



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 547.458.418

СИАЛОГЛИКОЛИПИД НЕОБЫЧНОЙ СТРУКТУРЫ:
НЕТЕРМИНАЛЬНОЕ ПОЛОЖЕНИЕ СИАЛОВОЙ КИСЛОТЫ
В ОЛИГОСАХАРИДНОЙ ЦЕПИ

Кочетков Н. К., Смирнова Г. П.

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

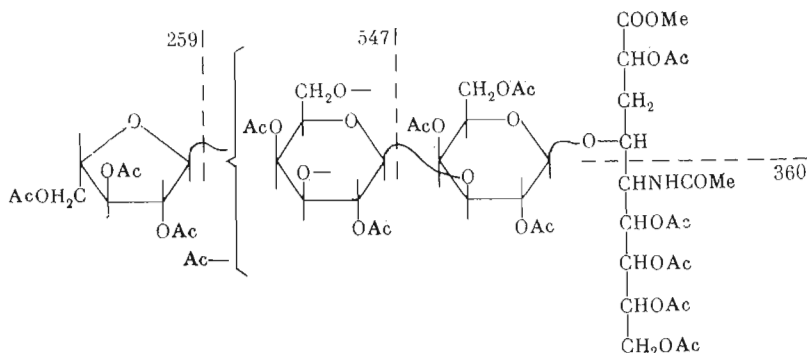
Известно, что сиаловая кислота занимает обычно терминальное положение в олигосахаридных цепях гликопротеинов и гликолипидов либо гликозилирована другим остатком сиаловой кислоты. В ходе исследования сиалогликолипидов иглокожих [1—5] в печени морской звезды *Patiria pectinifera* нами обнаружен необычный по структуре сфингогликолипид, который содержит остаток сиаловой кислоты в середине олигосахаридной цепи.

В печени *P. pectinifera* обнаружены два сиалогликолипида, которые были выделены, как описано ранее [5], и очищены препаративной ТСХ на силикагеле. Анализ менее полярного соединения показал, что в его состав входят фитосфингозин, высшие жирные кислоты, глюкоза, галактоза, арабиноза и сиаловая кислота в соотношении 1 : 1 : 1 : 4 : 2 : 1. Масс-спектрометрическим исследованием метилированного сиалогликолипида установлено, что концевое положение в олигосахаридной цепи занимает арабиноза (пик иона с m/e 175, который для тридегтерометильного производного смещается на 9 единиц в сторону больших масс). В масс-спектре отсутствуют пики ионов, соответствующих концевым остаткам сиаловых кислот, поэтому можно было полагать, что остаток сиаловой кислоты расположен внутри олигосахаридной цепи гликолипида. Это предположение подтвердилось при исследовании фрагментов, образующихся при мягком кислотном гидролизе сиалогликолипида. При обработке его 0,1 н. серной кислотой образуется лактозилкерамид и смесь моно- и олигосахаридов, которую разделили на нейтральную и кислую фракции ионообменной хроматографией на дауэксе 2×8 (CH_3COO^- -форма). В нейтральной фракции с помощью ВХ и ГЖХ найдена свободная арабиноза, а в кислой фракции главным компонентом оказался олигосахарид, имеющий меньшую подвижность при ТСХ на силикагеле, импрегнированном NaH_2PO_4 , в системе растворителей пропанол — вода — 2 н. NH_4OH (30 : 10 : 5), а также при электрофорезе на бумаге в пиридин-ацетатном буфере (рН 4,5), чем N-ацетилнейраминная кислота ($R_{\text{НАЧК}}$ 0,5 и $E_{\text{НАЧК}}$ 0,6 соответственно). Соединений с подвижностью обычных сиаловых кислот в смеси не обнаружено. Кислый олигосахарид (I) выделили с помощью препаративного электрофореза на бумаге. Показано, что он имеет обычный для сиаловых кислот спектр поглощения хромофора с резорцином ($\lambda_{\text{макс}}$ 585 нм) [6], но не дает окраски в реакции с периодатом натрия —

тиобарбитуровой кислотой [7]. Анализ сахаров, входящих в состав фрагмента, показал присутствие арабинозы, галактозы и сиаловой кислоты в соотношении 1 : 2 : 1.

Недавно олигосахарид такого же состава был получен Сугита и Хори при мягком кислотном гидролизе сиалогликолипидов из целых морских звезд *Asterina pectinifera* [8], однако авторы не приводят каких-либо данных о структуре этого соединения. В выделенном нами олигосахариде сиаловая кислота находится на восстанавливающем конце: после обработки фрагмента KBH_4 она не дает окрашивания с резорциновым реактивом. Этот факт однозначно доказывает, что в гликолипиде остаток сиаловой кислоты расположен внутри олигосахаридной цепи. Последовательность нейтральных моносахаридов в тетрасахариде и характер сиаловой кислоты определены с помощью масс-спектрометрии. В масс-спектре ацетилированного производного тетрасахарида (I), в котором кетогруппа сиаловой кислоты предварительно восстановлена боргидридом калия и карбоксильная группа метилирована, имеются пики ионов с m/e 259 и 547, характеризующие отщепление остатков концевой арабинозы и арабинозил-галактозы, а также пик иона с m/e 360, появление которого характерно для производных *N*-ацетилнейраминовой кислоты (схема 1). Этот ион образуется при разрыве $\text{C}_{(4)}-\text{C}_{(5)}$ -связи производного *N*-ацетилнейраминовой кислоты и представляет собой $\text{C}_{(5)}-\text{C}_{(9)}$ -фрагмент.

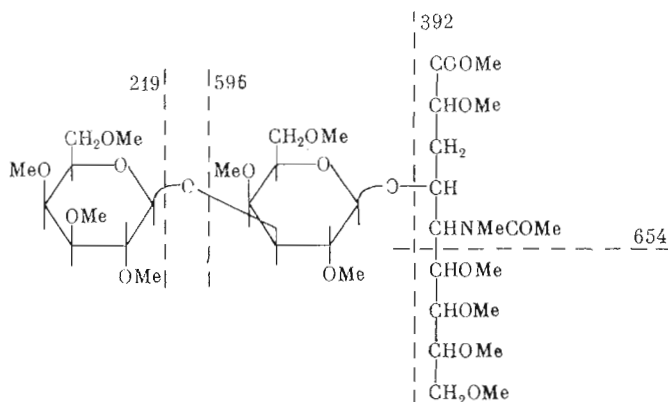
С х е м а 1



Из этих данных следует, что остаток арабинозы расположен на восстанавливающем конце тетрасахарида и связан с остатком галактозы и что в состав олигосахаридов входит *N*-ацетилнейраминовая кислота, гидроксильные группы которой при $\text{C}_{(7)}$, $\text{C}_{(8)}$ и $\text{C}_{(9)}$ свободны. Однако в масс-спектре, кроме того, присутствуют пики ионов с m/e 331 и 619, соответствующие отщеплению остатков концевой галактозы и галактозил-галактозы. По-видимому, в исследуемом соединении имеется примесь трисахаридов (II), содержащего два остатка галактозы и *N*-ацетилнейраминовую кислоту, который образуется из тетрасахарида (I) при отщеплении концевой арабинозы. Присутствие свободной арабинозы в кислом фрагменте, выделенном с помощью электрофореза на бумаге, показано с помощью ГЖХ: при анализе смеси моносахаридов и полиолов, образующихся при гидролизе фрагмента восстановленного предварительно KBH_4 , наряду с ацетатами арабинозы и галактозы обнаружен ацетат арабита. Лабильность арабинозидной связи обусловлена, по-видимому, тем, что арабиноза находится в фуранозной форме: присутствие концевой арабинофуранозы показано при анализе метилированных метилгликозидов, образующихся при метанолизе метилированного гликолипида. Необычным является тот факт, что арабиноза, видимо, частично отщепляется не только при выделении или анализе тетрасахарида (I), но и при обработке, включающей восстановление тетрасахарида боргидридом и метилирование по Хако-

мори [9]. В этом случае в качестве главного продукта реакции выделен метилированный трисахарид (II), структура которого определена с помощью масс-спектрометрии. В масс-спектре этого соединения имеются пики ионов с m/e 219 (остаток концевой галактозы), m/e 392 (отщепление производного 3,5-дидезокси-5-ацетидамононовой кислоты) и m/e 596 (фрагмент, включающий производное мононовой кислоты и остаток неконцевой галактозы). Кроме того, в области больших масс есть интенсивный пик иона с m/e 654, который образуется при расщеплении $C_{(5)}-C_{(6)}$ -связи остатка производного *N*-ацетилнейраминовой кислоты и включает ее $C_{(1)}-C_{(5)}$ -фрагмент и дигалактозилный остаток (схема 2). Эти данные показывают, что трисахарид (II) является дигалактозил-1 \rightarrow 4-*N*-ацетилнейраминовой кислотой.

с х е м а 2



Вывод о положении связи между остатками галактозы сделан на основании результатов анализа метилированного гликолипида и масс-спектрометрии метилированного трисахарид (II). Анализ метилированных метилгликозидов, образующихся при метанолизе метилированного гликолипида, показал, что все остатки галактозы замещены по $C_{(3)}$ и один из остатков галактозы замещен еще и по $C_{(6)}$. Следовательно, в трисахариде (II) остатки галактозы могут быть связаны либо 1 \rightarrow 3-, либо 1 \rightarrow 6-связью. Поскольку в масс-спектре метилированного трисахарид отсутствует пик иона $[M-101]^+$, характерный для метилированных олигосахаридов с 1 \rightarrow 6-связью между остатками гексоз [10], мы предполагаем, что остатки галактозы в трисахариде связаны 1 \rightarrow 3-связью.

Абсолютная конфигурация арабинозы (*L*) и галактозы (*D*) была установлена определением величин удельного вращения этих моносахаридов, выделенных в индивидуальном состоянии с помощью БХ после полного кислотного гидролиза гликолипида.

Таким образом, на основании приведенных данных сиалосодержащему олигосахариду, полученному при мягком кислотном гидролизе сиалогликолипида, можно приписать структуру *L*-арабинозил-1 \rightarrow 3(6)-*D*-галактозил 1 \rightarrow 3-*D*-галактозил-1 \rightarrow 4-*N*-ацетилнейраминовой кислоты.

Образование такого фрагмента и обнаружение арабинофуранозы в составе гликолипида показывает, что из печени *P. pectinifera* выделен сиалогликолипид нового типа, отличающийся от обычных ганглиозидов составом сахаров и положением сиаловой кислоты внутри олигосахаридной цепи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кочетков И. К., Жукова И. Г., Смирнова Г. П., Васьяковский В. Е. (1967) Докл. АН СССР, 177, 1472—1474.
2. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. I., Svetashev V. I., Zhukova I. G., Smirnova G. P. (1970) Comp. Biochem. and Physiol., 34, 163—177.

3. Kochetkov N. K., Zhukova I. G., Smirnova G. P., Glukhoded I. S. (1973) *Biochim. et biophys. acta*, **326**, 74—83.
4. Жукова И. Г., Богдановская Т. А., Смирнова Г. П., Чекарева Н. В., Кочетков Н. К. (1973) Докл. АН СССР, **208**, 981—984.
5. Kochetkov N. K., Smirnova G. P., Chekareva N. V. (1976) *Biochim. et biophys. acta*, **424**, 274—283.
6. Miettinen T., Takki-Luukkainen I. T. (1959) *Acta chem. scand.*, **13**, 856—858.
7. Warren L. (1959) *J. Biol. Chem.*, **234**, 1971—1975.
8. Sugita M., Hori T. (1976) *J. Biochem.*, **80**, 637—640.
9. Nakomori S. I. (1964) *J. Biochem.*, **55**, 205—208.
10. Чижов О. С., Полякова Л. А., Кочетков Н. К. (1964) Докл. АН СССР, **158**, 685—693.

Поступило в редакцию
29.III.1977

SIALOGLYCOLIPID OF UNUSUAL STRUCTURE: NON-TERMINAL POSITION OF SIALIC ACID IN THE OLIGOSACCHARIDE CHAIN

KOCHETKOV N. K., SMIRNOVA G. P.

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

A new type of a sialoglycolipid differing from usual gangliosides by the monosaccharide composition and the non-terminal position of sialic acid has been isolated from hepatopancreas of the starfish *Patiria pectinifera*. It contains phytosphingosine, fatty acids, glucose, galactose, arabinose and sialic acid in the 1 : 1 : 1 : 4 : 2 : 1 ratio. Arabinofuranose was shown to occupy the terminal position in the oligosaccharide chain. Sialic acid - containing tetrasaccharide was obtained after mild acid hydrolysis of the sialoglycolipid and its structure was determined as *L*-arabinosyl-1 → 3(6)-*D*-galactosyl-1 → 3-*D*-galactosyl-1 → 4-*N*-acetylneuraminic acid.
