

УСПЕХИ В ОБЛАСТИ СИНТЕЗА ПОЛИСАХАРИДОВ

Ю. Л. Погосов и З. А. Роговин

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	1215
II. Методы получения синтетических полисахаридов	1216
А. Синтез полисахаридов методом поликонденсации	1216
1. Поликонденсация в растворе	1217
2. Поликонденсация глюкозы в высоком вакууме	1220
3. Поликонденсация глюкозы в твердой фазе	1223
4. Поликонденсация в присутствии водоотнимающих средств	1223
5. Поликонденсация глюкозы в присутствии новых типов катализаторов — полимерных катионитов	1224
Б. Синтез полисахаридов превращением циклов в линейные полимеры	1224
III. Новые методы исследования синтетических полисахаридов	1227
IV. Основные области применения синтетических полисахаридов	1230

I. ВВЕДЕНИЕ

Синтез высокомолекулярных полисахаридов из различных моноз или низкомолекулярных полиоз — одна из наиболее сложных и перспективных проблем современной химии углеводов. Значительное внимание, которое уделяется этой проблеме, объясняется следующими причинами:

1. Стремлением синтезировать полисахариды, аналогичные по строению и свойствам важнейшим природным полисахаридам, в частности, целлюлозе и амилозе, имеющим связь между элементарными звеньями 1—4 α или β . Успешное решение этой задачи могло бы помочь выяснению ряда проблем, связанных с изучением строения и свойств этих важнейших природных высокомолекулярных соединений и их производных.

2. Возможностью синтеза новых синтетических материалов, обладающих ценными свойствами, обеспечивающими возможность их использования для различных целей, в частности, в медицине и биологии. Путем изменения молекулярного веса, химической структуры (например, типа связи между элементарными звеньями макромолекулы) и особенно степени разветвления синтетических полисахаридов можно в широких пределах изменять свойства этого нового класса синтетических полимеров и тем самым определить новые области их применения.

3. Моделированием ряда сложных биологических систем, в частности, для исследования физико-химических и биологических свойств мукополисахаридов (гепарина, хондроитина и др.) с целью более детального изучения сложных биологических и биохимических процессов.

Несмотря на то, что работы по синтезу полисахаридов (так называемый процесс «реверсии») проводились, начиная с 70-х годов XIX века, наиболее существенные результаты в этой области были достигнуты только в последние годы.

Путем использования основных методов и закономерностей современной синтетической химии полимеров, в частности, реакции поликон-

денсации и превращения циклических соединений в линейные полимеры, удалось получить высокомолекулярные полисахариды с молекулярным весом от нескольких тысяч до 1 млн. Большие успехи достигнуты в исследовании свойств этих полисахаридов и их производных, являющихся типичными полиэлектролитами, при использовании современных физико-химических и физических методов исследования высокомолекулярных соединений.

Следует отметить, что задача получения синтетических аналогов целлюлозы и амилозы, имеющих линейную стереорегулярную структуру, в макромолекулах которых имеется только один тип ацетальной связи (α - или β -1—4), до настоящего времени не решена. Использование в реакции гомополиконденсации в качестве исходного мономера моноз, содержащих 4—5 реакционноспособных функциональных групп, естественно, не дает возможности выполнить это требование. Решение этой большой и заманчивой задачи требует использования других методов и применения в качестве исходных мономеров бифункциональных соединений.

Систематические исследования в этом направлении только начинаются как в Советском Союзе, так и за рубежом. Однако, по нашему мнению, результаты, достигнутые уже сейчас в этой новой и сложной области синтетической химии полимеров, представляют значительный интерес. Поэтому мы считаем целесообразным в данной статье вкратце осветить современное состояние этой проблемы.

II. МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДОВ

Как уже указывалось, для синтеза полисахаридов могут быть использованы два метода современной синтетической химии полимеров — реакция поликонденсации и реакция превращения циклов в линейные полимеры.

А. СИНТЕЗ ПОЛИСАХАРИДОВ МЕТОДОМ ПОЛИКОНДЕНСАЦИИ

Из различных методов, применяемых при осуществлении реакции поликонденсации, для синтеза полисахаридов может быть использована только реакция гомополиконденсации, так как каждая из моноз, используемых для этой реакции, содержит два типа реакционно-способных функциональных групп: гидроксильные группы и альдегидную группу в полуацетальной форме.

При взаимодействии этих функциональных групп образуется ацетальная связь между элементарными звеньями макромолекулы полимера. В зависимости от положения в молекуле монозы гидроксильной группы, принимающей участие в реакции конденсации, могут образоваться различные типы ацетальных связей между элементарными звеньями (1—1; 1—2; 1—3; 1—4; 1—6).

Образование полисахаридов в результате поликонденсации моноз осуществляется не только (как это имеет место для других полимеров) в безводной среде при непрерывном удалении воды, выделяющейся в процессе реакции, но и в водных средах в присутствии кислых катализаторов, как например, в процессе гидролиза полисахаридсодержащего сырья. В отличие от других процессов гомополиконденсации, например, синтеза полиамидов, которые протекают в отсутствие катализатора, основным фактором, регулирующим скорость процесса и молекулярный вес, является только температура, синтез полисахаридов путем поликонденсации всегда осуществляется в присутствии кислых катализаторов.

1. Поликонденсация в растворах

а. *Поликонденсация моноз в водных растворах в присутствии кислот катализаторов* известна давно. Еще в 70-х годах прошлого столетия было отмечено, что глюкоза вступает в реакцию поликонденсации с образованием высокомолекулярных полисахаридов Мускулус¹ в 1872 г. описал декстриноподобные продукты, образовавшиеся при действии концентрированных минеральных кислот на глюкозу. Аналогичные результаты получены и другими исследователями²⁻⁵. Несколько позже Толленс⁶ (стр. 10) показал, что в 20% водных растворах глюкозы в присутствии соляной кислоты происходит процесс поликонденсации (реверсии). К этому же периоду относятся работы Воля⁷ и Оста⁸ (стр. 11). Авторы, исследуя состав продуктов поликонденсации, получающихся при действии концентрированной соляной кислоты на 25%-ный водный раствор глюкозы, выделили продукт, названный ими «глюкозином» с $[\alpha]_D^{+122}$ и восстановительной способностью в 7—9 раз меньшей чем у глюкозы. Этот продукт при гидролизе разбавленной кислотой количественно превращался в глюкозу, однако энзиматическим путем гидролизовать его не удалось.

Интересные исследования в этот же период были предприняты Э. Фишером⁸ по изучению строения продуктов поликонденсации глюкозы, образующихся в присутствии соляной кислоты. Вильштеттер и Цехмейстер⁹ исследовали реверсию глюкозы в растворах соляной кислоты методом определения изменения удельного вращения. Силин и Сапегина¹⁰ исследовали поликонденсацию моноз в присутствии разбавленных кислот. Эти работы имели большое практическое значение для разработки метода осахаривания крахмало-паточной промышленности. В последние годы в этом же направлении исследования проводил Смирнов¹¹. Шарков и Липранди⁶ (стр. 12) изучали действие 80%-ной серной кислоты на глюкозу, определяя изменение восстановительной способности глюкозы во времени. Позже Шарков и Сартания⁶ (стр. 13—15) изучили действие 80%-ной серной кислоты на глюкозу, галактозу, маннозу, фруктозу и ксилозу. Продукты поликонденсации обладали восстановительной способностью в 6—7 раз меньшую, чем у исходных моноз. Ими было показано, что чем выше концентрация монозы в растворе, тем быстрее протекает процесс и тем выше степень поликонденсации монозы. При проведении реакции в водно-спиртовой среде степень поликонденсации получаемых полиозов значительно выше, чем в тех же условиях в водной среде. К аналогичным выводам пришли Шарков и Смирнова¹², изучавшие поликонденсацию глюкозы в присутствии концентрированной серной кислоты.

Одинцов и Преображенский^{13, 14} также провели исследование процесса поликонденсации глюкозы в растворах концентрированной серной кислоты и в основном подтвердили выводы Шаркова и сотрудников, дополнительно установив, что продукты поликонденсации более устойчивы к действию повышенных температур в присутствии концентрированной кислоты, чем сама глюкоза. Среднее значение степени полимеризации продуктов поликонденсации глюкозы в серной кислоте, определенное по методу конечных групп, составило 4—5.

Кинетику поликонденсации глюкозы в присутствии хлористого водорода различной концентрации детально изучал Фрам^{16, 17}. Он показал равновесный характер этой реакции, сделал попытку определить полидисперсность продуктов реакции, исследовал строение образующихся полисахаридов. Фрам осуществил поликонденсацию метилзамещенных глюкоз с целью выяснения реакционной способности в реакции поликонденсации различных гидроксильных групп в молекуле глюкозы. Фракционирование продуктов реакции проводилось путем перегонки в высоком вакууме метилированных продуктов реакции. На основании

проведенных исследований установлено, что в реакции поликонденсации глюкозы преимущественно участвует первичная спиртовая группа у шестого углеродного атома молекулы глюкозы.

Погосов и Роговин^{17, 18} исследовали поликонденсацию глюкозы в растворах фтористого водорода. Ими было показано, что при концентрации фтористого водорода ниже 75% этот процесс при нормальной температуре протекает медленно, и получающиеся сахара имеют среднее значение степени полимеризации, определенное методом йодных чисел, ниже 2. Более интенсивно протекает поликонденсация при концентрации фтористого водорода в растворе 80% и выше. В этих растворах получен полисахарид, имеющий среднее значение степени полимеризации 10—12 (определено по методу конечных групп).

