления находится остаток рамнозы, замещенный в положения 2 и 3, второй остаток рамнозы замещен в положение 3, а остаток N-ацетилглюкозамина — в положение 4. Как и следовало ожидать на основании данных метилирования, полисахарид не расщепляется при распаде по Смитсу: при соответствующей обработке получен полисахарид, идентичный, по данным ^{13}C -ЯМР-спектра, исходному КПС.

Для дальнейшего структурного анализа КПС использована ^1H -ЯМР-спектроскопия. После отнесения сигналов с помощью гомоядерного двойного резонанса в разностном варианте [9] определены КССВ вицинальных протонов (табл. 2). На основании этих данных подтверждены пиранозные формы всех четырех моносахаридных остатков, входящих в повторяющееся звено, доказана α-конфигурация остатка глюколактиловой кислоты ($J_{1,2}$ 3,5 Гц) и β-конфигурация остатка N-ацетилглюкозамина ($J_{1,2}$ 8,0 Гц); отсюда с учетом приведенных выше данных по величинам КССВ $^1J_{\text{C}_1, \text{H}_1}$ также следует, что один из остатков рамнозы имеет α-, а второй — β-конфигурацию.

Для определения последовательности моносахаридных остатков использован метод, основанный на определении межзвеньевых ЯЭО, возникающих при последующем предоблучении аномерных протонов всех моносахаридов. Из-за частичного попарного перекрытия в ^1H -ЯМР-спектре полисахарида сигналов Н1 α-глюколактиловой кислоты и α-рамнозы и Н1 N-ацетил-β-глюкозамина и β-рамнозы ЯЭО для каждой из этих пар определены в одном эксперименте.

Одновременное предоблучение аномерных протонов первой пары приводит к появлению интенсивного ЯЭО на сигнале Н3 остатка α-рамнозы, что может быть только следствием присоединения к нему остатка α-глюколактиловой кислоты в положение 3. Тогда ЯЭО, наблюдающиеся в этом же эксперименте, на Н2 и

Данные ^1H -ЯМР-спектра полисахарида

Моносахаридный остаток	Протон	Химический сдвиг, м.д.	Наблюдаемая мультиплетность	КССВ, Гц
→ 4)-GlcNAc-(1 →	H1	4,84	д	$J_{1,2}$ 8,0
	H2	3,74	дд	$J_{2,3}$ 10
	H3	3,67	м	
	H4	3,67	м	
	H5	3,47°		
→ 2,3)-α-Rhap-(1 →	H1	5,14	д	$J_{1,2}$ 2
	H2	3,94	д	$J_{2,3}$ 3
	H3	3,97	дд	$J_{3,4}$ 9,6
	H4	3,35	т	$J_{4,5}$ 9,6
	H5	3,82	дк	$J_{5,6}$ 6,0
	H6	1,27	д	
→ 3-β-Rhap-(1 →	H1	4,87	с	$J_{1,2}$ 1,0
	H2	4,12	д	$J_{2,3}$ 3
	H3	3,63	дд	$J_{3,4}$ 9,8
	H4	3,46	т	$J_{4,5}$ 9,8
	H5	3,39	дк	$J_{5,6}$ 6,0
	H6	1,32	д	
α-Glc3Lac-(1 →	H1	5,13	д	$J_{1,2}$ 3,5
	H2	3,72	дд	$J_{2,3}$ 10
	H3	3,67	т	$J_{3,4}$ 10
	H4	3,57	т	$J_{4,5}$ 10
	H5	4,02	м	

* Данные двумерного гетероядерного корреляционного спектра $^{13}\text{C}/^1\text{H}$.

H3 остатка β-рамнозы свидетельствуют о его замещении остатком α-рамнозы в положение 3 (гликозилирование в положение 2 исключается, так как в этом случае при аксиальной ориентации замещенной группы: OH-2 и протона H3 заметный ЯЭО на H3 наблюдаться не может).

Аналогично, наличие ЯЭО при частоте совпадающих сигналов H3 и H4 остатка N-ацетил-β-глюкозамина при преобладании аномерных протонов второй пары может быть вызвано только его замещением остатком β-рамнозы (с учетом данных метилирования) в положение 4. Тогда наблюдающийся одновременно ЯЭО на H2 остатка α-рамнозы доказывает его замещение аминоксахаром в положение 2.

Дополнительный эксперимент по преобладанию протона H2 остатка молочной кислоты приводит к появлению ЯЭО на H3 остатка α-глюкозы глюколактоиловой кислоты, что еще раз подтверждает строение моносахарида (I).

Для независимого подтверждения структуры повторяющегося звена полисахарида его ^{13}C -ЯМР-спектр полностью расшифрован с помощью двумерной гетероядерной $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ -корреляционной спектроскопии (рис. 2, табл. 3). Смещение

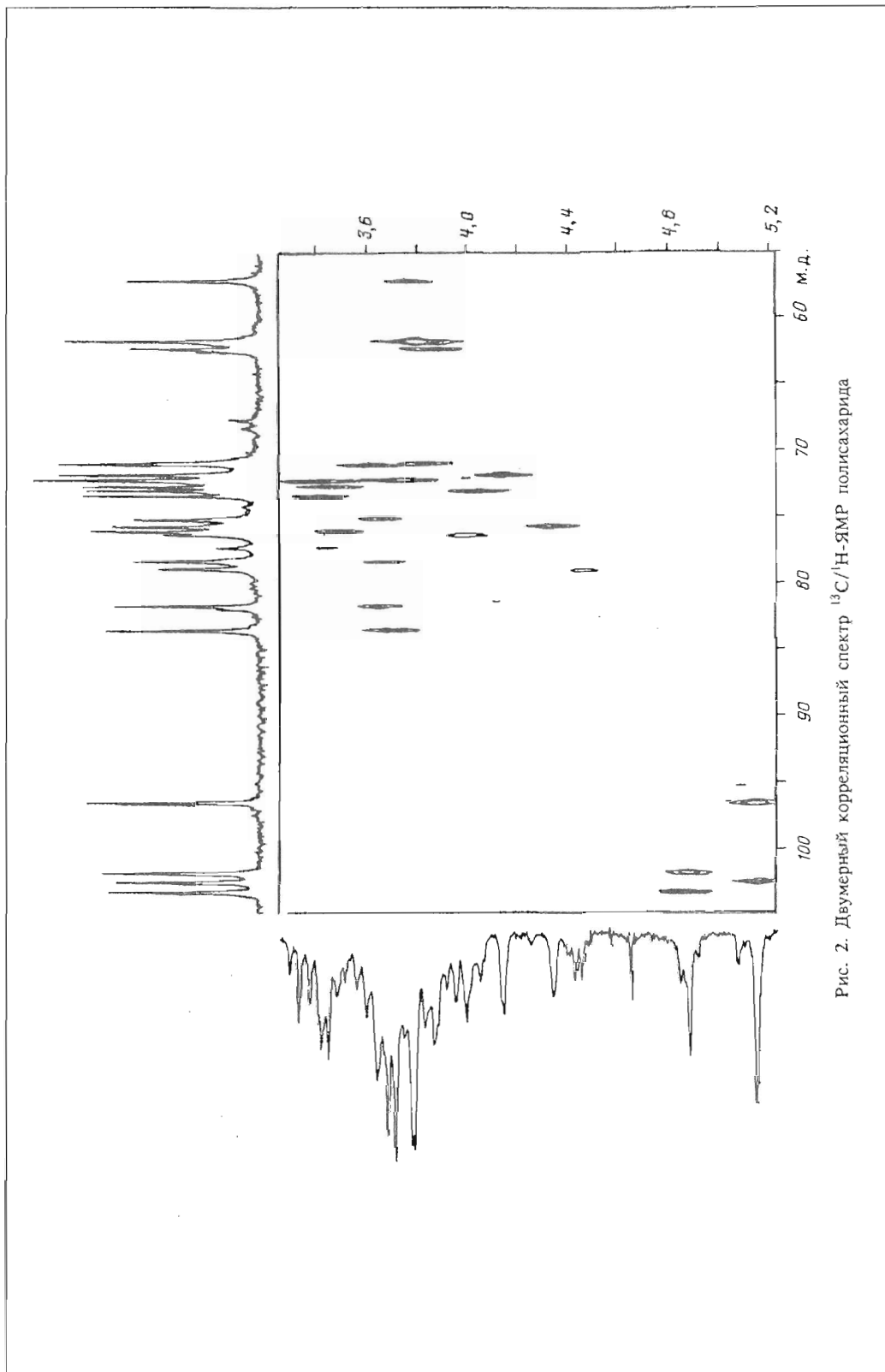


Рис. 2. Двумерный корреляционный спектр $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ -ЯМР полисахарида

Данные ^{13}C -ЯМР-спектра полисахарида (δ , м.д.)

