



УДК 547.458.02:543.422.23

¹³C-ЯМР-АНАЛИЗ ПОЛИСАХАРИДА О-СПЕЦИФИЧЕСКИХ БОКОВЫХ ЦЕПЕЙ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА ИЗ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* 1В СЕРОВАРА

Исаков В. В., Горшкова Р. П., Толмич С. В.,
Оводов Ю. С.

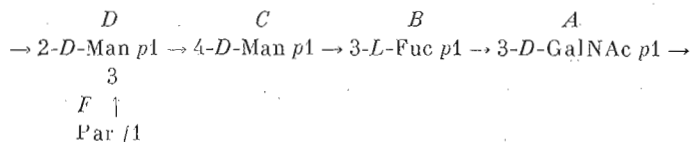
Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВНЦ
Академии наук СССР, Владивосток

Шапиков А. С.

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

Снят и интерпретирован спектр ¹³C-ЯМР специфического полисахарида *Yersinia pseudotuberculosis* 1В серовара. Полученные данные позволили установить конфигурации гликозидных связей и подтвердить структуру повторяющегося звена полисахарида, установленную ранее независимым путем.

Структура повторяющегося звена О-специфического полисахарида, выделенного при фрагментации липополисахарида *Yersinia pseudotuberculosis* 1В серовара, была установлена ранее химическими методами [1] *.

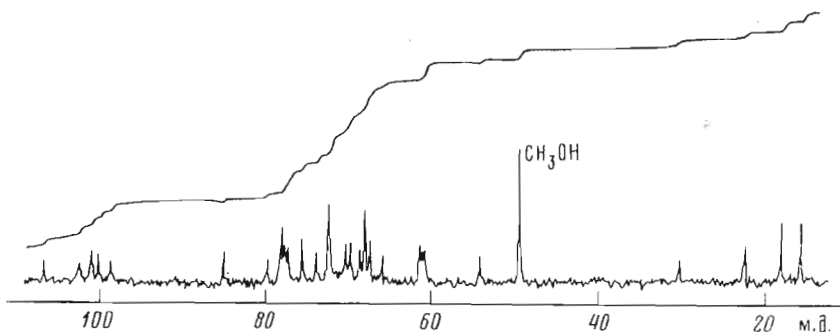


Для определения конфигурации гликозидных связей и подтверждения этой структуры в настоящей работе был использован метод ¹³C-ЯМР-спектроскопии. Поскольку гетерополисахариды, включающие 4–5 различных моносахаридных остатков, относятся к числу мало изученных методом спектроскопии ¹³C-ЯМР [2], расшифровка их спектров представляет интерес для определения их характерных особенностей и в конечном счете должна помочь в определении химической структуры подобных полисахаридов.

Спектр ¹³C-ЯМР специфического полисахарида из *Yersinia pseudotuberculosis* 1В серовара представлен на рисунке **. Он состоит из 32 сигналов (сигнал с химическим сдвигом 174,6 м.д. на рисунке не приведен), часть которых имеет кратную интегральную интенсивность, а в области резонанса аномерных атомов углерода наблюдается 5 сигналов (106,6; 102,3; 100,8; 100,0 и 98,6 м.д.) с равным соотношением интегральных интенсив-

* Par — паратоза (3,6-дидезокси-D-рибоза).

** Авторы благодарны сотрудникам ИХФ АН СССР Л. А. Сибельдиной и Н. Ф. Сепетову за возможность получения спектра ¹³C-ЯМР на приборе «Bruker НХ-360».



ностей. Это указывает на то, что специфический полисахарид построен из регулярно повторяющихся пентасахаридных звеньев.

Отнесение некоторых сигналов в спектре очевидно из общих закономерностей в спектрах ^{13}C -ЯМР углеводов [2]. Так, сигналы с химическими сдвигами 16,0 и 18,3 м.д. относятся к С-атомам метильных групп 6-дезоксисахаров, а сигнал при 30,6 м.д. принадлежит С-атому метиленовой группы в цикле. В области резонанса С-атомов оксиметильных групп наблюдается 3 сигнала (60,9; 61,2 и 61,4 м.д.) единичной интенсивности. О наличии остатка 2-ацетида-2-дезоксигексозы свидетельствует сигнал С2-атома, связанного с ацетидамидной группой, а также сигналы с химическими сдвигами 22,9 и 174,6 м.д., относящиеся к CH_3 - и CO -атомам ацетидамидной группы. Сигнал при 85,1 м.д. характерен для фуранозных форм сахаров с ксило- или рибоконфигурацией заместителей [3]. Все эти детали спектра находятся в полном соответствии с ранее установленной структурой.

Более подробный анализ спектра позволяет определить конфигурации гликозидных связей. Конфигурация аномерного центра 3,6-дидезокси-*D*-рибогексозы (паратозы, звено *E*) следует из величины химического сдвига сигнала С1-атома (106,6 м.д.), характерного для β -конфигурации фуранозных форм сахаров [3]. Вопрос о конфигурации аномерного центра 2-ацетида-2-дезоксидеокси-*D*-глюкозы (звено *A*) решается по величине химического сдвига (54,3 м.д.) сигнала С2-атома. Так, в спектре метил-2-ацетида-2-дезоксидеокси-3-О-метил- β -*D*-глюкопиранозида С2-атом резонирует для α -аномера при 52,4 м.д., а для β -аномера — при 54,5 м.д. [4]. Таким образом, достаточно ясно, что звено *A* имеет β -конфигурацию при аномерном центре. Сопоставление химических сдвигов сигналов в спектрах метил-2-ацетида-2-дезоксидеокси-3-О-метил- β -*D*-глюкопиранозида и полимера позволяет выделить сигналы С-атомов звена *A* (таблица).

Среди оставшихся сигналов аномерной области 100,8; 100,0 и 98,6 м.д. два должны принадлежать маннозным звеньям (*C* и *D*), конфигурация которых по величинам химических сдвигов сигналов аномерных С-атомов не определяется, а третий сигнал может принадлежать не β -, а α -фукопиранозному остатку (звено *B*), так как из трех рассматриваемых сигналов все лежат в области более высокого поля, чем 102,0 м.д. [2]. В то же время анализ области 75—85 м.д., где обычно резонируют кольцевые С-атомы, участвующие в образовании гликозидной связи, и С5-атомы пиранозных звеньев в случае β -конфигурации при аномерном центре [2], показывает, что в этой области без учета сигналов звена *A* наблюдаются только 4 сигнала. Эти сигналы необходимо отнести к кольцевым С-атомам, участвующим в образовании гликозидной связи. Отсюда следует, что остатки маннозы должны иметь α -конфигурацию гликозидного центра, так как при β -конфигурации сигналы атомов С5 маннозных остатков должны были бы обнаружиться в области 76—77 м.д. независимо от способа замещения [2].

Полная расшифровка спектра полисахарида была осуществлена с помощью анализа литературных данных спектров ^{13}C -ЯМР моносахаридов,

Отнесение сигналов атомов углерода в спектре ^{13}C -ЯМР полисахарида
из *Y. pseudotuberculosis* 1В серовара

Атом углерода	Моносахаридный остаток				
	A *	B **	C **	D **	E
1	102,3 (102,2)	100,0 (101,2)	100,8 (101,8)	98,6 (98,7)	106,6
2	54,3 (54,4)	68,2 (68,8)	72,3 (71,4)	77,3 (76,7)	74,0
3	79,8 (83,6)	78,0 (81,0)	70,4 (71,4)	78,0 (81,0)	30,6
4	68,6 (69,4)	69,8 (69,4)	77,7 (77,9)	66,1 (67,1)	85,1
5	75,6 (76,2)	67,5 (67,6)	72,5 (72,7)	72,5 (73,6)	68,2
6	60,9 (61,4)	16,0 (16,7)	61,2 (61,8)	61,9 (62,0)	18,3

* В скобках приведены химические сдвиги метил-2-ацетиамидо-2-дезоксиглюкопиранозидов [4].

** Для звеньев B, C и D в скобках приведены соответственно рассчитанные величины химических сдвигов для метил-3-О-метил- α -L-фукопиранозидов, метил-4-О-метил- α -D-маннопиранозидов и метил-3,4-ди-О-метил- α -D-маннопиранозидов.

входящих в состав полисахарида. Сигналы звена A отнесены, как указывалось выше, путем сравнения со спектром метил-2-ацетиамидо-2-дезоксиглюкопиранозидов [4]. Значения химических сдвигов C-атомов звеньев C и D были рассчитаны на основе данных ^{13}C -ЯМР метиловых эфиров α -D-маннозы [5], а для звена B — с использованием данных для α -L-фукопиранозидов [2] и метиловых эфиров α -D-галактозы, для которых вводились поправки, учитывающие влияние замены первично-спиртовой группы на метильную. При отнесении сигналов учитывалось, что эффекты метилирования и гликозирования имеют одинаковую направленность, хотя могут различаться по величине [2]. Положение сигналов 3,6-дидезокси-D-рибогексозы (звено E) было найдено методом исключения, а их отнесение выполнено на основании анализа данных, опубликованных по фуранозным формам сахаров [5].

Таким образом, данные спектра ^{13}C -ЯМР полисахарида позволили установить конфигурации гликозидных связей и подтвердили правильность установленной ранее структуры повторяющегося звена специфического полисахарида *Y. pseudotuberculosis* 1В.

Экспериментальная часть

Выделение специфического полисахарида из липополисахарида *Y. pseudotuberculosis* 1В серовара (штамм № 12) описано в работе [1]. Спектр ^{13}C -ЯМР получен на приборе «Bruker Physics НХ-360» с рабочей частотой по углероду 90,55 МГц. В качестве внутреннего стандарта использовался метанол (49,6 м.д.). Химические сдвиги пересчитаны относительно тетраметилсилана. Полисахарид исследовали растворенным в D_2O .

ЛИТЕРАТУРА

1. Tomshich S. V., Gorshkova R. P., El'kin Yu. N., Ovodov Yu. S. Lipopolysaccharide from *Yersinia pseudotuberculosis*, Type 1В. A structural study of O-specific chains. — Eur. J. Biochem., 1976, v. 65, № 1, p. 193–199.
2. Шашков А. С., Чижов О. С. Спектроскопия ^{13}C -ЯМР в химии углеводов и родственных соединений. — Биоорганич. химия, 1976, т. 2, № 4, с. 437–497.
3. Gorin P. A. J., Mazurek M. Carbon-13 and proton nuclear magnetic resonance studies on methyl aldofuranosides and their O-alkyl derivatives. — Carbohydr. Res., 1976, v. 48, № 2, p. 171–186.
4. Шашков А. С., Евстигнеев А. Ю., Деревицкая В. А. Синтез и спектры ^{13}C -ЯМР моно- и диметиловых эфиров метил-2-ацетиамидо-2-дезоксиглюкопиранозидов. — Биоорганич. химия, 1978, т. 4, № 11, с. 1495–1506.

5. Gorin P. A. J. Assignment of signals of the carbon-13 magnetic resonance spectrum of a selected polysaccharide: comments on methodology.— Carbohydr. Res., 1975, v. 39, № 1, p. 3–10.

Поступила в редакцию
1.X.1980

**¹³C NMR ANALYSIS OF O-SPECIFIC SIDE CHAIN POLYSACCHARIDE
OF LIPOPOLYSACCHARIDE FROM *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*
1B SEROVAR**

**ISAKOV V. V., GORSHKOVA R. P., TOMSHICH S. V.,
OVODOV Yu. S., SHASHKOV A. S.**

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Science Center,
Academy of Sciences of the USSR, Vladivostok; N. D. Zelinsky Institute
of Organic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

The ¹³C NMR spectrum of O-specific side chain polysaccharide isolated from *Yersinia pseudotuberculosis* 1B serovar lipopolysaccharide has been taken and interpreted. This allowed to elucidate the configuration of glycosidic bonds and to confirm the earlier proposed structure of the repeating unit of polysaccharide.