Недавно Риккетс¹⁹ исследовал поликонденсацию глюкозы в сосуде, содержащем концентрированную соляную кислоту с небольшим количеством концентрированной серной кислоты. Всю эту смесь оставляли при комнатной температуре на 7 дней, в результате получался сиропообразный продукт, который после очистки и диализа имел среднее значение степени полимеризации 20, и значение $[\alpha] + 106^\circ$. При полном гидролизе этого продукта образовалась только глюкоза; после частичного гидролиза хроматографическим путем выделена изомальтоза, методом периодатного окисления установлено наличие в этом продукте до 70% 1—6-а-ацетальной связи. Исследование продуктов поликонденсации глюкозы в присутствии водных растворов кислот было проведено Хурдом и Кантором²⁰, Фетцер²¹. Монтгомери и другие^{22, 23} путем метилирования и последующей молекулярной дистилляции метилглюкозы выделили 40% моноз, 28% биоз и 4% триоз. Миллер²⁴ из этой смеси биоз после ацетилирования выделил гентиобиозу в виде ацетата. Однако кроме гентиобиозы он нашел также дисахарид неизвестного строения, который не сбраживался дрожжами. Позже Колеман²⁵ показал, что этот дисахарид имеет строение гентиобиозы с α -глюкозидной связью (изомальтоза).

Энергия активации процесса образования ацетальной связи, вычисленная Мельвин-Хьюзом²⁶, составляла 33 500 кал. Так как эта величина значительно выше энергии разрыва ацетальной связи (28 000 кал), т. е. следовательно, скорость процесса поликонденсации с повышением температуры возрастает быстрее, чем скорость гидролиза.

В последние годы были изучены процессы поликонденсации различных углеводов в водных растворах в присутствии кислых катализаторов. Для анализа продуктов применялись методы хроматографии. Так, Бишоп²⁷ изучал поликонденсацию ксилозы в растворе соляной кислоты. Получен полимер ксилозы со степенью полимеризации 10. Аналогичные результаты получили Белл и Джонс²⁸, также исследовавшие поликонденсацию ксилозы. Хоу и Придгам²⁹ изучали поликонденсацию арабинозы.

Джонс и Никольсен³⁰ исследовали состав продуктов, образующихся при поликонденсации *l*-арабинозы и *d*-маннозы в растворе 6 *N* HCl при продолжительности реакции 96—168 часов.

Путем хроматографического разделения продуктов реакции на заполненной целлюлозной колонке и затем бумажной хроматографии отдельных фракций, им удалось показать, что в продуктах поликонденсации преобладают дисахариды с различным положением ацетальной связи между монозами.

Тауфель и другие^{31, 32} изучали поликонденсацию *d*-глюкозы, *d*-ксилозы, *d*-галактозы, *d*-арабинозы, лактозы, мальтозы и целлобиозы в растворе уксусной кислоты в присутствии небольших количеств соляной кислоты.

Методом бумажной хроматографии продуктов поликонденсации наряду с биозами были обнаружены и олигосахариды. Подробно строение этих продуктов не изучено.

Пит и другие²³ методом бумажной хроматографии исследовали состав продуктов поликонденсации глюкозы, образующихся в присутствии 0,33 *N* серной кислоты и в растворе 90% муравьиной кислоты. В продуктах реакции преобладали дисахариды различного строения, а также левоглюкозан, который образовался в результате интрамолекулярной реакции глюкозы. Михеель и Грессес³⁴ исследовали процесс поликонденсации глюкозы в растворе диметилсульфоксида в присутствии хлористого водорода при комнатной температуре. В результате бумажной хроматографии продуктов обнаружены гентиобиоза, мальтоза, изомальтоза, целлобиоза, олигосахариды и полисахариды. Полисахариды не растворялись в метаноле. Строение указанных олиго- и полисахаридов не изучалось.

Путем применения адсорбционной хроматографии (на угольно-цеолитовых колонках) Томпсону с сотрудниками³⁵ удалось из продуктов поликонденсации глюкозы в 0,082 *N* растворе соляной кислоты выделить следующие биозы: изомальтозу, гентиобиозу, мальтозу, целлобиозу, нигерозу, софрону и $\beta\beta$ -трегалозу, а также ангидромонозу (левоглюкозан).

Анализируя данные работ^{33, 35} по количественному анализу биозной фракции продуктов поликонденсации глюкозы можно установить, что преобладают дисахариды, образованные путем конденсации первичного гидроксила у шестого углеродного атома с альдегидной группой второй молекулы монозы. Этот факт объясняется большей реакционной способностью первичных гидроксильных групп в кислой среде, в частности при образовании ацетальной связи³⁶.

Из приведенных данных видно, что при осуществлении процесса поликонденсации в водных растворах не удалось получить достаточно высокомолекулярные продукты. Среднее значение степени полимеризации продуктов поликонденсации не превышало 15—20. Такие результаты являются вполне естественными, если учесть, что реакция поликонденсации обратима, и в водной среде равновесие смещается в сторону гидролиза образовавшихся высокомолекулярных синтетических полисахаридов.

6. *Поликонденсация глюкозы в присутствии безводных кислых катализаторов* для смещения равновесия реакции в сторону образования высокомолекулярных полисахаридов проведена в ряде исследований. Впервые Шлюбах и Люэрс³⁷ показали, что жидкий хлористый водород при нормальной температуре является активным катализатором реакции поликонденсации сахаров. В этих условиях из глюкозы образуются полиглюкозаны, которые затем при гидролизе могут быть снова превращены в глюкозу, что указывает на наличие только ацетальной связи между элементарными звеньями в полученном синтетическом полисахариде. Из фруктозы были получены продукты поликонденсации, так называемые, полифруктозаны³⁸, которые детально не были исследованы. Гельферих и сотрудники³⁹⁻⁴¹ изучали действие безводного фтористого водорода на глюкозу и триметилглюкозу, однако продукты поликонденсации им не удалось идентифицировать. Фреденхаген и Каденбах⁴², изучая действие безводного фтористого водорода на целлюлозу, получили полисахарид, образовавшийся в результате поликонденсации продуктов гидролиза (так называемый целлан). Целлан слабо восстанавливал фелингову жидкость и не расщеплялся энзимами. Применение метода метилирования с целью определения строения продуктов поликонденсации не привело к положительным результатам. Аналогичные данные были получены Шарковым с сотрудниками (6, стр. 20), изучавшими действие фтористого водорода на целлюлозу.

Недавно Роговин и Погосов^{18, 36} методом фракционного осаждения продуктов поликонденсации глюкозы в присутствии фтористого водо-

рода получили ряд фракций, отличающихся по молекулярному весу и по удельному вращению. Ими было исследовано строение биозной фракции и показано, что эти биозы содержали преимущественно 1-6- α -ацетальные связи.

Во всех случаях среднее значение степени полимеризации продуктов поликонденсации не превышало 25, хотя можно было ожидать, что при проведении реакции поликонденсации в присутствии безводных кислот, получаемые полисахариды должны были иметь более высокий молекулярный вес. Однако, как видно из приведенных данных, указанным методам получить высокомолекулярные продукты не представляется возможным, так как не осуществлялся непрерывный отвод выделяющейся воды из сферы реакции.

В. *Новые методы синтеза полисахаридов реакцией поликонденсации* были предложены в последние годы. Некоторые из этих методов, как например, проведение реакции в твердой фазе, представляют более общий интерес для синтетической химии полимеров вообще.

Проведение реакции поликонденсации при повышенной температуре и непрерывном отводе воды в высоком вакууме впервые обеспечило возможность получения синтетических полисахаридов с молекулярным весом от 50 тысяч до 1 млн. Следует отметить, что осуществление синтеза полисахаридов в этих условиях даст возможность получения полимеров значительно более высокого молекулярного веса, чем это возможно при синтезе этими же методами других классов синтетических полимеров (например, полиамидов, полиэфиров и т. д.).

Новые методы синтеза полисахаридов можно разделить на ряд групп, рассмотренных ниже.

2. Поликонденсация глюкозы в высоком вакууме

Впервые в патенте Мора и Паксу⁴³ описан метод получения высокомолекулярных разветвленных полиоз при поликонденсации в высоком вакууме различных сахаров со степенью полимеризации от 1 до 10. Авторы показали, что нагревание таких сахаров или их смеси в инертном растворителе, или без растворителя, в присутствии небольших количеств кислого катализатора (например, от 0,01 до 5% H_3PO_4 от веса глюкозы) при температуре от -80° до $+110^\circ$ и в вакууме от 10^{-5} до 100 мм рт. ст. (время реакции от 2 минут до 72 часов) получают стекловидные полимеры, не содержащие продуктов разложения. Эти полимерные углеводы имели молекулярный вес от 2500 до 1 млн. Различные фракции полимеров разделялись диализом и методом фракционного осаждения. Полученные полимеры были предложены в качестве заменителей плазмы крови вместо декстранов, синтезируемых ферментативным путем.

В ряде сообщений Мора с сотрудниками более подробно описаны методика эксперимента и состав получаемых синтетических полисахаридов⁴⁴⁻⁴⁶. На основании проведенных исследований⁴⁴ ими было показано, что для получения полисахаридов высокой степени полимеризации (>300) необходимо проведение гомополиконденсации в следующих условиях: а) при концентрации катализатора, при которой побочные реакции распада полисахаридов не имеют места; б) при равномерном обогреве реакционной массы при достаточно высокой температуре; в) при высоком содержании мономера в реакционной среде и г) при отсутствии кислорода и других реагентов, которые могут обуславливать разложение образующегося полимера.

Процесс поликонденсации в высоком вакууме при получении продуктов с высоким молекулярным весом и различной степенью разветвленности экспериментально был осуществлен тремя путями: (а) поли-

конденсацией глюкозы в расплаве обогревом инфракрасной лампой в присутствии кислого катализатора; (б) поликонденсацией глюкозы в расплаве в тех же условиях, но в присутствии тетраметилсульфона, являющегося пластификатором глюкозы и снижающим поэтому температуру ее плавления; (в) проведением процесса поликонденсации в две стадии. Твердый полимер, образовавшийся в первой стадии процесса, охлаждается, измельчается и затем снова нагревается в тех же условиях, как в пункте (б).

Во всех вариантах в качестве катализатора применялась фосфорная кислота в количестве 0,168% к весу глюкозы. Авторы отмечают также, что для равномерного протекания реакции необходимо равномерное распределение небольшого количества кислоты во всей массе моносахарида, что было достигнуто путем продолжительного перемешивания глюкозы и кислоты в шаровой мельнице.

Среднечисловые молекулярные веса некоторых фракций полисахаридов, полученные в указанных условиях, приведены в табл. 1.

Разветвленные полисахариды, выделенные переосаждением метанолом, были белого цвета и хорошо растворялись в воде. Для отделения низкомолекулярных фракций полученные полисахариды подвергали диализу. Эти полисахариды подвергали также гидролизу в растворе 1 N соляной кислоты для определения выхода глюкозы. Глюкоза была идентифицирована в виде озона. Выход глюкозы составлял 96—100% от теории. Для определения частичного разложения глюкозы и образования побочных продуктов при поликонденсации глюкозы в указанных условиях продукты гидролиза исследовались при помощи хроматографического анализа. На хроматограммах обнаружены только следы левулиновой кислоты^{47, 48} и эксиметилфурфурола. Исследователи предлагают следующую схему для объяснения механизма процесса поликонденсации глюкозы, которая приведена на рис. 1⁴⁴.

В схеме рис. 1 показана роль иона водорода и воды для протекания мутаротации, гидролиза и поликонденсации. Процесс мутаротации сопровождается образованием открытой альдегидной группы, которая обычно в равновесном состоянии присутствует в количестве 0,2 моль%⁴⁹. Открытая форма быстро переходит в циклическую, стабильную α - или β -форму (в первой части рисунка показана только α -форма). Из схемы ясно, что ион карбония при первом углеродном атоме может реагировать с любым гидроксилом другой молекулы глюкозы, например, с первичным, который находится у шестого углеродного атома (см. рис. 1).

Возможность подобного взаимодействия слишком мала в разбавленных и велика в высококонцентрированных растворах, поэтому такой процесс будет значительно усиливаться при непрерывном удалении воды из системы. Ранее было показано, что мутаротация протекает согласно механизму перемещения^{50, 51}, а в присутствии как кислоты, так и основания, мутаротация происходит именно по этому механизму^{52, 53}. Поскольку фосфорная кислота обладает сравнительно низкой константой

ТАБЛИЦА 1

Среднечисловые молекулярные веса и удельные вращения некоторых фракций синтетических полисахаридов, полученных по методу Мора⁴⁴

Метод поликонденсации	Температура, °C	C (ср.числовой молекулярный вес (определен по методу кончных групп))	$[\alpha]_D^{25}$ в 1N HCl в гадусах
Вариант (а)	140	15 000	71,1
	140	16 800	73,3
	150	22 750	79,0
	150	21 250	82,0
Вариант (б)	155	16 200	71,2
	155	8 250	69,7
	175	32 800	85,2
	175	20 000	82,8
Вариант (в)	150	17 500	63,6
	150	15 100	65,7
	170	20 000	67,8
	170	16 200	68,6

диссоциации ($4,8 \cdot 10^{-13}$), то диссоциированная кислота будет более нуклеофильным реагентом. Поэтому вполне вероятно, что фосфорная кислота в процессе реакции играет двойную роль и при повышенной температуре может быть переносчиком ионов. Применяемая при синтезе концентрация фосфорной кислоты (0,164%) была подобрана эмпирически. Очевидно, любые другие кислоты Льюиса могут катализировать этот процесс⁴³, однако применение фосфорной кислоты имеет ряд преимуществ, так как она нелетуча и устойчива к окислению при высоких температурах. Было показано, что глюкоза наиболее устойчива к

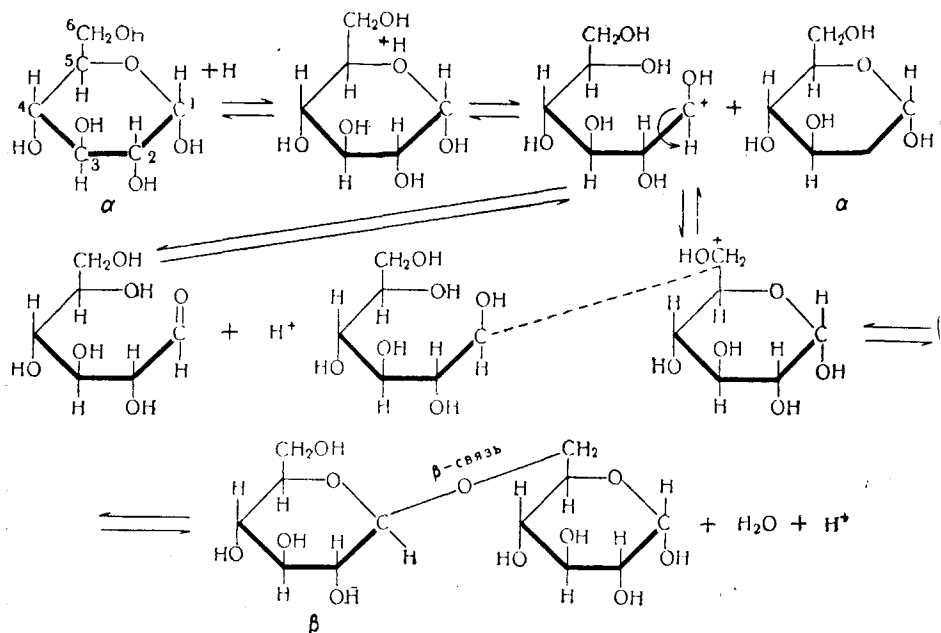


Рис. 1. Мутаротация, гидролиз и конденсация (реверсия) глюкозы

разложению при pH 3. Из приведенной схемы рис. 1 видно, что образование ацетальной связи протекает по схеме $A-R-B_{i-1}$ ⁵⁴, (где: A — глюкозидный гидроксил, B — неглюкозидный гидроксил).

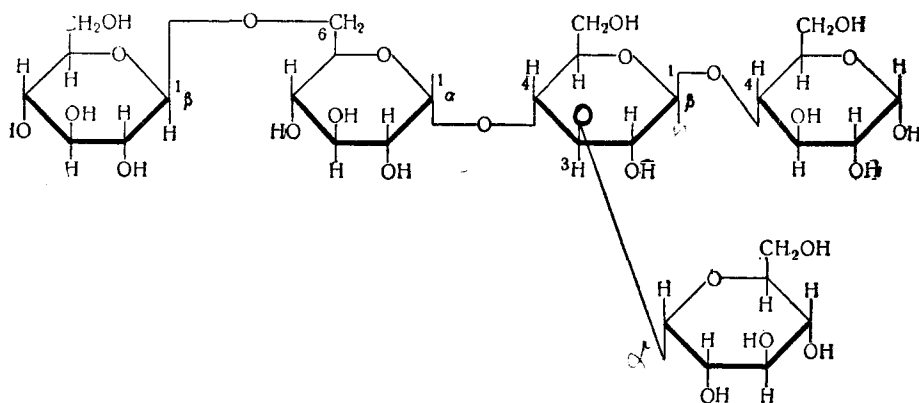


Рис. 2. Возможное схематическое строение синтетического полисахарида

Образование связи 1—1 энергетически невыгодно, что показалось Мельвин — Хьюз²⁶. Действительно, в полученных продуктах связь типа 1—1 не обнаружена.

Можно было ожидать, что количество α - и β -связей в синтетическом полисахариде будет соответствовать равновесной концентрации изомеров глюкозы, согласно схемы рис. 1, но высокое удельное вращение препаратов указывает на преобладание в синтетических полисахаридах α -связей между элементарными звеньями макромолекулы.

На основании результатов периодатного окисления полученных синтетических полисахаридов, Мора⁴⁵ приводит предположительную химическую структуру фрагмента (полимера) синтетического полисахарида (см. рис. 2).

3. Поликонденсация глюкозы в твердой фазе

В 1945 г. Ленк⁵⁵ описал метод поликонденсации глюкозы в твердой фазе нагреванием ее с борной кислотой или ангидридом. В процессе реакции продукт сохранял кристаллическую структуру и слабо восстанавливал фелингову жидкость. Недавно эти данные были проверены другими исследователями⁵⁶, применявшими в качестве катализатора метаборную кислоту (HBO_2). Процесс поликонденсации протекал при 135—140°. Полученные полиглюкозаны полностью растворимы в воде. Количество катализатора составляло 5% от веса глюкозы. Для получения полисахаридов было необходимо, чтобы кислота и моноза были безводными. Максимальное значение степени полимеризации полисахаридов, получаемых в этих условиях, составляло 17, удельное вращение +64°. Методом инфракрасной спектроскопии установлено наличие как α -, так и β -связей в полученных полисахаридах. Хроматографическим исследованием продуктов частичного гидролиза этого полисахарида установлено наличие гентиобозы и изомальтозы. Путем метилирования и гидролиза получен ряд метилзамещенных глюкоз, при разделении которых на хроматографической бумаге обнаружено высокое содержание 2,3,4-триметилглюкозы, следовательно, в полимере преобладают связи 1—6.

Качественной хроматографией на бумаге определено также значительное количество 2,3—6-метилглюкозы, что позволяет сделать вывод о наличии в этих полисахаридах также и связей 1—4. Вкратце основные выводы из этой работы могут быть сформулированы следующим образом.

Полисахариды, полученные поликонденсацией в твердой фазе в присутствии метаборной кислоты, не содержат химически связанной кислоты. После гидролиза полимера получена только глюкоза, следовательно, между элементарными звеньями имеется только ацетальная связь. Полимер характеризуется высокой степенью разветвленности и содержит в основном связи 1—6 и 1—4 между элементарными звеньями в макромолекуле. В полимере содержатся как α -, так β -глюкозидные связи, преобладание какого-либо типа связи не установлено.

4. Поликонденсация в присутствии водоотнимающих средств

В последние годы проведен ряд исследований по изучению процесса поликонденсации глюкозы в присутствии тионилхлорида. Так, по методу, описываемому Лондоном и сотрудниками^{57, 58}, глюкоза подвергалась процессу поликонденсации при 110° в течение 1 часа в присутствии тионилхлорида, который связывает воду, выделяющуюся при реакции поликонденсации, а выделяющийся при гидролизе тионилхлорида хлористый водород является катализатором реакции поликонденсации глюкозы.