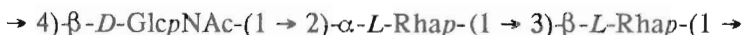
Моносахаридный остаток	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C1'	C2'	C3'
$\rightarrow 4$)- β -Glc _p NAc-(1 \rightarrow	103,1	57,1*	75,1	78,3	76,0	62,2			
$\rightarrow 2,3$)- α -Rhap-(1 \rightarrow	102,3	75,6	76,2	72,2	71,0	18,1**			
$\rightarrow 3$)- β -Rhap-(1 \rightarrow	101,8	71,8	81,9	72,7	73,4	18,0**			
α -Glc _L Ac-(1 \rightarrow	96,4	72,2	83,5	71,0	73,0	61,7	180,5	78,8	19,8

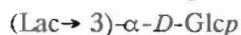
* Сигналы N-ацетильной группы находятся при 24,1 м. д. (CH₃) и 175,5 м. д.

** Отнесение может быть обратным.

сигналов C2 и C3 остатка α -рамнозы, C3 остатка β -рамнозы и C4 остатка N-ацетил- β -глюкозамина в слабое поле к 75,6, 76,2, 81,9 и 78,3 м. д. соответственно по сравнению с их положением в спектрах соответствующих незамещенных моносахаридов [2] вызвано α -эффектами гликозилирования и подтверждает положение гликозидных связей в полисахариде. Анализ величин α - и β -эффектов гликозилирования в ^{13}C -ЯМР-спектре КПС по методу [10] показывает, что они полностью согласуются со структурой полисахарида и с установленными на основании данных оптического вращения абсолютными конфигурациями моносахаридов.

Таким образом, на основании полученных данных установлена следующая структура повторяющегося звена полисахарида *A. haloplanktis* KMM 156:



$$\begin{array}{c} 3 \\ \uparrow \\ 1 \end{array}$$


где *D-Glc*3Lac — остаток 3-O-[(*R*)-1-карбоксиэтил]-*D*-глюкозы. Этот необычный кислый моносахарид является дезамино-аналогом мурамовой кислоты, широко распространенной в природе в качестве одного из компонентов пептидогликана клеточной стенки микроорганизмов. Кроме уже отмечавшегося первого обнаружения в составе внеклеточного полисахарида *Pseudomonas fragi* [3], 3-O-[(*R*)-1-карбоксиэтил]-*D*-глюкоза идентифицирована также в составе O-антигенного полисахарида *Proteus vulgaris* 025 [11].

Экспериментальная часть

^1H -ЯМР-спектры сняты на приборе Bruker WM 250 в D_2O при 90° C для полисахарида и 30° C для моносахарида (I). ^{13}C -ЯМР-спектры сняты на спектрометре Bruker AM 300 в D_2O при 60° C для полисахаридов и 30° C для моносахарида (I). ЯЭО-спектры и двумерный гетероядерный $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ корреляционный (COSY) спектр получены как описано ранее [12].

Растворы лиофилизовали или упаривали в вакууме. Оптическое вращение измеряли на поляриметре Perkin — Elmer 141. Нисходящую хроматографию проводили на бумаге Filtrak FN-15 и Whatman 3MM в системе растворителей *n*-бутанол — пиридин — вода, 6 : 4 : 3; электрофорез на бумаге проводили в 0,25 M пиридин-ацетатном буфере, pH 4,5 (10 В/см в течение 90 мин). Моносахариды обнаруживали щелочным нитратом серебра. Ионообменную хроматографию проводили на колонке с DEAE TSK 650M в 50 mM трис-HCl-буфере (pH 7,0); кислую фракцию элюировали 0,5 M NaCl в том же буфере. Гель-хроматографию выполняли на колонках с гелями Sephadex G-100 (2,5×100 см) и G-50 (2,5×

× 100 см) в 0,3% уксусной кислоте. ВЭЖХ проводили на колонке (7,5 × 150 мм) с сорбентом TSK DEAE 3SW в 2% уксусной кислоте. Элюиционные кривые строили с помощью дифференциального рефрактометра RIDK 101 (ЧСФР). ГЖХ и ГЖХ-масс-спектрометрию проводили как описано ранее [13].

Микроорганизм и наработка микробной массы. Для исследования взят штамм *A. haloplanktis* KMM 156 из коллекции морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН, выделенный из мидии *Cremnomytilus grayanus* на морской экспериментальной станции ТИБОХ (б. Троица). Штамм идентифицирован как *A. haloplanktis* на основании морфологических, культуральных и физиолого-биохимических признаков [14]; по данным электронной микроскопии, микроорганизм содержал капсулу. Бактерии культивировали на жидкой среде, содержащей 500 мл морской воды, 500 мл дистиллированной воды, 5 г пептона, 2,5 г дрожжевого экстракта, 1 г глюкозы, 0,02 г KH_2PO_4 и 0,05 г MgSO_4 , в колбах на качалке при комнатной температуре в течение 36 ч и центрифугировали на проточной центрифуге.

Выделение капсульного и О-специфического полисахарида. Сырую микробную биомассу, полученную из 40 л среды, обрабатывали ультразвуком при 44 кГц в физиологическом растворе 2 раза по 5 мин. Раствор центрифугировали при 7000 об/мин, супернатант диализовали, концентрировали, осаждали 5 объемами этанола и лиофилизовали. Выход 600 мг. Осадок 2 раза обрабатывали по Вестфалу [1], нуклеиновые кислоты осаждали 50% трихлоруксусной кислотой при pH 2, осадок удаляли центрифугированием. Супернатант диализовали, концентрировали и ультрацентрифугировали при 105000 g 3 ч. Выход капсульного полисахарида (супернатант) 2,540 мг, ЛПС (осадок) — 640 мг. ЛПС (500 мг) гидролизовали 3 ч 1% уксусной кислотой (50 мл, 100° С), осадок липида А удаляли центрифугированием (180 мг), раствор упаривали до небольшого объема и хроматографировали на сефадексе G-50. Получали О-специфический полисахарид (120 мг) и олигосахаридную фракцию (80 мг), которая в дальнейшем не исследовалась. Капсульный (1 г) и О-специфический (120 мг) полисахариды подвергали ионообменной хроматографии на геле DEAE TSK 650M. Нейтральные фракции элюировали 50 мМ трис-HCl-буфером (15 и 2 мг соответственно), кислые — 0,5 М NaCl в том же буфере (400 и 80 мг соответственно). Кислые фракции после диализа хроматографировали на геле Sephadex G-100 (300 и 60 мг).

Распад по Смитсу. КПС (70 мг) обрабатывали 0,1 М NaIO_4 (7 мл) как описано ранее [11]. Восстановленный NaBH_4 продукт гидролизовали 1% уксусной кислотой (100° С, 2 ч), восстанавливали NaBH_4 , подкисляли и хроматографировали на геле TSK HW 40. Выход 50 мг.

Метилирование КПС проводили по методу [8] с последующим диализом. Ацетаты частично метилированных полиолов и метилгликозидов получали по стандартным методикам и анализировали ГЖХ-масс-спектрометрией.

Полный кислотный гидролиз. КПС гидролизовали 0,5 М трифторуксусной кислотой (1 мл, 100° С, 3 ч), гидролизат упаривали и анализировали БХ и ГЖХ в виде ацетатов полиолов и метилгликозидов. Для количественного анализа аминосугаров КПС гидролизовали 4 М HCl (100° С, 4 ч). В препаративном варианте гидролиза использовали 470 мг КПС и 30 мл кислоты; гидролизат упаривали и осаждали из воды 5 объемами этанола. Продукт из этанольного раствора (410 мг) подвергали препаративной БХ и электрофорезу. Получили L-рамнозу (30 мг), $[\alpha]_{578}^{20} + 5,4^\circ$ (с 2,0, вода), которую метанолизом 1 М HCl в метаноле (1 мл, 100° С, 1 ч) превратили в метил-L-рамнопиранозид, $[\alpha]_{578}^{20} - 61^\circ$ (с 1,2, вода), ср. $[\alpha]_D - 67,2^\circ$ (вода) [15]. Электрофорезом получен глюкозамин (20 мг), который превращали в хлоргидрат обработкой 0,1 М HCl — $[\alpha]_{578}^{20} + 70^\circ$ (с 2,0, вода), ср. $[\alpha]_D + 73,2^\circ$ (вода) [16], и моносахарид (I) (20 мг), который дополнительно очищали на сорбенте TSK DEAE 3SW, $[\alpha]_{578}^{20} + 42^\circ$ (с 1,2, вода), ср. $[\alpha]_D + 69^\circ$ (вода) [3].

