



# БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 14 \* № 8 \* 1988

УДК 577.114.5.088:543.422.23:579.871.2

## СТРУКТУРА ВНЕКЛЕТОЧНОГО ПОЛИСАХАРИДА *ARTHROBACTER GLOBIFORMIS*

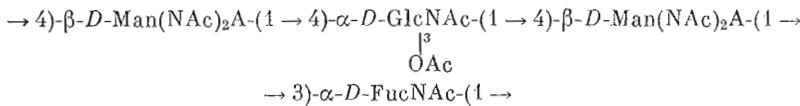
**Виноградов Е. В., Шашков А. С., Книрель Ю. А.,  
Григорьева Н. А.\*, Шубина Л. Н.\*, Хохленко А. Ф.\*,  
Борина Л. Э.\***

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского

Академии наук СССР, Москва;

\* Северо-Кавказский филиал «ВНИИ гидролиз», Краснодар

В состав внеклеточного полисахарида микроорганизма *Arthrobacter globiformis* входят N-ацетил-D-глюкозамина, N-ацетил-D-фукозамины, 2,3-диацетамидо-2,3-дидезокси-D-маннуроновая кислота и O-ацетильные группы в соотношении 1 : 1 : 2 : 1. На основании сольволовиза безводным фтористым водородом, приведшего к тетрасахаридному фрагменту, и анализа методами  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии установлено, что полисахарид имеет следующую структуру:



Грамположительные бактерии рода *Arthrobacter* широко распространены в природе, обитая в почве, воде, ризосфере растений и антропогенных субстратах. Ряд штаммов *Arthrobacter* используется в качестве производителей экзополисахаридов, потенциально имеющих промышленное значение [1]. О составе и структуре внеклеточных полисахаридов имеются только фрагментарные сведения [2–5]. Полисахарид *A. viscosus* NRRL B-1973 имеет линейное трисахаридное повторяющееся звено, включающее глюкозу, галактозу и маннуроновую кислоту, причем около половины гидроксильных групп ацетилировано [2, 3]. Особенностью полисахарида *A. stabilis* B-3225, построенного из глюкозы и галактозы, является присутствие O-ацетильных и O-сукицильных групп, а также остатков пировиноградной кислоты [4]. В полисахариде одного из штаммов *A. carbosum* найдены глюкоза, манноза и необычный кислый моносахарид — дигидрострептоза [5].

В настоящей работе приведены данные по установлению строения внеклеточного полисахарида штамма *A. globiformis*, выделенного из стоков гидролизного производства.

Полисахарид *A. globiformis*, полученный при выращивании на жидкой среде, содержащей этанол в качестве единственного источника углерода, был выделен из культуральной жидкости и очищен путем депротеинизации смесью хлороформ – изоамиловый спирт. Выход полисахарида от источника углерода при этом составил 70 %.

Дополнительная очистка полисахарида от примесей проведена осаждением трихлорускусной кислотой. По данным электрофореза на бумаге, полисахарид оказался кислым.

