



УДК 547.458.22'118.057:579.8.083.3

СИНТЕЗ АНАЛОГОВ ЛИПИДА А.  
ПОЛУЧЕНИЕ СЕРОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ГЛИКОЛИПИДОВ  
НА ОСНОВЕ  $\beta$ -1,4-ГЛЮКОЗАМИНОБИОЗЫ (ХИТОБИОЗЫ)

Горбач В. И., Лукьянов П. А., Красикова И. Н.,  
Соловьева Т. Ф., Оводов Ю. С.

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВНЦ  
Академии наук СССР, Владивосток

Синтезированы производные 4'-фосфата  $\beta$ -1,4-глюкозаминобиозы (хитобиозы), N,N'-диацилированные остатками (R)-3-гидроксимиристиновой кислоты. Структура полученных соединений подтверждена данными их  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров. Показано, что эти соединения реагируют с антителами к липиду А из *Yersinia pseudotuberculosis* в различных иммунохимических тестах с активностью, близкой к активности липида А.

Одной из основных проблем в синтезе аналогов липида А, биологически активного компонента липополисахаридов грамотрицательных бактерий, является получение его дисахаридной основы —  $\beta$ -1,6-глюкозаминобиозы. Реакцию гликозирования проводят в начале или конце синтеза в зависимости от используемого метода: линейного [1] или конвергентного [2]. Оба метода многостадийны, поскольку включают в себя защиту и освобождение функциональных групп, необходимых для проведения гликозирования. В связи с этим перспективнее в синтезе аналогов липида А может оказаться использование олигосахаридных заготовок (блоков), выделенных из природных источников. К таким заготовкам можно отнести  $\beta$ -1,4-глюкозаминобиозу (хитобиозу), сравнительно легко получаемую при деполимеризации широко распространенного полимера — хитина и разделении смеси олигомеров [3]. Однако следует отметить, что хитобиоза и дисахарид, лежащий в основе липида А, имеют различный тип гликозидной связи. Изучение полученных из них гликолипидов должно дать ответ на вопрос: влияет ли этот элемент структуры на биологическую активность.

Одно из хорошо изученных биологических свойств липида А — серологическая активность, которая определяется наличием в его молекуле остатков глюкозамина, N-ацилированного 3-оксимиристиновой кислотой [4, 5]. Важным элементом структуры липида А является также присутствие фосфатных групп, придающих ему амфифильный характер [6]. Поэтому целью данной работы стал синтез фосфорилированной N,N'-ди-(R)-3-гидроксимирестоилхитобиозы.

Методы синтеза, использованные в работе, традиционны для химии углеводов, в частности для синтеза моносахаридных и  $\beta$ -1,6-дисахаридных аналогов липида А. Хитобиозу (I) ацилировали по аминогруппам (R)-3-гидроксимиристиновой кислотой (Нум) с использованием дициклогексилкарбодиимида. 4'- и 3'-Гидроксильные группы N,N'-диацилхитобиозы (II) избирательно защищали изопропилиденовым остатком, получив соединение (III) с выходом 65%, которое далее ацилировали. Полностью замещенное производное (IV) обрабатывали 90% уксусной кислотой, получили соединение (V), имеющее две свободные гидроксильные группы. Оно может быть получено без выделения промежуточных продуктов с выходом 55% (в расчете на (II)). 6'-Гидроксильную группу избирательно три-

Принятые сокращения: ИФА — иммуноферментный анализ, РПГ — реакция пассивного гемолиза, РКЛЛ — реакция комплементзависимого лизиса липосом, Нум, Нум(Ас) — 3-гидроксимиристиновая кислота и ее 3-ацетильное производное.

