

УДК 582.273

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ КРАСНЫХ МОРСКИХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

А. И. Усов

Красные водоросли содержат в значительных количествах весьма своеобразные полисахариды — сульфатированные галактаны, которые нигде более в природе не встречаются. Вещества этого типа, такие, как агар, каррагинаны и другие, находят широкое практическое применение, основанное главным образом на их способности к гелеобразованию в водных растворах. В настоящее время выяснены структуры агарозы, порфирана, нескольких каррагинанов и ряда других полисахаридов, а также определена природа гелеобразования [1]. Накопленные данные о химическом строении были обобщены Рисом [14], предложившим так называемую гипотезу «замаскированной регулярной структуры» (табл. 1), которая заключается в следующем.

1. Молекулы полисахаридов линейны и содержат чередующиеся моносакхаридные остатки типов А и Б.

2. Остаток типа А всегда является производным D-галактозы, имеет  $\beta$ -конфигурацию и несет заместитель в положении 3; он может иметь дополнительно сульфатную группу при  $C_2$ ,  $C_4$  или *o*-метильную группу при  $C_6$ .

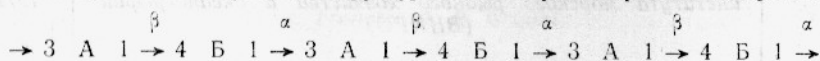
3. Остаток типа Б является производным D-галактозы в каррагинанах и L-галактозы в агарах; он имеет  $\alpha$ -конфигурацию и несет заместитель в положении 4. Часто является 3,6-ангидрогалактозой или ее 2-сульфатом; в противном случае может иметь сульфатную группу при  $C_6$  или две сульфатные группы при  $C_2$  и  $C_6$ .

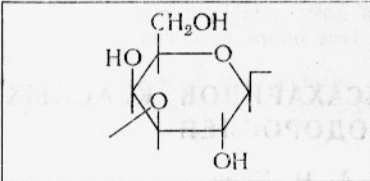
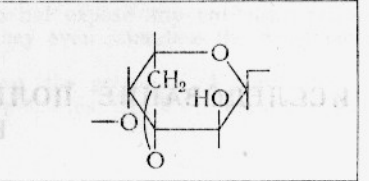
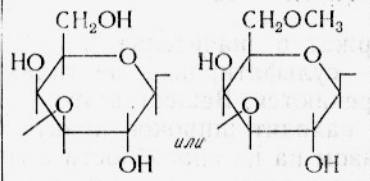
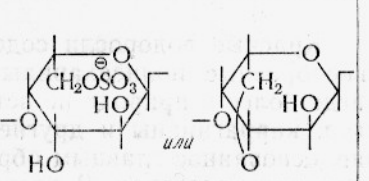
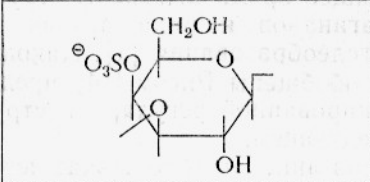
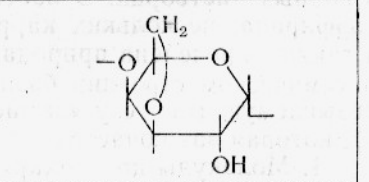
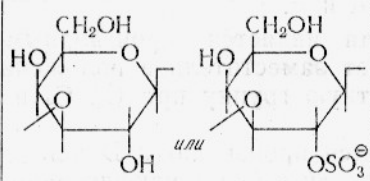
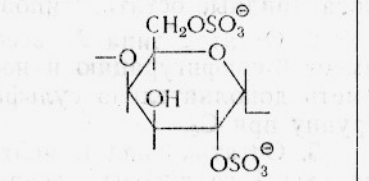
Согласно этой гипотезе существует надежное химическое различие между полисахаридами группы агара и полисахаридами группы каррагинана, заключающееся в абсолютной конфигурации остатков галактозы, представляющих собой звено Б.

Замаскированная повторяющаяся структура полисахаридов красных водорослей является результатом особенностей биосинтеза этих соединений, в процессе которого вначале образуется регулярная углеводная цепь, после чего с помощью соответствующих ферментных систем в полимер вводятся *o*-метильные и сульфатные группы; последние могут далее отщепляться с образованием 3,6-ангидроциклов. Поскольку химические модификации резко влияют на растворимость полисахаридов, на их способность к образованию гелей и к специфическому связыванию некоторых катионов, можно предполагать, что все эти важные свойства полисахаридов находятся в водорослях под метаболическим контролем.

Начало наших работ совпало с появлением гипотезы о «замаскированной регулярной структуре». Поскольку эта гипотеза была основа-

## Замаскированная регулярная структура полисахаридов красных водорослей



Полисахарид	А	Б
Агароза		
Порфиран		
α-Каррагинан		
λ-Каррагинан		

на на данных о строении всего нескольких полисахаридов, могло оказаться, что новые представители красных водорослей содержат полисахариды, которые отличаются от известных принципами построения или хотя бы способом модификации основного скелета. Мы проанализировали вначале более 20 видов красных водорослей Японского моря [3] по очень простой схеме, которая тем не менее позволила предварительно расклассифицировать их по химическим признакам и выбрать среди них объекты для более подробного исследования полисахаридов.

Водоросли экстрагировали горячей водой, и если водный экстракт давал гель при охлаждении, предполагалось, что в них содержится полисахарид типа агара; если же гель образовывался только при прибавлении хлористого калия — полисахарид типа каррагинана. Полисахариды из экстрактов осаждали спиртом (в случае каррагинанов выделяли отдельно осаждаемую KCl α-фракцию и неосаждаемую λ-фракцию), определяли выход и изучали моносахаридный состав после кислотного гидролиза методами хроматографии и электрофореза на бумаге.

В результате агароподобные полисахариды были обнаружены в *Odonthalia corymbifera* и *Rhodomela larix* (Ceramilales), каррагинаны —

в *Turnerella mertensiana*, *Chondrus pinnulatus*, *Ch. yendoi*, *Gigartina unalaskensis*, *G. ochotensis* (Gigartinales) и *Tichocarpus crinitus* (Cryptonemiales), а полисахариды остальных видов — *Nemalion vermiculare* (Nemalionales), *Grateloupia divaricata*, *G. turuturu* (Cryptonemiales), *Halosaccion firmum*, *H. glandiforme*, *Rhodomenia stenogona* (Rhodymeniales), *Ceramium* sp., *Ptilota filicina*, *Okamura pacifica*, *Polysiphonia morrowii*, *Odonthalia floccosa*, *Laurencia nipponica*, *Dasya* sp. (Ceramiales) — не принадлежали ни к агарам, ни к каррагинанам.

Среди этой последней группы полисахаридов некоторые вещества были очень необычны по моносахаридному составу. Например, при гидролизе полисахарида из *Nemalion vermiculare* образуется не галактоза, а манноза с примесью ксилозы, а при гидролизе полисахарида из представителей родимениевых — в основном ксилозы. Оба агароподобных: полисахарид из *Odonthalia corymbifera* (одонталан) с высоким содержанием 6-о-метил-D-галактозы [3], а полисахарид из *Rhodomela larix* с значительным содержанием 2-о-метил-3,6-ангидро-L-галактозы [7].

На основании предварительных данных для более подробного исследования были выбраны пять водорослей (табл. 2).

Таблица 2

Моносахаридный состав водорастворимых полисахаридов некоторых водорослей Японского моря

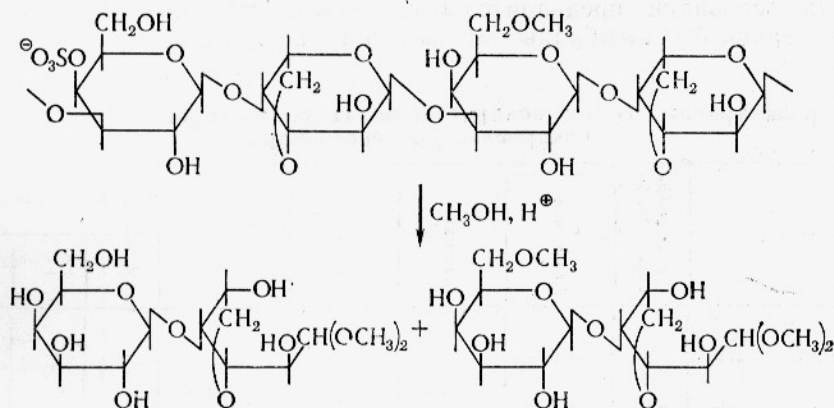
Водоросли	Выход полисахарида, %	Галактоза	Глюкоза	Манноза	Ксилоза	Моно-о-метил алактозы			
						2-	3-	4-	6-
<i>Nemalion vermiculare</i>	70	Следы	—	++++	+	—	—	—	—
<i>Tichocarpus crinitus</i>	×10 λ17	++++	—	—	Следы	—	—	Следы	Следы
<i>Okamura pacifica</i>	70	+++	++++	Следы	+	+	Следы	Следы	Следы
<i>Odonthalia corymbifera</i>	35	++	+	—	+	—	—	—	+++
<i>Rhodomela larix</i>	30	++++	+	+	+	—	—	—	+

Водоросли, из которых в настоящее время получают каррагинаны, относятся, как правило, к порядку Gigartinales. Поэтому представляло определенный интерес изучение каррагинанов *Tichocarpus crinitus* — представителя порядка Сгуртонемиевых. Из водного экстракта этой водоросли были выделены α- и λ-компоненты полисахаридной фракции, и их строение установлено как традиционными для каррагинанов методами (исследование фрагментов, получаемых из α-полисахарида при полным и частичном метанолизе [4], а из λ-полисахарида — при ацетоллизе [1]), так и с помощью некоторых новых приемов (периодатное окисление десульфатированного λ-полисахарида). В результате оказалось, что по структуре углеводной цепи выделенные полисахариды практически не отличаются от хорошо известных α- и λ-каррагинанов из *Chondrus crispus*, и следовательно, *Tichocarpus crinitus* наряду с видами *Chondrus* и *Gigartina* могут служить источником обычного каррагинана.

Принадлежность полисахаридов из *Odonthalia corymbifera* и *Rhodomela larix* к группе агара была доказана после определения абсолютной конфигурации входящих в их состав моносахаридов. Кроме того,

оба эти полисахарида расщепляются специфическим ферментом агаразой. Однако обе водоросли не содержат нейтральной, несulfатированной фракции — агарозы, наличие которой в обычном агаре определяет в основном его гелеобразующие свойства. В соответствии с этим оба полисахарида дают менее прочные гели, чем агар, и склонность к гелеобразованию сильно зависит от катионного состава раствора.

По структуре углеводных цепей одонталан напоминает порфиран [9], также содержащий значительные количества 6-*o*-метил-D-галактозы. При частичном метанолизе одонталана образуются диметилацетали двух дисахаридов — агаробиозы и 6-*o*-метилагаробиозы, которые и соответствуют повторяющимся звеньям молекулы полимера. Однако имеется существенное отличие одонталана от порфирана: если в порфиране сульфатные группы занимают положения 6 в моносахаридных остатках Б, то в одонталане они расположены при C<sub>4</sub> остатков А; такой способ сульфатирования характерен скорее для каррагинанов, чем для агароподобных полисахаридов [8].



Полисахарид из *Rhodomela larix* также дает два дисахарида при частичном метанолизе, которые отличаются тоже метильной группой, но расположена она не при C<sub>6</sub> остатка D-галактозы, как в одонталане, а при C<sub>2</sub> остатка 3,6-ангидро-L-галактозы [7]. Таким образом, агароподобные полисахариды церамиевых водорослей могут обладать интересными структурными особенностями по сравнению с «классическими» агарами, получаемыми, как правило, из водорослей порядка Gelidiales.

Весьма необычный полисахарид был обнаружен в *Okatungina pacifica*\*. Он обладает сложным моносахаридным составом (табл. 3). В результате изучения его строения было сделано два важных вывода: углеводная цепь этого полисахарида не линейна; ксилоза является составной частью полисахарида. Это было доказано выделением после частичного гидролиза и установлением строения трисахарида, изображенного в табл. 3 [2].

Очевидно, что присоединение единичных ксилозных остатков к галактановой цепи, наряду с *o*-метилированием, сульфатированием и образованием 3,6-ангидроциклов, является еще одним способом химической модификации полисахаридов, который осуществляется в красных водорослях. Параллельное протекание всех этих процессов в *Okatungina pacifica* и приводит к образованию разветвленного сульфатированного гетерополисахарида.

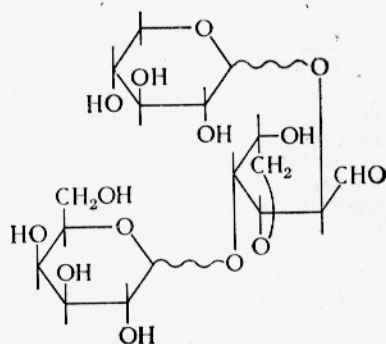
\* В работах по химической структуре этого полисахарида использовалось прежнее название водорослей *Laingia pacifica* Yamada.

Наиболее неожиданный результат был получен нами при анализе полисахаридного состава водоросли *Nemalion vermiculare*, из экстракта которой были выделены нейтральный ксилан и сульфатированный маннан [17]. Ксилан оказался линейным полисахаридом с  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4 и

Таблица 3

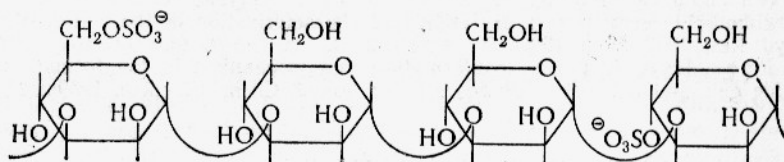
Состав полисахарида из *Okamura pacifica* (масса, %) и структура трисахарида, соответствующего точке разветвления его молекулы.

Галактоза	40
Ксилоза	7
2- <i>o</i> -Метилгалактоза	5
3- <i>o</i> -Метилгалактоза	
4- <i>o</i> -Метилгалактоза	4
6- <i>o</i> -Метилгалактоза	
2- <i>o</i> -Метил-3,6-ангидрогалактоза	6
3,6-Ангидрогалактоза	3
SO <sub>3</sub> Na	12



$\beta$ -1  $\rightarrow$  3-связями между остатками D-ксилопиранозы в соотношении около 4 : 1. Полисахариды сходного строения содержатся в *Rhodymenia palmata* [11], *Chaetangium fastigiatum* [12], *Ch. erinaceum* [13] и некоторых других красных водорослях [14].

Маннан представляет собой линейный полисахарид с  $\alpha$ -1  $\rightarrow$  3-связями между остатками D-маннопиранозы, причем каждый третий моносахарид имеет сульфатную группу при C<sub>4</sub> или C<sub>6</sub> [18]. Это первый случай обнаружения в природном источнике сульфатированного маннана.



Таким образом, проведенная работа позволила по-новому оценить, насколько разнообразными могут быть структуры полисахаридов, содержащихся в красных водорослях. Дальнейшее расширение этих исследований окажется, по-видимому, полезным для целей химической таксономии водорослей и отыскания новых полисахаридов с практически ценными свойствами.

### Выводы

1. Изучен полисахаридный состав более 20 видов красных водорослей Японского моря. Подробно исследованы структуры полисахаридов из *Tichocarpus crinitus*, *Odonthalia corymbifera*, *Rhodomela larix*, *Okamura pacifica*, *Nemalion vermiculare*.

2. Наряду с известными типами полисахаридов красные водоросли могут содержать полисахариды новой или необычной структуры. Примером является сульфатированный маннан из *Nemalion vermiculare* (полисахариды такого типа ранее в природе обнаружены не были).

3. Полученные данные позволяют значительно расширить существующие представления о структурном разнообразии полисахаридов красных морских водорослей.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кочетков Н. К., Усов А. И., Рехтер М. А. Полисахариды водорослей. VIII. Ацетоллиз  $\lambda$ -полисахарида из *Tichocarpus crinitus* (Gmel.) Rupr.—«Журнал общей химии», 1971, вып. 41, с. 1160—1165.
2. Полисахариды водорослей. XII. Частичный гидролиз полисахарида из *Laingia pacifica* Yamada.—«Журнал общей химии», 1973, вып. 43, с. 1832—1839. Авт.: Н. К. Кочетков, А. И. Усов, Л. И. Мирошникова, О. С. Чижов.
3. Усов А. И., Кочетков Н. К. Полисахариды водорослей. II. Полисахариды красной водоросли *Odonthalia corymbifera* (Gmel.) J. Ag. Выделение 6-о-метил-галактозы.—«Журнал общей химии», 1968, вып. 38, с. 234—238.
4. Усов А. И., Рехтер М. А., Кочетков Н. К. Полисахариды водорослей. VI. Изучение  $\lambda$ -полисахарида из *Tichocarpus crinitus* (Gmel.) —«Журнал общей химии», 1970, вып. 40, с. 2732—2737.
5. Усов А. И. Полисахариды водорослей. XIII. Моносахаридный состав полисахаридов некоторых красных водорослей Японского моря.—«Журнал общей химии», 1974, вып. 44, с. 191—196.
6. Полисахариды водорослей. XIV. Изучение структуры сульфатированного маннана из красной водоросли *Nemalion vermiculare* Sur. методом метилирования.—«Журнал общей химии», 1975, вып. 45, с. 916—921. Авт.: А. И. Усов, К. С. Адамьянц, С. В. Яроцкий, А. А. Аношина.
7. Усов А. И., Иванова Е. Г. Полисахариды водорослей. XIX. Частичный метанолит сульфатированных полисахаридов красной водоросли *Rhodomela larix* (Turn.) C. Ag.—«Биоорганическая химия», 1975, I, с. 665—671.
8. Усов А. И., Козлова Е. Г. Полисахариды водорослей. XX. Изучение одон-талана — сульфатированного полисахарида из красной водоросли *Odonthalia corymbifera* (Gmel.) J. Ag.—«Биоорганическая химия», 1975, I, с. 912—918.
9. Anderson, N. S., Rees, D. A. Porphyrin: a polysaccharide with a masked repeating structure. *J. Chem. Soc.* 1965, p. 5880—5887.
10. Anderson, N. S., Dolan, T. C. S., Rees, D. A. Evidence for a common structural pattern in the polysaccharide sulphates of the Phodophyceae. *Nature*. 1965, 205, p. 1060—1062.
11. Bjoerndal, H., Eriksson, K. E., Garegg, P. J., Limdborg, B., Swan, B. Studies on the xylan from the red seaweed *Rhodomenia palmata*. *Acta Chem. Scand.* 1965, p. 2309—2315.
12. Cerezo, A. S., Lezerovich, A., Labriola, R., Rees, D. A. A xylan from the red seaweed *Chaetangium fastigiatum*. *Carbohydr. Res.*, 19, 1971, p. 289—296.
13. Nunn, J. R., Parolis, H., Russell, I. Polysaccharides of the red alga *Chaetangium erinaceum*. Part I. Isolation and characterization of the watersoluble xylan. *Carbohydr. Res.*, 1973, 26, p. 169—180.
14. Rees, D. A. Structure, conformation and mechanism in the formation of polysaccharide gels and networks. *Advances in Carbohydr. Chem. Biochem.* 1969m 24, p. 267—315.

### Investigation of polysaccharides from marine red algae

A. I. Usov

#### SUMMARY

The analysis of 20 species of red algae from the Sea of Japan has revealed that polysaccharides from the agar group can be obtained from 2 species, polysaccharides from the carrageenan group can be taken from 6 species, the rest species contain new or unusual polysaccharides. It has been found that the structure of  $\lambda$ - and  $\alpha$ -fractions of sulphated galactan obtained from *Tichocarpus crinitus* does not practically differ from the corresponding carrageenans from *Chondrus crispus*. The peculiarity of agar-like polysaccharides from *Odonthalia corymbifera* and *Rhodomela larix* is the lack of the neutral fraction (agarose) and the very high contents of 6-о-methyl-galactose in the former and of 2-о-methyl-3,6-anhydrogalactose in the latter. A branchy structure of the molecula with the residue of xylopyranose joined the galactan main chain has been found in sulphated heteropolysaccharides from *Okamuraia* (*Laingia*) *pacifica*. Sulphated mannan has been isolated from *Nemalion vermiculare* for the first time.