

ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ (*MEDICAGO SATIVA L.*) НА DEAE-ЦЕЛЛЮЛОЗЕ

К.И. Ровкина¹, С.В. Кривошеков^{1,2}, А.М. Гурьев¹

¹Сибирский Государственный Медицинский Университет Минздрава России,
634050 г. Томск, ул. Московский тракт, 2, Тел. (3822)-529-832

²Национальный исследовательский Томский Политехнический Университет,
634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

E-mail: chrom@tpu.ru

Известно, что полисахариды природного происхождения обладают рядом фармакологических активностей: антибактериальная, противовирусная, иммуномодулирующая, гиполипидемическая и другие. [1] Расширение знаний о структуре полисахаридов различных растений необходимо для выявления зависимости фармакологического эффекта, проявляемого полисахаридами, от их строения. Одним из начальных этапов в установлении структуры полисахаридов является разделение полисахаридных комплексов с помощью ионообменной хроматографии.

В данной работе проводилось разделение полисахаридного комплекса, полученного из травы люцерны посевной (*Medicago Sativa L.*) методом водной экстракции подщелоченной водой (до pH=9) и последующим осаждением 95% спиртом этиловым. Для фракционного разделения полисахаридного комплекса использовали метод ионообменной хроматографии на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой (СГ-форма, емкость сорбента 0,9-1,0 мэкв/г, размер частиц 100-200 мкм), предварительно сорбент суспендировали 12 часов в воде очищенной, после чего отмучивали раствором соляной кислоты (0,1 М, 500 мл), далее последовательно промывали 0,1 М NaOH (500 мл), вода очищенная (до нейтрального pH), 0,1 М HCl (500 мл), вода очищенная (до нейтрального pH) и уравнивали в 0,01 М NaCl. Навеску полисахарида (588 мг) растворяли в 5 мл воды очищенной, наносили на колонку объемом 103 см³. Элюирование проводили в градиентном режиме водными растворами натрия хлорида с возрастающей концентрацией (0,01; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 М) равными объемами (500 мл). Разделение выполняли при объемной скорости элюента 3 мл/мин, отбирая фракции по 15 мл. Содержание полисахаридов во фракциях контролировали карбазол-серным методом [2] с последующим измерением оптической плотности полученных растворов на спектрофотометре UNICO 2800 UV/VIS (США).

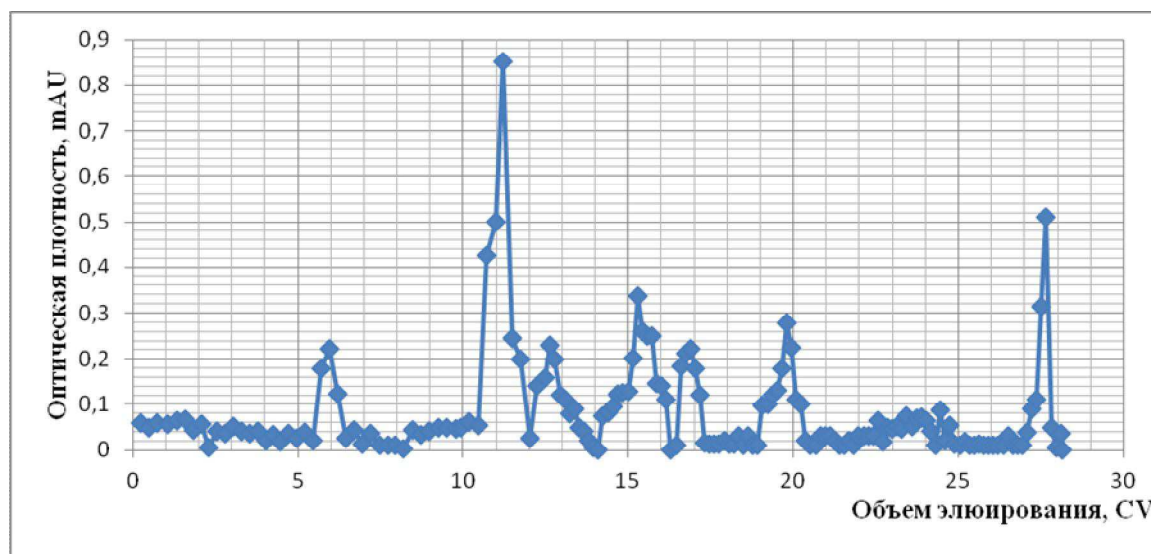


График 1. Хроматограмма полисахаридного комплекса на ДЭАЭ-целлюлозе.

Фракции объединяли и концентрировали на ультрафильтрационной кассете Vivaflow 200 (Sartorius Stedium Biotech) 5000 MWCO. Сконцентрированные фракции лиофильно высушили на SP Scientific Advantage EL-85. Таким образом получили 7 полисахаридных фракций.

Таблица 1. Фракции полисахаридного комплекса люцерны посевной.

Фракция	Объем элюирования	Масса фракции
PSMS3-1	589-639	0,0124
PSMS3-2	1049-1209	0,0096
PSMS3-3	1262-1347	0,0200
PSMS3-4	1512-1694	0,0432
PSMS3-5	1709-1769	0,0708
PSMS3-6	1979-2084	0,0118
PSMS3-7	2804-2849	0,0183

Список литературы:

1. Хотимченко Ю.С., Ермак И.М., Бедняк А.Е., Хасина Э.И., Кропотов А.В., Коленченко Е.А., Сергущенко И.С., Хотимченко М.Ю., Ковалев В.В. Фармакология некрахмальных полисахаридов. - Вестник ДВО РАН. 2005. No1
2. Galambos, J. T. The reaction of carbazole with carbohydrates: I. Effect of borate and sulfamate on the carbazole color of sugars / J. T. Galambos // Anal. Biochem. 1967. - Vol. 19. - P. 119-132.