



УДК 547.458.02

ЛОКАЛИЗАЦИЯ О-АЦЕТИЛЬНЫХ ГРУПП В БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДАХ

Книрель Ю. А., Виноградов Е. В., Дмитриев Б. А.,
Кочетков Н. К.

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва

О-Ацетильные группы являются структурным компонентом большого числа О-антигенных и капсульных полисахаридов бактерий; О-ацетилированные сахара образуют иммунодоминантные звенья, определяющие серологическую специфичность микроорганизмов [1]. В настоящее время для локализации О-ацетильных групп в полисахаридах существует практически один химический метод [2], заключающийся в защите свободных гидроксильных групп реакцией с метилвиниловым эфиром, последующем омылении О-ацетильных групп и метилировании образующихся свободных гидроксильных групп в полученном ацетальном производном. Применение этого метода к бактериальным полисахаридам широкого распространения не получило, так как, несмотря на существенную модификацию [3], метод остается трудоемким и не исключает деструкции полисахаридных цепей в случае гликуроногликанов. Альтернативный подход к локализации О-ацетильных групп, состоящий в прямом метилировании незамещенных гидроксильных групп, например действием диазометана в присутствии эфира BF_3 [4] или метилтрифторметансульфоната в присутствии 2,6-ди-*трет*-бутилпиридина [5], оказался применимым только к производным сахаров (главным образом моносахаридов), растворимым в неполярных растворителях.

Недавно было показано, что полисахариды и липополисахариды могут быть успешно метилированы действием метилтрифторметансульфоната, если в качестве растворителя использовать триметилфосфат [6]. Мы решили проверить возможность применения этого варианта метилирования для локализации О-ацетильных групп в полярных углеводах и показали на моносахаридной модели, метил-4-О-ацетил- α -L-рамнопиранозиде, что метилирование в условиях работы [6] протекает количественно и не затрагивает О-ацетильных групп. Далее мы применили этот метод к полисахариду с известным положением О-ацетильной группы — кислому гексозаминогликану из бактерий *Shigella newcastle* [7] (таблица). Полученные нами результаты полностью соответствовали литературным данным и указывали на возможность использования нового метода для локализации и количественной оценки содержания О-ацетильных групп в полисахаридах.

В результате серологического изучения О-специфического полисахарида из бактерий *Salmonella anatum* [8] было высказано предположение,

Источник выделения полисахарида	Структура повторяющегося звена
<i>Sh. newcastle</i>	$\rightarrow 4)-D-GalUA (\beta 1 \rightarrow 3)-D-GalNAc (\beta 1 \rightarrow 2)-L-Rha(\alpha 1 \rightarrow 2)-L-Rha (\alpha 1 \rightarrow 3) \rightarrow$ <div style="text-align: center; margin-left: 150px;"> $\begin{array}{c} \\ \beta \\ \text{OAc} \end{array}$ </div>
<i>S. anatum</i>	$\rightarrow 6)-D-Man (\beta 1 \rightarrow 4)-L-Rha (\alpha 1 \rightarrow 3)-D-Gal (\alpha 1 \rightarrow 3) \rightarrow$ <div style="text-align: center; margin-left: 150px;"> $\begin{array}{c} \\ \beta \\ \text{OAc} \end{array}$ </div>
<i>E. coli</i> 0:58	$\rightarrow 3)-D-GlcNAc (\beta 1 \rightarrow 4)-D-Man (\alpha 1 \rightarrow 4)-D-Man (\alpha 1 \rightarrow 3) \rightarrow$ <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-left: 100px;"> <div style="text-align: center;"> $\begin{array}{c} \\ \beta \\ RhaLA\alpha 1 \end{array}$ </div> <div style="text-align: center;"> $\begin{array}{c} \\ \beta \\ \text{OAc} \end{array}$ </div> </div>
<i>Ps. aeruginosa</i> 0:2a, b	$\rightarrow 3)-L-Rha (\alpha 1 \rightarrow 4)-L-GalNAcUA (\alpha 1 \rightarrow 3)-D-QuiNAc (\alpha 1 \rightarrow 3) \rightarrow$ <div style="text-align: center; margin-left: 100px;"> $\begin{array}{c} \\ \beta \\ \text{OAc} \end{array}$ </div>

Примечание. RhaLA — рамнолактиловая кислота [9]; GalNAcUA — N-ацетилгалактоза минуруновая кислота; QuiNAc — N-ацетилхиновозамин.

что присутствующая в составе этого полисахарида О-ацетильная группа расположена на остатке галактозы в положении 6. Мы подвергли этот полисахарид прямому метилированию и впервые химическим путем подтвердили правильность сделанного ранее предположения. Недавно было показано [9], что О-специфический полисахарид из *Escherichia coli* 0:58 также содержит в составе повторяющегося звена О-ацетильную группу, однако ее точное положение осталось невыясненным. Применение нового метода показало, что ацетильная группа находится в положении 3 монозамещенного остатка маннозы. И наконец, мы локализовали О-ацетильную группу в положении 2 остатка рамнозы в О-специфическом полисахариде из *Pseudomonas aeruginosa** 0:2a, в, структура которого приводится здесь впервые (таблица).

Из данных анализа ПМР-спектров всех изученных нами полисахаридов следовало, что О-ацетильные группы входят в состав повторяющихся звеньев в несколько меньшем, по сравнению со стехиометрическим количестве: на одно звено приходится в среднем 0,75–0,8 ацетильных групп. В результате этого в смеси частично метилированных сахаров, полученной при анализе метилированного полисахарида, несущий О-ацетильную группу моносахарид дает два производных с различной степенью метилирования, соотношение которых может быть использовано для количественной оценки содержания О-ацетильных групп. Так, из относительного содержания моно- и ди-О-метильных производных рамнозы в смеси следовало, что в О-специфических полисахаридах из *Sh. newcastle* и *Ps. aeruginosa* содержание О-ацетильных групп составляет в среднем 0,7 на одно повторяющееся звено, что достаточно хорошо согласуется с данными ПМР-спектров. В случае полисахаридов из *S. anatum* и *E. coli* точная количественная оценка оказалась затрудненной из-за неудовлетворительного разделения смеси частично метилированных производных сахаров при анализе ГЖХ, однако, по-видимому, определенное методом метилирования содержание О-ацетильных групп в этих полисахаридах (~0,4–0,6) несколько ниже, чем по данным ПМР-спектров. Данные гидроксамовой реакции [8] показывают, что содержание О-ацетильных групп в поли-

* Подробные данные по изучению структуры полисахарида будут опубликованы особо.

сахариде из *S. anatum* также относительно более низкое и составляет в среднем 0,55 на одно повторяющееся звено.

Метилирование полисахаридов проводилось по методике [6] при использовании в качестве основания 4-метил-2,6-ди-*трет*-бутилпиридина. Кислые полисахариды предварительно переводили в триэтиламмониевую соль пропусканием через колонку с катионитом в триэтиламмониевой форме. Метилированные полисахариды очищали диализом против ацетона и дистиллированной воды, подвергали формолизу, гидролизу и последующему анализу в соответствии с общепринятой методикой исследования метилированных полисахаридов (например, [7]), проводя идентификацию частично метилированных моносахаридов в виде ацетатов полиолов методом ГЖХ-масс-спектрометрии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yann K., Yann B. (1977) in: Surface Carbohydrate of the Prokariotic Cell, pp. 247—287, Acad. Press, London.
2. de Belder A. N., Normann B. (1968) Carbohydr. Res., 8, 1—6.
3. Bebault G. M., Dutton G. G. S. (1978) Carbohydr. Res., 64, 199—213.
4. Mastronardi I. O., Flematti S. M., Deferrari J. O., Gros E. G. (1966) Carbohydr. Res., 3, 177—183.
5. Arnar J., Lönngren J. (1978) Acta chem. scand. Ser. B, 32, 465—467.
6. Pehm P. (1980) Carbohydr. Res., 78, 372—374.
7. Dmitriev B. A., Knirel Yu. A., Sheremet O. K., Shashkov A. S., Kochetkov N. K., Hofman I. L. (1979) Eur. J. Biochem., 98, 309—316.
8. Uchida T., Robbins P. W., Luria S. E. (1963) Biochemistry, 2, 663—668.
9. Dmitriev B. A., Knirel Yu. A., Kochetkov N. K., Yann B., Yann K. (1977) Eur. J. Biochem., 79, 111—115.

Поступило в редакцию
20.X.1980

LOCATION OF O-ACETYL GROUPS IN BACTERIAL POLYSACCHARIDES

KNIREL Yu. A., VINOGRADOV E. V., DMITRIEV B. A.,
KOCHETKOV N. K.

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

Direct methylation by methyl trifluoromethanesulfonate in trimethylphosphate is proposed as a method for location of the O-acetyl groups in microbial polysaccharides. This method was applied to four O-specific polysaccharides from *Salmonella anatum*, *Shigella newcastle*, *Escherichia coli* 0:58 and *Pseudomonas aeruginosa* 0:2a, b.