Химические сдвиги  $^{13}\text{C}$  хитобиозы и ее производных \*

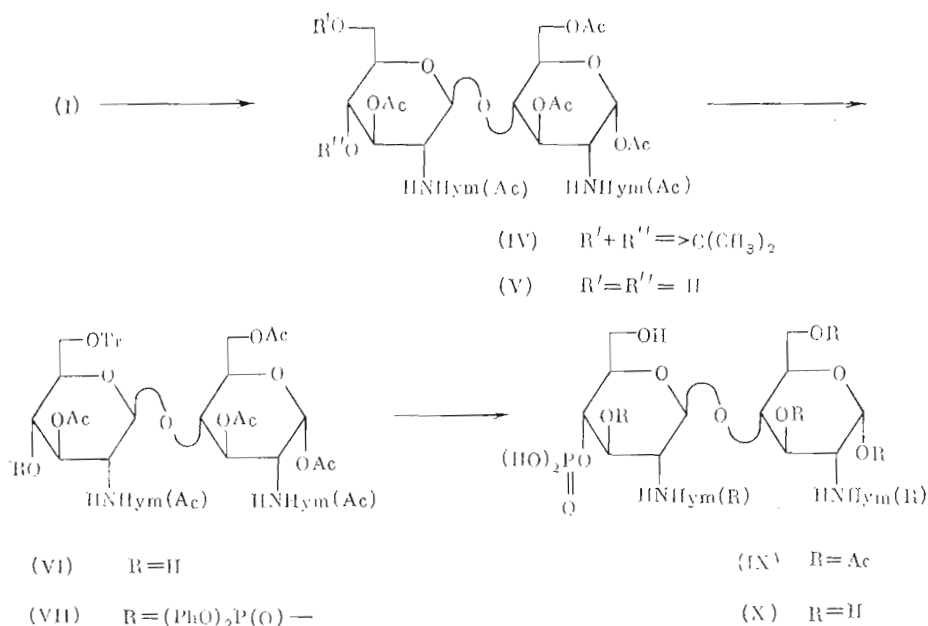
Соединение	Ано- мер	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C1'	C2'	C3'	C4'	C5'	C6'	Растворитель
Хитобиоза (I), гидро- хлорид	$\alpha$	89,4	54,8	68,5	77,3	70,5	60,9	98,2	56,6	72,4	70,3	77,0	60,9	D <sub>2</sub> O
	$\beta$	83,2	57,3	70,9	77,3	75,1	60,9							
Октаацетат хитобиозы (IV)	$\alpha$	90,8	51,4	71,0	76,0	71,9	62,6	101,3	55,0	71,9	69,1	73,1	62,9	CD <sub>3</sub> COOD
	$\alpha$	90,2	51,0	70,5 **	76,3	71,4 **	62,0	102,5	54,5	72,2 **	67,3	72,5 **	62,0	CDCl <sub>3</sub>
(V)	$\alpha$	90,5	50,4	70,8 **	76,1	71,4 **	62,0 **	101,4	54,1	75,4	68,8	78,1	61,9 **	CDCl <sub>3</sub>
(VII)	$\alpha$	90,3	51,3	70,4 **	77,2	71,2 **	61,9	100,2	55,3	72,7 **	75,2	74,4	63,0	CDCl <sub>3</sub>
(XI)	$\alpha$	90,4	51,2	70,8 **	75,7	71,2 **	61,9	101,4	54,7	72,0 **	68,5	72,5	61,9	CDCl <sub>3</sub>

\* КССВ  $J_{\text{C-R}}$  для C3, C4, C5-атомов — 8,8; 5,7 и 6,3 Гц соответственно.

\*\* Отнесение неоднозначно.

тиллировали реакцией с тритилхлоридом при 115° С, 6'-О-тримильное производное (VI), полученное с выходом 74%, фосфорилировали по свободной 4'-гидроксильной группе обработкой BuLi и далее дифенилхлорфосфатом по методике [7]. Дифенилфосфат замещенной хитобиозы (VII) получен с выходом 73%. Из этого ключевого соединения последовательным удалением тримильной, фенольных и ацетатных групп получили 4'-фосфат тетраацетата N,N'-ди-(R)-3-ацетоксимиристоилхитобиозы (IX) и его О-дезацетилированное производное (X).

Строение соединений, полученных в ходе синтеза, было подтверждено данными хроматографии, ИК-спектроскопии, элементного анализа и спектроскопии <sup>13</sup>С-ЯМР соединений (IV), (V) и (VII) (табл. 1). Для отнесения сигналов в ЯМР-спектрах указанных соединений использовались данные <sup>13</sup>С-ЯМР-спектров гидрохлорида хитобиозы (I), α-октаацетата хитобиозы и α-гексаацетата N,N'-ди-(R,S)-3-ацетоксимиристиата хитобиозы (XI), полученного ацетилизированием соединения (IIa).