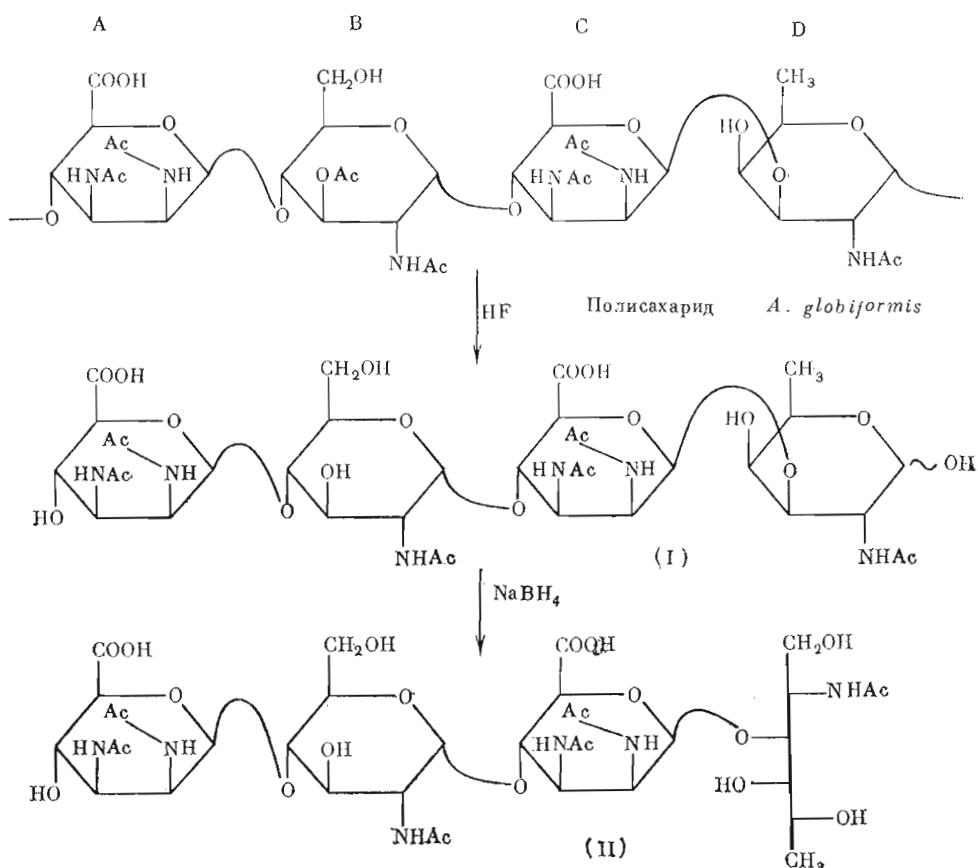
Среди продуктов гидролиза полисахарида обнаружены глюкозамины и фукозамины (2-амино-2,6-дидезоксигалактоза), идентифицированные с помощью аминокислотного анализатора и методом ГЖХ в виде ацетатов полиолов; их содержание в полимере составляло 18 и 14,5 % соответственно. Кроме того, обнаружены и другие аминокомпоненты, представляющие собой, по-видимому, олигомерные продукты неполного гидролиза.

Сокращения: FucNAc – 2-ацетамило-2,6-дидезоксигалактоза (N-ацетилфукозамин), Man(NAc)<sub>2</sub>A – 2,3-диацетамило-2,3-дидезоксимианнуроновая кислота.

Нейтральные моносахариды в гидролизате практически отсутствовали. Глюкозамин и фукозамин выделены из гидролизата в индивидуальном виде с помощью ионообменной хроматографии, и на основании величины удельного оптического вращения установлена их D-конфигурация.

В  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектре полисахарида присутствовали сигналы метильной группы одного 6-дезоксисахара (фукозамина) при 16,6 м. д., гидроксиметильной группы гексопиранозного остатка (глюкозамина) при 60,8 м. д., 4 аниомерных углеродных атомов при 97,7–100,4 м. д., 6 атомов углерода, связанных с азотом, при 48,7–54,6 м. д., 10 углеродных атомов, связанных с кислородом, в области 68,0–80,5 м. д., нескольких N-ацетильных групп ( $\text{CH}_3$  при 23,1 м. д.), O-ацетильной группы ( $\text{CH}_3$  при 21,6 м. д.) и карбонильных групп при 174,4–176,0 м. д.

Таким образом, полисахарид построен из повторяющихся тетрасахаридных звеньев, содержащих по одному остатку N-ацетилглюкозамина и N-ацетилфукозамина. Два других компонента, судя по данным углеродного спектра, представляют собой N-ацетильные производные диаминоуроновых кислот. Кроме того, в повторяющемся звене имеется одна O-ацетильная группа, которая удалялась при обработке полисахарида раствором натрийгидроксида.



Для получения олигосахаридных фрагментов полисахарид был расщеплен безводным фтористым водородом и полученный олигосахарид (I) выделен гель-фильтрацией на носителе Fractogel TSK HW-40 и восстановлен натрийборгидридом в олигозид (II) (схема). Других углеводсодержащих продуктов при сольволизе в диапазоне 0–40°С не образуется. По данным  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров (табл. 1, 2), олигосахарид (I) представляет собой тетрасахарид, включающий все 4 моносахаридных компонента повторяющегося звена полимера и 6 N-ацетильных групп, причем

Таблица 1

Параметры  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектра олигозида (II) (рН 4,0) \*

Звено	Протон	Химический сдвиг, м. д.	Мультиплетность	Константа взаимодействия, Гц
A	H-1	5,02	д	$J_{1,2}$ 1,5
	H-2	4,55	дд	$J_{2,3}$ 4,0
	H-3	4,11	дд	$J_{3,4}$ 10,5
	H-4	3,69	т	$J_{4,5}$ 10,5
	H-5	3,90	д	
	H-5 **	4,15	д	
B	H-1	5,15	д	$J_{1,2}$ 3,5
	H-2	3,90	дд	$J_{2,3}$ 10
	H-3	3,87	т	$J_{3,4}$ 10
	H-4,5	3,70–3,84	м	
C	H-1	4,98	д	$J_{1,2}$ 1,5
	H-2	4,46	дд	$J_{2,3}$ 4,0
	H-3	4,30	м	$J_{3,4}$ 10
	H-4,5	3,92–3,97	м	
	H-4 **	3,96	т	$J_{4,5}$ 0,5
D	H-5 **	4,22	д	
	H-1	3,68	дд	$J_{1,2}$ 1,5
	H-1	3,75	дд	$J_{1,1}$ 1,5
	H-2	4,38	дт	$J_{1,2}$ 1,5
	H-3	4,02	дд	$J_{2,3}$ 1,0
	H-4	3,32	дд	$J_{3,4}$ 1,0
	H-5	4,17	дк	$J_{4,5}$ 1,9
	H6 (3H)	1,22	д	$J_{5,6}$ 1,5

\* Химические сдвиги сигналов  $\text{CH}_3\text{CON}$  1,92; 1,98; 2,01; 2,03; 2,09; 2,09 м. д.; д — дублет, т — триплет, к — квартет, м — мультиплет.

\*\* Данные, полученные при рН 1,0.

на его восстанавливающем конце находится остаток N-ацетилфукозамина, о чем свидетельствовало изменение положения сигнала C-6 этого моносахарида при его восстановлении в соответствующий аминополиол от 16,7 к 19,4 м. д. Таким образом, фтористый водород избирательно расщепляет в полисахариде гликозидную связь N-ацетилфукозамина и удаляет О-ацетильную группу.

Анализ структуры олигозида (II) был проведен методами ЯМР-спектроскопии. Его  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр был расшифрован с использованием селективного гомоядерного двойного резонанса (табл. 1) и затем с помощью селективного гетероядерного двойного резонанса  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  были отнесены сигналы в  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектре (табл. 2). Дублетная форма сигналов H-5 звеньев А и С свидетельствовала об отсутствии протонов при C-6, что подтверждало природу этих звеньев как уроновых кислот. При изменении рН водного раствора сигналы H-5 звеньев А и С перемещались из области 3,87–3,97 м. д. при рН 4 в область 4,15–4,22 м. д. при рН 1, что характерно для уроновых кислот со свободными карбоксильными группами [6]. На основании констант спин-спинового взаимодействия вицинальных протонов был сделан вывод, что оба производных уроновых кислот (звенья А и С) имеют *манно*-конфигурацию [7].

Далее, положение сигналов C-2 и C-3 звеньев А и С в области 52,2–54,8 м. д. указывало, что эти углеродные атомы связаны с азотом; таким образом, эти звенья представляют собой остатки 2,3-диацетамило-2,3-ди-дезоксимиазуроновой кислоты.

Положение замещения звеньев В и С было определено по величинам химических сдвигов сигналов C-4 при 80,0 и 72,0 м. д. Эти сигналы смешены в слабое поле на 8 и 5 м. д. по сравнению с их положением в незамещенных моносахаридах, что соответствует  $\alpha$ -эффектам гликозилирования [9, 11], и, следовательно, звенья В и С замещены в положение 4. Аналогично слабопольное положение сигнала C-3 остатка N-ацетилфукозаминитола (звено D) свидетельствует о его замещении в положение 3. Химический сдвиг сигнала C-4 звена А при 67,7 м. д. соответствует сдвигу C-4 незамещенного остатка 2,3-ди-дезокси-2,3-диацетамиломаннуроновой

Таблица 2

Данные  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров полисахарида *A. globiformis*, некоторых его производных

Соединение	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
З в е н о А						
Полисахарид	101,4	52,4	54,2	72,0	79,5	
О-Дезацетилированный полисахарид	100,3	51,8	53,9	71,8	77,7	
Олигосахарид (I)	100,3	52,2	54,5	67,6	79,4	
Олигозид (II)	100,4	52,2	54,5	67,7	79,8	
Олигосахарид (III) [8]	100,6	52,4	54,4	66,9	77,6	
Модифицированный полисахарид <i>P. aeruginosa</i> О3а, 3d [9, 10]	100,7	52,2	54,1	71,7	77,2	
З в е н о В						
Полисахарид	97,7	52,8	72,9	77,8	72,9	60,8
О-Дезацетилированный полисахарид	97,9	54,2	70,2	79,8	71,8	61,0
Олигосахарид (I)	97,7	54,5	70,3	79,9	71,6	61,0
Олигозид (II)	97,6	54,4	70,4	80,0	71,6	61,0
З в е н о С						
Полисахарид	100,6	52,4	54,6	72,0	80,5	
О-Дезацетилированный полисахарид	100,7	52,3	54,2	71,8	78,2	
Олигосахарид (I)	100,9	52,3	54,7	72,2	78,8	
Олигосахарид (II)	100,2	52,5	54,8	72,0	79,0	
З в е н о D						
Полисахарид	98,2	48,7	78,9	71,0	68,0	16,6
О-Дезацетилированный полисахарид	98,5	48,6	78,7	71,2	68,1	16,4
Олигосахарид (I) $\alpha$	92,4	49,6	79,0	71,4	67,4	16,7
$\beta$	96,2	53,4	81,9	70,8	71,7	16,7
Олигозид (II)	62,2	52,7	77,7	74,2	66,5	19,4
Олигосахарид (III) [8] $\alpha$	92,3	49,4	79,4	71,3	67,5	16,8
$\beta$	96,0	52,9	82,2	70,6	71,7	16,8
Модифицированный полисахарид <i>P. aeruginosa</i> О3а, 3d [9, 10]	98,7	48,4	78,8	71,1	68,1	16,4

\* Положение сигналов C-5 производных уроновых кислот различается для различных соединений из-за неодинаковых величин рН растворов образцов. Химические сдвиги сигналов  $\text{CH}_3\text{COO}$  21,6,  $\text{CH}_3\text{CON}$  23,1—23,3,  $\text{CH}_3\text{CO}$  и COOH (C-6 производных уроновых кислот) 174,4; 176,3 м. д.

кислоты [8—10]. Таким образом, звено А находится на невосстановливающем конце олигосахарида (I), который имеет линейное строение.

Последовательность моносахаридных остатков в тетрасахариде (I) была определена с помощью ядерного эффекта Оверхаузера (ЯЭО) [12]. Последовательное предоблучение протонов H-1 звеньев А, В и С в олигозиде (II) вызывало заметные ЯЭО на H-4 звена В, H-4 звена С и H-3 звена D (табл. 3), что доказывает последовательность этих звеньев и подтверждает положения их замещения, приведенные на схеме. Наблюдающиеся при предоблучении H-1 звеньев А и С значительные ЯЭО на H-3 и H-5 облучаемых остатков указывают на их  $\beta$ -конфигурацию, а отсутствие аналогичных ЯЭО в звене В свидетельствует о его  $\alpha$ -конфигурации. Эти выводы подтверждаются константами спин-спинового взаимодействия  $J_{1,2}$  звеньев А, В и С в олигозиде (II) (табл. 1), а также константами  $^1J_{\text{C}-1, \text{H}-1}$  163,3 Гц для сигналов C-1 звеньев А и С и 173,3 Гц для сигнала C-1 звена В [13], определенными из  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектра олигозида (II), снятого без подавления C,H-взаимодействий.

Для дальнейшего структурного анализа было проведено сопоставление  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров тетрасахарида (I), олигозида (II), исходного и О-дезацетилированного полисахаридов (табл. 2). Спектр олигосахарида (I) расшифрован путем сравнения с данными  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров олигозида (II) и модельного трисахарида (III), полученного из О-специфического полисахарида *Pseudomonas aeruginosa* О(3а), 3d, 3f [8]. Затем сравнени-

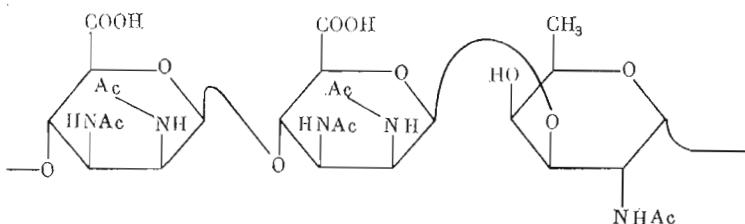
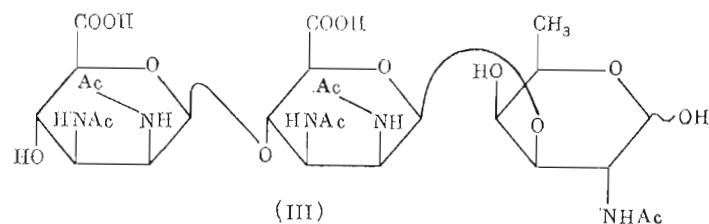
Таблица 3

Данные по ядерным эффектам Оверхаузера для олигозида (II) \*

Предоблуча- емое звено	Звено А			Звено В		Звено С				Звено D
	H-2	H-3	H-5	H-2	H-4	H-2	H-3	H-4	H-5	H-3
A	5,3	4,1	9,7		8,3					
B				3,6		6,0	5,1	6,5	10	
C										8,2

\* Наблюдаемые ЯЭО приведены в процентах от интенсивности сигнала H-1 предоблучаемого звена.

ем со спектрами олигомеров (I) и (II) для звеньев В и С и со спектром модифицированного полисахарида *P. aeruginosa* ОЗа, 3д [9, 10] для звеньев А и D были отнесены сигналы в спектре О-дезацетилированного полисахарида. Смещение сигнала C-4 звена А от 67,6–67,7 м. д. в спектрах олигомеров (I) и (II) к 71,8 м. д. в спектре полисахарида вызвано  $\alpha$ -эффектом гликозилирования [9, 11], откуда следует, что звено А замещено в положение 4 и полисахарид имеет линейное строение. Положение сигналов C-1 и C-2 звена D в спектре О-дезацетилированного полисахарида при 98,5 и 48,6 м. д. соответственно доказывает  $\alpha$ -конфигурацию остатка N-ацетилфукозамина (ср. с данными [9]: 98,3 и 48,7 м. д. для  $\alpha$ -аномера и 102,3 и 51,5 м. д. для  $\beta$ -аномера).

Модифицированный полисахарид *P. aeruginosa* ОЗа, 3д [9]

Сопоставление спектров О-дезацетилированного и исходного полисахаридов показало смещение сигналов C-2, C-3 и C-4 звена В от 54,2; 70,2 и 79,8 к 52,8; 72,9 и 77,8 м. д. соответственно. По направлению и величине эти смещения характерны для эффектов О-ацетилирования по О-3 [14]. Таким образом, О-ацтильная группа находится в положении 3 остатка N-ацетилглюкозамина (звено В). Отметим, что некоторому смещению в спектре подверглись сигналы ряда других углеродных атомов, расположенных вблизи места О-ацетилирования: C-1 звена А от 100,3 к 101,1 м. д. и C-5 звена В от 71,8 к 72,9 м. д., в то время как остальные сигналы в спектре сместились незначительно или не изменили своего положения.

Абсолютные конфигурации остатков 2,3-диацетамидо-2,3-дидезокси-маннуроновой кислоты (звеньев А и С) определены в результате анализа эффектов гликозилирования в  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектре О-дезацетилированного полисахарида [15]. Относительно небольшие по модулю  $\beta$ -эффекты гликозилирования на C-3 этих звеньев ( $-0,6$  и  $-0,3$  м.д. соответственно),

вызванные их гликозилированием в положение 4 остатками N-ацетил- $\alpha$ -D-гексозаминов (звеньями D и B), доказывают, что звенья A и C имеют такую же абсолютную конфигурацию, т. е. являются D-изомерами, так как в случае их противоположной конфигурации отрицательный  $\beta$ -эффект на C-3 превышал бы по модулю 1 м.д. Для звена C D-конфигурация подтверждается также относительно небольшим по модулю  $\beta$ -эффектом гликозилирования на C-4 гликозилируемого им остатка N-ацетил-D-фукозамина (звена D), составляющим  $-1$  м.д., что характерно для  $\beta 1 \rightarrow 3$ -связанных дисахаридов с одинаковой абсолютной конфигурацией (в случае противоположной конфигурации этот эффект превышал бы по модулю 2,5 м.д.). Вывод о D-конфигурации всех моносахаридов согласуется с величиной удельного оптического вращения О-дезацетилированного полисахарида,  $[\alpha]_D +41^\circ$ , что превышает эту величину для модифицированного полисахарида *P. aeruginosa* O3a, 3d [9],  $[\alpha]_D +10^\circ$  за счет дополнительного присутствия остатка N-ацетил- $\alpha$ -D-глюкозамина, вносящего положительный вклад в оптическое вращение (остальные компоненты у этих двух полисахаридов идентичны).

Таким образом, полученные данные позволяют установить полную структуру внеклеточного полисахарида исследуемого штамма *A. globiformis*, которая приведена на схеме. Интересно отметить, что два из четырех компонентов повторяющегося звена этого полисахарида являются остатками 2,3-диацетамило-2,3-дидезокси-D-маннуроновой кислоты — редко встречающегося в природе моносахарида, обнаруженного до сих пор только в О-специфических полисахаридах *P. aeruginosa* O3 [9, 10], во внеклеточном полисахариде *Propionibacterium acnes* C7 [16] и в полисахариде клеточной оболочки *Bacillus stearothermophilus* NRS 2004/3a [17].

### Экспериментальная часть

$^1\text{H}$ -ЯМР-спектры сняты на приборе Bruker WM-250 в  $\text{D}_2\text{O}$  при  $30^\circ\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектры — на приборе Bruker AM-300 в  $\text{D}_2\text{O}$  при  $70^\circ\text{C}$  для полисахаридов и  $30^\circ\text{C}$  для олигосахаридов; внутренний стандарт — ацетон,  $\delta_c 31,45$  м.д. Оптическое вращение определяли на поляриметре ЕПО-1 в воде при  $20^\circ\text{C}$ . Электрофорез на бумаге FN-11 проводили в пиридин-ацетатном буфере, pH 4,5, при 28 В/см. Анализ моносахаридов выполняли с помощью аминокислотного анализатора BC-200 и углеводного анализатора Technicon. ГЖХ осуществлена как в работе [18]. Гель-фильтрация выполнена на колонке ( $1,6 \times 80$  см) с носителем Fractogel TSK HW-40 в 1% уксусной кислоте, выходные кривые построены с помощью дифференциального рефрактометра Краег.

*Выращивание бактериальной культуры и выделение полисахарида.* Культуру бактерий *A. globiformis* выращивали на синтетической среде [19], содержащей питательные соли и этанол в качестве единственного источника углерода; продолжительность культивирования 72 ч на качалке с 200 об/мин. Клстки отделяли центрифугированием при 20 000 об/мин в течение 1 ч, полисахарид осаждали из падосадочной жидкости 3-кратным объемом ацетона, промывали ацетоном и эфирем, растворяли в воде, нагревали 15 мин при  $80^\circ\text{C}$ , подкисляли концентрированной HCl до pH 4, осадок отделяли центрифугированием, надосадочную жидкость нейтрализовали, обрабатывали смесь хлорформа и изоамилового спирта по методу Севага [20], диализовали, полисахарид осаждали ацетоном, растворяли в воде, подкисляли 50% трихлорускусной кислотой до pH 2, осадок отделяли центрифугированием, раствор диализовали, лиофилизовали, получили полисахарид,  $[\alpha]_D +23^\circ$  (с 0,4).

*О-Дезацетилированный полисахарид.* Полисахарид (100 мг) выдерживали 3 ч в 4 мл 1 М раствора натрийгидроксида при  $20^\circ\text{C}$ , нейтрализовали концентрированной HCl, денонизировали гель-фильтрацией, лиофилизовали, получили О-дезацетилированный полисахарид (80 мг),  $[\alpha]_D +41^\circ$  (с 0,15).

*Определение моносахаридного состава.* В аналитическом варианте полисахарид (2 мг) гидролизовали 4 М HCl (1 мл,  $100^\circ\text{C}$ , 4 ч), гидролизат упаривали, остаток упаривали с водой, анализировали с помощью углеводного и аминокислотного анализатора; порцию гидролизата превращали в ацетаты полиолов и анализировали ГЖХ как описано [18]. В препаративном варианте гидролиз 100 мг полисахарида разделяли ионообменной хроматографией на катионите Chromex UA-8 как описано ранее [21]. выделили хлоргидрат D-глюкозамина ( $[\alpha]_D +70^\circ$  (с 0,4), лит. [22]:  $+82,4^\circ$  (вода)) и хлоргидрат D-фукозамина ( $[\alpha]_D +65^\circ$  (с 0,3), лит. [23]:  $+93^\circ$  (вода)).

*Сольволиз безводным фтористым водородом.* Полисахарид (100 мг) обрабатывали 3 ч при  $20^\circ\text{C}$  безводным фтористым водородом, свежеперегнанным пад. кобальт-трифторидом, фтористый водород удалили в вакууме, поглощая его в ловушке с твердым натрийгидроксидом, из сольволизата гель-фильтрацией выделили олигосахарид (I), выход 60 мг. Олигосахарид (I) восстанавливали натрийборгидридом (30 мг) в воде (2 мл) в течение 2 ч при  $20^\circ\text{C}$ , денонизировали гель-фильтрацией, получили олигозид (II), выход 50 мг,  $[\alpha]_D -42^\circ$  (с 0,7).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кеасников Е. И., Писарчук Е. М., Нестеренко О. А. // Успехи микробиологии. 1977. Т. 12. С. 136–163.
2. Siddique I. R. // Carbohydr. Res. 1967. V. 4. № 2. P. 277–283.
3. Stoneker J. H., Orentas D. G., Knutson C. A., Watson P. R., Jeanes A. // Can. J. Chem. 1968. V. 46. № 21. P. 3353–3361.
4. Knutson C. A., Pittsley J. E., Jeanes A. // Carbohydr. Res. 1979. V. 73. № 1. P. 159–168.
5. Патент Японии. 1980. № 55-42633.
6. Книрель Ю. А., Даушин В. М., Шашков А. С., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К., Гофман И. Л. // Биоорганическая химия. 1987. Т. 13. № 7. С. 1002–1005.
7. Altona C., Haasnoot C. A. G. // Org. Magn. Reson. 1980. V. 13. № 6. P. 417–429.
8. Книрель Ю. А., Парамонов Н. А., Виноградов Е. В., Шашков А. С., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К., Станиславский Е. С. // Биоорганическая химия. 1986. Т. 12. № 12. С. 1649–1657.
9. 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. № 1. P. 81–90.
10. Knirel Y. A., Paramonov N. A., Vinogradov E. V., Shashkov A. S., Dmitriev B. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Kholodkova E. V. // Eur. J. Biochem. 1987. V. 167. № 3. P. 549–561.
11. Lipkind G. M., Shashkov A. S., Knirel Y. A., Vinogradov E. V., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1988. V. 175. № 2. P. 59–75.
12. Keller R. M., Wüthrich K. // Biol. Magn. Reson. 1981. V. 3. P. 1–52.
13. Bock K., Pedersen C. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1974. № 3. P. 293–297.
14. Jansson P.-E., Kenne L., Schweda E. // J. Chem. Soc. Perkin Trans I. 1987. № 2. P. 377–383.
15. Kochetkov N. K., Chizhov O. S., Shashkov O. S. // Carbohydr. Res. 1984. V. 133. № 2. P. 173–185.
16. Nagaoka M., Kamisango K., Fujii H., Uchikawa K., Sekikawa I., Azuma I. // J. Biochem. 1985. V. 97. № 6. P. 1669–1678.
17. Dmitriev B. A., Knirel Y. A., Kochetkov N. K., Hofman I. L. // Eur. J. Biochem. 1976. V. 66. № 3. P. 559–566.
18. Dmitriev B. A., Knirel Y. A., Kochetkov N. K., Stanislavsky E. S., Mashilova G. M. // Eur. J. Biochem. 1980. V. 106. № 3. P. 643–651.
19. Позыногова И. М., Бравичева Р. Н. // Микробиол. пром-сть. 1972. № 9. С. 3.
20. Штадуб А. М. // Методы химии углеводов/Ред. Кочетков Н. К. М.: Мир, 1967. С. 261–262.
21. Виноградов Е. В., Шашков А. С., Книрель Ю. А., Кочетков Н. К., Холодкова Е. В., Станиславский Е. С. // Биоорганическая химия. 1987. Т. 13. № 5. С. 660–669.
22. Beil. B. 1(IV). S. 902.
23. Perry M. B., Daoust V. // Can. J. Chem. 1973. V. 51. № 6. P. 974–977.

Поступила в редакцию  
22.II.1988

## STRUCTURE OF EXTRACELLULAR POLYSACCHARIDE FROM ARTHROBACTER GLOBIFORMIS

VINOGRADOV E. V., SHASHKOV A. S., KNIREL Y. A., GRIGOR'EVA N. A. \*,  
SHUBINA L. N. \*, KHOKHLENKO A. F. \*, BORINA L. E. \*

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

\* North Caucasus Branch of Institute of Hydrolysis, Krasnodar

An extracellular polysaccharide from *Arthrobacter globiformis* is composed of N-acetyl-D-glucosamine, N-acetyl-D-fucosamine, 2,3-diacetamido-2,3-dideoxy-D-mannuronic acid and O-acetyl groups in the ratio 1:1:2:1. On the basis of solvolysis with anhydrous hydrogen fluoride, which resulted in a tetrasaccharide fragment, and analysis by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>NMR spectroscopy, it was concluded that the polysaccharide has the following structure:

