



УДК 582.272-119.2.088

© 1994 Т. Н. Звягинцева, Н. И. Широкова, Л. А. Елякова

СТРУКТУРА ЛАМИНАРАНОВ ИЗ НЕКОТОРЫХ БУРЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток

Ключевые слова: $1 \rightarrow 3$; $1 \rightarrow 6$ - β -*D*-глюканы, ламинараны, $1 \rightarrow 3$ - β -*D*-глюканы, бурые водоросли, метилирование, ^{13}C -ЯМР-спектроскопия.

Исследована распространенность ламинаранов (резервных $1 \rightarrow 3$; $1 \rightarrow 6$ - β -*D*-глюканов) в бурых морских водорослях Дальнего Востока и тропической зоны Индийского океана. Изучена структура ламинаранов из четырех видов дальневосточных водорослей. Все они являются низкомолекулярными $1 \rightarrow 3$; $1 \rightarrow 6$ - β -*D*-глюканами, имеющими различное количество β - $1 \rightarrow 6$ -связанных остатков *D*-глюкозы в виде единичных ответвлений от основной цепи $1 \rightarrow 3$ - β -*D*-глюкана. Часть молекул исследованных образцов ламинаранов представляет собой своеобразный гликозилированный маннит.

Известно, что ламинараны из различных видов водорослей, являясь низкомолекулярными $1 \rightarrow 3$; $1 \rightarrow 6$ - β -*D*-глюканами, значительно различаются как соотношением $1 \rightarrow 3$ - и $1 \rightarrow 6$ -связей, так и способом включения этих связей в цепь β -*D*-глюкана [1—10]. Так, ламинаран из *Laminaria hyperborea*—практически линейный $1 \rightarrow 3$ - β -*D*-глюкан, ламинаран из *L. saccharina* содержит около двух β - $1 \rightarrow 6$ -глюкозидных связей на молекулу ($1 \rightarrow 3 : 1 \rightarrow 6 = 10 : 1$) в виде единичных ответвлений от основной цепи $1 \rightarrow 3$ - β -*D*-глюкана [5, 6]. Но β - $1 \rightarrow 6$ -связанная глюкоза может находиться в ламинаранах не только в виде разветвлений. Так, ламинаран из *Eisenia bicyclis* имеет блочную структуру: β - $1 \rightarrow 6$ -связанные остатки глюкозы включены в цепь $1 \rightarrow 3$ - β -*D*-глюкана ($1 \rightarrow 3 : 1 \rightarrow 6 = 3 : 1$) [7]. У ламинарана из *Ishige okamurai* и *Chorda filum* блочная структура с разветвлениями по С6 [8, 9]. И наконец, полисахарид из известковой водоросли *Emiliania huxleyi* имеет цепь из β - $1 \rightarrow 6$ -связанных остатков глюкозы и разветвления в виде генциобиозы по С3 ($1 \rightarrow 3 : 1 \rightarrow 6 = 2 : 3$) [10]. Таким образом, все возможные варианты сочетания β - $1 \rightarrow 3$ - и β - $1 \rightarrow 6$ -глюкозидных связей в $1 \rightarrow 3$; $1 \rightarrow 6$ - β -*D*-глюканах водорослей представлены в полной мере.

Существует ряд публикаций, посвященных распространению β -*D*-глюканов в бурых водорослях Японского моря, тонкой структуре различных образцов ламинаранов, методам их выделения и установления структуры, в частности ферментативным [3, 4, 9, 11—13].

Задача настоящей работы — изучение распространения ламинаранов в бурых водорослях Охотского и Японского морей и тропической зоны Индийского океана, исследование структуры некоторых из них, более углубленное изучение структур ламинаранов из *L. cichorioides* и *Punctaria latifolia*.

