



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

МОМ 15 * № 12 * 1989

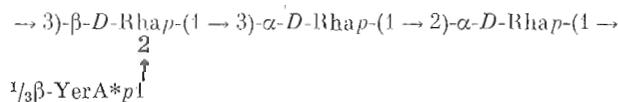
УДК 547.414.5:579.842.23

СТРУКТУРА О-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПОЛИСАХАРИДА
ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *YERSINIA FREDERIKSENII*
СЕРОВАРА О : 16,29

*Горшкова Р. П., Исааков В. В., Зубков В. А.,
Оводов Ю. С.*

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО Академии наук СССР, Владивосток

В составе антигена липополисахарида *Yersinia frederiksenii* серовара О:16,29 идентифицирована разветвленная октоза – 3,6-дидезокси-4-C-(L-глициро-4'-гидроксиэтил)-D-ксило-гексоза, идентичная нерсииозе А из *Y. pseudotuberculosis* серовара VI. При уксусно-кислотном гидролизе липополисахарида выделен рамнан, структура три сахаридного повторяющегося звена которого установлена из данных ^{13}C -ЯМР-спектров, метилирования, периодатного окисления. Исходя из количественного соотношения моносахаридов, результатов метилирования липополисахарида предложена структура повторяющегося звена О-специфического полисахарида:



В настоящей работе мы продолжаем изучение О-антителенных липополисахаридов рода *Yersinia*. Сообщение посвящено установлению строения О-специфического полисахарида *Yersinia frederiksenii* серовара О : 16,29 типового штамма 867.

Липополисахарид выделен фенол-водной экстракцией из ацетонового порошка микробной массы *Y. frederiksenii* серовара О: 16,29 и очищен от нуклеиновых кислот трехкратным ультрацентрифугированием (выход 4,2%).

В гидролизате липоцелиосахарида бумажной и газожидкостной хроматографией (в виде ацетатов полигалактоз) идентифицированы остатки рамнозы, неизвестного моносахарида, глюкозы, галактозы, *D*-глицеро-*D*-манно-гентозы, *L*-глицеро-*D*-манно-гентозы, 2-ацетамидо-2-дезокси-*D*-глюкозы в молярном соотношении 44 : 5 : 34 : 2 : 3 : 6 : 6.

Уксусно-кислотный гидролиз приводит к деструкции липополисахарида, липид А выпадает в осадок. Полисахаридную фракцию осаждали этанолом, в надосадочном этанольном растворе бумажной хроматографией обнаружены моносахарид ($R_{\text{Rh}} 1, 2$), кетодезоксиоктоновая кислота и на старте низкомолекулярные полисахаридные фрагменты. Из этанольного раствора с помощью препаративной рехроматографии выделен моносахарид $[\alpha]_D^{20} -6,2^\circ$ (с 0,6, вода), который по хроматографической подвижности совпадает с иерсиниозой А, выделенной нами ранее из липополисахарида *Y. pseudotuberculosis* серовара VI [1], и представляет собой разветвленную октозу: 3,6-дидезокси-4-C-(*L*-глицеро-1-гидроксиэтил)-*D*-ксилогексозу.

Масс-спектр ацетата полиола полученного образца нерсиниозы имеет основные ионы с m/z 95, 113, 115, 173, 187, 215, 229, 275, 289 и идентичен масс-спектрам ацетатов полиолов нерсиниоз, выделенных ранее из липополисахаридов *Y. pseudotuberculosis* серовара VI [1] и *Y. enterocolitica* серовара O : 4,31 [2]. По времени удерживания при ГЖХ ацетат полиола выделенной нерсиниозы совпадает с ацетатом полиола нерспниозы А из липо-

* YerA – 3,6-дидезокси-4-C-(L-глицеро-1'-гидроксиэтил)-D-ксило-гексоза.