Однако такой метод связывания воды, по-видимому, менее эффективен, чем непрерывный отвод воды в высоком вакууме. Этот вывод подтверждается тем, что среднее значение степени полимеризации продуктов не превышает 20. Методом периодатного окисления показано, что

в полученных препаратах 58% от общего количества ацетальных связей составляли связи 1—6. Инфракрасные спектры поглощения этих полисахаридов показывают наличие в основном 1—6- α -глюкозидной связи и менее 5% 1-3- α -глюкозидной связи. Этот полисахарид, сравнительно невысокого молекулярного веса, синтезировали для применения в качестве антикоагулянта крови.

Кент⁵⁹ осуществил поликонденсацию глюкозы при 100—150° в присутствии тионилхлорида, содержащего следы воды или спирта. Среднее значение степени полимеризации полученных полисахаридов составляло 25. Полимер полностью гидролизуетс^я 1 N HCl, образуя глюкозу.

Риккетс и Ров⁶⁰ исследовали процесс поликонденсации глюкозы, галактозы, мальтозы, лактозы и смеси глюкозы с галактозой, применяя в качестве катализатора и для связывания воды сухой хлористый водород, который пропускали при перемешивании через порошок указанных углеводов. Полученную пасту оставляли на 5 дней и после нейтрализации и диализа определяли среднее значение степени полимеризации, которое составило 20. Полисахарид после частичного гидролиза разбавленной кислотой подвергали исследованию методом бумажной хроматографии. Показано, что в полисахариде преобладают связи типа α -1-6.

5. Поликонденсация глюкозы в присутствии новых типов катализаторов — полимерных катионитов

Работами, проведенными в последние годы, показана возможность применения катионитов для гидролиза водорастворимых полисахаридов^{61, 62}. Следует отметить, что подобные исследования весьма перспективны как с научной, так и с практической точек зрения. Осуществление гидролиза полисахаридов в присутствии нерастворимого в реакционной смеси полиэлектролита, который легко отделяется от продуктов реакции, может стать одним из технически рентабельных методов гидролиза водорастворимых полисахаридов, например, крахмала, причем катализатор практически не расходуется. Поскольку катиониты являются катализаторами разрыва ацетальной связи, в других условиях проведения реакции они могут стать катализаторами реакции образования ацетальной связи.

Синтез полисахаридов из моносахаридов в присутствии катионита впервые был осуществлен венгерскими учеными Цемпленом и Кишфалуди⁶³. Если глюкозу (280 г), воду (160 мл) и полимерную смолу, содержащую бензолсульфоновую кислоту (20 г) нагревать при 70° в течение 72 часов, то устанавливается равновесие в реакции поликонденсации. Из сложной смеси продуктов поликонденсации авторами была выделена гентиобиоза.

О'Колли и Ли⁶⁴ использовали ряд полимерных катионитов для синтеза полисахаридов из моноз. Для опытов применяли катиониты (Zeo-carb.-215; Zeo-carb.-225; IR-100(H); IR.-125(H)).

Эквивалентное количество глюкозы и катионита смешивали и нагревали до 100° в течение 15 минут. Из раствора полученных полисахаридов методом бумажной хроматографии была идентифицирована изомальтоза. С увеличением времени реакции выход высокомолекулярных полисахаридов увеличивается. Состав продуктов, полученных в результате этой реакции, детально не изучался.

Недавно японскими исследователями⁶⁵ из продуктов поликонденсации глюкозы в присутствии катионообменной смолы была выделена биоза.

6. СИНТЕЗ ПОЛИСАХАРИДОВ ПРЕВРАЩЕНИЕМ ЦИКЛОВ В ЛИНЕЙНЫЕ ПОЛИМЕРЫ

В настоящее время, наряду с методом поликонденсации глюкозы в высоком вакууме, разработан другой метод получения полисахаридов превращением циклов в линейные полимеры. По этой реакции получают

полимеры из трехчленных циклов (окиси этилена, этиленимина, эпокси-соединений и т. п.), а также семичленных циклов, например, капролактама. Основные закономерности превращения циклов в линейные полимеры систематически исследовались на примере полимеризации капролактама и других гетероциклов Кнунянцем, Роговиным, Стрелихеевым и др.⁶⁶⁻⁶⁸. Этот же метод применяют при синтезе полисахаридов из ангидромонозов, например, левоглюкозана.

Необходимо отметить, что при использовании этого метода синтеза, благодаря наличию в молекуле монозы нескольких свободных гидроксильных групп, могут получаться разветвленные полимеры. До настоящего времени в этой реакции был использован только один тип напряженного цикла моноз — левоглюкозан, хотя, естественно, при систематическом исследовании в этом направлении возможно применение и ряда других моноз, полимеризация которых может привести к получению новых классов синтетических полисахаридов.

Еще 40 лет назад Пикте с сотрудниками показал, что ангидросахара в высоком вакууме в присутствии катализаторов способны полимеризоваться⁶⁹⁻⁷⁹. Например⁷³, левоглюкозан (1,6-ангидро- β - α -глюкопираноза) при нагревании в присутствии платиновой черни образует димеры,

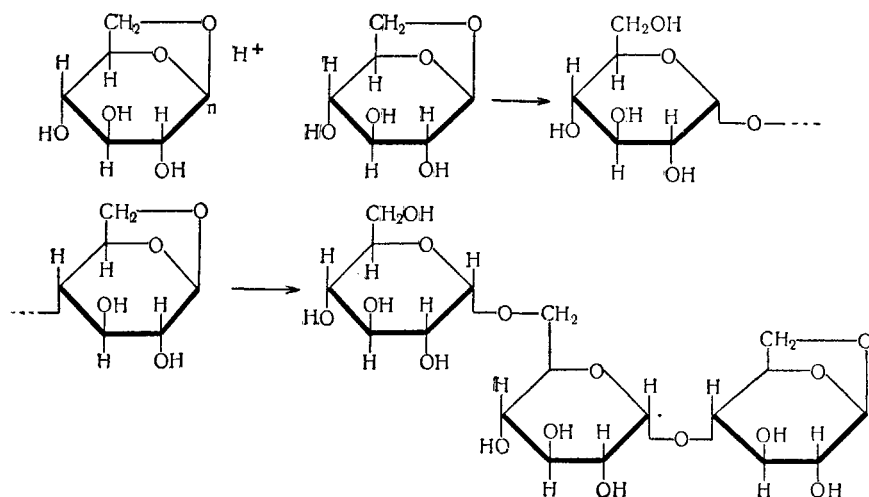


Рис. 3. Полимеризация левоглюкозана в присутствии кислых катализаторов

октамеры и другие полисахариды. В одном из сообщений⁷⁴ было показано, что небольшая часть продуктов синтеза не проходит через полупроницаемую перегородку и, следовательно, обладает достаточно высоким молекулярным весом. Несколько позже^{80, 81} метод Пикте был использован для синтеза олигосахаридов из левоглюкозана. Естественно, что эти исследователи не могли применить современные физико-химические методы исследования полимеров, поэтому высокомолекулярные фракции синтезированных ими препаратов не изучались.

Недавно Карвалло, Принс и Шюэр⁸² предприняли попытку на основании работ Пикте⁶⁹⁻⁷⁹ и других авторов^{80, 81} осуществить полимеризацию левоглюкозана. Полимеризацию проводили при 100—130°; количество катализатора составляло от 0,001 до 0,05 моля на моль мономера. В качестве катализатора применяли HCOOH , CH_3COOH , HCl , щавелевую кислоту, H_3PO_4 , ClCH_2COOH , ZnCl_2 ; некоторые опыты проводили в присутствии растворителей (диметилсульфоксида или тетраметилсульфона). При 120° в присутствии монохлоруксусной кислоты был получен полимер янтарного цвета, хорошо растворимый в воде. Несмотря на

сравнительно большой молекулярный вес (38—90 тысяч) препарат имел небольшую вязкость, что указывает на сферическую форму макромолекул; это может быть только при значительном разветвлении. Действительно, исследование строения этого продукта методом окисления йодной кислотой показывает различное положение ацетальной связи. В этих полисахаридах преобладают связи 1—6 и 1—4. Удельное вращение равно $+90^\circ$, что указывает на преобладание α -глюкозидной связи. Карвалло и другие⁸² предполагают, что полимеризация левоглюкозана протекает с образованием промежуточного ангидросоединения типа 1—2- β - α -ангидроглюкопиранозы. Это предположение согласуется с данными других исследований по изучению превращения циклов в полимеры^{83, 84}. Возможная схема механизма полимеризации и строения получаемых синтетических полисахаридов по Карвалло приведена на рис. 3.

Согласно схеме рис. 3, при раскрытии цикла происходит взаимодействие раскрывшейся связи с одной из трех гидроксильных групп другой молекулы мономера. В результате образуются только ацетальные связи между элементарными звеньями, что было показано еще Пикте⁷⁰ путем гидролиза полученных полисахаридов.

Вольфром, Томпсон и Вард⁸⁵ описали метод термической полимеризации левоглюкозана без применения катализаторов.

Ранее⁸⁶ ими было показано, что при термической обработке крахмала α - α -(1—4)-ацетальная связь превращается в α и β - d (1—6)-ацетальную и одновременно образуется небольшое количество β - d -(1—2)-ацетальной связи. В этих же условиях образуется значительное количество 1—6-ангидро- β - d -глюкопиранозы (левоглюкозана). Поскольку этот процесс протекает почти мгновенно при 200° в отсутствие воды и кислоты, то, очевидно, что ни гидролиза, ни поликонденсации в этом случае не происходит. В результате термической полимеризации левоглюкозана получен полимер, который после частичного гидролиза подвергался хроматографическому исследованию. Были выделены (в виде ацетатов) следующие сахара: гентиобиоза, изомальтоза, мальтоза, целлобиоза, левоглюкозан. На основании этих данных установлено, что в полисахаридах присутствуют следующие виды связи α и β (1—6); и α - β (1—4); β (1—2). Возможная схема реакции полимеризации пиродекстринов приведена на рис. 4⁸⁵.

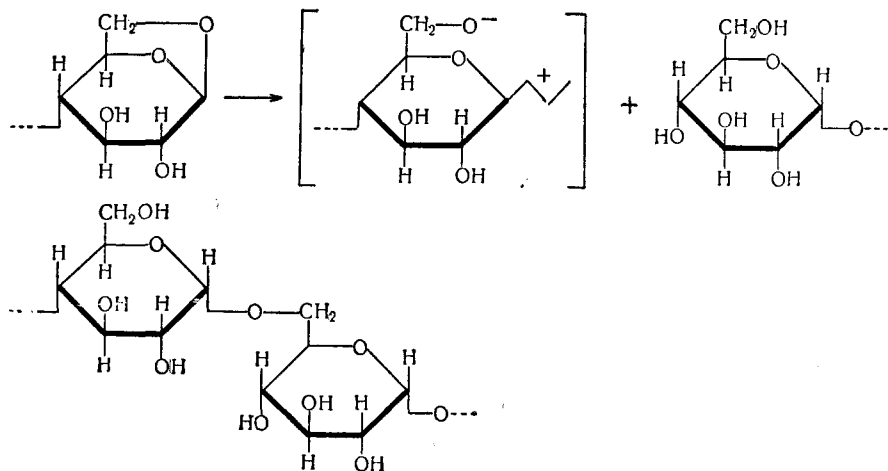


Рис. 4. Схема термической полимеризации левоглюкозана

Недавно Коршак¹⁷² исследовал полимеризацию левоглюкозана и его эфиров в присутствии ряда катализаторов в среде диоксана. Наиболее

эффективными оказались хлорное железо, хлористый алюминий, бензосульфокислота и эфират фтористого бора. В работе подробно проведено физико-химическое исследование полученных полимеров и дан механизм реакции полимеризации в присутствии эфирата фтористого бора.

Суммируя приведенные литературные данные, можно сделать вывод, что до настоящего времени методом поликонденсации моноз и методом полимеризации ангидромоноз не удалось синтезировать полисахариды, имеющие линейную строго регулярную структуру аналогично строению целлюлозы, амилозы и других природных высокомолекулярных полиоз. Как правило, при использовании применяемых в настоящее время методов синтеза полисахаридов удается в определенных условиях синтезировать, хотя и высокомолекулярные, но сильно разветвленные полисахариды. Образование разветвленных синтетических полисахаридов вполне понятно, если учесть, что исходным продуктом синтеза являются монозы, содержащие 4—5 реакционноспособных функциональных групп. Поэтому для синтеза линейных полиоз, содержащих только один тип связи, например, связь 1—4, необходимо разработать новые методы синтеза, или использовать монозы, содержащие только две реакционноспособные функциональные группы.

Синтезированные до настоящего времени сильно разветвленные полисахариды содержат между элементарными звеньями только ацетальные связи, что подтверждается составом продуктов гидролиза.

Методом хроматографического анализа и оптическими методами показано, что в синтетических полисахаридах преобладает 1—6- α -глюкозидная связь. Эти данные подтверждают вывод, сделанный ранее ⁸⁷, о том, что в кислой среде первичные гидроксильные группы более реакционноспособны, чем вторичные, а в щелочной — наоборот. Поэтому в продуктах поликонденсации преобладают связи типа 1—6 (изомальтозная или гентиобиозная).

Как было показано Конкиным ⁸⁸ и другими ^{18,89}, связь типа 1—6 более устойчива к действию гидролизующих агентов, чем связь 1—4. Скорость гидролиза дисахарида, имеющая связь 1—6, почти в 2 раза меньше скорости гидролиза мальтозы. Эти данные также показывают, что связь 1—6 образуется при поликонденсации в кислой среде легче, а разрывается значительно труднее, чем другие типы ацетальных связей.

Синтетические разветвленные полисахариды, независимо от молекулярного веса, хорошо растворимы в воде*. Синтетические полиозы являются атактическими полимерами в отличие от природных полисахаридов, в которых имеется изотактическая, или синдиотактическая структура. Однако следует отметить, что многие из полученных препаратов не подвергались детальному исследованию с использованием методов современной химии и физико-химии полимеров.

III. НОВЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДОВ

Благодаря применению новых методов исследования удалось в последнее время определить состав и строение некоторых синтетических полисахаридов. Изомальтоза была открыта Фишером еще в начале XX века, однако до последнего времени строение этого дисахарида было предметом многих исследований, которые приводили к противоречивым результатам и выводам ⁹¹. Только путем селективного разделения на адсорбционных хроматографических колонках и методами бумажной

* Недавно Мора и другие ⁹⁰ этими же методами получили полимер 2-дезоксиглюкозы, который плохо растворим в воде и не гидролизует. Полимер детально не изучен.

хроматографии удалось показать, что продукт, который Фишер рассматривал как биозу вполне определенного состава и названный им изомальтозой, не является индивидуальным веществом, а состоит из биоз, имеющих связи 1—6 (стереоизомеры). Применяя метод разделительной хроматографии, удалось выделить изомальтозу и доказать ее химическое строение^{35, 92}.

В течение почти 50 лет в химии углеводов для доказательства строения того или иного углевода применялись в основном классические методы (см.⁶⁷, стр. 512—520,⁹²⁻⁹⁴).

Эти методы, не утратившие своего значения и в настоящее время, привели к существенным достижениям в этой сложной области органической химии, но не всегда давали возможность получить необходимые данные о строении различных биоз и особенно высокомолекулярных полисахаридов.

В последние годы для исследования строения различных полисахаридов, в частности, синтетических полисахаридов, был использован ряд новых физико-химических и физических методов, получивших в настоящее время широкое применение в химии полимеров. Ниже приводятся основные данные о результатах, полученных при применении некоторых методов, используемых для определения химической и физической неоднородности полисахаридов, формы их молекул, молекулярного веса, а также типа связи между элементарными звеньями.

а. Определение химической неоднородности биоз и высших полиоз. В настоящее время наибольшее значение получили методы хроматографического разделения. Метод хроматографического разделения различных изомерных биоз, образующихся при поликонденсации глюкозы, был разработан в последние годы и применен рядом исследователей^{29, 95}. Особенно хорошее разделение достигнуто применением колонок, где в качестве сорбентов были использованы активированный уголь и цеолит⁹⁶⁻⁹⁸.

В некоторых случаях через колонки пропускали растворы ацетатов полученных полисахаридов, которые разделяются значительно легче, чем сами сахара. Олигосахариды с более высоким молекулярным весом удалось успешно и просто разделить на колонках только в 1957—1959 гг., применяя в качестве сорбентов препараты целлюлозы^{99, 100}.

Наиболее просто можно определить химическую неоднородность низкомолекулярных полисахаридов методом бумажной хроматографии. Многие исследователи в последние годы использовали только этот метод анализа и идентификации сложных смесей продуктов поликонденсации моноз^{30-34, 56, 101}. В качестве растворителей и проявителей применялись самые разнообразные смеси. Независимо от состава примененных реагентов получались достаточно точные и надежные результаты. Хорошие результаты были получены также при разделении этим методом продуктов частичного гидролиза синтетических полисахаридов⁶⁰.

б. Определение полидисперсности синтетических полисахаридов. Для определения полидисперсности этих полимеров используются в большинстве случаев обычные методы фракционирования. Эти методы осуществляются в нескольких вариантах: 1) фракционное осаждение осуществляется добавлением этанола или метанола к водным растворам синтетических полисахаридов (метод был успешно применен Мора и другими^{44, 45, 102}); 2) фракционное растворение (навеска исследуемого препарата обрабатывается водным раствором этанола или метанола различной концентрации¹⁰³); 3) диализ с целью отделения низкомолекулярных фракций.

До настоящего времени в литературе очень мало данных о растворимости различных моно- и полисахаридов в органических растворителях и их смесях. Опубликовано сообщение¹⁰⁴ о хорошей растворимости угле-

водов в диметилсульфоксиде и тетраметилсульфоне. Отсутствие подходящих растворителей не дает возможности выделять и очищать препараты синтетических полисахаридов для последующих исследований. Особые трудности возникают при отделении катализаторов от полученных синтетических полисахаридов. Методы, применяемые различными исследователями, сравнительно сложны и приводят к значительной потере продуктов поликонденсации. Недавно одним из нас¹⁰⁵ был разработан простой метод отделения моно- и полисахаридов с различной степенью полимеризации от неорганических примесей путем экстракции безводным пиридином.

в. *Определение формы макромолекул.* Поскольку продукты, получающиеся при поликонденсации моноз, являются сильно разветвленными, то определение формы их макромолекул представляет большой интерес как с точки зрения физико-химии полимеров, так и, особенно, с точки зрения их биологического моделирования, так как форма макромолекулы оказывает существенное влияние на биологические свойства полимеров.

Мора¹⁰⁶ применял при определении формы макромолекул синтезированных им полисахаридов обычные методы, используемые в химии полимеров для оценки степени разветвления: а) сравнение значений среднечисленных молекулярных весов (осмотический метод и метод конечных групп) со средневесовыми молекулярными весами (вискозиметрический и светорассеяния); б) окисление полученных препаратов йодной кислотой^{107, 108}.

г. *Спектроскопические методы определения типов связи в синтетических полисахаридах.* Физические методы исследования, применяемые в последние годы в химии углеводов позволили методически просто и достаточно надежно определить тип связи между элементарными звеньями полиоз (α или β), наличие пирановых и фурановых циклов, а также наличие свободных гидроксильных групп^{27, 57, 109}.

Было установлено⁵⁷, например, что, характерная полоса поглощения для α -ацетальной связи составляет $844 \pm 8 \text{ см}^{-1}$, в то время как для β -глюкозидной связи $891 \pm 7 \text{ см}^{-1}$. Эти данные были проверены как на синтезированных модельных глюкозидах различных сахаров, так и на природных полисахаридах.

Доранд⁵⁶ при исследовании инфракрасных спектров поглощения сухих пленок синтетических полисахаридов установил, что полимеры, полученные поликонденсацией глюкозы в твердой фазе в присутствии метаборной кислоты, наряду с другими видами ацетальных связей, содержат значительное количество 1—6- α -глюкозидной связи с характерным адсорбционным максимумом $760\text{—}960 \text{ см}^{-1}$. Недавно Финен и Рид¹¹⁰ описали применение масс-спектроскопического метода для определения α - или β -ацетальных связей в различных сахарах (мальтоза, целлобиоза, ламинарбиноза и др.). Показано, что энергия диссоциации β -*d*-метилглюкопиранозида на 0,6 eV больше, чем энергия диссоциации α -*d*-метилглюкопиранозида.

Интересные результаты были получены при разделении различных изомерных биоз и полиоз с применением метода электрофореза в присутствии боратных буферов^{33, 111}.

При помощи ферментативных методов анализа можно определить наличие α - или β -глюкозидной связи между элементарными звеньями, а также число концевых альдегидных групп^{112—114}.

Из химических методов, успешно применяемых в последние годы, отметим метод перйодатного окисления в комбинации с методом гидрирования в мягких условиях. Этот метод дает возможность получить отдельные стабильные осколки полисахарида. Дальнейшее изучение этих фрагментов дает возможность определить строение полиозы. Подробно эти вопросы отражены в недавно опубликованных обзорах^{112, 113}.

IV. ОСНОВНЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИСАХАРИДОВ.

После открытия важнейших биологических полисахаридов (гепарина, хондроитина и др.)¹¹⁶ и изучения их роли в жизни организмов были начаты исследования по получению синтетических аналогов и заменителей гепарина, хондроитина и др. В результате систематических исследований синтетических полисахаридов, а особенно их производных, содержащих сульфатную или карбоксильную группу, был получен ряд препаратов, нашедших практическое применение в следующих областях: 1) заменители плазмы крови; 2) заменители гепарина и хондроитина в биологических процессах. (известно, что гепарин задерживает свертывание крови путем образования неактивного комплекса с тромбокиназой); 3) ингибиторы ряда ферментативных процессов; 4) селективные адсорбенты для разделения белков и других соединений; 5) водорастворимые полиэлектролиты.

Одними из первых препаратов полисахаридов, применявшихся в биологических целях, были производные целлюлозы. В 1936 г. Чаргаф и другие¹¹⁵ и затем Каррер¹¹⁶ получили сульфаты целлюлозы, которые обладали свойствами гепарина (против тромбоза).

В 1943 г. Кеннан и другие¹¹⁷ показали, что продукты окисления целлюлозы, содержащие карбоксильную группу в положении 6 обладали кровеостанавливающими свойствами. Недавно опубликована подробная работа по получению монокарбоксицеллюлозы и ее использованию в медицине¹¹⁸. Эти же препараты применялись как заменители плазмы крови и как носители для различных физиологически-активных препаратов¹¹⁹.

Поскольку сульфаты целлюлозы оказались ядовитыми, испытывались растворимые простые эфиры целлюлозы — моногликолевый эфир и др.^{120,121}. Аналогичными свойствами обладают сульфаты гликогена и крахмала^{122, 123}, декстрана¹²⁴, поливинилового спирта¹²⁵, ксилана¹²⁶, хитина¹¹⁶.

Большинство указанных веществ токсичны, в основном, из-за осаждения фибриногена. Поэтому, наряду с препаратами, которые получались ферментативным путем (декстранами), были предприняты попытки синтезировать водорастворимые полисахариды, чтобы на их основе получить антикоагулянты крови и другие биологически-важные соединения. Лондон и другие⁵⁷ получили сульфат синтетических полиглюкозанах со значением $\eta = 176$. Этот препарат имел гепариноподобные антикоагуляционные свойства.

Аналогичные продукты получили Кент, Риккет и другие^{59, 60}. Препараты, синтезированные указанными авторами, имели небольшой молекулярный вес ($СП = 20-30$) и, естественно, могли применяться только как антикоагулянты крови. Для замены плазмы крови они не пригодны, так как для этой цели требуются полимеры с молекулярным весом 70—100 тысяч¹²⁷. В отличие от этих препаратов, полисахариды, синтезированные Мора и другими⁴⁵, имеют высокий молекулярный вес и различную степень разветвленности. Путем их фракционирования можно получить ряд препаратов, отличающихся друг от друга молекулярным весом и степенью разветвленности.

Поскольку многие биологические препараты имеют постоянный средний молекулярный вес (например ферменты), то, естественно, что молекулярный вес применяемого синтетического полисахарида и конфигурация его макромолекул будут оказывать существенное влияние и на его биологические свойства. Мора⁴⁵ показал, что полиглюкозаны, имеющие молекулярный вес ниже 75 тыс., биологически неактивны и могут иметь значение только как антикоагулянты крови.

В одном из сообщений Мора и сотрудников¹²⁸ описаны препараты синтетических полисахаридов, полученные по методу поликонденсации.

в высоком вакууме, имеющие различный молекулярный вес, степень разветвленности и различную степень замещения водорода гидроксильных групп элементарного звена на остатки серной кислоты. Метод получения сульфатов, примененный авторами, был описан ранее^{124, 129-132} для декстранов. Препараты получались в виде натриевых солей, для перевода в кислую форму их пропускали через ионообменные смолы, например, амберлит (IR 120—H). Предварительные испытания этих препаратов показали, что они имеют такую же антикоагуляционную активность как гепарин¹²⁸, в тех же условиях^{133, 134}.

Известно¹³⁵⁻¹³⁷, что протеины при взаимодействии с макроанионами образуют нерастворимые комплексы. Так как сульфаты полисахаридов являются макроанионами, то с протеинами они образуют нерастворимые комплексы, что позволило разделить в растворе различные протеины¹³⁷. Было установлено, также, что макроионы, взаимодействуя с ферментами, ингибируют различные биохимические процессы¹³⁷.

Мора¹³⁸ объясняет ингибирующий эффект тем, что образуются неактивные комплексы белка с полиэлектролитом; это взаимодействие, по видимому, имеет некоторое сходство с процессом осаждения антигенов антителами. Препарат синтетического полисахарида с молекулярным весом 18 300, содержащий три свободные сульфатные группы на элементарное звено макромолекулы полиозы, титровали протеином, содержащим определенное количество основных групп (например, полимиксином В). При этом установлено количественное (стехиометрическое) взаимодействие этих групп с сульфатными группами полисахарида.

Водные растворы препарата адренокортикотропного гормона при рН 3,4 не выпадают в осадок при добавлении раствора серной кислоты; в то же время, если титровать эти белки раствором сульфата полисахарида, то уже при рН 1 образуется осадок комплекса АКТГ с сульфатом полисахарида. Осадки образуются также при взаимодействии сульфатов синтетических полисахаридов с протамином, лизоцимом, рибонуклеазой и неомицином В¹³⁸.

Для изучения возможности использования производных синтетических полисахаридов в качестве антикоагулянтов крови были получены карбоксипроизводные этих полисахаридов¹³⁹, для чего синтетические полисахариды окисляли перйодатом натрия, полученные диальдегидпроизводные методом окисления хлоритом превращали в дикарбоксипроизводные^{140, 141}. Изменяя условия проведения реакции, получали препараты, содержащие различное количество карбоксильных групп (от 3 до 28%). Полученные препараты имели слабовыраженные анионообменные свойства и испытывались как антикоагулянты. Преимуществом этих препаратов по сравнению с сульфатами полисахаридов является их значительно меньшая токсичность. Молекулярный вес указанных препаратов почти не отличался от молекулярного веса исходных полисахаридов. Карбоксилсодержащие полисахариды применяли также как ингибиторы различных ферментов (лизоцима, рибонуклеазы и других полиамфолитов).

Обратимое ингибирование ферментов производными синтетических полисахаридов, содержащих кислые группы. Характер взаимодействия между макромолекулами, имеющими противоположные заряды, приводящего к изменению растворимости исходных полимеров, имеет важное значение в некоторых ферментативных реакциях. На этом, главным образом, основано ингибирование ферментов¹³⁷ полиэлектролитами, что было отчетливо показано на лизоциме¹⁴², рибонуклеазе¹⁴³⁻¹⁴⁷, гиалауронидазе¹⁴⁸⁻¹⁵¹ и др.¹⁵²⁻¹⁵⁸. Так как при взаимодействии полиэлектролита с белком образуются нерастворимые комплексы, то этот метод широко применяется для фракционирования белков сыворотки^{155, 159-161}. Поскольку полиэлектролиты часто являются полиамфолитами, то большое значение имеет рН среды.

В последние годы проводятся систематические исследования по изучению взаимодействия различных синтетических полиэлектролитов с альбумином сыворотки^{135, 159–161} с γ -глобулином¹⁶⁰, β -липопротеином^{136, 162}, фибриногеном¹⁶³ и другими белками и нуклеиновыми кислотами^{164–169}.

Перечисленные исследования позволили установить важность изучения влияния химического состава и свойств полиэлектролитов на процесс ингибирования энзимов *in vivo* и *in vitro*¹³⁷. Поскольку, регулируя условия проведения реакции, можно получать синтетические полисахариды с различной степенью полимеризации и различной степени разветвленности, естественно, что эти препараты были использованы как модели для изучения обратимого ингибирования энзиматических процессов. Мора и другие¹⁷⁰ провели исследование взаимодействия сульфатов синтетических полисахаридов с различным молекулярным весом и различной степени разветвленности с лизоцимом, рибонуклеазой, протамином, пептидом панкреатической железы, полимиксином В, неомицином, цитохромом «С» в альбуминной сыворотке человека. Изучено также обратимое ингибирование гиалуронидазы и рибонуклеазы этими производными полисахаридов. Было установлено, что сульфаты синтетических полисахаридов являются более сильными ингибиторами, чем ранее использованные ингибиторы¹⁴², такие как глутамилпептид и ДНК*. Данные по изучению ингибирующего действия препаратов полиглюкозана на активность лизоцима приведены в табл. 2.

ТАБЛИЦА 2*

Ингибирование активности 60 $\mu\text{г}$ лизоцима производными синтетических полисахаридов¹⁷⁹

Степень замещения, γ	Полиглюкозан-сульфат (ПГ SO_3^{2-})								ка-боксипозиводные полиглюкозы (III COO ⁻)	
	В		а		b		С		F	G
	300		2,0		120		60			
	колич. препарата, $\mu\text{г}$	% ингибирования	колич. препарата, $\mu\text{г}$	% ингибирования	колич. препарата, $\mu\text{г}$	% ингибирования	колич. препарата, $\mu\text{г}$	% ингибирования	колич. препарата, $\mu\text{г}$	% ингибирования
	10	100	10	100	10	100	20	100	50	100
	5	80	5	98	5	68	10	91	25	70
	2,5	66	2,5	65			5	41		

* Препараты В, а, b, С, F и G отличились между собой как по молекулярному весу, так и по степени разветвленности. Подробнее об этих препаратах см. 45, 128

Из табл. 2 видно, что с увеличением степени разветвленности (например, препарат а), ингибирующий эффект этих производных увеличивается. Большая степень разветвленности позволяет использовать полисахариды с более низким молекулярным весом для достижения полного ингибирующего эффекта. Активность некоторых сильно разветвленных препаратов в реакциях ингибирования в четыре раза больше, чем гепарина. Аналогичные результаты были получены при исследовании влияния степени разветвленности синтетических полиоз на ингибирование рибонуклеазы¹⁷¹.

Ингибирующий эффект сульфатов синтетических полисахаридов, являющийся результатом взаимодействия кислых групп полисахарида с основными группами белка, может быть устранен путем замещения одного белка в комплексе белок — сульфат полисахарида другим белком, являющимся более сильным основанием, чем тот, который находится

* ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота.

в комплексе. Действительно, если в комплекс рибонуклеаза — сульфат полиглюкозы вводить лизоцим, то подавляющее действие сульфата полисахарида не происходит в результате взаимодействия его с более сильным основанием (лизоцимом). При этом выделяется свободная рибонуклеаза, обладающая той же ферментативной активностью.

Карбоксилсодержащие производные полисахаридов, испытанные в аналогичных условиях, показали более низкую ингибирующую способность, что объясняется низкой степенью их диссоциации.

При использовании карбоксилсодержащих препаратов синтетических полисахаридов *in vivo* происходит детоксификация основных макромолекул, например полимиксина В, чем большая степень разветвления полисахарида и чем выше содержание в нем карбоксильных групп, тем эффективнее детоксификация. Активность адренокортикотропного гормона повышается при введении карбоксилсодержащих полиглюкоз¹⁴⁰.

Проведенные исследования по синтезу полисахаридов и биологического их использования не исчерпывают все разнообразие возможных методов получения синтетических полисахаридов и областей их применения. Систематические исследования в этой интересной и сложной области химии и биохимии углеводов только развертываются и, несомненно, в дальнейшем приведут к значительным практическим и теоретическим достижениям.

ЛИТЕРАТУРА

1. F. Musculus, Bull. Soc. chim. France. [2], 18, 67 (1872).
2. F. Musculus, Там же, 35, 368 (1881).
3. A. Cantier, Там же [2], 22, 145 (1874).
4. A. Schützenberger, Там же [2], 12, 204 (1869).
5. M. Höniq, S. Schubert, Monatsh, 6, 708 (1885).
6. См. В. И. Шарков, Гидролизное производство, том 3, Гослесбумиздат, 1950 г.
7. A. Wohl, Ber., 23, 2084 (1890).
8. E. Fisher, Ber., 23, 3687 (1890).
9. R. Willstätter, L. Zeichmeister, Ber., 46, 3401 (1913).
10. П. И. Силин, Е. А. Сапегина, Труды Воронежского химико-технологического ин-та пищевой промышл., 1939, 3—4, 79.
11. В. А. Смирнов, Труды Ленинградского технол. ин-та пищевой промышл., 1956, 13, 133.
12. В. И. Шарков, М. Г. Смирнова, ЖПХ, 27, 975 (1954).
13. П. Н. Одинцов, А. И. Преображенский, Известия АН ЛатвССР, 11, 53, (1955).
14. А. И. Преображенский, Труды ИЛП АН ЛатвССР, 1953, вып. 8, стр. 27.
15. H. Fram, Ber., 74, 622 (1941).
16. H. Fram, App., 555, 187 (1944).
17. Ю. Л. Погосов, З. А. Роговин, Узбекский хим. журн., 1960, № 3, стр. 57.
18. Ю. Л. Погосов, Кандидатская диссертация. ИЛПХД АН ЛатвССР, Рига, 1959 г.
19. C. R. Ricketts, J. Chem. Soc., 1954, 4031.
20. C. D. Hurd, S. M. Cantor, J. Am. Chem. Soc., 60, 2677 (1938).
21. W. R. Fetzer, E. K. Crosby, C. E. Engel, L. C. Kirst, Ind. Eng. Chem., 45, 1075 (1953).
22. E. M. Montgomery, F. B. Weakley, Ам. пат. 2549840 (1951); С. А., 43, 5958 f.
23. H. Berlin, J. Am. Chem. Soc., 48, 2627 (1926).
24. См. в книге Химия и технология крахмала, Пищепромиздат, 1956 г., стр. 320—322.
25. G. H. Coleman, M. A. Buchanan, P. T. Paul, J. Am. Chem. Soc., 57, 1119 (1935).
26. E. A. Moelwyn-Huges, Trans. Faraday Soc., 25, 86 (1929).
27. C. T. Bishop, Can. J. Chem., 34, 1255 (1956).
28. D. H. Ball, G. K. N. Gones, J. Chem. Soc., 1958, 33.
29. L. Hough, J. B. Pridham, Chem. and Ind., 1957, 1178.
30. J. K. N. Jones, W. H. Nicholson, J. Chem. Soc., 1958, 27.
31. K. Tafel, H. Iwainsky, H. Ruttloff, Biochem. Ztschr., 327, 531 (1956).
32. K. Tafel, H. Iwainsky, H. Ruttloff, J. Prakt. Chem., 4, 89 (1956).
33. S. Peat, W. J. Whelan, T. E. Edwards, O. Owein, J. Chem. Soc., 1958, 586.
34. F. Michael, W. Groves, Ber., 91, 1214 (1958).

35. A. Thompson, Kimiko Anno, M. L. Wolfrom, M. Jnatome, J. Am. Chem. Soc., **76**, 1309 (1954).
36. З. А. Роговин, Ю. Л. Погосов, Научные докл. высшей школы (серия хим.), **2**, 13 (1959).
37. H. H. Schlubach, H. Lüers, Ann., **547**, 73 (1941).
38. H. H. Schlubach, C. Behre, Ann., **508**, 16 (1933).
39. B. Heflerich, O. Peters, Ann., **494**, 101 (1930).
40. B. Heflerich, S. Böttger, Ann., **476**, 150 (1929).
41. B. Heflerich, Ann., **447**, 30 (1926).
42. K. Freudenhagen, G. Cadenbach, Angew. Chem., **46**, 113 (1933).
43. Ам. пат. 2719179 (сентябрь 1955), С. А., **50**, 6823e.
44. P. T. Mora, J. W. Wood, J. Am. Chem. Soc., **80**, 685 (1958).
45. P. T. Mora, J. W. Wood, P. Maury, B. G. Joung, Там же, **80**, 693 (1958).
46. E. Pacsu, P. T. Mora, Там же, **72**, 1045 (1950).
47. R. H. Horrocks, G. B. Manning, Lancet, **256**, 1042 (1949).
48. S. M. Partridge, Nature, **164**, 443 (1949).
49. S. M. Cantor, D. M. Waldron, J. Am. Chem. Soc., **62**, 2113 (1941).
50. C. G. Swain, Там же, **72**, 4578 (1950).
51. C. G. Swain, J. F. Brown, Там же, **74**, 2534 (1952).
52. T. M. Lowry, G. F. Smith, J. Chem. Soc., **129**, 2539 (1927).
53. T. M. Lowry, J. Falkner, J. Am. Chem. Soc., **127**, 2883 (1925).
54. P. J. Flory, Там же, **74**, 2718 (1952).
55. Ам. пат. 2375564 (май 1945); С. А., **39**, 7757².
56. H. W. Durand, M. F. Dull, R. S. Tipson, J. Am. Chem. Soc., **80**, 3691 (1958).
57. E. London, R. S. Theobald, G. D. Twigg, Chem. and Ind., **1955**, 1060.
58. E. J. Bourne, S. A. Barker, M. Stacy, D. H. Whiffen, J. Chem. Soc., **1954**, 171.
59. P. W. Kent, Biochem. J., **55**, 361 (1953).
60. C. R. Ricketts, C. E. Rowe, J. Chem. Soc., **1955**, 3809.
61. Shozo Kaichi, Bull. Chem. Soc. Japan, **30**, 844 (1957).
62. G. Bodamer, R. Kunin, Ind. Eng. Chem., **43**, 1082 (1951).
63. G. Zemplen, L. Kisfaludy, Acta Chim. Acad., Sci. Hung., **76**, 2221 (1954).
64. P. S. O. Colla, E. Lee, Chem. and Industry, **1956**, 522.
65. K. Anno, M. Seno, E. Nakamura, H. Saito, R. Hoshi, Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, **23**, 67 (1959).
66. З. А. Роговин, И. Л. Кнунянц, Ю. Л. Рымашевская, Э. В. Хаит, ЖОХ, **17**, 1316 (1947).
67. З. А. Роговин, Н. Н. Шорыгина, Химия целлюлозы и ее спутников, Госхимиздат, **1953**, стр. 227.
68. А. А. Стрелихеев, Успехи химии и технологии полимеров, ГХТИ, **1957**, 3—12.
69. A. Pictet, J. Sarasin, Helv. Chim. Acta, **1**, 87 (1918).
70. A. Pictet, Там же, **1**, 226 (1918).
71. A. Pictet, Там же, **4**, 788 (1921).
72. A. Pictet, C. r., **173**, 158 (1921).
73. A. Pictet, J. H. Ross, C. r., **174**, 1113 (1922).
74. A. Pictet, Helv. Chim. Acta, **5**, 876 (1922).
75. A. Pictet, A. Georg, C. r., **181**, 1035 (1925).
76. A. Pictet, Helv. Chim. Acta, **9**, 612 (1926).
77. A. Pictet, H. Vernet, Там же, **5**, 444 (1922).
78. A. Pictet, M. M. Egan, Там же, **7**, 295 (1924).
79. H. Vogel, A. Pictet, Там же, **11**, 215 (1928).
80. H. Pringsheim, K. Schmalz, Ber., **55**, 3001 (1922).
81. J. C. Irvine, J. W. H. Oldham, J. Chem. Soc., **127**, 2903 (1925).
82. J. S. Carvalho, W. Prins, C. Schuerch, J. Am. Chem. Soc., **81**, 4054 (1959).
83. A. Dyberman, B. Lindberg, Acta Chem. Scand., **4**, 878 (1958).
84. R. U. Lemieux, C. Brice, Can. J. Chem., **30**, 295 (1952).
85. M. L. Wolfrom, A. Thompson, R. B. Ward, J. Am. Chem. Soc., **81**, 4623 (1959).
86. A. Thompson, M. L. Wolfrom, Там же, **80**, 6618 (1958).
87. З. А. Роговин, Усп. химии, **23**, 959 (1954).
88. А. А. Конкин, Докторская диссертация, Моск. текст. ин-т, **1957** г.
89. M. A. Swanson, C. F. Cori, J. Biol. Chem., **172**, 792 (1948).
90. P. T. Mora, J. Am. Chem. Soc., **82**, 3418 (1960).
91. Б. Толленс, К. Эльснер, Краткий справочник по геохимии углеводов ГОНТИ, **1938** г., стр. 502—504.
92. M. Jnatome, Dissert. Abstr., **17**, 2419 (1957).
93. П. П. Шорыгин, Химия углеводов, ГХТИ, **1932** г.
94. В. Н. Гэворт, Строение углеводов, Снабтехиздат, **1934** г.
95. A. Thompson, J. Am. Chem. Soc., **75**, 3003 (1953).
96. R. L. Whistler, D. F. Durso, Там же, **72**, 677 (1950).

97. И. Г. Неймарк и другие, Колл. журнал, **22**, 251 (1960).
98. В. Я. Николина и другие, Усп. химии, **29**, 1088 (1960).
99. J. A. Thoma, H. B. Wright, D. Frech, Arch. Biochem. Biophys., **85**, 452 (1959).
100. E. Lederer, M. Lederer, Chromatography, **1957**, 241.
101. Kiyoshi Aso, J. Agr. Research, **5**, 305 (1955).
102. F. R. Senti, J. Polymer Sci., **17**, 527 (1955).
103. M. Levine, J. F. Foster, R. M. Nixon, J. Am. Chem. Soc., **64**, 2331 (1942).
104. F. A. Abadie-Maumer, Papeterie, **79**, 519 (1957).
105. Ю. Л. Поросов, Ж. гидролизная и лесохимическая промышленность, **1959**, № 4, 10.
106. P. T. Mora, J. Polymer Sci., **23**, 345 (1957).
107. J. M. Bobbitt, Advances in carbohydrate Chemistry, **11**, 1 (1956).
108. J. R. Dyer, Methods of Biochemical analysis, **111**, 111 (1956).
109. H. W. Durand, Disser. Abstr., **16**, 1064 (1956).
110. P. A. Finan, R. J. Reed, W. Snedden, Chem. and Ind., **1958**, 1172.
111. S. Marguier, Bull. Inst. Textile, France, **67**, 37 (1957).
112. Б. Н. Степаненко, В сб. Углеводы и углеводный обмен в животном и растительном организмах. Изд. АН СССР, 1959, стр. 29.
113. M. G. Blair, W. Pigman, Angew. Chem., **69**, 422 (1957).
114. Б. Н. Степаненко, Усп. химии, **28**, 521 (1959).
115. E. Chargaff, F. W. Bancroft, M. Brown, J. Biol. Chem. **115**, 1043 (1936).
116. P. Karrer, H. Koenig, E. Usteri, Helv. Chim. Acta, **26**, 1296 (1943).
117. R. L. Kenyon, R. H. Hasek, L. G. Davy, K. L. Broadbooks, Ind. Eng. Chem., **41**, 2 (1949).
118. Химия и технология полимеров, ИЛ, 1960, № 2, 66. (Сборник переводов из иностр. периодической литературы).
119. И. Н. Ермоленко, Спектроскопия в химии окисленных целлюлоз, Изд. АН БССР, 1959, стр. 5.
120. K. Maurer, E. Vincke, Ber., **80**, 179 (1947).
121. Химия древесины, перев. с англ., Гослесбумиздат, 1959, стр. 297.
122. P. Karrer, Канад. пат. 428839 (1945).
123. R. W. Kerr, G. M. Severson, J. Am. Chem. Soc., **65**, 193 (1943).
124. A. Cronwall, B. Ingelman, H. Mosiman, Upsala Lakareforen Forh., **50**, 397 (1945).
125. P. Karrer, Helv. Chim. Acta, **27**, 1422 (1944).
126. K. H. Meger, R. P. Pirue, Там же, **35**, 574 (1952).
127. Б. Н. Степаненко. См. ¹¹⁴, стр. 29.
128. J. W. Wood, P. T. Mora, J. Am. Chem. Soc., **80**, 3700 (1958).
129. C. R. Ricketts, K. W. Walton, Chem. and Ind. **1952**, 869.
130. C. R. Ricketts, K. W. Walton, Brit. J. Pharmacol., **8**, 476 (1953).
131. C. R. Ricketts, Biochem. J., **51**, 129 (1952).
132. C. R. Ricketts, Там же, **58**, 532 (1954).
133. L. M. Tocatis, The coagulation of Blood, New York, 1955, стр. 214.
134. K. W. Walton, C. R. Ricketts, Brit. J. Exp. Pathol., **35**, 227 (1954).
135. H. Morawetz, N. Z. Hugens, J. Phys. Chem., **56**, 64 (1952).
136. J. L. Oncley, K. W. Walton, D. G. Cornwell, J. Am. Chem. Soc., **79**, 4666 (1957).
137. P. G. Spensley, H. J. Rogers, Nature, **173**, 1190 (1954).
138. P. T. Mora, B. G. Young, Там же, **181**, 1402 (1958).
139. P. T. Mora, E. Merler, P. Maury, J. Am. Chem. Soc., **81**, 5449 (1959).
140. B. T. Hofreiter, Там же, **79**, 6457 (1957).
141. C. S. Wise, Anal. Chem., **30**, 174 (1958).
142. B. C. Skarnes, D. W. Watson, J. Bacteriol., **70**, 110 (1955).
143. L. Vandendriessche, Arch. Biochem. Biophys., **65**, 347 (1956).
144. J. C. Houck, Biochem. et Biophys. Acta, **26**, 649 (1957).
145. H. Heymann и другие, Arch. Biochem. Biophys., **74**, 366 (1958).
146. N. Zollner, J. Fellig, Am. J. Physiol., **173**, 223 (1953).
147. J. S. Roth, J. Biol. Chem., **231**, 1085 (1958).
148. J. P. Hummel, M. Flores, G. Nelson, J. Biol. Chem., **233**, 717 (1958).
149. E. Diezfalusy и другие, Acta Chem. Scand., **7**, 913 (1957).
150. H. J. Rogers, C. P. Spensley, Biochim. et Biophys. Acta, **13**, 293 (1954).
151. J. C. Houck, Arch. Biochem. Biophys., **71**, 386 (1957).
152. T. Astrup, Nature, **166**, 568 (1950).
153. E. Katchalski, A. Berger, Там же, **173**, 998 (1954).
154. H. Morawetz, H. Sage, Arch. Biochem. Biophys., **56**, 103 (1955).
155. H. Morawetz, M. Berdick, J. Biol. Chem. **206**, 959 (1954).
156. E. E. Dellert, M. A. Stahmann, Nature, **176**, 1028 (1955).
157. D. Bernfeld, S. Jacobson, Arch. Biochem. Biophys., **69**, 19 (1957).
158. J. R. Hummel, D. O. Anderson, C. J. Patel, J. Biol. Chem. **233**, 712 (1958).
159. H. C. Jäcker, Helv. Chem. Acta, **40**, 1628 (1957).
160. H. Noguchi, Biochim. et Biophys. Acta, **22**, 459 (1956).

161. D. Hamer, *Biochem. J.*, **56**, 610 (1954).
162. P. Bernfeld, V. M. Donahue, M. E. Berkowicz, *J. Biol. Chem.*, **226**, 51 (1957).
163. K. W. Walton, *Brit. J. Pharmacol.*, **7**, 370 (1952).
164. J. Coleman, H. Edelhoch, *Arch. Biochem. Biophys.*, **63**, 382 (1956).
165. J. L. Oncley, D. G. Ellenbogen, D. Gitlin, F. R. N. Gurd, *J. Phys. Chem.*, **54**, 85 (1952).
166. V. Ross, *Arch. Biochem. Biophys.*, **50**, 34 (1954).
167. V. Ross, Там же, **72**, 1 (1957).
168. R. F. Steiner, Там же, **46**, 291 (1953).
169. A. Kleczkowski, *Biochem. J.*, **40**, 677 (1946).
170. J. Fellig, C. E. Wiley, *Arch. Biochem.*, **85**, 313 (1959).
171. P. T. Mora, B. G. Young, M. J. Shear, *Die makromolekulare Chemie*, **38**, 212 (1960).
172. В. В. Коршак и другие, *Высокомол. соед.*, **3**, 477 (1961).

Ин-т полимеров АН УзССР
и
Московский текстильный ин-т
