



УДК 582.273-119.2:547.458.7

ПОЛИСАХАРИДЫ ВОДОРΟΣЛЕЙ

51*. ИЗУЧЕНИЕ СУЛЬФАТИРОВАННОГО ГАЛАКТАНА ИЗ КРАСНОЙ ВОДОРΟΣЛИ *Laurencia coronopus* J. Ag. (RHODOPHYTA, RHODOMELACEAE) С ПОМОЩЬЮ ЧАСТИЧНОГО ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ГИДРОЛИЗА

© 1997 г. А. И. Усов[#], М. Я. Элашвили

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, 117913, Москва, Ленинский просп., 47

Поступила в редакцию 20.11.96 г. Принята к печати 9.01.97 г.

Частичный восстановительный гидролиз в присутствии комплекса боран–4-метилморфолин, приводящий к расщеплению полисахарида по кислотолабильным гликозидным связям 3,6-ангидрогалактозы с одновременным восстановлением этих моносахаридных остатков для предотвращения их кислотной деградации, использован при установлении строения агароподобного сульфатированного галактана из эпифитной красной водоросли *Laurencia coronopus*. В гидролизате в качестве главных продуктов обнаружены 3,6-ангидро-4-О-β-D-галактопиранозил-L-дульцит (агаробиит), его 6-О-метилпроизводное, 6-сульфат агаробиита и ряд высших олигосахаридов. Строение продуктов восстановительного гидролиза охарактеризовано составом, масс-спектрами и спектрами ЯМР.

Ключевые слова: красные водоросли; сульфатированный галактан; агароподобные полисахариды; частичный восстановительный гидролиз; агаробиит, производные; *Laurencia coronopus*.

Сульфатированные галактаны, выделяемые из красных морских водорослей рода *Laurencia*, относятся к группе агара и представляют собой, как правило, молекулярные гибриды агарана и агарозы^{**}, содержащие в различных положениях метильные и сульфатные группы, а также единичные ответвления в виде остатков α-L-галактозы, ее 4-метилового эфира или β-D-ксилозы [3–8]. Данные о составе нескольких полисахаридов этого типа и сведения об основных особенностях их структуры, полученные главным образом с помощью спектроскопии ¹³C-ЯМР, приведены в од-

ном из наших предыдущих сообщений [9]. Строение наиболее сложного из них, сульфатированного ксилогалактана из *L. nipponica*, было изучено затем с помощью восстановительного гидролиза [10]. В отличие от этого полисахарида сульфатированный галактан из *L. coronopus* [9] имел сравнительно более простой для интерпретации спектр ¹³C-ЯМР, соответствующий структуре агарозы, в которой большинство звеньев агаробиозы содержит в положении 6 заместитель – О-метильную или сульфатную группу, а в небольшой части повторяющихся дисахаридных звеньев на месте остатка 3,6-ангидро-L-галактозы находится остаток L-галактозы. Ранее подобный полисахарид был выделен из тихоокеанской водоросли *Polysiphonia morrowii*, относящейся к тому же семейству Rhodomelaceae [11]. Настоящая работа предпринята для подтверждения спектроскопических данных о структуре полисахарида из *L. coronopus* методом частичного восстановительного гидролиза.

Восстановительный гидролиз представляет собой обработку полисахарида кислотой в присутствии комплекса боран–4-метилморфолин. Этот прием был предложен для структурного анализа галактанов красных водорослей в нашей

* Сообщение 50 см. [1].

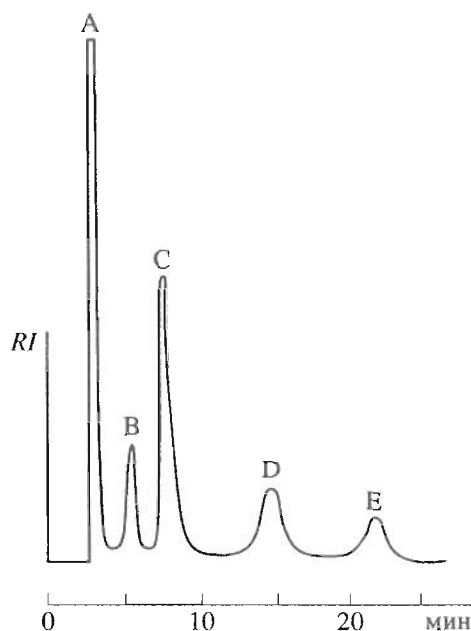
Сокращения: ВМФ – высокомолекулярная фракция, LSIMS – масс-спектрометрия вторичных ионов с использованием жидкой матрицы, АРТ (attached proton test) – тест на присоединенные протоны, COSYRCT (correlation spectroscopy with relayed coherence transfer) – корреляционная спектроскопия с дополнительным переносом когерентности.

**Агаран – линейный галактан, построенный из строго чередующихся остатков 3-связанной β-D-галактопиранозы и 4-связанной α-L-галактопиранозы; агароза – аналогичный полисахарид, в котором 4-связанный остаток представлен 3,6-ангидро-α-L-галактопиранозой. Номенклатура галактанов красных водорослей описана в работе [2].

Автор для переписки (тел.: 137-6791; факс: 135-53-28; e-mail: usov@ioc.ac.ru).

лаборатории [12, 13] и независимо Стивенсоном и Фурно [14]. Мы показали, что при полном восстановительном гидролизе, который проводится в условиях расщепления всех гликозидных связей, для полисахаридов, содержащих производные 3,6-ангидрогалактозы, происходит количественное восстановление этих кислотолабильных моносахаридов в соответствующие полиолы, тогда как прочие моносахариды не восстанавливаются. Это позволяет отдельно определять 2-О-метил-3,6-ангидрогалактозу и 3,6-ангидрогалактозу и выполнять полный моносахаридный анализ в одной пробе гидролизата полисахарида методом ГЖХ [13]. Гидролиз в присутствии того же восстановителя в более мягких условиях приводит к избирательному расщеплению полисахаридов по гликозидным связям 3,6-ангидрогалактозы и дает набор олигосахаридов с остатком 3,6-ангидродульцита на "восстанавливаемом" конце, причем сульфатные группы в процессе обработки практически не отщепляются. Получаемые по этой методике олигосахариды устойчивы, удобны для хроматографического разделения, а их строение, включая положение сульфатных групп, может быть надежно установлено с помощью спектров ^{13}C -ЯМР [10, 12, 13]. Данная работа является очередным примером успешного использования частичного восстановительного гидролиза при изучении строения достаточно сложного представителя агароподобных полисахаридов.

Сульфатированный галактан был выделен из эпифитной формы *L. coronopus* с выходом 19.8%,

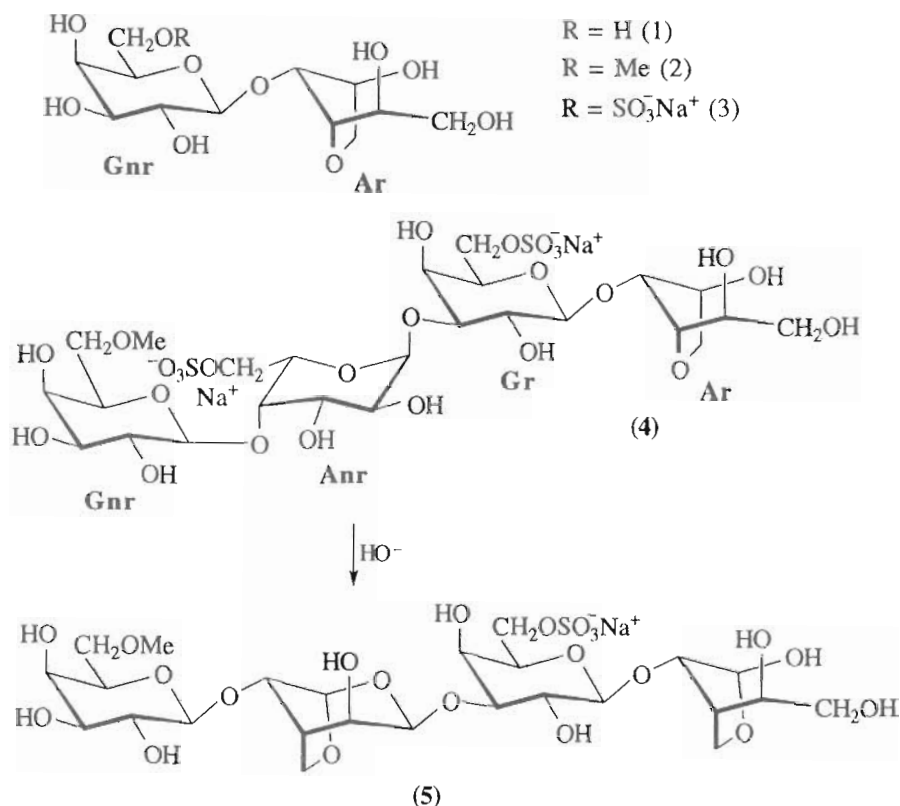


Разделение нейтральных и сульфатированных олигосахаридов на колонке (1 × 25 см) с DEA-силасорбом при элюции 0.08 M NaCl.

как описано в нашей предыдущей работе [9]. По данным традиционных аналитических методов, он содержал 11.2% сульфата, 25.3% 3,6-ангидрогалактозы и 48.8% прочих сахаров, представленный галактозой, 6-О-метилгалактозой, ксилозой и 3-О-метилгалактозой в мольном соотношении 1 : 0.59 : 0.12 : 0.04. Анализ этого полисахарида с применением методики полного восстановительного гидролиза [13] подтвердил его количественный состав и позволил установить, что 2-О-метил-3,6-ангидрогалактоза в полисахариде практически отсутствует.

Частичный восстановительный гидролиз полисахарида привел к расщеплению гликозидных связей остатков 3,6-ангидросахаров и восстановлению образовавшихся фрагментов. Предварительное разделение продуктов гидролиза было проведено с помощью гель-хроматографии, что дало высокомолекулярную фракцию (ВМФ) с выходом 8% и смесь нейтральных и кислых олигосахаридов. При разделении этой смеси с помощью ионообменной хроматографии были получены фракция нейтральных веществ (А) и четыре фракции (В, С, D и E) кислых олигосахаридов (рисунок). Индивидуальные нейтральные олигосахариды (1) и (2) были выделены затем при обращенно-фазовой хроматографии нейтральной фракции А. Выходы и хроматографическая подвижность полученных веществ приведены в табл. 1.

Для характеристики восстановленных олигосахаридов мы воспользовались приемами, эффективность которых была продемонстрирована при исследовании сульфатированного ксилогалактана из *L. nipponica* [10]. Степень полимеризации, а для кислых олигосахаридов одновременно и количество сульфатных групп определяли с помощью масс-спектрометрии в режиме LSIMS, позволяющей обнаружить интенсивные пики ионов $[M + \text{Na}]^+$, часто сопровождаемые пиками ионов $[M + \text{H}]^+$ и $[M + 2\text{Na} - \text{H}]^+$. Результаты масс-спектрометрии дополнялись определением моносахаридного состава методом ГЖХ после полного гидролиза. Полученные сведения позволили сделать обоснованные предположения о составе кислых фракций, которые не удалось разделить на отдельные компоненты. Строение индивидуальных соединений устанавливали с помощью спектроскопии ЯМР и подтверждали в ряде случаев результатами химической модификации под действием щелочи, приводящей к отщеплению щелочелавильных сульфатных групп из положения 6 остатков галактозы, содержащих свободный гидроксил при С-3, с одновременным замыканием 3,6-ангидроцикла [15].



Вещество (1), как и следовало ожидать исходя из агароподобной структуры исходного галактана [9], оказалось 3,6-ангидро-4-О-β-D-галактопиранозил-L-дульцитом (агаробиитом). Его хроматографические характеристики, а также спектры ¹H- и ¹³C-ЯМР (табл. 1–3) совпали с соответствующими параметрами заведомого образца, полученного ранее при частичном восстановительном гидролизе агара [12, 13].

Вещество (2), выход которого вдвое превышал выход агаробиита (1), было идентифицировано как 6-О-метилагаробиит на основе следующих наблюдений. При полном гидролизе методом ГЖХ были обнаружены производные 6-О-метилгалактозы (ацетилированный альдононитрил) и 3,6-ангидродульцита (ацетат) в эквимольном отношении. Масс-спектр соединения (2) содержал пик молекулярного иона (M + Na)⁺, m/z 363, отвечающий монометильному производному агаробиита (табл. 1). Спектр ¹³C-ЯМР вещества (2) (табл. 2) легко можно было интерпретировать исходя из соответствующего спектра агаробиита с учетом известных из литературы эффектов метилирования [16, 17]. Дополнительное подтверждение правильности отнесения сигналов было получено с использованием АРТ-спектра [18], поз-

волившего выделить сигналы С-6 остатка 6-О-метил-D-галактозы, а также С-1 и С-6 остатка 3,6-ангидро-L-дульцита. Строение соединения (2) подтверждено также спектром ¹H-ЯМР, который интерпретировали с использованием гомоядерного двойного резонанса и двумерной техники COSYRCT.

После удаления неорганических солей из главной фракции С кислых олигосахаридов было получено индивидуальное соединение (3), масс-спектр которого соответствовал Na-соли моносульфата агаробиита. Вещество было идентифицировано как 6-сульфат агаробиита по спектру ¹³C-ЯМР (табл. 2), который интерпретировали сравнением с соответствующим спектром вещества (1), учитывая известные из литературы эффекты сульфатирования [19], а также по спектру ¹H-ЯМР (табл. 3), сигналы в котором относили с использованием гомоядерного двойного резонанса и двумерной техники COSYRCT. Интересно, что сигнал А4r (обозначения атомов в моносахаридных остатках как в работе [20], см. также схему и табл. 2) в спектре ¹³C-ЯМР этого соединения смещен на 0.7 м. д. в слабое поле по сравнению с соответствующими сигналами в спектрах

Таблица 1. Характеристика продуктов частичного восстановительного гидролиза сульфатированного галактана из *L. coronopus*

Фракция	Вещество	Выход, %	Время удерживания при ВЭЖХ, мин		LSIMS, m/z
			Сила-сорб С-18	DEA-силасорб	
А	(1)	8	6	3.5	349($M + Na$) ⁺
	(2)	16	9.5	3.5	363($M + Na$) ⁺
В	9	–	–	5.5	803*, 817*, 771*
С	(3)	28	–	7.5	451($M + Na$) ⁺
					473($M + 2Na - H$) ⁺
Д	5	–	–	15	891**, 905**, 1023**
Е	(4)	3	–	22	891($M + Na$) ⁺
ВМФ	8	–	–	–	–
	(5)	–	–	5.5	771($M + Na$) ⁺

* ($M + Na$)⁺ для моносульфатов ди-О-метилпреагаротетраита, три-О-метилпреагаротетраита и моно-О-метилагаротетраита.

** ($M + Na$)⁺ для дисульфатов моно-О-метилпреагаротетраита, ди-О-метилпреагаротетраита и моно-О-метилмоноксилозилпреагаротетраита.

соединений (1) и (2) в результате сульфатирования по С-6 соседнего остатка Gnp.

Аналогичное обессоливание фракции Е привело к получению восстановленного тетрасахарида (4), содержащего, по данным LSIMS и ГЖХ, две сульфатные группы и остатки галактозы, 6-О-метилгалактозы и 3,6-ангидродульцита в соотношении 2 : 1 : 1. Щелочная обработка этого вещества привела к отщеплению одной из двух имеющих в молекуле сульфатных групп с образованием соединения, масс-спектр которого соответствовал Na-соли моносульфата моно-О-метилагаротетраита (5). Строение соединения (4) было установлено по спектру ¹³C-ЯМР (табл. 2), сигналы в котором относили, сравнивая их со спектрами соединений (2) и (3) и используя литературные данные для сульфатированных и метилированных фрагментов агарозы и порфирана [20]. В частности, смещение в слабое поле сигнала A4г (на 0.5 м. д. по сравнению с тем же сигналом для соединения (2), как и в соединении (3), см. выше) доказывало наличие сульфатной группы в положении 6 соседнего остатка Gг.

В отличие от фракций С и Е кислые фракции В и D представляли собой смеси нескольких соединений. По данным исследования фракции В методом LSIMS, можно предполагать, что она содержит моносульфаты преагаротетраита с одной, двумя и даже тремя метильными группами в молекуле в смеси с моносульфатами монометилмоноксилозилагаротетраита (в табл. 1 приведены

значения m/z для трех наиболее интенсивных пиков этого масс-спектра). Спектр ¹³C-ЯМР фракции В имел сложный для интерпретации вид: так, область резонанса аномерных атомов углерода содержала не менее шести сигналов. Обнаруженные в этом спектре сигналы метильных групп при 59.1 и 57.2 м. д. свидетельствовали о наличии в составе олигосахаридов остатков 6-О-метил- и 3-О-метилгалактозы [16, 21], а сигнал при 65.0 м. д. (С-5 остатка β-D-ксилопиранозы [22]) подтверждал предположение о присутствии фрагментов полисахарида, содержащих остатки ксилозы. Фракция D, по данным тех же методов исследования, содержала аналогичный набор олигосахаридов, но с более высокой степенью сульфатирования (по две сульфатные группы на молекулу). К сожалению, разделить эти фракции на индивидуальные компоненты и установить их строение не удалось.

Полученный набор продуктов частичного восстановительного гидролиза галактана из *L. coronopus* дает общее представление о строении молекул этого полисахарида. Суммарный выход продуктов гидролиза составил 77%, из которых 52% приходится на дисахаридные фрагменты, 17% – на олигосахариды, содержащие тетрасахаридный фрагмент главной галактановой цепи, и только 8% – на олигосахариды, степень полимеризации которых равна или превышает 6. Это означает, по-видимому, что участки молекул, имеющие структуру агарана, не образуют самостоятельных протяженных блоков, а довольно случайным образом вкраплены в основную структуру типа агарозы. Нейтральные продукты частичного восстановительного гидролиза представлены только дисахаридами; все высшие олигосахаридные фрагменты оказались сульфатированными. Обнаружение ксилозы в составе олигосахаридов доказывает, что этот моносахарид – действительно минорный компонент сульфатированного галактана. К сожалению, для этого полисахарида в отличие от галактана из *L. nipponica* [10] нам не удалось установить расположение остатков ксилозы в ксилозилированных олигосахаридах. Можно лишь предположить, учитывая близкое таксономическое родство этих представителей рода *Laurencia*, что в галактане из *L. coronopus* остатки ксилозы также занимают положение 3 в 4-связанных остатках α-L-галактопиранозы и (как и имеющиеся остатки 3-О-метилгалактозы) блокируют замыкание 3,6-ангидроцикла, приводящее к структуре агарозы, в отдельных участках галактановой молекулы при биосинтезе полисахарида.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Выделение полисахарида. Предварительную обработку водоросли *L. coronopus* (эпифит), экстракцию горячей водой и выделение Na-соли

сульфатированного галактана проводили так, как описано в работе [9].

Хроматография. ГЖХ ацелированных полиолов или альдононитрилов выполняли на хроматографе Hewlett-Packard 5890A с пламенно-ионизационным детектором, интегратором 3393A и капиллярной колонкой Ultra-1, которую нагревали от 175 до 290°C со скоростью 10°/мин.

ВЭЖХ проводили с применением насоса Gilson 303, для гель-хроматографии использовали перистальтический насос той же фирмы, детектирование осуществляли дифференциальным рефрактометром Клауег. Гель-хроматографию выполняли на колонке (2.6 × 87 см) с Toyopearl TSK HW-40S ($V_0 = 135$ мл, элюент – вода, 0.75 мл/мин при ~20°C). Ионообменную хроматографию осуществляли на колонке (0.4 × 25 см) с DEА-силасорбом, 7 мкм (“Диагностикум”) (элюент – 0.08 М NaCl, 3 мл/мин). Фракции обессоливали на колонке (2.6 × 30 см) с сефадексом G-10 при промывании водой. Обратенно-фазовую хроматографию выполняли на колонке (1 × 25 см) с силасорбом C-18, 7 мкм (“Диагностикум”) (элюент – вода, 2.7 мл/мин).

Спектроскопия ЯМР и масс-спектрометрия. Спектры ¹H-ЯМР получали на спектрометре Bruker WM-250 для растворов олигосахаридов в D₂O при 30°C с использованием техники COSYRST. Спектры ¹³C-ЯМР получали на спектрометре Bruker AM-300 с рабочей частотой по углероду 75 МГц для тех же растворов веществ (внутренний стандарт – метанол, δ_c 50.15 м. д.). Для отнесения сигналов C-1 остатка 3,6-ангидродульцита и C-6 остатков прочих гексоз использовали технику АРТ [18].

Масс-спектры в режиме LSIMS получали на масс-спектрометре М-80А (Hitachi). В качестве матрицы использовали глицерин с добавкой водного раствора NaCl, бомбардировали ионами Хе⁺ с энергией 98 кэВ.

Полный восстановительный гидролиз. К точной навеске олиго- или полисахарида (0.5–5.0 мг) прибавляли комплекс боран–4-метилморфолин (Aldrich, США; 30–40 мг) и 1 мл 2 М CF₃COOH, содержащий мио-инозит (0.9 мг/мл). Смесь нагревали в закрытой колбе 8 ч при 100°C, охлаждали, кислоту отгоняли в вакууме, трижды прибавляя и упаривая по 10 мл этанола, к остатку приливали 1 мл 6% раствора гидрохлорида гидроксиланамина в абсолютном пиридине, нагревали 30 мин при 100°C, охлаждали, приливали 1 мл As₂O и нагревали 1 ч при 100°C. Далее к смеси трижды прибавляли и упаривали в вакууме по 10 мл толуола, остаток распределяли между 5 мл хлороформа и 5 мл воды, хлороформный слой отделяли, концентрировали и использовали для ГЖХ.

Точные количества метил-β-D-ксилопиранозиды (Reanal), метил-α-D-галактопиранозиды (Reanal) и метил-3,6-ангидро-α-D-галактопиранозиды

Таблица 2. Спектры ¹³C-ЯМР агаробиита (1), 6-О-метилагаробиита (2), 6-сульфата агаробиита (3) и 6²,6³-дисульфата 6⁴-О-метилпреагаротетраита (4) (химические сдвиги сигналов в м. д. от ТМС)

Атом углерода*	(1)	(2)	(3)	(4)
G1nr	102.9	103.1	103.1	103.6
G1r				102.9
G2nr	71.3	71.2	71.1	71.4
G2r				70.6
G3nr	73.3	73.2	73.0	73.0
G3r				80.7
G4nr	69.2	69.5	68.9	69.0
G4r				68.9
G5nr	75.9	74.1	73.4	73.6
G5r				73.3
G6nr	61.7	72.4	68.0	71.9
G6r				68.5
A1nr				101.2
A1r	63.5	63.5	63.5	63.5
A2nr				69.3
A2r	71.6	71.7	71.5	71.4
A3nr				70.0
A3r	84.2	84.3	84.3	84.3
A4nr				78.8
A4r	86.1	86.2	86.9	86.7
A5nr				69.7
A5r	75.9	76.0	75.9	75.9
A6nr				67.3
A6r	73.6	73.7	73.4	73.6
OMe		59.2		58.9

* Обозначения атомов в моносахаридных остатках даны в соответствии с номенклатурой работы [20] (см. также схему): G – остатки D-галактозы; A – остатки L-галактозы, 3,6-ангидро-L-галактозы или 3,6-ангидро-L-дульцита; r – остаток, ближайший к “восстанавливающему” концу молекулы олигосахариды; nr – остаток, ближайший к невосстанавливающему концу.

да (полученного химическим синтезом по методике [23]), по отдельности или в смеси в различных соотношениях, обрабатывали в указанных выше условиях, получали ацетаты D-ксилононитрила, D-галактононитрила и 3,6-ангидродульцита с коэффициентами молярного отклика по отношению к ацетату мио-инозита при ГЖХ 0.38 ± 0.01 , 0.50 ± 0.01 и 0.58 ± 0.03 соответственно. Эти величины использовали при расчете содержания соответствующих моносахаридных остатков в олиго- и полисахаридах. Коэффициент молярного отклика для 6-О-метилгалактозы принимали равным 0.50.

Таблица 3. Спектры ^1H -ЯМР агаробии (1), 6-О-метил-агаробии (2) и 6-сульфата агаробии (3) (хим. сдвиги сигналов в м. д., КССВ в Гц)

Вещество	(1)		(2)		(3)	
	Gnr	Ar	Gnr	Ar	Gnr	Ar
Хим. сдвиги Н1	4.56	3.69–3.78	4.59	–	4.60	3.77
Н1'	–	3.69–3.78	–	–	–	3.68
Н2	3.51	3.93	3.53	–	3.55	–
Н3	3.66	3.90	3.70	3.98	3.72	–
Н4	3.96	4.33	3.93	4.34	–	4.34
Н5	–	4.00	–	4.42	–	4.43
Н6	–	3.99	–	4.00	4.23	4.00
Н6'	–	3.86	–	3.88	4.23	3.88
КССВ $J_{1,1'}$	–	–	–	–	–	12.0
$J_{1,2}$	7.7	–	7.5	–	7.5	4.5
$J_{1',2}$	–	–	–	–	–	7.0
$J_{2,3}$	10.0	7.0	10.0	7.0	10.0	–
$J_{3,4}$	3.5	2.0	3.5	2.0	–	2.0
$J_{4,5}$	0.5	4.2	0.5	4.2	–	4.2
$J_{5,6}$	–	4.5	–	4.5	6.0	4.5
$J_{5,6'}$	–	2.5	–	2.5	6.0	2.6
$J_{6,6'}$	–	10.0	–	10.0	16.5	10.0

* Обозначения такие же, как в табл. 2 (см. также схему).

Полный гидролиз для определения моносахаридного состава веществ, не содержащих 3,6-ангидрогалактозы, выполняли так, как описано выше, но без прибавления комплекса боран–4-метилморфолин.

Частичный восстановительный гидролиз. В раствор 200 мг сульфатированного галактана в 15 мл воды, нагретый до 60°C, вносили 1.35 г комплекса боран–4-метилморфолин, приливали 5 мл 2 М CF_3COOH и смесь выдерживали 8 ч в термостате при 65°C. Затем кислоту отгоняли с водой, раствор остатка в небольшом количестве воды хроматографировали на колонке с TSK HW-40S, собирая фракцию 135–199 мл (ВМФ) и фракцию 200–295 мл, содержащую олигосахариды. Смесь олигосахаридов разделяли ионообменной хроматографией, фракции (см. рисунок) обессоливали на сефадексе G-10, получали фракцию А нейтральных олигосахаридов и фракции В, С, D и Е кислых олигосахаридов. Фракцию А дополнительно разделяли хроматографией на силасорбе С-18, получали нейтральные восстановленные дисахариды (1) и (2). Выходы и характеристика полученных веществ приведены в табл. 1.

Модификация под действием щелочи. Раствор 10 мг кислого олигосахаридов (4) в 2 мл 1 М NaOH нагревали 2 ч при 80°C, нейтрализовали AcOH ,

обессоливали на сефадексе G-10 и хроматографировали на колонке (1 × 25 см) с DEА-силасорбом. Получали модифицированный тетрасахарид (5), содержащий одну сульфатную группу в молекуле.

Авторы приносят глубокую благодарность А.С. Шашкову (ИОХ РАН) за помощь в получении и интерпретации спектров ЯМР и В.Л. Садовской (ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН) за получение масс-спектров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Usov A.I., Bilan M.I., Shashkov A.S. // Carbohydr. Res., in press.
2. Knutsen S.H., Myslabodski D., Larsen B., Usov A.I. // Bot. Mar. 1994. V. 37. P. 163–169.
3. Bowker D.M., Turvey J.R. // J. Chem. Soc. C. 1968. P. 983–988.
4. Bowker D.M., Turvey J.R. // J. Chem. Soc. C. 1968. P. 989–992.
5. Hirase S., Watanabe K., Takano R., Tamura J. // Abstr. 11th Int. Seaweed Symp., Inst. Oceanology, Academia Sinica, Qingdao, People's Republic of China. 1983. P. 93.
6. Гуллыев Н.Г., Миленьева В.Г., Довлетмуратов К.Д., Иванова Е.Г., Усов А.И. // Изв. АН ТССР. Сер. биол. наук. 1991. № 1. С. 37–43.
7. Li Z., Shi S., Huang J., Xu Z., Liu W., Guo Y., Zhang X. // Haiyang Yu Huzhao. 1993. V. 24. P. 93–99. С. А. 1993. V. 119. 23192d.
8. Valiente O., Fernandez L.E., Perez R.M., Marquina G. // Carbohydr. Res. 1993. V. 243. P. 191–197.
9. Усов А.И., Иванова Е.Г., Элашвили М.Я. // Биоорганической химии. 1989. Т. 15. С. 1259–1267.
10. Usov A.I., Elashvili M.Ya. // Bot. Mar. 1991. V. 34. P. 553–560.
11. Usov A.I., Ivanova E.G. // Bot. Mar. 1987. V. 30. P. 365–370.
12. Usov A.I., Elashvili M.Ya. // F.E.C.S. Fifth Int. Conf. Chem. Biotechnol. Biol. Active Nat. Prod., Conf. Proc. Bulgarian Acad. Sci., Sofia, 1989. V. 2. P. 346–350.
13. Усов А.И., Элашвили М.Я. // Биоорганической химии. 1991. Т. 17. С. 839–848.
14. Stevenson T.T., Furneaux R.H. // Carbohydr. Res. 1991. V. 210. P. 277–298.
15. Rees D.A. // J. Chem. Soc. 1961. P. 5168–5171.
16. Voelter W., Breitmaier E., Rathbone E.B., Stephen A.M. // Tetrahedron. 1973. V. 29. P. 3845–3848.
17. Nicolaisen F.M., Meyland I., Schaumburg K. // Acta Chem. Scand. 1980. V. B34. P. 103–107.
18. Patt S.L., Shoolery J.N. // J. Magn. Reson. 1982. V. 46. P. 535–539.
19. Contreras R.R., Kamerling J.P., Breg J., Vliegert J.F.G. // Carbohydr. Res. 1988. V. 179. P. 411–418.
20. Lahaye M., Yaphe W., Phan Viet M.T., Rochas C. // Carbohydr. Res. 1989. V. 190. P. 249–265.
21. Fernandez P., Jimenez-Barbero J., Martin-Lomas M. // Carbohydr. Res. 1994. V. 254. P. 61–79.

22. Bock K., Pedersen C. // Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 1983. V. 41. P. 27–66.

23. Lewis B.A., Smith F., Stephen A.M. // Methods Carbohydr. Chem. 1963. V. 2. P. 172–178.

Polysaccharides from Algae.

51. Partial Reductive Hydrolysis of Sulfated Galactan from Red Alga *Laurencia coronopus* J. Ag. (Rhodophyta, Rhodomelaceae)

A. I. Usov and M. Ya. Elashvili

Zelinskii Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 47, GSP-7 Moscow, 117913 Russia

Received November 20, 1996; in final form, January 9, 1997

Abstract—The structure of the agarlike sulfated galactan from the epiphytic red alga *Laurencia coronopus* was elucidated by partial reductive hydrolysis. In the presence of borane–4-methylmorpholine complex, the acid-labile glycosidic linkages of 3,6-anhydrogalactose residues of the polysaccharide are hydrolyzed with the simultaneous reduction of these residues, thus precluding their further acidic degradation. The main products of this hydrolysis were 3,6-anhydro-4-*O*- β -*D*-galactopyranosyl-*L*-dulcitol (agarobiitol), its 6-*O*-methyl derivative, agarobiitol 6-sulfate, and some higher oligosaccharides. These products were structurally analyzed by composition, mass spectrometry, and NMR.

Key words: red algae; sulfated galactan; agarlike polysaccharides; partial reductive hydrolysis; agarobiitol, derivatives; *Laurencia coronopus*.