Водоросли заготавливались в рейсах НИС «Академик Опарин», а также на морской экспериментальной станции института в Хасанском районе Приморского края. Наиболее полно представлены в исследованиях бурые водоросли Охотского

Содержание ламинаранов в бурых водорослях, характеристика различных образцов после первой стадии очистки

Источник ламинарана	Тип экстракции *	Выход, % от сухого веса	Моносахариды, состав (содержание, %) **
<i>L. cichorioides</i>	ХЭ	5,0	Glc (79); Gal (4); Xyl (7)
	ГЭ	5,0	Glc (92)
<i>L. gurjanovae</i>	ХЭ	1,0	н. о.
	ГЭ	2,5	Glc (75); Gal (5); Xyl (5)
<i>Fucus evanescens</i>	ХЭ	1,0	Glc (60); Gal (9); Fuc (8); Man (9); Xyl (7)
	ГЭ	1,5	Glc (41); Fuc (28)
<i>Turbinaria sp.</i> (Сейшелы)	ХЭ	1,5	Glc (90)
	ГЭ	0,2	Glc (92)
<i>Turbinaria sp.</i> (Мальдивы)	ХЭ	0,015	н. о.
	ГЭ	0,15	Glc (44); Gal (19); Fuc (18); Man (5)
<i>Sargassum sp.</i> (Сейшелы)	ХЭ	1,6	Glc (92)
	ГЭ	1,0	Glc (72); Gal (5); Xyl (3); Man (4)

* ХЭ — холодная (25° С), ГЭ — горячая (50° С).

** Все сахара D-конфигурации, кроме L-фукозы; н. о. — не определяли.

и Японского морей (15 видов), из которых 6 принадлежат к семейству ламинариевых.

Нейтральные полисахариды практически полностью отсутствовали или содержались в небольших количествах в *L. angustata*, *L. yessoensis*, *L. japonica*, *Costaria costata*, *Alaria fistulosa*, *Cocophora langsdorfii*, *Pelvetia wrightii*, *Desmarestia viridis*, *Sphaerotrichia sp.*, *Chordaria magellanica*, *C. filum*. Наибольшее содержание ламинарана — в *L. cichorioides* (10—12% от сухой массы). Удивительны различия в содержании ламинарана в пределах одного семейства — ламинариевых: от небольших (*L. angustata*, *L. yessoensis*, *C. costata*, *L. japonica*) до значительных количеств (*L. cichorioides*, *L. gurjanovae*) (табл. 1). Были отмечены колебания в содержании ламинаранов в зависимости от года сбора. Так, в *L. cichorioides* колебания от года к году составляли от 4 до 12%, в *L. japonica* — от следовых количеств до 1%, то же отмечено и для *Chorda filum* (от практически полного отсутствия [4] до 0,8% [9]).

В настоящей работе представлены результаты изучения структуры ламинаранов из четырех видов водорослей Дальнего Востока: *L. cichorioides*, *P. latifolia*, которые изучались ранее в работах [4, 11—13], а также *Fucus evanescens*, *L. gurjanovae* (табл. 2). Среди исследованных видов бурых водорослей тропической зоны Индийского океана достаточные для изучения структуры количества нейтральных полисахаридов были выделены из трех видов: *Turbinaria sp.*, *Sargassum sp.* (Сейшелы) и *Turbinaria sp.* (Мальдивы) (табл. 1).

После первой стадии очистки, по данным кислотного гидролиза, различные

Структурные характеристики ламинаранов

Источник ламинарана	Тип экстракции *, очистка	M_w , кДа	M_n	Содержание 1,6-связей, %			Распределение 1,6-связей вдоль цепи глюкозана (ЛП)
				метилро- вание	действие ЛПV, ЛП	¹³ C-ЯМР	
<i>L. cichorioides</i>	ХЭ, пересаживание	5,0	2,75	10,5	12	10—12	Сосредоточены у невосстанавли- вающего конца
	ГЭ, пересаживание	6,0	3,24	10,0	9	8—10	
<i>L. gurganovae</i> **	ХЭ	4,0	н. о.	н. о.	4,5	<5	н. о.
	ГЭ, G-50	4,5	2,75	2,0	2	<5	
	ГЭ, ВМФ ***, G-50	5—50	7,0	10,0	10	8—10	
<i>Punctaria latifolia</i>	ХЭ, G-50	4,5	н. о.	н. о.	10	н. о.	Равномерное
<i>Ficus evanescens</i>	ХЭ, G-50	4,0	2,75	22,0	30	35—40	»
	ГЭ, G-50	5,0	н. о.	н. о.	27	30—35	н. о.

* См. сноску к табл. 1; M_w определен гель-фильтрацией, M_n — по результатам метилирования.** Чувствительность метода не позволяет получить достоверные данные по распределению β -1 \rightarrow 6 -связанных остатков D-глюкозы по цепи молекулы.

*** ВМФ — высокомолекулярная фракция.

Ацетаты метилгекситолов, полученные при метилировании ламинаранов с последующим гидролизом, восстановлением и ацетилированием

Ацетаты метилгекситолов	Тип связи	Содержание ацетатов метилгекситолов *									
		<i>L. cichorioides</i>				<i>L. guirapouae</i>				<i>F. evanescens</i>	
		ХЭ		ГЭ		ГЭ		ГЭ, ВМФ		ХЭ	
%	m	%	m	%	m	%	m	%	m		
1Ac,2,3,4,5,6Me ₃ Man-ol	→ Man-ol	2,0	0,25	2,0	0,25	2,3	1,35	2,0	0,26	3,5	0,26
1,5Ac ₂ ,2,3,4,6Me ₄ Glc-ol	Glc1 →	13,5	1,69	13,0	1,62	7,7	4,53	10,0	1,3	19,0	1,43
1,3,5Ac ₃ ,2,4,6Me ₃ Glc-ol	→ 3Glc1 →	74,0	9,25	75,0	9,37	88,0	51,8	78,0	10,1	55,5	4,13
1,5,6Ac ₃ ,2,3,4Me ₃ Glc-ol	→ 6Glc1 →	2,5	0,3	2,0	0,25	0,3	0,18	2,3	0,3	8,7	0,65
1,3,5,6Ac ₄ ,2,4Me ₂ Glc-ol	→ 3,6Glc1 →	8,0	1,0	8,0	1,0	1,7	1,0	7,7	1,0	13,3	1,0
n		18		20		17		43		17	
M _n , кДа		2,9		3,24		2,75		7,0		2,75	
Маннитсодержащие молекулы, %		33		40		38		87		61	

* Вычислено в процентах и молярных долях (m).

Хим. сдвиги С-атомов (δ , м. д.) в ^{13}C -ЯМР-спектрах ламинаранов

Источник ламинарана	Тип связи; содержание, %	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C6 (маннит)
<i>F. evanesens</i> , ХЭ	1 → 3; 60—65	103,0	73,8	85,1	68,8	76,6	61,4	63,8
	1 → 6; 35—40	103,3	74,1	85,6	70,3	75,2	69,4	
<i>L. sichorioides</i> , ХЭ	1 → 3; 85—90	103,0	73,8	85,1	68,8	76,6	61,4	63,8
	1 → 6; 10—15	103,3	74,1	85,6	70,3	75,2	69,4	
<i>L. gurjanovae</i> , ГЭ	1 → 3; 97—100	103,0	73,8	85,1	68,8	76,6	61,4	63,8
	1 → 6; <3				70,3	75,2		
<i>L. gurjanovae</i> , ГЭ	1 → 3; 85—90	103,0	73,8	85,1	68,8	76,6	61,4	63,8
	1 → 6; 10—15	103,3	74,1	85,6	70,3	75,2	69,4	
<i>L. gurjanovae</i> , ХЭ	1 → 3; 97—100	103,0	73,8	85,1	68,8	76,3	61,4	63,8
	1 → 6; <3				70,3	76,3		

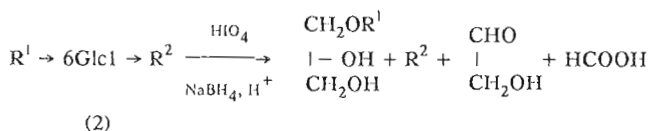
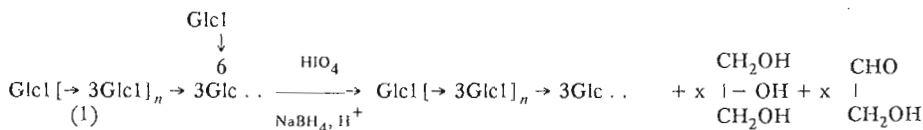
образцы ламинаранов содержали различные примеси других полисахаридов. Например, из *L. cichorioides* и *Turbinaria sp.* (Сейшелы) извлекаются практически чистые глюканы (табл. 1). Наиболее богат моносахаридный состав полисахаридной фракции, полученной после первой стадии очистки из *F. evanescens*. Эта фракция содержит глюкозу (60%) и приблизительно равные количества маннозы, фукозы, галактозы и ксилозы. Содержащиеся в ламинаранах примеси легко были отделены повторным переосаждением с цетавлоном и/или гель-фильтрацией.

Все исследованные нейтральные полисахариды бурых водорослей оказались низкомолекулярными 1 → 3; 1 → 6-β-D-глюканами по данным энзиматического гидролиза экзо-1 → 3-β-D-глюканазой ЛІІІ из *Eulota maakii* [14] и эндо-1 → 3-β-D-глюканазой ЛІІІІ из *Spisula sachalinensis* [15], ¹³С-ЯМР-спектроскопии и гель-фильтрации.

Значительные различия были отмечены для изучаемых ламинаранов в содержании β-1 → 6-связанных остатков глюкозы, определенном различными методами: с помощью экзо- и эндо-1 → 3-β-D-глюканаз ЛІІІ и ЛІІІІ соответственно, ¹³С-ЯМР-спектроскопией и метилированием (табл. 2—4). Так, под действием эндо-1 → 3-β-D-глюканазы ЛІІІІ на конечной стадии гидролиза из ламинаранов образовывались глюкоза, ламинарибиоза и различные количества фракций смешанных 1 → 3; 1 → 6-β-D-глюкотри- и тетраоз (табл. 2). Как было показано ранее [13], количество этих фракций отражает содержание в ламинаранах β-1 → 6-связанных остатков D-глюкозы. Эти данные, полученные с помощью эндофермента, хорошо согласуются с данными, полученными ¹³С-ЯМР-спектроскопией и метилированием. При анализе ¹³С-ЯМР-спектров количество β-1 → 3- и 1 → 6-глюкозидных связей в ламинаранах определяли из значений интегральных интенсивностей сигналов с химическими сдвигами 61,4 и 69,4, 70,3 и 68,8, а также 103 и 85 м. д. (качественно ¹³С-ЯМР-спектры исследуемых ламинаранов оказались практически аналогичными уже известным ранее [9], разброс в количестве β-1 → 3 и 1 → 6-глюкозидных связей, оцененном из значений интегральных интенсивностей сигналов, соответствующих различным парам углеродных атомов, не превышал 15%): Из расчетов следует, что в ламинаране из *F. evanescens* содержится до 35% β-1 → 6-связей, тогда как в ламинаране из *L. gurjanovae* они практически отсутствуют (табл. 2, 4).

Метилирование позволило определить не только количество 1 → 3- и 1 → 6-глюкозидных связей, но и характер включения 1 → 6-связанных остатков глюкозы, которые могут находиться в молекуле ламинарана либо внутри цепи, либо в разветвлениях (схема).

Дегградация по Смуту образцов ламинарана, содержащих β-1,6-связи в виде разветвлений (1) и внутри основной цепи (2)



R¹ и R² — фрагменты молекул ламинарана.

При метилировании после всех операций из точек разветвления образуется 1,3,5,6-тетра-ОАс; 2,4-ди-ОМе-гексит, из внутрицепочечных 1 → 6-связанных остатков — 1,5,6-три-ОАс; 2,3,4-три-ОМе-гексит.

Практически все ламинараны содержали небольшое количество внутрицепочечных 1 → 6-связанных остатков *D*-глюкозы (табл. 3), однако деградация по Смигу исследуемых ламинаранов не вызывает фрагментации их молекул; следовательно, β-1 → 6-связанные остатки глюкозы представляют собой главным образом ответвления от основной цепи 1 → 3-β-*D*-глюкана, что соответствует структуре (1) на схеме. Фрагментацию молекул обнаруживали с помощью гель-фильтрации на сефадексе G-50.

Даже в случае ламинарана из *F. evanescens*, содержащего около 9% внутрицепочечных 1 → 6-β-*D*-глюкозидных связей (табл. 3), разрушение этих остатков в условиях деградации по Смигу не приводило к распаду его молекул. Очевидно, примерно половина разветвлений в этом глюконе существует в виде остатков генциобиозы, остальные — в виде остатков глюкозы.

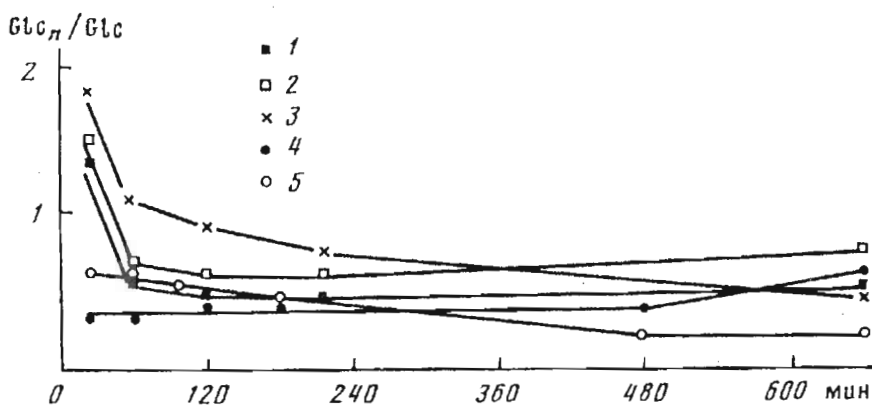
Присутствие различных 1 → 6-связанных остатков *D*-глюкозы в ламинаранах следует также из гетерогенности сигналов C5 этих остатков в ¹³C-ЯМР-спектрах. Так, в ламинаране из *L. cichorioides* основным по интенсивности является сигнал C5 с химическим сдвигом 75,2 м. д. и минорным — сигнал C5 с химическим сдвигом 75,6 м. д., тогда как в ¹³C-ЯМР-спектрах для *F. evanescens* эти сигналы имеют приблизительно одинаковую интенсивность, что хорошо соответствует данным метилирования (ср. табл. 3, 4). Из сопоставления данных метилирования и ¹³C-ЯМР-спектроскопии сигнал с химическим сдвигом 75,2 м. д. можно соотнести с 1,3,6-связанными остатками *D*-глюкозы, а сигнал при 75,6 м. д. — с β-1 → 6-связанными остатками.

По данным метилирования, а также ¹³C-ЯМР-спектроскопии, различные образцы ламинаранов содержали от 40 до 60% молекул, восстанавливающие концы которых блокированы маннитом (табл. 3, 4). Маннит был также обнаружен ранее в ламинаранах из бурых водорослей Японского моря с помощью БХ, методами Нэша и электрораспылительной масс-спектрометрии [4, 12].

С помощью экзоламинариназы III из наземного моллюска *Eulota maakii* [14, 16] было изучено распределение β-1 → 6-связанных остатков *D*-глюкозы по цепи ламинаранов. Специфичность этого фермента такова, что он, начиная гидролиз β-1 → 3-связей с невозстанавливающего конца молекулы субстрата, обходит 1 → 6-связанные остатки глюкозы, образуя в качестве продуктов реакции глюкозу и из разветвлений — дисахарид — генциобиозу. Отношение количества генциобиозы к глюкозе в процессе гидролиза 1 → 3; 1 → 6-β-*D*-глюканов экзоферментом должно отражать распределение 1 → 6-связей по цепи глюкана. Если это отношение постоянно, то распределение 1 → 6-разветвлений по цепи равномерно; если оно уменьшается в процессе реакции, то основная часть разветвлений сосредоточена на невозстанавливающем конце молекулы; если увеличивается — то на восстанавливающем.

В процессе гидролиза исследуемых ламинаранов экзоферментом III образуется более богатый набор сахаров: глюкоза, генциобиоза, трисахариды и небольшие количества тетрасахаридов, причем в ламинаране из *L. cichorioides* часть фрагментов, содержащих β-1 → 6-связанные остатки глюкозы, сосредоточена вблизи невозстанавливающего конца молекул, в остальных ламинаранах они распределены равномерно по цепи 1 → 3-β-*D*-глюкана (рисунок).

В результате проведенного изучения были отмечены следующие особенности в свойствах различных ламинаранов. Ламинаран из *L. gurjanovae* представлял собой образец практически неразветвленного 1 → 3; 1 → 6-β-*D*-глюкана, он должен быть похожим на ламинаран из *L. hyperborea*, отсутствие β-1 → 6-связей в котором приводило к нерастворимости его в холодной воде. Последний хорошо растворялся только при 37° С [5]. Полученный же неразветвленный ламинаран из *L. gurjanovae* в небольших концентрациях (до 2—3 мг/мл) растворялся при комнатной тем-



Распределение 1 → 6-связанных остатков Glc по цепи ламинаранов из *L. cichorioides* (1—3) и *F. evanescens* (4, 5). Приведено отношение количеств 1 → 3; 1 → 6-β-D-гликоолигосахаридов и глюкозы (Glc_n/Glc) для $n = 2$ (1, 4), 3 (2), 4 (3), 5 (5), образующихся из полисахаридов в ходе гидролиза экзоферментом ЛШ

пературе. Дальнейшее фракционирование этого ламинарана позволило обнаружить в нем небольшие количества разветвленной высокомолекулярной гетерогенной по молекулярным массам фракции 1 → 3; 1 → 6-β-D-глюкана.

Характеристики одной из этих фракций (ГЭ, ВМФ), полученной горячей экстракцией, с молекулярной массой от 3 до 50 кДа, приведены в табл. 2—4. Эта фракция по структуре и физико-химическим свойствам, исключая величину молекулярной массы, аналогична ламинарану из *L. cichorioides* (табл. 2—4). Остальные 90% ламинарана из *L. gurjanovae* практически не содержали 1 → 6-связанной глюкозы в своем составе и после отделения разветвленной высокомолекулярной фракции перестали растворяться на холоду. Видимо, присутствие небольшого количества хорошо растворимой, гетерогенной разветвленной фракции каким-то образом повышает растворимость ламинарана, известного в литературе как «нерастворимый» [5].

В результате можно сделать заключение, что бурые водоросли, собранные приблизительно в одно и то же время, содержат самые различные количества 1 → 3; 1 → 6-β-D-глюканов, значительно отличающихся друг от друга деталями структуры.

Экспериментальная часть

Основные методы. Определение общего количества нейтральных сахаров проводили фенол-серно кислотным методом [16], восстанавливающих — методом Нельсона [17]. Моно- и олигосахаридный состав продуктов кислотных и ферментативных гидролизатов ламинаранов определяли с помощью углеводных анализаторов Biotronik (Durrum-x4-20; колонка 0,63 × 30 см; 60° С; бицинохонитный метод; интегрирующая система — Shimadzu C-R2AX) и Jeol-J4C-6AH (P-2; 1 × 100 см; орцин-серно кислотный метод). ¹³C-ЯМР-спектры снимали на спектрометре НХ-90Е Bruker в D₂O (внутренний стандарт — метанол, 50,5 м. д.).

Сбор и предварительная обработка водорослей. Водоросли *L. gurjanovae*, *Alaria fistulosa* (Охотское море, бухта Академия, Шантарские острова), *L. angustata*, *L. yessoensis*, *F. evanescens*, *Arthrothamnus* sp. (бухта Кратерная, Курильские острова), *Coccophora langsdorfii*, *Sphaerotrichia* sp., *Chorda filum*, *Costaria costata*, *L. japonica*, *L. cichorioides*, *Punctaria latifolia* (Японское море, бухта Троица), *Turbinaria* sp., *Sargassum* sp. (Сейшель) и *Turbinaria* sp. (Мальдивы) были собраны в июле-августе. Водоросли обрабатывали этиловым спиртом

до получения бесцветных экстрактов, сушили на воздухе и измельчали. Выход полисахаридов определяли от сухого веса обезжиренной водоросли.

Водоросли экстрагировали дважды 0,4% соляной кислотой при 25° С (холодная экстракция, ХЭ) и водой при 50° С (горячая экстракция, ГЭ) по методу [4]. Кислые полисахариды из экстрактов осаждали 0,5 М раствором цетавлона, ламинараны — четырьмя объемами этилового спирта. Ламинараны переосаждали из водного раствора этиловым спиртом. Ламинараны из *F. evanescens* и *L. gurjanovae* дополнительно хроматографировали на сефадексе G-50. В образцах ламинаранов холодной и горячей экстракции из *L. gurjanovae* в условиях гель-фильтрации на сефадексе G-50 было обнаружено присутствие высокомолекулярных (ВМФ), сильно гетерогенных по молекулярным массам фракций (ХЭ, ВМФ и ГЭ, ВМФ), которые были собраны, лиофильно высушены и составили около 10 и 20% от веса ламинаранов, полученных холодной и горячей экстракциями соответственно.

Ферментативный гидролиз. К раствору ламинарана (1 мг/мл в 0,05 М ацетатном буфере, pH 5,5) добавляли эндоламинариназу ЛІV из *S. sachalinensis* или экзоламинариназу ЛІІ из *E. maakii* ($2 \cdot 10^{-2}$ ед. акт./мл; 1 ед. акт. фермента равна такому его количеству, которое катализирует образование 1 мкмоль глюкозы в 1 мин), смесь инкубировали различные промежутки времени и продукты ферментативного гидролиза анализировали с помощью углеводных анализаторов Biotronik и/или Jcol-J4C-6АН.

Кислотный гидролиз образцов ламинаранов (3 мг/мл) осуществляли 2 н. H_2SO_4 при 100° С в течение 4 ч. Гидролизаты нейтрализовали 2 н. NaOH и анализировали на углеводном анализаторе Biotronik.

Деградацию по Смиту 10 мл 0,4% водного раствора ламинарана осуществляли по стандартной методике [4]. После восстановления $NaBH_4$ (40 мг) pH раствора доводили до 7 и гидролизовали полиспирт 0,25 М H_2SO_4 в течение 48 ч. Гидролизат нейтрализовали. Ламинараны и продукты их деградации по Смиту фракционировали на колонке с сефадексом G-50 (1 × 100 см, элюент — вода). Фракции анализировали на присутствие углеводов [16].

Метилирование. Ламинаран (10 мг) высушивали над пятиокисью фосфора, растворяли в сухом диметилсульфоксиде (1 мл) и метилировали по методу Хакомори [18]. Метилирование повторяли до отсутствия в продукте в ИК-спектре полосы гидроксильных групп. Сполна метилированный полисахарид гидролизовали при 110° С 2 н. трифторуксусной кислотой. Метилированные моносахариды восстанавливали $NaBH_4$ и ацетилировали уксусным ангидридом в пиридине. Ацетаты метилированных полиолов анализировали хроматомасс-спектрометрией (прибор LKB-9000S, колонка длиной 1 м с 3% SE-30). Масс-спектры записывали при ионизационном потенциале 70 эВ.

Молекулярную массу β -D-глюканов, а также молекулярно-весовое распределение полисахаридов определяли с помощью гель-фильтрации на G-50 (1 × 100 см), используя в качестве стандартов инулин (5 кДа), декстраны (10, 20, 40 кДа) и воду в качестве элюента; выход углеводов регистрировали фенол-серно-кислотным методом [16].

Авторы благодарят В. А. Зубкова, В. В. Исакова (ТИБОХ ДВО РАН), В. И. Светашева (ИБМ ДВО РАН) за помощь при метилировании, снятии ^{13}C -ЯМР-спектров и обсуждении результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Percival E., McDowell R. H. Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides. New York — London: Acad. Press, 1967. 71С.
2. Painter T. J. // Pure and Appl. Chem. 1983. V. 55. № 4. P. 677—694.
3. Усов А. И., Кошелева Е. А., Яковлев А. П. // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 6. С. 830—836.
4. Elyakova L. A., Zvyagintseva T. N. // Carbohydr. Res. 1974. V. 34. P. 241—248.

5. Nelson T. E., Lewis B. A.//Carbohydr. Res. 1974. V. 33. № 1. P. 64—74.
6. Percival E.//Algal Polysaccharides. The Carbohydrates. (Chemistry and Biochemistry)/Eds W. Pigman, D. Horton. N. Y.: Acad. Press, 1970. V. IIB. P. 541—544.
7. Usui T., Topyama T., Mizuno T.//Agric. Biol. Chem. 1979. V. 43. № 3. P. 603—611.
8. Maeda M., Nisizawa K.//Carbohydr. Res. 1979. V. 7. P. 97—99.
9. Усов А. И., Чижов А. О.//Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 2. С. 208—216.
10. Varum K. M., Kvam B. J., Myklestad S., Paulsen B. S.//Carbohydr. Res. 1986. V. 152. P. 243—248.
11. Елякова Л. А., Звягинцева Т. Н., Сова В. В. Способ получения ламинарана из морских водорослей: А. с. 1013474 СССР//Б. И. 1983. № 15.
12. Александров М. Л., Безукладников П. В., Грачев М. А., Елякова Л. А., Звягинцева Т. Н., Кондратьев В. М., Куснер Ю. С., Миргородская О. А., Фридлянский Г. В.//Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 12. С. 1689—1692.
13. Shevchenko N. M., Zvyagintseva T. N., Elyakova L. A.//Carbohydr. Res. 1986. V. 148. P. 57—62.
14. Широкова Н. И. Полиферментная система β -1 \rightarrow 3-глюканаза из моллюска *Eulota taakii*: свойства, специфичность и механизм действия отдельных компонентов. Дис. ... канд. хим. наук. Владивосток, 1985. 206 с.
15. Sova V. V., Elyakova L. A.//Biochim. et biophys. acta. 1972. V. 258. P. 219—227.
16. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. R., Robers P. A., Smith F.//Anal. Chem. 1956. V. 28. P. 350—356.
17. Nelson N. J.//Biol. Chem. 1944. V. 153. № 1. P. 375—381.
18. Hakomori S.//J. Biochem. 1964. V. 55. № 1. P. 205—208.

Поступила в редакцию
4.VI.1993

После доработки
28.XII.1993

T. N. Zvyagintseva, N. I. Shirokova, L. A. Elyakova

THE STRUCTURE OF LAMINARANS FROM SEVERAL BROWN ALGAE

*Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far-East Division, Russian Academy of
Sciences, Vladivostok*

Key words: 1 \rightarrow 3; 1 \rightarrow 6- β -D-glucan; laminarans; 1 \rightarrow 3- β -D-glucanase; brown algae; ^{13}C NMR.

The occurrence of laminarans was studied on far-eastern and tropical marine brown algae. Laminarans from four far-eastern brown algae were studied structurally. All they are the low molecular weight 1 \rightarrow 3; 1 \rightarrow 6- β -D-glucans, varying considerably in the content of the 1 \rightarrow 6- β -bound glucose residues existent as branches of the core 1 \rightarrow 3- β -D-bound glucan chain. A glycosylated mannitol is part of the laminarans molecules.