



УДК 547.458.02:543.422.23

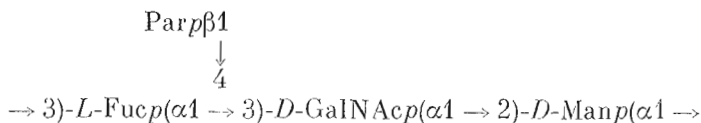
¹³C-ЯМР-СПЕКТР О-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПОЛИСАХАРИДА ИЗ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *YERSINIA* *PSEUDOTUBERCULOSIS* СЕРОВАРА III

Исаков В. В., Командрова Н. А., Горникова Р. П.,
Оводов Ю. С.

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВНЦ
Академии наук СССР, Владивосток

Интерпретирован спектр ¹³C-ЯМР О-специфического полисахарида *Yersinia pseudotuberculosis* серовара III. Полученные данные позволили уточнить конфигурацию гликозидных связей и подтвердить структуру полисахарида О-специфических боковых цепей, установленную ранее независимым путем.

Структура повторяющегося звена О-специфического полисахарида *Y. pseudotuberculosis* серологического варианта III была установлена ранее химическими методами [1]:



В настоящей работе использован метод спектроскопии ¹³C-ЯМР с целью уточнения конфигурации гликозидных связей и подтверждения структуры. В спектре ¹³C-ЯМР О-специфического полисахарида *Y. pseudotuberculosis* серовара III (рисунок) в области резонанса аномерных С-атомов наблюдается четыре сигнала с химическими сдвигами 105,9; 104,5; 100,6 и 100,1 м.д. Это указывает на то, что О-специфический полисахарид построен из регулярно повторяющихся тетрасахаридных звеньев.

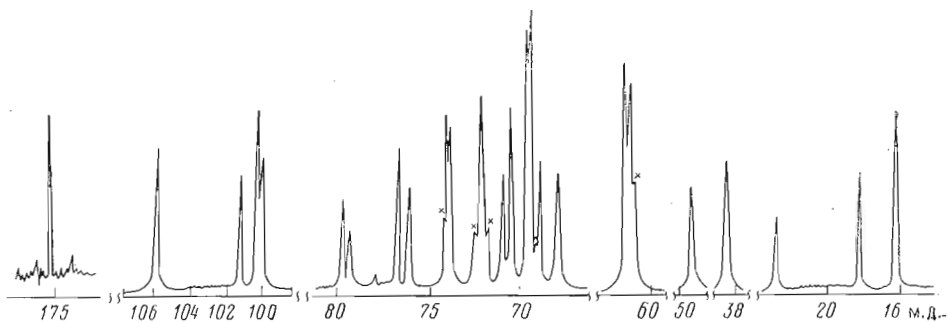
Отнесение некоторых сигналов в спектре очевидно из общих закономерностей в спектрах ¹³C-ЯМР углеводов [2]. Так, сигналы с химическими сдвигами 16,3 и 18,3 м.д. относятся к С-атомам метильных групп 6-дезоксисахаров. Сигнал с химическим сдвигом 38,9 м.д. принадлежит С-атому метиленовой группы в цикле. О наличии остатка 2-ацетида-2-дезоксигексозы свидетельствует сигнал С2-атома (49,6 м.д.), связанного с ацетамидной группой, а также сигналы с химическими сдвигами 22,9 и 175,1 м.д., относящиеся к СН₃- и СО-атомам ацетамидной группы. Два сигнала (61,6 и 61,8 м.д.) в области резонанса С-атомов оксиметильных групп свидетельствуют о наличии двух гексоз.

Таким образом, данные спектра ¹³C-ЯМР указывают на то, что повторяющееся тетрасахаридное звено О-специфического полисахарида представлено двумя гексозами, одна из которых является 2-ацетида-2-дезоксигексозой, и двумя 6-дезоксигексозами. Это заключение находится в соответствии с химическими данными.

Конфигурация гликозидных связей в полисахариде определяется из спектра на основании следующего анализа. Конфигурация аномерного центра паратозы следует из величины химического сдвига сигнала С3-атома (38,6 м.д.), характерного для β-D-паратозы, находящейся в пиранозной форме (38,9 м.д.) (таблица). Величина химического сдвига сигнала С2-атома (49,6 м.д.) галактозамина характерна для 2-ацетида-2-дезоксигексозы-α-D-галактопиранозида, гликозильированного по С3-атому [3].

Конфигурация аномерного центра остатка маннозы определяется из анализа области 74–80 м.д., где расположены сигналы кольцевых С-ато-

Par — партоза (3,6-дидезокси-D-рибо-гексоза).



Спектр ^{13}C -ЯМР специфического полисахарида из *Y. pseudotuberculosis* серовара III. x — примесь глюкозы

мов, участвующих в образовании гликозидной связи, и C3- и C5-атомов β -аномеров *D*-манно- и *D*-галактопираноз. В данной области спектра полисахарида *Y. pseudotuberculosis* серовара III наблюдается пять сигналов, которые необходимо отнести к четырем кольцевым C-атомам, участвующим в образовании гликозидной связи, и C5-атому β -*D*-парадозы (76,4 м.д.). Это указывает, что остаток маннозы имеет α -конфигурацию, так как в случае β -конфигурации в рассматриваемой области должен наблюдаться сигнал C3-атома (75,0 м.д.) и C5-атома (77,8 м.д.) маннозного остатка.

Конфигурация аномерного центра остатка фукозы следует из величины β -эффектов гликозилирования по C3-атому остатка α -*D*-галактозамина [4]. Отсутствие сигнала в области 65 м.д. указывает на то, что β -эффект на C4-атом остатка α -*D*-галактозамина не превышает 2 м.д. Это соответствует α -*L*- или β -*D*-конфигурации гликозилирующего остатка фукозы. В то же время отсутствие сигнала в области 104–105 м.д., характерного для C1-атома фукозного остатка во фрагменте [β -*D*-Fuc1 \rightarrow 3-*D*-Gal] позволяет исключить β -*D*-конфигурацию для фукозы [5]. Следовательно, остаток фукозы имеет α -*L*-конфигурацию.

Отнесение всех сигналов в спектре ^{13}C -ЯМР полисахарида О-специфических боковых цепей из липополисахарида *Y. pseudotuberculosis* серовара III (таблица) проведено на основании данных спектров ^{13}C -ЯМР мо-

Химические сдвиги сигналов в спектрах ^{13}C -ЯМР полисахарида *Y. pseudotuberculosis* серовара III и модельных моносахаридов

Соединение	Остаток пиранозы	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Полисахарид	Par (β 1 \rightarrow	105,9	69,2	38,6	70,3	76,5	18,3
	\rightarrow 2) Man (α 1 \rightarrow	101,5	79,8	73,6	69,3	73,9	61,6 *
	\rightarrow 3) GalNAc (α 1 \rightarrow	100,1	49,4	77,7	68,6	71,9	61,8 *
	\rightarrow 3,4) Fuc (α 1 \rightarrow	100,5	70,7	75,9	79,4	67,6	16,3
3,6-Дидезокси- β - <i>D</i> -рибо-гексоза Метил- α - <i>D</i> -маннопиранозид	Par β 1	98,5	69,6	38,9	70,4	76,4	17,5
	Man α 1	101,9	71,2	71,8	68,0	73,7	62,1
	GalNAc α 1	98,7	50,4	68,4	69,0	71,1	61,6
Метил-2-ацетамидо-2-дезоксид α - <i>D</i> -галактопиранозид							
3,4-Ди-О-метил- α - <i>L</i> -фукопиранозид	3,4Me ₂ Fuc α 1	100,08	68,0	78,9	80,3	67,3	16,16

* Отнесение сигналов неоднозначно.

носсахаридов, входящих в состав полисахарида, с учетом эффектов гликозилирования [2-5].

Таким образом, анализ спектра ^{13}C -ЯМР полностью подтвердил правильность установленной ранее структуры повторяющего звена специфического полисахарида *Y. pseudotuberculosis* серовара III.

Экспериментальная часть

Специфический полисахарид из липополисахарида *Y. pseudotuberculosis* серовара III (штамм № 209) выделяли как описано ранее [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 растворяли в $^2\text{H}_2\text{O}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gorshkova R. P., Komandrova N. A., Kalinovsky A. I., Ovodov Yu. S. Eur. J. Biochem., 1980, v. 107, № 1, p. 131-135.
2. Шашков А. С., Чижев О. С. Биооргани. химия, 1976, т. 2, № 4, с. 437-497.
3. Шашков А. С., Евстигнеев А. Ю., Дерезицкая В. А. Биооргани. химия, 1978, т. 4, № 11, с. 1495-1506.
4. Шашков А. С., Усов А. И., Книрель Ю. А., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. Биооргани. химия, 1981, т. 7, № 9, с. 1364-1371.
5. Шашков А. С. Биооргани. химия, 1983, т. 9, № 2, с. 246-252.

Поступила в редакцию
26.IV.1983

^{13}C NMR SPECTRUM OF O-SPECIFIC POLYSACCHARIDE FROM LIPOPOLYSACCHARIDE OF *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* III SEROVAR

ISAKOV V. V., KOMANDROVA N. A., GORSHKOVA R. P., OVODOV Yu. S.

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Science Center of the Academy
of Sciences of the USSR, Vladivostok*

A ^{13}C NMR spectrum of O-specific polysaccharide isolated from *Yersinia pseudotuberculosis* III serovar lipopolysaccharide has been interpreted. This allowed to define more precisely the configuration of glycosidic bonds and to confirm the structure of the repeating unit of the specific polysaccharide which was earlier established by other methods.