



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

mom 12 * №12* 1986

УДК 577.114.5.088.53 : 579.841.11

АНТИГЕННЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ БАКТЕРИЙ

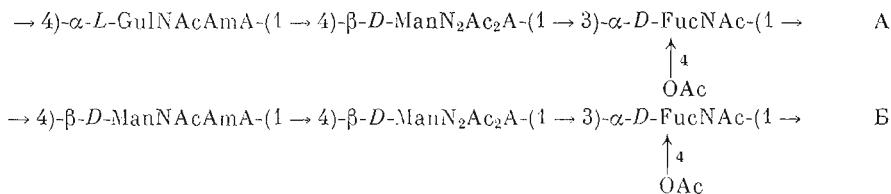
**20*. СТРУКТУРА О-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПОЛИСАХАРИДНОЙ ЦЕПИ
ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***
О(3а),3d, 3f (ЛАНІ)

*Книрель Ю. А., Парамонов Н. А., Виноградов Е. В.,
Пашков А. С., Джитриев Б. А., Кочетков Н. К.,
Станиславский Е. С*.*

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

*Институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова Минздрава СССР, Москва

О-Специфический полисахарид, полученный при мягкой кислотной деградации липополисахарида *Pseudomonas aeruginosa* O(За), 3d, 3f (классификация Лави), содержит в своем составе N-ацетил-D-фукозамин, 2,3-диацетамило-2,3-дидезокси-D-маннуроновую кислоту, 3-ацетамидо-2-ацетамило-2,3-дидезокси-L-гулуроновую и -D-маннуроновую кислоту, а также О-ацетильные группы. На основании данных О-дезацетилирования, избирательного расщепления безводным фтористым водородом, химической модификации полученных трисахаридов (гидролиза или восстановительного дезаминирования ацетамидиновой группы в ацетамидную или этиламино-группу соответственно) и анализа методом ^{13}C -НМР-спектроскопии найдено, что полисахарид построен в основном из трисахаридных повторяющихся звеньев типов А и Б в соотношении ~2:1 соответственно:



Наиболее вероятно, что оба типа звеньев находится в одной и той же полимерной цепи. Существование такой гибридной структуры может быть объяснено неполной эпимеризацией по C5 ацетамидинового производного маннуроновой кислоты на полимерном уровне в ходе биосинтеза этого полисахарида.

В ходе химического и иммунохимического исследования О-антителов бактерий *Pseudomonas aeruginosa* мы установили строение О-специфических полисахаридных цепей липополисахаридов четырех О-серотипов, входящих в серогруппу ОЗ [2–4] (классификация Лани [5]), а также серологически родственных им иммунотипов 3 и 7 [4, 6] (классификации Фишера [7]) и серотипа О25 [8] (классификация Вокача [9]). О-Специфический полисахарид пятого относящегося к серогруппе ОЗ серотипа О(3a),3d,3f был охарактеризован в работе [3] как нерегулярный, и его структура оставалась невыясненной. В настоящем сообщении показано, что этот полисахарид, по-видимому, относится к биополимерам с замаскированной регулярностью, и установлено строение двух типов составляющих его олигосахаридных звеньев.

О-Специфический полисахарид серотипа О(За),3d,3f был выделен как описано ранее [3]. Он был кислым по данным электрофореза на бумаге [3] и высокоэффективной ионообменной хроматографии на TSK DEAE-3SW. Полисахарид элюировался с колонки при концентрации хлористого натрия 0,4 М, давая на элюционной кривой один острый симметричный

* Сообщение 19 см. [1]. Сокращения: FucNAc — 2-ацетамило-2,6-дидезоксигалактоза (N-ацетилфукозамин), Man₂Ac₂A — 2,3-диацетамило-2,3-дидезоксимиануроновая кислота, ManNAcAmA и GulNAcAmA — 3-ацетамилино-2-ацетамило-2,3-дидезоксимиануроновая и -гулуроновая кислота.

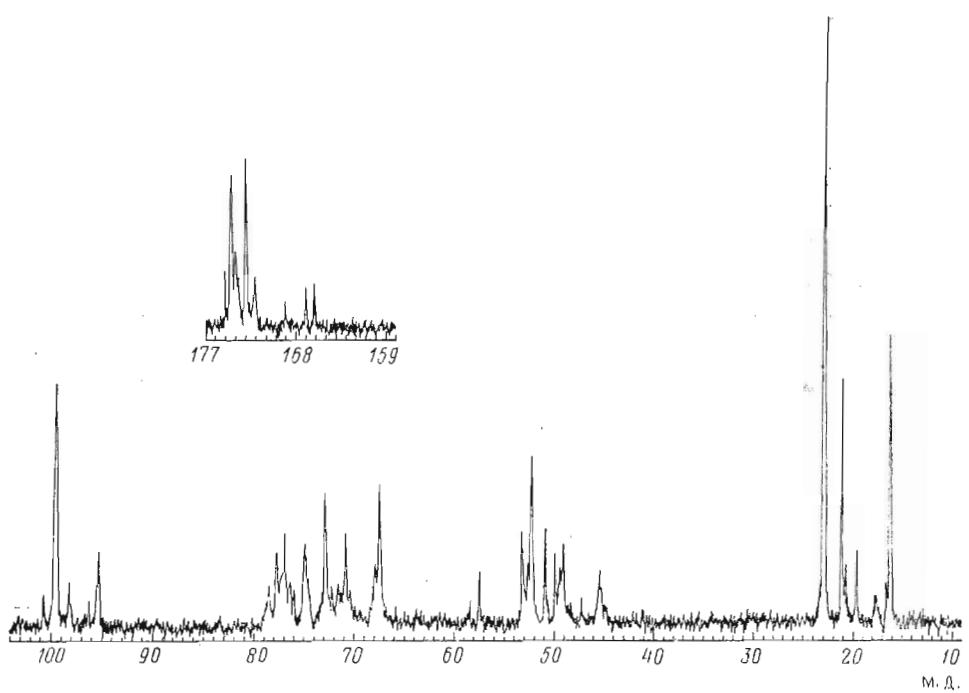


Рис. 1. ^{13}C -ЯМР-спектр О-специфического полисахарида *P. aeruginosa* O(3a), 3d, 3f

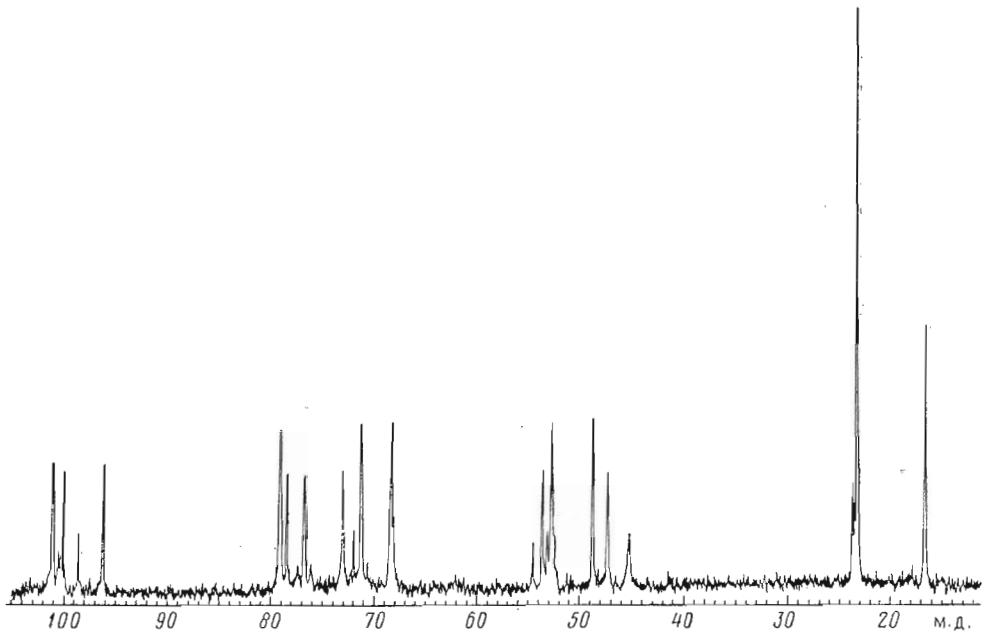


Рис. 2. ^{13}C -ЯМР-спектр обработанного триэтиламином полисахарида *P. aeruginosa* O(3a), 3d, 3f

пик, что свидетельствовало о его гомогенности по плотности отрицательного заряда.

В ^{13}C -ЯМР-спектре полисахарида (рис. 1) присутствовали сигналы метильной группы 6-дезоксисахара при 16,3 м.д., N-ацетильных групп при 22,9–23,0 м.д., О-ацетильной группы при 21,4 м.д., сигналы ацетамидовых групп (19,7 и 20,8 м.д., CH_3 , 167,4; 168,2 и 170,0 м.д., $\text{N}=\text{C}-\text{N}$), сигналы карбонильных углеродных атомов ацетильных и карбоксильных групп в области 173–177 м.д., группа сигналов аномерных атомов углерода в области 95–100 м.д., атомов углерода, связанных с азотом, при-

Химические сдвиги в ^{13}C -ЯМР-спектрах (δ , м. д.) *

Соединение	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Звено А						
ПС О(3а), 3d, 3f **	99,7	45,4	49,8	70,8	67,9	
	99,7	50,9	57,4	71,6	78,5	
Обработанный Et_3N ПС О(3а), 3d, 3f **	100,0	45,1	47,2	72,9	68,3	
	100,4	52,5	54,4	71,9	77,3	
ПС иммунотипа 7	99,9	45,7	50,0	70,7	68,4	
ПС О3а, 3d [4]	99,8	51,0	57,6	71,4	78,7	
Обработанный Et_3N ПС им- мунотипа 7 [6]	100,1	45,2	46,8	72,6	68,9	
Обработанный Et_3N ПС О3а, 3d [4]	100,7	52,2	54,1	71,7	77,2	
Трисахарид (I)	100,0	45,6	54,7	67,3	69,3	
(II)	99,5	50,7	57,4	67,1	78,4	
Биозид (III)	99,9	47,2	57,9	65,4	69,4	
(IV)	99,6	50,7	57,5	67,2	79,0	
(V) [4]	99,7	50,6	57,4	67,2	78,5	
Трисахарид (VI)	100,1	45,2	51,5	69,3	69,3	
(VII)	100,9	52,6	54,6	67,3	79,2	
Биозид (VIII)	100,2	45,1	51,5	69,0	69,0	
(IX)	100,6	52,1	54,6	67,3	78,6	
(X) [4]	100,6	52,4	54,4	66,9	77,6	
Звено В						
ПС О(3а), 3d, 3f **	99,7	52,3	53,2	76,9	77,7	
	99,7	52,3	53,2	76,9	77,7	
Обработанный Et_3N	101,0	52,6	53,5	76,7	78,4	
ПС О(3а), 3d, 3f **	100,9	52,4	53,0	76,2	76,7	
ПС иммунотипа 7	101,0	52,5	53,5	77,4	77,9	
ПС О3а, 3d [4]	100,8	52,4	52,8	76,5	77,5	
Обработанный Et_3N	100,9	52,7	53,5	76,6	79,2	
ПС иммунотипа 7						
Обработанный Et_3N	100,9	52,0	52,8	75,6	76,3	
ПС О3а, 3d [4]						
Трисахарид (I)	100,8	52,4	53,5	77,4	78,4	
(II)	100,9	52,5	53,4	75,8	78,2	
Биозид (III)	99,6	52,1	54,2	78,0	78,0	
(IV)	100,0	52,2	53,2	76,0	78,1	
(V) [4]	100,6	52,2	53,2	76,1	77,9	
Трисахарид (VI)	100,9	52,7	53,5	76,4	79,2	
(VII)	100,9	52,2	53,2	75,3	76,4	
Биозид (VIII)	100,3	52,4	53,7	76,7	78,0	
(IX)	100,3	52,0	53,2	75,7	76,5	
(X) [4]	100,8	52,0	53,0	75,7	77,4	
Звено С						
ПС О(3а), 3d, 3f **	95,4	49,0	74,9	72,9	67,5	16,3
	98,2	49,4	74,7	72,9	67,3	16,3
Обработанный Et_3N	96,2	48,6	79,0	71,2	68,2	16,4
ПС О(3а), 3d, 3f **	98,5	48,6	79,0	71,1	68,1	16,4
ПС иммунотипа 7	95,5	48,4	79,1	71,2	68,6	16,5
ПС О3а, 3d [4]	98,3	48,7	78,7	70,9	68,2	16,4
Обработанный Et_3N	95,7	48,6	79,2	71,2	68,0	16,4
ПС иммунотипа 7						
Обработанный Et_3N	98,7	48,4	78,8	71,1	68,1	16,4
ПС О3а, 3d [4]						
Трисахарид (I) α	92,3	49,3	79,0	71,3	67,4	16,7
β	96,0	53,0	81,9	70,7	71,6	16,7
(II) α	92,3	49,3	79,0	71,3	67,4	16,7
β	96,1	53,1	81,9	70,7	71,6	16,7
Биозид (III)	62,0	52,6	77,0	73,7	66,1	19,4
(IV)	62,1	52,6	77,0	73,7	66,1	19,4
(V) [4]	61,7	52,7	80,8	62,4		
Трисахарид (VI) α	92,3	49,4	79,4	71,3	67,5	16,8
β	96,0	52,7	82,2	70,6	71,7	16,8
(VII) α	92,3	49,4	72,4	71,3	67,5	16,8
β	96,0	52,9	82,2	70,6	71,7	16,8
Биозид (VIII)	61,9	52,6	77,1	73,6	66,2	19,3
(IX)	62,0	52,6	77,0	73,6	66,2	19,3
(X) [4]	61,7	52,7	80,6	62,6		

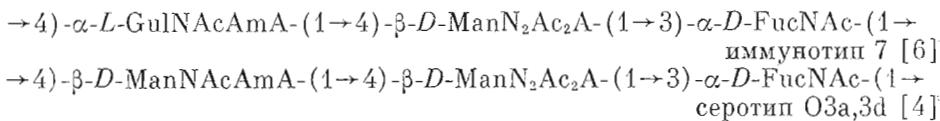
* ПС — полисахарид. Химические сдвиги сигналов (м. д.): CH_3CON 22,9—23,7, CH_3COO 21,1—21,5, $\text{CH}_3\text{C}(\text{=N})\text{N}$ 19,6—20,9, $\text{N}=\text{C}-\text{N}$ 167,0—170,2, CH_3CO и COOH 173—176, CH_3CH_2 10,9, CH_2CH_2 45,4.

** В первой строке приведены химические сдвиги для повторяющихся звеньев с *α-L*-глюкозидной конфигурацией звена А.

45–58 м.д. и вторичных атомов углерода, связанных с кислородом, в области 67–80 м.д. Интегральные интенсивности большинства сигналов в ^{13}C -ЯМР-спектре были некратными по отношению друг к другу, что указывало на отсутствие истинной регулярности в структуре этого полисахарида.

При кислотном гидролизе полисахарида был идентифицирован D-фукозамин, в то время как остальные компоненты, являющиеся, по-видимому, производными 2,3-диамино-2,3-дидезоксиuronовых кислот [3], обнаружены не были. Такое поведение этих моносахаридов отмечалось нами ранее при исследовании остальных полисахаридов серогруппы ОЗ [2, 3]; оно является следствием чрезвычайно высокой устойчивости их гликозидных связей к кислотному гидролизу, а также неустойчивости их свободных форм в условиях гидролиза.

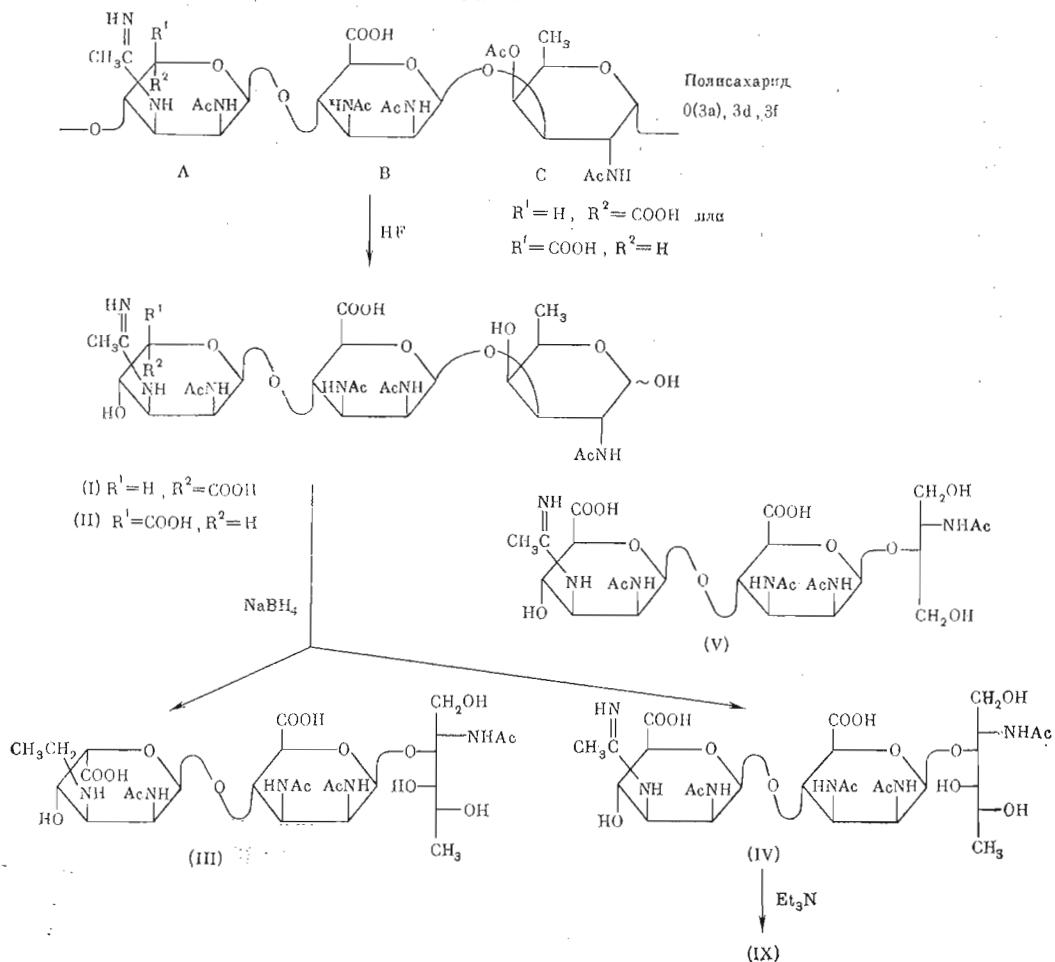
Далее полисахарид был обработан водным триэтиламином с целью превращения ацетамидиновых групп в ацетамидные и удаления О-ацетильных групп [8]. В ^{13}C -ЯМР-спектре модифицированного полисахарида (рис. 2) в области сильного поля присутствовали сигналы метильной группы 6-дезоксисахара при 16,4 м.д. и N-ацетильных групп при 23,1 м.д., тогда как сигналы О-ацетильных и ацетамидиновых групп отсутствовали. В области резонанса углеродных атомов C1–C5 моносахаридов спектр содержал две серии сигналов с соотношением интегральных интенсивностей $\sim 2:1$. Спектр, образованный сигналами преобладающей серии, был очень похож на спектр обработанного триэтиламином полисахарида *P. aeruginosa*, иммунотип 7 [6], а спектр второй серии был практически идентичен спектру обработанного таким же образом полисахарида *P. aeruginosa* ОЗа,3d [2, 4] (таблица). Эти два изученных ранее полисахарида [2, 4, 6] однотипно построены из трисахаридных повторяющихся звеньев, содержащих N-ацетил-D-фукозамин, 2,3-диацетамило-2,3-дидезокси-D-маннуроновую кислоту и 3-ацетамидино-2-ацетамило-2,3-дидезоксиuronовую кислоту с L-гуло-конфигурацией в полисахариде иммунотипа 7 и D-манно-конфигурацией в полисахариде серотипа ОЗа,3d, и имеют следующие структуры:



Совпадение линий в ^{13}C -ЯМР-спектрах позволяло предполагать, что полисахарид серотипа О(За),3d,3f одновременно включает повторяющиеся звенья как полисахарида иммунотипа 7, так и полисахарида серотипа ОЗа,3d. Для подтверждения этого предположения как интактный, так и обработанный триэтиламином полисахарид серотипа О(За),3d,3f были подвергнуты сольволизу безводным фтористым водородом. Этот метод получения олигосахаридных фрагментов очень удобен в применении к полисахаридам данной группы, так как при сольволизе избирательно-расщепляется гликозидная связь N-ацетилфукозамина, а гликозидные связи производных диаминоуроновых кислот полностью устойчивы, и в результате образуются трисахариды, представляющие собой химические повторяющиеся звенья этих полисахаридов [2–4, 6]. N-Ацетильные и ацетамидиновые группы фтористым водородом не затрагиваются [2–4, 6], тогда как О-ацетильные группы в условиях сольволиза полностью удаляются [10].

В результате сольволиза интактного полисахарида серотипа О(За),3d,3f образовалась смесь двух олигосахаридов (I) и (II), которые, по данным ^{13}C -ЯМР-спектра, являлись трисахаридами. За исключением О-ацетильных групп, они содержали все моносахаридные и неуглеводные компоненты полисахарида (схема 1). Спектры трисахаридов (I) и (II) (таблица) были идентичны спектрам трисахаридов, полученных ранее в качестве единственных продуктов расщепления безводным фтористым водородом полисахарида иммунотипа 7 [6] и серотипа ОЗа,3d [2, 4] соответственно.

Схема 1



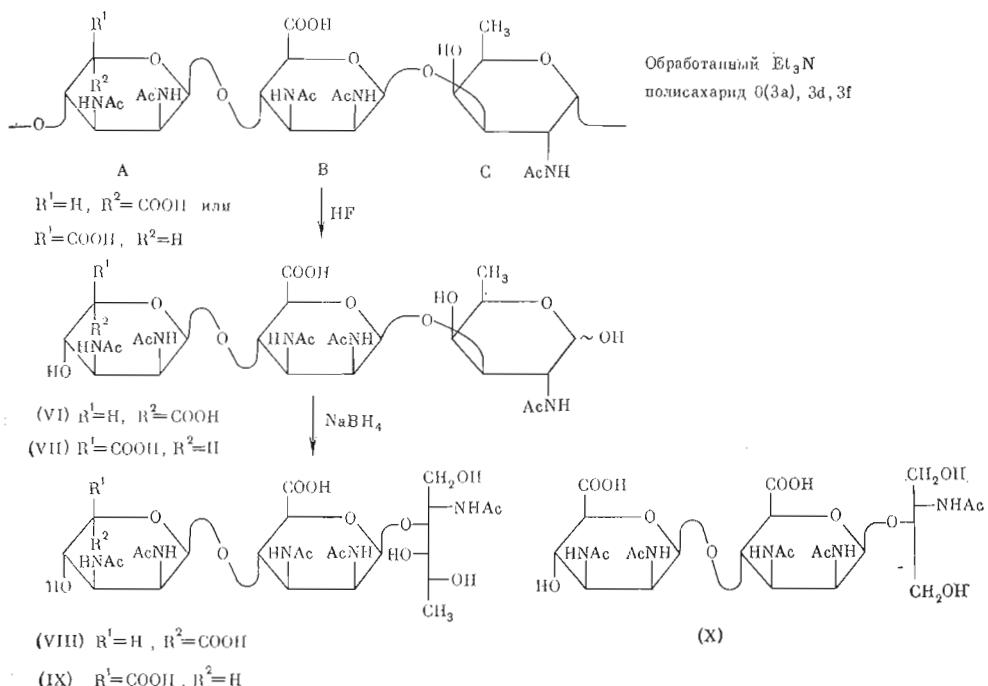
Смесь трисахаридов (I) и (II) была восстановлена боргидридом натрия в воде в смесь биозидов (III) и (IV), в которой основным компонентом был биозид (III). По данным ^{13}C -ЯМР-спектра, он был идентичен продукту восстановления трисахарида (I), полученного из полисахарида иммунотипа 7 [6]. Восстановление этого трисахарида не только приводит к превращению находящегося на восстанавливющем конце (I) остатка N-ацетилфукозамина (δ_c 92,3, C1 α , 96,0, C1 β , 16,7, C6) в остаток N-ацетилфукозаминитола (δ_c 62,0, C1, 19,4, C6), но и сопровождается восстановительным дезаминированием ацетамидиновой группы (δ_c 26,6, CH₃, 168,2, N=C—N), находящейся в положении 3 производного гулуроновой кислоты, в этиламиногруппу (δ_c 10,9, CH₃, 45,0, CH₂) [6].

При действии боргидрида натрия на трисахарид (II), в котором ацетамидиновая группа находится в положении 3 производного маннуроновой кислоты, в соответствии со сделанным ранее наблюдением [4] восстановительного дезаминирования не происходит. ^{13}C -ЯМР-спектр образовавшегося при этом биозида (IV) в области сигналов производных диаминоуроновых кислот был практически идентичен спектру биозида (V), отличающегося от него только структурой агликона (N-ацетилфукозаминитол в (IV) или N-ацетилтрент в (V)). Биозид (V) был получен ранее при структурном исследовании полисахарида серотипа ОЗа, Зд путем боргидридного восстановления трисахарида (II) с последующим периодатным окислением и повторным боргидридным восстановлением [2]. В области сигналов агликона спектр биозида (IV) был идентичен спектру биозида (III), и, таким образом, этот биозид имеет структуру, приведенную на схеме 1.

Смесь биозидов (III) и (IV) была подвергнута обработке триэтиламином, в результате которой произошел гидролиз ацетамидиновой группы в биозиде (IV) в ацетамидиновую группу. Анализ методом ^{13}C -ЯМР-спектроскопии показал, что преобладающим компонентом полученной смеси является неизменившийся биозид (III), выделенный в индивидуальном виде высокоеффективной ионообменной хроматографией на TSK DEAE-3SW. Минорным компонентом этой смеси был биозид (IX), полученный также из продуктов сольволиза фтористым водородом обработанного триэтиламином полисахарида серотипа O(3a),3d,3f (схема 2).

Первичными продуктами этого сольволиза являлись трисахариды (VI) и (VII), действием боргидрида натрия превращенные в биозиды (VIII) и (IX) (схема 2). Трисахарид (VI) и биозид (VIII), по данным ^{13}C -ЯМР-спектров, были идентичны продуктам, полученным ранее аналогичным путем из обработанного триэтиламином полисахарида иммунотипа 7 [6]. Трисахарид (VII) и биозид (IX) не были описаны при структурном анализе полисахарида серотипа O3a,3d, однако их ^{13}C -ЯМР-спектры в области сигналов производных диаминоуроновых кислот совпадали со спектром полученного ранее из полисахарида серотипа O3a,3d биозида (X) [3], а в области сигналов N-ацетилфукозамина (для (VII)) и N-ацетилфукозамина (для (IX)) — со спектрами трисахарида (VI) и биозида (VIII) соответственно. Таким образом, трисахарид (VII) и биозид (IX) имеют структуры, приведенные на схеме 2.

Схема 2



Полученные данные подтверждают, что обработанный триэтиламином полисахарид серотипа O(3a),3d,3f построен из повторяющихся звеньев двух типов, один из которых был идентифицирован ранее у обработанного триэтиламином полисахарида иммунотипа 7 [6], а второй — у аналогично обработанного полисахарида серотипа O3a,3d [2, 4]. Соответственно повторяющиеся звенья интактного полисахарида серотипа O(3a),3d,3f отличаются от звеньев двух ранее изученных полисахаридов присутствием О-ацетильных групп. Так как в повторяющихся звеньях всех полисахаридов этой группы имеется только одна негликозилированная гидроксильная группа — в положении 4 N-ацетилфукозамина, О-ацетильная группа может быть однозначно локализована на этом моносахариде. Смещение сигналов C3, C4 и C5 N-ацетилфукозамина от 78,7–78,8,

70,9–71,2 и 68,2–68,5 м.д. в спектрах полисахарида иммунотипа 7 и серотипа О3а,3d к 74,7–74,9, 72,9 и 67,3–67,5 м.д. в спектре полисахарида серотипа О(3а),3d,3f (таблица) находятся в соответствии с α - и β -эффектами ацетилирования этого моносахарида по О4 [11]. Изменяет свое положение на 1,1–1,3 м.д. при О-ацетилировании также сигнал С1 присоединенного к N-ацетилфукозамину в положение 3 остатка 2,3-диацетамидо-2,3-дидезоксимиануроновой кислоты, тогда как химические сдвиги остальных сигналов в спектрах изменяются незначительно.

^{13}C -ЯМР-спектр интактного полисахарида серотипа О(3а),3d,3f кроме двух основных серий сигналов содержал также минорные сигналы, которые не могли быть отнесены ни к одному из двух идентифицированных типов повторяющихся звеньев. Их присутствие может быть объяснено неполнотой О-ацетилирования N-ацетилфукозамина (например, сигнал при 100,8 м.д., принадлежащий С1 2,3-диацетамидо-2,3-дидезоксимиануроновой кислоты в не содержащих О-ацетильных групп повторяющихся звеньях) и частичной заменой ацетамидиновой группы в производном L-гулероновой кислоты на ацетамидную группу (например, сигнал С2 2,3-диацетамидо-2,3-дидезоксигуллероновой кислоты при 47,2 м.д. и сигнал С1 присоединенного к ней N-ацетилфукозамина при 96,3 м.д.). Судя по интенсивности сигналов в спектре интактного полисахарида, каждый из этих двух дополнительных типов звеньев составляет не более 10% от общего числа повторяющихся звеньев. Кроме того, ^{13}C -ЯМР-спектр интактного полисахарида указывал на нерегулярность, связанную с существованием ацетамидинового производного гуллероновой кислоты в двух устойчивых формах (вероятно, E- и Z-изомеры), которым в спектре соответствует по две линии для С3 и С4 этого моносахарида (49,8 и 50,9; 70,8 и 72,2 м.д. соответственно), для С1 присоединенного к нему остатка N-ацетилфукозамина (95,4 и 95,5 м.д.) и для группы N=C—N (168,2 и 170,2 м.д.); соотношение интенсивностей этих линий составляет $\sim 2\text{--}3 : 1$ (в таблице приведены данные для доминирующей серии). В обработанном триэтиламином полисахариде, в котором отсутствуют как О-ацетильная, так и ацетамидиновая группа, все перечисленные в этом абзаце типы нерегулярности, естественно, не наблюдались.

Таким образом, О-специфический полисахарид серотипа О(3а),3d,3f построен в основном из трисахаридных звеньев двух типов, отличающихся друг от друга только конфигурацией С5 ацетамидинового производного уроновой кислоты. Преобладающие звенья составляют 65–70% от их общего числа и являются О-ацетилированной формой повторяющихся звеньев полисахарида иммунотипа 7 [6], а звенья, находящиеся в меньшинстве, представляют собой О-ацетилированную форму повторяющихся звеньев полисахарида серотипа О3а,3d [2, 4].

Если предположить, что оба типа звеньев присутствуют в составе одной полимерной цепи, то О-специфический полисахарид серотипа О(3а),3d,3f имеет гибридную структуру, причем такой тип замаскированной регулярности впервые обнаружен у полисахаридных цепей бактериальных О-антителенов, которые обычно либо являются строго регулярными полимерами, либо нерегулярность в их структуру вносится нестехиометрическим О-ацетилированием или гликозилированием основной регулярной цепи [12]. Гибридная структура полисахарида О(3а),3d,3f может быть объяснена особенностью его биосинтеза, включающего стадию частичной эпимеризации по С5 ацетамидинового производного β -D-маннуроновой кислоты с образованием соответствующего α -L-гуло-изомера в синтезированном на предыдущих стадиях регулярном полисахариде с β -D-манно-конфигурацией обоих производных уроновых кислот (ср. с биосинтезом альгиновой кислоты [13]). Однако для окончательного решения этих вопросов потребуется получение олигосахаридных фрагментов полисахарида, включающих не менее двух повторяющихся звеньев, и обнаружение соответствующей С5-эпимеразы у *P. aeruginosa* О(3а),3d,3f.

Экспериментальная часть

¹³C-ЯМР-спектры сняты на приборе Bruker AM-300 (ФРГ) в D₂O при 60° С для полисахаридов и при 25° С для олигосахаридов при использовании в качестве внутреннего стандарта метанола (δс 50,15). Оптическое вращение определяли на приборе Perkin – Elmer, модель 141, в воде при 20° С. Хроматография на бумаге FN-11 выполнена в системе пиридин – бутанол – уксусная кислота – вода (5 : 5 : 1 : 3) при обнаружении веществ спиртовым раствором циннадирина. Гель-фильтрация проведена на колонке (80×1,5 см) с TSK HW 40 в воде; элюционные кривые построены с использованием дифференциального рефрактометра Knauer (ФРГ). Высокоэффективная ионообменная хроматография выполнена на колонке (7,5×150 мм) TSK DEAE-3SW (LKB, Швеция), уравновешенной 0,02 М раствором NaH₂PO₄ в воде; элюирование проводилось в линейном градиенте (0–0,5 М) NaCl в том же буфере, скорость элюирования 1 мл/мин, элюционные кривые построены с использованием УФ-детектора Knauer (ФРГ). Растворы поли- и олигосахаридов лиофилизовали или упаривали в вакууме при 40° С. Выделение липополисахарида по методу [14] и О-специфического полисахарида описано в работе [3].

Гидролиз полисахарида (40 мг) проводили 4 М HCl (5 мл, 100° С, 4 ч), гидролизат упаривали, остаток упаривали многократно с водой, препаративной хроматографией на бумаге выделили хлоргидрат D-фукозамина (3,2 мг), [α]_D +78° (с 0,3), ср. [15]: [α]_D +93° (вода).

Обработка полисахарида триэтиламином. Раствор полисахарида (100 мг) в 5% водном триэтиламине (5 мл) нагревали 4 ч при 70° С, упаривали, гель-фильтрацией на TSK HW 40 выделили модифицированный полисахарид (90 мг).

Сольволиз фтористым водородом. Полисахарид О(За),3d,3f (100 мг) высушивали в вакууме над P₂O₅ (70° С, 3 ч), обрабатывали в герметичном тefлоновом реакторе безводным HF (10 мл, 20° С, 3,5 ч), свежеперегнанным над CoF₃ [16], HF удаляли в вакууме при поглощении твердым NaOH, продукт растворяли в воде, гель-фильтрацией на TSK HW 40 выделили смесь олигосахаридов (I) и (II) (70 мг). Аналогичный сольволиз обработанного триэтиламином полисахарида привел к смеси олигосахаридов (VI) и (VII).

Химическая модификация олигосахаридов. а) Смесь олигосахаридов (I) и (II) (60 мг) восстанавливали избытком боргидрида натрия в воде (20°, 16 ч), подкисляли 2 М HCl, гель-фильтрацией на TSK HW 40 выделили смесь биозидов (III) и (IV) (50 мг). Аналогично из смеси олигосахаридов (VI) и (VII) была получена смесь биозидов (VIII) и (IX).

б) Смесь биозидов (III) и (IV) (30 мг) обрабатывали 5% водным триэтиламином (3 мл, 70° С, 3 ч), упаривали, гель-фильтрацией на TSK HW 40 выделили смесь биозидов (III) и (IX) (20 мг), из которой препаративной высокоэффективной ионообменной хроматографией на TSK DEAE-3SW с последующей деионизацией гель-фильтрацией на TSK HW 40 были выделены биозид (III) (8 мг), элюирующийся при концентрации NaCl 0,16 М, и фракция (4 мг), элюирующаяся при концентрации NaCl 0,27 М и содержащая биозид (IX) с примесью неидентифицированного соединения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Книрель Ю. А., Здоровенко Г. М., Шашков А. С., Захарова И. Я., Кочетков Н. К. Биоорганическая химия, 1986, т. 12, № 11, с. 1530–1539.
2. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. Eur. J. Biochem., 1982, v. 128, № 4, p. 81–90.
3. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. Eur. J. Biochem., 1983, v. 134, № 2, p. 289–297.
4. Книрель Ю. А., Парамонов Н. А., Виноградов Е. В., Шашков А. С., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. Биоорганическая химия, 1986, т. 12, № 7, с. 995–997.
5. Lányi B. Acta microbiol. Acad. scient. hung., 1966/1967, v. 13, p. 295–318.
6. Книрель Ю. А., Парамонов Н. А., Виноградов Е. В., Шашков А. С., Кочетков Н. К. Биоорганическая химия, 1986, т. 12, № 7, с. 992–994.
7. Fisher M. W., Devlin H. B., Gnabasik F. J. J. Bacteriol., 1969, v. 98, № 2, p. 835–836.
8. Книрель Ю. А., Виноградов Е. В., Парамонов Н. А., Шашков А. С., Кочетков Н. К., Станиславский Е. С., Машилова Г. М. Биоорганическая химия, 1986, т. 12, № 9, с. 1263–1267.
9. Wokatsch R. Zbl. Bakt., I. Abt., Orig., 1964, v. 192, p. 468.
10. Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. Eur. J. Biochem., 1982, v. 125, № 1, p. 221–227.

11. Gagnaire D., Mancier D., Vincendon M. Org. Magn. Reson., 1978, v. 11, № 7, p. 344–349.
 12. Jann K., Jann B. In: Chemistry of Endotoxin/Ed. Rietschel E. T. Amsterdam: Elsevier Sci. Publ., 1984, p. 138–186.
 13. Haug A., Larsen B. Biochim. et biophys. acta, 1969, v. 192, № 3, p. 557–559.
 14. Веснфаль О., Янк К. В кн.: Методы химии углеводов/Ред. Кошечков Н. К. М.: Мир, 1967, с. 325–332.
 15. Perry M. B., Daoust V. Can. J. Chem., 1973, v. 51, № 6, p. 974–977.
 16. Mort A. J., Lampert D. A. Anal. Biochem., 1977, v. 82, № 2, p. 289–309.

Поступила в редакцию
10.IV.1986

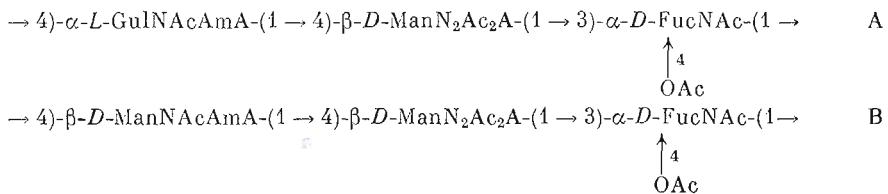
ANTIGENIC POLYSACCHARIDES OF BACTERIA. 20. STRUCTURE OF THE
O-SPECIFIC POLYSACCHARIDE CHAIN OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
O(3a), 3d, 3f (LÁNYI) LIPOPOLYSACCHARIDE

KNIREL Y. A., PARAMONOV N. A., VINOGRADOV E. V., SHASHKOV A. S.,
DMITRIEV B. A., KOCHETKOV N. K., STANISLAVSKY E. S.*

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow;*

*I. I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Ministry of Health of the USSR, Moscow

Mild acid degradation of lipopolysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa* O(3a), 3d, 3f (Lányi classification) afforded O-specific polysaccharide containing N-acetyl-D-fucosamine, 2,3-diacetamido-2,3-dideoxy-D-mannuronic acid, 3-acetamidino-2-acetamido-2,3-dideoxy-L-guluronic and -D-mannuronic acid as well as O-acetyl groups. On the basis of O-deacetylation, selective cleavage with anhydrous hydrogen fluoride, chemical transformation of the oligosaccharides obtained (hydrolysis or reductive deamination of the acetamidino group into acetamido or ethylamino group, respectively) and analysis by ^{13}C NMR spectroscopy, it was concluded that the polysaccharide is built up mainly of trisaccharide repeating units of types A and B in the ratio ~2 : 1:



The units of both types most probably enter the same polymeric chain. If so, such a hybrid structure can be accounted for by incompleteness of epimerization at C5 of the acetamidino derivative of mannuronic acid at the polymer level in the course of biosynthesis of this polysaccharide.