



УДК 577.144.5.088:579.841.11

3-(3-ГИДРОКСИ-2,3-ДИМЕТИЛ-5-ОКСОПРОПИЛ)-
АМИНО-3,6-ДИДЕЗОКСИ-*D*-ГЛЮКОЗА: НОВЫЙ АМИНОСАХАР
О-АНТИГЕННОГО ПОЛИСАХАРИДА
ИЗ *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

Набережных Г. А., Хоменко В. А., Исаков В. В.,
Елькин Ю. Н., Соловьева Т. Ф., Овдов Ю. С.

Тихоокеанский институт биоорганической химии, ДВНЦ
Академии наук СССР, Владивосток

Ранее нами было установлено, что повторяющееся звено О-специфического полисахарида из *Pseudomonas fluorescens* содержит 6-дезокситалозу, N-ацетилфукозамин и 3-ациламино-3,6-дидезоксиглюкозу [1]. В настоящем сообщении мы приводим данные о структуре заместителя ацилирующего аминокгруппу 3-амино-3,6-дидезоксиглюкозы. Его строение устанавливали с помощью ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии N-ацильного производного моносахарида и дисахарида, состоящего из N-ацетилфукозамина и 3-ациламино-3,6-дидезоксиглюкозы [1].

Ацилированный аминсахар был выделен из кислотного гидролизата полисахарида с помощью ВЭЖХ на обращенной фазе С-18. Моносахарид был нейтральным, по данным электрофореза на бумаге, и имел оптическое вращение $[\alpha]_D +7^\circ$ (с 0,25). В ИК-спектре моносахарида имелись полосы поглощения при 1660 и 1730 см^{-1} , которые были отнесены к амидной и лактамной группам соответственно.

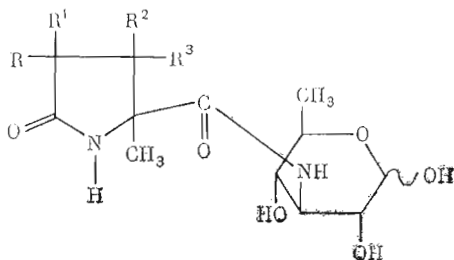
В масс-спектрах положительных и отрицательных ионов дисахарида, полученных при ионизации бомбардировкой быстрыми атомами, присутствовало по одному интенсивному пику с m/z 506 и 504, которые принадлежали ионам $[M+H]^+$ и $[M-H]^-$ соответственно. Кроме того, в спектрах отрицательных ионов 3-ациламино-3,6-дидезоксиглюкозы и ее метилгликозида содержались интенсивные пики $[M-H]^-$ с m/z 317 и 331 соответственно. Из полученных данных следовало, что молекулярная масса заместителя составляет 156 а.е. Этот вывод подтверждался масс-спектром электронного удара метилгликозида 3-ациламино-3,6-дидезоксиглюкозы, в котором помимо иона $[M]^+$ с m/z 332 присутствовали ионы фрагментов заместителя (R) с m/z 128 (R - CO) и m/z 111, 110 (128 - OH, 128 - H₂O).

В ^{13}C -ЯМР-спектре 3-ациламино-3,6-дидезоксиглюкозы были выделены сигналы семи атомов углерода заместителя в результате сравнения с данными спектра 3-ацетида-3,6-дидезоксиглюкозы [2]. Отнесение сигналов в спектре было проведено на основании спектра спинового эха 3-ациламино-3,6-дидезоксиглюкозы, а также анализа литературных данных [3, 4]. Сигналы углеродных атомов (δ , м.д.) заместителя относились к двум метильным группам (18,9 (кв, C3-CH₃); 23,5 (кв, C2-CH₃)), метиленовой группе (45,8 (т, C4)), двум третичным атомам углерода (71,6 (с, C2); 78,2 (с, C3)) и двум карбонильным группам (175,7, C1; 179,7, C5).

Данные ^1H -ЯМР-спектра моносахарида (δ , м.д.) подтвердили присутствие в заместителе двух изолированных метильных групп (1,37 (с, 3H, CH₃); 1,49 (с, 3H, CH₃)) и метиленовой группы с неэквивалентными протонами (2,45; 2,65 (AB-система, J_{AB} 15 Гц)). Присутствие в ^1H -ЯМР-спектре моносахарида, растворенного в дейтерированном диметилсульфоксиде, сигналов в слабом поле при 7,26 м. д. (д, 1H, $J_{\text{HN-CN}}$ 6 Гц, NH) и 7,57 м. д. (с, 1H, NH) свидетельствовало о наличии двух NH-групп, одна из которых связана с атомами углерода, не несущими протоны [5].

Эти результаты, а также данные о независимости положения сигналов карбонильных групп в ^{13}C -ЯМР-спектре моносахарида от pH раствора подтверждали наличие лактамного кольца в заместителе. Таким образом, всей совокупности приведенных выше данных соответствовали две альтернативные структуры N-ацильного заместителя.

I: $\text{R}=\text{R}^1=\text{H}$, $\text{R}^2=\text{CH}_3$, $\text{R}^3=\text{OH}$
 II: $\text{R}=\text{OH}$, $\text{R}^1=\text{CH}_3$, $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{H}$



Выбор между двумя возможными структурами заместителя был сделан методом ^1H -ЯМР-спектроскопии с использованием ядерного эффекта Оверхаузера (ЯЭО). Значительное смещение в слабое поле сигналов протонов метиленовой группы указывало на близкое расположение дезэкранирующей карбонильной группы. Предоблучение протонов метильной группы при 1,37 м.д. вызывало ЯЭО (~2,5%) на протоне метиленовой группы, резонирующем при 2,65 м.д. В этом же эксперименте не наблюдались ЯЭО при предоблучении протонов метильной группы при 1,49 м.д. Эти эффекты возможны только в случае заместителя со структурой I и *транс*-расположением метильных групп у асимметрических атомов углерода.

Устойчивость ацильного заместителя к периодатному окислению или восстановлению боргидридом натрия согласовывалась с предложенной структурой. Кроме того, ацелирование моносахарида в щелочных условиях приводило к деградации заместителя, что может быть вызвано отщеплением молекулы воды от третичного спирта и метиленовой группы и образованием неперделельных γ -лактамов.

Таким образом, в составе O-специфического полисахарида из *P. fluorescens* впервые идентифицирован новый аминсахар, являющийся 3-(3-гидрокси-2,3-диметил-5-окспролил)амино-3,6-дидезокси-D-глюкозой.

Авторы благодарят д-ра хим. наук А. С. Шашкова (ИОХ АН СССР) за помощь при обсуждении спектров и съемку ^1H -ЯМР-спектра моносахарида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хоменко В. А., Набережных Г. А., Исаков В. В., Соловьева Т. Ф., Оводов Ю. С., Книрель Ю. А., Виноградов Е. В. // Биоорг. химия. 1986. Т. 12. № 12. С. 1641–1647.
2. L'vov V. L., Tochlamysheva N. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Capek K. // Carbohydr. Res. 1983. V. 112. № 2. P. 223–235.
3. Ohki S., Nagasaka T., Matsuda H., Ozawa N., Hamaguchi F. // Chem. Pharm. Bull. 1986. V. 34. № 9. P. 3606–3613.
4. Toppel S., Claes P., Hoogmartenn J. // Organ. Mag. Resonance. 1974. V. 6. P. 48–53.
5. Cowman M. K. // Arch. Biochem. and Biophys. 1984. V. 230. № 1. P. 203–212.

Поступило в редакцию
22.I.1987

3-(3-HYDROXY-2,3-DIMETHYL-5-OXOPROLYL)AMINO-3,6-DIDEOXY-D-GLUCOSE: A NOVEL AMINO SUGAR OF THE ANTIGENIC POLYSACCHARIDE FROM *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

NABEREZHNIK G. A., KHOMENKO V. A., ISAKOV V. V., ELKIN Yu. N.,
 SOLOVJEVA T. F., OVODOV Yu. S.

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

O-specific polysaccharide chain of the *Pseudomonas fluorescens* lipopolysaccharide is composed of 6-deoxy-L-talose, N-acetyl-D-fucosamine and N-acyl-3,6-dideoxy-D-glucose. Analysis of the latter sugar, obtained from the polysaccharide hydrolysate, by ^1H NMR (including NOE), ^{13}C NMR, and FAB mass spectrometry proved the unusual N-acyl substituent to be a 3-hydroxy-2,3-dimethyl-5-oxoproline residue.