Сигналы углеродных атомов 3-ацетоксимиристоильных остатков в соединениях (IV), (V), (VII) имеют химические сдвиги ( $C2'' - 41,5-41,6$ ;  $C3' - 71,0-71,2$ ;  $C4' - 34,0-34,1$  м. д.), близкие к описанным ранее для N-3-ацетоксимиристоильных производных липида А [8], что подтверждает ацилирование остатками этой кислоты аминогруппы хитобиозы. На присутствие 4',6'-изопропилиденовой группы в соединении (IV) указывает сдвиг сигнала  $C4'$ -атома с 68,5 м. д. в ацетате (XI) до 67,3 м. д. в производном (IV), что аналогично химическому сдвигу сигнала  $C4'$ -атома в подобном производном глюкозы (68,1 м. д.) [9]. Кроме того, в спектре соединения (IV) появляются сигналы с  $\delta$  97,8 и 18,9 м. д., принадлежащие соответственно четвертичному атому углерода и метильной группе изопропилиденового остатка [10]. Удаление изопропилиденовой группы приводит к сдвигу в спектре соединения (V) сигналов  $C3'$ -,  $C4'$ - и  $C5'$ -атомов до 75,4; 68,8 и 78,1 м. д. В ключевом соединении (VII) появляются сигналы ароматических атомов углерода тримильной и дифенилфосфорильной групп при 120-145 м. д. Введение данных заместителей вызывает сдвиг сигналов  $C6'$ -атома с 61,9 до 63,0 м. д. и  $C4'$ -атома с 68,8 до 75,2 м. д. и расщепление сигналов  $C3'$ -,  $C4'$ - и  $C5'$ -атомов с  $J_{C-P} = 5,7-8,8$  Гц по сравнению с соединением (V).

Серологическая активность соединений (IX) и (X) была изучена нами при взаимодействии их с антителами к липиду А. Антисыворотка к липиду А из *Yersinia pseudotuberculosis* была получена иммунизацией кроли-

Взаимодействие синтетических соединений с антисывороткой к липиду А из *Y. pseudotuberculosis*

Соединение	Серологическая реакция *		
	ИФА (титр антисыворотки)	РКЛЛ (минимальное количество антисыворотки, вызывающее 50% лизис, мкл)	Ингибирование РПГ (концентрация соединения, вызывающая 50% ингибирование, мкг/мл)
Липид А <i>Y. pseudotuberculosis</i>			
(IX)	1/3200	0,6	0,7
(X)	1/1600	1,2	2,1
(X)	н. о. **	н. о.	1,9
6-Фосфат N-3-гидроксимиристиата глюкозамина [4]	н. о.	н. о.	40,0
6'-Фосфат N,N'-ди-3-гидроксимиристиата β-1,6-глюкозаминобиозы [14]	н. о.	н. о.	9,0

\* Все изученные соединения в реакциях с нормальной кроличьей сывороткой были неактивны.

\*\* Не определяли.

ков комплексом липида А с бычьим сывороточным альбумином, как описано ранее [4]. Титры антител в сыворотке определялись в реакциях пассивного гемолиза, комплементзависимого лизиса липосом и иммуноферментном анализе (табл. 2). В ИФА соединение (IX) реагировало с сывороткой к липиду А в разведении 1 : 1600.

Классическая реакция пассивного гемолиза (РПГ), широко используемая в изучении серологических свойств липида А и его аналогов [11, 12], оказалась неприменной для соединений (IX), (X). Они обладают сильной гемолитической активностью и при сенсibilизации эритроцитов по методике [13] вызывают неспецифический лизис последних. Ингибирование РПГ системы «липид А *Y. pseudotuberculosis* — антисыворотка к липиду А *Y. pseudotuberculosis*» соединениями (IX), (X) показало их высокую серологическую активность. Концентрации липида А, соединений (IX) и (X), вызывающие 50% ингибирование, близки (табл. 2) и значительно ниже, чем концентрации 6-фосфата N-3-гидроксимиристиата глюкозамина или 6'-фосфата N,N'-ди-3-гидроксимиристиата β-1,6-глюкозаминобиозы, синтезированных нами ранее [4, 14]. По-видимому, низкая серологическая активность двух последних соединений вызвана наличием заместителя при С6- либо С6'-атоме молекулы, что, как предполагается рядом авторов, может значительно снижать ее [11, 15].

