

УДК 547.4; 577.1; 576.8

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГАЛАКТОМАННАНОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

© Л.Б. Азимова*, Н.С. Норматаматов, С.Б. Хайтметова, Б.И. Мухитдинов, Д.М. Амонова,
А.В. Филатова, Г.А. Халилова, Х.Х. Киргизбаев, А.С. Тураев

Институт биоорганической химии имени А.С. Садыкова АН РУз, ул. Мирзо
Улугбека, 83, Ташкент, 100125 (Республика Узбекистан),
e-mail: luiza8181@mail.ru

Целью данной работы является выделение галактоманнанов из растительного сырья и изучение их физико-химических свойств. Из семян растений *Sophora japonica* и *Gleditsia triacanthos* методами холодной и горячей экстракций были выделены и очищены полисахариды, состоящие в основном из галактоманнана. Определены количественные характеристики содержания галактоманнанов и соотношение манноза : галактоза в молекуле галактоманнана. Изучены физико-химические свойства полученных галактоманнанов. Кроме того, проведен ферментативный гидролиз выделенных полисахаридов и изучен характер изменения моносахаридного состава в процессе гидролиза. Характеристическая вязкость негидролизованного и гидролизованного галактоманнанов равна 4.85 дл/г и 3.80 дл/г соответственно. Величина молекулярной массы после обработки ферментом галактоманнана изменилась в пределе 55600–26200 Дальтон. Методами ПМР и ¹³С-ЯМР-спектроскопии установлено снижение галактозных единиц у негидролизованного и гидролизованного галактоманнанов, что свидетельствует о преимущественном протекании гидролиза по боковой цепи макромолекулы. Увеличение продолжительности ферментативного гидролиза более 24 ч приводит к образованию полиманнана с малым содержанием галактозных единиц. Полученные данные могут служить основанием для улучшения методов выделения галактоманнана и подготовки материалов биомедицинского назначения на его основе.

Ключевые слова: полисахарид, галактоманнан, ферментативный гидролиз, α-галактозидаза, девятывенный галактоманнан, галактоза, манноза.

Введение

Современным подходом при разработке широкого спектра препаратов биомедицинского назначения

Азимова Луиза Бахтияровна – младший научный сотрудник, e-mail: luiza8181@mail.ru

Норматаматов Нодирали Сохобаталиевич – доктор химических наук, старший научный сотрудник, e-mail: nodirali@gmail.com

Хайтметова Саида Бокижоновна – кандидат технических наук, старший научный сотрудник, e-mail: xsb75@mail.ru

Мухитдинов Бахтиёр Икромович – младший научный сотрудник, e-mail: muhitdinov.bahtiyor@gmail.com

Амонова Дилноза Мухторовна – младший научный сотрудник, e-mail: amonovadilnoza@gmail.com

Филатова Альбина Васильевна – старший научный сотрудник, кандидат химических наук, e-mail: albfil@mail.ru

Халилова Гулноза Абдувахобовна – базовый докторант, e-mail: gulnoza_xalilova@mail.ru

Киргизбаев Хусниддин Хасанбаевич – младший научный сотрудник, e-mail: qirgizbaev89@mail.ru

Тураев Аббасхан Сабирханович – доктор химических наук, академик, главный научный сотрудник, e-mail: abbaskhan@mail.ru

является использование возобновляемого растительного сырья. Поиск новых веществ, обладающих комплексом иммуностимулирующих и бактерицидных свойств, весьма актуален. Развитие исследований в области изучения специфических свойств природных полисахаридов открывает широкие возможности для создания на их базе иммунокорректирующих препаратов [1]. Полисахариды высших растений, в том числе галактоманнаны, обладают иммуномодулирующими свойствами.

Галактоманнаны – группа гетерополисахаридов, молекулы которых состоят из остатков галактозы и маннозы в разных соотношениях, при этом манноза образует скелет с присоединенными боковыми остатками галактозы. Среди изученных галактоманнанов большинство выделено из семян растений семейства бобовых [2].

* Автор, с которым следует вести переписку.

