

Олигосахарины — новый класс сигнальных молекул в растениях

А.И.Усов

*Институт органической химии им. Н.Д.Зелинского Российской академии наук
117913, Москва, Ленинский просп., 47, факс (095) 135–5328*

В обзоре рассмотрены олигосахарины — биологически активные олигосахариды следующих структурных типов: фрагменты (1→6,1→3)-β-D-глюкана клеточной стенки грибов; фрагменты хитина и хитозана; фрагменты полигалактуроновой кислоты; фрагменты ксилотрансферана клеточной стенки растений; липоолигосахариды, синтезируемые бактериями — симбионтами бобовых. Описаны выделение, установление строения и полные синтезы этих сложных соединений, а также результаты исследования их биологической роли как индукторов иммунитета растений при поражении патогенными грибами и бактериями и как регуляторов морфогенеза в процессах развития растений и их взаимодействия с бактериями-симбионтами.

Библиография — 197 ссылок.

Оглавление

I. Введение	1119
II. Олигосахарины в процессах взаимодействия растений с фитопатогенными грибами и бактериями	1119
III. Олигосахарины как регуляторы роста и морфогенеза растений	1133
IV. Взаимодействие растений с бактериями-симбионтами	1139
V. Заключение	1141

I. Введение

Биологически активные олигосахариды, выполняющие сигнальные функции в растениях, были обнаружены около 15 лет тому назад.¹ Несколько лет спустя для этих олигосахаридных биорегуляторов было предложено название «олигосахарины», суффикс которого выбран по аналогии с названиями важнейших фитогормонов — ауксинов, гиббереллинов и цитокининов.² Олигосахарины образуются в результате частичного расщепления углеводсодержащих биополимеров клеточных стенок растений или фитопатогенных грибов, действуют в весьма низких концентрациях и принимают участие в таких важнейших для растения биологических процессах, как защита от поражения патогенными грибами или бактериями, регуляция роста и морфогенеза, взаимодействие с бактериями-симбионтами.³ Число работ, посвященных изучению олигосахаридов, растет стремительными темпами. Интерес к ним связан не только с возможностью исследовать при помощи олигосахаридов тонкие механизмы межклеточного взаимодействия и регуляции метаболизма у растений, но и с весьма заманчивой перспективой практического использования нового класса регуляторов в биотехнологии растений и сельском хозяйстве.⁴

Малая доступность олигосахаридов потребовала от специалистов в области химии углеводов значительных усилий по усовершенствованию методических приемов, использу-

емых при выделении и установлении строения олигосахаридов, и разработки новых эффективных подходов к синтезу сложных олигосахаридов. Можно без преувеличения сказать, что высокий современный уровень аналитических и синтетических исследований в области сложных олигомерных углеводов во многом обусловлен блестящими работами по химии олигосахаридов.

В литературе есть несколько превосходных обзоров, посвященных главным образом биологическим свойствам олигосахаридов,^{5–10} обзоры по химическому синтезу этих веществ отсутствуют. На русском языке имеется только один обзор¹¹, авторами которого являются основоположники этого направления Элберштейн и Дарвилл из Центра по исследованию сложных углеводов (Атланта, штат Джорджия, США); этот обзор посвящен проблемам и достижениям ранних этапов исследования олигосахаридов. Целью настоящей статьи является изложение современного состояния работ по олигосахаридам не столько с позиций физиологии растений, сколько с позиций химии углеводов, для того, чтобы привлечь внимание Российских исследователей к этой чрезвычайно интересной и практически важной проблеме.

II. Олигосахарины в процессах взаимодействия растений с фитопатогенными грибами и бактериями

1. Олигосахаридный фрагмент β-глюкана клеточной стенки грибов

Как хорошо известно, одним из наиболее исследованных механизмов самозащиты растений от грибной инфекции является образование фитоалексинов,^{12–14} которые служат своеобразными антибиотиками растений. Как правило, они гидрофобны, имеют небольшие молекулярные массы и токсичны для широкого спектра микроорганизмов. Из растений выделено уже несколько сотен фитоалексинов, которые с

А.И.Усов. Доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией растительных полисахаридов ИОХ РАН.
Телефон: 137–6791.

Круг научных интересов: химия углеводов, выделение из природных источников и установление строения растительных полисахаридов. Разработка методов структурного анализа полисахаридов морских водорослей и изучение их биологической активности.

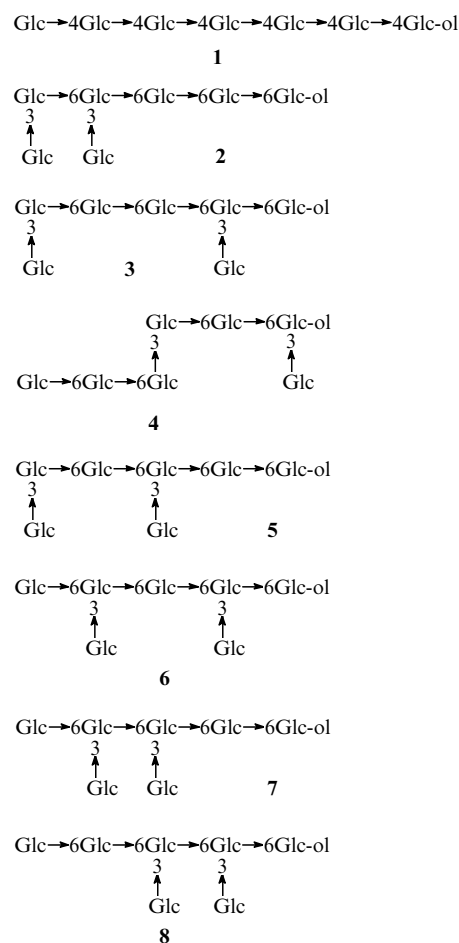
Дата поступления 7 июня 1993 г.

химической точки зрения принадлежат к разным классам вторичных метаболитов — флавоноидам, терпеноидам, полиненасыщенным соединениям и т.д.¹⁵ Необходимо подчеркнуть, что в здоровом растении фитоалексины, как правило, практически отсутствуют, и их появление в инфицированном растении — это ответ на вполне определенный сигнал. Подобные сигналы называются элиситорами фитоалексинов, они могут иметь абиотическое или биотическое происхождение. Абиотические факторы часто повреждают клеточную стенку растений, а биологические элиситоры представляют собой либо ферменты, гидролизующие биополимеры клеточной стенки, либо фрагменты этих биополимеров, а иногда — вещества липидной природы. Накопление фитоалексинов в растениях является результатом образования *de novo* ферментов, обеспечивающих их синтез, и РНК, кодирующих эти ферменты. Таким образом, элиситоры фитоалексинов регулируют метаболизм на уровне транскрипции ДНК. Для многих фитоалексинов существуют чувствительные специфические методы обнаружения и количественного определения, так что система элиситор–фитоалексин может служить весьма надежным критерием оценки элиситорной активности разнообразных химических соединений.

Первый олигосахарин был обнаружен при изучении реакции растений на поражение фитопатогенными грибами. При заражении сои патогенным грибом *Phytophthora megasperma f.sp. glycinea* растение начинает вырабатывать фитоалексины (глицеоллин и глицинол, производные птерокарпана), причем мощным элиситорным действием обладают клеточные стенки гриба, состоящие в основном из углеводов.¹⁶ Главным компонентом этих клеточных стенок является β -глюкан, труднорастворимый высокомолекулярный полисахарид, имеющий разветвленную структуру со связями 1 $\rightarrow$ 6 и 1 $\rightarrow$ 3 между остатками β -D-глюкопиранозы.^{17,18} Для того чтобы выделить конкретное химическое вещество, наделенное элиситорной активностью, был проведен частичный кислотный гидролиз клеточных стенок гриба, который привел к растворению примерно 50% исходного материала.¹⁹ С помощью низкоразрешающей гель-хроматографии гидролизата на биоэле P-2 была получена смесь олигосахаридов со степенями полимеризации 5–9, в которой сохранялась значительная элиситорная активность. Техника тестирования — спектрофотометрическое определение углеводов по реакции с антроном, а производных птерокарпана — по собственному поглощению при 285 нм (см.²⁰) — позволяла авторам определять содержание и активность элиситоров во всех хроматографических фракциях. Далее эту смесь разделяли по степени полимеризации с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на биоэле P-2, гептасахаридную фракцию восстанавливали боргидридом натрия в полиолы (это не влияло на биологическую активность, но существенно облегчало последующее разделение) и снова разделяли с помощью ВЭЖХ на колонке Whatman PAC. К сожалению, такая обработка приводила к необратимой потере около 50% олигосахаридов. Активную фракцию далее разделяли обращеннофазовой хроматографией на колонке Supelco Spherisorb ODS при элюции водой, что снова приводило к потере половины материала, но позволяло сконцентрировать активность в единственном пике. Окончательное разделение компонентов этого пика на колонке Altex Ultrasphere ODS (элюция 2%-ным раствором ацетонитрила в воде) позволило получить семь компонентов, из которых шесть представляли собой индивидуальные восстановленные гептасахариды, а седьмой, как показали дальнейшие исследования, был смесью двух таких соединений. Элиситорной активностью обладало только соединение 6 (схема 1).

Таким образом, в процессе выделения элиситора 6 авторам работы¹⁹ удалось решить задачу поистине уникальной сложности: единственный активный олигосахарид был выде-

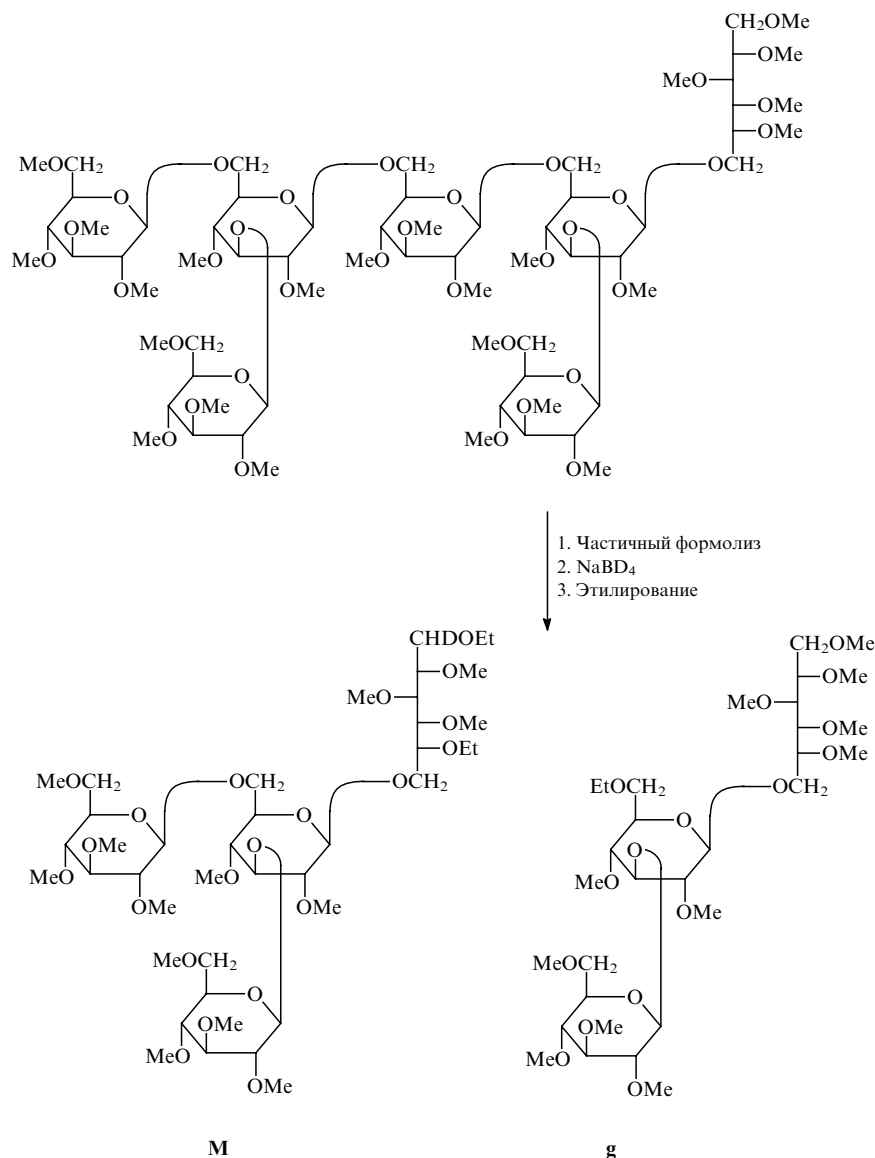
Схема 1



лен из смеси, насчитывающей сотни близкородственных соединений. Хотя авторы этой работы не были ограничены в исходном материале клеточных стенок, колоссальная трудоемкость процедуры выделения позволила располагать конечными гептасахаридами только в количествах порядка 50 мкг. Для установления строения этих веществ пришлось специально разработать стратегию и методы структурного анализа (см., например,^{21,22}), которые позволили ограничиться столь малыми количествами исследуемых соединений.

Степень полимеризации как незамещенных, так и метилированных олигосахаридов определяли с помощью масс-спектрометрии (МС) с бомбардировкой быстрыми атомами. Моносахаридный состав (и одновременно абсолютную конфигурацию) анализировали с помощью ГЖХ триметилсилильных производных (+)-2-бутилгликозидов гидролизата²³ (во всех случаях были найдены только D-глюкоза и сорбит). Пиранозные формы моносахаридных остатков и β -конфигурации всех гликозидных центров были доказаны с помощью спектров ЯМР ¹H метилированных олигосахаридов. Несмотря на крайне малые количества исследуемых соединений, удалось получить четкие сигналы аномерных протонов и убедиться, что область спектра 5.0–5.5 м.д., в которой наблюдаются сигналы протонов H(1) α -глюкопиранозных остатков, свободна; кроме того, обнаруженные в спектре сигналы H(1) имели константы спин-спинового взаимодействия (KCCВ) больше 7.2 Гц, характерные для *транс*-диаксиальных протонов. В спектрах метилированных соединений 2–8 наблюдался четырехпротонный сигнал при 4.37 м.д., отнесенный к аномерным протонам глюкозных остатков, присоединенных по O(6), и двухпротонный сигнал при 4.73 м.д., характерный для аномерных протонов остатков, связанных с O(3) соседнего звена. Отнесение этих сигнала

Схема 2



лов было выполнено по аналогии с метилированными генциобиозидом и ламинарибиозидом соответственно.²⁴

Решить наиболее сложную задачу, а именно, выяснить расположение межмономерных связей и последовательность моносахаридных остатков в олигосахаридах удалось с помощью масс-спектрометрического исследования продуктов метилирования. Сама стадия метилирования выполнялась по методу Хакомори, модифицированному для микроколичеств вещества,^{21,22} а выделение метилированных олигосахаридов из реакционной смеси проводили с помощью патронов Sep-Pak C-18.²⁵ Анализ полученных производных включал в себя частичный формолиз, восстановление продуктов формолиза NaBD₄, этилирование восстановленных фрагментов по освободившимся гидроксильным группам и установление их строения с помощью ГЖХ-МС. В результате применен-

ного способа дериватизации по включению атома дейтерия можно было отличить все фрагменты, восстанавливающие свойства которых обусловлены отщеплением от исходной молекулы при формолизе; этильными группами были отмечены освобождающиеся при этом гидроксилы (схема 2).²⁶

Естественно, что при частичном формолизе, кроме указанных на схеме 2 фрагментов **M** и **g**, образуются и многие другие вещества. В целом для олигосахарида **6**, например, были идентифицированы три- (**f**, **g**, **n**, **r**, **s**) и тетрасахаридные (**G**, **M**) продукты расщепления, показанные на схеме 3.

Аналогичные фрагменты образуются и из других метилированных гептасахаридов. Все их можно разделить на три структурных типа: линейные олигосахариды, фрагменты с разветвлением на полиоле и вещества с разветвлением на внутреннем остатке глюкозы. Строение всего набора фрагментов, характерного для каждого олигосахарида, можно установить с помощью ГЖХ-МС. На схеме 4 приведены наиболее вероятные пути масс-спектрометрической фрагментации и диагностические ионы для представителей каждого из трех упомянутых структурных типов (**g**, **s**, **G**). Диагностические ионы в масс-спектре относятся к сериям A, J и ald, номенклатура фрагментов такая же, как в работах^{27,28}.

Последовательно применяя перечисленные выше методы к выделенным соединениям, авторы²⁶ сумели установить для

Схема 3

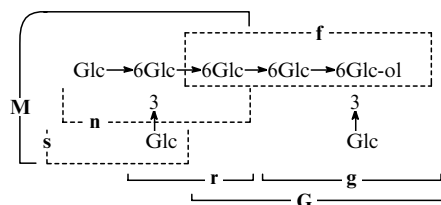
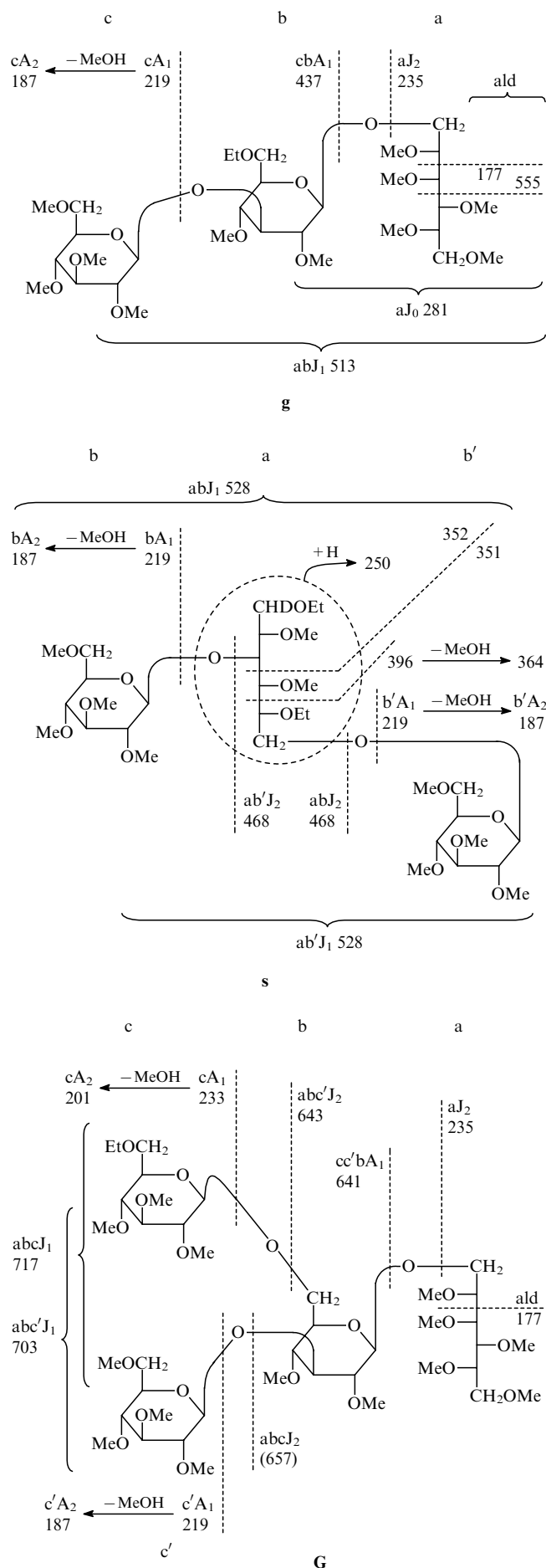


Схема 4



них структуры, приведенные на схеме 1 (вещества **3** и **4** не разделились, и их строение было определено из анализа смеси).

