



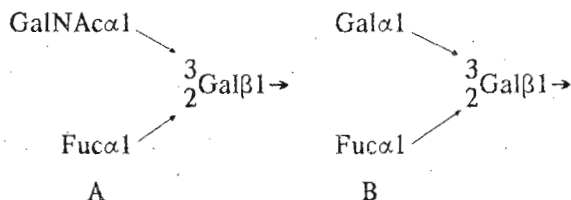
УДК 547.458.41.057

© 1993 г. Е. В. Шипова, Е. Ю. Корчагина, Т. В. Землянухина,  
О. Е. Галанина, Н. В. БовинСИНТЕЗ ТИОАЦЕТАМИДНЫХ АНАЛОГОВ ГРУППОСПЕЦИФИЧЕСКОГО  
ТРИСАХАРИДА КРОВИ А И ЕГО ФРАГМЕНТОВ

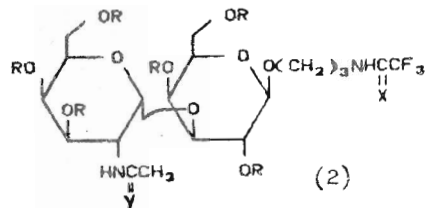
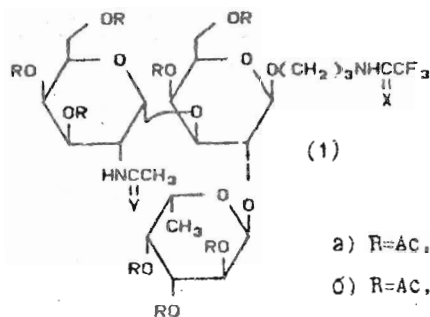
Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

Проведена модификация детерминантного трисахарида группы крови А  $\text{GalNAc}\alpha 1-3(\text{Fuc}\alpha 1-2)\text{Gal}\beta 1$ : ацетамидный фрагмент, определяющий серологическое различие между антигенными детерминантами А и В, превращен в тиоацетамидный. Замену амидного кислорода на серу осуществляли действием пентасульфида фосфора на ацетат трисахарида. Аналогично получены тионированные аналоги дисахарида А и  $\alpha$ -гликозида  $\text{GalNAc}$ . Методом ингибиторного иммуоферментного анализа изучено взаимодействие трех моноклональных анти-А-антител с модифицированными антигенами. Замена кислорода на серу в ацетамидной группе позволяет оценить вклад  $-\text{C}=\text{O}$  во взаимодействие антиген — антитело.

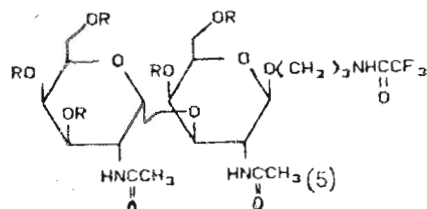
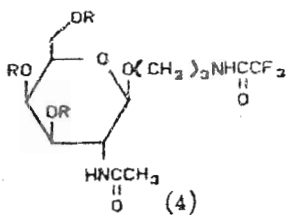
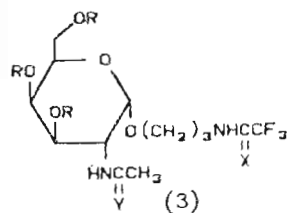
В исследованиях молекулярного устройства комплексов группоспецифических антигенов крови с антителами и лектинами ценную информацию можно получить, используя синтетические аналоги гаптенных с минимальными структурными изменениями [1, 2]. Ключевым фрагментом, определяющим серологическую разницу между антигенными детерминантами А и В, является ацетамидная группа в антигене А [3].



