



УДК 547.458.7.02+582.273

ПОЛИСАХАРИДЫ ВОДОРΟΣЛЕЙ

XXVII*. ЧАСТИЧНЫЙ АЦЕТОЛИЗ СУЛЬФАТИРОВАННОГО ГАЛАКТАНА
ИЗ КРАСНОЙ ВОДОРΟΣЛИ *GRATELOUPIA DIVARICATA* ОКАМ.

Усов А. Ш., Барбакадзе В. В.

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

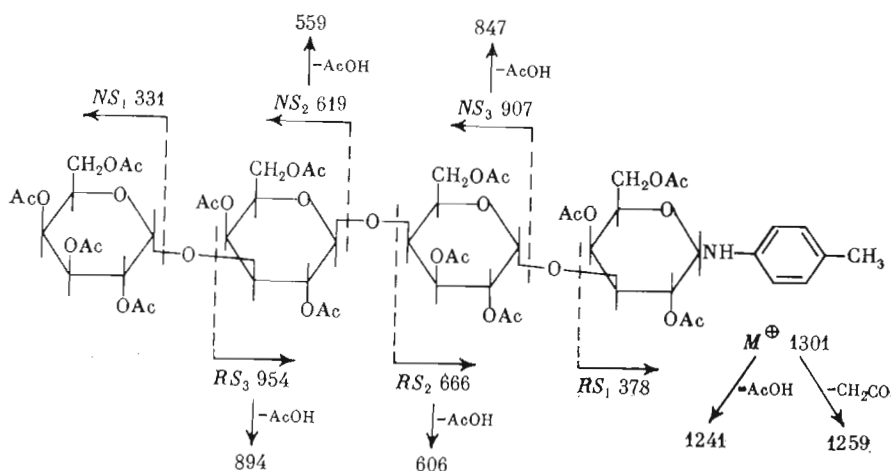
Из продуктов ацетолиза сульфатированного полисахарида, полученного из красной морской водоросли *Grateloupia divaricata*, выделены и идентифицированы 3-О- α -D-галактопиранозил-D-галактоза, 4-О- β -D-галактопиранозил-L-галактоза, О- α -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)-О- β -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)-D-галактоза, О- β -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)-О- α -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)-D-галактоза, О- β -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)-О- α -L-галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)-D-галактоза и О- α -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)-О- β -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)-О- α -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)-D-галактоза. Такой набор олигосахаридов указывает, что основой молекулы полисахарида является линейная цепь, построенная из остатков галактопиранозы с чередующимися α -1 \rightarrow 3- и β -1 \rightarrow 4-связями, причем 3-О-замещенные остатки галактозы относятся к D-ряду, а 4-О-замещенные имеют как D-, так и L-конфигурацию.

В предыдущих работах [1, 2] мы показали, что в основе молекулы сульфатированного полисахарида из красной водоросли *Grateloupia divaricata* лежит углеводная цепь, построенная из остатков галактозы со связями 1 \rightarrow 3 и 1 \rightarrow 4, причем в полисахариде содержится как D-, так и L-галактоза в соотношении 4 : 1. Чтобы выяснить, как распределены остатки D- и L-галактозы в молекуле полисахарида, мы предприняли изучение строения олигосахаридных фрагментов, образующихся в результате частичного расщепления гликозидных связей. В качестве метода расщепления полисахаридной молекулы был выбран частичный ацетолиз, уже применявшийся для изучения ряда галактанов красных водорослей [3—6].

В реакцию ацетолиза вводили цетавлоновую соль сульфатированного полисахарида, получаемую в процессе его выделения [2], поскольку эта соль легко растворяется в смеси уксусного ангидрида и уксусной кислоты. Условия обработки были найдены в предварительных опытах. Результатом ацетолиза явилось удаление содержащихся в полисахариде сульфатных групп и расщепление гликозидных связей с образованием смеси ацетилированных моно- и олигосахаридов. После дезацетилирования была получена сложная смесь веществ, в которой методом БХ обнаружены ксилоза, моно-О-метилгалактозы, галактоза и несколько олигосахаридов. Эту смесь разделяли на фракции по степени полимеризации с помощью гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-10, полученные фракции под-

* Сообщение XXVI см. [1].

Схема 1



Происхождение главных пиков в масс-спектре ацетата *N*-*n*-толилгликозиламина, полученного из тетрасахарида (VI)

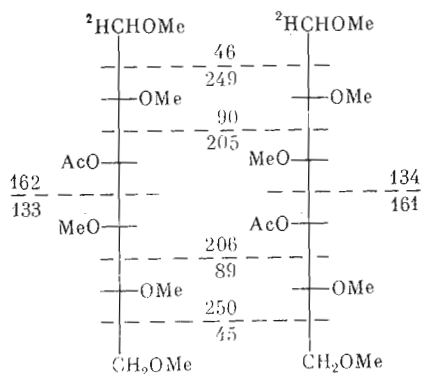
вергали далее препаративной БХ. Таким способом были выделены ксилоза и олигосахариды (I)–(VI), индивидуальность которых подтверждена дополнительно электрофорезом на бумаге.

Определение удельного вращения показало, что входящая в состав полисахарида ксилоза принадлежит *D*-ряду. В составе олигосахаридов (I)–(VI) этот моносахарид практически отсутствовал, при гидролизе олигосахаридов обнаружена только галактоза. Ксилозидные связи, таким образом, расщепляются при ацетоллизе значительно легче галактозидных. Аналогичный результат получен и при попытке подобрать условия для частичного гидролиза полисахарида минеральными кислотами. Очевидно, эти данные объясняются периферическим расположением остатков ксилозы, присоединенных в виде единичных ответвлений к главной галактановой цепи молекулы (ср. с результатами метилирования [1]).

Олигосахариды (I)–(VI) были превращены в полностью ацетилированные *N*-*n*-толилгликозиламина. Как известно [7], масс-спектры таких производных содержат пики, отвечающие молекулярному иону, а также пики двух серий ионов, возникающих за счет расщепления связей между моносахаридными остатками и включающих восстанавливающий (серия *RS*) или невосстанавливающий (серия *NS*) концы производного олигосахариды (схема 1, табл. 1). С помощью масс-спектрометрии было доказано, что вещества (I) и (II) являются дисахаридами, (III)–(V) — трисахаридами, а (VI) — тетрасахаридом. Кроме того, отсутствие в спектрах пиков ионов с *m/e* 304, 346, 364 и 377, характерных для 1 → 6-связей на восстанавливающем конце олигосахариды, и пиков ионов с *m/e* 259 и 479, характерных для 1 → 2-связей между моносахаридами [7], позволяло предположить, что указанных типов связей в исследуемых соединениях нет. Однако масс-спектры не позволяют сделать выбор между связями 1 → 3 и 1 → 4.

Дальнейший анализ строения олигосахаридов был проведен с помощью метода метилирования, причем олигосахариды предварительно восстанавливали в мягких условиях действием NaB^2H_4 . Введение метки было необходимо для того, чтобы различить 3- и 4-замещенные остатки на восстанавливающем конце олигосахариды. В дейтерированных производных пентаметилдальциты это удается сделать с помощью масс-спектрометрии по пикам ионов с *m/e* 133 и 162 или 134 и 161 (схема 2). Восстановленные олигосахариды метилировали по методу Хакомори [8], гидролизывали, частично метилированные производные галактозы восстанавливали

С х е м а 2



Происхождение главных пиков в масс-спектрах ацетатов 1,2,4,5,6-пента-О-метил- и 1,2,3,5,6-пента-О-метил [1-²H₁]дульцита

NaBH₄, ацетилировали и полученные смеси ацетатов частично метилированных дульцитов анализировали методом ГЖХ. Идентификацию веществ проводили сравнением с заводскими образцами и хромато-масс-спектрометрически [9]. Полученные результаты приведены в табл. 2.

Из данных метилирования следует, что в олигосахаридах (I)—(VI) имеются только 1 → 3- и 1 → 4-связи между остатками галактозы, причем дисахарид (I) является 3-О-галактопиранозилгалактозой, дисахарид (II) — 4-О-галактопиранозилгалактозой, трисахарид (III) — О-галактопиранозил-(1 → 3)-О-галактопиранозил-(1 → 4)-галактозой, а оба трисахариды (IV) и (V) имеют строение О-галактопиранозил-(1 → 4)-О-галактопиранозил-(1 → 3)-галактозы. В тетрасахаридах (VI) восстанавливающий концевой остаток галактозы замещен в положение 3, а кроме него имеется еще один 3-О-замещенный и один 4-О-замещенный остаток галактозы. При щелочном расщеплении тетрасахарида (VI), приводящем к последовательному отрыву моносахаридных остатков с восстанавливающего конца (ср. [3]), были получены галактоза, дисахарид и трисахарид; методом метилирования было показано, что дисахарид является 3-О-галактопиранозилгалактозой. Следовательно, вторая 1 → 3-связь находится на невосстанавливаемом конце молекулы тетрасахарида (VI), который поэтому имеет структуру О-галактопиранозил-(1 → 3)-О-галактопиранозил-(1 → 4)-О-галактопиранозил-(1 → 3)-галактозы. Таким образом, набор олигосахаридов, полученный в результате ацетоллиза, соответствует регулярному чередованию связей 1 → 3 и 1 → 4 в молекуле полисахарида (ср. с продуктами ацетоллиза λ-каррагинана [3]).

Окончательное установление строения олигосахаридов (I)—(VI) было проведено главным образом с использованием ферментативного гидролиза α-галактозидазой из кофейных бобов и β-галактозидазой из *Escherichia coli*. Обе эти галактозидазы представляют собой экзоферменты, способные специфически расщеплять соответственно α- и β-D-галактозидные связи остатков, расположенных на невосстанавливаемом конце молекулы олигосахарида.

Поскольку дисахарид (I) имел высокое положительное удельное вращение $[\alpha]_D +145^\circ$ и полностью расщеплялся α-галактозидазой с образованием галактозы, был сделан вывод, что он является 3-О-α-D-галактопиранозил-D-галактозой. Напротив, дисахарид (II) имел отрицательное удельное вращение $[\alpha]_D -20^\circ$; можно было предположить, что в его состав входит L-галактоза. Полный кислотный гидролиз вещества (II) привел к оптически неактивной галактозе, а такой же гидролиз восстановленного

Таблица 1

Масс-спектры ацетилированных *N-n*-толиилгликозиламинов

<i>m/e</i>	Исходный олигосахарид					
	(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)	(VI)
331 (<i>NS</i> ₁)	+	+	+	+	+	+
378 (<i>RS</i> ₁)	+	+	+	+	+	+
423	+	+				
559 (<i>NS</i> ₂ -60)				+	+	+
606 (<i>RS</i> ₂ -60)			+	+	+	+
619 (<i>NS</i> ₂)			+	+	+	+
665	+(<i>M</i> -60)	+(<i>M</i> -60)				
666 (<i>RS</i> ₂)			+	+	+	+
683	+(<i>M</i> -42)	+(<i>M</i> -42)				
725	+(<i>M</i>)	+(<i>M</i>)				
847 (<i>NS</i> ₃ -60)						+
894 (<i>RS</i> ₃ -60)						+
907 (<i>NS</i> ₃)						+
953			+(<i>M</i> -60)	+(<i>M</i> -60)	+(<i>M</i> -60)	
954 (<i>RS</i> ₃)						+
971			+(<i>M</i> -42)	+(<i>M</i> -42)	+(<i>M</i> -42)	
1013			+(<i>M</i>)	+(<i>M</i>)	+(<i>M</i>)	
1241						+(<i>M</i> -60)
1259						+(<i>M</i> -42)
1301						+(<i>M</i>)

Таблица 2

Времена удерживания и площади пиков (относительно ацетата дейтерированного пента-О-метилдвульцита) по данным ГЖХ ацетатов полиолов, полученных при метилировании олигосахаридов (I)–(VI)

Вещество	<i>T</i> _{отн}	<i>S</i> _{отн}					
		(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)	(VI)
1,2,4,5,6-Пента-О-метил-3-О-ацетил[1- ² H ₁]двульцит	1,0	1,0			1,0	1,0	1,0
1,2,3,5,6-Пента-О-метил-4-О-ацетил[1- ² H ₁]двульцит	1,0		1,0	1,0			
2,3,4,6-Тетра-О-метил-1,5-ди-О-ацетилдвульцит	2,52	1,02	1,1	1,14	0,99	1,12	1,06
2,3,6-Три-О-метил-1,4,5-три-О-ацетилдвульцит	4,09				0,98	1,15	1,04
2,4,6-Три-О-метил-1,3,5-три-О-ацетилдвульцит	4,35			1,17			1,03

NaBH₄ дисахарида (II) дал двульцит и *D*-галактозу. Вещество (II) полностью расщеплялось под действием β-галактозидазы. Следовательно, дисахарид (II) представляет собой 4-О-β-*D*-галактопиранозил-*L*-галактозу.

Высокое удельное вращение $[\alpha]_D +120^\circ$ трисахарида (III) позволяло предположить, что по крайней мере одна из его гликозидных связей имеет α-конфигурацию. Действительно, под действием α-галактозидазы вещество (III) расщепилось с образованием галактозы и дисахарида (VII). Такой результат ферментативного гидролиза доказал, что концевой невосстанавливающий моносахаридный остаток в трисахариде (III) имеет *D*-конфигурацию и связан с соседним остатком галактозы α-1 → 3-связью. Дисахарид (VII) имел $[\alpha]_D +56^\circ$; в отличие от дисахарида (II) он расщеплялся под действием β-галактозидазы медленно и неполно. Такое замедление ферментативного гидролиза, очевидно, вызвано влиянием агликона [ср. ниже с поведением трисахаридов (IV) и (V)], поскольку после восстановления дисахарида (VII) соответствующий галактозилполиол

легко расщепился этим ферментом с образованием галактозы и дульцита. Следовательно, трисахарид (III) является $O-\alpha-D$ -галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)- $O-\beta-D$ -галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)- D -галактозой.

Строение трисахарид (IV) было установлено следующим образом. Вещество имело $[\alpha]_D +142^\circ$ и медленно расщеплялось β -галактозидазой. При щелочном расщеплении с восстанавливающего конца, протекающем в мягких условиях, характерных для 3- O -замещенных моносахаридных остатков [10], был получен дисахарид (VII), идентичный описанному выше. Как и в предыдущем случае, этот дисахарид с трудом гидролизровался под действием β -галактозидазы, но расщепление легко проходило после восстановления дисахарид (VII) в соответствующий галактозилполиол. Совокупность всех этих данных доказывает для трисахарид (IV) строение $O-\beta-D$ -галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)- $O-\alpha-D$ -галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)- D -галактозы.

Отрицательное удельное вращение $[\alpha]_D -25,5^\circ$ трисахарид (V) свидетельствовало о том, что по крайней мере один остаток галактозы в его составе относится к L -ряду. Действительно, галактоза, образующаяся при полном кислотном гидролизе (V), имела $[\alpha]_D +26^\circ$, что соответствует соотношению D - и L -форм 2 : 1. Действие β -галактозидазы на вещество (V) привело к его быстрому расщеплению на галактозу и дисахарид (VIII), кислотный гидролиз которого дал рацемическую галактозу. При восстановлении дисахарид (VIII) был получен 3- O -галактозилдульцит (IX), $[\alpha]_D -87^\circ$, гидролиз которого привел к получению дульцита и L -галактозы. Расчет по Кляйпу доказал α -конфигурацию гликозидной связи в соединении (IX). Следовательно, трисахарид (V) является $O-\beta-D$ -галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)- $O-\alpha-L$ -галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)- D -галактозой.

Для установления полного строения тетрасахарид (VI) были более подробно изучены олигосахариды, образующиеся из него при действии щелочи. Оказалось, что получаемый в этих условиях дисахарид ($[\alpha]_D +144^\circ$) идентичен веществу (I); он полностью расщепляется α -галактозидазой с образованием галактозы. Трисахаридный фрагмент ($[\alpha]_D +125^\circ$) идентичен веществу (III); он тоже расщепляется α -галактозидазой, давая галактозу и дисахарид (VII), строение которого подтверждено ферментативным гидролизом β -галактозидазой после восстановления в полиол, как описано выше. Сам тетрасахарид (VI) тоже расщепляется под действием α -галактозидазы, давая галактозу и трисахарид ($[\alpha]_D +140^\circ$), идентичный веществу (IV). Совокупность этих данных доказывает, что тетрасахарид (VI) является $O-\alpha-D$ -галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)- $O-\beta-D$ -галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)- $O-\alpha-D$ -галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)- D -галактозой.

Полученные результаты позволяют заключить, что лежащая в основе молекулы полисахарида из *G. divaricata* углеводная цепь содержит регулярно чередующиеся связи $\alpha-1 \rightarrow 3$ и $\beta-1 \rightarrow 4$ между остатками галактопиранозы; такое чередование характерно для подавляющего большинства других галактанов красных водорослей [11]. В то же время особенностью этого полисахарида, нарушающей регулярность построения его молекулы, является тот факт, что 4- O -замещенные остатки галактозы в полисахариде принадлежат как D -, так и L -ряду. Поэтому изученный полисахарид не может быть отнесен ни к каррагинанам, построенным только из D -галактозы, ни к агарам, где все 4- O -замещенные остатки галактозы имеют L -конфигурацию, но является представителем особой группы сульфатированных галактанов красных водорослей, имеющих «промежуточное» строение. К этой группе относятся также полисахариды из *Aeodes ulvoidea* [6] и *Anatheca dentata* [12], что доказано изучением олигосахаридов, образующихся из них при частичном расщеплении гликозидных связей. Возможно, что к этой же группе следует отнести и многочисленные менее детально исследованные галактаны красных водорослей, в составе которых соотношение производных D - и L -галактозы отличается от единицы.

Экспериментальная часть

Аналитическую и препаративную БХ выполняли нисходящим способом на бумаге Filtrak FN 11 в системах растворителей *n*-бутанол — пиридин — вода, 6 : 4 : 3 (система А), и метилэтилкетон — уксусная кислота — насыщ. водная H_3BO_3 , 9 : 1 : 1 (система В); приведены подвижности веществ по отношению к галактозе R_{Gal} . Электрофорез выполняли на той же бумаге в 0,2 М боратном буфере (рН 9,2) при градиенте потенциала 10 В/см в течение 5 ч; приведены подвижности веществ по отношению к галактозе E_{Gal} . Для качественного анализа сахаров вещества нагревали 5 ч с 2 н. H_2SO_4 , растворы нейтрализовали $BaCO_3$ и наносили на бумагу. Зоны восстанавливающих сахаров обнаруживали кислым фталатом анилина, невосстанавливающих — $AgNO_3$ и KOH после периодатного окисления [13]. Количественное определение сахаров выполняли по реакции с фенолом и конц. H_2SO_4 [14] с использованием спектрофотометра СФ-4А.

ТСХ проводили на пластинках с закрепленным слоем силикагеля ЛС 5/40 μ , содержащего 13% гипса (Chemapol), в смесях хлороформа с ацетоном в соотношении 9 : 1 (В), 4 : 1 (Г) и 3 : 2 (Д). Вещества обнаруживали конц. H_2SO_4 .

ГЖХ выполняли на хроматографе Pye Series 104 (Англия) с пламенно-ионизационным детектором на колонках (120 × 0,6 см) с 3% полинеопентилгликольдиаципината на диатомите С при 180° скорости N_2 50 мл/мин. Площади пиков измеряли с помощью интегратора Kent Chromalog 2 (Англия). Хромато-масс-спектрометрию проводили на приборе Varian MAT 111 (ФРГ), колонка (120 × 0,3 см) с 3% SE-30 на варапасте. Масс-спектры снимали на масс-спектрометре СН-5 Varian MAT с прямым вводом образца в ионный источник *. Оптическое вращение измеряли на поляриметре Perkin-Elmer 141 (США).

Цетавлоновую соль полисахарида получали как описано в работе [2].

Ацетоллиз полисахарида. 20 г цетавлоновой соли сульфатированного галактана, высушенной в вакууме над P_2O_5 при 50°, вносили в течение 30 мин при перемешивании в охлажденную до 5° смесь 74 мл As_2O_3 , 52 мл $AsOH$ и 7,4 мл конц. H_2SO_4 . Перемешивание продолжали 41 ч при 20°, незначительный осадок отделяли на стеклянном фильтре, а раствор выливали в 850 мл ледяной воды. Смесь осторожно нейтрализовали до рН 6 твердым $NaHCO_3$, осадок отфильтровывали и тщательно промывали хлороформом; водный раствор экстрагировали 3 × 250 мл хлороформа. Объединенные хлороформные растворы сушили $MgSO_4$, фильтровали и упаривали, получали 17,1 г ацетатов моно- и олигосахаридов. Эту смесь после высушивания в вакууме над P_2O_5 растворяли в 116 мл абс. метанола и 6,6 мл 2,2-диметоксипропана, к охлажденному до 5° раствору приливали раствор метилата натрия, полученный из 0,2 г Na и 40 мл абс. метанола, оставляли на 24 ч при 5°, осторожно подкисляли 1 н. $AsOH$, прибавляли воду до полного растворения осадка олигосахаридов и упаривали для удаления метанола. К остатку прибавляли воду, экстрагировали 5 × 200 мл эфира для удаления цетавлона, водный раствор пропускали через колонку (38 × 4 см) с катионитом КУ-2 (H^+ -форма), затем через колонку (33 × 3,2 см) с анионитом IRA-410 (HCO_3^- -форма) и упаривали. Остаток (выход 7 г), по данным БХ, содержал ксилозу, небольшое количество изомерных моно-О-метилгалактоз, галактозу, ди-, три-, тетрасахариды и олигомеры с более высокой степенью полимеризации. 6 г этой смеси разделяли на колонке (50 × 4,2 см) с сефадексом G-10 (V_0 200 мл, V_e 350 мл) при промывании водой (50 разделений по 120 мг), собирая фракции по 15 мл, состав которых определяли методом БХ. Фракции, содержащие моносахари-

* Авторы выражают глубокую благодарность сотруднику Института биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР В. Л. Садовской за съемку масс-спектров ацетилпрованых *N*-*n*-толилгликозиламинов.

ды, дополнительно разделяли препаративной БХ в системе Б; зону ксилозы элюировали водой, элюат упаривали, H_3BO_3 отгоняли с метанолом, получали *D*-ксилозу, $R_{\text{Gal}} 1,7$ (А), 2,3 (Б), $E_{\text{Gal}} 1,33$, $[\alpha]_D^{21} +15^\circ$ (*c* 0,6; вода); лит. [15]: $[\alpha]_D^{20} +18,8^\circ$ (вода), Фракции, содержащие олигосахариды, разделяли препаративной БХ в системе А. Приводятся выход в мг (из 6 г продуктов ацетализа), R_{Gal} (А) и E_{Gal} : (I) — 700; 0,66; 0,71; (II) — 58; 0,60; 0,65; (III) — 37, 0,40; 0,55; (IV) — 300; 0,37; 0,57; (V) — 360; 0,31; 0,60; (VI) — 360; 0,22; 0,43.

Получение ацетилированных N-n-толилгликозиламинов. К раствору 5—10 мг олигосахаридов в 2 мл абс. пиридина прибавляли 2 мл As_2O_3 , выдерживали 4 сут при 20° , затем приливали метанол и многократно упаривали с гептаном и толуолом. К раствору остатка в 1 мл хлороформа прибавляли 40 мг *n*-толуидина, каплю AsOH и кипятили 7 ч. Раствор упаривали, остаток растворяли в минимальном количестве бензола, прибавляли избыток гептана, осадок очищали препаративной ТСХ (системы В, Г или Д, в зависимости от степени полимеризации олигосахаридов), выделяя зону, которая окрашивается в синий цвет при обработке пластинки хлором с последующим опрыскиванием 0,5% KI в 0,5% водном растворе крахмала. Результаты масс-спектрометрического анализа полученных ацетилированных *N-n*-толилгликозиламинов см. в табл. 1.

Метилирование олигосахаридов. К водному раствору 5—10 мг олигосахаридов прибавляли 5—10 мг NaB^2H_4 , выдерживали 24 ч при 5° , затем обрабатывали избытком катионита КУ-2 (H^+ -форма) и фильтрат упаривали, отгоняя H_3BO_3 с метанолом. Остаток высушивали в вакууме и метилировали по методу Хакомори [8]. Продукт метилирования очищали препаративной ТСХ (системы Г или Д), растворяли в 2 мл 85% HCOOH , выдерживали 12 ч при 20° , 3 ч при 60° и 30 ч при 90° , кислоту отгоняли в вакууме с водой, остаток нагревали 5 ч при 100° с 2 мл 2 н. H_2SO_4 , раствор нейтрализовали BaCO_3 , осадок отделяли центрифугированием и промывали водным метанолом (1 : 1), объединенные растворы упаривали, остаток растворяли в водном метаноле, обрабатывали в течение 20 ч NaBH_4 и продукты восстановления ацетилировали As_2O_3 в пиридине. Результаты анализа полученных смесей методом ГЖХ и хромато-масс-спектрометрии приведены в табл. 2.

Ферментативное расщепление олигосахаридов. К раствору 2—4 мг олигосахаридов в 0,4 мл 0,1 М фосфатного буфера (рН 6,5) прибавляли 0,01 мл препарата α -галактозидазы из незрелых кофейных бобов (Sigma, США) и инкубировали 24 ч при 25° . В случае β -галактозидазы из *E. coli* (Schuchardt, ФРГ) использовали фосфатный буфер (рН 7,0) и инкубировали 24 ч при 37° . Полученные растворы нагревали 5 мин при 100° , обрабатывали КУ-2 (H^+ -форма) и IRA-410 (HCO_3^- -форма), упаривали и анализировали методом БХ.

3-O- α -D-Галактопиранозил-D-галактоза (I). Сироп, $[\alpha]_D^{20} +145^\circ$ (*c* 0,345; вода), лит. [3]: $[\alpha]_D +160^\circ$ (*c* 1,55; вода); при кислотном гидролизе получили *D*-галактозу, $[\alpha]_D^{20} +72^\circ$ (*c* 0,53; вода). Вещество (I) полностью гидролизовалось α -галактозидазой с образованием галактозы.

4-O- β -D-Галактопиранозил-L-галактоза (II). Сироп, $[\alpha]_D^{18} -20^\circ$ (*c* 0,44; вода), лит. [12]: $[\alpha]_D^{19} -48^\circ$ (*c* 0,5; вода); при кислотном гидролизе получили рацемическую галактозу, $[\alpha]_D^{19} +3^\circ$ (*c* 0,4; вода), и следы ксилозы; после восстановления NaBH_4 и гидролиза получили дультцит, $R_{\text{Gal}} 2,08$ (Б), и *D*-галактозу, $[\alpha]_D^{19} +77^\circ$ (*c* 0,39; вода). Вещество (II) полностью расщепилось β -галактозидазой с образованием галактозы.

O- α -D-Галактопиранозил-(1 \rightarrow 3)-O- β -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)-D-галактоза (III). Сироп, $[\alpha]_D^{22} +120^\circ$ (*c* 0,38; вода), лит. [3]: $[\alpha]_D +144^\circ$ (*c* 2,73; вода); полный кислотный гидролиз дал *D*-галактозу, $[\alpha]_D^{20} +68^\circ$ (*c* 0,2; вода), и следы ксилозы. Трисахарид (III) под действием α -галактозидазы расщепился с образованием галактозы и дисахаридов (VII), R_{Gal} .

0,64 (А), $[\alpha]_D^{21} + 56^\circ$ (с 0,3; вода); лит. для 4-О-β-D-галактопиранозил-D-галактозы [3]: $[\alpha]_D + 62^\circ$ (с 2,3; вода). Вещество (VII) восстанавливали NaBH₄ и продукт восстановления обрабатывали β-галактозидазой, получали галактозу и дульцит, R_{Gal} 2,05 (Б).

O-β-D-Галактопиранозил-(1 → 4)-*O*-α-D-галактопиранозил-(1 → 3)-D-галактоза (IV). Сироп, $[\alpha]_D^{21} + 142^\circ$ (с 0,18; вода), лит. [3]: $[\alpha]_D + 156^\circ$ (с 1,59; вода); полный кислотный гидролиз дал D-галактозу, $[\alpha]_D^{20} + 73^\circ$ (с 0,32; вода). 30 мг трисахарида (IV) в 4 мл 0,01 н. NaOH нагревали 70 мин при 80°, раствор нейтрализовали 4 мл 0,01 н. HCl, деионизировали КУ-2 (H⁺-форма) и IRA-410 (HCO₃⁻-форма), упаривали и в остатке методом БХ обнаружили дисахарид (VII), R_{Gal} 0,65 (А), с примесью галактозы и следов исходного трисахарида. Вещество (VII) выделяли препаративной БХ, выход 11 мг, $[\alpha]_D^{21} + 55^\circ$ (с 0,29; вода); строение его подтвердили ферментативным гидролизом β-галактозидазой после восстановления, как описано выше.

O-β-D-Галактопиранозил-(1 → 4)-*O*-α-L-галактопиранозил-(1 → 3)-D-галактоза (V). Сироп, $[\alpha]_D^{20} - 25,5^\circ$ (с 0,53; вода), лит. [12]: $[\alpha]_D - 44^\circ$ (с 0,50; вода). Полный кислотный гидролиз привел к смеси D- и L-галактозы в соотношении 2 : 1, $[\alpha]_D^{19} + 26^\circ$ (с 0,45; вода). При действии на трисахарид (V) β-галактозидазы получили галактозу и дисахарид (VIII), R_{Gal} 0,65 (А), $[\alpha]_D^{21} - 43,5^\circ$ (с 0,345; вода), лит. [12]: $[\alpha]_D^{19} - 20^\circ$ (с 0,6; вода). При полном гидролизе вещества (VIII) получили рацемическую галактозу, $[\alpha]_D^{23} + 2^\circ$ (с 0,45; вода); при восстановлении соединения (VIII) NaBH₄ получили 3-О-α-L-галактопиранозил-D-дульцит, $[\alpha]_D^{21} - 87^\circ$ (с 0,3; вода), полный кислотный гидролиз которого дал дульцит, R_{Gal} 2,08 (Б), и L-галактозу, $[\alpha]_D^{22} - 68^\circ$ (с 0,22; вода).

O-α-D-Галактопиранозил-(1 → 3)-*O*-β-D-галактопиранозил-(1 → 4)-*O*-α-D-галактопиранозил-(1 → 3)-D-галактоза (VI). Сироп, $[\alpha]_D^{21} + 165^\circ$ (с 0,27; вода), лит. [3]: $[\alpha]_D + 160^\circ$ (с 2,0; вода). При полном кислотном гидролизе получили D-галактозу, $[\alpha]_D^{20} + 70^\circ$ (с 0,36; вода). При действии на тетрасахарид (VI) α-галактозидазы получили галактозу и трисахарид, R_{Gal} 0,36 (А), $[\alpha]_D^{20} + 140^\circ$ (с 0,4; вода), идентичный веществу (IV). Раствор 45 мг тетрасахарида (VI) в 5 мл 0,01 н. NaOH нагревали 70 мин при 80° и обрабатывали, как описано при щелочной дегградации трисахарида (IV). В продуктах реакции с помощью БХ в системе А обнаружили галактозу, дисахарид с R_{Gal} 0,66, трисахарид с R_{Gal} 0,37 и следы исходного вещества. Препаративной БХ выделяли дисахарид — выход 9 мг, $[\alpha]_D^{21} + 144^\circ$ (с 0,14; вода), — идентичный соединению (I), и трисахарид — выход 12 мг, $[\alpha]_D^{20} + 125^\circ$ (с 0,4; вода), — идентичный веществу (III). При действии α-галактозидазы на дисахарид получили галактозу, а на трисахарид — галактозу и дисахарид (VII), R_{Gal} 0,65 (А), $[\alpha]_D^{21} + 54^\circ$ (с 0,4; вода), строение которого подтвердили ферментативным гидролизом β-галактозидазой после восстановления NaBH₄, как описано выше.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барбакадзе В. В., Усов А. И. (1978) Бюрган. химия, 4., 1100—1106.
2. Усов А. И., Мирошников Л. И., Барбакадзе В. В. (1975) Ж. общ. химии, 45, 1618—1624.
3. Lawson C. J., Rees D. A. (1968) J. Chem. Soc. (C), 1301—1304.
4. Кочетков Н. К., Усов А. И., Рехтер М. А. (1971) Ж. общ. химии, 41, 1160—1165.
5. Farrant A. J., Nunn J. R., Parolis H. (1972) Carbohydr. Res., 25, 283—292.
6. Allsobrook A. J. R., Nunn J. R., Parolis H. (1975) Carbohydr. Res., 40, 337—344.
7. Чижов О. С., Малышева Н. Н., Кочетков Н. К. (1973) Изв. АН СССР. Сер. хим., 1246—1253.
8. Nakomori S. (1964) J. Biochem., 55, 205—208.
9. Björndal H., Hellerqvist C. G., Lindberg B., Svensson S. (1970) Angew. Chem. (Internat. Edition), 9, 610—619.
10. Painter T. J. (1963) Chem. and Ind., 36.
11. Anderson N. S., Dolan T. C. S., Rees D. A. (1965) Nature, 205, 1060—1062.
12. Nunn J. R., Parolis H., Russell I. (1971) Carbohydr. Res., 20, 205—215.

13. Усов А. И., Рехтер М. А. (1969) Ж. общ. химии, 39, 912—913.
14. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F. (1956) Anal. Chem., 28, 350—356.
15. Isbell H. S., Pigman W. (1937) J. Res. Nat. Bur. Stand., 18, 141—194.

Поступила в редакцию
25.1.1978

**POLYSACCHARIDES OF ALGAE. XXVII. PARTIAL ACETOLYSIS
OF THE SULFATED GALACTAN FROM THE RED SEAWEED
GRATELOUPIA DIVARICATA OKAM.**

USOV A. I., BARBAKADZE V. V.

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

Investigation of the acetolysis products of the sulfated polysaccharide of the red seaweed *Grateloupia divaricata* led to the isolation and characterization of the following oligosaccharides: 3-O- α -D-galactopyranosyl-D-galactose (I), 4-O- β -D-galactopyranosyl-L-galactose (II), O- α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-D-galactose (III), O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-D-galactose (IV), O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- α -L-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-D-galactose (V), and O- α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O- α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-D-galactose (VI). These results are consistent with a linear polysaccharide backbone having alternately α -1 \rightarrow 3- and β -1 \rightarrow 4-linked galactopyranose residues, the 3-linked residues belonging to the D-, and 4-linked residues — to both D- and L-series.