РКЛЛ позволяет изучать прямую иммунную реакцию амфипатических гаптенос с сыворотками [16]. При активном включении соединения (IX) в липосомы (5 мкг/ммоль лецитина) их 50% лизис вызывается добавлением 1,2 мкл сыворотки к липиду А в 0,2 мл реакционной смеси.

Таким образом, нами впервые показано, что липид А и его аналоги на основе хитобиозы, несмотря на различие в типе гликозидной связи дисахаридной основы, имеют одну и ту же антигенную специфичность, что обусловлено присутствием в их молекулах общих структурных фрагментов. Это хорошо согласуется с концепцией о структуре иммунодетерминантной группы липида А как N-ацилированного 3-гидроксимиристиновой кислотой остатке глюкозамина [4, 15, 16]. Более высокая серологическая активность дисахаридных аналогов липида А по сравнению с моносахаридными производными (табл. 2, [14]), по-видимому, вызвана наличием в молекуле двух стоящих рядом детерминантных групп. Известно [11, 12], что дисахаридная структура синтетических аналогов липида А важна для проявления ими других биологических свойств. Использование в синтезе аналогов липида А хитобиозы как доступного дисахаридного синтона может привести к получению биологически активных соединений по относительно простым схемам в больших количествах.

## Экспериментальная часть

Спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР снимали на приборе Bruker-Physik WM-250 с рабочей частотой 62,9 МГц в  $\text{CDCl}_3$  с использованием  $\text{Me}_4\text{Si}$  как внутреннего стандарта. ИК-спектры снимали на приборе Specord (ГДР). Температуры плавления определяли на приборе Voetius с некорректированными (ГДР), оптическое вращение измеряли на приборе Perkin - Elmer 141 (США). ТСХ проводили на пластинках со слоем силикагеля Woelm TLC в системах:  $\text{BuOH}-\text{EtOH}-\text{H}_2\text{O}-25\% \text{ NH}_4\text{OH}$ , 4:4:1,5:0,5 (А); хлороформ -  $\text{MeOH}$ , 95:5 (Б); хлороформ - ацетон, 8:2 (В). Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L40/100 мкм (ЧССР).

Липид А *Y. pseudotuberculosis* (1В-серovar, 598-й штамм) выделяли как описано в работе [17]. Антисыворотку к нему получали внутривенной иммунизацией кроликов комплексом липида А с бычьим сывороточным альбумином (1:1, по весу) по схеме [4]. Перед использованием сыворотки инaktivировали нагреванием при 56° С и истощали бараными эритроцитами (0,1 мл эритроцитов на 1 мл сыворотки, 20° С, 30 мин). РПГ и ингибирование РПГ проводили по методике [4], РЖЛЛ - по [16], ИФА - по [18], поглощение в ИФА измеряли на приборе Multiskan plus.

*Гидрохлорид хитобиозы (I)* получали гидролизом хитозана концентрированной соляной кислотой в течение 48 ч при 55° С с последующим разделением смеси олигосахаридов на колонке с ионообменной смолой Амберлит CG-120 ( $\text{H}^+$ ) при элюции градиентом раствора  $\text{HCl}$  [13]. Выход (I) составил 8% от загрузки хитозана. Найдено, %: С 34,58; Н 6,28; N 5,54.  $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl}$ . Вычислено, %: С 34,88; Н 6,34; N 6,78.  $[\alpha]_D^{20} + 41,4^\circ$  (с 1,0, вода), лит. [13]:  $[\alpha]_D + 43,5^\circ$  (вода).

(*R*)-3-Гидроксимиристиновая кислота получена гидролизом микробной массы *Y. pseudotuberculosis* (140 г) 6н.  $\text{NaOH}$  (2 л), подкислением гидролизата соляной кислотой, экстракцией смеси хлороформом, упариванием экстракта и колоночной хроматографией оставшегося продукта в системе гексан-гексан-эфир, 1:1. Фракции, содержащие кислоту, упаривали, остаток кристаллизовали из гексана. Выход 634 мг,  $[\alpha]_D^{20} - 15,7^\circ$  (с 0,7, хлороформ), лит. [19]:  $[\alpha]_D - 16^\circ$  (хлороформ).

(*R*, *S*)-3-Гидроксимиристиновая кислота получена по методике [19].

$\alpha$ -Октаацетат хитобиозы получали как описано в работе [20].

2-Дезокси-4-*O*-[2-дезоксигидроксимиристиоламино- $\beta$ -D-глюкопиранозил]-2-(*R*, *S*)-3-гидроксимиристиоламино-D-глюкоза (II) была получена по методике для соединения (II) с использованием (*R*, *S*)-оксимиристиновой кислоты. Выход (IIa) 57%, т. пл. 218-221° С,  $[\alpha]_D^{20} + 26,6^\circ$  (с 0,08, пиридин). Найдено, %: С 60,20, Н 9,66, N 3,19.  $\text{C}_{40}\text{H}_{74}\text{O}_{13}\text{N}_2$ . Вычислено, %: С 60,74, Н 9,43, N 3,54.

2-Дезокси-4-*O*-[2-дезоксигидроксимиристиоламино- $\beta$ -D-глюкопиранозил]-2-(*R*)-3-гидроксимиристиоламино-D-глюкоза (II). Соединение (I) (300 мг, 0,725 ммоль) растворяли в 2 мл воды, добавляли 0,15 мл триэтиламина, раствор (*R*)-3-гидроксимиристиновой кислоты (400 мг, 1,6 ммоль) в 20 мл пиридина и  $\text{N,N}'$ -дициклогексилкарбодимид (450 мг, 2,18 ммоль).

Через 72 ч осадок дициклогексимочевины отфильтровывали, раствор упаривали. Остаток промывали подкисленной водой, ацетоном, эфиром, сушили и кристаллизовали из бутанола. Выход соединения (II) 426 мг (74,2%), т. пл. 233-235° С,  $[\alpha]_D^{20} + 17,6^\circ$  (с 0,1, пиридин). Найдено, %: С 60,38; Н 9,56; N 3,07.  $\text{C}_{40}\text{H}_{74}\text{O}_{13}\text{N}_2$ . Вычислено, %: С 60,74; Н 9,43; N 3,54.

1,3,6-Три-*O*-ацетил-4-*O*-[3,4,6-три-*O*-ацетил-2-(*R*, *S*)-3-ацетоксимиристиоламино-2-дезоксигидроксимиристиоламино- $\beta$ -D-глюкопиранозил]-2-(*R*, *S*)-ацетоксимиристиоламино- $\alpha$ -D-глюкопираноза (XI). Соединение (IIa) (1 г, 1,26 ммоль) ацетилировали смесью пиридин -  $\text{Ac}_2\text{O}$  (15 мл, 2:1 по объему) в течение 18 ч при 20° С. Смесь упаривали, остаток растворяли в хлороформе и хроматографировали на колонке с силикагелем в системе хлороформ - хлороформ-ацетон, 9:1. После кристаллизации из этанола выход соединения (XI) 0,94 г (65,9%), т. пл. 193-200° С.  $[\alpha]_D^{20} + 12,5^\circ$  (с 0,09, хлороформ).

2-Дезокси-4-*O*-[2-дезоксигидроксимиристиоламино- $\beta$ -D-глюкопиранозил]-2-(*R*)-3-гидроксимиристиоламино-D-глюкоза (III). Соединение (II) (220 мг, 0,28 ммоль) растворяли в абс. диметилформамиде (12 мл), добавляли 2,2'-диэтоксипропан (0,25 мл) и *p*-толуолсульфокислоту (4 мг), смесь выдерживали 18 ч при 20° С, добавляли 0,05 мл триэтиламина и упаривали досуха. Остаток кристаллизовали из этанола. Выход соединения (III) 150 мг (65%), т. пл. 225-227° С,  $[\alpha]_D^{20} + 12,1^\circ$  (с 0,1, пиридин). Найдено, %: С 62,70; Н 8,98; N 2,92.  $\text{C}_{43}\text{H}_{78}\text{O}_{13}\text{N}_2$ . Вычислено, %: С 62,14; Н 9,546; N 3,37.