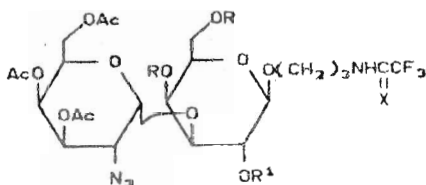
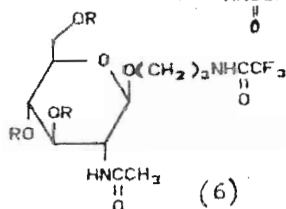
Особая роль ацетамидной группы в углевод-белковом узнавании связана с тем, что метильный фрагмент ее может взаимодействовать с гидрофобными аминокислотами белка, а карбонильный кислород образовывать водородные связи (см., например, [4]), причем как с белковым партнером, так и с гидроксильными группами этого же или соседнего моносахаридного остатков [5]. Замена карбонильного кислорода на серу в ацетамидной группе должна существенно изменить водородные связи типа  $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{Y}$ , в то же время практически не влияя на все остальные молекулярные взаимодействия. Поэтому трансформация  $\text{CH}_3\text{CONH}\rightarrow\text{CH}_3\text{CSNH}$  может стать удобным приемом выявления водородных связей типа  $\text{CH}_3\text{CO}\cdots\text{HX}$ .



- а) R=Ac, X=Y=O  
 б) R=Ac, X=O, Y=S  
 в) R=Ac, X=Y=S  
 г) R=H, X=O, Y=S  
 д) R=H, X=Y=S  
 е) R=H, X=Y=O



(4, 5, 6) R=Ac



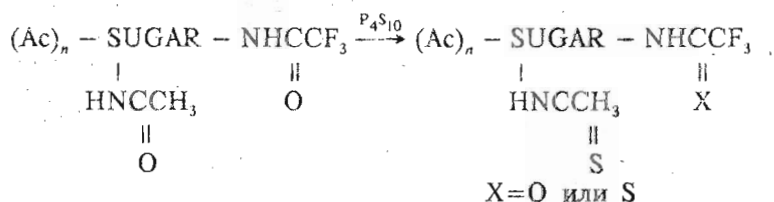
(7) RR=PhH, R<sup>1</sup>=H

(8) R=R<sup>1</sup>=H

(9) R=R<sup>1</sup>=Ac

В данной работе использован простой подход [6], позволяющий в мягких условиях избирательно заменять ацетамидный кислород на серу: обработка ацетамидного производного пентасульфидом фосфора  $P_4S_{10}$  в хлористом метиле при комнатной температуре.

Тионированию подвергали полные ацетаты группоспецифического трисахарида А (1а), его ди- (2а) и моносахаридного (3а) фрагментов в виде гликозидов 3-трифторацетамидопропилового спирта ( $-CH_2CH_2CH_2NHCOCF_3$ ) по схеме



Соединения (1а), (2а), (3а) содержат две амидные группы — ацетамидную

## Результаты тионирования

Исходный амид	Время реакции, ч	Соотношение моно- и бистионопроизводных (1б)—(3б)/(1в)—(3в)		Общий выход, %
(3а)	24	1	1	62
(3а)	96	0	1	58
(2а)	24	2	3	54
(1а)	96	0	1	74
(4)	96	0	0	0
(5)	96	0	0	0

Таблица 2

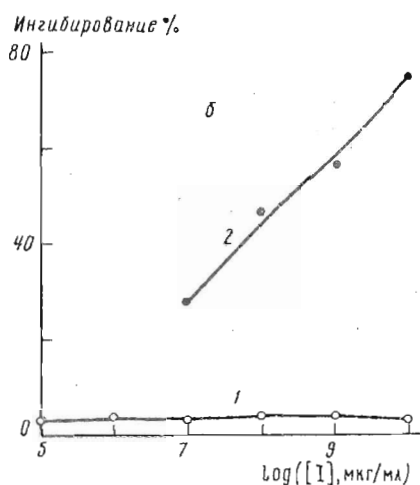
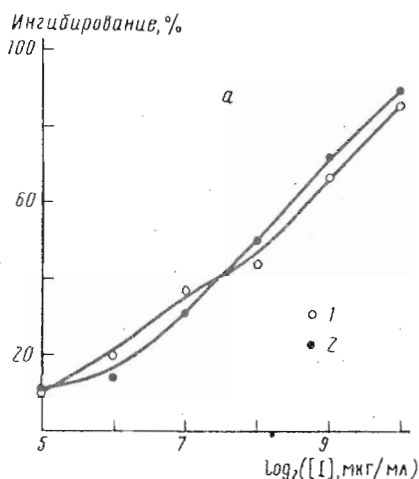
Характеристические химические сдвиги (ПМР)  
Данные масс-спектрометрии ( $M^+ + 1$ ) амидных и тиоамидных производных

Соединение	$M^+ + 1$	$\delta$ , м. д.	
		-NHCCN <sub>3</sub>	-NHCCF <sub>3</sub>
(3а)	501	6,21	7,33
(3б)	517	7,85	6,84
(3в)	533	7,71	9,00
(2а)	789	7,36	7,07
(2б)	805	8,17	7,03
(2в)	821	8,22	8,97
(1а)	1019	6,11	6,14
(1в)	1051	8,17	9,02

N-ацетил-D-галактозамина и трифторацетамидную спейсера. Обе группы претерпевают замену серы на кислород, причем первая заметно быстрее, чем вторая. Если останавливать реакцию на ранних стадиях (см. табл. 1), можно наряду с бистионопроизводными (1в)—(3в) выделить и монотионопроизводные (1б)—(3б). Величины молекулярных масс (FAB-масс-спектрометрия) продуктов тионирования (1б)—(3б) и (1в)—(3в) отличались от величин, полученных для исходных сахаров (1а)—(3а), соответственно на 16 и 32 единицы (см. табл. 2). Кроме того, в спектрах ПМР наблюдались характерные сдвиги в область более слабого поля приблизительно на 1,5—3 м. д. для монотионированных соединений (1б)—(3б) одного, а для бистионированных соединений (1в)—(3в) обоих сигналов ациламидных протонов относительно аналогичных сигналов в спектрах исходных (1а)—(3а).

Интересно, что замещение кислорода на серу наблюдалось только в случае  $\alpha$ -гликозидов 2-ацетида-2-дезоксисахаров. Попытки тионирования  $\beta$ -гликозидов N-ацетилгалактозамина (4) и дисахарида (5) оказались безуспешными (см. табл. 1). Похожие результаты наблюдали при тионировании производных глюкозамина. Не удалось осуществить тионирование полного ацетата  $\beta$ -гликозида глюкозамина (6), хотя ранее [6] было описано успешное тионирование  $\alpha$ 1-R-производных N-ацетилглюкозамина (R = AcO, Cl, BzIO).

О-Деацетилирование тиоацетамидных производных по Земплу или в присутствии Amberlyst A-26 (OH<sup>-</sup>) протекало неудовлетворительно, максимальные выходы составили 60% для (3д) и 78% для (1д). По-видимому, выход снижается из-за частичного гидролиза тиоамидных связей (по ТСХ идентифицируются



Ингибирование трисахаридом А (1e) (кривая 2) и его тиоаналогом (1d) (кривая 1) связывания антител 3F9, A27 (a) и A16 (б) с полиакриламидным конъюгатом трисахарида А

нингидринположительные продукты). Использование в качестве оснований  $\text{NH}_3$  или  $\text{NHEt}_2$  в метанольном растворе приводит к замещению серы на кислород. Оптимальным реагентом для O-дезацетилирования, исключая побочные реакции, был диизопропилэтиламин в метаноле. Строение дезацетилированных тиопроизводных (1д)—(3д) подтверждено масс-спектрами, в которых присутствовали пики молекулярных ионов 407 (3д), 569 (2д), 715 (1д).

$\alpha$ -Гликозид N-ацетил-D-галактозамина (3a) синтезировали как описано в работе [7]. Дисахарид (2a) получили из азида (7) [8] последовательным дебензилиденированием, ацетилированием, каталитическим гидрогенолизом азидной группы и N-ацетилированием. Трисахарид (1a) получали ацетилированием ( $\text{Ac}_2\text{O} + \text{Py}$ ) соответствующего трисахарида (1e) [8].

#### Взаимодействие модифицированных сахаров с моноклональными анти-A-антителами

Для оценки вклада водородных связей, образованных кислородом ацетамидной группы и фрагментом антигенсвязывающей области антитела, во взаимодействие антигена А с моноклональными анти-A-антителами сравнивали способность трисахарида А (1e) и его тиоаналога (1d) ингибировать реакцию антиген — антитело. С этой целью использовали разработанную ранее [9] твердофазную иммуоферментную тест-систему. Твердую фазу (полистирольные 96-луночные планшеты) сенсibilизировали природным или синтетическим антигеном, а затем инкубировали с антителами в присутствии ингибиторов. Изучали три линии моноклональных анти-A-антител, которые специфически взаимодействуют с эритроцитами группы А. Анализ показал (см. рисунок), что антитела 3F9 и A27 одинаково ингибируются нормальным трисахаридом и его тиоаналогом. В то же время тионированный трисахарид А (1d) практически не ингибирует связывание антител А16, причем независимо от того, природный или синтетический А-антиген брался для сенсibilизации твердой фазы.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что ацетамидная группа антигена А может принципиально по-разному взаимодействовать со связывающим фрагментом разных моноклональных антител.

## Экспериментальная часть

Оптическое вращение измеряли на поляриметре Jasco DIP-360 (Япония). Спектры ЯМР снимали на приборах Bruker WM-500 (500 МГц), WM-250 (250 МГц) и Varian SC-300 при 303 — 305 К в растворах  $\text{CDCl}_3$  (для защищенных сахаридов) или  $\text{D}_2\text{O}$  (для свободных сахаридов). Значения химических сдвигов ( $\delta$ , м. д.) приведены относительно тетраметилсилана. Величины констант спин-спинового взаимодействия даны в герцах. ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 (Merck, ФРГ); вещества обнаруживали 12% раствором фосфорной кислоты в воде или 0,3% раствором нингидрина в метаноле с последующим нагреванием. При проведении ТСХ аминокликозидов использовали систему этанол — бутанол — вода — пиридин — уксусная кислота, 100:10:10:10:3. Колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле 40/100 мкм (Chemapol, ЧСФР). Масс-спектры были сняты на приборе FAB 50 TC (газ-реагент — ксенон, 8 кэВ, стандартная матрица — глицерин). Растворители упаривали в вакууме при 30 — 40° С.

В иммуноферментном анализе использовали: желатин (Sigma), Твин-20 (Sigma), конъюгат антител против иммуноглобулинов мыши (IgM) с пероксидазой хрена предприятия «Кайу» (Эстония); планшеты из полистирола NUNC-Immuno-Plate-I (Nunc, Дания); фосфатно-солевой буфер (ФСБ) состава:  $\text{NaCl}$  (0,085 моль/л),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (0,008 моль/л),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (0,001 моль/л),  $\text{KCl}$  (0,003 моль/л). Моноклональные антитела (МА) получены в лаборатории физиологии кроветворения Всесоюзного гематологического научного центра (Москва); A16 — в виде асцитной жидкости, A27 и 3F9 — в виде культуральных жидкостей.

(3-Трифторацетамидопропил)- и (3-трифтортиооцетамидопропил)- 3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-2-тиооцетамидо- $\alpha$ -D-галактопиранозиды (3б) и (3в). К раствору 130 мг (0,26 ммоль) соединения (3а) [7] в 20 мл сухого хлористого метилена прибавляли 100 мг (0,45 ммоль)  $\text{P}_4\text{S}_{10}$ . Суспензию перемешивали 24 ч при 20° С. Реакционную смесь фильтровали и упаривали. Остаток хроматографировали в системе гексан — этилацетат (1:1), выделяли два тиооцетамида (3б) и (3в) с суммарным выходом 62% в соотношении 1:1 (44 мг (3б) и 42 мг (3в)).

(3б):  $[\alpha]_D^{+40}$  (с 1,  $\text{CHCl}_3$ ). Масс-спектр: 517 ( $M^+ + 1$ ). ПМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,78м (2H,  $\text{CCH}_2\text{C}$ ); 2,00с; 2,08с; 2,2с (9H; 3Ac); 2,57с (3H;  $\text{CSCCH}_3$ ); 3,45м; 3,7м (4H,  $\text{OCH}_2\text{CCH}_2\text{N}$ ); 4,12м (2H; H6a, H6b); 4,22м (1H; H5); 5,1д (1H;  $J_{1,2}$  2,5; H1); 5,32дд (1H;  $J_{3,2}$  10,5;  $J_{3,4}$  3; H3); 5,34ддд (1H;  $J_{2,\text{NH}}$  8,0; H2); 5,42м (1H; H4); 6,84д (1H;  $\text{NHCOCF}_3$ ); 7,845д (1H;  $\text{NHCSCH}_3$ ).

(3в):  $[\alpha]_D^{+73}$  (с 1;  $\text{CHCl}_3$ ). Масс-спектр: 533 ( $M^+ + 1$ ). ПМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,8м (2H;  $\text{CCH}_2\text{C}$ ); 2,00с; 2,07с; 2,2с (9H; 3Ac); 2,53с (3H;  $\text{CSCCH}_3$ ); 3,55м; 3,81м (4H;  $\text{OCH}_2\text{CCH}_2\text{N}$ ); 4,11м (2H, H6a, H6b); 4,22м (1H; H5); 5,2д (1H;  $J_{1,2}$  3,5; H1); 5,25ддд (1H;  $J_{2,3}$  10,5;  $J_{2,\text{NH}}$  7,5; H2); 5,33дд (1H;  $J_{3,4}$  3,0; H3); 5,41д (1H; H4); 7,71д (1H;  $\text{NHCSCH}_3$ ); 9,00м (1H,  $\text{NHCSCF}_3$ ).

(3-Трифторацетамидопропил)-3-О-(2-ацетамидо-3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид- $\alpha$ -D-галактопиранозил)-2,4,6-три-О-ацетил- $\beta$ -D-галактопиранозид (2а). К раствору 100 мг (0,136 ммоль) дисахарида (7) [8] в 10 мл ацетонитрила прибавляли 10 мл 60% водного раствора уксусной кислоты. Кипятили 3 ч. После полного исчезновения исходного (7) (ТСХ в системе хлороформ — метанол, 9:1) реакционную смесь упаривали, соупаривали с толуолом при 40° С. Полученный дисахарид (8) растворяли в 5 мл пиридина, добавляли 2 мл уксусного ангидрида и перемешивали 8 ч при 20° С. Реакционную смесь упаривали и высушивали в вакууме при 30° С. После хроматографии в системе гексан — этилацетат (4:7) выделили 52 мг азид (9), который затем гидрировали 8 ч в присутствии 5% Pd/C с добавлением 0,01 мл уксусного ангидрида в метанольном растворе. После фильтрации, упаривания реакционной смеси и сушки остатка получали 50 мг гексаацетата (2а) (47% в пересчете на (4)). Масс-спектр: 789 ( $M^+ + 1$ ). ПМР-спектр

(CDCl<sub>3</sub>): 1,88м (2H; CCH<sub>2</sub>C); 1,9—2,2м (21H; 7Ac); 7,07д (1H; NHCCCH<sub>3</sub>); 7,36м (1H; NHCCF<sub>3</sub>).

(3-Трифтороацетиамидопропил)- и (3-трифтортиоацетиамидопропил)-2,4,6-три-О-ацетил-3-О- (3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-2-тиоацетиамидо-α-D-галактопиранозил)-β-D-галактопиранозиды (2б) и (2в). В растворе 50 мг (0,063 ммоль) дисахарида (2а) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> суспендировали 50 мг (0,225 ммоль) P<sub>4</sub>S<sub>10</sub>. Перемешивали 24 ч при 20° С. Реакционную смесь фильтровали и упаривали. После хроматографии в системе гексан — этилацетат (2:3) получили тиоацетиамиды (2б) и (2в) с общим выходом 54% (17 мг (2б) и 11 мг (2в)).

(2б): [α]<sub>D</sub> +27,00° (с 0,4; CH<sub>3</sub>OH). Масс-спектр: 805 (M<sup>+</sup> + 1). ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>): 1,88м (2H; CCH<sub>2</sub>C); 2,02с, 2,06с, 2,08с, 2,13с, 2,17с, 2,26с (18H; 6Ac); 2,59с (3H; CSCCH<sub>3</sub>); 3,8дд (1H; J<sub>3,2</sub> 9,5; J<sub>3,4</sub> 3,0; H3); 3,86м (1H; H5); 4,41д (1H; J<sub>1,2</sub> 8,0; H1); 5,07дд (1H; H2); 5,08дд (1H; J<sub>3',2'</sub> 11,5; J<sub>3',4'</sub> 3,0; H3'); 5,2ддд (1H; J<sub>2',NH</sub> 8,5; H2'); 5,26дд (1H; J<sub>4,5</sub> 1,0; H4); 5,31д (1H; J<sub>1',2'</sub> 3; H1'); 5,4д (1H; H4'); 7,02м (1H; NHCOCF<sub>3</sub>); 8,17д (1H; NHCSCH<sub>3</sub>).

(2в): [α]<sub>D</sub> +28,28° (с 0,7; CH<sub>3</sub>OH). Масс-спектр: 821 (M<sup>+</sup> + 1). ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>): 2,05м (2H; CCH<sub>2</sub>C); 2,00с, 2,03с, 2,06с, 2,12с, 2,15с, 2,25с (18H; 6Ac); 2,59с (3H; CSCCH<sub>3</sub>); 3,8дд (1H; J<sub>3,2</sub> 9,5; J<sub>3,4</sub> 3; H3); 4,43д (1H; J<sub>1,2</sub> 8,0; H1); 5,07дд (1H; H2); 5,08дд (1H; J<sub>3',2'</sub> 11,5; J<sub>3',4'</sub> 3,0; H3'); 5,2ддд (1H; J<sub>2',NH</sub> 8,5; H2'); 5,26дд (1H; J<sub>4,5</sub> 1; H4); 5,3д (1H; J<sub>1',2'</sub> 3; H1'); 5,4д (1H; H4); 8,22д (1H; NHCSCH<sub>3</sub>); 8,97м (1H; NHCSCF<sub>3</sub>).

(3-Трифтортиоацетиамидопропил) - 4,6 - ди-О-ацетил-3-О-(3,4,6-три-О-ацетил-2-дезоксид-2-тиоацетиамидо-α-D-галактопиранозил)-2-О-(2,3,4-три-О-ацетил-α-L-фукопиранозил)-β-D-галактопиранозид (1в). 100 мг (0,15 ммоль) трисахарида (1е) [8] растворяли в 10 мл пиридина. Прибавляли по каплям при 0—5° С 5 мл уксусного ангидрида. Перемешивали при 20° С 8 ч. Реакционную смесь упаривали при 56° С. Остаток растворяли в 20 мл хлористого метилена, в растворе суспендировали 50 мг (0,225 ммоль) P<sub>4</sub>S<sub>10</sub>. Реакционную смесь перемешивали 96 ч, затем фильтровали, упаривали, хроматографировали в системе гексан — этилацетат — ацетон (1:1:2). Получали 100 мг (74%) (1в).

Масс-спектр: 1051 (M<sup>+</sup> + 1). [α]<sub>D</sub> +7° (с 0,5; CH<sub>3</sub>OH). ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>): 1,09д (3H; J 6,7; CH<sub>3</sub>''); 2,08м (2H; CCH<sub>2</sub>C); 1,97—2,25м (24H; 8Ac); 2,59с (3H; CSCCH<sub>3</sub>); 3,75дд (1H; J<sub>2,1</sub> 7,5; J<sub>2,3</sub> 9,25; H2); 3,84дд (1H; J<sub>3,4</sub> 3,5; H3); 4,45д (1H; H1); 4,99ддд (1H; J<sub>2',1'</sub> 3,25; J<sub>2',3'</sub> 11,5; J<sub>2',NH</sub> 7,6; H2'); 5,14дд (1H; J<sub>3',4'</sub> 3,0; H3'); 5,25дд (1H; J<sub>4,5</sub> 1,5; H4); 5,24дд (1H; J<sub>3'',2''</sub> 11,0; J<sub>3'',4''</sub> 3,25; H3''); 5,3дд (1H; J<sub>4'',5''</sub> 1,25; H4''); 5,39дд (1H; J<sub>2'',1''</sub> 3,75; H2''); 5,44дд (1H; J<sub>4',5'</sub> 1,0; H4'); 5,51д (1H; H1''); 5,63д (1H; H1'); 8,17д (1H; NHCSCH<sub>3</sub>); 9,02м (1H; NHCCF<sub>3</sub>).

Деацетилирование тиоацетиамидов (1в, 2в, 3в). К метанольным растворам (0,1 ммоль в 1 мл) ацетатов (1в), (2в), (3в) добавляли по 20 мкл диизопропил-этиламина. Через сутки упаривали в вакууме. По данным ТСХ (хлороформ — метанол, 3:2), деацетилирование проходит на 100%. Масс-спектр (M<sup>+</sup> + 1): 715 (1д), 569 (2д), 407 (3д).

Ингибиторный анализ. Устойчивость тионированных производных в условиях ИФА специально проверялась путем инкубирования в растворе фосфатно-солевого буфера (ФСБ) (рН 7,4). Вещества оставались без изменений в течение 10 ч (по данным ТСХ).

9б-Луночные планшеты сенсibilизировали синтетическим А-антигеном (30 мол. % трисахарида А на полиакриламиде) или групповым веществом (суммарная гликопротеиновая фракция из эритроцитов донора группы крови А) (10 мкг/мл, карбонатный буферный раствор с рН 9,6, по 100 мкл в лунку) в течение 2 ч при 37° С, затем 15 ч при 4° С, затем отмывали буферным раствором (ФСБ, рН 7,4), содержащим 0,05% Твин-20, обрабатывали 1 ч при 37° С 0,1%

желатином в ФСБ. Антитела в объеме 100 мкл (в оптимальной, предварительно подобранной концентрации) смешивали в лунках планшетов с сериями двукратных разведений ингибиторов (начальная концентрация 0,5 мг/мл) и инкубировали 2 ч при 37° С. После отмывки связывание МА измеряли при помощи конъюгата пероксидаза—анти-IgM, разведенного в ФСБ в 500 раз (100 мкл в лунку): выдерживали 1 ч при 20° С, промывали ФСБ, проявляли в субстратном растворе перекиси водорода (0,25%) и *орто*-фенилендиамина (0,1%). Каждую концентрацию ингибитора дублировали в соседних лунках планшета, каждый эксперимент по ингибированию повторяли дважды, а в случае расхождения более 10% — трижды. Результаты ИФА измеряли на приборе Multiscan МК II (Titertek).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lemieux R. U. // Chem. Soc. Rev. 1989. V. 18. P. 347—374.
2. Lemieux R. U., Cromer R., Spohr Ul. // Can. J. Chem. 1988. V. 66. P. 3083—3098.
3. Watkins W. M. // Adv. Hum. Genet. 1980. V. 10. P. 1—136.
4. Quijcho F. A. // Ann. Rev. Biochem. 1983. V. 55. P. 287—315.
5. Yadav J. S., Luger P. // Carbohydr. Res. 1983. V. 119. P. 57—73.
6. Бовин Н. В., Зурабян С. Э., Хорлин А. Я. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1981. С. 441—443.
7. Бовин Н. В., Землянухина Т. В., Хорлин А. Я. // Биооргани. химия. 1986. Т. 12. № 4. С. 533—538.
8. Корчагина Е. Ю., Бовин Н. В. // Биооргани. химия. 1992. Т. 18. № 2. С. 283—298.
9. Галанина О. Е., Дерюгина Е. И., Лапенков М. И., Носырев А. Е., Корчагина Е. Ю., Землянухина Т. В., Бовин Н. В. // Биооргани. химия. 1991. Т. 17. № 3. С. 343—352.

Поступила в редакцию  
24.III.1993

*E. V. Shipova, E. Yu. Korchagina, T. V. Zemlyanukhina,  
O. E. Galanina, N. V. Bovin*

#### SYNTHESIS OF THIOACETAMIDE ANALOGUES OF THE BLOOD GROUP TRISACCHARIDE A AND ITS FRAGMENTS

*M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic  
Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow*

The determinant trisaccharide of the blood group A, GalNAc $\alpha$ 1-3(Fuc $\alpha$ 1-2)Gal $\beta$ , was modified by treatment of the trisaccharide acetate with phosphorus pentasulphide to convert its acetamide fragment determining the serological difference between antigenic determinants A and B into the thioacetamide derivative. Thionated analogues of the A disaccharide and of GalNAc  $\alpha$ -glycoside were obtained in a similar way. Interaction of three monoclonal anti-A antibodies with modified antigens was studied using ELISA, the O $\rightarrow$ S replacement allowing to evaluate the contribution of the acetamido carbonyl group into the antigen-antibody interaction.