Из 23 видов растения рода *Gleditsia* к настоящему времени галактоманнаны выделены из следующих: *G. amorphoides* (Griseb.) Taub., *G. caspica* Desf., *G. ferox* Desf., *G. aquatica* Marshall, *G. delavayi* Franch., *G. japonica* Miq., *G. macracantha* Defs., *G. sinensis* Lam. [3], *G. texana* Sarg. [4], *G. siliqua* [5].

В работе [6] авторами проведено сравнительное изучение процессов накопления и деградации галактоманнанов (ГМ) семян некоторых видов семейства *Fabaceae Lindl. s.l.*

Общеизвестно наличие взаимосвязи между химической структурой и биологической активностью соединений. Химическая модификация и увеличение реакционной способности может привести к изменению физиологической активности полисахарида [7–12].

По масштабу использования в различных отраслях промышленности галактоманнаны и их производные занимают первое место после целлюлозы и крахмала. Эти полисахариды, благодаря уникальным свойствам своих водных растворов и отсутствию токсичности, используются в пищевой, текстильной, фармацевтической промышленности и медицине в качестве пищевых добавок, стабилизаторов, флокулянтов, загустителей и гелеобразователей (в бинарных смесях) [13]. Фармакологические исследования показали наличие у галактоманнанов и их производных антикоагулянтных [14], гепатопротекторных [15] и анальгетических свойств [16]. Установлено, что применение частично гидролизованного гуара положительно влияет на липидный и углеводный виды обмена, а также нормализует микрофлору кишечника [17, 18].

Исследования, касающиеся структуры, свойств, модификации, биогенеза и практического применения галактоманнанов, являются актуальными, о чем свидетельствует постоянно растущий объем научной информации, относящейся к данному классу биополимеров [19].

Цель работы – выделение галактоманнанов из растительного сырья и изучение их физико-химических свойств.

Экспериментальная часть

Выделение водорастворимого полисахарида. В качестве растительного сырья для извлечения галактоманнана нами были выбраны семена *Софоры японской* (лат. *Styphnolobium japonicum*) и *Гледичии обыкновенной* (лат. *Gleditsia triacanthos*). Для отделения эндосперма от остальных частей семена помещали в колбу с обратным холодильником, в трехкратном объеме приливали кипяченую воду и помещали на кипящую водяную баню на 20 мин. Набухшие семена вручную разделяли на три части: семенную кожуру, зародышевую часть и эндосперм. Далее отделенный эндосперм измельчали. Измельченную ткань кипятили 80% этанолом в течение 1 ч с обратным холодильником. Спиртовой экстракт декантировали и высушивали на воздухе.

Холодную водную экстракцию проводили при комнатной температуре. К измельченному эндосперму приливали 500 мл воды и помещали на магнитную мешалку на 10 ч. Экстракт отфильтровывали и осаждали 2 объемами этилового спирта. Образовавшийся белый осадок отфильтровывали и высушивали под тягой.

Горячую экстракцию проводили на масляной бане. Отжим от холодной экстракции помещали в стакан и доливали дистиллированную воду при перемешивании при $t = 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ в 3–4-кратном объеме. По мере загустевания экстракта прибавляли порциями горячую воду до конечного объема. Вязкий экстракт декантировали, а к остатку приливали новую порцию горячей воды и продолжали экстракцию в тех же условиях еще 3 ч. Полученные экстракты объединяли и добавляли 2 объема 96%-ного этанола. Выпавший белый осадок отфильтровывали и промывали спиртом. Полученный водорастворимый полисахарид высушивали под тягой.

Ферментативный гидролиз полисахаридов. К 2 г водорастворимого полисахарида добавляли 100 мл буферного раствора ацетата натрия с $\text{pH} = 4.5$ и оставляли при комнатной температуре. Далее к образованному густому раствору добавили 20 мл фермента с 506 ед. и поместили в водяную баню при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 7 ч. Затем для удаления фермента поместили в печь при $100\text{--}110\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 20 мин. Полученный раствор отцентрифугировали. Отцентрифугированный раствор в количестве 100 мл осаждали 300 мл этилового спирта 96% и далее промывали двукратно спиртом. Образовавшийся осадок сушили в печи при $50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Определение относительной вязкости. Вязкость определяли на вискозиметре Убеллоде ($d = 0.6\text{ мм}$), при температуре $+25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Определение молекулярных масс. M_w и молекулярно-массовые распределения определены методом эксклюзионной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе, состоящем из плунжерного насоса Merck-HitachiL-6000A, рефрактометрического детектора ShodexRI-101, детектора многоугольного рассеяния лазерного света (МРЛС) DAWNNSP, WattTechnology (США), ручного инжектора проб Rheodine 2104, дегазатора элюента и двух термостатированных при $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ хроматографических колонок PLAquagel-

ОНMixed, соединенных последовательно. Длина и внутренний диаметр каждой колонки соответственно составляли 300 и 7.5 мм. Элюентом служил водный раствор NaCl с концентрацией 0.1 моль/л. Объем вводимой пробы составлял 100 мкл. Объемная скорость подачи элюента составляла 60 мл/час. Растворы полимеров перед вводом в хроматографическую колонку пропускали через фильтр с размером пор 0.22 мкм. Анализ образцов ГМ с помощью МРЛС осуществляли на длине волны 632.8 нм [20].

ИК-спектроскопия. ИК-спектры исследуемых образцов снимали на ИК-Фурье спектрометре системы 2000 фирмы «PerkinElmer» в диапазоне частот 400–4000 см⁻¹ в таблетке с KBr. Для съемки спектров по 10 мг изучаемых образцов размалывали в шаровой мельнице с 100 мг бромида калия в течение 1 мин, затем к смеси добавляли около 100 мг KBr и снова измельчали в мельнице, после чего добавляли оставшийся бромид калия (всего 300 мг), перемалывали еще ~30 сек и прессовали таблетки.

ЯМР-спектроскопия. Спектры ¹³C ЯМР, ¹H ЯМР были сняты на спектрометрах Bruker Avance 400 MHz и Bruker Avance 600 MHz в D₂O при 50 °C, при частоте 100 МГц и ширине импульса 30°, в течение 0.3 сек и при задержке релаксации 3 сек.

Обсуждение результатов

Методами холодной и горячей экстракций из семян *Софоры японской* (лат. *Styphnolobium japonicum*) и *Гледичии обыкновенной* (лат. *Gleditsia triacanthos*) выделены галактоманнаны (SJ и GT соответственно). Полученные образцы представляют собой белый порошок, растворяющийся в воде после набухания. В таблице 1 представлены физико-химические свойства выделенных образцов: относительная вязкость и молекулярная масса.

Из таблицы следует, что все полученные галактоманнаны имели высокое значение характеристической вязкости, что типично для полисахаридов с 1,4 диэкваториальными связями. Величины ММ полученных образцов галактоманнанов составили от 750 до 1048 кДа.

По результатам анализа в гидролизате были идентифицированы только манноза и галактоза в соотношениях 4.8 : 1 и 5.3 : 1, другие сахара были в следовых количествах. Практически одинаковое соотношение компонентов свидетельствует о гомогенности гетерополисахарида. На рисунке 1 представлен ИК-спектр полученного галактоманнана. ИК-спектры в области 700–1700 см⁻¹ идентичны между собой, а также спектрам исследованных нами ранее галактоманнанов и известным спектрам 1,4-β-D-маннанов.

Далее образцы выделенного галактоманнана были подвергнуты ферментативному гидролизу (рис. 2).

Ферментативный гидролиз проводили при pH 7.5 и 45 °C в присутствии фермента α-галактозидазы. Характеристическая вязкость негидролизованного и гидролизованного галактоманнана составила 4.85 и 3.80 дл/г соответственно. Молекулярная масса после обработки ферментом галактоманнана изменилась в пределах 55600–26200 Да.

ПМР-спектроскопический анализ негидролизованного и гидролизованного полигалактоманнана показал существенное изменение в соотношении галактозы : маннозы. ИК-спектроскопические исследования указали глубокие изменения, вероятно, из-за удаления остатков галактозы. Широкий пик, расположенный в области 3303 см⁻¹, относится к валентному колебанию OH-групп, который отвечает за межмолекулярные и внутримолекулярные водородные связи. Пики алифатического поглощения CH были расположены при 2937, 2923 и 2926 см⁻¹ для негидролизованных (ГМ), обработанных ферментом (ФГ) и кислотно гидролизованных галактоманнанов (КГ) соответственно.

Физико-химические свойства образцов галактоманнана

| Образец галактоманнана | Выход*, % | Соотношение Манн : Гал | [η], дл/г | Молекулярная масса, Да |
|------------------------|-----------|------------------------|-----------|------------------------|
| SJ-1* | 9.8 | 1.82 : 1 | 9.46 | 840786 |
| SJ-2* | 35.2 | 2.3 : 1 | 11.09 | 1048516 |
| GT-1* | 7.5 | 2.1 : 1 | 8.78 | 758037 |
| GT-2* | 43.6 | 2.5 : 1 | 9.23 | 812529 |

* В пересчете на эндосперм; фракция 1 получена холодной, фракция 2 получена горячей экстракцией.

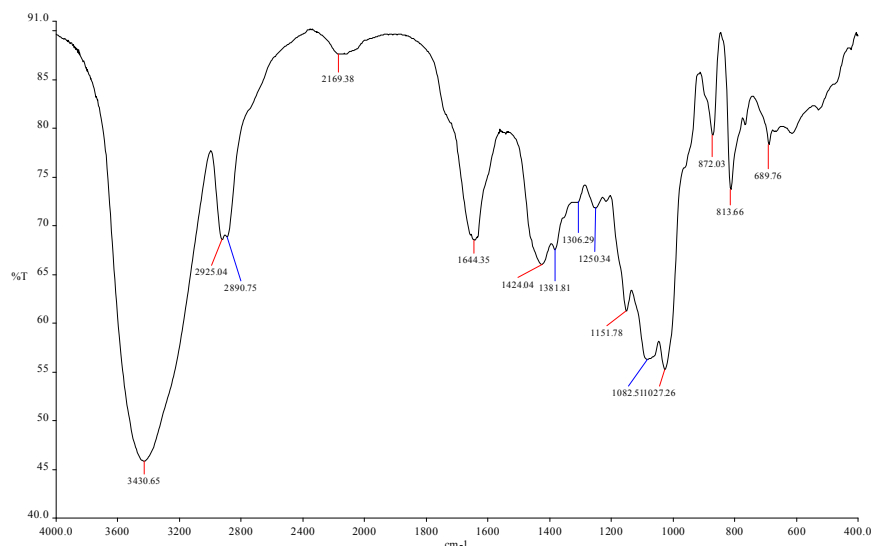


Рис. 1. ИК-спектр исходного полисахарида (галактоманнан)

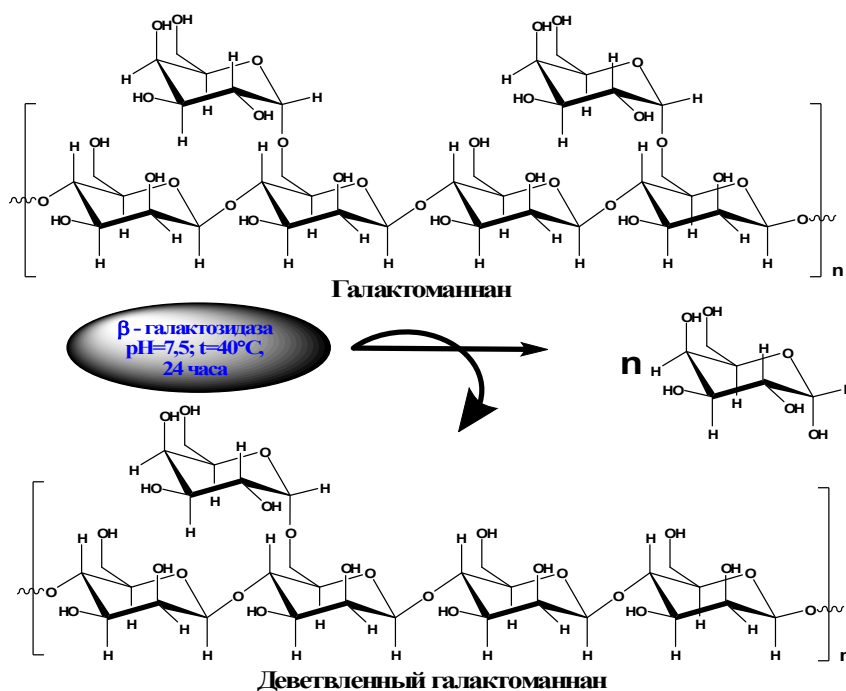


Рис. 2. Схематическое представление процесса селективного ферментативного гидролиза галактоманнанов

Небольшой пик для порошка КГ при 1731 см^{-1} обусловлен вибрацией растяжения CO . Широкий пик приблизительно в 1640 см^{-1} в спектрах объясняется существованием воды у образцов. Пики приблизительно при 1150 , 1052 и 1033 см^{-1} обычно соответствуют асимметричным и симметричным вибрациям C-O-C из эфирных групп в АГП кольцах. Характерные пики, наблюдаемые при ~ 870 и $\sim 810\text{ см}^{-1}$, связываются с β -глюкозидными и β -маннозидными связями, соответственно, для всех образцов, где наблюдается значительное увеличение β -маннозидных связей у образцов, гидролизованных ферментом, чем у исходных и кислотно гидролизуемых образцов (рис. 3).

Метод ПМР-спектроскопии использовали для исследования полученных галактоманнанов, спектр которых представлен на рисунке 4. Резонансы протонов и углеродов были выделены на основе данных, представленных в литературе для галактоманнана.

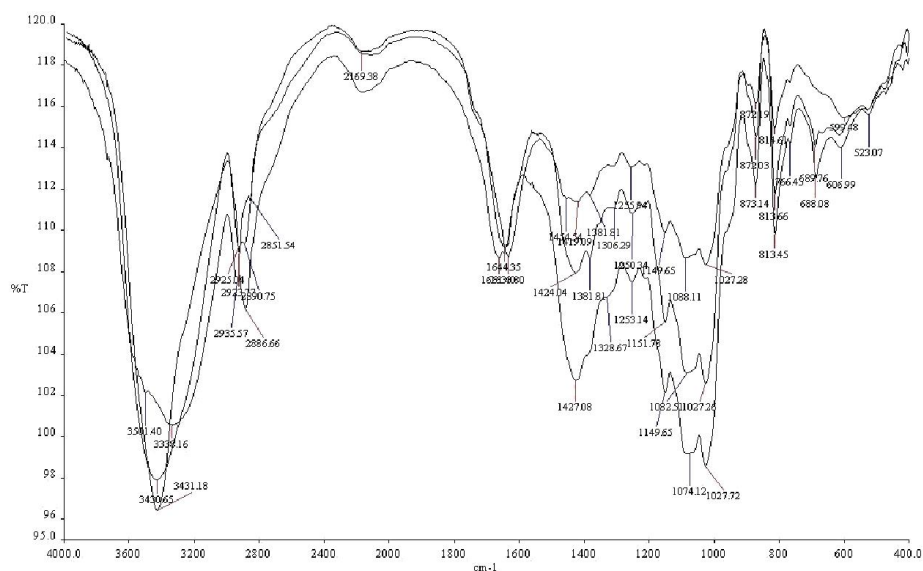


Рис. 3. ИК-спектроскопические исследования структурных изменений гидролизованных образцов галактоманнанов

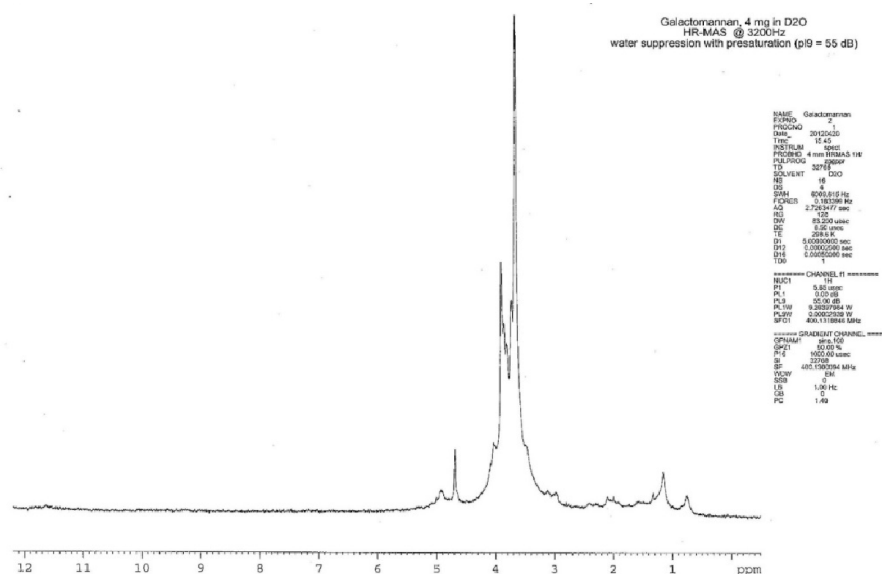


Рис. 4. ПМР-спектр полученного галактоманнана (SJ-1)

