



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 5 * № 3 * 1979

УДК 547.458.02 + 577.11

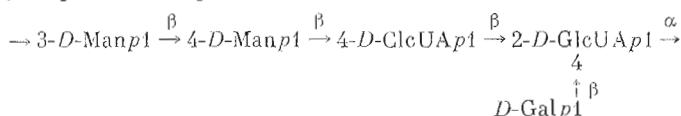
ПОЛИСАХАРИДЫ LIPOMYCES

8*. СТРОЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ
L. STARKEYI (1-Я ПОДГРУППА)

**Кочетков Н. К., Свиридов А. Ф., Шашков А. С., Горин С. Е.,
Джекия О. Д., Чижков О. С., Бабаева И. П.**

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

Методами химического анализа (гидролиз, метилирование, щелочной распад, окисление ангидридом хромовой кислоты) и спектроскопии ^{13}C -ЯМР установлено полное строение внеклеточного полисахарида *L. starkeyi* штамм 36. С помощью спектроскопии ^{13}C -ЯМР показана идентичность внеклеточных полисахаридов *L. starkeyi*, продуцируемых штаммами 36, 53, 62, 93, 130, 233, 402, 3618К и принадлежащих к 1-й подгруппе. На основании полученных данных повторяющемуся звену этих полисахаридов приписано строение:



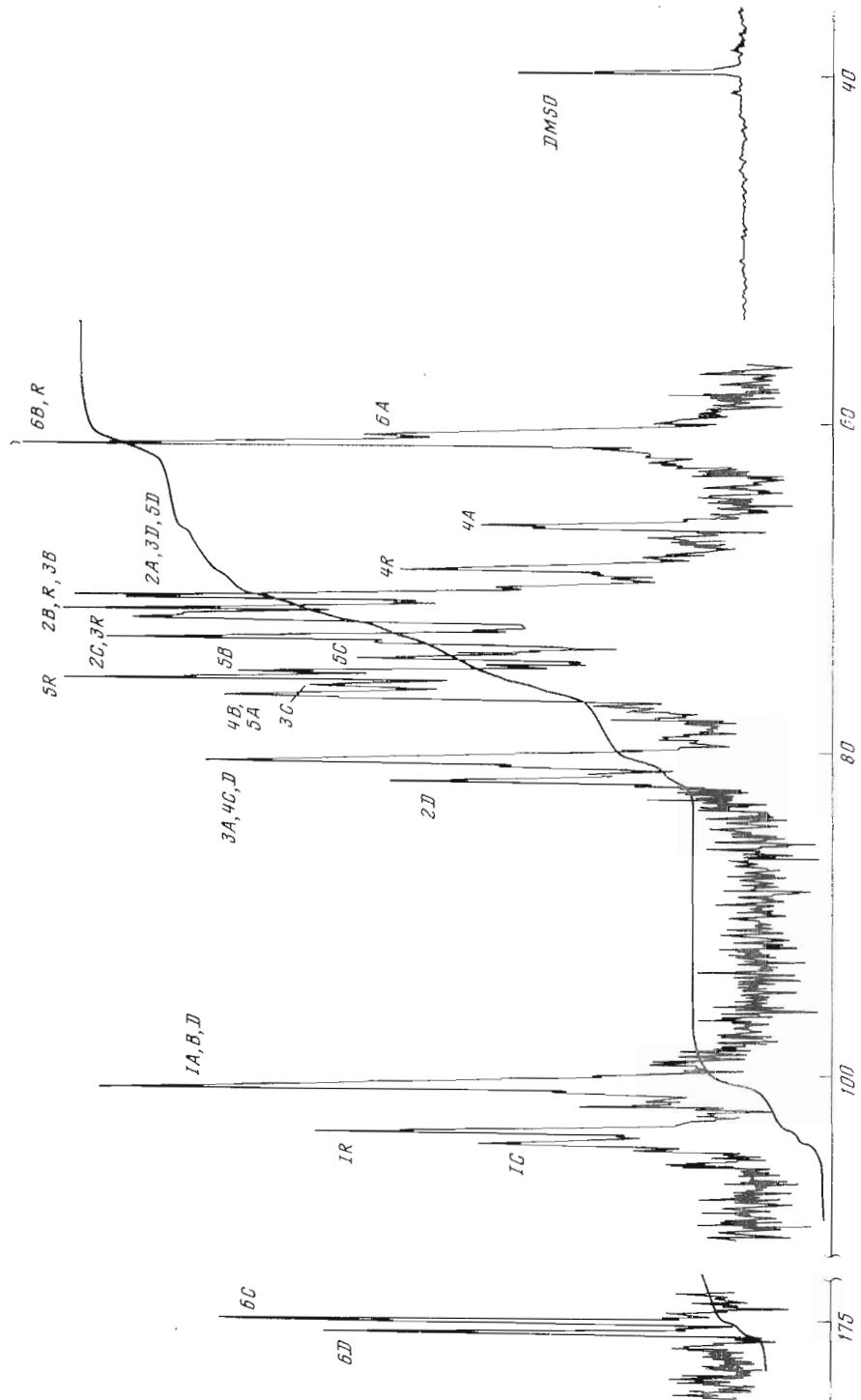
Внеклеточные полисахариды, продуцируемые различными штаммами почвенных дрожжей *L. starkeyi*, содержат *D*-глюкуроновую кислоту, *D*-маннозу и *D*-галактозу. По соотношению моносахаридов полисахариды этой группы липомицетов делятся на две подгруппы: 1 : 1 : 0,5 в 1-й и 1 : 1 : 1 во 2-й **. Данная работа посвящена установлению строения полисахаридов 1-й подгруппы химическими методами и с помощью ^{13}C -ЯМР-спектроскопии.

Первоначально были сняты спектры ^{13}C -ЯМР полисахаридов, продуцируемых 8 штаммами *L. starkeyi* 1-й подгруппы. Поскольку спектры этих полисахаридов мало отличались друг от друга, для дальнейших исследований был выбран один, продуцируемый штаммом 36 (полисахарид (I), см. рисунок).

Ранее нами было показано [1], что некоторые штаммы *L. tetrasporus* (шт. 421) продуцируют аналогичные по качественному и количественному составу полисахариды (полисахарид(II)). Различными методами для последнего полисахарида была установлена точная структура [1]. Сопоставление спектров ^{13}C -ЯМР полисахаридов (I) и (II) указывает на их большое сходство. Как и в случае полисахарида (II) [1], в повторяющемся звене полисахарида (I) входят два остатка *D*-маннозы, два остатка

* Сообщение 7 см. [1].

** Имеются полисахариды, где соотношение равно 1 : 1 : 1,5, что, вероятно, связано с некоторыми изменениями условий культивирования микроорганизмов [2].



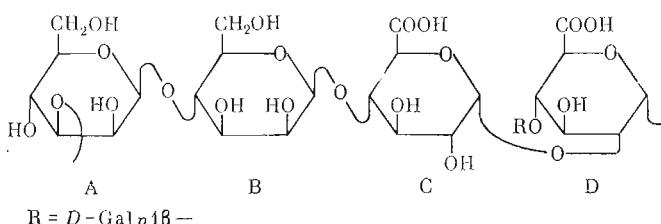
Спектр ^{13}C -НМР вакуумного полисахарида из *L. starkeyi* (I) (D_2O , $\text{pH} 9, 50^\circ$)

D-глюкуроновой кислоты и один *D*-галактозы, причем один остаток *D*-маннозы замещен в полисахариде (I) также в положение 3, другой — в положение 4. Наконец, конфигурации гликозидных связей в полисахаридах (I) и (II) идентичны.

Однако сопоставление интегральных интенсивностей линий спектров полисахаридов (I) и (II) выявляет некоторые различия в двух областях. Так, в спектре полисахарида (I) соотношение интегральных интенсивностей сигналов с химическим сдвигом 82,0 и 80,8 м. д. близко к 1 : 3, в спектре полисахарида (II) — 2 : 2, линии со сдвигом 72,0 и 70,8 м. д. в полисахариде (I) близко к 2 : 3, в (II) — 3 : 2. Таким образом, спектры ^{13}C -ЯМР полисахаридов (I) и (II) различаются положением резонанса двух атомов углерода, один из которых участвует в образовании гликозидной связи. Заметим, что изменение конфигурации хотя бы одного из гликозидных центров в повторяющемся звене образца (I) по сравнению с полисахаридом (II) вызвало бы более множественные изменения. Поэтому повторяющееся звено полисахарида (I) должно отличаться от повторяющегося звена в полисахариде (II) лишь положением одной гликозидной связи. Поскольку изменение касается линии с химическим сдвигом 82,0 м. д., которая отнесена при расшифровке спектра полисахарида (II) за счет резонанса атомов C2 и C3 в остатке D [1], можно предположить, что в (I) именно звено D отлично от аналогичного звена в полисахариде (II). Имея в виду, что остаток D в полисахариде (II) связан по атомам C1, C2, C3, в полисахариде (I) он должен быть связан по атомам C1, C2, C4. Полная идентичность спектров полисахаридов (I) и (II) в области аномерных атомов углерода позволяет предположить, что атом C4 в звене D связан гликозидной связью с остатком β -*D*-галактозы. Действительно, при обратном предположении (т. е. если с атомом C4 связан остаток β -*D*-глюкуроновой кислоты, а β -*D*-галактоза связана с C2) в спектре полисахарида (I) существенно изменился бы химический сдвиг линии C1 β -*D*-галактозы (ср., например, спектры α -софорозы и α -целлобиозы [3]). Между тем характерная узкая линия от атома C1 остатка R (103,3 м. д.) присутствует и в спектре полисахарида (I).

Исходя из этого предположения о характере замещения в звене D повторяющихся звеньев полисахаридов (I) и (II), легко объяснить и различия в их спектрах ^{13}C -ЯМР: участвующий в образовании гликозидной связи атом углерода (C4) остатка D в полисахариде (I) должен давать сигнал в более высоком поле по сравнению с атомом C3 в полисахариде (II) (ср., например, спектры α -ламинарибиозы и целлобиозы [3]); наоборот, несвязанный атом углерода C3 в полисахариде (I) должен проявляться в более низком поле, чем атом C4 в (II).

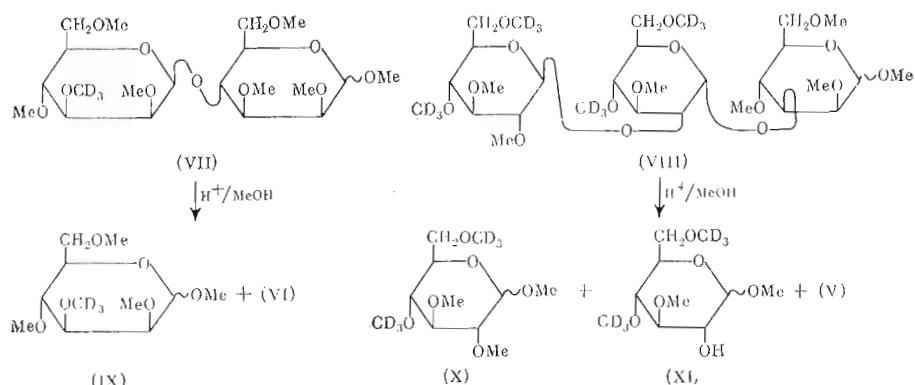
Таким образом, предварительный анализ спектров ^{13}C -ЯМР полисахаридов, продуцируемых 1-й подгруппой *L. starkeyi*, в сравнении со спектрами полисахаридов *L. tetrasporus* (II) позволяет предположить идентичность их повторяющихся звеньев, за исключением характера замещения в звене D полисахаридов:



Выводы, сделанные на основании сравнения спектров ^{13}C -ЯМР полисахаридов двух родственных видов, были подтверждены и дополнены химическими исследованиями.

При метилировании кислого полисахарида по методу Хакомори [4] после метанолиза в смеси были идентифицированы методом ГЖХ метил-2,3,4,6-тетра-O-метил-D-манно-(III) и -галактозиды (IV), метил-2,4,6- (V) и -2,3,6-три-O-метил-D-маннозиды (VI) в соотношении 1 : 7,5 : 6,6 : 8,0. Моносахариды (V) и (VI) были выделены препаративной ТСХ, метилированы $\text{CD}_3\ddot{\text{I}}$ [5], и их строение доказывалось методом хромато-масс-спектрометрии (ХМС) [6].

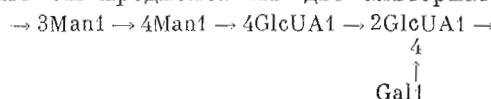
При частичном метанолизе метилированного полисахарида с последующим восстановлением LiAlH_4 и тридайтерометилированием [5] методом ХМС были идентифицированы олигосахариды (VII) и (VIII), которые дальше были выделены хроматографией на силикагеле. Их строение доказывалось по следующей схеме:



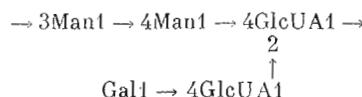
При метанолизе олигосахаридов (VII) и (VIII) методом ГЖХ и ХМС идентифицированы указанные на схеме моносахариды примерно в равных количествах. Идентификация соединений (IX) и (X) свидетельствует, что остатки 2,4,6-три-O-метил-D-маннозы и 2,3-ди-O-метил-D-глюкуроновой кислоты находятся на невосстанавливющем конце. Кроме того, в масс-спектре дисахарида (VII) в области высоких масс имеются три сигнала с m/e 282, 222, 219, которые (наряду с соотношением интенсивностей ионов с m/e 101 и 104, 88 и 91) указывают на положение CD₃-группы при С3 невосстанавливющего моносахаридного остатка [7].

Серия ионов в области высоких масс в масс-спектре трисахарида (VIII) позволяет надежно установить его структуру. Так, ионы с m/e 219 и 279 однозначно показывают, что на восстанавливющем конце олигосахарида (VIII) находится моносахарид, не содержащий CD₃-группы [7], т. е. моносахарид (V). Наличие в метанолизате соединения (VIII) глюкозида (X) и в его масс-спектре иона с m/e 225 говорит о том, что на невосстанавливющем конце находится моносахарид, содержащий две CD₃-группы, т. е. моносахарид (X). Таким образом, внутренним остатком в трисахариде (VIII) должен быть моносахарид (XI). Это подтверждается также наличием в масс-спектре трисахарида (VIII) ионов с m/e 492, 489, 435, 429, 403, 400, 397, 394, 365 и 362, которые содержат дисахаридные фрагменты как с восстанавливющим, так и с невосстанавливающим концами молекулы.

На основании выделения этих олигосахаридов, исходя только из химических данных для полисахарида, продуцируемого *L. starkeyi* (подгруппа 1), можно было бы предположить две альтернативные структуры:

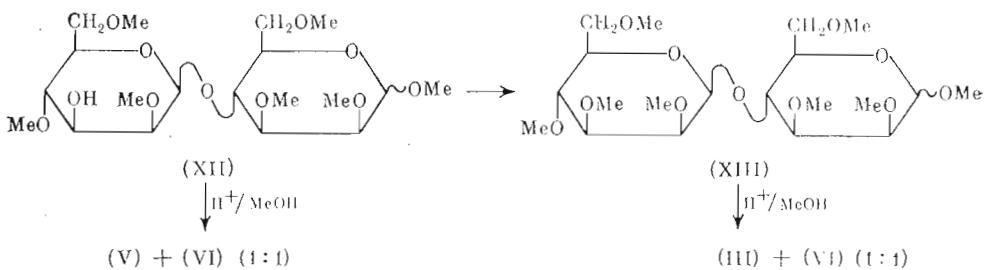


и



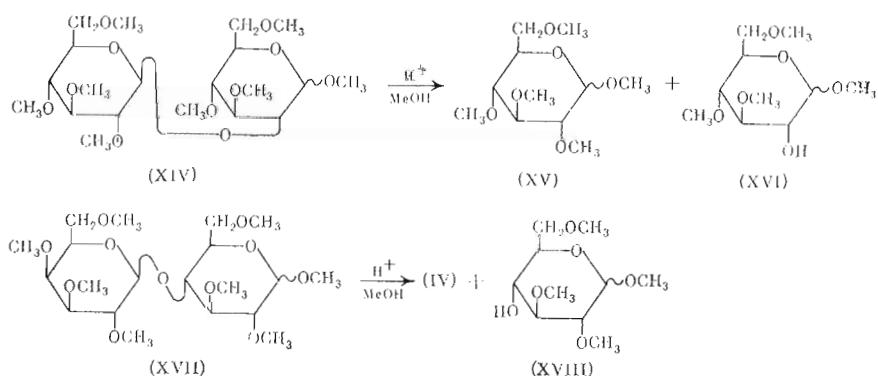
Однако на основании сравнения спектров ^{13}C -ЯМР полисахаридов (I) и (II) (см. выше) и исходя из точно установленной структуры полисахарида (II) [1] и родственного полисахарида *L. kononenkoae* (см. следующее сообщение), вторую структуру для повторяющегося звена следует отвергнуть. Таким образом, выделение олигосахаридов (VII) и (VIII) надежно устанавливает последовательности A → B и C → D → A в полисахариде (I).

Наличие последовательности A → B в полисахариде (I) следует также из анализа продуктов щелочного распада [8, 9] метилированного полисахарида. В качестве основного продукта реакции при этом был выделен маннобиозид (XII), строение которого вытекает из следующих превращений:



При метилировании дисахарида (XII) образуется маннобиозид (XIII). При метанолизе дисахаридов (XII) и (XIII) образуются соответствующие моносахариды: (V) и (VI) и (III) и (VI) в соотношении 1 : 1.

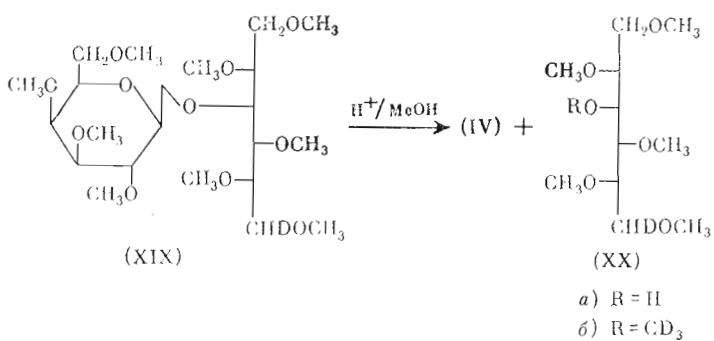
Последовательность звеньев C → D и R → D была доказана на основании окисления ацетата восстановленного полисахарида ангидридом хромовой кислоты по методу, описанному нами ранее [10]. При метилировании окисленной смеси CH_3I в DMSO [10] последующей колоночной хроматографией на силикагеле с выходом 20% * выделили дисахариды (XIV) и (XVII) в соотношении 1 : 1,5. Строение выделенных дисахаридов вытекало из следующих химических превращений:



При метанолизе дисахарида (XIV) образуются моносахариды (XV) и (XVI), дисахарида (XVII) — моносахариды (IV) и (XVIII) в соотношении 1 : 1, идентифицированные методом ГЖХ. Моносахариды (XVI) и (XVIII) были выделены методом ТСХ, и их строение было доказано путем тридейтерометилирования [5] с последующей ХМС [6].

* Выходы здесь и далее приведены по весу в расчете на теоретическое повторяющееся звено.

Восстановление продуктов окисления полисахарида NaBD_4 и последующее метилирование [10] приводят с выходом 30% к галактозилполиолу (XIX):



Метанолиз галактозилполиола (XIX) приводит к соединениям (IV) и (XXa) в соотношении 1 : 1. Последнее вещество было выделено препараторной ТСХ и после тридейтерометилирования методом ХМС было доказано его строение: время удерживания для этого соединения совпадает со временем удерживания полностью метилированного сорбита, а CD_3 -группа по данным масс-спектра находится при C_4 (XIX б). Включение в молекулу соединения (XIX) только одного атома дейтерия позволяет предположить, что галактозилполиол (XIX) мог образоваться из дисахарида (XVII) *.

Таким образом, последовательность моносахаридных остатков и типы связей между ними в полисахариде (I) следуют из надежно установленного строения частично метилированных моно- и олигосахаридов. β -D-конфигурация гликозидных связей остатков А и В следует из того, что в продуктах окисления ацетата восстановленного полисахарида (I) ангидридом хромовой кислоты нами не обнаружены фрагменты, содержащие эти моносахариды. В то же время установлено [11, 12], что α -D-маннозиранозиды в олигосахаридах в подобных условиях не окисляются.

Конфигурация остатка R следует из совпадения сигнала его атомов углерода (1—5) в полисахариде (I) с сигналами невосстанавливющегося остатка D-галактозы в лактозе и сопоставления со спектром полисахарида (II). Наконец, конфигурация остатков С и D следует из сопоставления спектров ^{13}C -ЯМР полисахаридов (I) и (II) и из того факта, что при жестком окислении полисахарида (II) сохраняется только дисахарид, соответствующий последовательности D → A.

Приведенные данные химического анализа полностью подтверждают строение полисахаридов, продуцируемых первой подгруппой *L. starkeyi*, выведенное на основании анализа спектров ^{13}C -ЯМР.

С установлением полного строения полисахаридов этой подгруппы появилась возможность более детального анализа спектра ^{13}C -ЯМР. Такой анализ, как уже отмечалось ранее [1], может иметь в дальнейшем существенное значение для определения структуры близких полисахаридов, продуцируемых другими видами липомицетов, с помощью спектроскопии ^{13}C -ЯМР.

С этой целью были сняты и интерпретированы спектры некоторых модельных соединений, имитирующих различные типы связей в повторяющемся звене полисахаридов (I). Так, лактоза является подходящей моделью для идентификации линий звена R в спектре полисахарида (I), метиловый эфир метил-2,4-ди-O-метил- α -D-глюкозиранозидуроновой кис-

* Причины сохранения олигосахаридов (XIV), (XVII) и (XIX) в условиях окисления ацетатов полисахаридов ангидридом хромовой кислоты обсуждались нами ранее [1].

Таблица 1

Химические сдвиги атомов углерода в спектрах ^{13}C -ЯМР соединений (XXI) и (XXII) и звеньев D в полисахаридах (I) и (II)

Атом углерода	Метиловый эфир метил-2,4-ди-О-метил- α -D-глюкопирано-зидуроновой кислоты (XXI) * [13]	Звено D в полисахариде (I) **	Метиловый эфир метил-2,3-ди-О-метил- α -D-глюкопиранозидуроновой кислоты (XXII) * [13]	Звено D в полисахариде (II) [1] **
1	97,6	100,5	98,2	100,5
2	81,2	82,0	81,0	82,1
3	72,8	70,8	82,0	82,9
4	81,2	80,8	71,8	72,1
5	69,9	70,8	70,85	70,8
6	170,2	175,9	170,8	176,5

* Раствор в CDCl_3 , внутренний эталон — TMS.

** Раствор в D_2O , внутренний эталон — DMSO, pH 7,0.

Таблица 2

Отнесение сигналов атомов углерода в спектре ^{13}C -ЯМР полисахарида (I) D_2O , pH 7,0; 50°, внутренний эталон — DMSO (химический сдвиг 39,45 м.д. от TMS), δ -шкала

Атом углерода	Остатки					Остаток D-галактопиранозы в лактозе *
	A	B	C	D	R	
1	100,5	100,5	103,9	100,5	103,2	103,6
2	70,8	72,1	73,3	82,0	71,6	71,6
3	80,8	72,1	76,4	70,8	73,3	73,2
4	66,4	76,85	80,8	80,8	69,25	69,2
5	76,85	75,5	74,6	70,8	75,9	75,9
6	61,05	61,55	175,3	175,9	61,55	61,5

* Сигналы атомов углерода остатка D-глюкозы в лактозе: 96,4 ($\text{C}1\beta$), 92,4 ($\text{C}1\alpha$), 79,4 и 79,3 ($\text{C}4\alpha, \beta$), 75,3 ($\text{C}5\beta$), 75,0 ($\text{C}3\beta$), 74,6 ($\text{C}2\beta$), 72,0 ($\text{C}5\alpha$), 71,8 ($\text{C}3\alpha$), 70,7 ($\text{C}2\alpha$), 60,9 ($\text{C}6\alpha, \beta$). Расшифровка спектра в соответствии с [14].

лоты (XXI) [13] — для звена D. Сопоставление спектров ^{13}C -ЯМР соединения (XXI) и метилового эфира метил-2,3-ди-О-метил- α -D-глюкопирано-зидуроновой кислоты (XXII) [11] позволяет надежно идентифицировать положение сигналов атомов углерода звена D в полисахаридах (I) и (II) (табл. 1, 2).

Отнесение остальных линий в спектре ^{13}C -ЯМР полисахарида (I) аналогично сделанному ранее для полисахарида (II) [1].

Экспериментальная часть

Исследованы полисахариды, продуцируемые 8 штаммами *L. starkeyi*, полученные из коллекции кафедры биологии почв МГУ (№ 36, 53, 62, 93, 130, 233, 402 и 3618 К). Масс-спектры снимали на приборе Varian MAT 111 gnom, спектры ^{13}C -ЯМР — на приборе WR-60 (Bruker) с рабочей частотой по углероду 15,08 МГц (импульсный режим с последующим фурье-преобразованием). Полисахариды исследовались в виде 3%-ных растворов в D_2O . Химический сдвиг DMSO (внутренний эталон) относительно TMS был определен в специальном эксперименте (39,45 м. д.), химические сдвиги всех линий пересчитаны к TMS (δ -шкала). Для стандартизации условий съемки спектров pH среды поддерживали на уровне 8—9 добавлением раствора NaOH, а при съемке в кислой среде эти растворы обрабатывали катионитом КУ-2 (H^+ -форма). Температура съемки 50°. Для получения нормального спектра в этих условиях оказалось достаточным накопление 25 000 — 50 000 сигналов свободной индукции.

Специальная проверка показала, что относительные интегральные интенсивности линий (включая сигнал карбоксильного атома углерода) не изменяются при варьировании интервала между 90-градусными импульсами от 0,5 до 2 с. Спектры сняты при интервале между импульсами, равном времени сбора данных (1,1 с) при масштабе 100 Гц/см.

ГЖХ-анализ проводили на приборе Varian-1700 на колонках с 5% НПГС, 3% SE-30, 3% ECNSS-3M на хромосорбе W.

Идентификация моносахаридов. Выделение и очистку внеклеточных полисахаридов *L. starkeyi* указанных выше штаммов из культуральной жидкости проводили аналогично [7] (выход внеклеточных полисахаридов составил в среднем 7—9% в пересчете на потребленную глюкозу). Полисахариды элюируются с колонки ($70 \times 1,5$ см) сефадекса G-100 холостым объемом, $[\alpha]_D^{20} + 19,3$ (с 1,2; вода).

Полисахарид (1 г) гидролизовали в 50 мл 2 н. H_2SO_4 (100° , 7 ч). Обработали раствор $BaCO_3$ до нейтральной реакции, отфильтровали и фильтрат упарили. Методом БХ в системе n -бутанол — пиридин — вода (6 : 4 : 3) на бумаге FN-11 в смеси идентифицировали маннозу, галактозу и глюкуроновую кислоту. Гидролизат делили на бумаге FN-18 в той же системе. Выделили 0,2 г маннозы, 0,08 г галактозы и 0,14 г глюкуроновой кислоты.

Фракцию, содержащую глюкуроновую кислоту, нагревали 4 ч в 5%-ном растворе HCl в метаноле при 100° (стандартные условия метанолиза). Нейтрализовали раствором аммиака и упарили досуха. Затем растворили в 15 мл воды, добавили 0,1 г $NaBH_4$. Через 12 ч смесь обработали КУ-2 (H^+) и упарили досуха, добавляя несколько раз метanol для удаления остатков борной кислоты. Полученный метилглюкозид гидролизовали. Из выделенных моносахаридов получили фенилглюказоны [15] маннозы, глюкозы — т. пл. 208° , $[\alpha]_D^{20} - 48^\circ$ (с 1,33, пиридин) и галактозы — т. пл. 187° , $[\alpha]_D^{20} + 20^\circ$ (с 0,85; пиридин). Приведенные данные указывают на принадлежность моносахаридов к D-ряду.

Восстановленный дибораном [16] полисахарид (0,05 г) гидролизовали в 5 мл 2 н. H_2SO_4 при 100° в течение 7 ч, восстанавливали $NaBH_4$ и ацетилировали уксусным ангиридом в пиридине. Методом ГЖХ идентифицировали гексаацетаты маннита, сорбита и дульцита в соотношении 1 : 1 : 0,5.

Определение типов связей. 0,2 г полисахарида метилировали по методу Хакомори [4]. Полученный метилированный полисахарид (0,18 г) сушили в вакууме над P_2O_5 при 40° .

0,05 г метилированного полисахарида подвергали метанолизу в стандартных условиях, нейтрализовали раствором аммиака, упарили, экстрагировали хлороформом. Методом ГЖХ в смеси идентифицировали моносахариды (III) — (VI) в соотношении 1 : 7,5 : 6,6 : 8,0. Моносахариды (V) и (VI) выделили препаративной ТСХ, метилировали CD_3I по методу Куна [5] и идентифицировали методом ХМС [6].

0,15 г метилированного полисахарида нагревали в 1%-ном растворе HCl в метаноле при 100° 1,5 г. После обработки (как описано выше) смесь восстанавливали $LiAlH_4$ в эфире (кипячение, 8 ч), метилировали CD_3I [5] и анализировали с помощью ХМС.

В смеси идентифицировали дисахарид (VII) и трисахарид (VIII). Хроматография на колонке с силикагелем получили 0,02 г дисахарида (VII) и 0,015 г — (VIII). Mass-спектр дисахарида (VII), m/e (I , % к m/e 282): 282 (100), 222 (70), 219 (58), 187 (90), 158 (12), 155 (16), 145 (20), 131 (23), 127 (35), 111 (30), 104 (47), 101 (53), 91 (70), 88 (60), 78 (16), 75 (42), 73 (25), 71 (30), 45 (37).

Mass-спектр трисахарида (VIII), m/e (I , % к m/e 193): 492 (11), 489 (9), 435 (2), 429 (3), 403 (18), 400 (20), 397 (16), 394 (18), 362 (8), 279 (30), 225 (35), 219 (40), 193 (100), 190 (53), 187 (15), 158 (23), 145 (74), 114 (60), 111 (75), 104 (36), 101 (48), 91 (45), 88 (83), 45 (67).

Метанолиз олигосахаридов (VII) и (VIII) в стандартных условиях приводит к моносахаридам (IX), (VI) и (X), (XI), (V) соответственно в равном соотношении, идентифицированным методом ГЖХ.

Окисление ацетата восстановленного полисахарида. Окисление ацетата восстановленного полисахарида ангидридом хромовой кислоты проводили аналогично описанному ранее [10].

а) Окисленную смесь (из 0,2 г ацетата полисахарида) метилировали по Хакомори. Смесь разделили на колонке с силикагелем. Получили 0,013 г дисахарида (XIV) и 0,017 г дисахарида (XVII). Метанолиз дисахаридов (XIV) и (XVII) привел к моносахаридам (XV), (XVI) и (IV), (XVIII) соответственно в соотношении 1 : 1. Моносахариды (XVI) и (XVIII) выделили препаративной ТСХ, метилировали CD_3I [5] и идентифицировали методом ХМС [6].

б) Окисленную смесь (из 0,1 г ацетата полисахарида) восстанавливали NaBD_4 в 50%-ном водном метаноле 10 ч. После обработки КУ-2 (H^+) и удаления борной кислоты упариванием с метанолом смесь метилировали по методу Хакомори [4] и делили на колонке с силикагелем. Получили 0,027 г соединения (XIX). Масс-спектр (XIX), m/e (I , % к m/e 101): 426 (0,7), 425 (0,4), 381 (2,4), 296 (14), 236 (47), 219 (16), 203 (2), 187 (42), 171 (17), 159 (6), 157 (10), 155 (11), 145 (12), 143 (14), 133 (13), 131 (8), 127 (23), 115 (41), 111 (42), 101 (100), 90 (57), 89 (82), 88 (95), 75 (60), 71 (62), 59 (85), 45 (90). Метанолиз галактозилполиола (XIX) в стандартных условиях привел к соединениям (IV) и (XXa) в соотношении 1 : 1. Полиол (XXa) выделили препаративной ТСХ и метилировали CD_3I [5]. По данным ХМС, CD_3 -группа находится при C4 и вещество соответствует полностью метилированному сорбиту.

Щелочной распад метилированного полисахарида [8]. Тщательно высущенный в вакууме над P_2O_5 при 50° метилированный полисахарид (0,4 г) растворили в смеси 40 мл метанола и 4 мл диметоксипропана, добавили 0,01 г *n*-толуолсульфокислоты и нагревали с обратным холодильником 30 мин при 50°. К охлажденному раствору добавили 0,5 г натрия небольшими порциями и нагревали при 50° 1 ч. Нейтрализовали смесь 50% уксусной кислотой, разбавили водой и экстрагировали хлороформом. Экстракт упарили. Вещество нагревали в 50 мл 20% уксусной кислоты при 100° 1 ч. Смесь упарили и разделили на колонке с силикагелем. Получили 0,05 г дисахарида (XII). Часть дисахарида метилировали [5] и получили дисахарид (XIII). Метанолиз дисахаридов (XII) и (XIII) привел к моносахаридам (V) и (VI) и (III) и (VI) соответственно в соотношении 1 : 1, идентифицированным методом ГЖХ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шашков А. С., Свиридов А. Ф., Горин С. Е., Джиккия О. Д., Чижов О. С., Гулльев Н., Кочетков Н. К. (1978) Биоорган. химия, 4, 752—759.
2. Горин С. Е., Свиридов А. Ф., Бабьева И. П. (1978) Микробиология, 47, 756—761.
3. Usui T., Yamaoka N., Matsuda K., Tsumura K., Sugiyama H., Seto S. (1973) J. Chem. Soc., Perkin Trans., I, 2425—2432.
4. Nakomori S. (1964) J. Biochem., 55, 205—208.
5. Kuhn R., Baer H. H., Seelinger A. (1958) J. Liebigs Ann. Chem., 611, 236—241.
6. Kochetkov N. K., Wulfson N. S., Chizhov O. S., Zolotarev B. M. (1963) Tetrahedron, 19, 2209—2224.
7. Кочетков Н. К., Горин С. Е., Свиридов А. Ф., Чижов О. С., Голубев В. И., Бабьева И. П., Поделько А. Я. (1972) Изв. АН СССР. Сер. хим., 2304—2310.
8. Lindberg B., Longren J., Svensson S. (1975) Advan. Carbohydr. Chem. and Biochem., 31, 185—240.
9. Aspinall G. O., Rosell K. G. (1977) Carbohydr. Res., 57, 23—26.
10. Кочетков Н. К., Чижов О. С., Свиридов А. Ф., Горин С. Е., Бабьева И. П. (1975) Изв. АН СССР. Сер. хим., 2774—2781.
11. Laine R. A., Renkonen O. (1975) J. Lipid Res., 16, 102—106.
12. Kochetkov N. K., Malyshova N. N., Torgov V. I., Klimov E. M. (1977) Carbohydr. Res., 54, 269—274.

13. Shashkov A. S., Sviridov A. F., Chizhov O. S., Kovač P. (1978) Carbohydr. Res., 62, 11–17.
 14. Voelter W., Bilik V., Breitmaier E. (1973) Coll. Czech. Chem. Commun., 38, 2054–2071.
 15. Методы химии углеводов (1967) пер. с англ. под ред. Н. К. Кочеткова, с. 77–79, «Мир», М.
 16. Manning I. H., Green I. N. (1967) J. Chem. Soc. (C), 2357–2363.

Поступила в редакцию
11.VIII.1978

POLYSACCHARIDES FROM LIPOMYCES. 8. THE STRUCTURE OF THE EXTRACELLULAR POLYSACCHARIDES FROM *LIPOMYCES STARKEYI*

KOCHETKOV N. K., SVIRIDOV A. F., SHASHKOV A. S., GORIN S. E.,
JIKIA O. D., CHIZHOV O. S., BAB'EVA I. P.

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

The total structure of the extracellular polysaccharide from the *L. starkeyi* st. 36 has been determined using chemical analysis and ^{13}C -NMR spectroscopy. The identity of extracellular polysaccharides produced by *L. starkeyi* st. 36, 53, 62, 93, 130, 233, 402, and 3618K, has been proved by ^{13}C -NMR spectroscopy. From the data obtained, the repeating unit of these polysaccharides has been ascribed the following structure:

