

Данные Н-ЯМР-спектров (δ , м. д., КССВ, Гц)

Моносахаридный остаток	Н1		Н2		Н3		Н4		Н5		Н6а		Н6б	
	δ	$J_{1,2}$	δ	$J_{2,3}$	δ	$J_{3,4}$	δ	$J_{4,5}$	δ	$J_{5,6a}$	δ	$J_{6a,6b}$	δ	$J_{5,6b}$
ПС-1														
→ 3)- β -D-GlcрNAc-(1 → (A)	4,74	8,5	3,84	9,0	3,64	9,0	3,53	9,0	3,46	2,5	3,91	12,5	3,74	6,0
→ 3)- α -L-Rhap-(1 → (B)	4,95	1,5	4,23	3,5	3,84	10,0	3,49	10,0	3,70	6,0	1,24			
→ 2)- α -L-Rhap-(1 → (C)	5,12	1,5	4,04	3,5	3,91	10,0	3,45	10,0	3,74	6,0	1,29			
→ 3)- α -L-Rhap-(1 → (D)	4,85	1,5	3,85	3,0	3,76	10,0	3,53	10,0	3,99	6,0	1,23			
ПС-2 ^{2*}														
→ 3)- β -D-GlcрNAc-(1 → (A)	4,76	8,5	3,81	9,0	3,65	9,0	3,50	9,0	3,44	2,5	3,92	12,5	3,75	6,0
→ 3)- α -L-Rhap-(1 → (B)	4,85	1,5	4,23	3,5	3,84	10,0	3,49	10,0	3,70	6,0	1,24			
→ 2)- α -L-Rhap-(1 → (C)	5,22	1,5	4,01	3,5	3,86	10,0	3,41	10,0	3,76	6,0	1,31			
→ 3)- α -L-Rhap-(1 → (D)	4,87	<2	3,84	3,5	3,87	10,0	3,69	10,0	4,08	6,0	1,31			
β -L-XyIp-(1 → (E)	4,40	7,5	3,40	—	3,40	—	3,59	6,0 ^{3*}	3,95 ^{4*}	11,05 ^{5*}				
									3,25	10,0				

* Химический сдвиг сигнала N-ацетильной группы 2,02 м. д.

2* Приведены данные для пентасакхаридных звеньев.

3* $J_{4,5e}$.4* δ_{H5e} ; нижняя строка — δ_{H5a} .5* $J_{5e,5a}$; нижняя строка — $J_{4,5a}$.

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

Моносахаридный остаток	C1	C2	C3	C4	C5	C6
ПС-1						
→ 3)- β -D-GlcpNAc-(1 → (A)	103,2 (103,2)	56,8 (56,8)	82,9 (82,9)	69,9 (69,9)	77,0 (77,0)	62,1 (62,1)
→ 3)- α -L-Rhap-(1 → (B)	102,9 (102,9)	71,0 (71,0)	81,1 (81,1)	72,2 (72,2)	70,6 (70,6)	17,9 (17,7)
→ 2)- α -L-Rhap-(1 → (C)	102,0 (102,0)	78,9 (78,9)	71,4 (71,4)	73,6 (73,6)	70,3 (70,3)	17,7 (17,9)
→ 3)- α -L-Rhap-(1 → (D)	102,4 (102,4)	71,9 (71,9)	78,8 (78,8)	72,8 (72,8)	70,3 (70,3)	18,0 (18,0)
ПС-2**						
→ 3)- β -D-GlcpNAc-(1 → (A)	103,1 (103,3)	56,6 (56,6)	82,9 (82,9)	69,8 (69,8)	77,0 (77,0)	62,1 (62,1)
→ 3)- α -L-Rhap-(1 → (B)	103,3 (103,1)	71,0 (71,0)	81,2 (81,2)	72,4 (72,2)	70,3 (70,7)	18,0 (17,7)
→ 2)- α -L-Rhap-(1 → (C)	101,6 (101,6)	80,6 (80,6)	70,7 (71,2)	73,8 (73,8)	70,3 (70,3)	17,7 (18,0)
→ 3)- α -L-Rhap-(1 → (D)	102,2 (102,2)	72,2 (72,4)	76,4 (76,4)	80,8 (80,8)	69,8 (69,8)	18,2 (18,2)
4 ↑						
β -L-Xylp-(1 → (E)	104,9 (104,9)	74,4 (74,7)	77,2 (77,2)	*** (70,3)	66,3 (66,3)	

* Химические сдвиги сигналов N-ацетильной группы 23,5 м. д. (Me) и 175,5 м. д. (CO). В скобках приведены данные работы [4].

** Приведены химические сдвиги для пентасахаридных звеньев.

*** Положение сигнала не найдено.

Структура I была установлена нами ранее для O-антигена другого штамма *P. solanacearum* ICMP 767, а структура II — для O-антигенов группы штаммов *P. solanacearum* PDDCC 5712, ICMP 766, ICMP 7959 и ICMP 8066 [4]; в том числе была определена D-конфигурация N-ацетилглюкозамина и L-конфигурация ксилозы и рамнозы. Сравнение ^{13}C -ЯМР-спектров O-специфических полисахаридов этих и изученных в настоящей работе штаммов показало, что они соответственно идентичны друг другу.

В работе [4] ^{13}C -ЯМР-спектр для структуры I был расшифрован с использованием компьютерного расчета по методу [9], а спектр для структуры II — путем сравнения со спектром I и с данными для β -ксилопиранозы. Имея расшифрованные ^1H -ЯМР-спектры ПС-1 и ПС-2, интересно провести независимое отнесение их ^{13}C -ЯМР-спектров с использованием двумерно гетероядерной $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ -корреляционной спектроскопии. С этой целью был использован мультиквантовый метод с детектированием сигналов протонов (НМРС). Результаты расшифровки приведены в табл. 2. Сравнение полученных данных с ранее проведенным отнесением показывает, что в работе [4] для структуры I расшифровка была сделана правильно, тогда как для структуры II обнаруживается ряд неточностей, не имеющих, однако, значения для установления строения повторяющегося звена. Эти неточности исправлены в настоящей работе (табл. 2).

Использование варианта метода НМРС без подавления спин-спиновых вза-

имодействий $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ позволило определить КССВ $^1J_{\text{C},\text{H}}$. Относительно большие величины этих КССВ для трех остатков рамнозы (170,5—172,8 Гц) подтверждали их α -конфигурацию, а меньшие величины КССВ для остатков ксилозы и N-ацетилглюкозамина (163,5 Гц) — β -конфигурацию этих моносахаридов [10].

Таким образом, правильность структур I и II подтверждена независимыми методами: анализом моносахаридного состава, метилированием и ^{13}C -ЯМР-спектроскопией с применением компьютерного расчета в работе [4] и одно- и двумерной ^1H -ЯМР-спектроскопией и гетероядерной $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ -корреляционной спектроскопией в настоящей работе. Отметим, что нестехиометрическое замещение основной цепи моносахаридным остатком (ксилозой или рамнозой), образующим боковую цепь, наблюдается и у других O-антигенов *P. solanacearum* [2, 4], структурно родственных ПС-1 и ПС-2. Остается неизвестным, входят ли линейные тетрасахаридные и разветвленные пентасахаридные звенья в одну и ту же цепь или образуют две полисахаридные цепи с различной структурой.

Экспериментальная часть

Выращивание микроорганизмов, выделение липополисахаридов и O-специфических полисахаридов проводилось как описано ранее [2—4].

^1H -ЯМР-спектры сняты на приборе Bruker WM-250 в D_2O при 80°C . ^{13}C -ЯМР-спектры получены на приборе Bruker AM-300, снабженном дополнительным генератором BSV-3, в D_2O при 70°C . В качестве внутреннего стандарта использовали ацетон (δ_{H} 2,225, δ_{C} 31,45 м. д.). Для двумерной спектроскопии применяли стандартные методики Bruker. Время спин-локинга при съемке ROESY-спектра составляло 0,2 с.

Авторы благодарят куратора ICMP д-ра Дж. Янга (Новая Зеландия) за предоставление культуры *P. solanacearum*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шашков А. С., Здоровенко Г. М., Даева Б. Д., Яковлева Л. М., Соляник Л. П., Гвоздяк Р. И., Книрель Ю. А., Кочетков Н. К. // Биоорган. химия. 1990. Т. 16. № 1. С. 90—97.
2. Варбанец Л. Д., Кочарова Н. А., Книрель Ю. А., Мууас В. А., Москаленко Н. В., Броварская О. С. // Микробиол. журн. 1990. Т. 52. № 4. С. 27—33.
3. Kocharova N. A., Knirel Y. A., Shashkov A. S., Kochetkov N. K., Varbanets L. D. // Carbohydr. Res. 1992. V. 228. № 2. P. 315—320.
4. Kocharova N. A., Knirel Y. A., Shashkov A. S., Kochetkov N. K., Varbanets L. D., Moskalenko N. V., Brovarskaya O. S., Muwas V. A. // Carbohydr. Res. 1993. In press.
5. Westphal O., Jann K. // Methods Carbohydr. Chem. 1965. V. 5. P. 83—91.
6. Kocharova N. A., Knirel Y. A., Shashkov A. S., Kochetkov N. K., Pier G. B. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 23. P. 11291—11295.
7. Altona C., Naaszkoot C. A. G. // Org. Magn. Reson. 1980. V. 13. № 6. P. 417—429.
8. Jansson P.-E., Kenne L., Widmalm G. // Carbohydr. Res. 1989. V. 188. P. 169—191.
9. Кочетков Н. К., Виноградов Е. В., Книрель Ю. А., Шашков А. С., Липкинд Г. М. // Биоорган. химия. 1992. Т. 18. № 1. С. 116—125.
10. Bock K., Pedersen C. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. II. 1974. № 3. P. 293—297.

Поступила в редакцию
22.VI.1993

A. S. Shashkov, N. A. Kocharova, Yu. A. Knirel,
L. D. Varbanets*, N. V. Moskalenko*, A. V. Zdokhliy*

ANTIGENIC POLYSACCHARIDES OF BACTERIA.
38. THE STRUCTURES OF THE O-ANTIGENS OF
Pseudomonas solanacearum ICMP 7942 AND ICMP 8169

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

* D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
Ukrainian Academy of Sciences, Kiev

The structures I and II were established for the O-antigens of *Pseudomonas solanacearum* ICMP 7942 and ICMP 8169, respectively, by means of NMR-spectroscopy, including 2D homonuclear shift-correlated spectroscopy (COSY), rotating-frame NOE spectroscopy (ROESY) and heteronuclear ¹³C, ¹H multi-quantum correlation spectroscopy (HMQC). In the polysaccharide of the ICMP 8169 strain substitution of the main chain by the xylose residue is non-stoichiometric, i. e. this antigen contains also the repeating units of the polysaccharide of the ICMP 7942 strain (the ratio II : I is ~3 : 1).