Сигналы аномерных протонов при δ 5.01 и 4.73 соответствуют H-1 α -D-галактозы (G) и β -D-маннозы (M) соответственно. Соотношение M : G может быть получено непосредственно из относительных областей аномерных сигналов, при этом получено значение M : G, равное 1.82. Это значение находится в соответствии с полученным для образца SJ-1 методом GLC (1.84). Аномерная область ^{13}C -ЯМР (δ 90–110) показывает два сигнала C-1 α -D-галактозы при δ 99.59 и C-1 β -D-маннозы при δ 100.7.

Выводы

Из семян растений *Sophora japonica* и *Gleditsia triacanthos* были выделены и очищены полисахариды, состоящие в основном из галактоманнана. Изучены физико-химические свойства полученных галактоманнанов. Характеристическая вязкость негидролизованного и гидролизованного галактоманнана равна 4.85 и 3.80 дл/г соответственно. Молекулярная масса после обработки ферментом галактоманнана изменилась в пределе 55600–26200 Да. Методами ПМР и ^{13}C -ЯМР установлено снижение галактозных единиц у негидролизованного и гидролизованного галактоманнанов, что свидетельствует о преимущественном протекании гидролиза по боковой цепи макромолекулы. Увеличение продолжительности ферментативного гидролиза более 24 ч приводит к образованию полиманнана с малым содержанием галактозных единиц.

Список литературы

1. Payne S., Miles D. Mechanisms of anticancer drugs // Scott-Brown's Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery 7Ed: 3 volume set. 2008. P. 34.
2. Анулов О.В. Перспективные виды бобовых флоры России в качестве потенциальных источников галактоманнанов // III Международный симпозиум «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». Пушино, 1999. С. 9–11.
3. Методы химии углеводов / ред. Н.К. Кочетков. М.: Мир, 1967. 286 с.
4. Липкинд Г.М., Шашков А.С., Кочетков Н.К. Структурный анализ полисахаридов с линейным повторяющимся звеном на ЭВМ по данным спектров ¹³C-ЯМР // Биоорганическая химия. 1987. Т. 13. №6. С. 833–841.
5. Пленник Р.Я. Морфологическая эволюция бобовых юго-восточного Алтая. Новосибирск: Наука, 1976. 216 с.
6. Лобанова И.Е., Анулов О.В., Щербухин В.Д. Галактоманнаны семян некоторых видов семейства *fabaceae lindl.* S.I. в процессах созревания и прорастания // Растительный мир азиатской России. 2008. С. 83–90.
7. Dancey J., Arbuck S. Cancer drugs and cancer drug development for the new millennium // Progress in Anti-Cancer Chemotherapy. Springer, Paris, 2000. Pp. 91–109.
8. Mueller C.M. et al. Complementary and alternative medicine use among women at increased genetic risk of breast and ovarian cancer // BMC complementary and alternative medicine. 2008. Vol. 8. N1. P. 17. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.06.033.
9. Muhitdinov B., Heinze Th., Normakhamatov N., Turaev A. Preparation of sodium cellulose sulfate oligomers by free-radical depolymerization // Carbohydrate Polymers. 2017. Vol. 173. Pp. 631–637.
10. Fukuda C., Kollmar O. Anionic polysaccharides a class of substances with hepatoprotective and antiadhesive properties in rat liver preservation // Transpl. Int. 2002. Vol. 15. Pp. 17–23. DOI: 10.1007/s00147-001-0374-9.
11. Normakhamatov N.S., Turaev A.S., Ye Yang. Molecular weight properties of sulfated sugars and their effect to the biological activities // Conference on «Actual Problems of Development of the Bioorganic Chemistry». Tashkent, 2013.
12. Namekata M., Sakamoto N., Yokoyama Y., Takagi M. Studies on oligosaccharide sulfates and monosaccharide sulfates for medical purposes. II. Antipeptic and antiulcerogenic properties of the tri, tetra-saccharide sulfates, monosaccharide sulfates and sulfates of its reduced products // Yakugaku Zasshi. 1967. Vol. 87. Pp. 778–780.
13. Анулов О.В., Пленник Р.Я. Зависимость содержания галактоманнанов в семенах некоторых видов рода *Oxytropis* (Fabaceae) от условий их произрастания // Сибирский экологический журнал. 1999. Т. 6. №3. С. 227–229.
14. Местечкина Н.М., Анулов О.В., Смирнова Н.И., Щербухин В.Д. Изучение галактоманнана семян *Trifolium hybridum L.* // Прикладная биохимия и микробиология. 1996. Т. 32. №6. С. 656–659.
15. Местечкина Н.М., Анулов О.В., Щербухин В.Д. Изучение галактоманнана семян *Amorpha fruticosa L.* // Прикладная биохимия и микробиология. 1998. Т. 34. №5. С. 549–552.
16. Местечкина Н.М., Довлетмуратов К., Щербухин В.Д. Галактоманнан семян солодки обыкновенной (*Glycyrrhiza glabra*) // Прикладная биохимия и микробиология. 1991. Т. 27. №3. С. 435–441.
17. Местечкина Н.М., Щербухин В.Д. Изучение галактоманнана семян *Galega orientalis Lam.* // Прикладная биохимия и микробиология. 1990. Т. 26. №6. С. 799–803.
18. Криштанова Н.А., Сафонова М.Ю., Болотова В.Ц. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств // Вестник ВГУ. Серия химия. Биология. Фармация. 2005. №1. С. 212–221.
19. Anulov O.V., Mestechkina N.M., Shcherbukhin V.D. Characterization and structural examination of a galactomannan from seeds of *Baptisia australis* (L.) R. Br // Прикладная биохимия и микробиология. 1997. Т. 33. №6. С. 634.
20. Папков С.П. Физико-химические основы переработки растворов полимеров. М.: Химия, 1971. 372 с.

Поступила в редакцию 3 октября 2018 г.

После переработки 18 января 2019 г.

Принята к публикации 23 января 2019 г.

Для цитирования: Азимова Л.Б., Нормакхаматов Н.С., Хайтметова С.Б., Мухитдинов Б.И., Амонова Д.М., Филатова А.В., Халилова Г.А., Киргизбаев Х.Х., Тураев А.С. Выделение и изучение физико-химических свойств галактоманнанов из растительного сырья // Химия растительного сырья. 2019. №2. С. 35–41. DOI: 10.14258/jcrpm.2019024491.

Azimova L.B.*, Normakhamatov N.S., Khaytmetova S.B., Muhitdinov B.I., Amonova D.M., Filatova A.V., Khalilova G.A., Kirgizbaev H.H., Turaev A.S. ISOLATION AND STUDY OF PHYSICAL-CHEMICAL PROPERTIES OF GALACTOMANNANS FROM PLANT MATERIALS

Institute of Bioorganic Chemistry, Uzbekistan Academy of Sciences, ul. Mirzo Ulugbeka, 83, Tashkent, 100125 (Uzbekistan), e-mail: luiza8181@mail.ru

The aim of the study is isolation of galactomannan from plant materials and investigation of their physical and chemical properties. Polysaccharides generally consisting of galactomannan were isolated and purified from galactomannans from these plants the plants *Sophora japonica* and *Gleditsia triacanthos* by cold and hot extraction methods. Galactose and mannose contents of the galactomannans isolated were quantitatively characterized and physical and chemical properties of the polysaccharides were studied. In addition, polysaccharides isolated were enzymatic hydrolyzed and changes in the monosaccharide composition in the hydrolysis process were studied. The characteristic viscosities of the initial and hydrolyzed galactomannans were 4.85–3.80 dl/g, respectively. Molecular weights of the galactomannans, after treatment with the enzyme, changed in a range of 55600–26200 Da. Studies with ¹H NMR and ¹³C NMR spectroscopy methods showed decreases in galactoside content of the hydrolyzed galactomannans, indicating the primary course of hydrolysis occurs by the side chain of the macromolecule. Increase in duration of enzymatic hydrolysis more than 24 hours led to the formation of poly-mannans with a minor content of galactose units. The obtained data can serve to improve isolation and preparation of galactomannan based materials for biomedical purposes.

Keywords: polysaccharide, galactomannan, enzymatic hydrolysis, α -galactosidase, double-stranded galactomannan, galactose, mannose.

References

1. Payne S., Miles D. *Scott-Brown's Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery 7Ed: 3 volume set*, 2008, p. 34.
2. Anulov O.V. III Mezhdunarodnyy simpozium «Novyye i netraditsionnyye rasteniya i perspektivy ikh ispol'zovaniya». [III International Symposium “New and nontraditional plants and prospects for their use”]. Pushchino, 1999, pp. 9–11. (in Russ.).
3. Metody khimii uglevodov [Methods of chemistry of carbohydrates], ed. H.K. Kochetkov. Moscow, 1967, 286 p. (in Russ.).
4. Lipkind G.M., Shashkov A.C., Kochetkov N.K. *Bioorganicheskaya khimiya*, 1987, vol. 13, no. 6, pp. 833–841. (in Russ.).
5. Plennik R.Ya. *Morfologicheskaya evolyutsiya bobovykh yugo-vostochnogo Altaya*. [Morphological evolution of legumes of the south-eastern Altai]. Novosibirsk, 1976, 216 p. (in Russ.).
6. Lobanova I.Ye., Anulov O.V., Shcherbukhin V.D. *Rastitel'nyy mir aziatskoy Rossii*, 2008, pp. 83–90. (in Russ.).
7. Dancey J., Arbutck S. *Progress in Anti-Cancer Chemotherapy*, Springer, Paris, 2000, pp. 91–109.
8. Mueller C.M. et al. *BMC complementary and alternative medicine*, 2008, vol. 8, no. 1, p. 17, DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.06.033.
9. Muhitdinov B., Heinze Th., Normakhamatov N., Turaev A. *Carbohydrate Polymers*, 2017, vol. 173, pp. 631–637.
10. Fukuda C., Kollmar O. *Transpl. Int.*, 2002, vol. 15, pp. 17–23, DOI: 10.1007/s00147-001-0374-9.
11. Normakhamatov N.S., Turaev A.S., Ye Yang. *Conference on «Actual Problems of Development of the Bioorganic Chemistry»*, Tashkent, 2013.
12. Namekata M., Sakamoto N., Yokoyama Y., Takagi M. *Yakugaku Zasshi*, 1967, vol. 87, pp. 778–780.
13. Anulov O.V., Plennik R.Ya. *Sibirskiy ekologicheskiy zhurnal*, 1999, vol. 6, no. 3, pp. 227–229. (in Russ.).
14. Mestechkina N.M., Anulov O.V., Smirnova N.I., Shcherbukhin V.D. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1996, vol. 32, no. 6, pp. 656–659. (in Russ.).
15. Mestechkina N.M., Anulov O.V., Shcherbukhin V.D. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1998, vol. 34, no. 5, pp. 549–552. (in Russ.).
16. Mestechkina N.M., Dovletmuradov K., Shcherbukhin V.D. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1991, vol. 27, no. 3, pp. 435–441. (in Russ.).
17. Mestechkina N.M., Shcherbukhin V.D. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1990, vol. 26, no. 6, pp. 799–803. (in Russ.).
18. Krishtanova N.A., Safonova M.Yu., Bolotova V.Ts. *Vestnik VGU. Seriya khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2005, no. 1, pp. 212–221. (in Russ.).
19. Anulov O.V., Mestechkina N.M., Shcherbukhin V.D. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 1997, vol. 33, no. 6, p. 634.
20. Papkov S.P. *Fiziko-khimicheskiye osnovy pererabotki rastvorov polimerov*. [Physical and chemical bases of processing polymer solutions]. Moscow, 1971, 372 p. (in Russ.).

Received October 3, 2018

Revised January 18, 2019

Accepted January 23, 2019

For citing: Azimova L.B., Normakhamatov N.S., Khaytmetova S.B., Muhitdinov B.I., Amonova D.M., Filatova A.V., Khalilova G.A., Kirgizbaev H.H., Turaev A.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 2, pp. 35–41. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcpr.2019024491.

* Corresponding author.