полисахарида *Y. pseudotuberculosis* серовара VI. В спектре ^1H -ЯМР выделенной октозы преобладают сигналы β -пиранозной формы: аномерного протона при 4,57 м.д. (д, $J_{1,2}$ 8,2 Гц), протонов метиленового звена ($\text{H}-3\alpha$ при 1,7 м.д., дд, $J_{3\alpha, 3\beta}$ 13 Гц, $J_{3\alpha, 2}$ 11,6 Гц, $\text{H}-3\beta$ при 2,1 м.д., дд, $J_{3\beta, 2}$ 5,0 Гц), двух метильных групп ($\text{H}-6$ при 1,22 м.д., 3Н, д, $J_{5,6}$ 6,5 Гц; $\text{H}-2'$ при 1,24 м.д., 3Н, $J_{1,2}$ 6,5 Гц) и двух протонов, взаимодействующих с метильными группами ($\text{H}-5$ при 4,02 м.д., к; $\text{H}-1'$ при 3,78 м.д., к).

Пространственная ориентация гидроксигруппы установлена с помощью эксперимента ядерного эффекта Оверхаузера (ЯЭО). Так, при предоблучении протона $\text{H}-3\alpha$ происходит увеличение интегральной интенсивности сигналов протонов $\text{H}-2$, что однозначно указывает на экваториальную ориентацию гидроксигруппы.

^{13}C -ЯМР-спектр полученной иерсиниозы содержит сигналы (для β -формы) аномерного атома углерода (99,3 м.д.), сигнал метиленовой группы (35,4 м.д.), сигналы двух метильных групп (С-6 при 13,9 м.д. и С-2' при 16,8 м.д.) и четыре сигнала атомов углерода, относящихся к связанным с кислородом атомам С-2, С-4, С-5, С-1' при 69,0; 75,6; 75,9 и 70,3 м.д. соответственно. По данным ЯМР-спектроскопии, она идентична иерсиниозе А, выделенной из *Y. pseudotuberculosis* серовара VI.

Выделенная иерсиниоза превращена в метилгликозиды, из которых препаративной хроматографией на силикагеле выделен β -метилиерсиниозид $[\alpha]_D^{20} -48,2^\circ$ (с 0,1, вода), который по величине удельного оптического вращения наиболее близок к метил-3,6-дидезокси-4-C-(*L*-глициро-1'-гидроксигруппы)- β -D-ксило-пиранозиду ($[\alpha]_D^{20} -53,0^\circ$ (с 0,2, вода)) — одному из четырех синтезированных нами [3] метилгликозидов иерсиниоз.

С помощью иммунохимической реакции ингибиования пассивного гемолиза [4] показано, что из четырех синтетических метилгликозидов иерсиниоз [3] специфически связываются с антителами против микробы способен только метил-3,6-дидезокси-4-C-(*L*-глициро-1'-гидроксигруппы)- β -D-ксило-пиранозид (дает 20% ингибиования при дозе 500 мкг), что указывает на его антигенное родство с липополисахаридом *Y. frederiksenii* серовара О : 16,29.

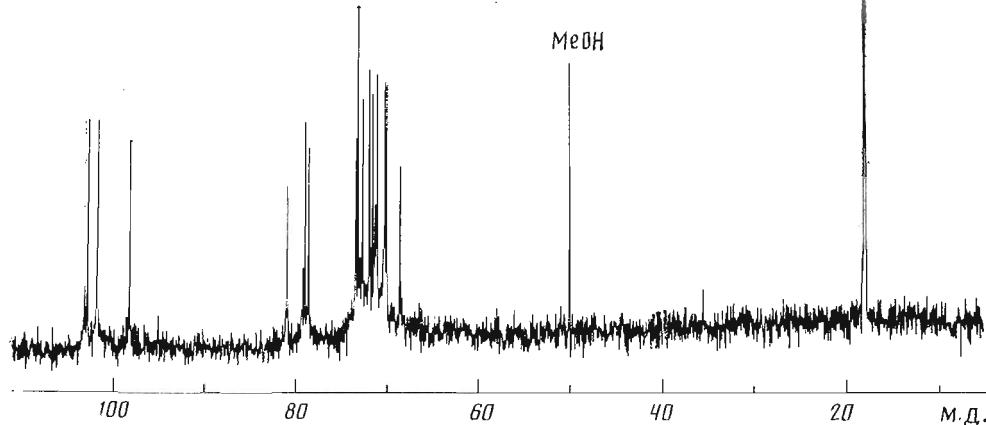
Из вышеупомянутых данных следует, что выделенная октоза является 3,6-дидезокси-4-C-(*L*-глициро-1'-гидроксигруппы)-D-ксило-гексозой.

Полисахаридная фракция, полученная при уксуснокислотном гидролизе, подвергнута гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-50, при этом первым пиком выходит глюкан с незначительной примесью рамнана, вторая фракция представляет рамнан с незначительной примесью других полисахаридов, и третья соответствует олигосахариду коры с примесью рампана и глюкана. Вторую фракцию подвергали рехроматографии на колонке с сефадексом G-25. Основная фракция представляет собой рамнан $[\alpha]_D^{20} +56,6^\circ$ (с 0,1, вода), в гидролизате которого с помощью ГЖХ идентифицирована в основном рамноза с незначительным количеством иерсиниозы.

Рамнан тормозит взаимодействие липополисахарида *Y. frederiksenii* серовара О : 16,29 с антисывороткой в реакции ингибиования пассивного гемолиза (дает 50% ингибиования при дозе 80 мкг), в то время как фракция олигосахарида коры неактивна. Это указывает на то, что рамнан, содержащий незначительное количество иерсиниозы, имеет участки связывания с антителами и проявляет серологическую активность.

Для определения абсолютной конфигурации рамнозы ($[\alpha]_D^{20} -6,9^\circ$ (с 0,7, вода)) выделена из гидролизата полисахарида с помощью препартивной бумажной хроматографии и превращена в α -метилрамнопиранозид, индивидуальность которого подтверждена ГЖХ. Полученный α -метилрамнопиранозид имеет $[\alpha]_D^{20} +53,0^\circ$ (с 0,5, вода), что в соответствии с литературными данными [5] указывает на D-конфигурацию остатка рамнозы в полисахариде.

Для определения типов замещения D-рамнозных остатков полисахарид подвергали метилированию [6], затем метанолизу, метанолизат исследовали методом хроматомасс-спектрометрии, анализируя производные рамнозы в виде частично метилированных метилрамнопиранозидов. В результате



Спектр ^{13}C -ЯМР рамнана, полученного из липополисахарида *Y. frederiksenii* серовара О : 16,29

были идентифицированы 3,4-ди-О-метил- и 2,4-ди-О-метилрамноза в соотношении 1 : 2.

Таким образом, исследуемый полисахарид представляет собой линейный рамнан, в состав которого входят два остатка *D*-рамнозы, замещенной в положение 3, и один остаток *D*-рамнозы, замещенной в положение 2.

В ^{13}C -ЯМР-спектре полисахарида (рисунок, таблица) присутствуют три сигнала аномерных атомов углерода единичной интегральной интенсивности при 103,0; 101,9 и 98,3 м.д. и сигналы при 17,9 и 17,8 м.д. в интегральном соотношении 2 : 1, характерные для метильных групп 6-дезоксисахаров. Кроме того, в спектре наблюдаются 3 сигнала при 81,0; 79,0 и 78,7 м.д., соответствующие неаномерным атомам углерода, соединенным гликозидной связью, а также 9 сигналов в области 68,7–73,5 м.д.

Конфигурация гликозидных связей установлена в результате определения констант спин-спинового взаимодействия аномерных атомов углерода с соответствующими аномерными протонами ($^1J_{\text{с}, \text{н}}$). В ^{13}C -ЯМР-спектре, снятом без подавления взаимодействия $^{13}\text{C}-^1\text{H}$, найдены КССВ $^1J_{\text{с}, \text{н}}$ 160 Гц для сигнала при 98,3 м.д. и $^1J_{\text{с}, \text{н}}$ 173 и 170 Гц для сигналов аномерных атомов углерода при 103,0 и 101,9 м.д. Следовательно, сигнал при 98,3 м.д. принадлежит β -пиранозиду, а два других – α -пиранозидам [7].

Таким образом, из первичного анализа спектра следует, что рамнан построен из регулярно повторяющихся трисахаридных звеньев, включающих в себя три остатка рамнозы, причем два из них имеют α -, а один –

Химические сдвиги атомов углерода в спектрах ^{13}C -ЯМР (м. д.)

Соединение	Остаток	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Рамнан (I)	Звено А	98,3 (98,1) *	71,6 (71,4)	81,0 (81,5)	72,7 (72,5)	73,2 (73,2)	17,9 (18,0)
	Звено Б	103,0 (103,2)	68,7 (68,9)	78,7 (78,4)	72,1 (71,8)	70,1 (70,0)	17,9 (18,0)
	Звено С	101,9 (102,0)	79,0 (79,8)	71,1 (71,3)	73,5 (73,5)	70,3 (70,0)	17,8 (18,0)
Модифицированный рамнан (II)	Звено А	98,6	71,5	81,1	73,1	73,3	17,9
	Звено В	100,5	68,9	78,9	72,1	69,7	17,9
	Звено С	90,3	73,7	60,7	64,1	67,6	19,2

* В скобках приведены расчетные данные.

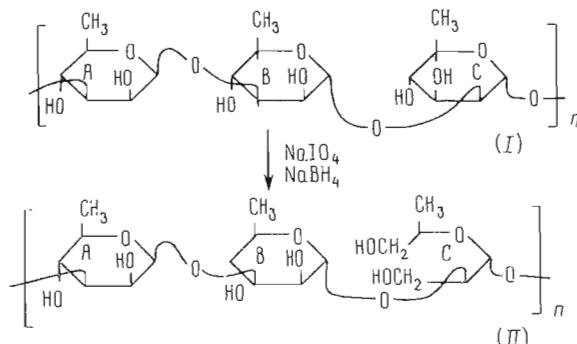
β -конфигурацию гликозидной связи. Невыясненным оставался вопрос о последовательности рамнозных остатков. Результаты по эффектам гликозилирования [8] не позволяют дать однозначного ответа на этот вопрос, так как сигнал с химическим сдвигом 98,3 м.д. (${}^1J_{c,\pi}$ и 160 Гц) может принадлежать как 2-O- [9], так и 3-O-замещенному остатку рамнозы [8]. Для решения этой задачи получен модифицированный полисахарид (II) (схема), который был выделен из рамнана путем периодатного окисления с последующим восстановлением натрийборгидридом. В спектре ${}^{13}\text{C}$ -ЯМР модифицированного рамнана в области резонанса аномерных атомов углерода наблюдаются три сигнала с химическими сдвигами 100,5; 98,6 и 90,3 м.д. Сигнал с химическим сдвигом 98,6 м.д., который практически не изменяется при сравнении со спектром рамнана, указывает на то, что β -конфигурацию имеет 3-O-замещенный остаток рамнозы, причем он гликозилирует другой остаток α -рамнозы в положение 3. На основании вышеизложенного можно сделать вывод о том, что повторяющееся звено рамнана имеет структуру (I), приведенную на схеме.

Для подтверждения структуры рамнана использовали компьютерный метод, основанный на расчете с помощью ЭВМ ${}^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров теоретически возможных линейных регулярных полисахаридов данного моносахаридного состава, исходя из химических сдвигов свободных моносахаридов и средних величин эффектов гликозилирования [10]. Проводили поиск структуры, теоретический спектр которой наиболее близок к экспериментальному. При расчете принималось во внимание, что каждый из остатков может иметь D - или L -конфигурацию. В результате расчета были найдены четыре структуры (A – D), для которых сумма квадратичных отклонений ($\epsilon\Delta^2$) сигналов расчетного и экспериментального спектров была наименьшей:

- | | | |
|---|--|------|
| A | $\rightarrow 3)\beta-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow 3)-\alpha-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow 2)-\alpha-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow \Sigma\Delta^2$ | 1,5, |
| B | $\rightarrow 3)-\alpha-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow 3)-\alpha-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow 4)-\beta-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow \Sigma\Delta^2$ | 2,2, |
| C | $\rightarrow 3)-\alpha-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow 3)-\alpha-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow 3)-\beta-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow \Sigma\Delta^2$ | 2,4, |
| D | $\rightarrow 3)-\beta-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow 2)-\alpha-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow 3)-\alpha-D-\text{Rhap}-(1 \rightarrow \Sigma\Delta^2$ | 3,0. |

Структуры B и C не удовлетворяют данным метилирования, а структура D не удовлетворяет величинам КССВ ${}^1J_{c,\pi}$ (на основании этих констант сигнал при 98,3 м.д. принадлежит α -аномеру, а при 103,0 м.д. – β -апомеру).

Таким образом, структура A с наименьшей величиной $\Sigma\Delta^2$ является единственной, удовлетворяющей всем полученным данным и совпадающей со структурой (I), приведенной на схеме.



Для определения места привязки концевой иерсиниозы липополисахарид метилировали, подвергали метанолизу и исследовали методом хромато-масс-спектрометрии в виде ацетатов частично метилированных метилгликозидов. Идентифицированы перметилированная иерсиниоза, 3,4-ди-O-метил- D -рамноза, 2,4-ди-O-метил- D -рамноза и 4-O-метил- D -рамноза в соотношении 0,6 : 1 : 1,4 : 0,6 соответственно и другие метиловые эфиры, относящиеся к глюкану и олигосахариду коры.

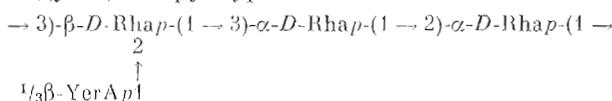
Наличие 4-O-метил- D -рамнозы в липополисахариде и уменьшение количественного содержания 2,4-ди-O-метил- D -рамнозы по сравнению с рам-

ианом указывают на то, что в специфическом полисахариде к одному из остатков 1,3-связанной рамнозы в положение 2 присоединен остаток терминальной персикозы.

В то же время спектр ^{13}C -ЯМР рамнана свидетельствует о присутствии незначительного количества иерсиниозы. В спектре рамнана наблюдается слабоинтенсивный сигнал при 35,6 м.д., характерный для С-3-атома β -формы иерсиниозы. Дополнительные слабоинтенсивные сигналы в области резонанса гликозидных С-атомов при 103,3 и 79,3 м.д. следует отнести к С-1-атому иерсиниозы и С-атому одного из остатков рамнозы, гликозилированному иерсиниозой. С учетом β -формы иерсиниозы и привлечением данных по эффектам гликозилирования [8] наиболее вероятным включением остатка терминальной иерсиниозы является положение 2 β -рамнопиранозного остатка.

Количественное соотношение остатков иерсиниозы и *D*-рамнозы (44 : 5) в липополисахариде показывает, что иерсиниоза нерегулярна в каждом повторяющемся звене. Вероятно, на три остатка трисахаридного повторяющегося звена рамнана приходится один остаток иерсиниозы.

На основе полученных данных для повторяющегося звена специфического полисахарида из линополисахарида *Y. frederiksenii* серовара О : 16,29 предложена следующая структура:



Экспериментальная часть

Аналитическую и препаративную хроматографию проводили на бумаге Filtrak FN-15 и Whatman 3MM в системе растворителей *n*-бутанол – пиридин – вода (6 : 4 : 3). Моносахариды обнаруживали щелочным раствором азотоксичного серебра, аминосахара – 0,2% раствором ингицирина в ацетоне. Тонкослойную препаративную хроматографию выполняли на пластинках Silica Gel 60 (Merck) в системе растворителей *n*-бутанол – этанол – вода (5 : 5 : 3).

Оптическое вращение измеряли на поляриметре Perkin – Elmer, модель 141, в воде, растворы лиофилизовали или упаривали в вакууме при 40° С.

Гель-хроматографию проводили на колонках с сефадексом G-50 (3×100 см) и G-25 (2×60 см), в пиридин-ацетатном буфере (рН 4,5).

Газожидкостную хроматографию выполняли на приборе Руе-Уинсам-104 с использованием стеклянных колонок ($0,4 \times 150$ см), упакованных QF-1-фазой, 3% на Gas-Chrom Q (100–120 меш). Ацетаты полиолов анализировали в программе температур $175\text{--}225^\circ\text{C}$ ($5^\circ/\text{мин}$) и ацетаты частично метилированных метилглюкозидов — $135\text{--}225^\circ\text{C}$ ($5^\circ/\text{мин}$). Хроматомасс-спектрометрию выполняли на приборе LKB 9000s с использованием той же фазы.

¹³C-ЯМР-спектры снимали на приборе Bruker-Physics WM-250 (ФРГ) в D₂O при 60° С, в качестве внутреннего стандарта использовали метанол (δ 50,15 м.д.).

Расчет структуры рампана по ^{13}C -ЯМР-спектру проводили по программе, разработанной в ИОХ АН СССР, на ЭВМ БЭСМ-6.

Использовали микроорганизм *Y. frederiksenii*, серовар О: 16,29 (штамм 867), полученный из института Пастера (Франция) от профессора M. M. Mollaret. Выращивание микроорганизмов, выделение липополисахарида, получение антисыворотки проводили как описано ранее [11].

Выделение рамнана и иверсинозы. Липонолисахарид (1 г) гидролизовали 1% уксусной кислотой (100 мл, 100° С, 1,5 ч). Лилип А (390 мг) отделяли центрифугированием при 6000 об/мин в течение 30 мин. Надосадочный раствор люофильзовали, растворяли в 5 мл воды и осаждали 5 объемами этанола. Осадок полисахаридной фракции люофильно сушили. Выход 400 мг.

Полисахаридную фракцию подвергали гель-хроматографии на сефадек-

се G-50, выделяли: фракция 1 (45 мг) — глюкан, фракция 2 (95 мг) — рамнан, фракция 3 (120 мг) — олигосахарид кора. Вторую фракцию рехроматографировали на колонке с сефадексом G-25. Собирали фракцию рамнана, идущую за свободным объемом колонки. Выход 50 мг, $[\alpha]_D^{20} +56,6^\circ$ (с 0,11, вода).

Этанольный раствор упаривали (120 мг) и исследовали хроматографией на бумаге.

Препартивной БХ выделено 7 мг иерсиниозы (R_{Rb} 1,2, $[\alpha]_D^{20} -6,4^\circ$ (с 0,6, вода)) и 60 мг низкомолекулярной полисахаридной фракции.

Иерсиниозу (4 мг) обрабатывали 1 М раствором хлористого водорода в метаноле (1 мл, 100° С, 1 ч), получали метилгликозиды иерсиниозы, которые разделяли на пластинке с силикагелем, выделяли β -метил-иерсиниозид (1 мг), $[\alpha]_D^{20} -48,2^\circ$ (с 0,1, вода).

Кислотный гидролиз. Липополисахарид (10 мг) и полисахариды (5 мг) гидролизовали 0,5 н. трифторуксусной кислотой (0,5 мл, 100° С, 3 ч), упаривали 3 раза с метанолом и гидролизат исследовали с помощью бумажной хроматографии. $\frac{1}{2}$ часть гидролизата восстанавливали боргидридом натрия (4 ч при 20° С), ацетилировали и ацетаты полиолов исследовали с помощью ГЖХ.

Рамнан (20 мг) гидролизовали 0,5 н. трифторуксусной кислотой (100° С, 2 ч). Гидролизат упаривали с метанолом 3 раза и подвергали препартивной бумажной хроматографии, соответствующую зону элюировали водой, выделяли 8,5 мг D-рамнозы, $[\alpha]_D^{20} -6,9^\circ$ (с 0,7, вода).

Рамнозу (5 мг) обрабатывали 1 М раствором хлористого водорода в метаноле (1 мл, 100° С, 1 ч), получали 4 мг метил- α -D-рамнопиранозида, $[\alpha]_D^{20} +53,0$ (с 0,5, вода).

Метилирование. Липополисахарид (15 мг) и рамнан (10 мг) метилировали иодистым метилом в присутствии метилсульфиниламина по методу [4]. Метилированные липополисахарид и рамнан очищали диализом, подвергали метанолизу, ацетилировали и исследовали ацетаты частично метилированных метилгликозидов методом хроматомасс-спектрометрии.

Периодатное окисление. Рамнан (20 мг) растворяли в 0,1 М растворе периодата натрия, выдерживали 65 ч в темноте при комнатной температуре, прибавляли 30 мг боргидрида натрия, выдерживали 4 ч, избыток боргидрида разрушали уксусной кислотой, диализовали, лиофильно сушили. Выход 15 мг.

Ингибиование пассивного гемолиза [4]. В реакции использовали 0,05 М вероналовый буфер (рН 7,2), содержащий 0,15 М NaCl и 1 мг/мл яичного альбумина. К 0,4 мл раствора ингибитора (0,5 нг—1 мг) добавляли 0,1 мл антисыротки в разведении 1 : 2000. После инкубирования (30 мин, 37° С) добавляли 0,1 мл комилемента (разведение 1 : 20) и 0,4 мл 0,25% суспензии сенсибилизованных эритроцитов. Сенсибилизацию эритроцитов барана (1 мл плотного осадка) проводили липополисахаридом (1 мг), предварительно активированным щелочью (0,1 н. NaOH, 90° С, 5 мин). После выдерживания в течение 30 мин при 37° С определяли поглощение супернатанта при 413 нм.

Авторы благодарят Г. М. Линкина и А. С. Шашкова, сотрудников ИОХ АН СССР (Москва), за снятие ^{13}C -ЯМР-спектра рамнана и расчет его структуры на ЭВМ БЭСМ-6.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gorshkova R. P., Zubkov V. A., Isakov V. V., Ovodov Yu. S. // Carbohydr. Res. 1984. V. 126. P. 308–312.
2. Горшкова Р. П., Зубков В. А., Исаев В. В., Оводов Ю. С. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 8. С. 1146–1147.
3. Зубков В. А., Свиридов А. Ф., Горшкова Р. П., Шашков А. С., Оводов Ю. С. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 2. С. 192–198.
4. Konowal T., Peterffy K. // J. Immunol. Methods. 1976. V. 13. P. 271–277.
5. Fisher E., Bergmann M., Rabe A. // Ber. 1920. B. 53. № 11. S. 2362–2388.
6. Nakomori S. // J. Biochem. 1964. V. 55. № 2. P. 205–208.
7. Bock K., Pedersen C. // J. Chem. Soc. Perkin Trans II. 1984. № 3. P. 293–297.

8. Kochetkov N. K., Chizhov O. S., Shashkov A. S. // Carbohydr. Res. 1984. V. 133. № 2. P. 173–185.
 9. Книрель Ю. А., Шашков А. С., Дмитриев Б. А., Кошечков Н. К., Касянчук Н. В., Захарова И. Я. // Биоорган. химия. 1980. Т. 6. № 12. С. 1851–1859.
 10. Липкинд Г. М., Шашков А. С., Кошечков Н. К. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 6. С. 833–840.
 11. Gorshkova R. P., Kalmykova E. N., Isakov V. V., Ovodov Yu. S. // Eur. J. Biochem. 1985 V. 150 № 3 P. 527–531.

Поступила в редакцию
6 XII 1988

После доработки
3.V.1989

STRUCTURAL STUDIES OF SIDE CHAINS OF THE O-SPECIFIC
POLYSACCHARIDE FROM LIPOPOLYSACCHARIDE OF *YERSINIA*
FREDERIKSENII, SEROVAR O : 16,29

GORSHKOVA R. P., ISAKOV V. V., ZUBKOV V. A., OVODOV Yu. S.

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far-East Branch, Academy of Sciences
of the USSR, Vladivostok*

A branched chain octose, 3,6-dideoxy-4-C-(*L*-glycero-1'-hydroxyethyl)-*D*-xylo-hexose, was isolated from the lipopolysaccharide of *Yersinia frederiksenii*, serovar O: 16,29 and identified as yersinirose A from *Y. pseudotuberculosis*, serovar VI. Mild hydrolysis of the lipopolysaccharide with acetic acid afforded a rhamnan. Structural features of the trisaccharide repeating unit were elucidated on the basis of ^{13}C NMR spectral data, methylation studies and periodate oxidation. Using these data as well as data on sugar composition and methylation studies of the lipopolysaccharide, the following structural pattern of the repeating unit of O-specific polysaccharide was proposed:

