



УДК 582.273-119.2:547.458.7

ПОЛИСАХАРИДЫ ВОДОРΟΣЛЕЙ
52*. СТРОЕНИЕ СУЛЬФАТИРОВАННОГО КСИЛОГАЛАКТАНА
ИЗ ИЗВЕСТКОВОЙ КРАСНОЙ ВОДОРΟΣЛИ
Bossiella cretacea (P. et R.) Johansen (RHODOPHYTA, CORALLINACEAE)

© 1998 г. А. И. Усов[#], М. И. Билан

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН,
117913, Москва, ГСП-1, Ленинский просп., 47

Поступила в редакцию 31.07.97 г. Принята к печати 13.10.97 г.

Строение сульфатированного полисахарида, выделенного из известковой красной водоросли *Bossiella cretacea*, изучено с помощью метода метилирования до и после десульфатирования и расщепления по Смиту, а также с использованием спектроскопии ¹³С-ЯМР. Показано, что в состав полисахарида входят *D*-галактоза, *L*-галактоза, 2-*O*-метил-*L*-галактоза, 3-*O*-метил-*L*-галактоза, 6-*O*-метил-*D*-галактоза, *D*-ксилоза и сульфат (в кислотном гидролизате эти компоненты находятся в мольном отношении 27:20:5:4:1:22:21). Молекулы полисахарида содержат главную цепь, типичную для галактанов группы агара и построенную из чередующихся 3-связанных остатков β-*D*-галактопиранозы (или 6-*O*-метил-β-*D*-галактопиранозы) и 4-связанных остатков α-*L*-галактопиранозы, часть которых содержит метильную группу в положении 2 или 3. Все остатки *D*-ксилозы в полисахариде имеют пиранозную форму и β-конфигурацию; они представляют собой концевые невосстанавливающие группы, присоединенные в положения 6 остатков β-*D*-галактозы главной цепи. Сульфатные группы занимают положения 2 в остатках α-*L*-галактозы и 4 и 6 в остатках β-*D*-галактозы.

Ключевые слова: сульфатированный ксилогалактан, красные водоросли, *Bossiella cretacea*, *Corallinaceae*, полисахариды водорослей.

Красные водоросли (Rhodophyta) по полисахаридному составу резко отличаются от всех других растений. Внутри этого отдела наблюдаются довольно четкие различия в структуре полисахаридов у представителей разных порядков [2, 3]. В частности, у известковых красных водорослей семейства *Corallinaceae* (порядок *Corallinales*) только резервные полисахариды (так называемый флоридный крахмал) вполне аналогичны соответствующим веществам, найденным в представителях других семейств [4, 5]. Что же касается структурных полисахаридов, то известковые кораллиновые являются единственной группой красных водорослей, в которой обнаружены альгиновые кислоты [6–8]. Вместе с ними кораллиновые водоросли, как и все другие морские виды красных водорослей, содержат сульфатированные полисахариды. Подробному исследованию до настоящего времени подверглись вещества этого класса, выделенные из трех представителей семейства *Corallinaceae*, атлантической *Corallina officinalis* [9–11] и тихоокеанских *Joculator*

maximus [12] и *C. pilulifera* [13]. Оказалось, что эти три вида содержат близкородственные сульфатированные ксилогалактаны, в основе молекул которых лежит главная углеводная цепь, построенная из чередующихся 3-связанных остатков β-*D*-галактопиранозы и 4-связанных остатков α-*L*-галактопиранозы (такая структура в соответствии с предложенной недавно номенклатурой галактанов красных водорослей [14] носит название “агаран”). Эта главная цепь несет многочисленные заместители, маскирующие ее регулярность, как, например, метильные и сульфатные группы в положениях 2 и 3 остатков *L*-галактозы, а также остатки β-*D*-ксилопиранозы, метильные и сульфатные группы в положениях 6 остатков *D*-галактозы.

Цель настоящей работы – структурный анализ сульфатированного гетерополисахарида, выделенного из нового представителя кораллиновых водорослей – тихоокеанской *Bossiella cretacea*.

Наличие сульфатированного ксилогалактана в составе известковой красной водоросли *B. cretacea* было установлено в нашей предыдущей работе [8]. Для выделения этого полисахарида биомассу водоросли обрабатывали соляной кислотой при комнатной температуре, неорганические соли удаляли диализом, кислые полисахариды

* Сообщение 51 см. [1].

Автор для переписки (e-mail: usov@ioc.ac.ru).

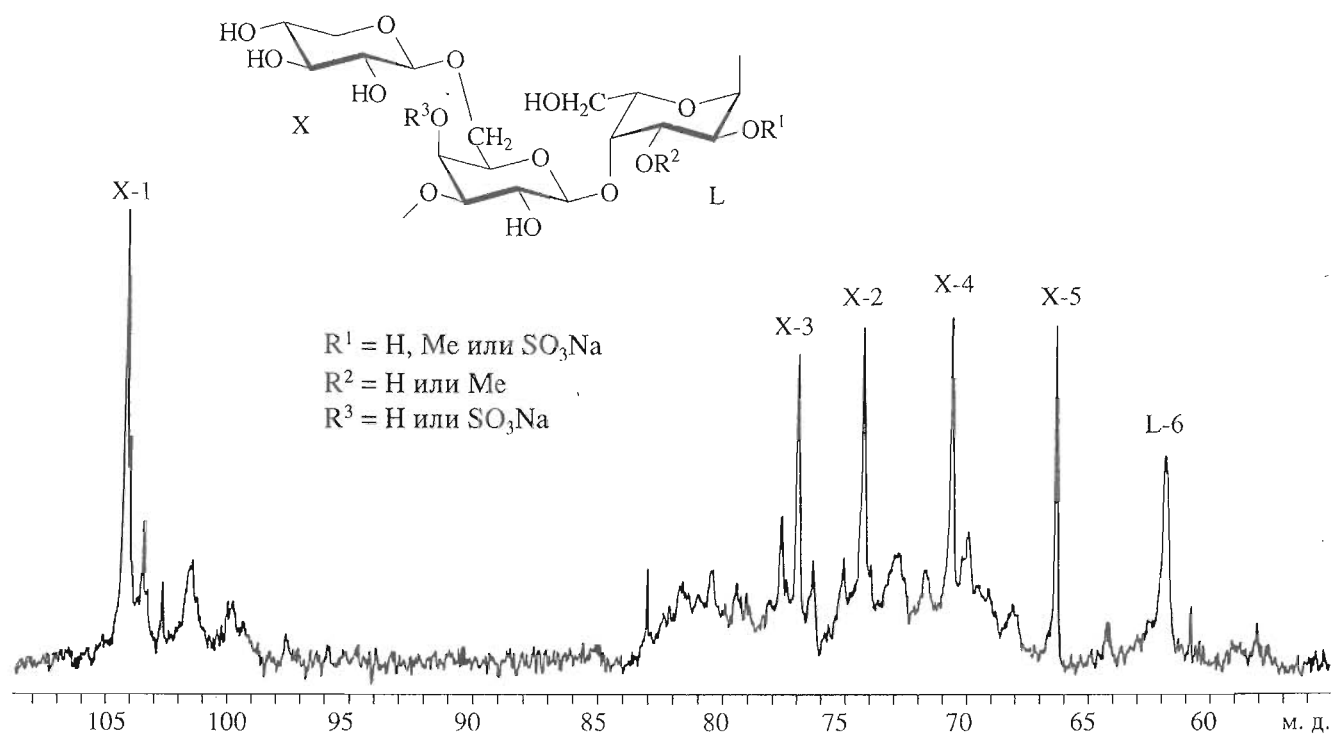


Рис. 1. Спектр ^{13}C -ЯМР нативного сульфатированного ксилогалактана (Ia) из *B. cretacea*. L и X – остатки *L*-галактозы и *D*-ксилозы. Цифры у символа остатка соответствуют номеру углеродного атома

осаждали бромидом гексадецилтриметиламмония (цетавлоном) и переводили в водорастворимые Na-соли, как описано ранее [8]. Полученный препарат (I) дополнительно очищали хроматографией на колонке с DEAE-сефацелом при промывании растворами NaCl возрастающей концентрации. Главная часть вещества элюировалась с колонки 0.4 М NaCl. Диализ и лиофилизация этой фракции привели к получению очищенного сульфатированного полисахарида (Ia), основными компонентами которого были галактоза, ксилоза и сульфат в соотношении около 2 : 1 : 1, а в качестве минорных компонентов были найдены 2-О-, 3-О- и 6-О-метилгалактоза. Галактоза, по данным количественного определения с дегидрогеназой *D*-галактозы, представляла собой смесь *D*- и *L*-форм в соотношении, близком к эквимольному. *D*-Конфигурация ксилозы была доказана с помощью ГЖХ ацелированных (2*S*)-(+)-октилксилозидов [8]. *L*-Конфигурация 2-О- и 3-О-метилгалактозы и *D*-конфигурация 6-О-метилгалактозы были определены по данным спектроскопии ЯМР (см. ниже).

Состав выделенного ксилогалактана (Ia) и его спектр ^{13}C -ЯМР (рис. 1) оказались очень близкими к соответствующим характеристикам аналогичного полисахарида из *S. pilulifera*, изученного нами ранее, поэтому при установлении строения нового сульфатированного ксилогалактана ис-

пользовались химические модификации и спектроскопия ЯМР, эффективность которых была продемонстрирована в нашей предыдущей работе [13]. Сульфатные группы удаляли кислотным метанолизом [15]. Оказалось, что четырехкратная обработка вещества (I) 1% раствором HCl в абсолютном метаноле при 0°C снижает в 10 раз содержание сульфатных групп в препарате, не изменяя существенно соотношение ксилозы и галактозы. Десульфатированный полисахарид (II) был получен с выходом 75%.

Периодатное окисление полисахарида (I) привело к практически полному разрушению остатков *D*-ксилозы, тогда как по соотношению *D*- и *L*-галактозы окисленное вещество мало отличалось от исходного. Расход окислителя составил почти точно 2 моль на каждый из имеющихся в полисахариде остатков ксилозы. Такой результат, очевидно, свидетельствовал о том, что остатки ксилозы занимают в молекуле полисахарида концевые невосстанавливающие положения и не имеют дополнительных заместителей. Окисленный полимер восстанавливали боргидридом натрия и подвергали мягкому кислотному гидролизу в обычных условиях расщепления полисахаридов по Смиту [16]. После отделения низкомолекулярных фрагментов получали расщепленный по Смиту полисахарид (III) с выходом 32%. Этот препарат, содержащий 15% сульфатных

групп, десульфатировали действием HCl в метаноле, как описано выше, и после трехкратной обработки получали с выходом 36% окисленный и десульфатированный полисахарид (IV), содержащий около 2% SO₃Na.



Состав полисахаридных препаратов (Ia)–(IV) (см. схему) приведен в табл. 1. Их строение было изучено методом метилирования. Для получения метилированных полисахаридов применялась обработка метилиодидом и щелочью в DMSO [17], причем для обеспечения лучшей растворимости нативный сульфатированный ксилогалактан (Ia) переводили в триэтиламмониевую соль [18]. Прочие препараты легко растворялись в DMSO в виде Na-солей. Удовлетворительная полнота метилирования достигалась уже в результате однократной обработки полисахаридов метилирующими агентами, поскольку повторная обработка не меняла существенным образом соотношения метилированных моносахаридов в продуктах гидролиза. Метилированные полисахариды освобождали от солей диализом, гидролизовали, полученные смеси метилированных моносахаридов восстанавливали боргидридом натрия, ацетилировали и анализировали в виде ацетатов полиолов с помощью ГЖХ и масс-спектрометрии [19]. Сравнение результатов, полученных для четырех полисахаридных препаратов (табл. 2), позволяет сделать вполне определенные выводы о строении их углеводных цепей и расположении главных заместителей.

Как видно из табл. 2, полисахарид (IV) содержит практически равные количества 3- и 4-связанных остатков галактозы в линейных цепях и сильно деградирован, что следует из значительного количества концевых невосстанавливающих остатков галактозы. Логично предположить, что 3-связанные остатки имеют *D*-конфигурацию и регулярно чередуются с 4-связанными остатками *L*-галактопиранозы, как и в других многочисленных галактанах красных водорослей, относящихся к группе агара [2, 3, 20]. Это предположение было подтверждено периодатным окислением полисахарида (IV), в результате которого разрушению подверглись остатки *L*-галактозы, а главным продуктом расщепления по Смиуту оказался 2-О-β-*D*-галактопиранозил-*L*-треит (ср. [13]). Небольшие количества производных 2,3,4-три-О-метилгалактозы и диметилгалактоз, также найденные в продуктах метилирования полисахарида (IV), на наш взгляд, не имеют структурного

Таблица 1. Состав полисахаридных препаратов (Ia)–(IV) в мол. %

Образец	<i>D</i> -Gal	<i>L</i> -Gal	<i>D</i> -Xyl	2-О-Me-Gal	3-О-Me-Gal	6-О-Me-Gal	SO ₃ Na
(Ia)	27	20	22	5	4	1	21
(II)	34	25	26	6	5	2	2
(III)	35	20	1	6	6	1	31
(IV)	44	33	2	8	8	1	4

Таблица 2. Анализ сульфатированного ксилогалактана (Ia) и его производных (II)–(IV) методом метилирования (приведены мол. % ацетатов частично метилированных полиолов)

Положение О-метильных групп	(IV)	(III)	(II)	(Ia)
Ксилоза				
2, 3, 4	1	–	20	23
Галактоза				
2, 3, 4, 6	7	12	3	1
2, 3, 6	42	29	41	25
2, 4, 6	40	26	9	3
2, 3, 4	1	1	1	–
2, 6	2	9	2	6
3, 6	1	16	–	9
2, 3	2	–	2	1
2, 4	4	7	22	32

значения и являются следствием неполного протекания самой реакции метилирования.

Сравнивая результаты метилирования полисахаридов (III) и (IV), можно заключить, что половина сульфатных групп в образце (III) занимает положение 2 в 4-связанных остатках галактозы, а остальные сульфатные группы примерно поровну распределены между положениями 4 и 6 в 3-связанных остатках галактозы. Не исключено, что некоторая часть сульфатных групп занимает также положение 3 в 4-связанных остатках галактозы. Вещество (III) также весьма сильно деградировано, что объясняется, очевидно, расщеплением некоторого количества 4-связанных остатков галактозы, не имеющих других заместителей, на стадии периодатного окисления вещества (I).

Набор продуктов метилирования полисахарида (II) подтверждает гипотезу о концевом расположении остатков *D*-ксилопиранозы, высказанную выше на основании периодатного окисления, и доказывает, что эти остатки присоединены к первичноспиртовым группам 3-связанных остат-

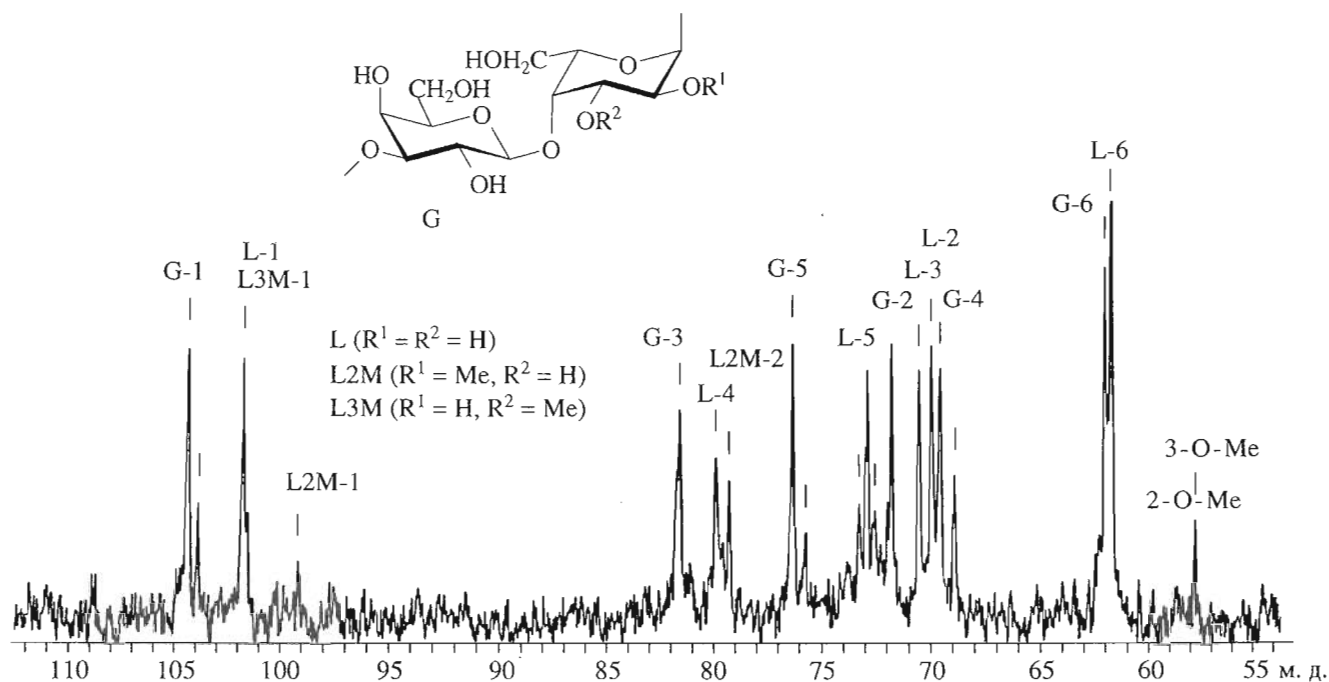


Рис. 2. Спектр ^{13}C -ЯМР расщепленного по Смитту и десульфатированного полисахарида (IV). G – *D*-галактоза, L2M и L3M – остатки 2-ОМе- и 3-ОМе-*L*-галактозы. Остальные обозначения как на рис. 1

ков галактозы. Наконец, сравнение продуктов метилирования полисахаридов (II) и (Ia) позволяет подтвердить вывод о расположении сульфатных групп, сделанный на основании результатов метилирования полисахарида (III).

В предыдущей статье, посвященной установлению строения сульфатированного ксилогалактана из *S. pilulifera* [13], мы подробно описали спектры 1H - и ^{13}C -ЯМР исходного полисахарида и продуктов его химической модификации. Спектры ЯМР были использованы для определения конфигурации гликозидных центров, абсолютной конфигурации моно-О-метилгалактоз и для получения независимых сведений о межмоносакхаридных связях и расположении неуглеводных заместителей. В настоящей работе также были получены спектры ЯМР образцов (Ia)–(IV), а их интерпретация проведена сравнением с соответствующими спектрами из работы [13]. Спектральные данные доказывают, что сульфатированные ксилогалактаны из *S. pilulifera* и *V. cretacea* являются близкородственными соединениями.

Так, спектр ^{13}C -ЯМР окисленного и десульфатированного образца (IV) (рис. 2) не оставляет сомнений в том, что полисахарид представляет собой агаран, частично метилированный преимущественно по положениям 2 и 3 остатков α -*L*-галактопиранозы. Интенсивность сигнала 3-О-метильной группы существенно выше, чем 2-О-метильной, и это означает, что реальное содержание

3-О-метилгалактозы в полисахариде больше, чем в его гидролизате, что в свою очередь объясняется хорошо известной повышенной склонностью 3-О-метилгалактозы к деградации в условиях кислотного гидролиза. Спектр ^{13}C -ЯМР вещества (III) (рис. 3) свидетельствует о том, что главная часть сульфатных групп занимает в полисахариде положение 2 в остатках α -*L*-галактопиранозы.

Спектр ^{13}C -ЯМР десульфатированного полисахарида (II) (рис. 4) четко доказывает расположение остатков β -*D*-ксилопиранозы в качестве единичных ответвлений при С-6 остатков β -*D*-галактопиранозы главной цепи. Наконец, характерная особенность спектра ^{13}C -ЯМР исходного сульфатированного ксилогалактана (рис. 1), а именно наличие хорошо разрешенных сигналов С-6 остатка α -*L*-галактопиранозы и углеродных атомов β -*D*-ксилопиранозных остатков наряду с уширенными сигналами остальных атомов углерода, подчеркивает его структурную близость к сульфатированным ксилогалактанам, выделенным ранее из других видов семейства Corallinaceae [12, 13].

Небольшие различия в спектрах полисахаридов из разных водорослей хорошо соответствуют наблюдаемой разнице в химическом составе и расположении сульфатных групп. Так, повышенное содержание 3-О-метил- α -*L*-галактозы в полисахариде из *V. cretacea* приводит к появлению дополнительного аномерного сигнала, принадле-

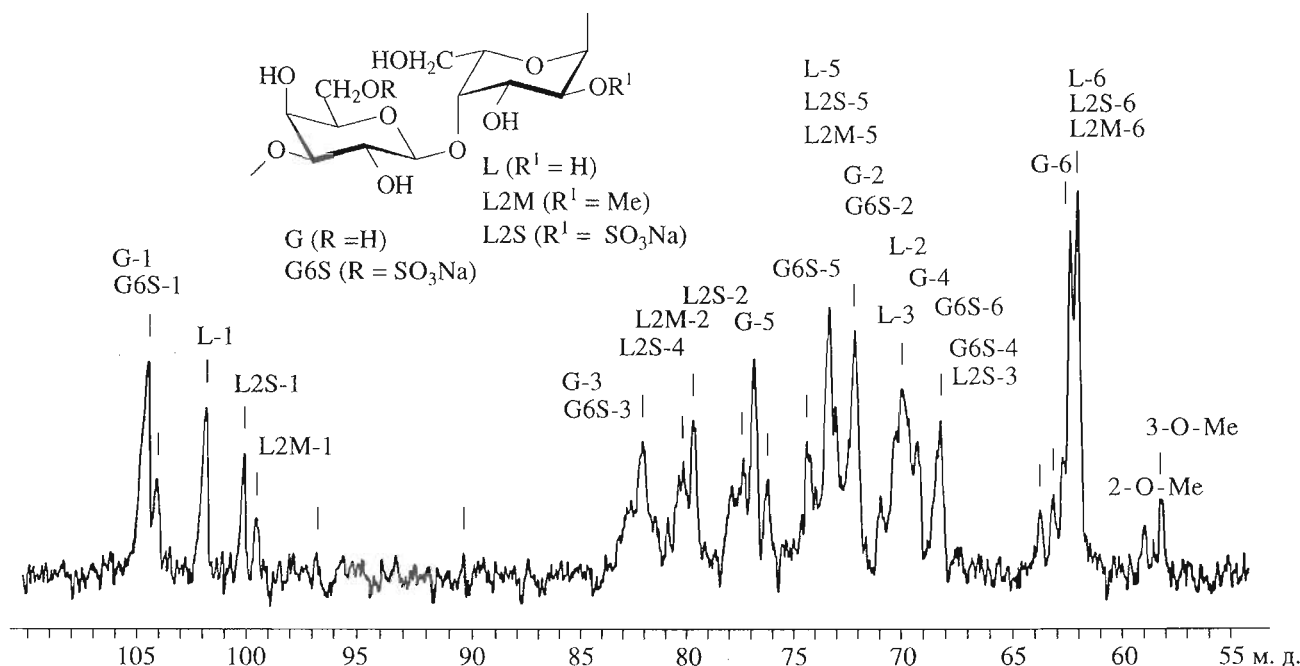


Рис. 3. Спектр ¹³C-ЯМР расщепленного по Смиту полисахарида (III). G6S и L2S – остатки *D*- и *L*-галактозы, сульфатированные по положению 6 и 2. Остальные обозначения как на рис. 1

жащего соседнему с ней остатку 3-связанной β-*D*-галактопиранозы, в более сильном поле (сдвиг от 104.6 до 103.8 м.д.). Дополнительное усложнение аномерной области спектров веществ (III) и (Ia) можно объяснить влиянием сульфатных групп, занимающих положение 4 в 3-связанных остатках β-*D*-галактозы, на аномерные сигналы соседних остатков β-*D*-ксилозы и α-*L*-галактозы (влияние сульфатной группы в положении 4 на химический сдвиг аномерного резонанса соседнего моносахаридного остатка было отмечено ранее для полисахарида из *Odonthalia corymbifera* [21]).

Суммируя полученные результаты, можно заключить, что сульфатированный ксилоталактан, содержащийся в известковой красной водоросли *V. cretacea*, по структуре главной цепи должен быть отнесен к полисахаридам группы агара, поскольку эта цепь построена из чередующихся остатков 3-связанной β-*D*-галактопиранозы и 4-связанной α-*L*-галактопиранозы. Однако от хорошо известных типичных представителей этой группы, таких, как агароза или порфиран [2, 3, 20], полисахарид отличается несколькими важными структурными особенностями. Во-первых, он не содержит остатков 3,6-ангидро-α-*L*-галактопиранозы и, более того, остатков 6-сульфата α-*L*-галактопиранозы, которые могли бы служить биогенетическим или химическим предшественником 3,6-ангидро-α-*L*-галактозы [8]. Во-вторых, для полисахарида характерно своеобразное расположение неуглеводных заместителей (О-ме-

тильных и сульфатных групп), большая часть которых занимает положение 2 или 3 в остатках α-*L*-галактозы, что защищает полисахаридную цепь от глубокой деградации при периодатном окислении. Наконец, полисахарид содержит большое количество остатков β-*D*-ксилопиранозы в виде единичных заместителей при С-6 остатков β-*D*-галактозы. В связи с этим можно упомянуть, что остатки ксилозы находили в составе полисахаридов группы агара иногда и ранее, но, как правило, в небольших количествах, а в качестве места их присоединения к главной цепи для разных галактанов, кроме положения 6 остатков β-*D*-галактозы [22], в литературе указываются также положение 2 остатков 3,6-ангидро-α-*L*-галактозы [22], положение 4 – остатков β-*D*-галактозы [23] и положение 3 – остатков α-*L*-галактозы [24, 25].

Интересно сравнить сульфатированный ксилоталактан из *V. cretacea* с аналогичными полисахаридами, выделенными из других представителей семейства Corallinaceae [9–13]: Поскольку все четыре исследованных вида водорослей таксономически близки, структурное сходство входящих в их состав сульфатированных полисахаридов не вызывает удивления. Все они обладают главной цепью типа агарана, не содержат 3,6-ангидрогалактозы, единичные остатки β-*D*-ксилопиранозы присоединены в положение 6 остатков *D*-галактозы, а главная часть сульфатных и О-метильных групп занимает положение 2 остатков *L*-галактозы.

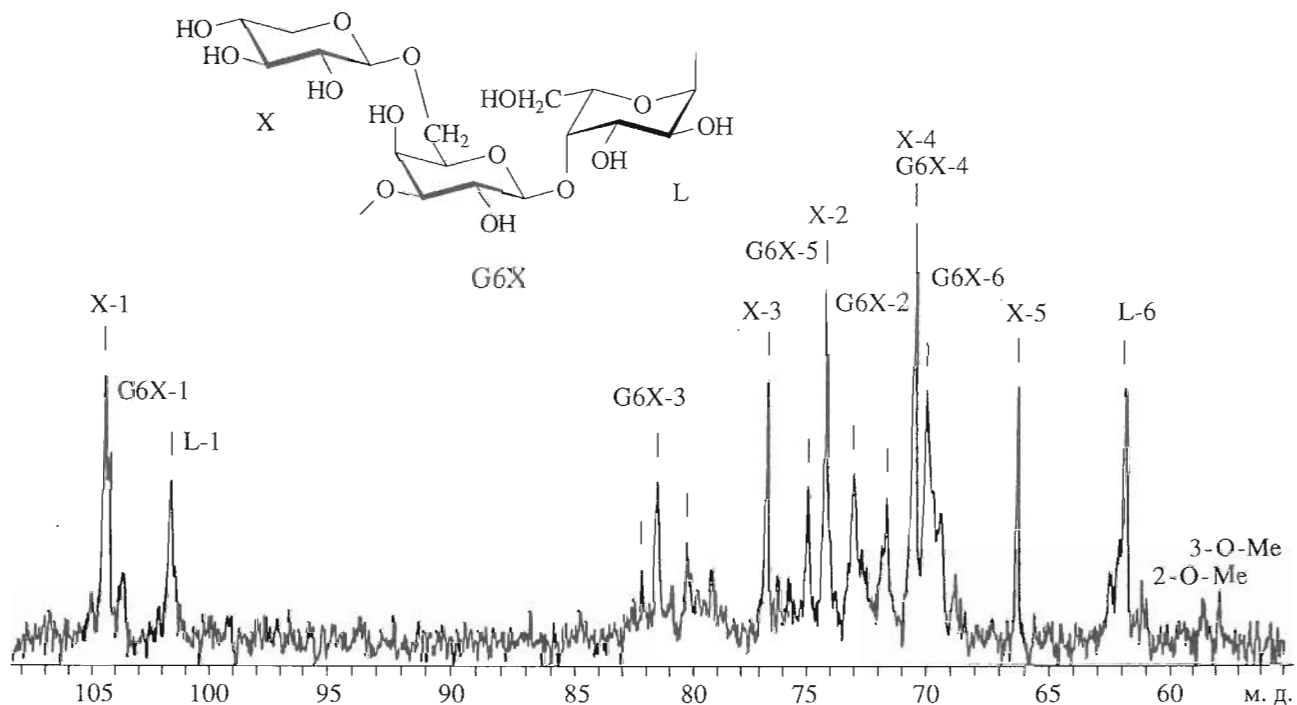


Рис. 4. Спектр ^{13}C -ЯМР десульфатированного полисахарида (II).

В то же время можно отметить и некоторые различия между этими полимерами: так, в составе полисахарида из *C. officinalis* обнаружены четыре изомерные моно-О-метилгалактозы, в полисахаридах из *C. pilulifera* и *B. cretacea* – только три (4-О-метилгалактоза отсутствует), а в полисахаридах из *J. maximus* – всего одна (2-О-метилгалактоза); полисахариды из *C. pilulifera* и *B. cretacea* оказались более однородными при фракционировании по плотности заряда по сравнению с полисахаридом из *C. officinalis*; только полисахарид из *B. cretacea* содержит часть сульфатных групп в положении 4 остатков β -D-галактозы. Весьма вероятно, что присутствие сульфатированных ксилогалактанов рассмотренного типа является характерным хемотаксономическим признаком известковых красных водорослей семейства Corallinaceae.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Общие методы. Количественное определение моносахаридов методом ГЖХ в виде ацетатов альдонитрилов с ацетатом миоинозита в качестве внутреннего стандарта в гидролизатах полисахаридов, а также урсонных кислот – по цветной реакции с 3,5-диметилфенолом и конц. H_2SO_4 проводили как описано ранее [7]. D-Галактозу в гидролизатах полисахаридов определяли с помощью дегидрогеназы D-галактозы из набора реа-

гентов для определения лактозы-галактозы фирмы Boehringer. Сульфат определяли турбидиметрически в виде BaSO_4 после гидролиза полисахаридов в 1 М HCl [26]. Спектры ^{13}C -ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker WM-250 для растворов веществ в $^2\text{H}_2\text{O}$ при 50°C с метанолом ($\delta^{13}\text{C}$ 50.15 м.д.) в качестве внутреннего стандарта. Оптическое вращение измеряли на поляриметре Jasco DIP-360.

Выделение и очистка сульфатированного ксилогалактана (образцы (I) и (Ia)). Водоросль *B. cretacea* собирали в заливе Посьета Японского моря в сентябре 1977 г. Неочищенный препарат Na-соли сульфатированного полисахарида (I) получали как описано ранее [8] с выходом 0.56% от сухой биомассы. Состав (%): галактоза – 37.4, ксилоза – 13.3, SO_3Na – 7.0, глюкоза – 1.2, урсонные кислоты – 13.4. Соединение (I) в количестве 300 мг растворяли в 10 мл воды, незначительный осадок отделяли центрифугированием, супернатант наносили на колонку (4×26 см) с DEAE-сефацелом (Cl⁻-форма) и элюировали последовательно водой и растворами NaCl (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 и 1.0 М), каждый раз до исчезновения положительной реакции элюата на углеводы с фенолом и конц. H_2SO_4 [27]. Полученные растворы диализовали и лиофилизировали, выходы фракций составили 10, 10, 220, 20, 20 и 20 мг. Состав главной фракции

(Ia) ($[\alpha]_D^{25} -77.9^\circ$ (c 0.76; вода)), вымываемой с колонки 0.4 М NaCl, приведен в табл. 1.

Десульфатирование ксилогалактана (I). 160 мг полисахарида (I) суспендировали в 40 мл абс. метанола, охлаждали до 0°C , приливали 1 мл ацетилхлорида и перемешивали при этой температуре 6 ч. Далее смесь центрифугировали, осадок промывали дважды метанолом, заливали 40 мл метанола и оставляли на ночь, после чего описанные процедуры проводили еще три раза. Осадок высушивали в вакууме, получали десульфатированный ксилогалактан (II) с выходом 120 мг. $[\alpha]_D^{25} -71.7^\circ$ (c 0.58; вода). Его состав приведен в табл. 1.

Расщепление полисахаридов по Смигу. К раствору 100 мг ксилогалактана (I) в 40 мл воды приливали 40 мл 0.02 М раствора NaIO_4 и выдерживали в темноте 24 ч до прекращения расхода окислителя (контроль по убыли оптической плотности раствора при 305 нм), который составил 2.1 моль на 1 моль содержащейся в образце ксилозы. К раствору прибавляли 0.5 мл этиленгликоля, смесь диализовали, концентрировали до объема 20 мл, прибавляли 100 мг NaNH_4 и оставляли на ночь. Раствор подкисляли уксусной кислотой, диализовали и лиофилизовали, получали с выходом 80 мг окисленный периодатом и восстановленный полисахарид, содержащий 1.4% ксилозы и 33.9% галактозы. 35 мг этого вещества растворяли в 10 мл 1% уксусной кислоты, нагревали 2 ч при 100°C , упаривали, остаток растворяли в 5 мл воды и наносили на колонку (3×75 см) с сефадексом G-15, которую промывали водой. Полимерную фракцию лиофилизовали, получали расщепленный по Смигу полисахарид (III). Выход 32 мг, $[\alpha]_D^{25} -82.0^\circ$ (c 0.71; вода). Его состав приведен в табл. 1.

Аналогично к раствору 40 мг вещества (IV) (см. ниже), содержащего 1.4% ксилозы и 58.4% галактозы, в 10 мл воды прибавляли 10 мл 0.019 М раствора NaIO_4 . Через 24 ч реакция закончилась, расход окислителя составил около 0.5 моль на 1 моль галактозы. Окисленный полисахарид восстановливали и выделяли как описано выше с выходом 19 мг. Соотношение D-галактоза : L-галактоза 8:1. Вещество растворяли в 3 мл 1% уксусной кислоты, нагревали 2 ч при 100°C , упаривали до суха, остаток растворяли в смеси 1 мл пиридина и 1 мл As_2O_3 , нагревали 1 ч при 100°C , трижды упаривали с толуолом, раствор остатка в хлороформе обесцвечивали силикагелем и анализировали с помощью ГЖХ. В качестве главного продукта обнаруживали ацетат 2-O- β -D-галактопиранозил-L-треита, идентифицированный сравнением хроматографической подвижности и масс-спектра с известными ацетатами 2-O- β -D-галактопиранозил-D- и -L-треита, полученными при рас-

щеплении по Смигу десульфатированного галактана из красной водоросли *Grateloupia divaricata* [28] (ср. [13]).

Периодатное окисление и десульфатирование полисахарида (I). К раствору 400 мг полисахарида (I) в 240 мл воды приливали 120 мл 0.019 М раствора NaIO_4 , оставляли в темноте на 48 ч и обрабатывали как описано выше. Получали окисленный и восстановленный полисахарид с выходом 340 мг. Это вещество десульфатировали метанольным HCl в описанных выше условиях и после трехкратной обработки получали с выходом 120 мг окисленный и десульфатированный полисахарид (IV). $[\alpha]_D^{25} -102.9^\circ$ (c 0.4; вода). Его состав приведен в табл. 1.

Метилирование полисахаридов. Водный раствор 10 мг полисахарида (Ia) диализовали 3 сут против 1% раствора хлорида триэтиламония, затем против дистиллированной воды и лиофилизовали. Получали триэтиламониевую соль (Ia) ($[\alpha]_D^{25} -74.5^\circ$ (c 0.4; вода)), которую использовали для метилирования. Прочие полисахаридные препараты метилировали в виде Na-солей.

К раствору 5 мг полисахарида в 0.5 мл DMSO прибавляли 0.2 мл MeI и 20–30 мг тонкоизмельченного NaOH. Смесь перемешивали 1 ч, приливали 4 мл воды, диализовали, упаривали, к остатку приливали 1 мл 2 М CF_3COOH , нагревали 8 ч при 100°C , кислоту отгоняли с этанолом, полученные частично метилированные моносахариды переводили в ацетаты полиолов и анализировали методом ГЖХ и ГЖХ-МС по известным методикам [19]. Полученные результаты приведены в табл. 2.

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 выполнение хроматомасс-спектрометрии продуктов метилирования полисахаридов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Усов А.И., Элашвили М.Я. // Биоорган. химия. 1997. Т. 23. С. 505–511.
2. Craigie J.S. // Biology of the Red Algae / Eds K.M.Cole, R.G. Sheath. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1990. P. 221–257.
3. Usov A.I. // Food Hydrocolloids. 1992. V. 6. P. 9–23.
4. Meeuse B.J.D., Andries M., Wood J.A. // J. Exp. Bot. 1960. V. 11. P. 129–140.
5. Ozaki H., Maeda M., Nisizawa K. // J. Biochem. 1967. V. 61. P. 497–503.
6. Okazaki M., Furuya K., Tsukayama K., Nisizawa K. // Bot. Mar. 1982. V. 25. P. 123–131.
7. Usov A.I., Bilan M.I., Klochkova N.G. // Bot. Mar. 1995. V. 38. P. 43–51.

8. Усов А.И., Билан М.И. // Биоорган. химия. 1996. Т. 22. С. 126–133.
9. Turvey J.R., Simpson P.R. // Proc. Int. Seaweed Symp. 1966. V. 5. P. 323–328.
10. Cases M.R., Stortz C.A., Cerezo A.S. // Phytochemistry. 1992. V. 31. P. 3897–3900.
11. Cases M.R., Stortz C.A., Cerezo A.S. // Int. J. Biol. Macromol. 1994. V. 16. P. 93–97.
12. Takano R., Hayashi J., Hayashi K., Hara S., Hirase S. // Bot. Mar. 1996. V. 39. P. 95–102.
13. Usov A.I., Bilan M.I., Shashkov A.S. // Carbohydr. Res. 1997. V. 303. P. 93–102.
14. Knutsen S.H., Myslabodski D., Larsen B., Usov A.I. // Bot. Mar. 1994. V. 37. P. 163–169.
15. Kantor T.G., Schubert M. // J. Am. Chem. Soc. 1956. V. 72. P. 152–153.
16. Гольдштейн И. Дж., Хэй Г.В., Льюис Б.А., Смит Ф. // Методы химии углеводов / Пер. с англ. под ред. Н.К. Кочеткова. М.: Мир, 1967. С. 471–478.
17. Ciucanu I., Kerek F. // Carbohydr. Res. 1984. V. 131. P. 209–217.
18. Stevenson T.T., Furneaux R.H. // Carbohydr. Res. 1991. V. 210. P. 277–298.
19. Bjordal H., Hellerqvist C.G., Lindberg B., Svensson S. // Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1970. V. 9. P. 610–619.
20. Painter T.J. // The Polysaccharides. V. 2 / Ed. G.O. Aspinall. N. Y.: Acad. Press, 1983. P. 195–285.
21. Шапков А.С., Усов А.И., Яроцкий С.В. // Биоорган. химия. 1978. Т. 4. С. 74–81.
22. Кочетков Н.К., Усов А.И., Мирошникова Л.И., Чижов О.С. // Журн. общ. химии. 1973. Т. 43. С. 1832–1839.
23. Hirase S., Watanabe K., Takano R., Tamura J. // XIth Int. Carbohydr. Symp., Abstracts. Vancouver, Canada, 1982. P. III–12.
24. Furneaux R.H., Stevenson T.T. // Hydrobiologia. 1990. V. 204/205. P. 615–620.
25. Usov A.I., Elashvili M.Ya. // Bot. Mar. 1991. V. 34. P. 553–560.
26. Dodgson K.S., Price R.G. // Biochem. J. 1962. V. 84. P. 106–110.
27. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. // Anal. Chem. 1956. V. 28. P. 350–356.
28. Барбакадзе В.В., Усов А.И. // Биоорган. химия. 1978. Т. 4. С. 1100–1106.

Polysaccharides of Algae. 52. The Structure of Sulfated Xylogalactan from the Calcareous Red Alga *Bossiella cretacea* (P. et R.) Jøhansen (Rhodophyta, Corallinaceae)

A. I. Usov and M. I. Bilan

Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 47, GSP-1 Moscow, 117913 Russia

The structure of sulfated polysaccharide isolated from the calcareous red alga *Bossiella cretacea* was studied by ^{13}C NMR and by the methylation analysis, which was carried out both before and after desulfation and the Smith degradation. It was shown that the polysaccharide contains *D*-galactose, *L*-galactose, 2-*O*-methyl-*L*-galactose, 3-*O*-methyl-*L*-galactose, 6-*O*-methyl-*D*-galactose, *D*-xylose, and sulfate. The molar ratio of these components in the acid hydrolyzate was 27 : 20 : 5 : 4 : 1 : 22 : 21, respectively. The molecule of this polysaccharide was found to contain a backbone characteristic of agar galactans composed of alternating 3-linked residues of β -*D*-galactopyranose (or 6-*O*-methyl- β -*D*-galactopyranose) and 4-linked residues of α -*L*-galactopyranose (partially 2-*O*- or 3-*O*-methylated). All *D*-xylose residues of the polysaccharide are in pyranose form with the β -configuration; they represent terminal nonreducing groups attached at position 6 of the β -*D*-galactose residues of the backbone. Sulfate groups occupy position 2 of the α -*L*-galactose residues and positions 4 and 6 of the β -*D*-galactose residues.

Key words: polysaccharides from algae, red algae, Corallinaceae, *Bossiella cretacea*, sulfated xylogalactan