



УДК 547.458.7

## ПОЛИСАХАРИДЫ ВОДОРΟΣЛЕЙ

XXI. ЩЕЛОЧНАЯ ДЕГРАДАЦИЯ СУЛЬФАТИРОВАННОГО МАННАНА  
ИЗ КРАСНОЙ ВОДОРΟΣЛИ *NEMALION VERMICULARE* SUR.

Усов А. И., Яроцкий С. В.

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

Изучено расщепление сульфатированного маннана из красной морской водоросли *Nemalion vermiculare* Sur. под действием щелочи. Установлено, что полисахарид содержит небольшое количество остатков *D*-ксилопиранозы, связанных с положениями 2 остатков *D*-маннопиранозы, образующих главную  $\alpha$ -1  $\rightarrow$  3-маннановую цепь молекулы полимера.

Ранее мы показали [1—3], что сульфатированный маннан из красной водоросли *Nemalion vermiculare* является линейным полисахаридом, углеводные цепи которого построены из  $\alpha$ -1  $\rightarrow$  3-связанных остатков *D*-маннопиранозы. Однако все препараты маннана, полученные из природного источника, содержали небольшое количество ( $\sim$ 2%) ксилозы. Полисахарид, свободный от ксилозы, не удалось получить ни комбинацией различных методов осаждения [1], ни с помощью ионообменной хроматографии на DEAE-сефадексе. При изучении структуры полисахарида методом метилирования преобладающая часть остатков ксилозы давала полностью метилированное производное [2]; наконец, было обнаружено, что остатки ксилозы удаляются из полисахарида в условиях десульфатирования действием HCl в метаноле [1]. Все это давало возможность предположить, что нативный сульфатированный полисахарид содержит ковалентно связанные остатки ксилозы, в основном присоединенные к главной маннановой цепи в виде единичных ответвлений. Настоящая работа посвящена подтверждению справедливости этого предположения.

Была изучена щелочная деградация полисахарида с целью обнаружить в продуктах расщепления фрагменты, соответствующие точкам разветвления углеводных цепей (ср. [4]). Как хорошо известно, моносахаридные остатки, замещенные в положение 3, особенно легко расщепляются под действием щелочи [5], давая, согласно общепринятому механизму Исбелла [6], метасахариновые кислоты. В случае дополнительных углеводных заместителей в положениях 4 или 6 должны образовываться соответствующие гликозиды метасахариновых кислот, устойчивые в щелочной среде. Однако если такой заместитель находится в положении 2, образуется гликозид 2,3-непредельного производного моносахарида, как это было показано на модельных соединениях [7]. Подобные вещества также устойчивы в щелочах, но легко разрушаются в слабокислой среде. При щелочной деградации полисахаридов нужно учитывать также, что присутствие кислорода может

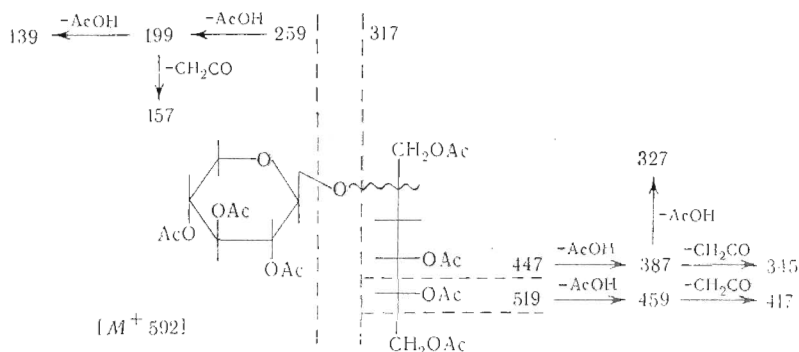
нарушать процесс последовательного отщепления моносахаридов за счет окисления восстанавливающего конца молекулы [8]. Таким образом, продуктами щелочной деградации могут быть как метасахариновые кислоты и их гликозиды, так и гликозиды непредельного соединения. Для упрощения разделения и установления строения полученных веществ было целесообразно превратить их в такие соединения одного типа, как 3-дезоксиполиолы и гликозиды 3-дезоксиполиолов, соответствующие точкам разветвления полисахаридной цепи.

Мы показали, что нагревание сульфатированного маннана в 1 н. NaOH в атмосфере аргона вызывает значительную деградацию полисахарида. Из реакционной среды удаляли неорганический сульфат и нерасщепившийся полисахарид, а продукты щелочной деградации гидрировали над скелетным никелем для восстановления двойных связей в возможных ненасыщенных производных сахаров. Затем имеющиеся в реакционной смеси оксикислоты переводили в лактоны и восстанавливали до полиолов по известной методике [9]. Анализ полученных веществ методом БХ показал наличие одной зоны с  $R_{\text{ХУЛ}} 0,95$ , что соответствует предполагаемой подвижности 3-дезоксигексита. При гидролизе вещества этой зоны в небольших количествах образовывалась ксилоза, идентифицированная БХ; основная часть вещества оставалась без изменения. После его ацетилирования с помощью препаративной ТСХ удалось получить два компонента, которые анализировали методом масс-спектрометрии. Было установлено, что главный компонент, обладающий большей хроматографической подвижностью, имеет масс-спектр, характерный для ацетилированных 3-дезоксигекситов [10]. По данным ГЖХ, это вещество представляло собой смесь из двух компонентов в соотношении  $\sim 30 : 1$ . После омыления ацетильных групп и бензоилирования были получены пентабензоаты 3-дезоксиманнита (главный компонент) и 3-дезоксисорбига, разделенные кристаллизацией и идентифицированные по константам.

Выделение производных двух 3-дезоксигекситов указывает на то, что главными продуктами действия щелочи на исходный полисахарид являются соответствующие им метасахариновые кислоты. Общепринятый механизм щелочной деградации не может объяснить преимущественного образования метасахариновой кислоты с арабино-конфигурацией в случае  $\alpha\text{-1} \rightarrow 3$ -связанного маннана, тем более что известен переход каждой из форм метасахариновой кислоты в другую в щелочной среде с достижением равновесия [11]. Имеются данные об аномальном поведении маннанов [4] и маннозы [12] при щелочной обработке и о влиянии условий реакции на вид образующейся сахариновой кислоты [13]. Однако причины необычного соотношения  $\alpha$ - и  $\beta$ -метасахариновых кислот в нашем случае остаются неясными.

Масс-спектр второго компонента смеси ацетатов полиолов позволил предложить для него структуру 2-О-ксилопиранозил-3-дезоксигексита. Хотя в масс-спектре отсутствует пик молекулярного иона, в области высоких масс наблюдаются пики ионов с  $m/e$  519 и 447, отвечающие первичным разрывам связей  $\text{C}_{(5)} - \text{C}_{(6)}$  и  $\text{C}_{(4)} - \text{C}_{(5)}$  соответственно в остатке 3-дезоксигексита. Наличие в молекуле остатка ксилозы доказывается пиком иона с  $m/e$  259, а ион с  $m/e$  317 соответствует отщеплению гликозидного заместителя от остатка полиола. Каждый из перечисленных ионов является родоначальником серии вторичных ионов, образующихся путем последовательного отщепления от первичного иона фрагментов уксусной кислоты или кетена. В целом такой масс-спектр надежно доказывает для исследуемого вещества структуру ацетилированного ксилозил-3-дезоксигексита. Положение ксилозильного остатка у  $\text{C}_{(2)}$  остатка 3-дезоксигексита подтверждается пиком с  $m/e$  447, поскольку в двух других возможных случаях (ксилозил при  $\text{C}_{(4)}$  или  $\text{C}_{(6)}$ ) наличие гликозидного заместителя будет препятствовать отрыву от молекулярного иона  $\text{AcOCH}_2\text{CHOAc}$ -группы. Наконец, отрицательное значение удельного вращения свидетельствует о  $\beta$ -

конфигурации ксилозидной связи в этом соединении.



Таким образом, изучение щелочной деструкции сульфатированного маннана из *Nemalion vermiculare* показало, что полисахарид в значительной степени расщепляется под действием щелочи, в результате чего образуется в основном 3-дезоксид-*D*-арабиногексоновая кислота. После восстановления продуктов деградации выделен 2-*O*-β-*D*-ксилопиранозил-3-дезоксигексит; это означает, что ксилоза является структурной единицей полисахарида из *Nemalion vermiculare*, где ее остатки связаны с положениями 2 остатков маннозы.

### Экспериментальная часть

БХ выполнена нисходящим способом на бумаге FN 11 («Filtrak», ГДР) в системе растворителей *n*-бутанол — пиридин — вода (6 : 4 : 3); для обнаружения зон восстанавливающих сахаров применен анилинфталат, невосстанавливающих — AgNO<sub>3</sub> и KOH после периодатного окисления [14], приведены подвижности веществ относительно *D*-ксилозы R<sub>Xyl</sub>.

ТСХ выполнена на пластинках с закрепленным слоем силикагеля КСК в системе растворителей CHCl<sub>3</sub> — ацетон (9 : 1); зоны обнаруживали конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

ГЖХ проведена на хроматографе «Руч» 104 с пламенно-ионизационным детектором; колонки 1,5 м с 3% полинеопентилгликольдипината на целите, 205°, N<sub>2</sub> 50 мл/мин.

Масс-спектры сняты на масс-спектрометре CH-6 «Varian» MAT (США), оптическое вращение измерено на поляриметре «Perkin-Elmer» 141 (США).

**Хроматография маннана на DEAE-сефадексе.** 150 мг маннана, полученного из водного экстракта водоросли *Nemalion vermiculare* фракционным осаждением спиртом по методу [1], растворяли в 5 мл 0,1 М NaCl и наносили на колонку 20 × 3 см с DEAE-сефадексом А-50, уравновешенную с 0,1 М NaCl. Колонку промывали порциями по 500 мл 0,1; 1; 2; 3; 4 М NaCl; полученные пять фракций диализовали против дистиллированной воды и лиофилизировали; выходы составили соответственно 6; 4; 44; 39 и 26 мг. Вещество каждой фракции давало при гидролизе (2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 100°, 4 ч), по данным БХ, маннозу и небольшие количества ксилозы.

**Щелочное расщепление маннана.** 400 мл 1 н. NaOH выдерживали в токе Ar, затем при перемешивании прибавляли 5 г маннана и после растворения нагревали в токе Ar 40 ч при 100°. Смесь охлаждали, прибавляли водный раствор Ba(OH)<sub>2</sub> до полноты осаждения, затем приливали при перемешивании 2 л этанола и осадок отделяли центрифугированием. Раствор обрабатывали катионитом КУ-2 (H<sup>+</sup>) до pH 10—11 и упаривали до 150 мл. После прибавления 1 г скелетного пикеля смесь гидрировали 6 ч при 110° и 180 атм H<sub>2</sub>. Катализатор отфильтровывали, раствор обрабатывали избытком КУ-2 (H<sup>+</sup>) и упаривали. Сиропообразный остаток (1,78 г) растворяли в 100 мл 0,05 М H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, прибавляли 10 г КУ-2 (H<sup>+</sup>), охлаждали до 0°

и при перемешивании медленно добавляли 100 мл свежеприготовленного 0,3 М NaBH<sub>4</sub>. Через 30 мин прибавляли еще 100 мл 0,3 М NaBH<sub>4</sub>, еще через 30 мин доводили pH до 10 раствором NaOH и выдерживали 12 ч при 5°. Затем смесь обрабатывали КУ-2 (H<sup>+</sup>), упаривали, удаляли H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> упариванием остатка с метанолом и процедуру восстановления NaBH<sub>4</sub> повторяли. Получали сироп, выход 0,75 г, R<sub>Xy</sub> 0,95, при гидролизе которого (2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 100°, 2 ч) кроме вещества с R<sub>Xy</sub> 0,95 образуется небольшое количество ксилозы.

Полученный сироп ацетилировали уксусным ангидридом в пиридине при 20°, и продукты реакции разделяли препаративной ТСХ. Получали ацетилированный 2-О-β-D-ксилопиранозил-3-дезоксигексит, выход 5 мг, R<sub>f</sub> 0,6, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -11° (с 0,2; CHCl<sub>3</sub>), масс-спектр: m/e 519, 500, 489, 459, 447, 445, 431, 417, 387, 345, 327, 317, 259, 257, 217, 199, 157, 145, 139, 115, 89, 43. Кроме того, было выделено вещество с R<sub>f</sub> 0,8, выход 520 мг, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +1,2° (с 2,2; CHCl<sub>3</sub>), масс-спектр: m/e 303 (M-73), 231 (M-72-73), 201, 171, 154, 145, 129, 101, 91, 89, 43. Последнее вещество, по данным ГЖХ, представляло собой смесь двух веществ в соотношении ~ 30 : 1. Его омыляли CH<sub>3</sub>ONa в метаноле. 30 мг дезацетилированного продукта обрабатывали PhCOCl в пиридине, кристаллизацией продуктов бензоилирования из n-гептана — этилацетата (3 : 2) получали 100 мг пентабензоата 3-дезоксид-D-маннита, т. пл. 104—105°, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -11,5° (с 1,0; CHCl<sub>3</sub>). По данным работы [15]: т. пл. 102—103°, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -34,4° (CHCl<sub>3</sub>). Кристаллизацией остатка из бензола получали 3 мг пентабензоата 3-дезоксид-D-сорбита, т. пл. 169°; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +17,5° (с 0,03; CHCl<sub>3</sub>). По данным [15]: т. пл. 170—171°, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +19,1° (CHCl<sub>3</sub>).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Усов А. И., Адамянц К. С., Яроцкий С. В., Аношина А. А., Кочетков Н. К. (1974) Ж. общ. химии, 44, 416—420.
2. Усов А. И., Адамянц К. С., Яроцкий С. В., Аношина А. А. (1975) Ж. общ. химии, 45, 916—921.
3. Усов А. И., Адамянц К. С., Яроцкий С. В. (1975) Ж. общ. химии, 45, 1377—1381.
4. Whistler R. L., BeMiller J. N. (1961) J. Org. Chem., 26, 2886—2892.
5. Painter T. J. (1963). Chem. and Ind., 36—37.
6. Isbell H. S. (1944). J. Res. Nat. Bur. Stand., 32, 45—59.
7. Kenner J., Richards G. N. (1956) J. Chem. Soc., 2921—2925.
8. Whistler R. L., BeMiller J. N. (1958) Advances Carbohydr. Chem., 13, 289—330.
9. Frush H. L., Isbell H. S. (1956). J. Amer. Chem. Soc., 78, 2844—2846.
10. Чижов О. С. (1967) Масс-спектрометрическое исследование углеводов, Докт. дисс., стр. 80, М.
11. Johansson M. H., Samuelson O. (1974) Carbohydr. Res., 34, 33—41.
12. Sowden J. C., Kuenne D. J. (1953) J. Amer. Chem. Soc., 75, 2788—2789.
13. Macbell G., Richards G. N. (1958) Tappi, 41, 12—16.
14. Усов А. И., Рехтер М. А. (1969) Ж. общ. химии, 39, 912—913.
15. Wood H. B., Fletcher H. G. (1961) J. Org. Chem., 26, 1969—1973.

Поступила в редакцию \*  
21.1.1975

### POLYSACCHARIDES OF ALGAE. XXI. ALKALINE DEGRADATION OF SULFATED MANNAN FROM THE RED ALGA *NEMALION VERMICULARE* SUR.

USOV A. I., YAROTSKY S. V.

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

A sulfated mannan extracted from the red seaweed *Nemalion vermiculare* Sur. was shown to contain a small proportion of D-xylopyranose residues linked to C<sub>2</sub> of D-mannopyranose residues of the main linear α-1→3 polysaccharide chain.

\* Статья из портфеля редакции «Журнал общей химии»; дата поступления — 22.XI.1974 г.