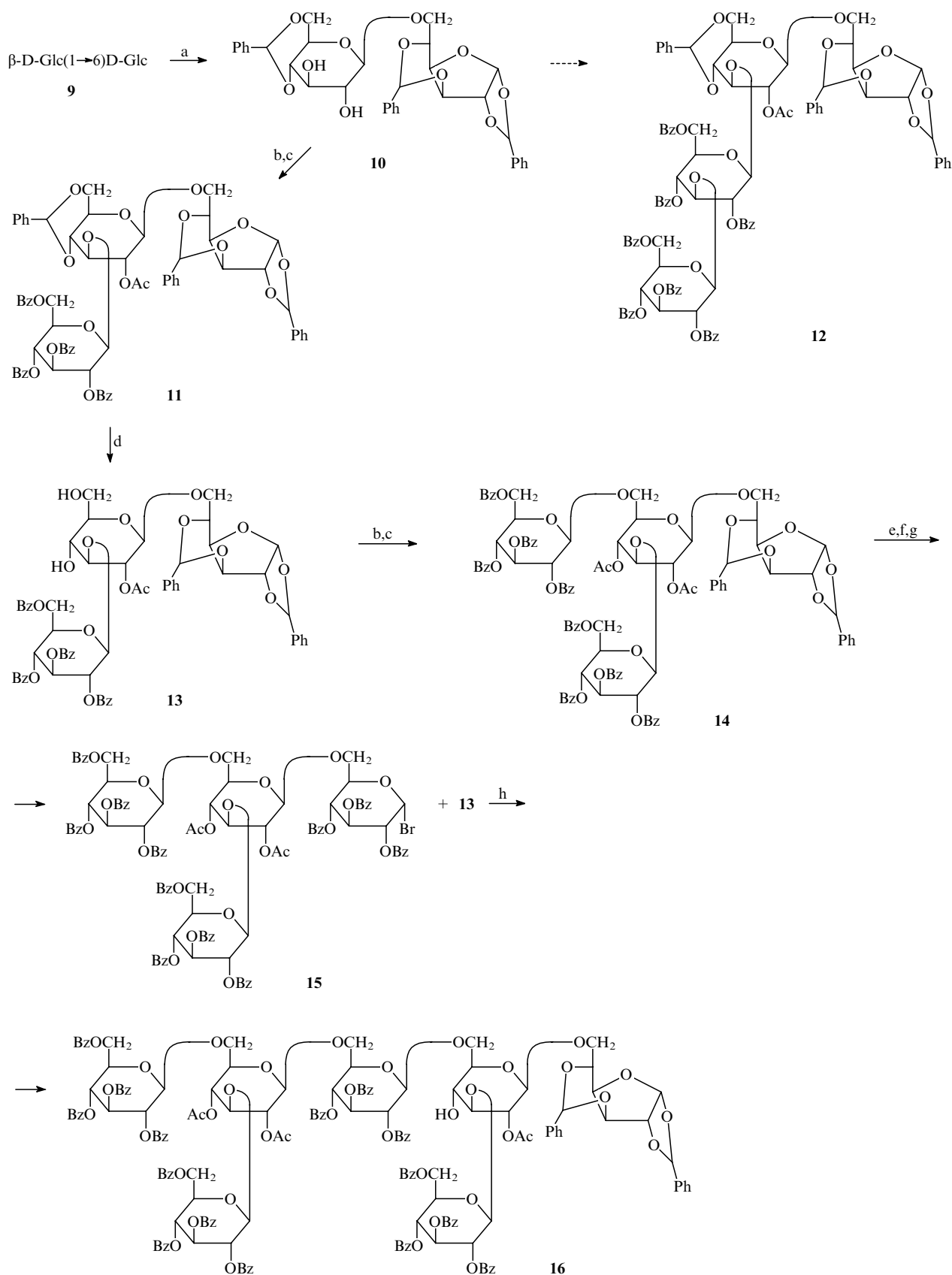
Первый из выделенных гептасахаридов представляет собой фрагмент молекулы целлюлозы и, следовательно, отличается по происхождению от всех прочих гептасахаридов, которые являются фрагментами молекул β-глюкана клеточной стенки гриба. Несмотря на очевидное сходство в строении этих гептасахаридов, оказалось, что элиситорной активностью обладает лишь один из них, причем эта активность отчетливо обнаруживается при действии 1 пМ вещества **6** на 1 мл растительной ткани (наивысшая из известных элиситорных активностей) и не изменяется в присутствии 20-кратного избытка изомерных олигосахаридов. Этот удивительный результат впервые продемонстрировал, что сигнальными молекулами, в ответ на появление которых мобилизуются защитные системы растения-хозяина при поражении патогенными грибами, могут быть чисто углеводные фрагменты биополимеров клеточной стенки гриба, а система, воспринимающая сигнал, способна четко различать даже очень сходные по строению олигосахариды.

Способ получения гептасахаридов из природного источника в принципе допускал возможность того, что носителем биологической активности служит какое-то другое вещество, лишь случайно совпадающее по хроматографическим свойствам с этим гептасахаридом. Для исключения этой гипотезы был предпринят встречный синтез²⁹ гептасахаридного фрагмента β-глюкана гриба, успешное завершение которого совпало по времени с окончательным установлением структуры природного вещества **6**.²⁶ Статьи по выделению,¹⁹ установлению строения,²⁶ синтезу²⁹ этого олигосахарина и сравнительному изучению биологической активности природного и синтетического олигосахаридов³⁰ были опубликованы вместе в 1984 г.

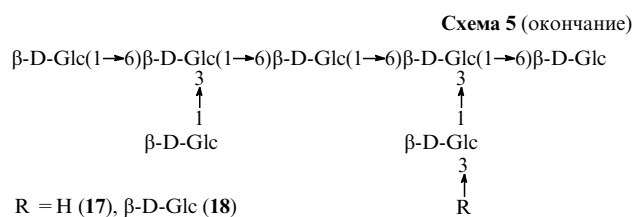
Для синтеза **6** была разработана изящная и весьма рациональная схема (схема 5), исходным веществом для которой послужила генциобиоза **9**. Конденсация этого дисахарида с бензальдегидом привела к три-О-бензилиденовому производному **10**, содержащему две свободные гидроксильные группы. Частичное ацетилирование этого вещества давало смесь 2-О- и 3-О-ацетильных производных, но гликозилирование действием 2,3,4,6-тетра-О-бензоил-α-D-глюкопиранозилбромида в присутствии трифлата серебра проходило региоспецифически в положение 3. При последующем ацетилировании был получен защищенный трисахарид **11**. Аналогично, но с гепта-О-бензоил-α-ламинарибиозилбромидом в качестве гликозилирующего агента, был синтезирован тетрасахаридный аналог **12**.

Гидролиз соединения **11** в довольно необычных условиях — при действии раствора дихлоруксусной кислоты в водной уксусной кислоте — привел к избирательному удалению одной из трех бензилиденовых группировок, занимающей положения 4, 6. В результате было получено производное трисахарида **13** — ключевое соединение во всем синтезе. Действительно, с одной стороны, соединение **13** служило заготовкой для восстанавливающего конца будущего гептасахаридов, а с другой, его гликозилирование, проходящее избирательно по первичной спиртовой группе, и последующее ацетилирование дают тетрасахаридную заготовку **14** для невосстанавливающего конца целевого гептасахаридов.

Удаление бензилиденовых группировок из соединения **14**, вероятно, сопровождалось частичным гидролитическим расщеплением связей 1→6, поскольку галогенозу **15** удалось получить с выходом всего 24%, однако другие способы синтеза этого соединения были неэффективны. Конденсация галогенозы **15** с частично защищенным трисахаридом **13** в условиях гликозилирования, уже неоднократно использованных в этом синтезе ранее, привела к защищенному производному искомого гептасахаридов **16**. Деблокирование последнего дало гептасахарид **17**, который был восстано-



a) PhCHO, ZnCl₂; б) тетра-О-бензоил-α-D-глюкопиранозилбромид, CF₃SO₂OAg, сита 4Å, CH₂Cl₂; в) Ac₂O, Py; г) CHCl₂COOH – AcOH – H₂O; д) 90% AcOH; е) BzCl, Py; ж) HBr, AcOH – CH₂Cl₂; з) CF₃SO₂OAg, сита 4Å, CH₂Cl₂



лен в полиол, не отличающийся по химическим свойствам и по биологической активности от вещества, выделенного в результате гидролиза клеточной стенки гриба *Phytophthora megasperma*.³⁰ Использование в этой же последовательности синтетических операций соединения **12** вместо **11** привело к октасахариду **18**; биологическая активность соответствующего полиола составила 1/3 от активности гептасахаридного элиситора.

Синтетическое получение биологически активного олигосахарина устранило все сомнения относительно химической природы нового класса сигнальных соединений. Далее представляло большой интерес выяснить, каков механизм его сигнального действия и какие элементы структуры олигосахарина необходимы для проявления биологических свойств. Самые первые сведения о зависимости строения и биологической активности, полученные при сравнении вещества **6** с его аналогами **2–5**, **7** и **8**, были весьма приблизительными, так как авторы не располагали олигосахаридами в количествах, достаточных для подробного исследования. После успешного синтеза вещества **6** появилась надежда на синтетическое получение аналогов этого соединения. Правда, для этой цели необходимо было разработать новые синтетические пути, поскольку изящный целенаправленный способ получения олигосахарина **6** плохо подходил для синтеза его структурных аналогов.

Три года спустя появилось сообщение о новых способах получения олигосахаридов **17**,³¹ в которых авторы весьма эффективно использовали последние достижения в области гликозидного синтеза.³² На первых стадиях построения этой сложной молекулы, как и в первом синтезе, применялись бензоилированные гликозилгалогениды, обеспечивающие максимальные выходы и стереоспецифичность гликозилирования за счет соучастия бензоильной группы при C(2),³³ и трифлат серебра в качестве промотора.³⁴ На последних стадиях блочного синтеза гептасахарид гликозилирующими агентами служили тиогликозиды в присутствии метилтрифлата.^{35,36} Что касается защитных групп, то следует отметить весьма удачное использование в этом синтезе региоспецифического раскрытия 4,6-О-бензилиденовых ацеталей восстановительным расщеплением под действием комплекса боран – триметиламин и хлорида алюминия,³⁷ а также хлорацетильных группировок на первичных гидроксилах, избирательно удаляемых в присутствии других сложноэфирных групп при действии дитиокарбоната гидразина³⁸ или тиомочевины.³⁹ Последовательность синтетических операций ясна из схемы 6.

Исходным веществом для синтеза трисахаридного гликозидного донора **22** послужило 4,6-О-бензилиденное производное метилтио- $\beta\text{-D-глюкопиранозид}$ (**19**). Его гликозилирование 2,3,4,6-тетра-О-бензоил- $\alpha\text{-D-глюкопиранозилбромидом}$ и последующее восстановление привели к защищенному дисахариду **20**, а последующее восстановительное расщепление ацетальной группы и повторное гликозилирование тем же реагентом — к необходимому производному разветвленного трисахаридного гликозилакцептора **26** в качестве гликозилирующего агента было использовано соединение **20**, конденсация которого с бензил-2,3,4-три-О-бензоил- $\beta\text{-D-глюкопиранозилбромидом}$ (**23**), последующее восстановительное расщепление ацетальной группы и гликозилирование освободившегося первичного гидроксила 2,3,4-три-О-бензоил-6-О-хлораце-

тил- $\alpha\text{-D-глюкопиранозилбромидом}$ (**24**) дали трисахаридное производное **25**. Избирательное удаление хлорацетильной группы привело к акцептору **26**, гликозилирование которого тиогликозидным донором **22** и последующее удаление защитных групп позволили получить синтетический гептасахарид **17**, совпадающий по всем параметрам с веществом, синтезированным ранее.²⁹

Для наработки гептасахаридов в граммовых количествах схема синтеза была модифицирована (схема 7). Вещество **21** гликозилировали хлорацетилированным бромидом **24** и полученный хлорацетилированный тиогликозид **27** использовали как для получения трисахаридного гликозил-акцептора **28**, так и в качестве гликозил-донора для гликозилирования соединения **28**.

По сравнению с первым синтезом гептасахаридов **17**,²⁹ новый подход предоставлял несравненно более широкие возможности для получения аналогов и производных этого соединения. Неудивительно поэтому, что вслед за работой³¹ вскоре последовали новые статьи, развивающие это направление. Первая из них⁴⁰ была посвящена синтезу гептасахаридов **30** — аналога олигосахарина **17**, отличающегося от него положением разветвлений. В схеме этого синтеза использованы уже описанные промежуточные соединения **20**, **22–24**, методы гликозилирования и комбинации защитных групп (схема 8).

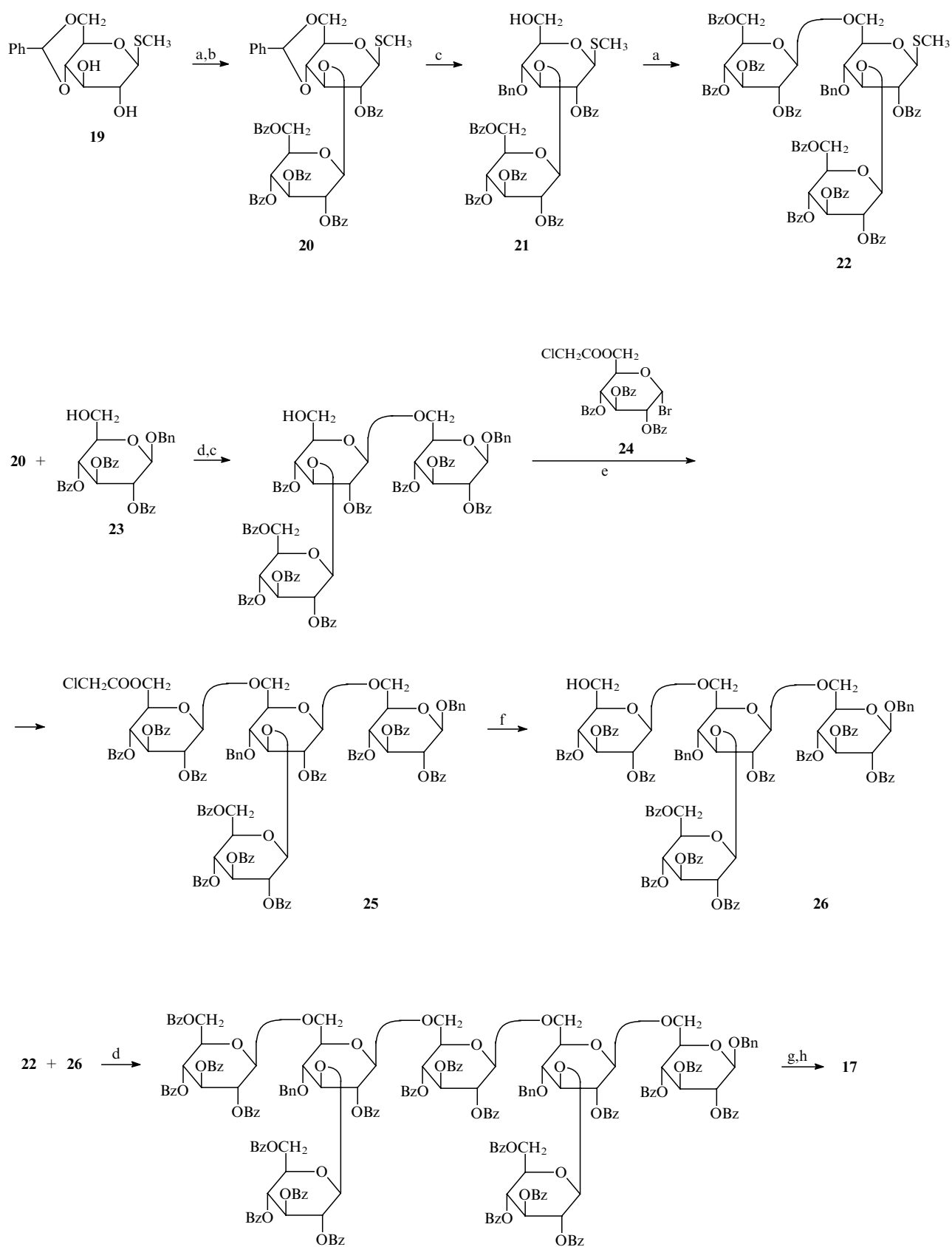
Однако наиболее плодотворным оказалось использование хлорацетилированного тиогликозида **27** для последовательного введения в синтезируемые молекулы разветвленных трисахаридных звеньев нужного строения. В очередной работе⁴¹ этот подход был применен для получения двух очень интересных соединений. Одно из них является гликозидом биологически активного гептасахаридов, где агликоном служит остаток метилового эфира ω -гидроксинановой кислоты (схема 9). Очевидно, что такой агликон можно использовать в качестве спейсера при получении аффинных сорбентов, предназначенных для выделения компонентов клетки, которые обладают специфическим сродством к структуре **6** или **17**, т.е. потенциальных рецепторов, воспринимающих химический сигнал.

Второе соединение, синтезированное авторами⁴¹, — это декасахарид **31**, в котором лишний раз повторен характерный трисахаридный структурный элемент молекулы **17**. Задачу построения столь сложной молекулы удалось решить путем трехкратного гликозилирования соответствующих предшественников производным разветвленного трисахаридов **27** (схема 10).

Сходный по смыслу подход, в котором также используется трисахаридный блок **32** с хлорацетильной группой на первичном гидроксильном остатке глюкозы, присоединенного в положение 6 соседнего звена, но с другими защитными группами на прочих гидроксильных, и с другим (трихлорацетимидатным) методом построения гликозидной связи,⁴² позволил японским исследователям получить α -аллилгликозиды гекса- **33** и нонасахаридов **34**, углеводные цепи которых построены по тому же плану, что и в соединении **6** (схема 11).⁴³ Теми же авторами были получены аналоги гексасахаридов **33**, содержащие в качестве одного из концевых невосстанавливающих звеньев остатки $\beta\text{-D-глюкозы}$, N-ацетил- $\beta\text{-D-глюкозамина}$ или $\beta\text{-D-глюкозамина}$.⁴⁴

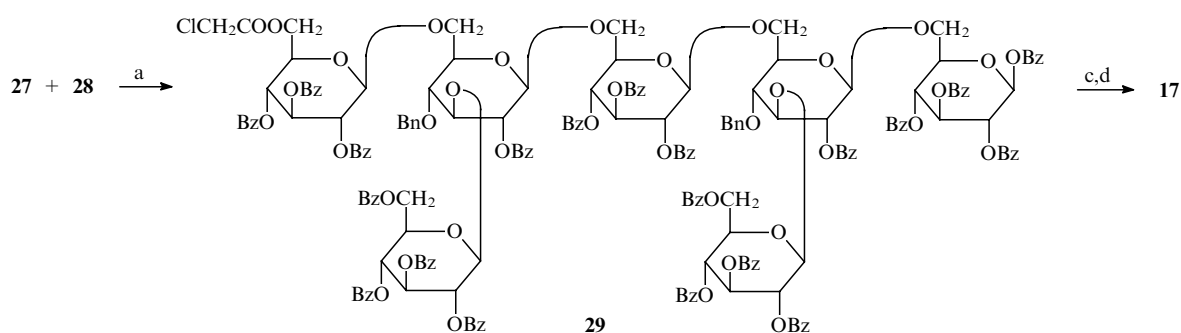
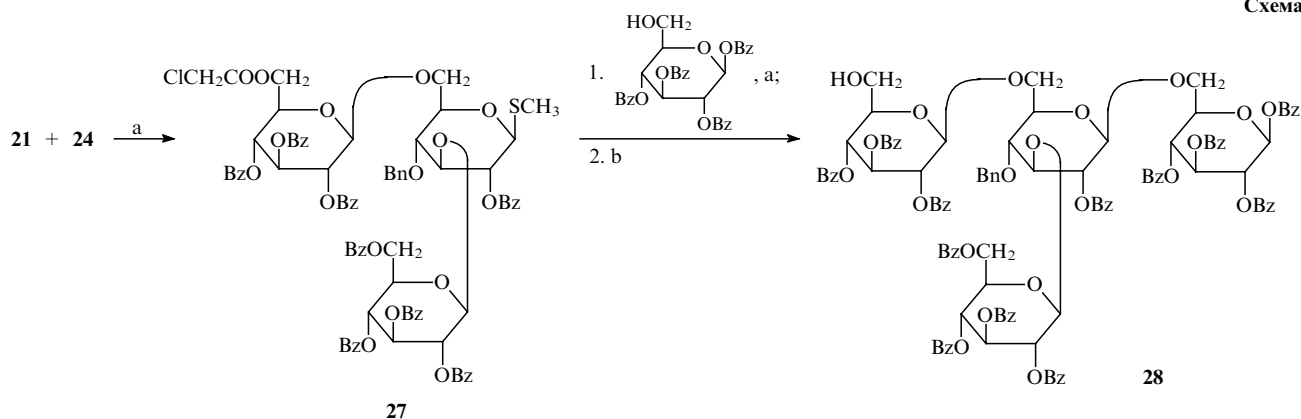
Первые наблюдения о влиянии структурных модификаций на элиситорную активность фрагментов β -глюкана гриба относятся ко времени выделения фракции гептасахаридов,¹⁷ когда было установлено, что восстановление гептасахаридов в соответствующие полиолы не сказывается на активности. Это означало, что восстанавливающий конец активного гептасахаридов можно, по-видимому, подвергать значительным изменениям без снижения элиситорных свойств. Такая особенность гептасахаридов **17** была использована двумя группами авторов^{44,45} для синтеза его конъюгатов с тирамином **35** и с 2-(4-аминофенил)этиламином **37** по

Схема 6



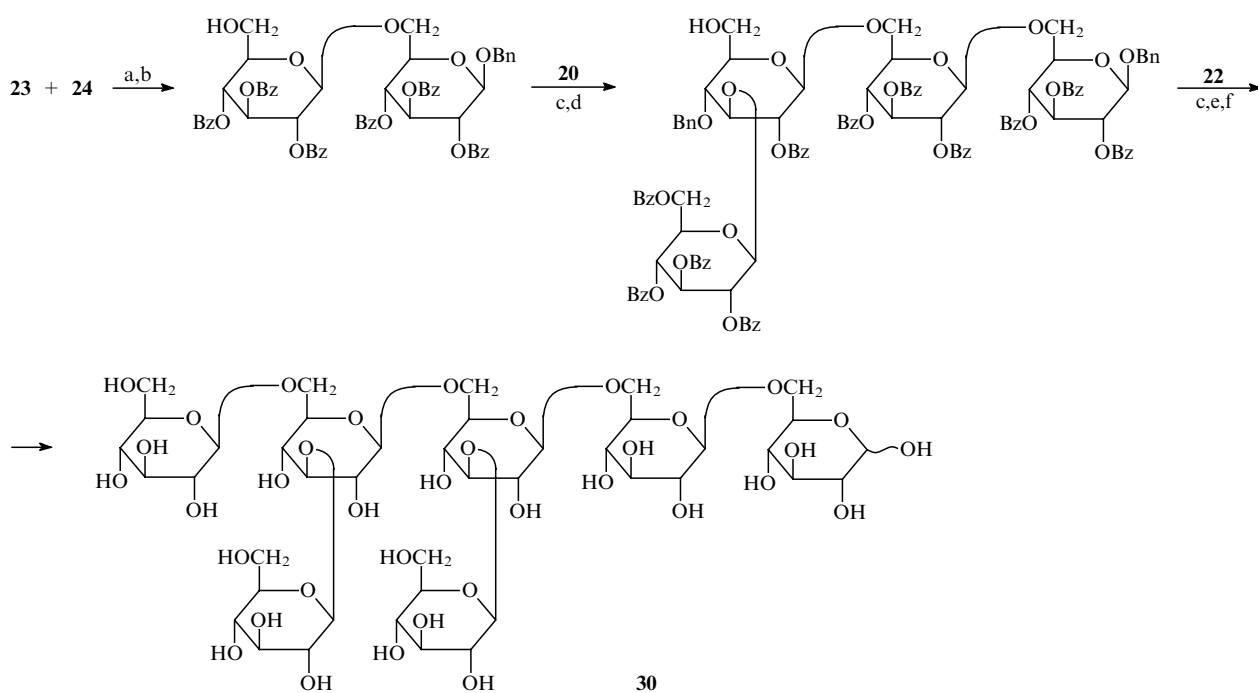
a) тетра-О-бензоил- α -D-глюкопиранозилбромид, CF₃SO₂OAg; b) BzCl, Py;
 c) BH₃ · Me₃N, AlCl₃; d) CF₃SO₂OMe, сита 4Å, CH₂Cl₂; e) CF₃SO₂OAg;
 f) H₂NNH₂ · H₂COS₂; g) MeONa, MeOH; h) H₂/Pd — C

Схема 7



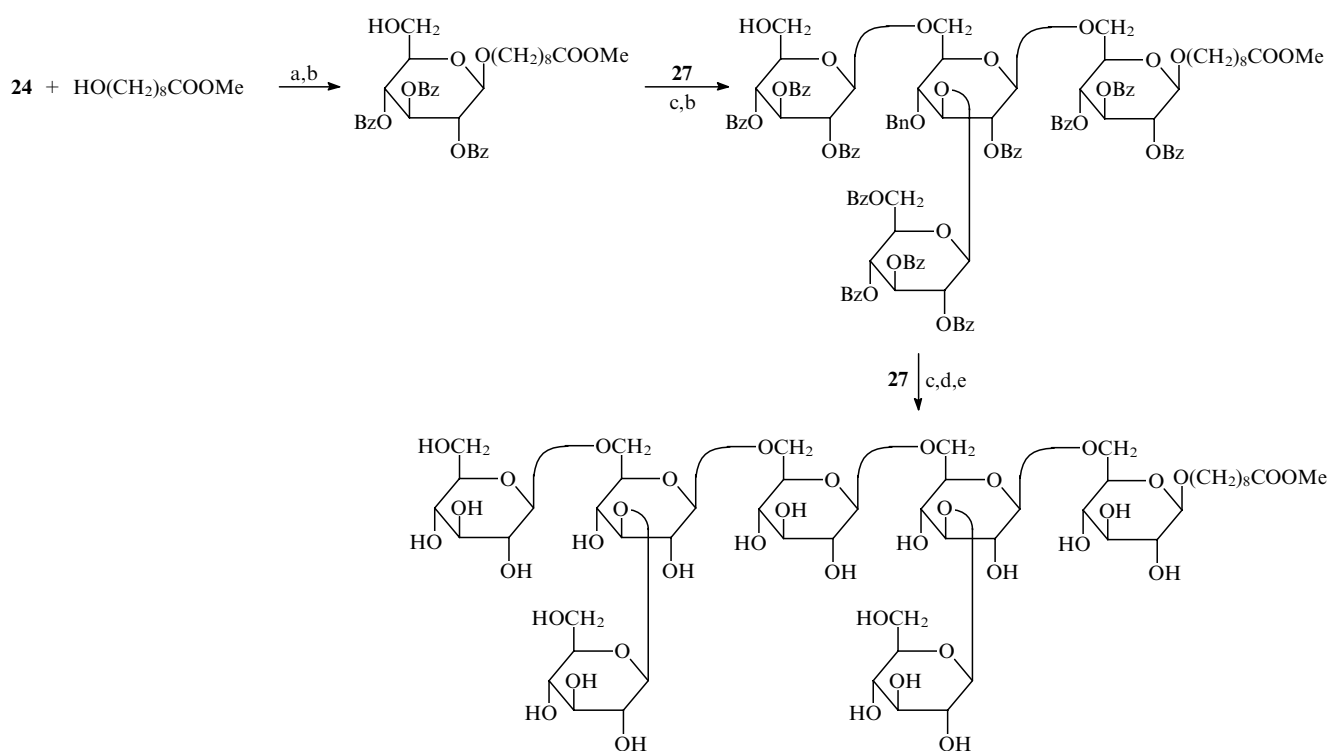
a) $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{OMe}$, сита 4Å, CH_2Cl_2 ; b) $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{COS}_2$;
 c) MeONa , MeOH ; d) $\text{H}_2/\text{Pd}-\text{C}$

Схема 8



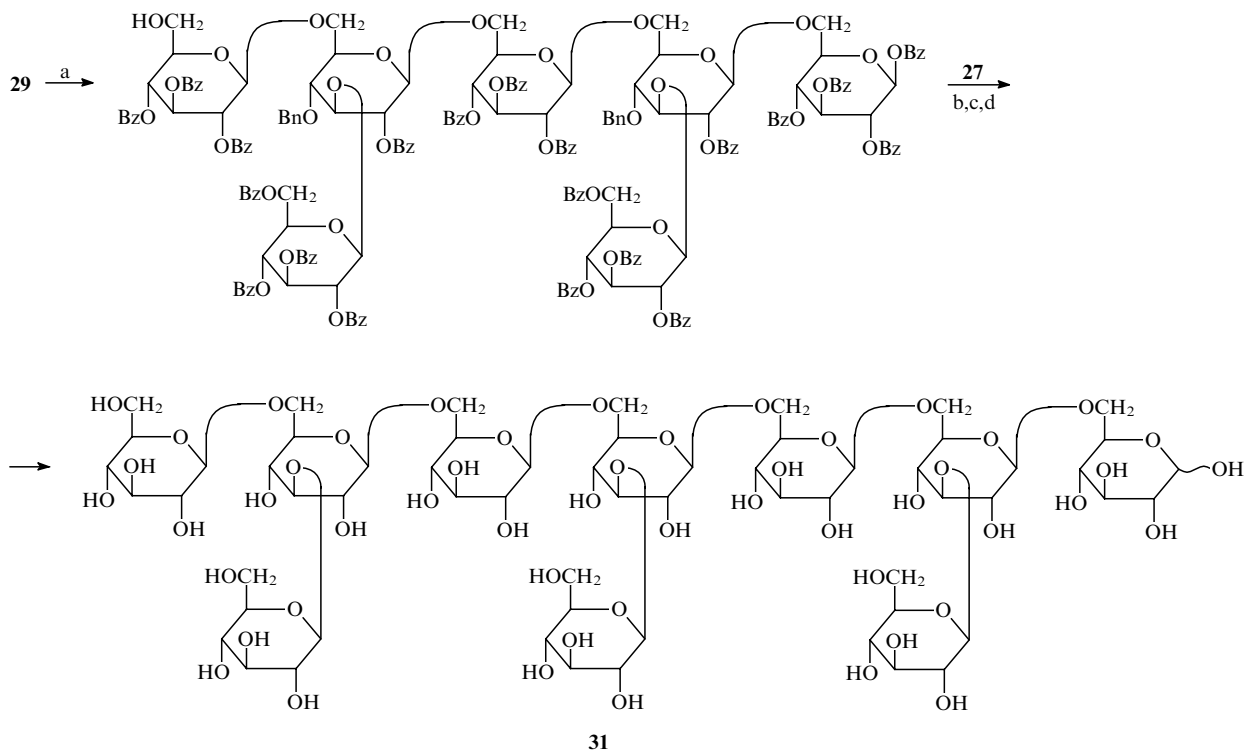
a) $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{OAg}$, сита 4Å, CH_2Cl_2 ; b) $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{COS}_2$; c) $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{OMe}$, сита 4Å, CH_2Cl_2 ; d) $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_3\text{N}$, AlCl_3 ; e) MeONa , MeOH ; f) $\text{H}_2/\text{Pd}-\text{C}$

Схема 9



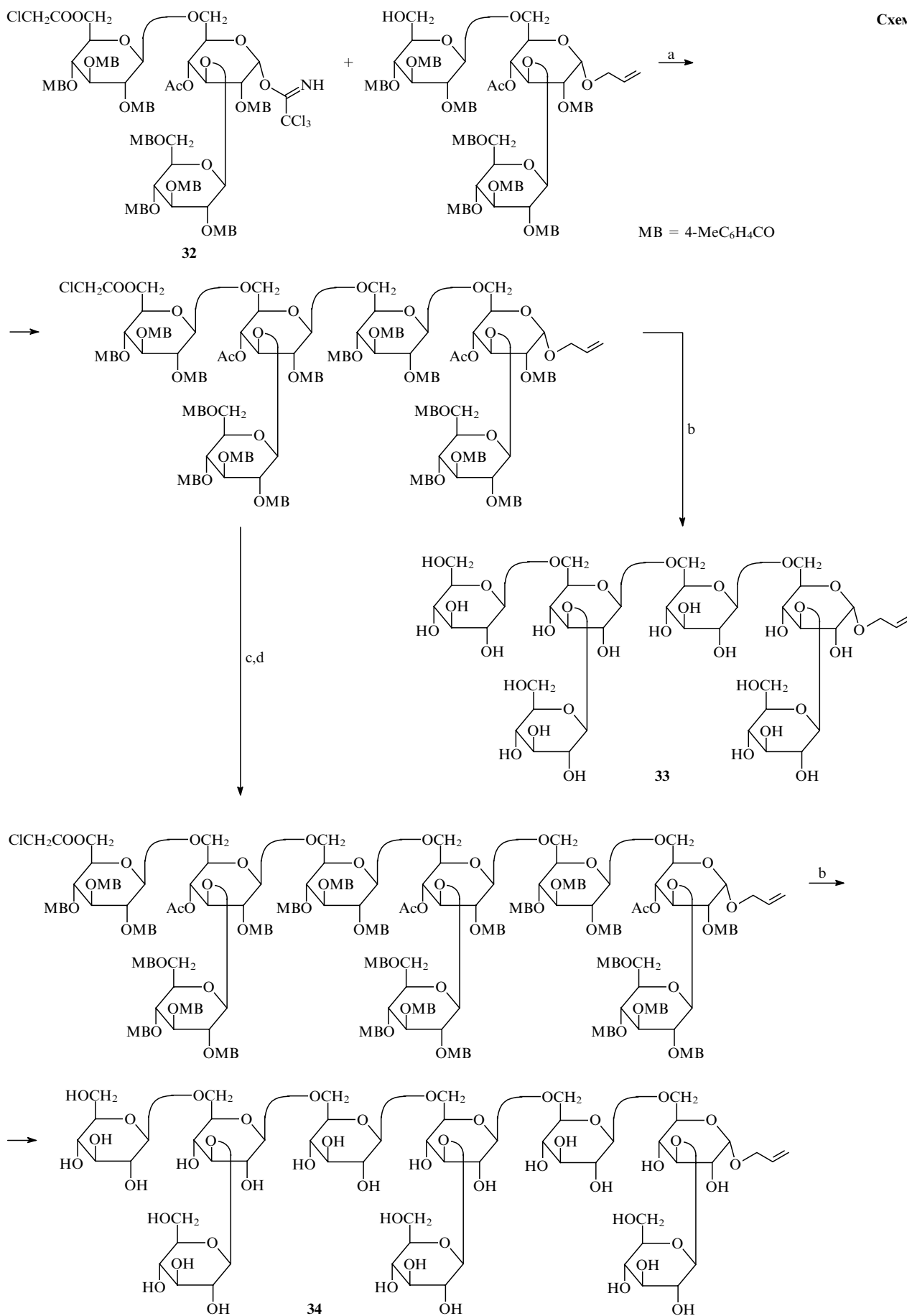
a) $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{OAg}$; b) $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{COS}_2$; c) $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{OMe}$;
 d) MeONa , MeOH ; e) $\text{H}_2/\text{Pd}-\text{C}$

Схема 10



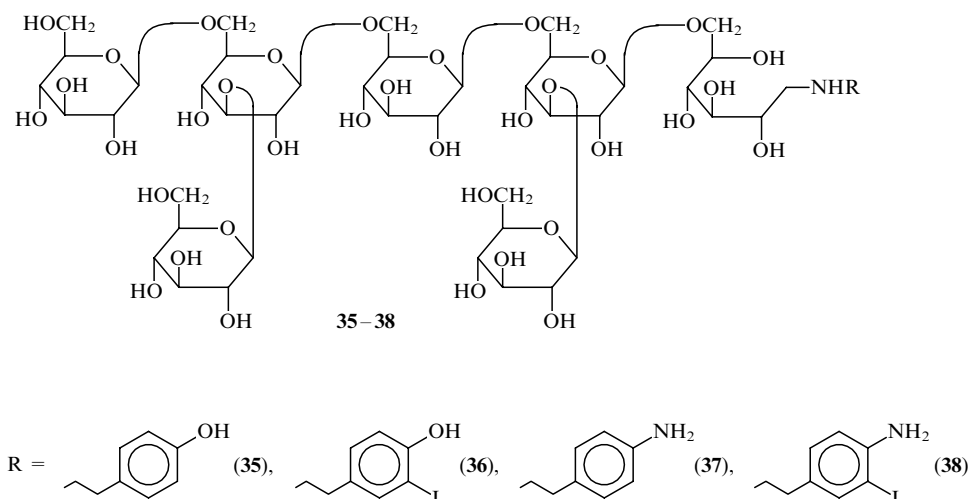
a) $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{H}_2\text{COS}_2$; b) $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{OMe}$, сита 4Å, CH_2Cl_2 ;
 c) MeONa , $\text{MeOH} + \text{THF}$; d) $\text{H}_2/\text{Pd}-\text{C}$

Схема 11



a) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, сита AW-300, $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$; b) MeONa , MeOH ;
 c) H_2NCSNH_2 , EtOH ; d) **32**, a

Схема 12



реакции восстановительного аминирования. Иодирование этих конъюгатов радиоактивным иодом позволило получить меченые иод-производные **36** и **38**, крайне необходимые для изучения механизма действия и судьбы олигосахарина в растительной клетке (схема 12).

Сравнительное исследование элиситорной активности большинства упомянутых выше синтетических аналогов природного олигосахарина описано в работе⁴⁴. В результате количественных измерений установлено, что минимальной по размеру активной молекулой является гексасахаридный аллилгликозид **33**; практически такой же активностью обладает гептасахарид **17** и высшие олигосахариды **31** и **34**. Для проявления элиситорной активности весьма важен разветвленный трисахаридный фрагмент невосстанавливающего конца этих молекул. Его модификация, например, замещение одного из терминальных остатков глюкозы на остаток глюкозамина или N-ацетилглюкозамина, снижает активность в 10–1000 раз. Активность также снижается в 1000 раз, если боковые остатки глюкозы расположены рядом, как в **30**, а не через одно звено, как в природном элиситоре. В то же время допустима разнообразная модификация восстанавливающего конца гептасахаридов. Так, активность сохраняется у α -аллилгликозида гексасахаридов **33**; конъюгация гептасахаридов **17** с тирамином и последующее иодирование также практически не сказываются на активности.

Первые попытки изучения механизма действия олигосахаридных фрагментов β -глюкана гриба на клетки растений были проведены с использованием сложной гетерогенной смеси таких фрагментов,^{46–49} однако более надежные данные были получены с помощью синтетических олигосахаридов.^{45, 50} В этих последних работах были применены меченные ¹²⁵I конъюгаты олигосахарина с тирамином или 2-(4-аминофенил)этиламин. Выяснилось,⁵¹ что в мембранах растительных клеток существуют центры специфического связывания олигосахаридов, а процесс их связывания характеризуется насыщением, обратимостью и сродством ($K_s = 7.5 \cdot 10^{-10}$ М), сравнимым с концентрацией вещества **6**, необходимым для проявления элиситорной активности. Все центры связывания однотипны и инактивируются при протеолитической или тепловой обработке, что свидетельствует в пользу их белковой (или гликопротеиновой) природы. Конкурентное ингибирование связывания многочисленными аналогами демонстрирует прямую зависимость сродства к активному центру и элиситорной активности. Все эти данные служат подтверждением гипотезы о наличии в мембране растительных клеток специфических рецепторов для олигосахаридов. Высокий уровень специфичности и дискриминирующей способности системы узнавания объясняется тем,

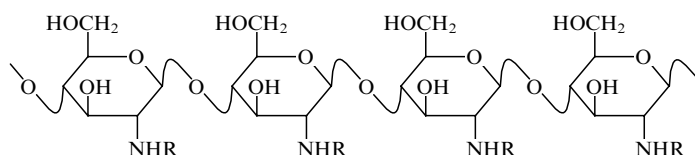
что клетки должны уметь распознавать низкие концентрации фрагментов чужеродного полисахарида на фоне весьма значительных количеств 1→4-, 1→3- и 1→3,1→4- β -D-глюканов, присутствующих в норме в здоровом растении.

Запуск синтеза фитоалексинов является не единственным биологическим эффектом олигосахаридов **17**. Параллельно мобилизуются и другие защитные механизмы растения (подробнее о множественном действии олигосахаридов см. ниже, в следующих разделах обзора), и, в частности, происходит индукция синтеза β -глюканазы — фермента, присутствующего и в здоровых растительных клетках, способного расщеплять β -глюкан клеточной стенки гриба с образованием сигнальных олигомеров. Если раньше защитную функцию ферментов этого типа трактовали как прямое действие на клеточную стенку фитопатогена, ограничивающее его рост, то с открытием олигосахаридов роль β -глюканазы представляется скорее как генерация сигнальных молекул, стимулирующих множественные защитные механизмы растения-хозяина.

В заключение этого раздела следует отметить, что в результате весьма интенсивных химических исследований гептасахарид **17** и его аналоги стали довольно доступными веществами. Опубликовано⁵² прекрасное практическое руководство по методам получения и характеристике этих соединений, включая синтез конъюгатов с тирамином и введение в них изотопа ¹²⁵I. Поэтому в самое ближайшее время следует ожидать новых открытий в области механизма действия веществ рассматриваемого типа на растительные клетки.

2. Олигосахаридные фрагменты хитина и хитозана

Клеточные стенки фитопатогенных грибов, наряду с β -глюканом, содержат хитин — нерастворимый высокомолекулярный гомополимер, линейные молекулы которого построены из 1→4-связанных остатков N-ацетил- β -D-глюкозамина, и хитозан — продукт деацетилирования хитина (схема 13).^{53, 54} В высших растениях эти полимеры отсутствуют, но ферменты, способные расщеплять углеводные цепи хитина и хитозана — хитиназы и хитозаназы — представлены очень широко.^{55, 56} Поскольку очевидно, что эти ферменты не принимают участия в первичном метаболизме самих растений, предполагается, что их назначением является защита растений от патогенных грибов. Действительно, нарушая четко сбалансированные процессы биосинтеза и лизиса компонентов растущих клеточных стенок гриба, хитинолитические ферменты растений могут ограничивать его рост.⁵⁷ В то же время олигосахаридные фрагменты, образующиеся при ферментативном гидролизе хитина и хитозана, служат сигнальными молекулами, в



R = Ac, H

Схема 13

ответ на появление которых включаются механизмы синтеза фитоалексинов и другие защитные реакции растения. Это явление должно играть не меньшую роль во взаимодействии растений с патогенными грибами.

В отличие от разветвленного β -глюкана, линейные и содержащие единственный тип связи хитин и хитозан при фрагментации дают сравнительно менее сложный набор олигосахаридов, которые могут отличаться друг от друга только степенью полимеризации, степенью ацетилирования и (при неполном ацетилировании) распределением ацетильных групп. Олигосахаридные продукты фрагментации молекул хитина и хитозана могут быть приготовлены из этих полисахаридов химическими методами^{58–61} или ферментативным гидролизом.⁶² Однако технические трудности при выделении индивидуальных олигомеров достаточно велики, вследствие чего большинство исследований биологической активности проведено с использованием в качестве элиситоров либо целых клеточных стенок фитопатогенных грибов, либо полимерных хитина и хитозана; часто применяют и олигосахаридные фракции, содержащие 2–3 олигомергомолога.

Образование фитоалексинов под действием хитозана и его фрагментов было обнаружено как на тканях целого растения,⁶³ так и в суспензионной культуре растительных клеток.^{64, 65} Одновременно при этом включаются и другие защитные системы растений, такие как образование ингибиторов протеиназ^{66, 67} или синтез защитного (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-глюкана каллозы;^{65, 68} олигосахаридные фрагменты хитина стимулируют также лигнификацию клеточных стенок.^{69–71} Особенно ярко выражена индукция образования хитиназ^{72, 73} и хитозаназ,⁷⁴ которые вместе с ингибиторами протеаз и 1,3- β -глюканазами относятся к группе белков, связанных с патогенезом.^{75, 76} Показано, что защитное действие хитиназ действительно заключается как в непосредственном ингибировании роста гриба,^{77, 78} так и в образовании элиситоров множественных защитных систем растения-хозяина путем расщепления биополимеров клеточной стенки фитопатогена.⁷⁹ Интересно отметить, что трансгенные растения табака, несущие ген хитиназы бобов, обладают повышенной устойчивостью к поражению почвенными грибами.⁸⁰

Хитиназы растений, как правило, представляют собой комплекс из нескольких экзо- и эндо-ферментов. При изуче-

нии индукции хитиназ под действием индивидуальных олигосахаридов хитина было установлено,⁸¹ что гексасахарид служит наилучшим стимулятором экзо-хитиназной активности, тогда как эндо-хитиназная активность наиболее эффективно стимулируется гептасахаридом, а окта- и нона-сахарид также обладают заметным элиситорным действием. Низшие олигосахариды (включая тетрамер) и фракция высших олигосахаридов со степенью полимеризации 13–20 оказались практически не активными. Ответ растения на введение элиситоров был довольно быстрым: максимальная активность индуцированных хитиназ наблюдалась через 12–24 ч, причем ферменты обнаруживались не только в месте нанесения олигосахаридов (семядоли проростков дыни), но и в удаленных частях растения (листья). Показано, что биосинтез хитиназ связан с активацией соответствующих генов и образованием иРНК,^{82, 83} однако обусловлено ли это явление проникновением олигомеров хитина в ядро клетки, пока не установлено; неизвестен и механизм распространения сигнала по тканям растения.

При проявлении других типов биологической активности также наблюдалась связь между эффектом и степенью полимеризации или структурой олигосахарида, хотя подробно этот вопрос не изучен. Так, лигнификацию поврежденных листьев пшеницы индуцируют хитоолигосахариды со степенью полимеризации выше 4, но не соответствующие фрагменты хитозана.⁷⁰ Напротив, элиситорами образования фитоалексина пизатина в стручках гороха служат олигомеры хитозана (степень полимеризации больше 7), но не хитина.^{79, 84} В то же время дезацетилированные и частично ацетилированные олигосахариды, содержащие более четырех моносахаридных остатков, одинаково эффективно стимулируют образование ингибиторов протеиназ в листьях томата и картофеля.^{66, 67}

3. Олигогалактурониды

Пектиновые вещества служат важными структурными компонентами первичной клеточной стенки растений.^{5, 85} Простейшим представителем пектиновых веществ является гомогалактуронан, или полигалактуроновая кислота — линейный полимер, состоящий из 1 $\rightarrow$ 4-связанных остатков α -D-галактуроновой кислоты, в молекулах которого часть

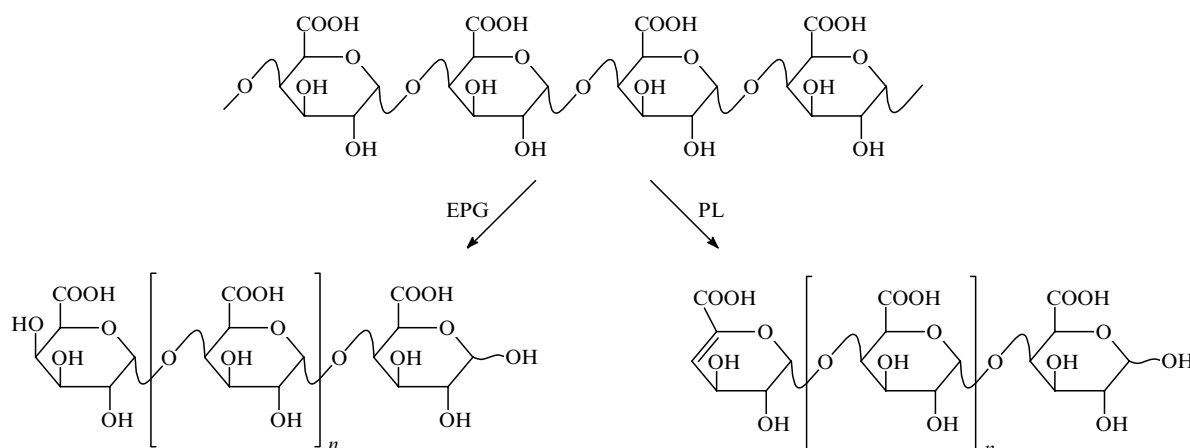


Схема 14

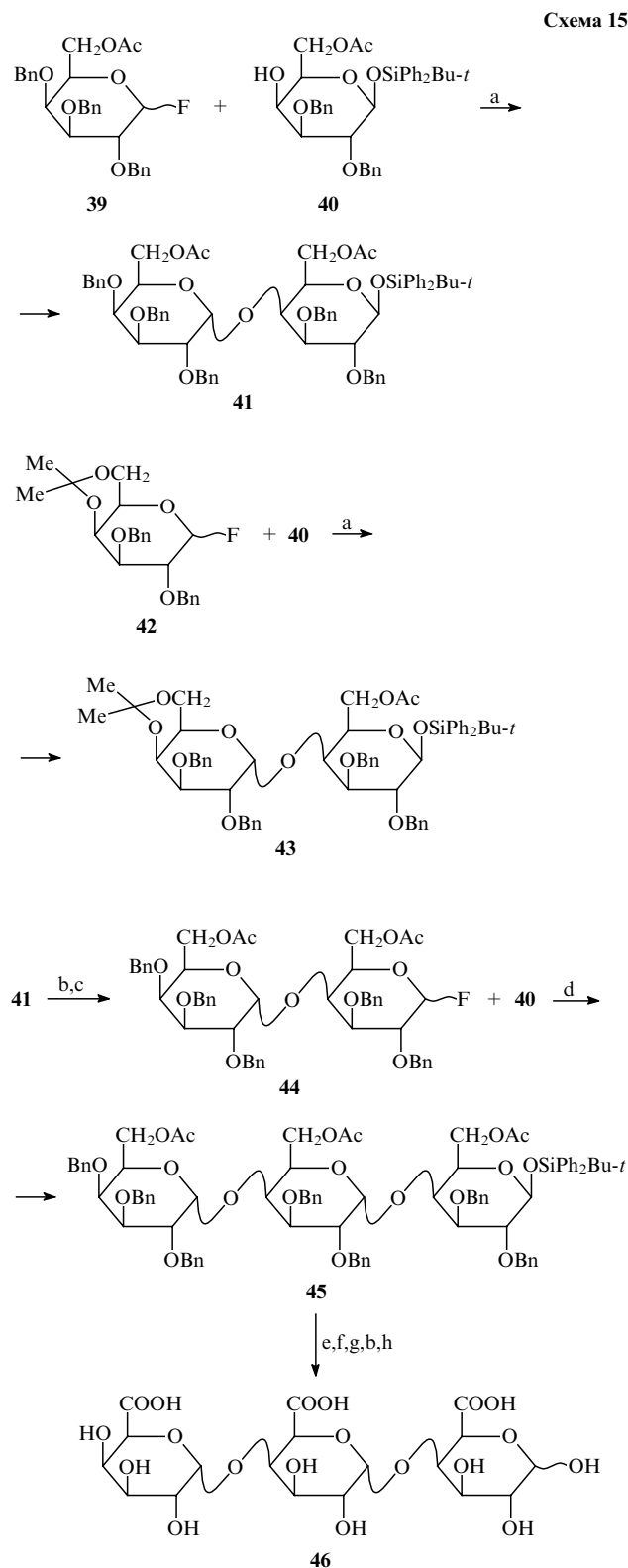
карбоксильных групп может находиться в виде метиловых эфиров. Многие микробные фитопатогены (как грибы, так и бактерии) продуцируют ферменты, способные расщеплять гомогалактуронан либо по реакции гидролиза (эндополигалактуроназы, EPG), либо по реакции элиминирования (пектацтиазы, PL). Образующиеся олигосахариды обладают активностью элиситоров фитоалексинов,⁸⁶ максимум которой приходится на олигомеры со степенью полимеризации 12 (схема 14).^{87–90} Растения содержат специфические ингибиторы EPG,⁹¹ которые регулируют активность ферментов, продуцируемых фитопатогенами, препятствуя слишком глубокому расщеплению полигалактуроновой кислоты, и способствуют тем самым накоплению высших олигосахаридов, обладающих элиситорным действием.⁹²

Вместе с образованием фитоалексинов под действием олигогалактуронидов включаются и другие защитные механизмы растения: например, происходит индукция эндо-(1→3)-β-глюканаз, хитиназ и лизоцима, которые расщепляют клеточные стенки фитопатогенных грибов и бактерий,^{93,94} освобождая элиситоры защитных реакций, описанные в предыдущих разделах. В присутствии олигогалактуронидов усиливается также лигнификация пораженных тканей.^{95,96} Важно отметить, что действие олигосахаридных элиситоров, происходящих из клеточных стенок гриба или бактерии, с одной стороны, и растения-хозяина — с другой, обладает синергизмом, т.е. защитные реакции растения включаются при более низких концентрациях олигосахаридов разного строения, если они действуют вместе.^{93,97}

Описано несколько других типов биологической активности олигогалактуронидов. Соединения со степенью полимеризации 2–20 индуцируют образование белков, ингибирующих протеазы насекомых; считается, что таким способом растение защищается от повреждений, наносимых растительноядными насекомыми.⁹⁸ В присутствии олигогалактуронидов суспензионные культуры клеток продуцируют внеклеточные изопероксидазы⁹⁶ и пероксид водорода.⁹⁹ Низкие концентрации олигогалактуронидов со степенью полимеризации 12–15 вызывают резкие изменения проницаемости по отношению к ионам K^+ и Ca^{2+} и деполяризацию плазматической мембраны клеток.¹⁰⁰ Олигосахариды со степенью полимеризации 14–15 индуцируют фосфорилирование белка 34 kDa, выделенного из плазматических мембран.¹⁰¹ Насколько эти воздействия на клеточную поверхность связаны с описанной выше элиситорной активностью олигогалактуронидов, еще предстоит выяснить.

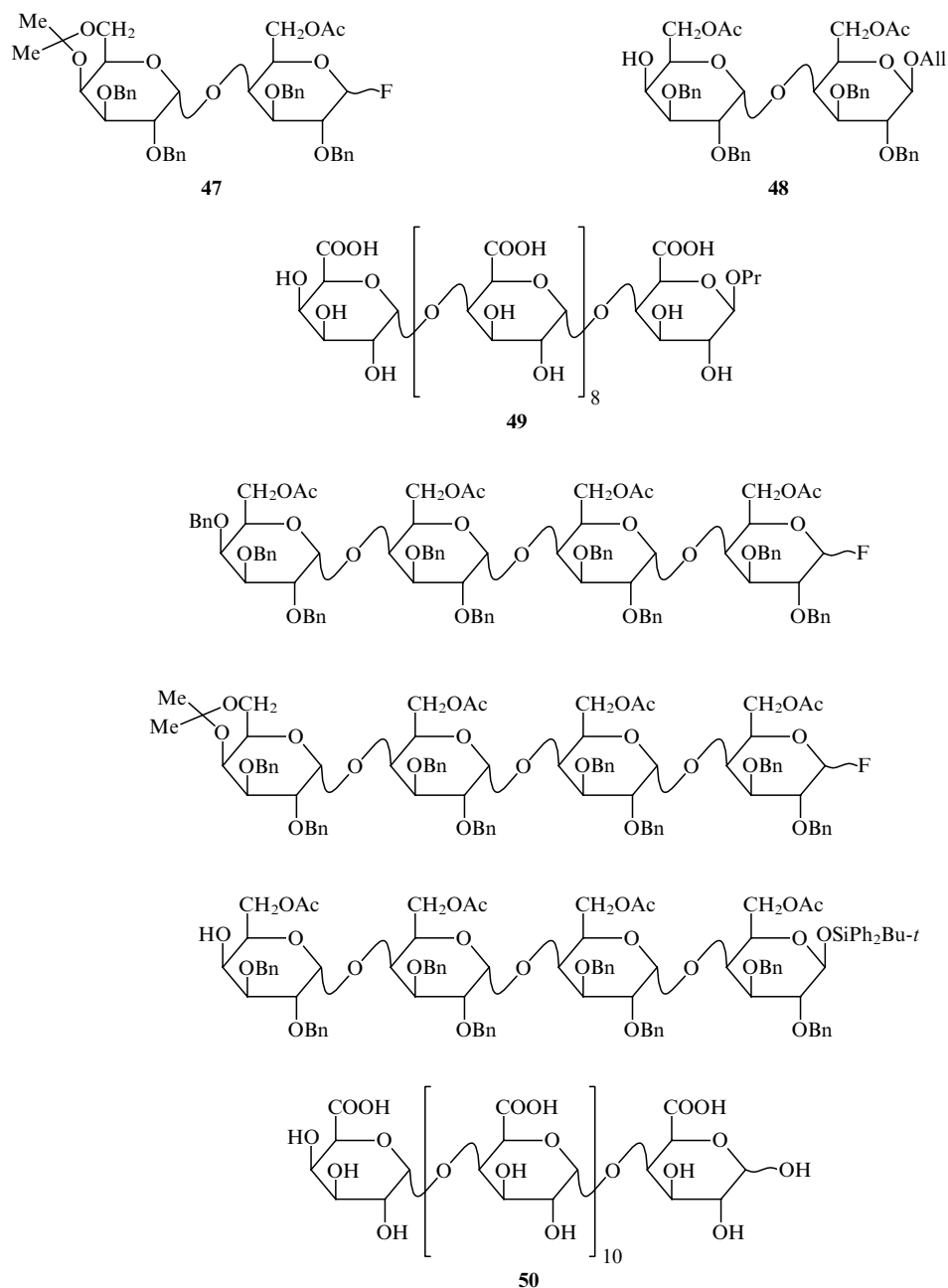
Структурные требования к биологически активным олигогалактуронидам существенно отличаются от таковых для описанного выше гептасакхаридного фрагмента β-глюкана грибов. Так, наличие на невозстанавливаемом конце олигогалактуронида «нормального» остатка α-D-галактуроновой кислоты или же Δ⁴-ненасыщенной уруновой кислоты (схема 14) практически не сказывается на активности. Напротив, восстановление боргидридом натрия в альдитол уменьшает активность.¹⁰² Последнее может быть связано с общим уменьшением заряда молекулы за счет лактонизации восстановленного конца.⁸ Активность падает также при этерификации⁸⁹ или восстановлении карбоксильных групп.⁹⁰ Критическая степень полимеризации, по-видимому, необходима для приобретения олигогалактуронидом стабильной конформации, обеспечивающей вполне определенное пространственное расположение заряженных группировок, поскольку кислые олигосахариды другой химической природы (фрагменты хондроитинсульфата, гиалуроната) или кислые полипептиды (полиглутамат) лишены элиситорных свойств.¹⁰²

Олигогалактурониды, необходимые для изучения механизма их действия на растительные клетки, могут быть получены в препаративных количествах из коммерческих препаратов пектина или полигалактуроновой кислоты двумя способами: частичным кислотным гидролизом или



ферментативным расщеплением.^{52, 103} Достоинством первого способа является простота и дешевизна, а второго — высокие выходы олигосахаридов и отсутствие жестких воздействий, которые могут вызвать нежелательные структурные изменения нативных молекул. Наиболее трудной задачей является разделение смеси олигосахаридов со степе-

Схема 16



нию полимеризации 10–15 на индивидуальные компоненты, проводящееся на пределе разрешающей способности современной хроматографической техники. Показано, что даже в случае успешного выделения гомополимерных фракций главные целевые компоненты могут содержать до 15% примесей, которые при той же степени полимеризации отличаются строением восстанавливающего конца и еще какими-то неизвестными элементами структуры.^{9, 10} Все это делает весьма привлекательным химический синтез олигогалактуронидов.

Синтетическое получение олигомергомологов α-D-галактуронозой кислоты на первый взгляд выглядит совершенно безнадежной задачей по двум соображениям: из-за отсутствия удобных синтетических методов построения α-гликозидных связей в целом и вследствие малой изученности методов гликозирования производными галактуронозой кислоты в частности. Тем не менее эта задача была успешно решена, когда Накахара и Огава предложили весьма оригинальную стратегию синтеза.^{104, 105} Авторы воспользовались сведениями о том, что бензилированные гликопиранозилфториды реагируют со спиртами в присутствии SnCl₂ и

AgClO₄, давая преимущественно 1,2-цис-гликозиды.¹⁰⁶ Для производных галактозы было установлено, что защищенный фторид **39** в этих условиях взаимодействует с частично защищенным производным **40** с образованием смеси α- и β-дисахаридов, из которой α-изомер **41** удалось выделить с хорошим выходом (схема 15). Фторид **42** реагировал еще более избирательно, давая почти исключительно α-связанный защищенный дисахарид **43**. Вещество **41** удалось легко превратить в дисахаридный фторид **44**, повторная конденсация которого с **40** привела к α-связанному трисахариду **45**. При дезацетилировании этого вещества с последующим двухстадийным окислением трех первичных спиртовых групп сначала в альдегидные действием диметилсульфоксида и оксалилхлорида,^{107, 108} а затем в карбоксильные хлоритом натрия в присутствии пероксида водорода¹⁰⁹ был получен тригалактуронид **46**. Пользуясь теми же приемами, авторы синтезировали далее модельный декасахарид, полученный, однако, не в свободном виде, а только в виде *n*-пропилгликозида **49** (схема 16). Для построения молекулы этого соединения были использованы дисахаридные блоки **44**, **47** и **48**.^{110, 111} Вещество **48** служило заготовкой для

восстанавливающего, а **44** — для невосстанавливающего конца будущего декасахарида. Центральная часть молекулы была построена путем трехкратного использования соединения **47** в качестве гликозил-донора: первый раз — в реакции с **48**, а затем, после каждого гликозилирования, новый гликозил-акцептор готовили, удаляя изопропилиденную группу из концевого невосстанавливающего остатка галактозы и проводя частичное ацетилирование по первичной спиртовой группе. Финальной стадией синтеза было одновременное окисление всех десяти первичных спиртовых групп.

