



УДК 547.458.02+577.11

ПОЛИСАХАРИДЫ МИКОБАКТЕРИЙ

6*. СПЕКТРЫ ^{13}C -ЯМР ВНЕКЛЕТОЧНОГО ПОЛИСАХАРИДА,
ПРОДУЦИРУЕМОГО *MYCOBACTERIUM ALBUM* В-88

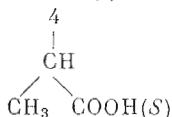
Шашков А. С., Свиридов А. Ф., Арифходжаев Х. А.,
Чижов О. С.

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

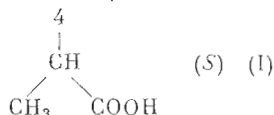
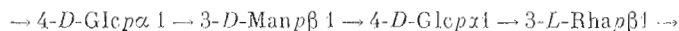
Ботвинко И. Б.

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

На основании обнаруженной зависимости химических сдвигов атома С1 гликозидирующей пиранозы от ближайшего окружения уточнена конфигурация гликозидной связи между остатками D-глюкопиранозы и D-маннолактиловой кислоты во внеклеточном полисахариде *Mycobacterium album* В-88. Проведена полная расшифровка спектра полисахарида.



В сообщении [2] на основании данных химического анализа и анализа спектров ^{13}C -ЯМР была предложена следующая структура повторяющегося звена полисахарида, продуцируемого *Mycobacterium album* В-88:



Конфигурация гликозидных связей в этом полисахариде следовала из результатов окисления его ацетата ангидридом хромовой кислоты [3] и, как нам казалось, из химических сдвигов сигналов в области резонанса апомерных атомов углерода (все сигналы С1 расположены в области резонанса выше 101 м.д.). Однако попытка полностью расшифровать спектр ^{13}C -ЯМР на основе низкомолекулярных моделей и известных в то время эффектов гликозидирования не привела к положительному результату. Было высказано предположение [2], что на сдвиг сигнала С1 в высокое поле в остатке D-глюкопиранозы оказывает влияние какой-то заместитель неуглеродной природы (так как в спектре число сигналов точно соответствовало повторяющемуся звену) при С2. Однако анализ полисахарида на наличие фосфата и сульфата, присутствующих в ростовой среде, оказался отрицательным. Наличие при С2 в остатках D-глюкопираноз О-метильной группы, а также образование карбоксильной группой молочной кислоты внутреннего лактона с гидроксильной группой С2-атома одного из остатков D-глюкопираноз не подтвердились экспериментально. Таким

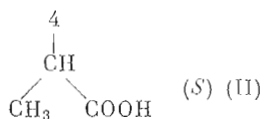
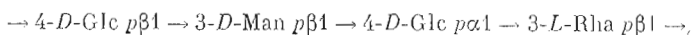
* Сообщение 5 см. [1].

образом, причина аномально высокого сдвига одного из аномерных атомов углерода осталась невыясненной.

В последнее время нами [4] обнаружена закономерность в изменении химических сдвигов атома С1 гликозилирующей пиранозы в зависимости от абсолютной конфигурации остатков и положения аксиального заместителя в 3-замещенной гликозилированной пиранозе. Согласно найденным закономерностям, химический сдвиг С1 гликозилирующей пиранозы с β -D-глюко- или β -D-галакто-конфигурацией заместителей, присоединенной по С3 гликозилированной пиранозы с D-манно-конфигурацией заместителей, должен лежать в аномально высокопольной области (100,5–102 м.д.) [4], что подтверждается новейшими экспериментальными данными [1, 5].

Если же меняется абсолютная конфигурация одного из упомянутых остатков или гликозилированная пираноза с манно-конфигурацией заменяется на пиранозу с галакто-конфигурацией, химический сдвиг С1-атома гликозилирующей пиранозы оказывается в низком поле (104–105 м.д.). Для гликозилирующих пираноз с α -D-глюко- или α -D-галакто-конфигурацией зависимость химического сдвига С1 от абсолютной конфигурации обеих пираноз и от ориентации заместителей в гликозилированной пиранозе для 1,3-связанных дисахаридных фрагментов, упомянутых выше, обратная. Аномально высокопольный сдвиг С1 гликозилирующей пиранозы (94,5–97,0 м.д.) в этом случае наблюдается для абсолютной DL(LD)-конфигурации пираноз, если гликозилированная пираноза имеет аксиальный заместитель при С2.

Имея в виду эти закономерности, мы вновь обратились к расшифровке спектра ^{13}C -ЯМР полисахарида (I), полагая, что конфигурация одной гликозидной связи ранее была определена неверно. Съемка спектра полисахарида (I) на приборе с высокой разрешающей способностью (62,9 МГц по ^{13}C) в условиях отсутствия тотального подавления взаимодействия углерода с протонами (Gated-decoupling) позволила получить для всех аномерных атомов углерода константы $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$. Эти константы оказались равными 164,6; 164,6; 159,0 и 170,1 Гц для сигналов 101,55; 100,85; 100,3 и 96,4 м.д. соответственно. Наблюдения Бока и др. [6] свидетельствуют, что три пиранозы в полисахариде (I) имеют β -конфигурацию при С1 и одна — α -конфигурацию. Согласно найденным нами закономерностям, аномально высокий сдвиг для β -D-глюкопиранозного остатка наблюдается в том случае, когда он присоединен по атому С3 D-маннопиранозы. Отсюда следует, что в повторяющемся звене полисахарида (I) должен быть дисахаридный фрагмент D-Glc β 1 \rightarrow 3-D-Man α (α или β). Соответственно аномально высокий сдвиг 96,4 м.д. означает, что в повторяющемся звене должен быть фрагмент D-Glc α 1 \rightarrow 3-L-Rha (α или β). Приведенные выше данные по константам $^1J_{\text{C}_1-\text{H}_1}$ и результаты химического исследования [2] показывают, что повторяющееся звено полисахарида имеет следующую структуру:



В связи с вышеизложенным материалом необходимо еще раз (см. также [7]) обратить внимание на возможность ошибки при определении конфигураций гликозидных связей методом окисления ацетатов полисахаридов ангидридом хромовой кислоты.

После уточнения конфигураций гликозидных связей удается дать непротиворечивое отнесение сигналов всех атомов углерода в спектре полисахарида (II) (таблица). При отнесении использовались данные по химическим сдвигам ^{13}C β -L-рампириранозного остатка в аналогичном окружении в полисахариде из *Shigella dysenteriae* тип 10 [8], 4-O-[(S)-1'-карбокситил]- β -D-маннопиранозы [9], остатков α - и β -D-глюкопиранозы в мальтозе и целлобиозе [10].

Химические сдвиги атомов углерода в повторяющемся звене полисахарида (II)

Остаток	Химические сдвиги атомов углерода ($J_{^{13}C_i - ^1H_i}$, Гц)					
	C1	C2	C3	C4	C5	C6
<i>D</i> -Glc $p \alpha$	96,4 (170,1)	71,6	72,3	80,1	71,6	61,4
<i>L</i> -Rha $p \beta$	101,55 (164,6)	68,5	78,4	71,6	72,7	48,0
<i>D</i> -Glc $p \beta$	100,85 (164,6)	73,3	78,8	79,2	75,95	62,2
<i>D</i> -Man $p \beta$	100,3 (159,0)	69,0	80,0	74,3	76,8	62,3
$\begin{array}{l} \text{COOH} \\ \\ -\text{O}-\text{CH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	182,0	76,35	19,0			

Для идентификации сигналов остатка α -*D*-глюкопиранозы использовался спектр α -целлобиозы (остаток *D*-глюкопиранозы на восстанавливающем конце), а для β -*D*-глюкопиранозы — спектр остатка *D*-глюкопиранозы на восстанавливающем конце β -мальтозы. В последнем случае выбор модельного соединения определялся тем, что заместитель при C4 в остатке β -*D*-глюкопиранозы имеет β -*L*-конфигурацию и должен вызывать такие же α - и β -эффекты гликозилирования, как заместитель с конфигурацией α -*D*-пиранозы [4]. Хотя отнесение сигналов, приведенное в таблице, нельзя считать совершенно определенным (для близких по химическим сдвигам сигналов отнесение может быть изменено), оно не противоречит закономерностям по влиянию различных структурных факторов на химические сдвиги углерода в углеводах и отвечает предложенной структуре повторяющегося звена полисахарида.

Экспериментальная часть

Спектры ^{13}C -ЯМР снимали на приборе Bruker WM-250 с рабочей частотой по ^{13}C 62,89 МГц в D_2O (3%-ный раствор) при 50° С, внутренний стандарт — метанол (50,15 м.д.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Свиридов А. Ф., Шашков А. С., Кочетков Н. К., Ботвинко И. В., Егоров Н. С. Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 9, с. 1242–1251.
2. Свиридов А. Ф., Арифходжаев Х. А., Шашков А. С., Ботвинко И. В., Чижов О. С., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 4, с. 568–577.
3. Lindberg B., Lönngren J., Svensson S. Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem., 1975, v. 31, p. 185–240.
4. Шашков А. С., Усов А. И., Книрель Ю. А., Дмитриев Б. А., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 9, с. 1364–1371.
5. Okutani K., Dutton G. G. S. Carbohydr. Res., 1980, v. 84, p. 259–271.
6. Bock K., Lundt I., Pedersen C. Tetrahedron Lett., 1973, № 13, p. 1037–1040.
7. Шашков А. С., Свиридов А. Ф., Горин С. Е., Джикия О. Д., Чижов О. С., Гуллыев Н., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1978, т. 4, № 6, с. 752–759.
8. Шашков А. С., Дмитриев Б. А., Книрель Ю. А., Шеремет О. К., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 4, с. 583–587.
9. Kochetkov N. K., Sviridov A. F., Arikhodzhaev Kh. A., Chizhov O. S., Shashkov A. S. Carbohydr. Res., 1979, v. 71, p. 193–203.
10. Usui T., Yamaoka N., Matsuda K., Tuzimura K., Sugiyama H., Seto S. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1973, № 20, p. 2425–2432.

Поступила в редакцию
6.IV.1982

POLYSACCHARIDES OF MYCOBACTERIA. 6. ^{13}C NMR SPECTRA
OF EXTRACELLULAR POLYSACCHARIDE PRODUCED
BY *MYCOBACTERIUM ALBUM* B-88

SHASHKOV A. S., SVIRIDOV A. F., ARIFKHODZHAEV Kh. A.,
GHIZHOV O. S., BOTVINKO I. V.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow; M. V. Lomonosov State University, Moscow*

Basing of the dependence of the C1 glycosylating pyranose chemical shifts on its nearest environment, the configuration of glycosidic linkage between the *D*-glucopyranose and *D*-mannolactylic acid residues was defined more precisely:

