



УДК 547.458.7 : 543.422.25

## ПОЛИСАХАРИДЫ ВОДОРОСЛЕЙ

XXII. ПОЛИСАХАРИДНЫЙ СОСТАВ *RHODYMENIA STENOSONA* PEREST.  
И ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРОСКОПИИ  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ  
СТРОЕНИЯ КСИЛАНОВУсов А. И., Яроцкий С. В., Шашков А. С.,  
Тищенко В. П.Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского  
Академии наук СССР, Москва

Из красной водоросли *Rhodymenia stenogona* Perest. выделены сульфатированный галактан и несколько фракций ксиланов. Строение ксиланов изучено химическими методами, а также с помощью спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. Показано, что анализ спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ксиланов дает ценную информацию о строении их молекул и во многом может заменить трудоемкие химические операции. Установлено, что ксиланы представляют собой семейство родственных полисахаридов, линейные молекулы которых содержат  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4- и  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3-связи между остатками *D*-ксилопиранозы. Отдельные фракции различаются соотношением этих двух типов связей, причем растворимость ксиланов падает с уменьшением доли связей 1  $\rightarrow$  3; в наименее растворимой фракции обнаружены только 1  $\rightarrow$  4-связи между моносахаридными остатками.

Сведения о полисахаридах красных водорослей, входящих в порядок Rhodymeniales, весьма ограничены. Подробно был изучен лишь состав *Rhodymenia palmata* (L.) Grøv. [1], причем внимание исследователей неизменно привлекал содержащийся в этой водоросли своеобразный ксилан. Сульфатированные галактаны, характерные для красных водорослей из других порядков, не были выделены из представителей Rhodymeniales. Согласно нашим данным о полисахаридном составе красных водорослей Японского моря [2], представители этого порядка могут содержать и ксиланы, и галактаны. Чтобы установить, к какому типу относятся их структуры, было предпринято подробное изучение полисахаридов тихоокеанской водоросли *Rhodymenia stenogona* Perest. Данная статья посвящена выделению полисахаридов и установлению строения ксиланов, содержащихся в этой водоросли в наибольшем количестве.

Для выделения полисахаридов водоросль вначале многократно экстрагировали горячей водой и к водному экстракту прибавляли избыток бромистого цетилтриметиламмония (цетавлона). Из супернатанта с помощью диализа и осаждения спиртом была получена фракция А водорастворимого нейтрального ксилана с выходом  $\sim 30\%$ . Осадок цетавлоновой соли кислого полисахарида переводили в форму растворимой натриевой соли; таким способом была получена фракция сульфатированного галактана с выходом 9,5%.

Остаток водоросли после водной экстракции обрабатывали разбавленной соляной кислотой в условиях, рекомендованных для извлечения кси-

лана из *Rhodymenia palmata* [3]. Из кислого экстракта был получен препарат кислоторастворимого ксилана (фракция Б).

Дальнейшая экстракция остатка водоросли была проведена 1 н. NaOH вначале при комнатной температуре, а затем при нагревании. В результате обычной обработки экстрактов были получены фракции ксилана В — Д (табл. 1). Выход остатка водоросли после этих обработок составил 2,4%; кислотный гидролиз этого остатка протекал с трудом и давал глюкозу с небольшой примесью ксилозы.

Все фракции ксилана давали при гидролизе в качестве главного компонента ксилозу с незначительной примесью других сахаров. Эти примеси практически отсутствовали в кислоторастворимой фракции Б; в водорастворимой фракции А содержались галактоза и глюкоза, а в щелочерастворимых — дополнительно следы маннозы. Было показано, что глюкан из фракции А удаляется при обработке амилоглюкозидазой и является, следовательно, флоридным крахмалом. От прочих примесей водорастворимый ксилан удалось очистить переосаждением в виде медного комплекса [4]; полученный полисахарид имел  $[\alpha]_D^{20} -96,5^\circ$  ( $c$  0,44; вода). Еще более эффективным способом очистки этого ксилана оказалась хроматография на колонке с DEAE-целлюлозой в карбонатной форме. Эта процедура позволила получить ксилан с  $[\alpha]_D^{20} -113,5^\circ$  ( $c$  0,34; вода). Такие величины удельного вращения характерны для ксиланов, выделенных из ряда других красных водорослей [4—6], и свидетельствуют о  $\beta$ -конфигурации гликозидных связей между остатками D-ксилозы.

Фракции ксилана А и Д были изучены методом метилирования. Полностью метилированные полисахариды получали в результате обработки ксиланов диметилсульфатом и щелочью в воде по методу Хеурса с последующим двукратным метилированием теми же реагентами в безводном тетрагидрофуране [7]. В продуктах кислотного гидролиза метилированных полисахаридов методом БХ были обнаружены зоны, соответствующие по подвижности только три- и ди-О-метилпроизводным ксилозы, что свидетельствовало как о полноте метилирования, так и о линейном строении полисахаридных молекул. Методом ГЖХ было найдено, что из ди-О-метилпроизводных в гидролизате метилированного ксилана А содержатся 2,3- и 2,4-ди-О-метилксилоза в соотношении 3,7 : 1, а в случае ксилана Д обнаружена только 2,3-ди-О-метилксилоза. Это означает, что в ксилане А имеются 1 → 4 (1 → 5)- и 1 → 3-связи, тогда как в ксилане Д — практически только 1 → 4 (1 → 5)-связи между остатками ксилозы.

Чтобы выяснить, не является ли фракция А смесью двух ксиланов с различными типами связей, были изучены олигосахариды, образующиеся при частичном расщеплении полисахарида. Ксилан А расщеплялся с образованием ксилозы и ксилоолигосахаридов под действием препарата целлюлазы из *Trichoderma viride*, обладающего ксиланазной и ксилозидазной активностями, но более удовлетворительные выходы олигосахаридов дал частичный кислотный гидролиз в специально подобранных условиях. Предварительная идентификация продуктов гидролиза была сделана по данным БХ. Среди них найдены два дисахарида, один из которых совпал по подвижности с заведомой 4-О- $\beta$ -D-ксилопиранозил-D-ксилозой, а другой имел значительно большую подвижность, свойственную 3-О- $\beta$ -D-ксилопиранозил-D-ксилозе (родименабиозе). Обнаружены также две зоны трисахаридов, одна из которых совпала по подвижности с  $\beta$ -1 → 4-ксилотриозой, а вторая имела большую подвижность, соответствующую трисахаридам, содержащим 1 → 4- и 1 → 3-связи между остатками ксилозы.

Небольшие количества олигосахаридов были выделены из частичного гидролизата фракции А с помощью препаративной БХ. Величины удельного вращения 1 → 4-связанных ди- и трисахарида удовлетворительно совпали с данными, приведенными в литературе. Вещество, содержащееся в более подвижной трисахаридной зоне, после обработки боргидридом натрия удалось разделить на два компонента, близкие по хроматографи-

Свойства фракций ксилана из *Rhodymenia stenogona*

Фракция	Выход, %	$[\alpha]_D^{20}$ (с 0,3; 1 н. NaOH)	Соотношение связей 1→4 и 1→3	
			по данным метилирования	из спектров $^{13}\text{C}$ -ЯМР
А	29,1	-80,2	3,7:1	3,6:1
Б	2,3	-74,1		2,1:1
В	7,9	-93,7		4,0:1
Г	11,5	-90,3		4,3:1
Д	0,7	Полностью не растворяется	Только 1→4	Только 1→4

Таблица 2

Химические сдвиги сигналов в спектрах  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ксиланов из *Rhodymenia stenogona* и родственных соединений (в м. д. относительно TMS)

Вещество	C <sub>(1)</sub>	C <sub>(2)</sub>	C <sub>(3)</sub>	C <sub>(4)</sub>	C <sub>(5)</sub>	C <sub>(6)</sub>
Метил- $\alpha$ -D-ксилопиранозид [9]	100,6	72,3	74,3	70,4	62,0	
Метил- $\beta$ -D-ксилопиранозид [9]	105,1	74,0	76,9	70,4	66,3	
Метил- $\alpha$ -D-ксилофуранозид [10]	103,0	77,7	76,0	79,3	61,5	
Метил- $\beta$ -D-ксилофуранозид [10]	109,6	80,9	76,0	83,5	62,1	
$\beta$ -1→3-Глюкоп (ламинариин) [12],						
pH 7	103,8	74,4	85,5	69,3	76,8	61,9
pH 14	104,7	74,9	88,0	69,9	77,8	62,5
Метил- $\beta$ -целлобиозид (4-O-замещенное звено) [13]	104,5	74,2	76,4	80,3	75,9	61,8
Ксилан В из <i>Rhodymenia stenogona</i>						
3-O-замещенные остатки,						
pH 7	104,0	74,7	84,4	68,0	65,6	
pH 14	106,0	75,6	88,0	68,6	66,1	
4-O-замещенные остатки,						
pH 7	102,3	74,4 *	73,5 *	77,1	63,5	
pH 14	103,2	74,9 *	73,4 *	76,8	63,9	

\* Отнесение может быть обратным.

ческому поведению, которые подвергали метилированию и последующему гидролизу. Полученные метилированные моносахариды восстанавливали боргидридом натрия и ацетилировали. Исследование смесей ацетатов частично метилированных полиолов методом хромато-масс-спектрометрии [8] показало, что в одном случае смесь содержит 1,2,4,5-тетра-О-метил-3-О-ацетилксилит, 2,3,4-три-О-метил-1,5-ди-О-ацетилксилит и 2,3-ди-О-метил-1,4,5-три-О-ацетилксилит в равных количествах, а в другом — 1,2,3,5-тетра-О-метил-4-О-ацетил-, 2,3,4-три-О-метил-1,5-ди-О-ацетил- и 2,4-ди-О-метил-1,3,5-три-О-ацетилксилиты также в соотношении 1 : 1 : 1. Из этих результатов следует, что изученная зона состоит из двух трисахаридов, в каждом из которых есть 1 → 3- и 1 → 4-связи между остатками ксилопиранозы и которые различаются только расположением этих связей. Тем самым было доказано, что ксилан А не является смесью двух полисахаридов с различными типами связей, а содержит и  $\beta$ -1 → 3-, и  $\beta$ -1 → 4-связи в одной полимерной молекуле.

Химические данные о строении ксиланов были подтверждены изучением этих полисахаридов методом спектроскопии  $^{13}\text{C}$ -ЯМР. До настоящего времени этот метод не применялся для исследования ксиланов, однако спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР метил- $\alpha$ - и  $\beta$ -D-ксилопиранозидов [9] и -ксилофуранозидов [10] полностью интерпретированы. Анализ литературных данных показывает также, что химические сдвиги сигналов C<sub>(1)</sub> — C<sub>(4)</sub> в спектрах

ксилозидов и глюкозидов практически совпадают [11], а спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР различных глюканов уже изучены достаточно подробно; аналогично с этими спектрами мы использовали при расшифровке спектров  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ксиланов (табл. 2).

В спектре  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ксилана А были обнаружены две серии из пяти сигналов каждая, интегральные интенсивности которых находились в соотношении 3,6 : 1, что свидетельствовало о наличии в составе полисахарида двух типов звеньев. Этот вывод совпал с результатом, полученным при метилировании полисахарида. Сравнение спектров ксилана, снятых при различных рН, со спектрами  $^{13}\text{C}$ -ЯМР  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3-глюкана — ламинарина, полученными в аналогичных условиях [12], показало, что сигналы менее интенсивной серии относятся к 3-О-замещенным звеньям  $\beta$ -D-ксилопиранозы (табл. 2). Сигналы с большей интенсивностью принадлежат 4-О-замещенным остаткам  $\beta$ -D-ксилопиранозы; это следовало из близкой аналогии химических сдвигов этих сигналов и соответствующих сигналов в спектрах олигосахаридов, содержащих 4-О-замещенные остатки  $\beta$ -D-глюкопиранозы [13], а также из факта смещения в сильное поле сигнала  $\text{C}_{(5)}$  по сравнению с сигналом  $\text{C}_{(5)}$  3-О-замещенных звеньев полисахарида вследствие гликозилирования в положение 4 (так называемый  $\beta$ -эфф. эффект). Таким образом, спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР явились простым и надежным подтверждением наличия в ксилане А только  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4- и  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3-связей между моносахаридными остатками; соотношение этих двух типов связей следовало из соотношения интегральных интенсивностей указанных двух групп сигналов. Более того, спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР доказал отсутствие в полисахариде фуранозных форм ксилозы, а этот вывод, как известно, для 1  $\rightarrow$  4-связанных остатков моносахаридов принципиально не может быть сделан на основе результатов метилирования.

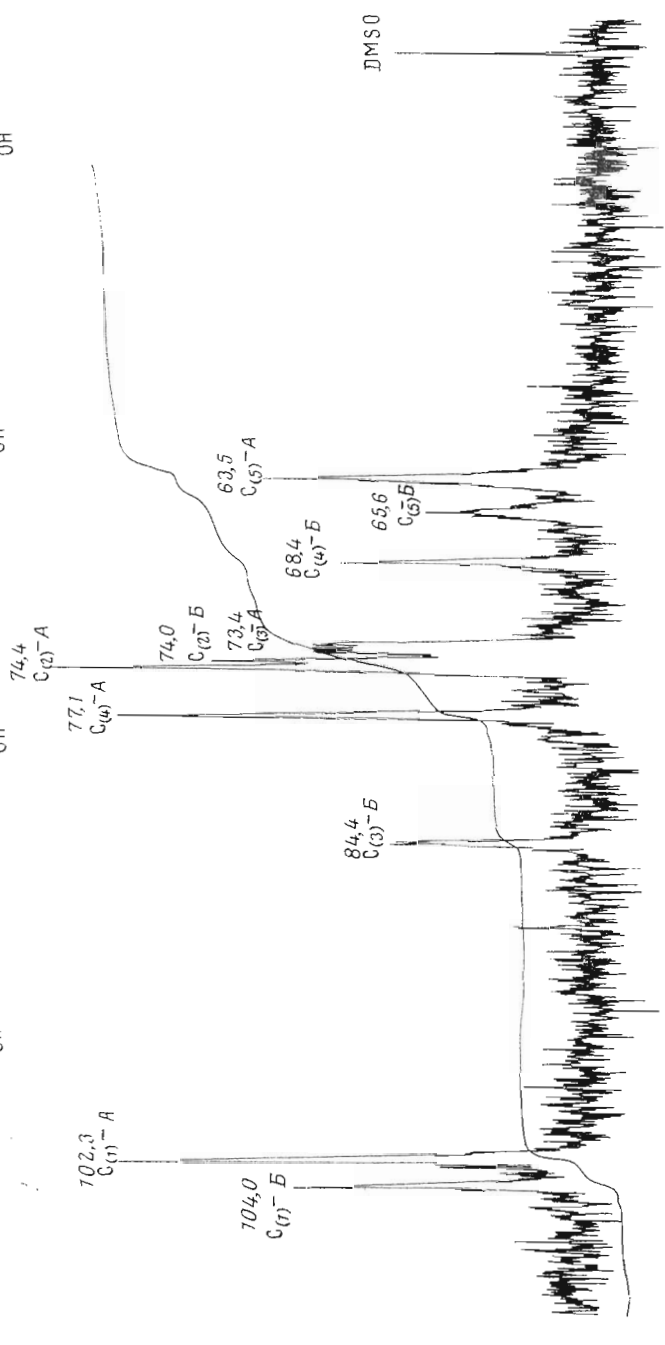
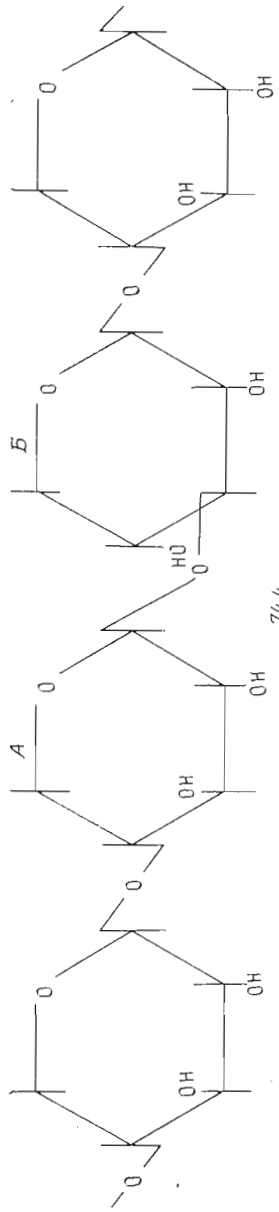
Располагая полностью расшифрованным спектром  $^{13}\text{C}$ -ЯМР одного из ксиланов, можно было получить данные о строении остальных полисахаридов. Оказалось, что спектры  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ксиланов Б (рисунок), В и Г сходны со спектром ксилана А и отличаются от него только соотношением интенсивностей групп сигналов, принадлежащих 4-О- и 3-О-замещенным остаткам  $\beta$ -D-ксилопиранозы (табл. 1). В спектре ксилана Д обнаружено только пять сигналов, соответствующих  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4-связанным остаткам D-ксилопиранозы, что полностью согласуется с данными метилирования этого полисахарида.

Проведенное исследование показало, что полисахаридный состав водоросли *Rhodymenia stenogona* напоминает состав *Rhodymenia palmata* [14]; главными полисахаридными компонентами водоросли являются родственные ксиланы, имеющие линейное строение с  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4- и  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3-связями между остатками D-ксилопиранозы, причем разные фракции различаются соотношением этих типов связей, а растворимость фракций в воде падает с уменьшением доли связей  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3.

О галактане из *Rhodymenia stenogona* имеются лишь предварительные сведения. Этот полисахарид содержит 10% сульфатных групп и практически равные количества D- и L-галактозы, что, вероятно, свидетельствует в пользу регулярного построения его углеводной цепи, как в случае полисахаридов группы агара [1]. От других полисахаридов группы агара этот галактан отличается почти полным отсутствием в своем составе остатков 3,6-ангидрогалактозы.

### Экспериментальная часть

БХ проводили нисходящим способом на бумаге Filtrak FN 11 (ГДР) в системах растворителей *n*-бутанол — пиридин — вода, 6 : 4 : 3 (1) и *n*-бутанол — этанол — вода, 5 : 1 : 4 (2); для препаративной БХ использовали систему 1. Зоны восстанавливающих сахаров обнаруживали кислым фталатом анилина, невосстанавливающих —  $\text{AgNO}_3$  и КОН после



Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ксилана Б из *Rhodymenia stenogona*, 3% в  $\text{D}_2\text{O}$ , рН 7 (50°, 21 400 накоплений)  
40 м.д. отн. TMS

периодатного окисления [15]. Для анализа моносахаридного состава методом БХ 1—5 мг олиго- или полисахарида нагревали 5 ч при 100° с 0,5 мл 2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, нейтрализовали BaCO<sub>3</sub>, фильтрат концентрировали и наносили на хроматограмму.

ГЖХ проводили на хроматографе Pye-104 (Англия) с пламенно-ионизационным детектором, колонка (0,6 × 120 см) с 3% полинеопентилгликольдиацината на диатомите С. Хромато-масс-спектрометрию выполняли на приборе Varian MAT 111 (ФРГ), колонка (0,3 × 120 см) с 3% SE-30 на варапасте. Спектры <sup>13</sup>C-ЯМР получали на спектрометре Bruker Physik WP-60 (ФРГ) для растворов полисахаридов в D<sub>2</sub>O при 50° (в ряде случаев в присутствии 1 н. NaOH); внутренний стандарт — DMSO, химические сдвиги даны в м. д. от TMS после пересчета по соотношению  $\delta_{TMS} = \delta_{DMSO} + 39,47$ , полученному в отдельном эксперименте. Оптическое вращение определяли на поляриметре Perkin-Elmer 141 (США).

Количественные определения сахаров выполняли по реакции с фенолом и конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [16], D-галактозы — с D-галактозодегидрогеназой из *Pseudomonas saccharophila* [17], 3,6-ангидрогалактозы — по реакции с резорцином и HCl [18], сульфата — турбидиметрически по методу Доджсона [19].

*Выделение полисахаридов.* Водоросль *Rhodymenia stenogona*, собранную в Японском море в районе пос. Каменка Приморского края в августе 1965 г., высушивали, затем измельчали, экстрагировали MeOH в аппарате Сокслета и снова высушивали на воздухе. Полученный материал (150 г) перемешивали 6 ч при 100° с 2 л воды, остаток водоросли отделяли и обрабатывали в тех же условиях еще 9 раз по 1 л воды. К объединенным водным экстрактам приливали 500 мл 10% водного раствора бромистого цетилтриметиламмония и диализовали. Осадок цетавлоновой соли сульфатированного галактана, выпадающий в процессе диализа, отделяли центрифугированием, супернатант концентрировали и приливали 4 объема спирта, осадок промывали спиртом, ацетоном, эфиром и высушивали в вакууме, получали фракцию водорастворимого ксилана А (выход 43,6 г). Цетавлоновую соль галактана суспендировали в 0,5 л 4 М NaCl, гомогенизировали 2 мин при 8000 об/мин в размельчителе тканей РТ-1, к гомогенату приливали 1 л спирта, осадок промывали спиртом, растворяли в 0,5 л воды, диализовали и лиофилизировали, получали Na-соль сульфатированного галактана (выход 14,3 г).

Остаток водоросли после водной экстракции перемешивали 3 дня при 20° с 1 л 0,2 М HCl, центрифугировали и экстракцию проводили еще 2 раза в тех же условиях. Объединенные экстракты нейтрализовали Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, концентрировали, небольшой осадок отбрасывали, а к раствору приливали 4 объема спирта, осадок отделяли и высушивали сменой растворителей, как описано выше; получали фракцию кислоторастворимого ксилана Б (выход 3,5 г).

Остаток водоросли перемешивали 3 дня при 20° с 1,5 л 1 н. NaOH, центрифугировали, обрабатывали в тех же условиях еще 2 раза по 1 л 1 н. NaOH, объединенные экстракты нейтрализовали AcOH, выпавший осадок отделяли и сушили сменой растворителей, получали фракцию В (выход 11,8 г). Нейтрализованный раствор концентрировали и приливали 4 объема спирта, получали фракцию Г (выход 17,3 г).

Остаток водоросли трижды экстрагировали в течение 6 ч при 100° порциями по 1 л 1 н. NaOH, экстракты объединяли, нейтрализовали AcOH, концентрировали и диализовали, выпавший при диализе осадок высушивали сменой растворителей, получали фракцию Д (выход 1,1 г). Раствор дополнительно концентрировали, фильтровали и приливали 4 объема спирта, получали фракцию Е (выход 1,5 г). Остаток водоросли отмывали водой до нейтральной реакции и высушивали сменой растворителей (выход 3,6 г).

*Характеристика сульфатированного галактана.* Na-соль галактана (общее содержание сахаров 58,5%, 3,6-ангидрогалактозы 1,3%, SO<sub>3</sub>Na

10%, N 0,6%) при полном гидролизе дала смесь сахаров, в которой, по данным ГЖХ (215°, в виде ацетатов альдононитрилов и ацетатов полиолов [20]), 70% составляет галактоза, по 10% — 6-О-метилгалактоза и ксилоза, а 10% приходится на неидентифицированные минорные компоненты. Из гидролизата с помощью препаративной БХ выделяли зону галактозы,  $[\alpha]_D^{20} - 4,25^\circ$  ( $c$  0,75; вода), что соответствует соотношению между *D*- и *L*-изомерами 1:1,15; такое же соотношение найдено при определении в полученном образце *D*-галактозы с *D*-галактозодегидрогеназой.

*Очистка водорастворимого ксилана А. а) Амиллиз.* К раствору 100 мг фракции А в 10 мл ацетатного буфера (рН 6) прибавляли 2 мг амилоглюкозидазы фирмы Koch-Light (Англия), инкубировали 4 ч при 40°, затем нагревали 5 мин при 100°, фильтровали и приливали 4 объема спирта, получали полисахаридный препарат (выход 80 мг), в гидролизате которого найдена ксилоза и следы галактозы, глюкоза отсутствовала. Водно-спиртовой супернатант концентрировали, обрабатывали катионитом КУ-2 (Н<sup>+</sup>-форма) и методом БХ обнаруживали глюкозу.

*б) Осаждение раствором Фелинга.* К раствору 500 мг фракции А в 20 мл воды прибавляли при перемешивании 5 мл раствора Фелинга, оставляли на ночь в холодильнике, осадок отделяли центрифугированием и тщательно промывали спиртом, содержащим 5% конц. HCl, после чего высушивали сменой растворителей, получали очищенный ксилан (выход 130 мг),  $[\alpha]_D^{20} - 96,5^\circ$  ( $c$  0,44; вода), дающий при гидролизе ксилозу со следами галактозы и глюкозы.

*в) Хроматография на DEAE-целлюлозе.* Фракцию А (250 мг) обрабатывали амилоглюкозидазой, как описано выше, и полученное вещество наносили на колонку (3 × 30 см) с DEAE-целлюлозой DE-52 (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-форма) фирмы Ватман (Англия). Колонку промывали водой, элюат лиофилизировали, получали ксилан (выход 180 мг),  $[\alpha]_D^{20} - 113,5^\circ$  ( $c$  0,34; 0,1 н. NaOH), дающий при гидролизе ксилозу и следы галактозы.

*Идентификация D-ксилозы.* Фракцию А (300 мг) нагревали 6 ч при 100° с 10 мл 2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, нейтрализовали BaCO<sub>3</sub>, фильтровали и упаривали, причем остаток закристаллизовывался. Кристаллы высушивали, получали *D*-ксилозу, т. пл. 144—145°,  $[\alpha]_D^{20} + 20,7^\circ$  ( $c$  2,0; вода); по данным работы [21]: т. пл. 145°,  $[\alpha]_D^{20} + 18,8^\circ$  (вода).

*Метилирование фракций ксилана А и Д.* К раствору 1 г фракции А в 10 мл 30% NaOH при перемешивании в токе азота приливали по каплям в течение 30 мин 16 мл Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и 32 мл 30% NaOH. Смесь нагревали до 50°, еще раз прибавляли такие же количества реагентов, перемешивали 3 ч при 50°, затем 1 ч при 100°, охлаждали, нейтрализовали CO<sub>2</sub>, фильтровали и несколько раз экстрагировали CHCl<sub>3</sub>. Экстракт промывали водой, упаривали, остаток растворяли в 30 мл абс. ТГФ, прибавляли 8 г порошкообразного NaOH и 8 мл Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, перемешивали 16 ч при 20°, приливали 50 мл воды, нагревали 1 ч при 100°, нейтрализовали CO<sub>2</sub> и экстрагировали CHCl<sub>3</sub>. Остаток после упаривания экстракта еще раз обрабатывали Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и NaOH в ТГФ, как описано выше, получали метилированный полисахарид А (выход 0,95 г), в гидролизате которого методом БХ обнаружены зоны с  $R_{ХУ}$  3,45; 2,79 и 2,56 (система 2), наиболее подвижная из которых совпадает с 2,3,4-три-О-метил-*D*-ксилозой, а две другие соответствуют ди-О-метилпроизводным ксилозы. Раствор 20 мг метилированного ксилана А в 10 мл 3% раствора HCl в абс. MeOH кипятят 16 ч, нейтрализовали PbCO<sub>3</sub>, фильтрат упаривали и в остатке методом ГЖХ (175°) обнаруживали метилгликозиды 2,3,4-три-, 2,3-ди- и 2,4-ди-О-метилксилозы, но не 3,4-ди-О-метилксилозы. Смесь гликозидов нагревали 4 ч при 100° с 10 мл 2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, нейтрализовали BaCO<sub>3</sub>, фильтровали и упаривали. Остаток растворяли в 5 мл MeOH, прибавляли 100 мг NaBH<sub>4</sub>, через 16 ч обрабатывали катионитом КУ-2 (Н<sup>+</sup>-форма) и упаривали несколько раз, прибавляя MeOH. К раствору остатка в 5 мл воды прибавляли 50 мг

$\text{NaIO}_4$ , выдерживали 43 ч в темноте, экстрагировали 3 раза 20 мл  $\text{CHCl}_3$ , экстракт промывали водой и упаривали. Остаток снова обрабатывали  $\text{NaNH}_4$ , ацетилировали и в полученной смеси веществ методом ГЖХ (175°) и хромато-масс-спектрометрически идентифицировали небольшое количество 2,3,4-три-О-метил-1,5-ди-О-ацетилксилита, а в качестве главных компонентов — 2,3-ди-О-метил-1,4-ди-О-ацетилтреит и 2,4-ди-О-метил-1,3,5-три-О-ацетилксилит в соотношении 3,7 : 1.

Фракцию Д подвергали метилированию и последующей обработке, как описано для фракции А. В смеси частично метилированных ацетатов полиолов обнаружили только 2,3-ди-О-метил-1,4-ди-О-ацетилтреит и небольшое количество 2,3,4-три-О-метил-1,5-ди-О-ацетилксилита.

*Частичный гидролиз фракции А.* Фракцию А (750 мг) обрабатывали амилоглюкозидазой, как описано выше; полученное вещество растворяли в 100 мл 0,05 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , нагревали 1,5 ч при 100°, нейтрализовали  $\text{BaCO}_3$  и фильтрат упаривали. В остатке методом БХ обнаружили ксилозу и олигосахариды с  $R_{\text{ХУ1}}$  0,9; 0,58; 0,43; 0,26; 0,17; 0,08 и 0,03 (система 1). Эту смесь разделяли препаративной БХ, получали родименабиозу (с небольшой примесью ксилозы),  $R_{\text{ХУ1}}$  0,9, выход 9 мг;  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4-ксилобиозу,  $R_{\text{ХУ1}}$  0,58, выход 30 мг,  $[\alpha]_D^{20} -22,6^\circ$  (с 0,2; вода), по данным работы [22]:  $[\alpha] -27^\circ$  (вода); «родименатриозу»,  $R_{\text{ХУ1}}$  0,43, выход 6 мг;  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4-ксилотриозу,  $R_{\text{ХУ1}}$  0,26, выход 20 мг,  $[\alpha]_D^{20} -31,8^\circ$  (с 0,2; вода), по данным работы [23]:  $[\alpha]_D -44^\circ$  (вода). Степень полимеризации олигосахаридов рассчитывали по данным определения ксилозы до и после восстановления  $\text{NaNH}_4$  по методу [24].

*Исследование зоны «родименатриозы».* Олигосахарид (5 мг) с  $R_{\text{ХУ1}}$  0,43 (система 1) растворяли в 5 мл воды, прибавляли 30 мг  $\text{NaNH}_4$  и оставляли на ночь при 5°. Раствор обрабатывали катионитом КУ-2 ( $\text{H}^+$ -форма) и несколько раз упаривали, прибавляя  $\text{MeOH}$ . Остаток, по данным БХ, состоял из двух веществ с  $R_{\text{ХУ1}}$  0,43 и 0,40 (система 1), не обнаруживаемых анилинфталатом. Эту смесь разделяли препаративной БХ, каждое вещество высушивали, растворяли в 3 мл сухого ДМФА, прибавляли при перемешивании 100 мг  $\text{NaN}$ , через 1 ч приливали 2 мл  $\text{MeI}$  и перемешивали еще 10 ч [25]. Затем медленно прибавляли 5 мл сухого  $\text{MeOH}$ , распределяли между 50 мл  $\text{CHCl}_3$  и 50 мл воды, органический слой отделяли и упаривали. Полученные продукты гидролизовали 4 ч при 100° 2 н.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , нейтрализовали  $\text{BaCO}_3$ , фильтровали, осадок несколько раз промывали  $\text{MeOH}$ , к растворам прибавляли по 30 мг  $\text{NaNH}_4$  и оставляли на ночь. Далее растворы обрабатывали катионитом КУ-2 ( $\text{H}^+$ -форма), несколько раз упаривали с  $\text{MeOH}$  и ацетилировали. Смеси полученных ацетатов частично метилированных полиолов анализировали методом хромато-масс-спектрометрии [8]. Для восстановленного олигосахарид с  $R_{\text{ХУ1}}$  0,40 идентифицировали в равных количествах 1,2,3,5-тетра-О-метил-4-О-ацетил-, 2,3,4-три-О-метил-1,5-ди-О-ацетил- и 2,4-ди-О-метил-1,3,5-три-О-ацетилксилит, а в случае вещества с  $R_{\text{ХУ1}}$  0,43 — 1,2,4,5-тетра-О-метил-3-О-ацетил-, 2,3,4-три-О-метил-1,5-ди-О-ацетил- и 2,3-ди-О-метил-1,4,5-три-О-ацетилксилит.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Percival E., McDowell R. H. (1967) Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides, Acad. Press, London — N. Y.
2. Усов А. И. (1974) Ж. общ. химии, 44, 191—196.
3. Barry V. C., Dillon T. (1940) Nature, 146, 620.
4. Howard B. H. (1957) Biochem. J., 67, 643—651.
5. Cerezo A. S., Lezerovich A., Labriola R., Rees D. A. (1971) Carbohydr. Res., 13, 289—296.
6. Nunn J. R., Parolis H., Russell I. (1973) Carbohydr. Res., 26, 169—180.
7. Херст Е. Л., Персиваль Е. (1967) в сб. Методы химии углеводов (под ред. Кочеткова Н. К.), с. 85—89, «Мир», М.



8. Björndal H., Hellerqvist C. G., Lindberg B., Svensson S. (1970) *Angew. Chem., Intern. Ed.*, **9**, 610—619.
9. Gorin P. A. J., Mazurek M. (1975) *Can. J. Chem.*, **53**, 1212—1223.
10. Gorin P. A. J., Mazurek M. (1976) *Carbohydr. Res.*, **48**, 171—186.
11. Шашков А. С., Чижов О. С. (1976) *Биоорг. химия*, **2**, 437—497.
12. Colson P., Jennings H. J., Smith I. C. P. (1974) *J. Amer. Chem. Soc.*, **96**, 8081—8087.
13. Usui T., Yamaoka N., Matsuda K., Tuzimura K., Sugiyama H., Seto S. (1973) *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 2425—2432.
14. Björndal H., Eriksson K. E., Garegg P. J., Lindberg B., Swan B. (1965) *Acta chem. scand.*, **19**, 2309—2315.
15. Усов А. И., Рехтер М. А. (1969) *Ж. общ. химии*, **39**, 912—913.
16. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A., Smith F. (1956) *Anal. Chem.*, **28**, 350—356.
17. Wallenfels K., Kurz G. (1962) *Biochem. Z.*, **335**, 559—572.
18. Yaphe W., Arsenault G. P. (1965) *Anal. Biochem.*, **13**, 143—148.
19. Dodgson K. S., Price R. C. (1962) *Biochem. J.*, **84**, 106—110.
20. Слозекер Дж. (1975) в сб. *Методы исследования углеводов* (под ред. Хорлина А. Я.), с. 22—25, «Мир», М.
21. Isbell H. S., Pigman W. (1937) *J. Res. Nat. Bur. Stand.*, **48**, 141—194.
22. Ball D. H., Jones J. K. N. (1958) *J. Chem. Soc.*, 33—36.
23. Whistler R. L., Tu C. C. (1952) *J. Amer. Chem. Soc.*, **74**, 3609—3612.
24. Takenishi S., Tsujisaka J. (1973) *Agr. Biol. Chem.*, **37**, 1385—1391.
25. Бримакомбе Д. С. (1975) в сб. *Методы исследования углеводов* (под ред. Хорлина А. Я.), с. 287—288, «Мир», М.

Поступила в редакцию  
13.VI.1977

**POLYSACCHARIDES OF ALGAE. XXII. POLYSACCHARIDE COMPOSITION  
OF *RHODYMENIA STENOGENA* PEREST. AND <sup>13</sup>C-NMR SPECTROSCOPY  
APPLICATION FOR ELUCIDATION OF XYLAN STRUCTURES**

USOV A. I., YAROTSKY S. V., SHASHKOV A. S., TISHCHENKO V. P.

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

A sulfated galactan and several xylan fractions were isolated from the red seaweed *Rhododymenia stenogona* Perest. The xylan structures were investigated by chemical methods and by <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy. The latter proved to be a valuable tool for characterizing linear xylans and may be an alternative to laborious chemical procedures. The xylans were shown to represent a family of related linear polysaccharides having  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4- and  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3 linkages] between *D*-xylopyranose residues. The fractions differ in the ratio of this two types of linkages, the solubility being decreased with diminishing of the proportion of 1  $\rightarrow$  3 linkages. The less soluble xylan contains only 1  $\rightarrow$  4 linkages between the monosaccharide residues.