Завершением этого цикла работ можно считать полный синтез додекасахаридного элиситора **50**, в этом случае молекула была собрана из тетрасахаридных блоков (схема 16).^{112, 113} Однако количество синтезированного таким способом олигосахарина было небольшим, и сведения о подробном изучении биологической активности синтетического образца до сих пор не опубликованы.

Для изучения механизма действия олигогалактуронидов необходимы производные, содержащие радиоактивную метку. Методика восстановительного аминирования с тирамином и последующее введение радиоактивного иода, использованные для гептаглюкозида **17** (см. выше), не рекомендуются для олигогалактуронидов; вместо этого предложено получать и иодировать гидразоны с тирозингидразидом.^{52, 114} Показано по крайней мере в одном из биотестов, что превращение додекагалактуронида в гидразон не влияет на биологическую активность.¹¹⁴

* * *

Подводя итог данной главе, отметим, что при взаимодействии растения с фитопатогенами может происходить ферментативное расщепление биополимеров клеточных стенок обоих партнеров. Некоторые из освобождающихся при этом олигосахаридов обладают специфической биологической активностью и действуют как элиситоры защитных реакций растения-хозяина, причем олигосахариды разного происхождения проявляют отчетливо выраженный синергизм этого действия. Хотя во многих экспериментальных работах анализировали только один из типов защитной реакции растения, по-видимому, во всех случаях происходит комплексный ответ на появление олигосахаридов, когда наряду с синтезом фитоалексинов активируются ферментные системы, расщепляющие клеточную стенку фитопатогена, усиливается процесс лигнификации тканей, что создает барьер для дальнейшего проникновения фитопатогена, и т. д. Тем самым олигосахариды по своему множественному (плейотропному) действию на растения напоминают «классические» фитогормоны — ауксины, гиббереллины, цитокинины, абсцизовую кислоту и этилен. Следует подчеркнуть, однако, что олигосахариды активны в существенно более низких концентрациях. Другая аналогия с фитогормонами — отсутствие видовой специфичности: сходное действие олигосахаридов продемонстрировано на многих представителях растительного царства, находящихся в весьма отдаленном родстве. Хотя механизм действия олигосахаридов еще не установлен, вероятно, в большинстве случаев происходит высокоспецифическое связывание олигосахарина с мембранным рецепторным белком, что и служит «сигналом тревоги» для включения всех защитных механизмов растения.^{8–10}

III. Олигосахариды как регуляторы роста и морфогенеза растений

1. Олигогалактурониды

Способность растительных клеток дифференцироваться, превращаясь в специализированные органы растения, конт-

ролируется многими факторами, среди которых первостепенное значение имеют гормоны, свет и температура.^{115, 116} Влияние различных химических соединений на процесс органогенеза можно проследить на эксплантах цветоножек табака, которые при культивировании на искусственной среде в течение 24 дней образуют цветки, вегетативные побеги или корни в зависимости от концентраций ауксина и цитокинина и от pH.¹¹⁷ В 1985 г. появилось сенсационное сообщение о том, что олигосахаридные фрагменты клеточных стенок растений (предположительно фрагменты пектиновых полисахаридов) меняют специфичность действия фитогормонов в отношении органогенеза.¹¹⁸ Однако прошло несколько лет, прежде чем удалось более тщательно охарактеризовать химическое строение активных олигосахаридов и добиться воспроизводимых результатов в этом достаточно капризном биотесте.^{119, 120}

Некоторое время считалось, что регуляторами органогенеза служат довольно сложные фрагменты пектиновых веществ, содержащие кроме D-галактуроновой кислоты еще и остатки нейтральных моносахаридов. Однако впоследствии было показано, что действующим началом являются все те же простые линейные олигогалактурониды, которые уже были рассмотрены выше как элиситоры фитоалексинов. В настоящее время известно,^{119–121} что олигогалактурониды со степенью полимеризации 10–14 индуцируют образование цветков и ингибируют образование корней в тех условиях, когда без добавления олигосахаридов экспланты табака образуют только корни либо вообще не дают новых органов. Олигогалактурониды действуют в концентрациях порядка 10^{-7} М, причем наибольшей активностью наделены соединения со степенью полимеризации 12–14. Наличие двух типов активности у этих олигосахаридов, вероятно, связано с тем, что одни и те же группы генов активируются как при органогенезе в здоровом растении, так и при биосинтезе белков, связанных с патогенезом.¹²²

Известно несколько других примеров влияния олигогалактуронидов на процессы развития растений. Так, смесь этих олигосахаридов замедляет рост сегментов стеблей гороха, вызванный ауксином, действуя в довольно высокой концентрации (10^{-4} М).¹²³ Более подробно этот тип активности изучен для фрагментов ксиллоглюкана, см. ниже. Олигогалактурониды вызывают образование этилена в плодах томата^{124, 125} и в суспензионной культуре клеток груши.¹²⁶ Они могут, следовательно, участвовать в сложном процессе гормональной регуляции созревания плодов.¹²⁷

2. Олигосахаридные фрагменты ксиллоглюкана

Ксиллоглюкан является универсальным компонентом гемицеллюлоз высших растений.^{5, 128–130} Его содержание в первичных клеточных стенках двудольных обычно составляет 20–25%, в злаковых эта величина может быть существенно ниже (2–5%). В значительных количествах ксиллоглюкан откладывается в семенах некоторых растений, где служит резервным питательным материалом, используемым при прорастании. Кроме глюкозы и ксилозы, в составе ксиллоглюканов находят галактозу, фукозу, арабинозу. Ксиллоглюканы разного происхождения, при общем плане построения молекул, могут различаться соотношением моносахаридов, в частности, резервные ксиллоглюканы обычно практически лишены остатков фукозы. Мы рассмотрим ниже строение типичных ксиллоглюканов двудольных, выделяемых из клеточных стенок или из культуральной среды суспензионных клеточных культур.¹³¹

Основой молекулы ксиллоглюкана служит линейная цепь из 1→4-связанных остатков β-D-глюкопиранозы, совпадающая по структуре с целлюлозой. Около 3/4 глюкозных остатков этой цепи замещены в положении 6 остатками α-D-ксилопиранозы (небольшая часть этих замещенных остатков глюкозы несет дополнительно в положении 2

остатки α -L-арабинофуранозы, β -D-ксилопиранозы или 3-O- α -L-арабинофуранозил- β -D-ксилопиранозы). В свою очередь от одной трети до половины ксилозных остатков замещены в положении 2 остатками β -D-галактопиранозы. Наконец, многие остатки галактозы имеют в положении 2 заместитель в виде остатка α -L-фукопиранозы. В тех случаях, когда удавалось выделить полисахарид без использования щелочной экстракции, было показано, что некоторые остатки галактозы могут нести одну или две ацетильные группы, занимающие положения 6, 3 или 4.^{132, 133}

В структурном анализе ксиллоглюкана важнейшую роль сыграло ферментативное расщепление. Диагностичным для этого полисахарида является действие смеси грибных ферментов, известной под коммерческим названием «Driselase» (Sigma), в результате которого образуется 6-O- α -D-ксилопиранозил-D-глюкоза (изопримвероза).¹³⁴ Другие углеводные компоненты клеточных стенок растений не содержат такого структурного фрагмента. Поскольку этот дисахарид нетрудно отличить по хроматографическому поведению от прочих дисахаридных продуктов ферментативной обра-

ботки, обнаружение изопримверозы в гидролизате может служить удобным и надежным доказательством присутствия ксиллоглюкана в сырье или анализируемой смеси полисахаридов.

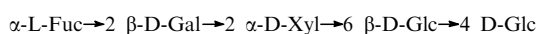
Целлюлазы грибов расщепляют ксиллоглюкан по гликозидным связям незамещенных остатков β -D-глюкопиранозы главной цепи. Продуктами такого расщепления являются в основном гепта- и нонасахарид (для которых в литературе приняты обозначения XG7 и XG9, схема 17), что доказывает высокую регулярность распределения заместителей в главной цепи, где свободным остается каждый четвертый остаток глюкозы. Наряду с олигосахаридами XG7 и XG9, но в меньших количествах, в гидролизате можно обнаружить вещества XG5, XG8, XG10, XG11 и высшие олигосахариды, содержащие остатки L-арабинозы.^{21, 131, 134–138}

Для разделения продуктов ферментативного гидролиза ксиллоглюкана предложены хроматография на бумаге,^{139, 140} в тонком слое силикагеля,¹⁴¹ гель-хроматография на биогеле Р-2 (см.^{131, 142}) и ВЭЖХ,¹⁴³ в том числе в виде пиридиламинопроизводных, получаемых восстановительным аминированием с 2-аминопиридином.¹⁴⁴ Установление строения этих сложных олигосахаридов является заслугой нескольких групп исследователей. Отметим, что и в этой области ведущее положение занимает коллектив, возглавляемый профессором Элбершеймом, где были разработаны наиболее эффективные физико-химические методы характеристики структуры фрагментов ксиллоглюкана — спектроскопия ЯМР ^1H и масс-спектрометрия с бомбардировкой быстрыми атомами.^{137, 138} Для получения хорошо разрешенных спектров ЯМР было предложено восстанавливать олигосахариды боргидридом натрия в соответствующие альдитолы (этот прием помогает также улучшить разделение и очистку олигосахаридов с помощью ВЭЖХ). Найденные закономерности положения и формы сигналов аномерных протонов^{137, 145} позволяют устанавливать структуры большинства олигосахаридов из одномерных спектров ЯМР ^1H .

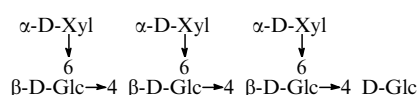
Для масс-спектрометрии с бомбардировкой быстрыми атомами также используются восстановленные олигосахариды. При этом в спектрах отрицательных ионов недериватизированных соединений наблюдаются интенсивные псевдомолекулярные ионы $[\text{M} - \text{H}]^-$, а фрагментные ионы, образующиеся за счет разрыва межмономерных связей, происходят из восстановленного конца молекулы. Напротив, для ацетилированных олигосахаридных альдитолов наибольшую информацию дает спектр положительных ионов, в котором присутствует интенсивный псевдомолекулярный ион $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$, а фрагментные ионы происходят из невозможности восстанавливающего конца молекулы. Сочетание двух таких масс-спектров дает возможность определить последовательность моносахаридных остатков в исследуемых соединениях.^{136, 145, 146} Особенно ярко эффективность этих методов продемонстрирована в последних работах упомянутой группы авторов, посвященных установлению строения высших олигосахаридных фрагментов ксиллоглюкана, содержащих от 17 до 20 моносахаридных остатков.^{145, 146}

Первичная клеточная стенка растительной клетки представляет собой весьма сложный комплекс из биополимеров нескольких типов: целлюлозы, ксиллоглюкана, полисахаридов, относящихся к пектинам, и структурного белка.^{147, 148} По всей вероятности, в клеточной стенке молекулы ксиллоглюкана ковалентно связаны с пектинами, а пектины — со структурным белком, тогда как микрофибриллы целлюлозы образуют прочные нековалентные комплексы с молекулами ксиллоглюкана за счет водородных связей. Предполагается, что рост клетки обеспечивается частичным расщеплением молекул ксиллоглюкана, что позволяет микрофибриллам целлюлозы смещаться друг относительно друга. Действительно, хорошо известно, что ауксины, стимулирующие рост клеток, активируют клеточные целлюлазы, а эти

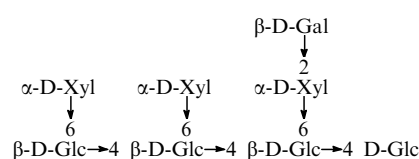
Схема 17



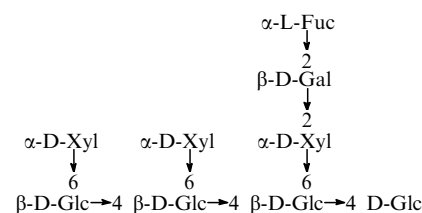
XG5



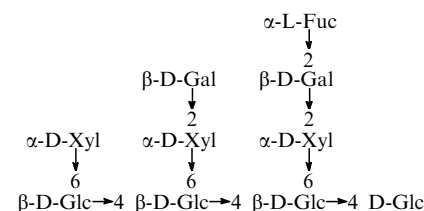
XG7



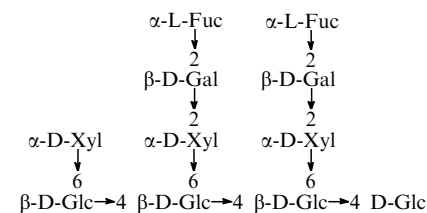
XG8



XG9



XG10



XG11

ферменты, как описано выше, способны расщеплять ксило-глюкан.^{149–151}

В связи с этим чрезвычайно интересным оказалось обнаружение специфической биологической активности нонасахарида XG9: это соединение в очень низкой концентрации порядка 10^{-8} М ингибировало рост сегментов стеблей гороха, индуцированный ауксином.¹⁵² Удивительным образом этот эффект уменьшался не только при меньших, но и при больших концентрациях XG9; последнее наблюдение означало, впрочем, что ингибирование роста не является следствием цитотоксического действия препарата. Близкородственный олигосахарид XG7 был совершенно лишен антиауксиновой активности. Возникло предположение, что биологически активный фрагмент ксилоглюкана XG9 участвует в регуляции роста клеток, действуя по принципу обратной связи: повышенные количества ауксина должны вызывать появление ингибитора, который препятствует безудержному росту.¹⁵²

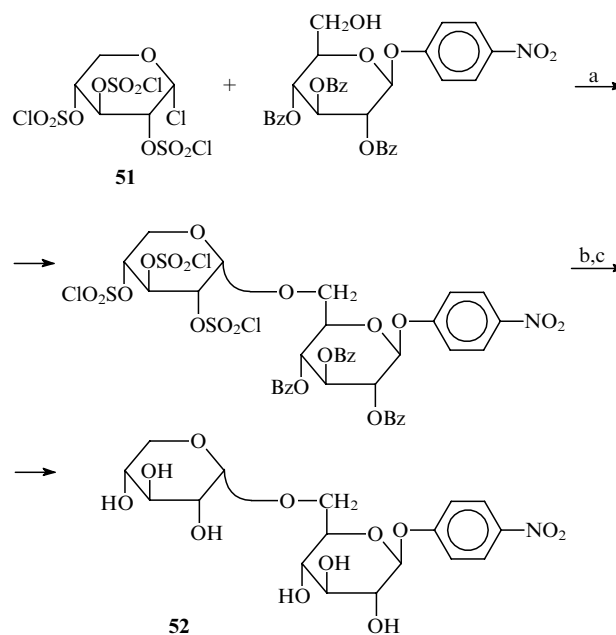
Тест на антиауксиновую активность не слишком надежен и не очень удобен на практике, однако справедливость описанного выше антиауксинового действия XG9 была подтверждена в двух других лабораториях, как в сходных опытах по ингибированию удлинения сегментов стеблей,^{153, 154} так и в опытах по регенерации клеточных стенок протопластов.¹⁵⁵ Удалось также обнаружить образование нонасахаридного фрагмента ксилоглюкана *in vivo*.¹³⁴ Набор олигосахаридов, получаемых ферментативным гидролизом ксилоглюкана, позволил провести интересные наблюдения о связи структуры и биологической активности.^{142, 156}

Было показано, что наличие остатка α -L-фукозы является необходимым условием проявления антиауксинового действия, поскольку все олигосахариды, лишенные фукозы, оказались неактивными. Однако олигосахарид XG10, содержащий остаток фукозы, но имеющий дополнительный остаток галактозы в соседней цепи, тоже не проявлял антиауксиновой активности; зато XG11 с двумя остатками фукозы в молекуле превосходил по активности XG9.¹⁵⁷ Прочие элементы структуры имели меньшее значение: восстановленный XG9 по активности не отличался от исходного олигосахида; активность не снижалась даже при ферментативном отщеплении остатка α -D-ксилопиранозы, наиболее удаленного от восстанавливающего конца XG9.¹⁵⁷ Биологическую активность проявляли также содержащий фукозу пентасахарид XG5 и 2-O- α -L-фукопиранозиллактоза — трисахарид, не являющийся фрагментом ксилоглюкана, а выделенный из женского молока; правда, эти олигосахариды действовали в более высоких концентрациях. В случае XG5 не наблюдался также и оптимум концентрационной зависимости антиауксинового действия, столь характерный для XG9.^{142, 146}

В существенно больших концентрациях (1–200 мкМ) олигосахарид XG9 активирует действие целлюлазы,¹⁵⁸ в меньшей степени аналогичным эффектом обладают XG5 и XG7. Эта вторая активность XG9 помогает понять, почему олигосахарид теряет свое антиауксиновое действие при относительно высоких концентрациях.¹⁵⁹ Вещества XG9 и XG10 в весьма низких концентрациях (порядка 1 нМ) ингибируют удлинение сегментов стеблей гороха, вызванное подкислением,¹⁶⁰ из чего следует, что антиауксиновое действие XG9 не связано с подавлением выхода ионов водорода в клеточную стенку под действием ауксина,¹⁶¹ а затрагивает какие-то пока не известные общие стадии влияния ауксина и pH на рост клеток.

Биологическая активность фрагментов ксилоглюкана вызвала повышенный интерес химиков-синтетиков к проблеме синтеза этих олигосахаридов. Уже в 1986 г. появилось сообщение о синтезе *n*-нитрофенил- β -изопримверозиды **52** (схема 18).¹⁶² Следует обратить внимание на способ образования α -ксилозидной связи, использованный авторами: в качестве гликозил-донора применен трис-

Схема 18



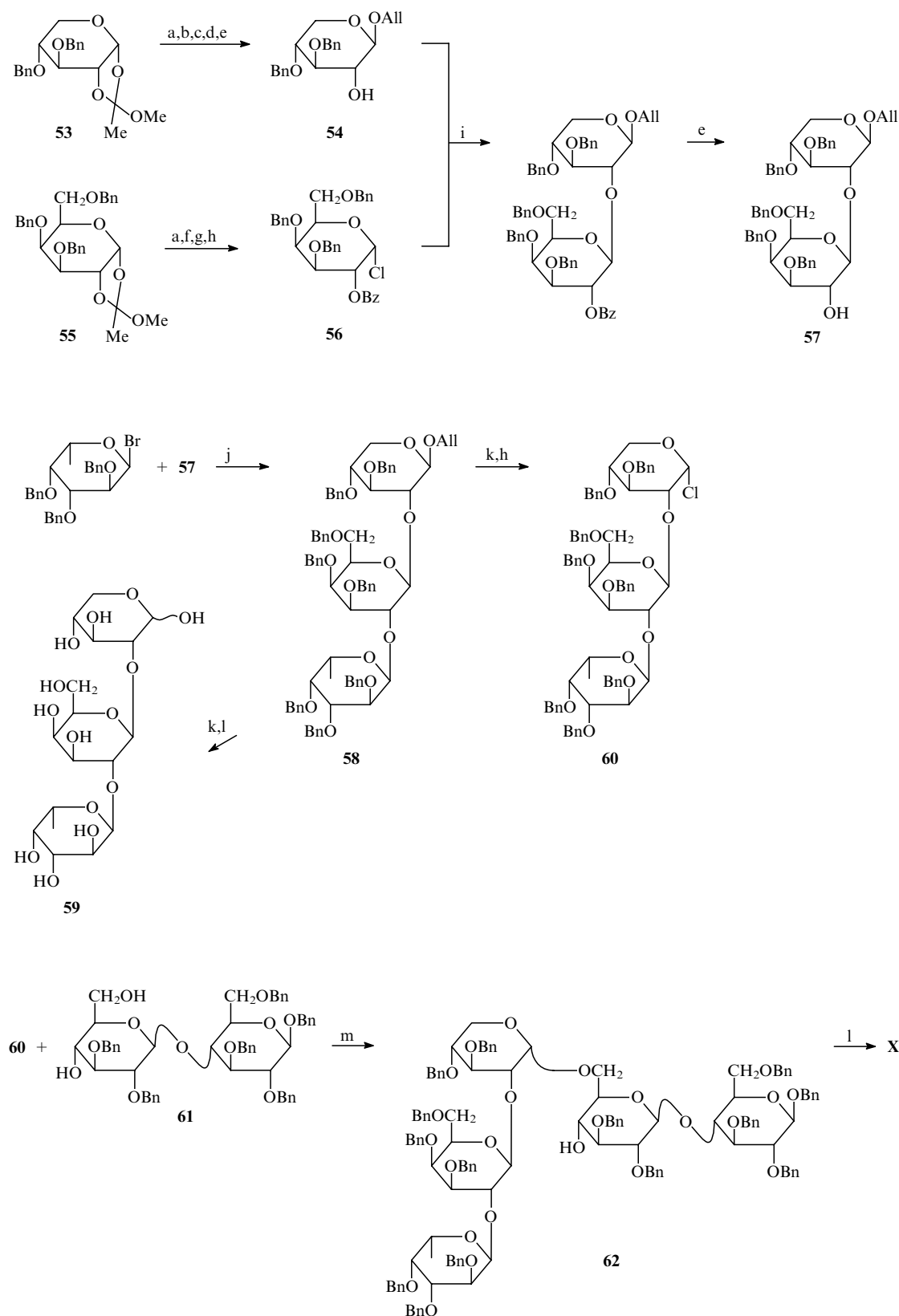
a) Ag_2CO_3 , AgClO_4 , CHCl_3 ; b) NaI , $\text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$; c) MeONa , MeOH

хлорсульфат α -ксилопиранозилхлорида — соединение, которое содержит при C(2) группировку, не способную к соучастию в процессе гликозилирования, и которое получается в одну стадию из ксилозы при действии сульфурилхлорида. Вещество **52** было впоследствии использовано для синтеза искусственного антигена (путем восстановления в *n*-аминофенилгликозид, диазотирования и азосочетания с бычьим сывороточным альбумином), с помощью которого были получены антитела, специфичные к остатку β -изопримверозы.¹⁶³ Аналогичные искусственные антигены были приготовлены также с олигосахаридами XG7, XG8 и XG9, выделенными из ферментативных гидролизатов природного ксилоглюкана.¹⁶⁴ Соответствующие антитела могут найти применение для изучения локализации ксилоглюкана в клеточных стенках растений, как это уже было сделано ранее с антителами к нативному ксилоглюкану,¹⁶⁵ и для количественного определения полисахарида иммуносorbентным методом (ELISA).¹⁶⁶ Интересно отметить, что антитела, специфичные к XG7 и XG8 (а также лектины, связывающие остатки фукозы¹⁶⁷), ингибируют удлинение сегментов эпикотилей бобов *Vigna angularis*, вызванное ауксином, однако не влияют на рост сегментов coleoptилей овса,¹⁶⁸ несмотря на то, что в обоих растениях антитела предотвращают снижение молекулярной массы ксилоглюкана под действием ауксина. Эти данные подтверждают, что у двудольных растений расщепление ксилоглюкана является важной стадией роста клеток, но у однодольных более существенную роль может играть расщепление гемицеллюлоз другого типа.

В 1990 г. появилось сообщение о синтезе три- и пентасакхаридного фрагментов ксилоглюкана, содержащих остатки L-фукозы.¹⁶⁹ Для освобождения гидроксильных групп при C(2) в производных D-ксилозы и D-галактозы были использованы бензилированные 1,2-ортоацетаты **53** и **55**. Синтез трисахида **59** осуществлялся ступенчатым присоединением моносахаридных остатков, начиная с восстанавливающего конца молекулы (схема 19).

Вначале при взаимодействии защищенного аллилксилозида **54** с производным галактозы **56** и последующем удалении бензоильной группы был получен частично защищенный дисахарид **57**, фукозилирование которого в условиях пред-

Схема 19



a) 90% AcOH; b) Ac₂O, Py; c) HBr, CH₂Cl₂; d) CH₂=CHCH₂OH, Hg(CN)₂, CH₃CN;

e) MeONa, MeOH; f) BzCl, Py; g) Et₃N, MeOH, 4°C; h) DMF – (COCl)₂;

i) Hg(CN)₂, CH₃CN; j) Et₄NBr, сита 4Å, DMF – CH₂Cl₂;

k) *t*-BuOK, DMSO, затем Hg(OAc)₂; l) H₂/Pd – C;

m) CF₃SO₂OAg, сита 3Å, *симм*-коллиндин, –60°C

Схема 20

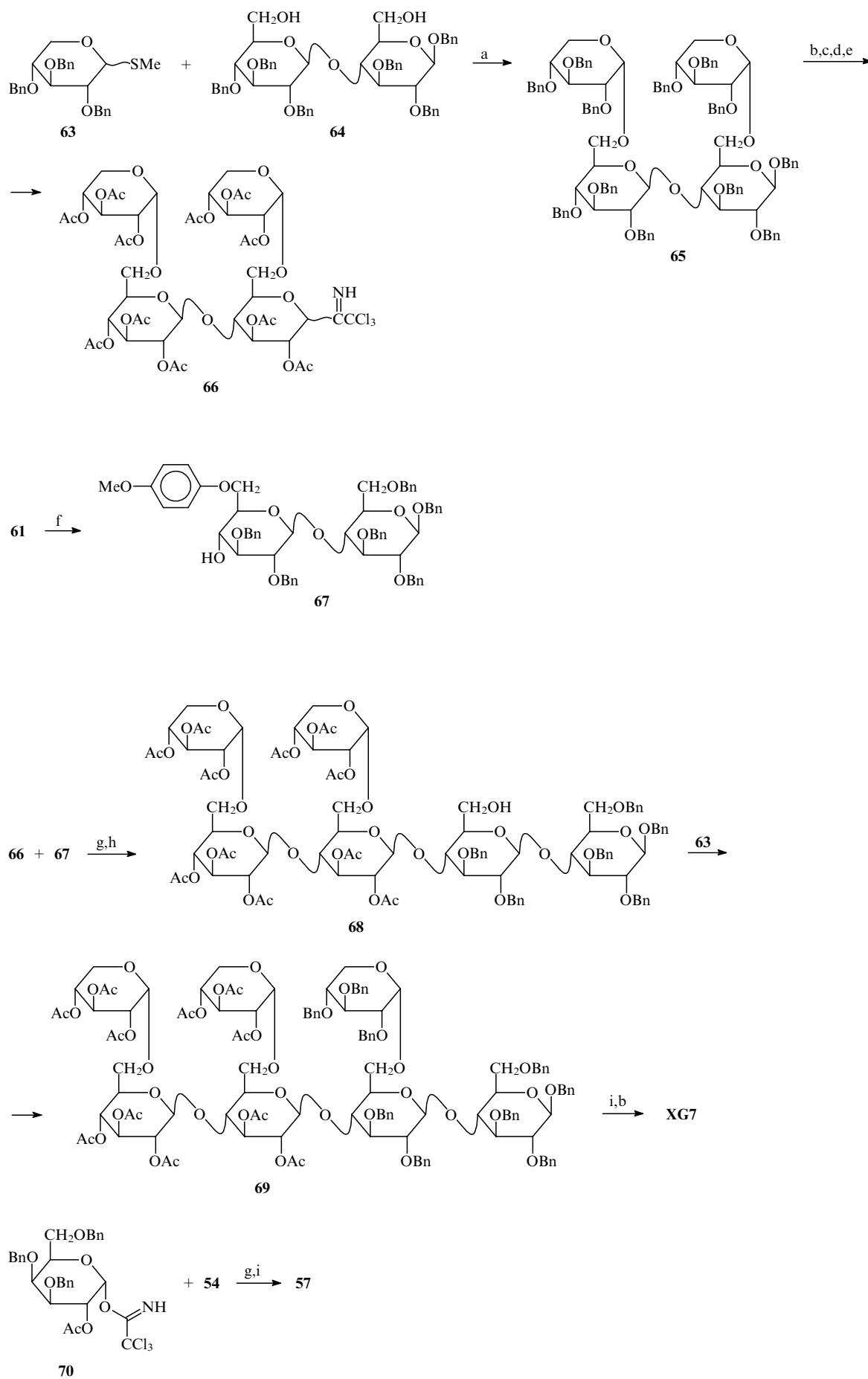
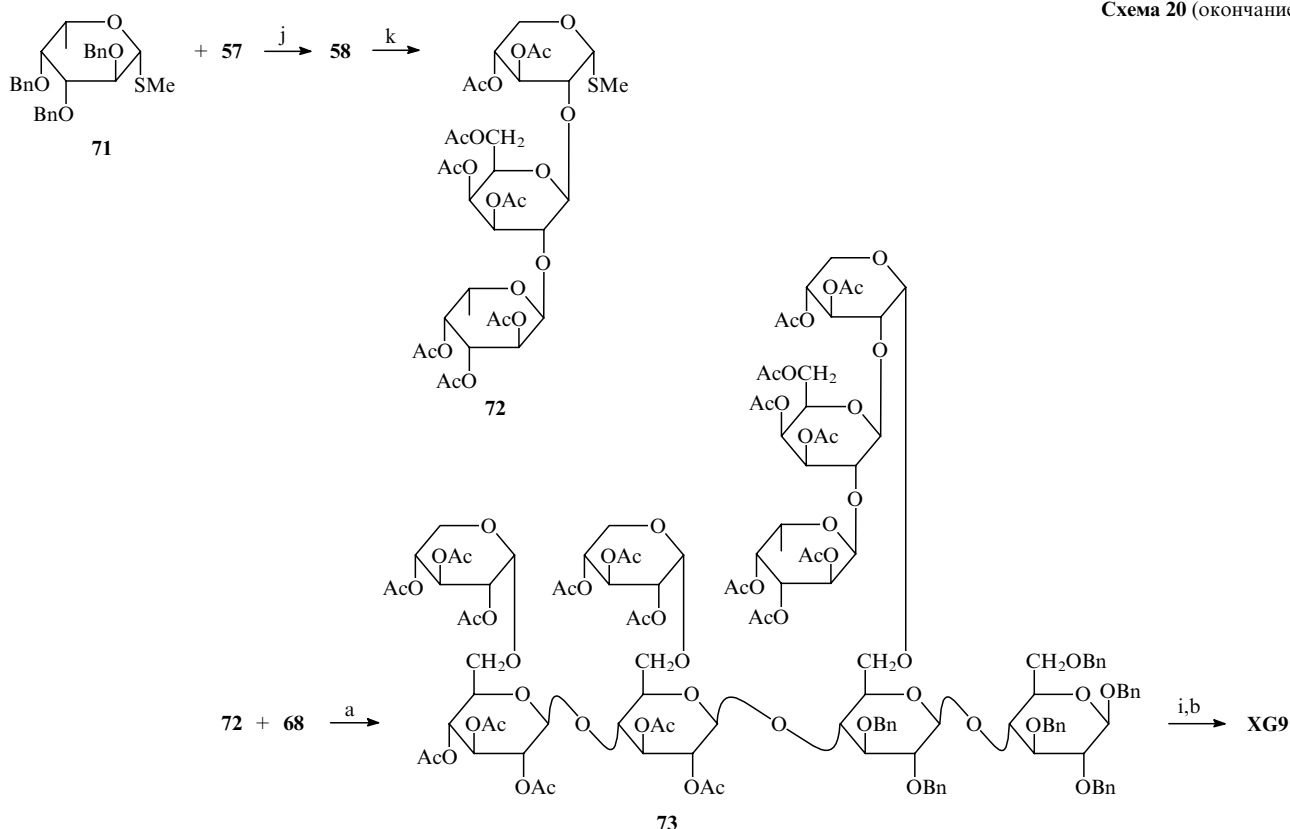


Схема 20 (окончание)



- a) CuBr_2 , Bu_4NBr , HgBr_2 , сита 4Å; b) $\text{H}_2/\text{Pd}-\text{C}$; c) Ac_2O , Py;
 d) $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{AcOH}$, DMF; e) CCl_3CN , DBU, CH_2Cl_2 ; f) 4- $\text{MeOC}_6\text{H}_4\text{OH}$,
 (EtOCON) $_2$, PPh_3 , $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$; g) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$; h) $\text{CeNH}_4(\text{NO}_3)_4$, $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (4:1);
 i) MeONa , MeOH ; j) $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{OMe}$, сита 4Å; k) 7 стадий, общий выход 31%

почтительного образования α -гликозидной связи привело к защищенному трисахариду **58**.¹⁷⁰ Это соединение в результате удаления защитных групп дало свободный трисахарид **59**, кроме того, оно было превращено в защищенный гликозилхлорид **60**, реакция которого с частично бензилированным бензил- β -целлобиозидом **61** привела к защищенному пентасахариду **62**. Деблокирование этого соединения дало XG5.

Биологические исследования синтетического пентасахарида привели к обнаружению новых типов активности этого соединения.¹⁷¹ Оказалось, что олигосахарин в концентрации порядка 10^{-8} М ингибирует рост семян тыквы, стимулированный фузикоцином (гормон, близкий по действию к ауксинам), но не влияет на их рост, если в качестве стимулятора использовался 6-бензиламинопурин (гормон из группы цитокининов). При совместном действии ауксина и пентасахарида на культуру ткани эмбрионов пшеницы происходило ускоренное образование каллусной ткани и более быстрый ее рост, тогда как в отсутствие ауксина пентасахарид вместо каллуса вызывал интенсивное образование корней. Тем самым на синтетическом образце была подтверждена биологическая активность олигосахаридных фрагментов ксилотриозана и обнаружено участие этих соединений не только в процессах роста, но и в процессах морфогенеза растений.

Разрабатывая подходы к синтезу XG9, группа авторов,¹⁷² описавшая синтез XG5, сообщила также о синтезе второй части молекулы XG9 — 6,6'-бис(O- α -D-ксилопиранозил)целлобиозы. Однако в это же время полные синтезы XG7 и XG9 были осуществлены другим коллективом исследователей (схема 20).¹⁷³

Ключевым соединением для синтеза как XG7, так и XG9 послужила гексасахаридная заготовка **68**. Для ее получения производное бензил- β -целлобиозид с двумя свободными первичными спиртовыми группами **64** гликозилировали защищенным метилтиоксилосидом **63** в условиях преимущественного образования α -гликозидных связей,¹⁷⁴ что привело к производному тетрасахарида **65**. Это соединение в несколько стадий превращали в ацетилованный трихлор-ацетимидат **66**, который использовали для гликозилирования специфическим образом защищенного бензил- β -целлобиозидом **67**, полученного из **61** (схема 19) и *n*-метоксифенола по реакции Мицунобу.¹⁷⁵ Удаление *n*-метоксифенильной группы из продукта этого гликозилирования действием нитрата церия-аммония¹⁷⁶ привело к производному **68**. К сожалению, его ксилотриозирование метилтиоксилосидом **63** в описанных выше условиях дало смесь α - и β -аномеров в соотношении 4:3. Тем не менее эту смесь удалось разделить, после чего деблокирование производного **69** привело к целевому гептасахариду XG7.

Трисахаридный гликозил-донор, необходимый для превращения **68** в производное XG9, синтезировали следующим путем. Аллилксилозид **54** и производное галактозы **70** с избирательно защищенным O(2) были получены с использованием 1,2-ортоэфиров соответствующих сахаров подобно тому, как это было сделано в работе¹⁶⁹. Дисахаридное производное **57** гликозилировали бензилированным метилтио- β -L-фукопиранозидом **71**, на этой стадии происходило предпочтительное образование α -гликозидных связей (соотношение α - и β -аномеров 81:7). Полученное производное трисахарида **58** довольно длинным, хотя и достаточно эффективным путем превращали в защищенный метилтиогликозид **72**. Гликозилирование этим тиогликозидом гекса-

сахаридного производного **68** снова привело к смеси α - и β -аномеров в соотношении 3 : 1, однако нужный α -аномер **73** был выделен в индивидуальном состоянии и при удалении защитных групп превращен в XG9.

Биологические свойства синтетических XG7 и XG9 были исследованы с помощью классического теста — ингибирования роста сегментов стеблей гороха под действием ауксина. Результаты полностью совпали с данными, полученными при изучении фрагментов природного ксилоглюкана: XG7 был неактивен, а XG9 по активности не отличался от природного образца.¹⁵⁷

* * *

В заключение этой главы следует отметить, что рост клеток и дифференцировка тканей растений сопровождается частичным расщеплением углеводных полимеров клеточных стенок. Некоторые из образующихся при этом олигосахаридных фрагментов выполняют роль сигнальных молекул: они контролируют гормональное влияние на рост или включают определенные группы генов при морфогенезе. Наиболее изученным примером такой биологической активности служит антиауксиновое действие нонасахаридного фрагмента ксилоглюкана XG9. Механизм этого явления пока не известен, однако установлены достаточно жесткие структурные требования, выполнение которых необходимо для проявления веществами биологической активности. Олигосахарин XG9 действует в весьма низких концентрациях. По всей вероятности, как и в случае ауксина,¹⁷⁷ сигналом служит специфическое связывание олигосахарина с мембранными белками клетки. Можно полагать, что влияние фрагментов ксилоглюкана на рост клеток довольно универсально и мало зависит от вида растения; исключение составляют лишь клетки растений, бедных ксилоглюканом, рост которых, очевидно, обеспечивается частичным расщеплением гемицеллюлоз другого типа. Большой интерес представляет обнаружение морфогенетической активности фрагментов ксилоглюкана,¹⁷¹ однако эти исследования находятся еще в самой начальной стадии.

IV. Взаимодействие растений с бактериями-симбионтами

Классическим примером симбиоза является взаимодействие бобовых растений с бактериями рода *Rhizobium*, которое приводит к образованию новых органов растения («клубеньков») и трансформации бактерий в бактероиды, что дает в целом биологическую систему, способную фиксировать атмосферный азот.^{178, 179} Это взаимодействие специфично: отдельные биовары бактерий могут поселяться

только на вполне определенных видах бобовых. Процесс образования клубеньков (нODULEция) требует обширной и согласованной перестройки деятельности генного аппарата обоих партнеров, что достигается в результате обмена химическими сигналами. Известно, что клетки коры корня синтезируют флавоны или изофлавоны, в ответ на присутствие которых бактерии начинают вырабатывать «фактор нODULEции».^{179, 180} Растение-хозяин располагает полной генетической программой для органогенеза клубеньков, которая включается в ответ на появление этого фактора. Химическое строение первого представителя факторов нODULEции было установлено в 1990 г. Вещество оказалось весьма своеобразным липоолигосахаридом.^{181, 182}

Для препаративного выделения этого соединения потребовалась значительная предварительная работа. Был найден надежный тест, позволяющий определять активность фактора нODULEции по деформации корневых волосков растения-хозяина.¹⁸³ Чтобы облегчить процесс обработки культуральной жидкости, для культивирования был выбран мутантный штамм *Rhizobium meliloti*, не способный продуцировать внеклеточные полисахариды. Продукцию фактора нODULEции клетками этого штамма удалось увеличить примерно в 100 раз методами генной инженерии. Экстракция культуральной жидкости бутанолом и последовательная очистка экстракта препаративной хроматографией на обращенной фазе C18, на сефадексе LH-20, на DEAE — триакириле и снова с помощью ВЭЖХ на обращенной фазе привели к получению вещества (около 4 мг из 10 л культуры), обладающего специфическим действием на корневые волоски люцерны. Выделенный препарат получил обозначение NodRm-1.^{181, 182}

Строение этого вещества изображено на схеме 21. Оно было установлено с использованием нескольких химических расщеплений, а также данных масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР. Наличие сульфатной группы было подтверждено включением ³⁵S-меченного сульфата при биосинтезе олигосахарида. В продуктах полного кислотного гидролиза был идентифицирован глюкозамин, D-конфигурация которого доказана с помощью ГЖХ (–)-2-бутилгликозидов. Природу межмономерных связей устанавливали методом метилирования, конфигурации гликозидных центров и двойных связей в остатке жирной кислоты — с помощью спектров ЯМР. Масс-спектрометрия с бомбардировкой быстрыми атомами позволила определить положения двойных связей в жирной кислоте и локализовать заместители в нативном олигосахариде (массовые числа наиболее информативных ионов для NodRm-1 показаны на схеме 21). Этим же методом в препарате была обнаружена примесь минорного компонента, тетрасахарида Ac-NodRm-1, содержащего дополнительно О-ацетильную группу в положении 6 концевого невосстанавливающего остатка глюкозамина.

Схема 21

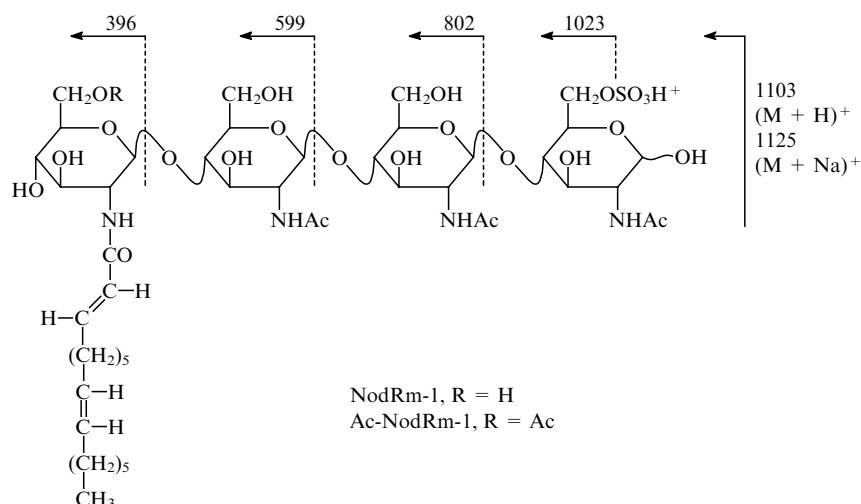
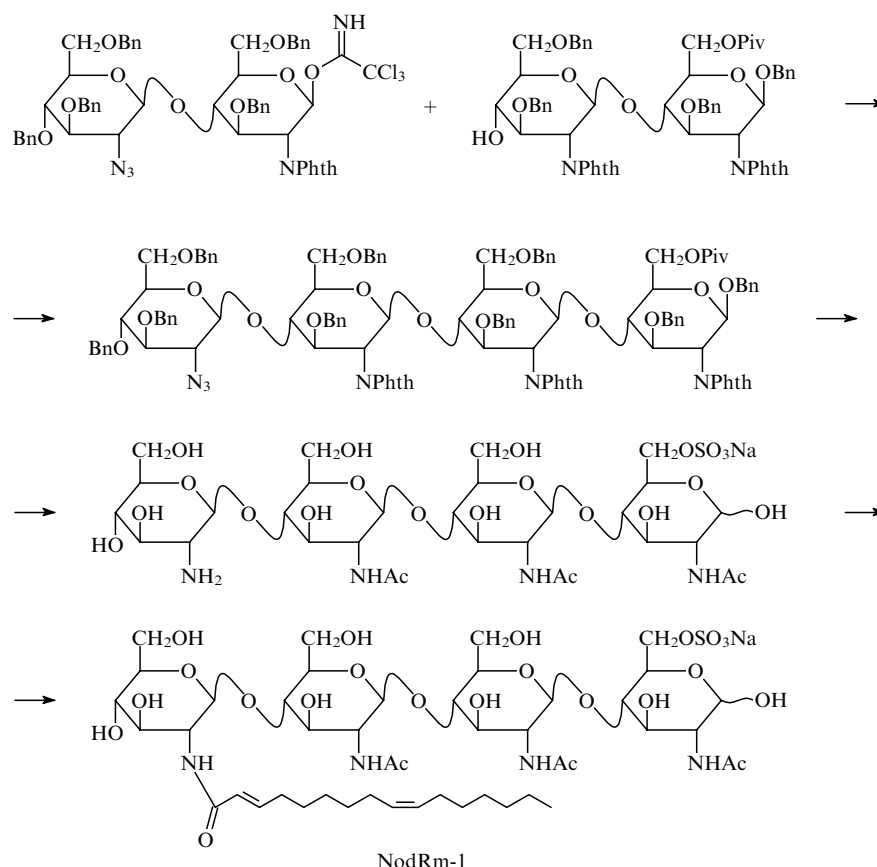


Схема 22



Таким образом, оказалось, что сигнальной функцией наделено соединение весьма необычной для бактериальных метаболитов структуры. Его углеводная цепь представляет собой тетрасахарид, совпадающий по строению с соответствующим фрагментом молекулы хитина (который в бактериях отсутствует) и несущий на невосстанавливаемом конце липофильный заместитель в виде остатка дважды ненасыщенной высшей жирной кислоты, а на восстанавливаемом — сильно полярный заместитель в виде сульфатной группы. Вещество вызывает деформацию корневых волосков у люцерны (растение-хозяин для выбранного штамма), но не у близкородственной вики, действует в очень низких концентрациях (10^{-8} – 10^{-11} М) и способно индуцировать органогенез клубеньков в отсутствие бактерий.¹⁸⁴ Восстановление двойных связей в остатке жирной кислоты или десульфатирование полностью лишают NodRm-1 его специфической активности.¹⁸⁵ Правда, десульфатированный тетрасахарид в относительно высоких концентрациях способен вызывать деформацию корневых волосков и нодуляцию, но не у нормального растения-хозяина (люцерны), а у других бобовых.^{184, 185}

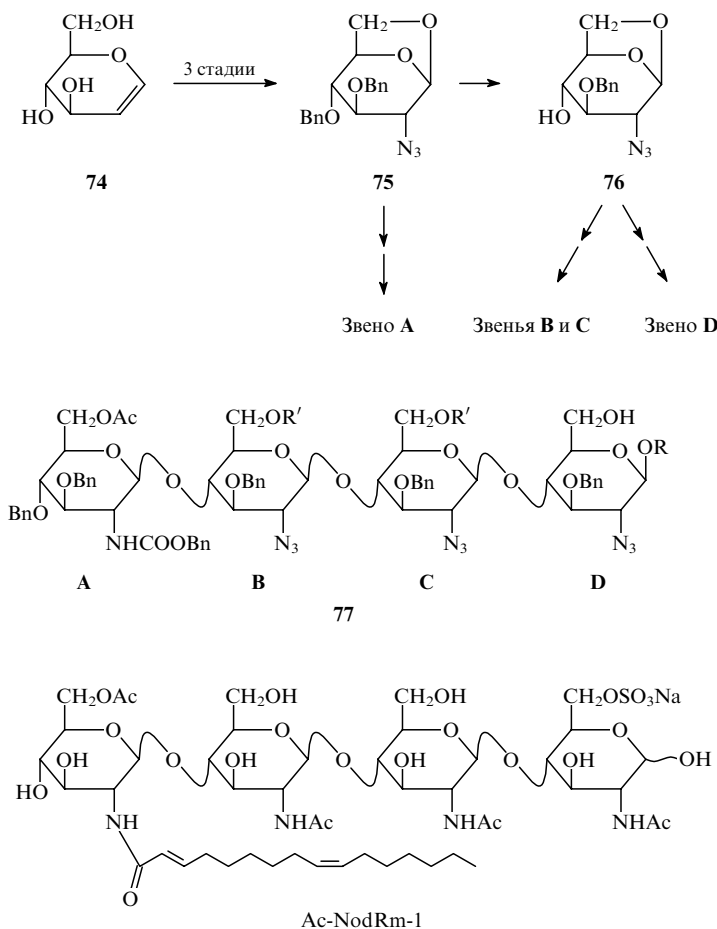
Более тщательный анализ сигнальных олигосахаридов, продуцируемых *Rhizobium meliloti*, показал наличие еще трех минорных компонентов. Один из них отличался от описанных выше соединений только строением высшей жирной кислоты ($C_{16:3}\Delta^{2,4,9}$), содержащей дополнительную двойную связь в положении 4. Два других отличались друг от друга высшими жирными кислотами ($C_{16:2}\Delta^{2,9}$ или $C_{16:3}\Delta^{2,4,9}$), а от трех предыдущих тем, что углеводную основу их молекулы составлял не тетра-, а пентасахаридный фрагмент молекулы хитина.¹⁸⁶

Сходные по построению молекул липоолигосахариды были обнаружены и у других видов бактерий. Так, *R. leguminosarum* var. *viciae*, симбионт гороха, продуцирует производные хитотетраозы и хитопентаозы, лишенные сульфатных групп, в которых аминогруппа концевого невосста-

навливающего остатка глюкозамина ацилирована жирными кислотами $C_{18:4}\Delta^{2,4,6,11}$ или $C_{18:1}\Delta^{11}$, а положение 6 этого остатка и все прочие аминогруппы ацетилированы.¹⁸⁷ Олигосахариды *Bradyrhizobium japonicum*, симбионта сои и некоторых других бобовых, являются производными хитопентаозы, в которых на восстанавливаемом конце в положении 6 вместо сульфатных групп находятся остатки 2-О-метилфукозы; вещества различаются природой остатка высшей жирной кислоты ($C_{18:1}\Delta^9$, $C_{16:1}$ или $C_{16:0}$) и наличием или отсутствием ацетильной группы в положении 6 невосстанавливающего конца.^{188–190}

Таким образом, несмотря на ограниченный объем имеющихся сведений, создается впечатление, что бактерии-симбионты способны синтезировать в качестве общей основы будущих сигнальных молекул хитотетраозу или хитопентаозу, а необходимая специфичность строения олигосахарина достигается затем присоединением определенных заместителей к невосстанавливаемому и восстанавливаемому конечным остаткам этих олигосахаридов.¹⁹¹ Выделение индивидуальных сигнальных соединений, продуцируемых бактериями, остается сложнейшей задачей, поэтому сведения о механизме действия данных веществ пока отсутствуют. Синтез этих олигосахаридов также достаточно сложен. Несмотря на относительную доступность хитотетраозы или хитопентаозы, которые можно получать фрагментацией хитина или хитозана (см. выше), пока не удалось предложить удовлетворительной синтетической схемы, позволяющей вводить специфические заместители в готовую молекулу хитоолигосахаридов. Опубликованы^{192, 193} (в виде тезисов XVI Международного симпозиума по углеводам, без экспериментальных подробностей) два полных синтеза факторов нодуляции. В одном из них (схема 22) молекулу NodRm-1 собирают из двух различным образом защищенных дисахаридных производных. Последовательное удаление защитных групп и восстановление азидной группировки концевого невосстанавливающего остатка тетрасахаридной молекулы

Схема 23



позволяют ввести в нужные положения остатки сульфата и высшей жирной кислоты.¹⁹²

В другом синтезе (схема 23)¹⁹³ молекулу собирают из производных моносахаридов, причем необходимые звенья A–D получают из 2-азидо-2-дезоксид-3,4-ди-О-бензиллево-глюкозана (75). Это вещество удалось синтезировать всего в три стадии из D-глюколя 74 с использованием окислительной 1,6-иодоциклизации¹⁹⁴ и превратить в монобензиловый эфир 76 по известному методу.¹⁹⁵ Последующий синтез тетрасахаридного производного 77 дал возможность разместить в нужных положениях не только сульфат и остаток высшей жирной кислоты, но и ацетильную группу, так что конечным результатом синтеза было соединение Ac-NodRm-1.

* * *

Олигосахариды, описанные в этой главе, существенно отличаются от веществ, рассмотренных в предыдущих разделах обзора. Они не являются фрагментами углеводсодержащих биополимеров клеточных стенок, а представляют собой продукт целенаправленного биосинтеза: хорошо известен набор генов, контролирующих этот процесс в бактериальной клетке.^{181, 185, 196} Факторы нодуляции характеризуются и более высокой специфичностью, так как их биологическое действие проявляется лишь в отношении очень ограниченного числа видов растений. Весьма вероятно, что частью растительного рецепторного комплекса, воспринимающего сигналы нодуляции, являются лектины, расположенные на поверхности цитоплазматической мембраны клеток корневых волосков и способные специфически связывать олигосахариды. Известно, что перенос гена лектина гороха в проростки белого клевера привел к переносу способности инфицироваться и нодулироваться специфичным к гороху штаммом *Rhizobium*.¹⁹⁷

V. Заключение

Мы рассмотрели в обзоре пять типов олигосахаридов, которые используются растениями для регуляции таких важнейших физиологических процессов, как рост, морфогенез и взаимоотношение с фитопатогенами и бактериями-симбионтами. В этой области исследований уже достигнуты впечатляющие результаты, хотя многие вопросы, связанные с ролью олигосахаридов *in vivo* и с механизмом их действия еще предстоит выяснить. Интерес к олигосахаридам объясняется не только новыми возможностями изучения с их помощью физиологии растительной клетки, но и весьма многообещающими перспективами создания на их основе экологически безвредных регуляторов роста и средств защиты растений. Однако олигосахариды продолжают оставаться труднодоступными веществами. Дальнейший прогресс в этой области во многом будет зависеть от разработки новых экономичных способов получения олигосахаридов из природных источников и методов синтеза самих олигосахаридов и их аналогов, необходимых для выяснения зависимости биологического действия от химического строения этих соединений.

Литература

1. P. Albersheim, B.S. Valent. *J. Cell Biol.*, **78**, 627 (1978)
2. P. Albersheim, A.G. Darvill, M. McNeil, B.S. Valent, J.K. Sharp, E.A. Nothnagel, K.R. Davis, N. Yamazaki, D.J. Gollin, W.S. York, W.F. Dudman, J.E. Darvill, A. Dell. In *Structure and Function of Plant Genomes* (Ed. by O. Ciferri, L. Dure). Plenum Press, New York, 1983. P.293
3. P. Albersheim, A.G. Darvill. *Scientific American*, **253**, 58 (1985)
4. P. Albersheim, A.G. Darvill. *Comm. Eur. Communities (Rep.) EUR 1990, Eur. 12757* (Towards Carbohydr.-Based Chem.). P.175

5. M.McNeil, A.G.Darvill, S.C.Fry, P.Albersheim. *Ann. Rev. Biochem.*, **53**, 625 (1984)
6. C.A.Ryan. *Biochemistry*, **27**, 8879 (1988)
7. C.A.Ryan, E.E.Farmer. *Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.*, **42**, 651 (1991)
8. S.Aldington, G.J.McDougall, S.C.Fry. *Plant Cell Environ.*, **14**, 625 (1991)
9. P.Albersheim, A.Darvill, C.Augur, J.-J.Cheong, S.Eberhard, M.G.Hahn, V.Marfa, D.Mohnen, M.A.O'Neill, M.D.Spiro, W.S.York. *Acc. Chem. Res.*, **25**, 77 (1992)
10. A.Darvill, C.Augur, C.Bergmann, R.W.Carlson, J.-J.Cheong, S.Eberhard, M.G.Hahn, V.-M.Lo, V.Marfa, B.Meyer, D.Mohnen, M.A.O'Neill, M.D.Spiro, H.van Halbeek, W.S.York, P.Albersheim. *Glycobiology*, **2**, 181 (1992)
11. П.Элберсгейм, А.Г.Дарвилл. *В мире науки*, (11), 16 (1985)
12. A.G.Darvill, P.Albersheim. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **35**, 243 (1984)
13. R.A.Dixon. *Biol. Rev.*, **61**, 239 (1986)
14. J.Ebel. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **24**, 235 (1986)
15. *Фитоалексины* (Под ред. Дж.А.Бейли, Дж.В.Мансфилда). Наукова Думка, Киев, 1985
16. R.Cline, P.Albersheim. *Plant Physiol.*, **68**, 221 (1981)
17. A.R.Ayers, J.Ebel, B.Valent, P.Albersheim. *Plant Physiol.*, **57**, 760 (1976)
18. A.R.Ayers, B.Valent, J.Ebel, P.Albersheim. *Plant Physiol.*, **57**, 766 (1976)
19. J.K.Sharp, B.Valent, P.Albersheim. *J. Biol. Chem.*, **259**, 11312 (1984)
20. A.R.Ayers, J.Ebel, F.Finelli, N.Berger, P.Albersheim. *Plant Physiol.*, **57**, 751 (1976)
21. B.S.Valent, A.G.Darvill, M.McNeil, B.K.Robertsen, P.Albersheim. *Carbohydr. Res.*, **79**, 165 (1980)
22. M.McNeil, A.G.Darvill, P.Aman, L.-E.Franzen, P.Albersheim. *Methods Enzymol.*, **83**, 3 (1982)
23. G.J.Gervig, J.P.Kamerling, J.F.G.Vliegenthart. *Carbohydr. Res.*, **62**, 349 (1978)
24. J.Haverkamp, M.J.A.de Bie, J.F.G.Vliegenthart. *Carbohydr. Res.*, **37**, 111 (1974)
25. T.J.Waeghe, A.G.Darvill, M.McNeil, P.Albersheim. *Carbohydr. Res.*, **123**, 281 (1983)
26. J.K.Sharp, M.McNeil, P.Albersheim. *J. Biol. Chem.*, **259**, 11321 (1984)
27. O.S.Chizhov, N.K.Kochetkov. *Adv. Carbohydr. Chem.*, **21**, 39 (1966)
28. G.O.Aspinall. In *The Polysaccharides. V.1.* (Ed. G.O.Aspinall). Academic Press, New York, 1982. P.35
29. P.Ossowski, A.Pilotti, P.J.Garegg, B.Lindberg. *J. Biol. Chem.*, **259**, 11337 (1984)
30. J.K.Sharp, P.Albersheim, P.Ossowski, A.Pilotti, P.Garegg, B.Lindberg. *J. Biol. Chem.*, **259**, 11341 (1984)
31. P.Fugedi, W.Birberg, P.J.Garegg, A.Pilotti. *Carbohydr. Res.*, **164**, 297 (1987)
32. H.Paulsen. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **21**, 155 (1982); *Chem. Soc. Rev.*, **13**, 15 (1984)
33. P.J.Garegg, P.Konradsson, I.Kvarnstrom, T.Norberg, S.C.T.Svensson, B.Wigilius. *Acta Chem. Scand., Ser. B*, **39**, 569 (1985)
34. S.Hanessian, J.Banoub. *Carbohydr. Res.*, **53**, C13 (1977)
35. H.Lonn. *Carbohydr. Res.*, **139**, 105, 115 (1985)
36. P.Fugedi, P.J.Garegg. *Carbohydr. Res.*, **149**, C9 (1986)
37. M.Ek, P.J.Garegg, H.Hultberg, S.Oscarson. *J. Carbohydr. Chem.*, **2**, 305 (1983)
38. C.A.A.van Boeckel, T.Beetz. *Tetrahedron Lett.*, **24**, 3775 (1983)
39. C.P.J.Glaudemans, M.J.Bertolini. *Methods Carbohydr. Chem.*, **8**, 271 (1980)
40. P.Fugedi, P.J.Garegg. *J. Carbohydr. Chem.*, **7**, 389 (1988)
41. W.Birberg, P.Fugedi, P.J.Garegg, A.Pilotti. *J. Carbohydr. Chem.*, **8**, 47 (1989)
42. R.R.Schmidt. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **25**, 212 (1986)
43. N.Hong, T.Ogawa. *Tetrahedron Lett.*, **31**, 3179 (1990)
44. J.-J.Cheong, W.Birberg, P.Fugedi, A.Pilotti, P.J.Garegg, N.Hong, T.Ogawa, M.G.Hahn. *Plant Cell*, **3**, 127 (1991)
45. E.G.Cosio, T.Frey, R.Verduyn, J.Van Boom, J.Ebel. *FEBS Lett.*, **271**, 223 (1990)
46. B.M.Peters, D.H.Cribbs, D.A.Stelzig. *Science*, **201**, 364 (1978)
47. M.Yoshikawa, N.T.Keen, M.-C.Wang. *Plant Physiol.*, **73**, 497 (1983)
48. W.E.Schmidt, J.Ebel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 4117 (1987)
49. E.G.Cosio, H.Popperl, W.E.Schmidt, J.Ebel. *Eur. J. Biochem.*, **175**, 309 (1988)
50. J.-J.Cheong, M.G.Hahn. *Plant Cell*, **3**, 137 (1991)
51. M.G.Hahn, J.-J.Cheong. *Curr. Plant Sci. Biotechnol. Agric.*, **10**, 403 (1991)
52. M.G.Hahn, A.Darvill, P.Albersheim, C.Bergmann, J.-J.Cheong, A.Koller, V.-M.Lo. In *Molecular Plant Pathology: A Practical Approach*. (Eds D.J.Bowles, S.Gurr, M.McPherson). IRL Press, New York, 1991
53. R.A.A.Muzzarelli. *Chitin*. Pergamon Press, New York, 1987
54. Е.П.Феофилова. *Биол. науки*, (6), 5; (11), 5 (1981)
55. J.P.Zikakis. *ACS Symp. Ser.*, **389**, 116 (1989)
56. G.W.Gooday. *ACS Symp. Ser.*, **460**, 478 (1991)
57. W.K.Roberts, C.P.Selitrechnikoff. *J. Gen. Microbiol.*, **134**, 169 (1988)
58. Дж.Дистлер, С.Роземан. В кн. *Методы химии углеводов*. (Пер. с англ. под ред. Н.К.Кочеткова). Мир, Москва, 1967. С.240
59. B.Capon, R.L.Foster. *J. Chem. Soc., C*, 1654 (1970)
60. C.Bosso, J.Defaye, A.Domard, A.Gadelle, C.Pedersen. *Carbohydr. Res.*, **156**, 57 (1986)
61. A.Domard, N.Cartier. *Int. J. Biol. Macromol.*, **11**, 297 (1989)
62. M.Izume, A.Ohtakara. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 1189 (1987)
63. L.A.Hadwiger, J.M.Beckman. *Plant Physiol.*, **66**, 205 (1980)
64. H.Kohle, D.H.Young, H.Kauss. *Plant Sci. Lett.*, **33**, 221 (1984)
65. U.Conrath, A.Domard, H.Kauss. *Plant Cell. Rep.*, **8**, 152 (1989)
66. M.Walker-Simmons, L.A.Hadwiger, C.A.Ryan. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **110**, 194 (1983)
67. M.Walker-Simmons, D.Jin, C.A.West, L.Hadwiger, C.A.Ryan. *Plant Physiol.*, **76**, 833 (1984)
68. H.Kauss, W.Jeblick, A.Domard. *Planta*, **178**, 385 (1989)
69. F.Kurosaki, N.Tashiro, A.Nishi. *Plant Cell Physiol.*, **29**, 527 (1988)
70. M.S.Barber, R.E.Bertram, J.P.Ride. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **34**, 3 (1989)
71. M.S.Lesney. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, **19**, 23 (1989)
72. E.J.Nichols, J.L.Beckman, L.A.Hadwiger. *Plant Physiol.*, **66**, 199 (1980)
73. T.Boller. In *Second Messengers in Plant Growth and Development*. (Eds W.F.Boss, D.J.Morre). Alan R.Liss, New York, 1987. P.227
74. J.Grenier, A.Asselin. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **3**, 401 (1990)
75. T.Boller. In *Plant-Microbe Interactions: Molecular and Genetic Perspectives, V.2* (Ed. T.Kosuge, E.W.Nester). Macmillan, New York, 1987. P.385
76. E.Kombrink, M.Schroder, K.Hahlbrock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 782 (1988)
77. L.A.Hadwiger, R.F.Line. *Physiol. Plant. Pathol.*, **19**, 249 (1981)
78. F.Mauch, B.Mauch-Mani, T.Boller. *Plant Physiol.*, **88**, 936 (1988)
79. D.F.Kendra, D.Christian, L.A.Hadwiger. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **35**, 215 (1989)
80. K.Brogie, I.Chet, M.Holliday, R.Cressman, P.Biddle, S.Knowlton, C.J.Mauvais, R.Brogie. *Science*, **254**, 1194 (1991)
81. D.Roby, A.Gadelle, A.Toppa. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **143**, 885 (1987)
82. D.Roby, M.T.Esquerre-Tugaye. *Plant Sci.*, **52**, 175 (1987)
83. S.A.Hedrick, J.N.Bell, T.Boller, C.J.Lamb. *Plant Physiol.*, **86**, 182 (1988)
84. D.F.Kendra, L.A.Hadwiger. *Exp. Mycol.*, **8**, 276 (1984)
85. M.O'Neill, P.Albersheim, A.Darvill. In *Methods in Plant Biochemistry. V.2*. (Ed. P.M.Dey), Academic Press, London, 1990. P.415
86. F.Cervone, G.De Lorenzo, G.Salvi, C.Bergmann, M.G.Hahn, Y.Ito, A.Darvill, P.Albersheim. *NATO ASI Ser.*, **H36**, 85 (1989)
87. M.G.Hahn, A.G.Darvill, P.Albersheim. *Plant Physiol.*, **68**, 1161 (1981)
88. E.A.Nothenagel, M.McNeil, P.Albersheim, A.Dell. *Plant Physiol.*, **71**, 916 (1983)
89. D.F.Jin, C.A.West. *Plant Physiol.*, **74**, 989 (1984)
90. K.R.Davis, A.G.Darvill, P.Albersheim, A.Dell. *Plant Physiol.*, **80**, 568 (1986)
91. F.Cervone, G.De Lorenzo, R.Pressey, A.G.Darvill, P.Albersheim. *Phytochemistry*, **29**, 447 (1990)

92. F.Cervone, M.G.Hahn, G.De Lorenzo, A.Darvill, P.Albersheim. *Plant Physiol.*, **90**, 542 (1989)
93. K.R.Davis, K.Hahlbrock. *Plant Physiol.*, **85**, 1286 (1987)
94. W.F.Broeckaert, W.J.Peumans. *Physiol. Plant.*, **74**, 740 (1988)
95. B.Robertsen. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **28**, 137 (1986)
96. R.J.Bruce, C.A.West. *Plant Physiol.*, **91**, 889 (1989)
97. K.R.Davis, A.G.Darvill, P.Albersheim. *Plant Mol. Biol.*, **6**, 23 (1986)
98. P.D.Bishop, G.Pearce, J.E.Bryant, C.A.Ryan. *J. Biol. Chem.*, **259**, 13172 (1984)
99. I.Apostol, P.F.Heinstein, P.S.Low. *Plant Physiol.*, **90**, 106 (1989)
100. Y.Mathieu, A.Kurkdjian, H.Xia, J.Guern, A.Koller, M.D.Spiro, M.A.O'Neill, P.Albersheim, A.Darvill. *Plant J. Cell Mol. Biol.*, **1**, 333 (1991)
101. E.E.Farmer, T.D.Moloshok, M.J.Saxton, C.A.Ryan. *J. Biol. Chem.*, **266**, 3140 (1991)
102. C.A.West, R.J.Bruce, D.F.Jin. In *Structure, Function and Biosynthesis of Plant Cell Walls* (Eds W.M.Dugger, S.Bartnicki-Garcia). Waverley Press, Baltimore, 1984. P.359
103. P.D.Bishop, C.A.Ryan. *Methods Enzymol.*, **138**, 715 (1987)
104. Y.Nakahara, T.Ogawa. *Tetrahedron Lett.*, **28**, 2731 (1987)
105. Y.Nakahara, T.Ogawa. *Carbohydr. Res.*, **200**, 363 (1990)
106. T.Mukayama, Y.Murai, S.Shoda. *Chem. Lett.*, 431 (1981)
107. K.Omura, D.Swern. *Tetrahedron*, **34**, 1651 (1978)
108. R.E.Ireland, D.W.Norbeck. *J. Org. Chem.*, **50**, 2198 (1985)
109. E.Dalcanele, F.Montanari. *J. Org. Chem.*, **51**, 567 (1986)
110. Y.Nakahara, T.Ogawa. *Carbohydr. Res.*, **167**, C1 (1987)
111. Y.Nakahara, T.Ogawa. *Carbohydr. Res.*, **194**, 95 (1989)
112. Y.Nakahara, T.Ogawa. *Tetrahedron Lett.*, **30**, 87 (1989)
113. Y.Nakahara, T.Ogawa. *Carbohydr. Res.*, **205**, 147 (1990)
114. M.A.Horn, P.F.Heinstein, P.S.Low. *Plant Cell*, **1**, 1003 (1989)
115. *Physiology of Plant Growth and Development* (Ed. M.B.Wilkins). McGraw-Hill, London, 1969
116. T.A.Steeves, I.M.Sussex. *Patterns in Plant Development*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1989
117. K.Tran Thanh Van, N.Thi Den, A.Chlyah. *Planta*, **119**, 149 (1974)
118. K.Tran Thanh Van, P.Toubart, A.Cousson, A.G.Darvill, D.J.Gollin, P.Chelf, P.Albersheim. *Nature*, **314**, 615 (1985)
119. S.Eberhard, N.Doubrava, V.Marfa, D.Mohnen, A.Southwick, A.Darvill, P.Albersheim. *Plant Cell*, **1**, 747 (1989)
120. D.Mohnen, S.Eberhard, V.Marfa, N.Doubrava, P.Toubart, D.J.Gollin, T.A.Gruber, W.Nuri, P.Albersheim, A.Darvill. *Development*, **108**, 191 (1990)
121. V.Marfa, D.J.Gollin, S.Eberhard, D.Mohnen, A.Darvill, P.Albersheim. *Plant J. Cell Mol. Biol.*, **1**, 217 (1991)
122. A.D.Neale, J.A.Wahleithner, M.Lund, H.T.Bonnett, A.Kelly, D.R.Meeks-Wagner, W.J.Peacock, E.S.Dennis. *Plant Cell*, **2**, 673 (1990)
123. C.Branca, G.De Lorenzo, F.Cervone. *Physiol. Plant.*, **72**, 499 (1988)
124. J.K.Brecht, D.J.Huber. *Plant Physiol.*, **88**, 1037 (1988)
125. A.D.Campbell, J.M.Labavitch. *Plant Physiol.*, **97**, 706 (1991)
126. A.D.Campbell, J.M.Labavitch. *Plant Physiol.*, **97**, 699 (1991)
127. А.Гэлстон, П.Девис, Р.Сэттер. *Жизнь зеленого растения*. (Пер. с англ. под ред. Н.П.Воскресенской). Мир, Москва, 1983
128. S.C.Fry. *J. Exp. Bot.*, **40**, 1 (1989)
129. D.A.Brummell, G.A.Maclachlan. *ASC Symp. Ser.*, **399**, 18 (1989)
130. T.Hayashi. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **40**, 139 (1989)
131. W.D.Bauer, K.W.Talmadge, K.Keegstra, P.Albersheim. *Plant Physiol.*, **51**, 174 (1973)
132. W.S.York, J.E.Oates, H.van Halbeek, A.G.Darvill, P.Albersheim, P.R.Tiller, A.Dell. *Carbohydr. Res.*, **173**, 113 (1988)
133. L.L.Kiefer, W.S.York, A.G.Darvill, P.Albersheim. *Phytochemistry*, **28**, 2105 (1989)
134. S.C.Fry. *Planta*, **169**, 443 (1986)
135. Y.Kato, K.Matsuda. *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 1759 (1980)
136. T.Hayashi, G.Maclachlan. *Plant Physiol.*, **75**, 596 (1984)
137. W.S.York, H.van Halbeek, A.G.Darvill, P.Albersheim. *Carbohydr. Res.*, **200**, 9 (1990)
138. M.Hisamatsu, G.Impallomeni, W.S.York, P.Albersheim, A.G.Darvill. *Carbohydr. Res.*, **211**, 117 (1991)
139. P.Kooiman. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas Belg.*, **80**, 849 (1961)
140. H.G.Edelmann, S.C.Fry. *J. Exp. Bot.*, **43**, 463 (1992)
141. C.Fanutti, M.J.Gidley, J.S.G.Reid. *Planta*, **184**, 137 (1991)
142. G.J.McDougall, S.C.Fry. *Plant Physiol.*, **89**, 883 (1989)
143. G.J.McDougall, S.C.Fry. *Carbohydr. Res.*, **219**, 123 (1991)
144. Z.El Rassi, D.Tedford, J.An, A.Mort. *Carbohydr. Res.*, **215**, 25 (1991)
145. M.Hisamatsu, W.S.York, A.G.Darvill, P.Albersheim. *Carbohydr. Res.*, **227**, 45 (1992)
146. L.L.Kiefer, W.S.York, P.Albersheim, A.G.Darvill. *Carbohydr. Res.*, **197**, 139 (1990)
147. K.Keegstra, K.W.Talmadge, W.D.Bauer, P.Albersheim. *Plant Physiol.*, **51**, 188 (1973)
148. S.C.Fry. *The Growing Plant Cell Wall: Chemical and Metabolic Analysis*. Longman, London, 1988
149. S.C.Fry. *Physiol. Plant.*, **75**, 532 (1989)
150. S.C.Fry. *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **4**, 279 (1992)
151. Y.Masuda. *Bot. Mag. Tokyo*, **103**, 345 (1990)
152. W.S.York, A.G.Darvill, P.Albersheim. *Plant Physiol.*, **75**, 295 (1984)
153. G.J.McDougall, S.C.Fry. *Food Hydrocolloids*, **1**, 505 (1987)
154. G.J.McDougall, S.C.Fry. *Planta*, **175**, 412 (1988)
155. M.Emmerling, H.U.Seitz. *Planta*, **182**, 174 (1990)
156. G.J.McDougall, S.C.Fry. *J. Exp. Bot.*, **40**, 233 (1989)
157. C.Augur, L.Yu, K.Sakai, T.Ogawa, P.Sinay, A.G.Darvill, P.Albersheim. *Plant Physiol.*, **99**, 180 (1992)
158. V.Farkas, G.Maclachlan. *Carbohydr. Res.*, **184**, 213 (1988)
159. G.J.McDougall, S.C.Fry. *Plant Physiol.*, **93**, 1042 (1990)
160. E.P.Lourenco, G.J.McDougall, S.C.Fry. *Physiol. Plant*, **80**, 109 (1990)
161. R.E.Cleland. In *Encyclopedia of Plant Physiology. New Series. V.13B*. (Ed. W.Tanner, F.A.Loewus). Springer-Verlag, Berlin, 1981. P.255
162. Y.Sone, A.Misaki. *J. Carbohydr. Chem.*, **5**, 671 (1986)
163. Y.Sone, A.Misaki. *Carbohydr. Res.*, **191**, 79 (1989)
164. Y.Sone, J.Kuramae, S.Shibata, A.Misaki. *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2821 (1989)
165. P.J.Moore, A.G.Darvill, P.Albersheim, L.A.Stachelin. *Plant Physiol.*, **82**, 787 (1986)
166. Y.Sone, K.Sato, A.Misaki. *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2155 (1991)
167. T.Hoson, Y.Masuda. *Physiol. Plant*, **82**, 41 (1991)
168. T.Hoson, Y.Masuda, Y.Sone, A.Misaki. *Plant Physiol*, **96**, 551 (1991)
169. В.И.Торгов, О.А.Нечаев, А.И.Усов, В.Н.Шибяев. *Биоорганическая химия*, **16**, 854 (1990)
170. M.A.Nashed, L.Anderson. *Carbohydr. Res.*, **114**, 53 (1983)
171. Z.N.Pavlova, O.A.Ash, V.A.Vnuchkova, A.V.Babakov, V.I.Torgov, O.A.Nechaev, A.I.Usov, V.N.Shibaev. *Plant Sci.*, **85**, 131 (1992)
172. О.А.Нечаев, В.И.Торгов, А.И.Усов, В.Н.Шибяев. *Биоорганическая химия*, **17**, 424 (1991)
173. K.Sakai, Y.Nakahara, T.Ogawa. *Tetrahedron Lett.*, **31**, 3035 (1990)
174. S.Sato, M.Mori, Y.Ito, T.Ogawa. *Carbohydr. Res.*, **155**, C6 (1986)
175. O.Mitsunobu. *Synthesis*, 1 (1981)
176. T.Fukuyama, A.A.Laird, L.M.Hotchiss. *Tetrahedron Lett.*, **26**, 6291 (1985)
177. A.M.Jones. *Physiol. Plant*, **80**, 154 (1990)
178. П.Рейвн, Р.Эверт, С.Айкхорн. *Современная ботаника*, Т.2. (Пер. с англ. под ред. А.Л.Тахтаджяна). Мир, Москва, 1990. С.146
179. N.J.Brewin. *Ann. Rev. Cell Biol.*, **7**, 191 (1991)
180. J.W.Redmond, M.Batley, M.A.Djordjevic, R.W.Innes, P.L.Kuempel, B.G.Rolfe. *Nature*, **323**, 632 (1986)
181. P.Lerouge, P.Roche, C.Faucher, F.Maillet, G.Truchet, J.-C.Prome, J.Denarie. *Nature*, **344**, 781 (1990)
182. P.Roche, P.Lerouge, C.Ponthus, J.-C.Prome. *J. Biol. Chem.*, **266**, 10933 (1991)
183. C.Faucher, S.Camut, J.Denarie, G.Truchet. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **2**, 291 (1989)
184. P.Roche, P.Lerouge, J.-C.Prome, C.Faucher, J.Vasse, F.Maillet, S.Camut, F.De Billy, J.Denarie, G.Truchet. *Curr. Plant Sci., Biotechnol. Agric.*, **10**, 119 (1991)
185. G.Truchet, P.Roche, P.Lerouge, J.Vasse, S.Camut, F.De Billy, J.-C.Prome, J.Denarie. *Nature*, **351**, 670 (1991)
186. M.Schultz, B.Quiclet-Sire, E.Kondorosi, H.Virelizier, J.N.Glushka, G.Endre, S.D.Gero, A.Kondorosi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 192 (1992)

187. H.P.Spaink, D.M.Sheeley, A.A.N.van Brussel, J.Glushka, W.S.York, T.Tak, O.Geiger, E.P.Kennedy, V.N.Reinhold, B.J.J.Lugtenberg. *Nature*, **354**, 125 (1991)
188. H.P.Spaink, A.Aarts, G.Stacey, G.V.Bloemberg, B.J.J.Lugtenberg, E.P.Kennedy. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **5**, 72 (1992)
189. J.Sanjuan, R.W.Carlson, H.P.Spaink, U.R.Bhat, W.M.Barbour, J.Glushka, G.Stacey. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 8789 (1992)
190. G.Stacey. In *Plant Biotechnology Developments* (Ed. P.M.Gresshoff). CRC, Boca Raton, FL, 1992. P.45
191. H.P.Spaink. *Plant Mol. Biol.*, **20**, 977 (1992)
192. Y.-Z.Hui, L.-X.Wang. *XVI Int. Carbohydr. Symp., Abstracts*. Paris, France, 1992. P.238
193. D.Tailler, J.-C.Jacquinet, A.-M.Noïrot, J.-M.Beau. *XVI Int. Carbohydr. Symp., Abstracts*. Paris, France, 1992. P.333
194. S.Czerniecki, C.Leteux, A.Veyrieres. *Tetrahedron Lett.*, **33**, 221 (1992)
195. H.Hori, Y.Nishida, H.Ohrui, H.Meguro. *J. Org. Chem.*, **54**, 1346 (1989)
196. P.Roche, F.Debelle, F.Maillet, P.Lerouge, C.Faucher, G.Truchet, J.Denarie, J.-C.Prome. *Cell*, **67**, 1131 (1991)
197. C.L.Diaz, L.S.Melchers, P.J.J.Hooymaas, B.J.J.Lugtenberg, J.W.Kijne. *Nature*, **338**, 579 (1989)

OLIGOSACCHARINS — A NEW CLASS OF SIGNALLING MOLECULES IN PLANTS

A.I.Usov

N.D.Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences

47, Leninsky Prospekt, 117913 Moscow, Russian Federation, Fax: +7(095)135-5328

The review describes oligosaccharins — biologically active oligosaccharides of the following types: fragments of (1→6,1→3)-β-D-glucan of fungal cell wall; chitin and chitosan fragments; oligogalacturonides; fragments of plant cell wall xyloglucan; lipooligosaccharides produced by bacterial symbionts of legumes. Isolation, determination of structures and synthesis of these complex compounds are considered together with the results of investigation of their biological function as inducers of plant defence responses against pathogenic fungi and bacteria, modulators of hormonal action and regulators of morphogenesis in the processes of plant growth and development and interaction of plants with symbiotic bacteria.

Bibliography — 197 references.

Received 7th July 1993