1,3,6-Три-*O*-ацетил-4-*O*-[3-*O*-ацетил-2-(*R*)-3-ацетоксимиристиоламино-2-дезоксигидроксимиристиоламино- $\beta$ -D-глюкопиранозил]-2-(*R*)-ацетоксимиристиоламино-2-дезоксигидроксимиристиоламино- $\alpha$ -D-глюкопираноза (IV). Соединение (III) (110 мг, 0,13 ммоль) ацетилировали 12 ч смесью пиридин -  $\text{Ac}_2\text{O}$  (3 мл, 2:1 по объему) при 20° С. После упаривания и кристаллизации из этанола выход соединения (IV) составил 116 мг (84%), т. пл. 189-191° С,  $[\alpha]_D^{20} + 8,0^\circ$  (с 0,2, хлороформ). Найдено, %: С 61,11; Н 8,42; N 2,33.  $\text{C}_{55}\text{H}_{90}\text{O}_{19}\text{N}_2$ . Вычислено, %: С 60,99; Н 8,38; N 2,59.

1,3,6-Три-*O*-ацетил-4-*O*-[3-*O*-ацетил-2-(*R*)-3-ацетоксимиристиоламино-2-дезоксигидроксимиристиоламино-2-дезоксигидроксимиристиоламино- $\alpha$ -D-глюкопираноза (V). Соединение (IV) (130 мг, 0,12 ммоль) растворяли в  $\text{AcOH}$  (1,8 мл), добавляли воду (0,2 мл), нагревали 5 мин при 90° С, реакционную смесь упаривали, остаток кристал-

лизовали из втор-пропазола. Выход соединения (V) 113 мг (93%), т. пл. 194–196° С,  $[\alpha]_D^{20} +11,8^\circ$  (с 0,1, хлороформ). Найдено, %: С 59,87; Н 8,33; N 2,41.  $C_{52}H_{86}O_{19}N_2$ . Вычислено, %: С 59,87; Н 8,32; N 2,69.

Соединение (V) может быть прямо получено из соединения (II) без выделения продуктов промежуточных стадий путем финального деления реакционной смеси на колонке с силикагелем в системе хлороформ → хлороформ – ацетон, 8 : 2, с выходом 55%.

*1,3,6-Три-О-ацетил-4-О-[3-О-ацетил-2-(R)-3-ацетоксимиристоиламино-2-дезоксиглюкопиранозил]-2-(R)-3-ацетоксимиристоиламино-2-дезоксиглюкопираноза (VI)*. Соединение (V) (138 мг, 0,13 ммоль) и тритилхлорид (74 мг, 0,26 ммоль) растворяли в пиридине (5 мл) и нагревали 3 ч при 115° С. Смесь охлаждали, добавляли воду, экстрагировали хлороформом, экстракт промывали водой, упаривали и остаток хроматографировали на колонке с силикагелем в системе хлороформ → хлороформ – ацетон, 8 : 2. Выход соединения (VI) 126 мг (74%). После кристаллизации из смеси хлороформ – гексан (VI) имеет т. пл. 78–80° С,  $[\alpha]_D^{20} -4,1^\circ$  (с 0,1, хлороформ). Найдено, %: С 66,27; Н 7,72; N 2,00.  $C_{71}H_{100}O_{19}N_2$ . Вычислено, %: С 66,33; Н 7,84; N 2,18.

*1,3,6-Три-О-ацетил-4-О-[3-О-ацетил-2-(R)-3-ацетоксимиристоиламино-2-дезоксиглюкопиранозил]-2-(R)-3-ацетоксимиристоиламино-2-дезоксиглюкопираноза (VII)*. Соединение (VI) (127 мг, 0,1 ммоль) растворяли в абс. тетрагидрофуране, охлаждали до –70° С, добавляли 0,31 М раствор BuLi в пентане (0,64 мл, 0,2 ммоль) и через 2 мин дифенилхлорфосфат (0,08 мл, 0,3 ммоль). Через 5 мин при –60° С раствор упаривали, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем в системе хлороформ → хлороформ – ацетон, 95 : 5. Выход соединения (VII) 109 мг (73%),  $[\alpha]_D^{20} +18,3^\circ$  (с 0,17, хлороформ). Найдено, %: С 65,66; Н 7,52; N 1,63; P 1,79.  $C_{83}H_{109}O_{22}N_2P$ . Вычислено, %: С 65,68; Н 7,24; N 1,85; P 2,08.

*1,3,6-Три-О-ацетил-4-О-[3-О-ацетил-2-(R)-3-ацетоксимиристоиламино-2-дезоксиглюкопиранозил]-2-(R)-3-ацетоксимиристоиламино-2-дезоксиглюкопираноза (VIII)*. Соединение (V) (85 мг, 0,056 ммоль) растворяли в AcOH (2 мл), добавляли воду (0,2 мл), смесь нагревали 10 мин при 100° С, упаривали и остаток хроматографировали на колонке с силикагелем в системе хлороформ → хлороформ – ацетон, 8 : 2. Выход детритилированного производного (VIII) 56,5 мг (79%). После кристаллизации из гексана соединение (VIII) имеет т. пл. 192–194° С,  $[\alpha]_D^{20} +2,3^\circ$  (с 0,16, хлороформ). Найдено, %: С, 59,93; Н 7,78; N 2,11; P 2,47.  $C_{64}H_{95}O_{22}N_2P$ . Вычислено, %: С 60,27; Н 7,51; N 2,20; P 2,43.

*1,3,6-Три-О-ацетил-4-О-[3-О-ацетил-2-(R)-3-ацетоксимиристоиламино-2-дезоксиглюкопиранозил]-2-(R)-3-ацетоксимиристоиламино-2-дезоксиглюкопираноза (IX)*. Соединение (VIII) (47 мг, 0,037 ммоль) растворяли в этаноле (2 мл), гидрировали 12 ч над  $PtO_2$  (5 мг) при 20° С, катализатор отфильтровывали, раствор упаривали, остаток растирали с гексаном. Выход твердого осадка соединения (IX) 35 мг (85%). Найдено, %: С 55,52; Н 8,03; N 2,62; P 2,44.  $C_{52}H_{87}O_{22}N_2P$ . Вычислено, %: С 55,60; Н 7,81; N 2,49; P 2,76.

*2-Дезокси-4-О-[2-дезоксиглюкопиранозил]-2-(R)-3-гидроксимиристоиламино-4-О-фосфоно-β-D-глюкопиранозил]-2-(R)-3-гидроксимиристоиламино-2-дезоксиглюкопираноза, моноаммониевая соль (X)*. Соединение (IX) (15 мг, 0,013 ммоль) растворяли в абс. метаноле, насыщенном сухим аммиаком (5 мл), держали 8 ч при 20° С, раствор упаривали. Остаток растворяли в метаноле (1 мл) и осаждали ацетоном (5 мл). Выход соединения (X) 7 мг (59%). Найдено, %: С 52,24; Н 8,46; N 3,95; P 3,21.  $C_{10}H_{89}O_{16}N_3P$ . Вычислено, %: С 53,98; Н 9,06; N 4,72; P 3,48.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson L., Nashed M. A. // Rev. Infect. Dis. 1984. V. 6. № 4. P. 472–477.
2. Shiba T., Kusumoto S., Inage M., Imoto M., Chaki H., Shimamoto T. // Rev. Infect. Dis. 1984. V. 6. № 4. P. 478–482.
3. Дистлер Дж., Роземан С. // Методы химии углеводов. М.: Мир, 1967. С. 240–243.
4. Gorbach V. I., Krasikova J. N., Luk'yanov P. A., Razmakhnina O. Yu., Solov'eva T. F., Ovodov Yu. S. // Eur. J. Biochem. 1979. V. 98. № 1. P. 83–86.
5. Lüderitz O., Tanamoto K., Galanos C., McKenzie C. R., Brade H., Zähringer U., Rietschel E. Th., Kusumoto S., Shiba T. // Rev. Infect. Dis. 1984. V. 6. № 4. P. 428–431.
6. Rietschel E. Th., Wollenweber H.-W., Russa R., Brade H., Zähringer U. // Rev. Infect. Dis. 1984. V. 6. № 4. P. 432–438.
7. Inage M., Chaki H., Kusumoto S., Shiba T. // Chem. Lett. 1982. № 3. P. 1281–1284.
8. Strain S. M., Fesik S. W., Armitage J. M. // J. Biol. Chem. 1983. V. 252. № 22. P. 13466–13477.
9. Cortes-Garcia R. C., Hough L., Richardson A. C. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1981. № 12. P. 3176–3181.
10. Dais P., Perlín A. S. // Carbohydr. Res. 1986. V. 146. № 2. P. 177–191.
11. Galanos C., Lehmann V., Lüderitz O., Rietschel E. Th., Westphal O., Brade L., Freudenberger M. A., Hansen-Hagge T., Lüderitz T., McKenzie G., Schade U., Strittmatter W., Tanamoto K.-I., Zähringer U., Imoto M., Yoshimura H., Yamamoto M., Shimamoto T., Kusumoto S., Shiba T. // Eur. J. Biochem. 1984. V. 140. № 2. P. 221–227.

12. Galanos C., Lüderitz O., Rietschel E. Th., Westphal O., Brade H., Brade L., Freudenberg M., Schade U., Imoto M., Yoshimura H., Kusumoto S., Shiba T. // Eur. J. Biochem. 1985. V. 48. № 1. P. 1-5.
13. Galanos C., Lüderitz O., Westphal O. // Eur. J. Biochem. 1971. V. 24. № 1. P. 116-122.
14. Горбач В. И., Иванчина Е. В., Исаков В. В., Лукьянов П. А., Соловьева Т. Ф., Оводов Ю. С. // Биооргани. химия. 1982. Т. 8. № 12. С. 1670-1676.
15. Galanos C., Freudenberg M. A., Jay F., Nerkar D., Veleva K., Brade H., Strittmatter W. // Rev. Infect Dis. 1984. V. 6. № 4. P. 546-552.
16. Горбач В. И., Лукьянов П. А., Красикова И. И., Соловьева Т. Ф., Оводов Ю. С. // Вопросы микробиологии, патогенеза и лабораторной диагностики персониозов. Новосибирск: Наука, 1985. С. 21-26.
17. Krasikova I. N., Gorbach V. I., Solov'eva T. F., Ovodov Yu. S. // Eur. J. Biochem. 1978. V. 89. № 1. P. 287-289.
18. Горбач В. И., Лукьянов П. А., Соловьева Т. Ф., Оводов Ю. С. // Биооргани. химия. 1985. Т. 11. № 5. С. 677-682.
19. Ikawa M., Koepfli J. B., Mudd S., Niemann C. // J. Amer. Chem. Soc. 1953. V. 75. № 5. P. 1035-1039.
20. Krasikova I. N., Gorbach V. I., Isakov V. V., Solov'eva T. F., Ovodov Yu. S. // Eur. J. Biochem. 1982. V. 126. № 2. P. 399-351.

Поступила в редакцию  
24.XI.1986  
После доработки  
22.I.1987

**SYNTHESIS OF LIPID A ANALOGUES. PREPARATION OF SEROLOGICALLY  
ACTIVE GLYCOLIPIDS ON THE BASIS OF  $\beta$ -1,4-GLYCOSAMINOBIOSE  
(CHITOBIOSE)**

GORBACH V. I., LUK'YANOV P. A., KRASIKOVA I. N.,  
SOLOV'eva T. F., OVODOV Yu. S.

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Scientific  
Centre, Academy of Sciences of the USSR, Vladivostok*

Synthesis of  $\beta$ -1,4-glucosaminobiose (chitobiose) 4'-phosphates N,N'-diacylated with (R)-3-hydroxymyristic acid is described, the structure being corroborated by  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra. It was shown that activity of the compounds in various reactions with antibodies to lipid A from *Yersinia pseudotuberculosis* is similar to the lipid A activity.