Авторы благодарят канд. хим. наук Н. А. Парамонова за помощь в идентификации глюколактиловой кислоты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Westphal O., Lüderitz O., Bister F.//Z. Naturforsch. 1952. В. 7В. N 1. S. 148—155.
2. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Kochetkov N. K.//Carbohydr. Res. 1989. V. 175. N 1. P. 59—75.
3. Parolis L. A. S., Parolls H., Dutton G. G. S., Wing P. L., Skura B. J.//Carbohydr. Res. 1991. V. 216. P. 495—504.
4. Doddrell D. M., Pegg D. T., Bendall M. R.//J. Magn. Reson. 1982. V. 48. P. 323—327.
5. Bock K., Pedersen C.//J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1974. N 3. P. 293—297.
6. Шашков А. С., Евстигнеев А. Ю., Деревицкая В. А.//Биоорган. химия. 1978. Т. 4. № 11. С. 1495—1506.
7. Cyr N., Perlin A. S.//Can. J. Chem. 1979. V. 57. N 18. P. 2504—2511.
8. Nakomori S.//J. Biochem. (Тоkyo). 1964. V. 55. N 1. P. 205—208.
9. Бенидзе М. М., Джикия О. Д., Пхеидзе Т. А., Кемертелидзе Э. П., Шашков А. С.//Химия природн. соедин. 1987. № 4. С. 537—542.
10. Kochetkov N. K., Shashkov A. S., Lipkind G. M., Knirel Y. A.//Sov. Sci. Rev. Sect. B. 1990. V. 13. N 2. P. 1—73.
11. Книрель Ю. А., Виноградов Е. В., Шашков А. С., Сидорчик З., Каца В., Рожальски А., Котелко К., Кочетков Н. К.//Докл. РАН. 1992. Т. 324. № 2. С. 333—338.
12. Shashkov A. S., Vinogradov E. V., Daeva E. D., Knirel Y. A., Zdorovenko G. M., Gubanova N. Y., Yakovleva L. M., Zakharova I. Y.//Carbohydr. Res. 1991. V. 212. N 2. P. 301—305.
13. Горшкова Р. П., Исаков В. В., Шевченко Л. С., Оводов Ю. С.//Биоорган. химия. 1991. Т. 17. № 2. С. 252—257.
14. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*/Ed. Holt J. C. Baltimore: Williams and Wilkins, 1984. V. 1. P. 343—352.
15. Fisher E., Bergmann M., Rabe A.//Chem. Ber. 1920. B. 53. N 11. S. 2362—2388.
16. Micheel F., Klemmer A.//Chemie der Zucker und Polysaccharide. Leipzig: Academsche Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., 1956. S. 467.

Поступила в редакцию
28.IX.1992

R. P. Gorshkova, E. L. Nazarenko, V. A. Zubkov, E. P. Ivanova,
Yu. S. Ovodov, A. S. Shashkov*, Y. A. Knirel*

STRUCTURE OF THE REPEATING UNIT OF THE ACIDIC POLYSACCHARIDE FROM *ALTEROMONAS HALOPLANKTIS* KMM 156

Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Division, Russian Academy of Sciences, Vladivostok;

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

An acidic capsular and an O-specific polysaccharide were isolated from the marine microorganism *Alteromonas haloplanktis* KMM 156. Both polysaccharides have the identical structure and are built up of tetrasaccharide repeating units, containing two residues of L-rhamnose as well as a 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose and a 3-O-[(R)-1-carboxyethyl]-D-glucose (Glc3Lac) residue. On the basis of methylation studies, ¹H- and ¹³C-NMR-spectroscopy including nuclear Overhauser effect and two-dimensional heteronuclear ¹³C/¹H correlation spectroscopy, the following structure was suggested for the polysaccharide repeating unit:

