

УДК 547.4:577.1:576.8

ВЫДЕЛЕНИЕ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИСАХАРИДА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ПЛОДОВОГО ТЕЛА *INONOTUS HISPIDUS*

© *Г.А. Халилова**, *А.С. Тураев*, *Б.И. Мухитдинов*, *А.В. Филатова*, *С.Б. Хайтметова*,
Н.С. Норматаматов

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

Статья посвящена исследованию полисахаридов, выделенных из базидиомицетного сырья *I. Hispidus*, и изучению их физико-химических свойств. Методом последовательной водной экстракции из грибного сырья выделены водорастворимые полисахариды и выход составил 9.44%. Полисахариды были разделены на нейтральные фракции методом ионообменной хроматографии и очищены от белков и пептидов. В процессе разделения было определено, что образец полисахарида состоял из однородных полисахаридов, при этом содержание углеводов в образце очищенного полисахарида составило 99.4%. Определен углеводный состав полисахаридов, установлено, что полисахарид состоит в основном из остатков глюкозы и в незначительных количествах содержит остатки фруктозы и рамнозы. Определены молекулярная масса и молекулярно-массовое распределение методом эксклюзионной хроматографии. Величина ММ полученного образца полисахарида составила 18.7 кДа, индекс полидисперсности 1.3. Результаты ИК-, ¹H- и ¹³C ЯМР спектроскопических исследований показали, что полисахарид по структурным характеристикам относится к полисахариду β-глюканового типа β-(1,3) и β-(1,6).

Ключевые слова: водорастворимые полисахариды, глюкоза, рамноза, β-глюкан, базидиомицетное сырье, углеводы.

Введение

В настоящее время грибы базидиомицеты активно изучаются с точки зрения их применения в медицине и фармации, так как они имеют в своем составе широкий спектр различных биологических активных веществ, таких как полисахариды, сесквитерпены, тритерпены, белки, меланины, каротиноиды, фенольные соединения, в том числе флавоноиды и др. [1].

Биологически активные полисахариды широко представлены в составе высших базидиомицетов, большинство из них имеет уникальное строение у разных видов. Полисахариды, выделенные из базидиальных грибов, обладают иммуномодуляторными, противовирусными, гепатопротекторными, антипролиферативными, гиполипидемическими, адаптогенными активностями, в связи с чем являются практически значимыми [2]. Полисахариды базидиомицетов способны стимулировать врожденную иммунную систему и оказывать противоопухолевую активность через стимуляцию иммунитета организма хозяина. Полисахариды грибов *Ganoderma lucidum*, *Laetiporus sulphureus*, *Polyporus umbellatus*, *Inonotus obliquus* и *Wolfiporia cocos* оказывают противоопухолевое иммуномодулирующее действие [3]. Полисахариды из спор *Tremella fuciformis* при пероральном применении

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

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

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

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

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

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

* Автор, с которым следует вести переписку.

проявляют гепатопротекторную, антиоксидантную активность [4]. Гепатопротекторный эффект обнаружен у экстракта шляпочного гриба *Grifola frondosa* [5]. Полисахариды из гриба *Trametes versicolor* поддерживают работу печени и предупреждают развитие рака печени [6].

Полисахариды различаются по своей структуре, физико-химическим свойствам, по моносакхаридному составу, типу гликозидной связи, молекулярной массе и способности растворяться в воде или щелочи [7, 8]. Их биологическая активность зависит от молекулярных параметров и структуры. Анализ литературы показал, что данные о полисахаридном составе многих представителей рода *Inonotus hispidus* (Bull.) P. Karst. ограничены или отсутствуют вообще, таким образом, углубленные исследования полисахаридного состава данного рода необходимы.

В связи с этим изучение данных параметров полисахаридов, выделенных из базидиального гриба *I. hispidus*, произрастающего в Узбекистане, является актуальным.

Грибы рода *I. Polyporus* относятся к наиболее известному отделу *Basidiomycota*, классу *Basidiomycetes*, подклассу *Homobasidiomycetidae*, порядку *Aphyllphorales* или непластинчатые, семейству *Hymenochaetaceae*.

Цель исследования – выделение полисахаридов из плодового тела базидиального гриба *I. hispidus* и определение физико-химических свойств.

Экспериментальная часть

Объект исследования. В работе использован базидиальный гриб *I. hispidus*, собранный в местах естественного произрастания на территории Узбекистана в Бустанлыкском районе. Гриб собран в конце лета, на деревьях Софоры Японской (*Styphnolobium japonicum*). Ориентировочный возраст гриба – 9–10 месяцев, плодовое тело гриба размером около 20–25 см в диаметре имело красно-коричневую окраску, бархатисто-волосистую поверхность. Идентификацию гриба провели в Институте Ботаники АНРУз в лаборатории микологии, при этом руководствовались информацией, представленной на сайте (www.indexfungorum.org).

После сбора плодовое тело базидиального гриба высушивалось до постоянной массы в сушильном шкафу ШС-80-01 СПУ при температуре 40–50 °С.

Методы исследования и проведение эксперимента

Обессмоливание сырья. Плодовое тело трутовика измельчали в лабораторном измельчителе до размера частиц от 2 до 5 мм. Для удаления низкомолекулярных примесей и белков грибное сырье экстрагировали в аппарате Сокслета смесью хлороформ – спирт этиловый 95% (1 : 2) до полного истощения сырья. Полученное извлечение упаривали при температуре 50–60 °С до состояния густой массы, затем высушивали при температуре 100 °С до остаточной влажности 5%.

Выделение водорастворимых полисахаридов. Для выделения водорастворимых полисахаридов из базидиального гриба *I. hispidus* использовали метод последовательной экстракции водой. Обессмоленное сырье высушивали до удаления запаха растворителей, взвешивали и экстрагировали трижды горячей водой на кипящей водяной бане с обратным холодильником (при суммарном соотношении сырья и экстрагента 1 : 20, 1 : 15, 1 : 10). Суммарная продолжительность трех экстрагирований – 6 ч. Полученные водные экстракты объединяли и упаривали на роторно-пленочном испарителе при температуре 50 °С до 1/5 первоначального объема, фильтровали. Из полученного концентрата водорастворимые полисахариды выделяли добавлением четырехкратного объема спирта этилового 95% и выдерживанием при температуре -5 °С в течение 12 ч. После центрифугирования осадок отделяли, промывали спиртом этиловым на стеклянном фильтре, сушили при температуре 30 °С [9].

Количественное содержание полисахаридов определяли Фенол-серноокислотным методом [10] по калибровочному графику для глюкозы. Содержание белков определяли по методу Savage [11].

Спектрофотометрические определения проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-VIS 1280 (Shimadzu Europa GmbH, Германия).

Ионообменная хроматография. Образец водорастворимого полисахарида (100мг) растворяли в 5 мл дистиллированной воде и наносили на колонку (14×3 см) с DEAE-52 (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Германия) целлюлозой. Элюирование полисахаридов проводили последовательно 0–1 М градиентным раствором NaCl со скоростью 60 мл/ч. Отбирали фракции объемом по 10 мл. Выход полисахаридов из колонки контролировали фенол-серноокислотным методом. Фракцию, соответствующую отдельным пикам, объединяли, концентрировали, диализовали и лиофильно высушивали.

Гель-фильтрация полисахаридов. Образцы полисахаридов (50 мг) растворяли в 2 мл воды и наносили на колонку (41x2 см) с сефадексом G-75. Свободный объем колонки – 32 мл. Элюирование проб проводили 0,01М раствором NaCl со скоростью порока элюента 20 мл/ч. Отбирали фракции объемом 3 мл. Выход полисахаридов из колонки контролировали с помощью качественной реакции по фенол-серноокислотному методу. Фракции, соответствующие отдельным пикам, объединяли, концентрировали до минимального объема, диализовали и лиофильно высушивали.

Моносахаридный состав полисахаридов определяли альдитол-ацетатным методом. Полисахарид (5 мг) и 2 М трифторуксусную кислоту (3 мл) помещали в ампулу, гидролизовали при 110 °С в течение 6 ч. Для удаления гидролизата трифторуксусной кислоты гидролизат три раза разбавляли 5 мл раствором сухого метанола. В сухой гидролизат добавляли гидроксилламин гидрохлорид (10 мг), изонитол (2 мг) и растворяли в пиридине (5 мл). Раствор нагревали при 90 °С в течение 30 мин, быстро охлаждали до комнатной температуры, добавляли уксусный ангидрид (0.5 мл) и ацетилировали в течение 30 минут при 90 °С. Реакционную смесь сушили в потоке азота, растворяли в хлороформе (0.5 мл) и фильтровали через шприцевый фильтр (0.45 м). Альдитолацетатные производные моносахаридных стандартов (D-Glc, D-Gal, D-Rib, D-Ara, L-Rha, D-Man, D-Xyl и D-Fru) были получены, как описано выше. Синтезированные альдитолацетатные производные проанализированы Газ хроматография/Масс спектрометрия ГХ/МС (колонка Thermo Finnigan TRACE 2000 / MS, DB-5MS (30 м × 0.25 мм × 0.25 мм), температурная программа от 180 до 270 °С при 20 °С/мин, с удержанием 270 °С в течение 25 мин). Пики, соответствующие альдитол ацетатам и их фрагментам, определялись их масс-спектрами и временем разделения ГХ. Отношение моносахаридов в полисахаридах определяли путем сравнения площадей пика.

Определение молекулярных масс. Mw и молекулярно-массовые распределения определены методом эксклюзионной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе, состоящем из плунжерного насоса Merck-Hitachi L-6000A, рефрактометрического детектора Shodex RI-101, детектора многоугольного рассеяния лазерного света (МРЛС) DAWN NSP, WattTechnology (США), ручного инжектора проб Rheodine 2104, дегазатора элюента и двух термостатированных при 25 °С хроматографических колонок PL Aquagel-ОН Mixed, соединенных последовательно. Длина и внутренний диаметр каждой колонки соответственно составляли 300 и 7.5 мм. Элюентом служил водный раствор NaNO₃ с концентрацией 0.1 моль/л. Объем вводимой пробы составлял 100 мкл. Объемная скорость подачи элюента составляла 0.8 мл/мин. Растворы полимеров перед вводом в хроматографическую колонку пропускали через фильтр с размером пор 0.22 мкм.

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 КВг. 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 КВг и снова измельчали в мельнице, после чего добавляли оставшийся бромид калия (всего 300 мг), перемалывали еще ~30 сек и прессовали таблетки.

ЯМР-спектроскопия. Спектры ¹³С ЯМР, ¹Н ЯМР были сняты на спектрометрах Varian Unity-400 plus 400 MHz, в D₂O при 22 °С, при частоте 100 МГц и ширине импульса 30°, в течение 0.3 сек и при задержке релаксации 3 сек.

Обсуждение результатов

Для предварительной очистки исходного сырья измельченное плодовое тело гриба *I. hispidus* экстрагировали обессмоливающим реагентом, который приводит к дезактивации ферментов, деградирующих полисахариды, а также к удалению липидов, частично протеинов, моно- и олигосахаридов, красящих веществ и неорганических примесей и выход составил 3.2%. После обессмоливания сырья для выделения из него водорастворимых полисахаридов провели последовательную экстракцию растительного материала водой и осадили этиловым спиртом. Выход полисахаридов составил 9.44%.

Выделенные полисахариды представляют собой порошок кремового цвета, который хорошо растворяется в воде, при низкой концентрации образует опалесцирующий раствор, а при высокой концентрации образует вязкий раствор.

Далее мы провели количественное определение углеводного состава выделенных полисахаридов фенол-серноокислым методом при максимуме поглощения длин волн 480–490 нм. Общее количество углеводов составило 42%, это означает наличие примесей в составе выделенного полисахарида.

Далее выделенные полисахариды очистили от белков методом Savage. УФ-спектроскопические исследования показали, что не наблюдались пики, соответствующие белкам при 280 нм и 260 нм. Это означает, что данный образец полисахарида не содержит белки и пептиды.

При пропускании образцов полисахаридов через DEAE-целлюлозу их сначала промывали в дистиллированной воде и затем добавляли градиентный раствор NaCl. Со временем концентрация раствора NaCl возрастала до 1.0 М. Нейтральные полисахариды были разделены при промывке дистиллированной водой, что дало один пик (в соответствии с рисунком 1). При промывке образцов NaCl анионные полисахариды не разделялись. Это указывает на то, что данный образец состоит из нейтрального полисахарида.

Для определения гомогенности исходного полисахарида, а также очистки его от сопутствующих примесей с целью дальнейшего изучения его состава и строения углеводных цепей, проведена гель хроматография на сефадексе G-75. В процессе разделения было определено, что образец полисахарида состоял из однородных полисахаридов (в соответствии с рисунком 2). При этом содержание углеводов в образце очищенного полисахарида составило 99.4%.

Дальнейшие исследования были направлены на определение моносахаридного состава полученного образца. С помощью GC-MS альдитолацетатного метода был установлен моносахаридный состав полисахарида, выделенного из *I. hispidus* путем водного экстрагирования. Установлен моносахаридный состав полисахарида: фруктоза 6.68%, или 1.79 моль, рамноза 3.37%, или 1.0 моль, глюкоза 89.58%, или 89.58 моль. Из полученных результатов видно, что полисахарид, состоит в основном из остатков глюкозы (в соответствии с рисунком 3). В их составе обнаружены и другие моносахариды в следовых количествах, вследствие чего в основную структуру их не включают.

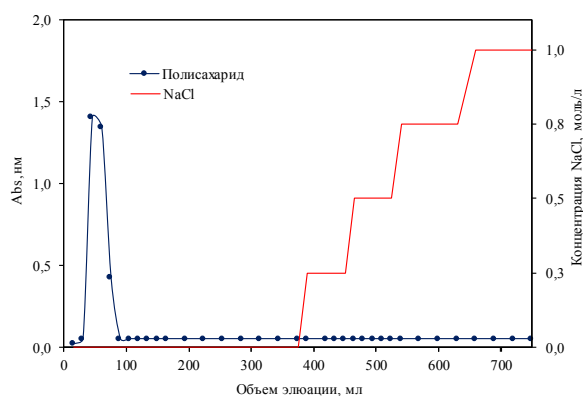


Рис. 1. Ионообменная хроматограмма выделенного полисахарида в целлюлозной колонке DEAE-52 (элюент – 0–1.0 М градиент NaCl, скорость элюирования – 1 мл/мин)

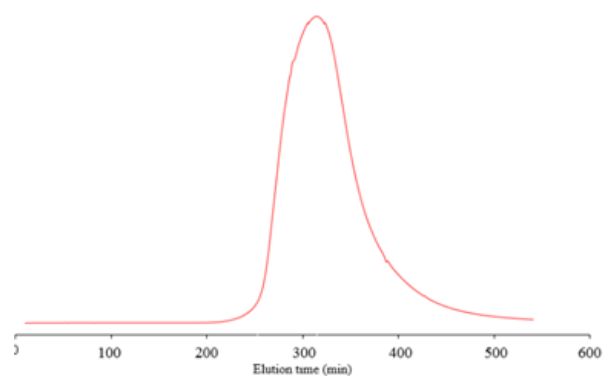


Рис. 2. Гель-хроматограмма водорастворимого полисахарида выделенного базидиального гриба *I. hispidus*

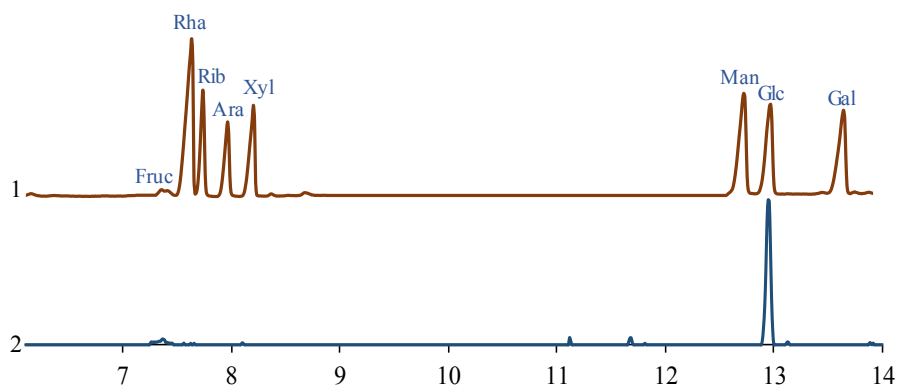


Рис. 3. Спектры ГХ/МС производных ацетатов альдитола стандартных моносахаридов, а также моносахаридов в составе выделенного полисахарида базидиального гриба *I. hispidus*

Была определена молекулярная масса и молекулярно-массовое распределение методом эксклюзионной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе. Величина ММ полученного образца полисахарида составила 18.7 кДа, индекс полидисперсности – 1.3.

Далее провели ИК-спектроскопические исследования выделенного водорастворимого полисахарида.

В ИК-спектре полученного образца наблюдались соответствующие полисахаридам полосы поглощения 3430, 2920, 1630, 1420–1380, 1200–750 cm^{-1} (рис. 4). Также наблюдались полосы поглощения валентных колебаний О-Н и С-Н в областях 3430 и 2920 cm^{-1} соответственно. В областях 1630 и 1420–1380 cm^{-1} наблюдались полосы поглощения, соответствующие полисахаридам. В области 1200–950 cm^{-1} наблюдались полосы поглощения валентных колебаний, соответствующие С-О и С-С связям [12]. Наибольшую информацию о структуре полисахарида несет ближняя ИК-область спектра (аномерный регион), наличие полос в которой характеризует направление и тип связей в макромолекуле, а также конформационные и конфигурационные особенности полимера. В этой области очень хорошо видны структурные различия полисахаридов. Так, в спектре полисахарида присутствует полоса 898–900 cm^{-1} , свидетельствующая о наличии β -типа связи: β -(1-3), β -(1-6) [13].

Более точную информацию о структуре полисахарида дают ЯМР-исследования. Нами проведены ^1H и ^{13}C ЯМР исследования водорастворимого полисахарида (рис. 5 и 6).

Из рисунка 5 виден сигнал высокой интенсивности в области 4.6 м.д., который является специфичным для β -гликозидных связей [14]. В исследовании спектр сигнала, соответствующий атому Н-1, наблюдается в поле 5.049, 4.522 м.д., сигнал, принадлежащий атому Н-2, наблюдается 3.367 и 3.483 м.д. Сигналу в области спектра 4.52 м.д. соответствует аномерный атом водорода Н1 в атомах углерода, участвующий в β -(1,6)-гликозидной связи [15]. Также сигнал в области 4.967 м.д. спектра характерен для атомов водорода аномера Н1 в атомах углерода, входящих в β -(1,3,6)- и β -(1,3)-гликозидных связей соответственно [16]. Эти результаты показывают, что остаток глюкопиранозы соответствует конфигурации атома β аномера Н1. Можно заметить, что эти результаты согласуются с результатами ИК-спектра. Кроме того, несколько сигналов, характерных для атомов Н-3, Н-4, определяются в диапазоне 3.64–3.83 м.д. Сигналы, соответствующие атому Н-5, наблюдается в поле 4.057 м.д. В спектре 1.223 м.д. наблюдался сигнал, специфичный для атома Н-6 остатка рамнозы [17]. Эти результаты согласуются с результатами газ-хроматографии. Химический сдвиг при 4.80 м.д. можно объяснить использованием растворителя D_2O .

При ЯМР исследовании сигналы, специфичные для атома углерода С-1, наблюдались в области спектра 98–104 м.д. [18]. Сигналы непосредственной близости, специфичные для атомов углерода С-2, С-3 и С-5 в ангидроглюкопиранозной единице, были замечены в 69–76 м.д. [19]. Сигналы в диапазоне 77–79 м.д. спектра принадлежат атому углерода С-4, а сигнал в диапазоне 78.6 м.д. соответствует обменным атомам углерода С-4 (β -(1,4)-гликозидным связям в полисахаридной цепи [20]. Сигнал в области 80.564 м.д. спектра ^{13}C ЯМР специфичен для обменного атома углерода С-3 и показывает наличие β -(1,3)-гликозидной связи в полисахаридной цепи. Сигналы в областях спектра 69.4, 68.9 м.д. указывают на наличие О-обменных гликозидных связей на атоме углерода С-6 в структуре полисахарида. Сигналы в 61.3 и 60.9 м.д. областях спектра характерны для неизмененных атомов углерода С-6 в макромолекуле. Сигнал в области 16.339 м.д. специфичен для рамнозы.

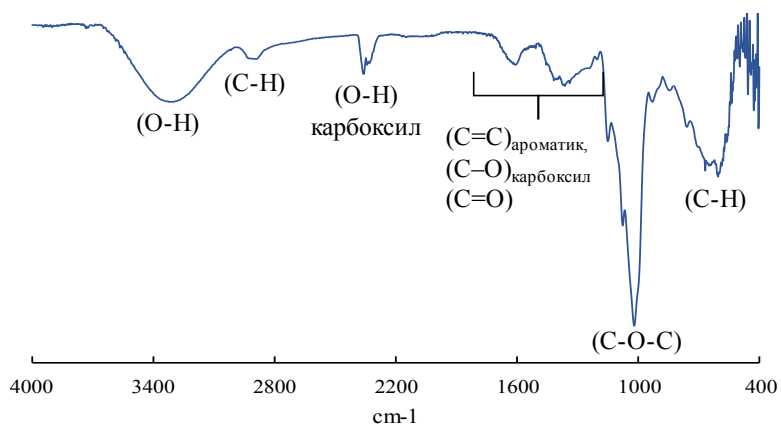


Рис. 4. ИК-спектр водорастворимого полисахарида, выделенного из базидиального гриба *I. hispidus*

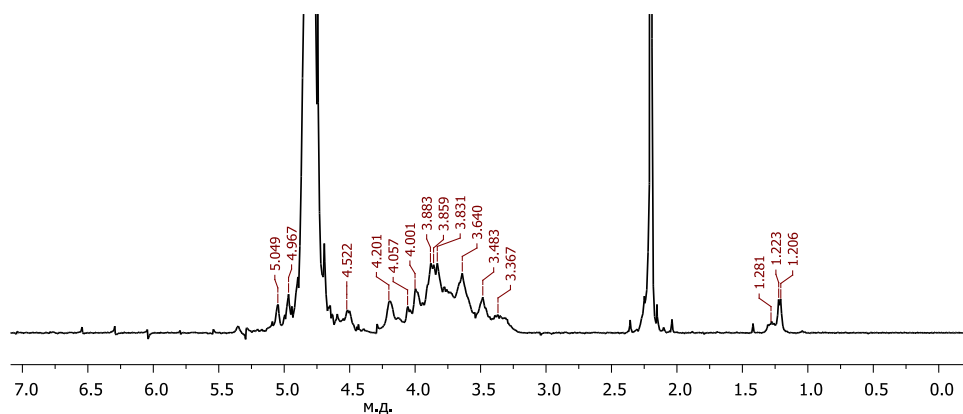


Рис. 5. ЯМР ^1H спектр полисахарида, выделенного из базидиального гриба *I. hispidus*

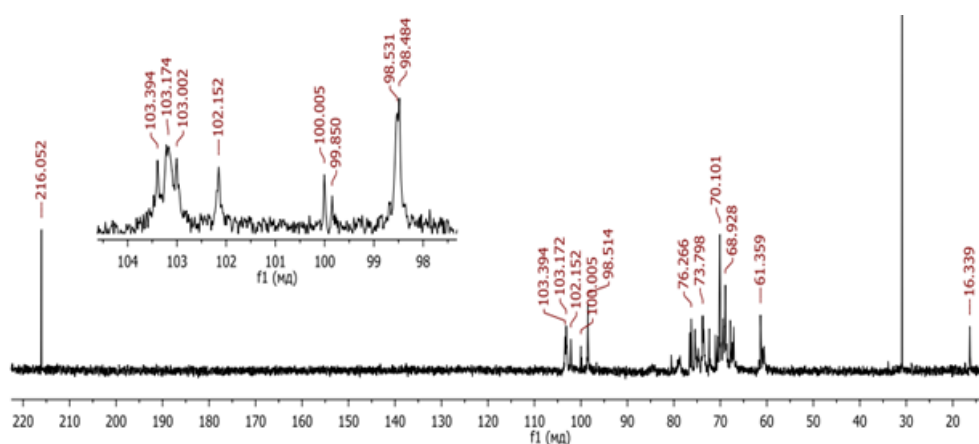


Рис. 6. ^{13}C ЯМР-спектр полисахарида, выделенного из базидиального гриба *I. hispidus*

Выводы

Впервые из базидиомицетного сырья *I. hispidus*, произрастающего в Узбекистане, выделены водорастворимые полисахариды и исследован его состав и физико-химические свойства. Установлено, что моносахаридный состав полисахарида включает: фруктозу 6.68%, рамнозу 3.37% и глюкозу 89.58%. Методом ИК-спектроскопии показано, что в спектре полисахарида присутствует полоса 898–900 см^{-1} , свидетельствующая о наличии β -типа гликозидной (β -(1,3)/(1,6)) связи. Результатами исследований ^1H - и ^{13}C ЯМР спектров установлено, что выделенный из базидиального гриба *I. hispidus* полисахарид показывает сигналы, которые являются специфичными для полисахаридов β -глюканового типа, имеющему β -(1,3) и β -(1,6)-гликозидные связи.

Список литературы

1. Simon B., Anke T., Sterner O. Hydroxylated unsaturated fatty acid from cultures of a *Filoboletus* species // *Phytochemistry*. 1994. Vol. 3. Pp. 815–816.
2. Meng X., Liang H., Luo L. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities // *Carbohydrate Research*. 2016. Vol. 424. Pp. 30–41. DOI: 10.1016/j.carres.2016.02.008.
3. Zjawiony J. Biologically active compounds from Aphyllophorales fungi // *Journal National Products*. 2004. Vol. 67. Pp. 300–310. DOI: 10.1021 / np030372w.
4. Chen B. Optimization of extraction of *Tremella fuciformis* polysaccharides and its antioxidant and anti-tumour activities in vitro // *Carbohydrate Polymers*. 2010. Vol. 81. Pp. 420–424. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.02.039.
5. Masuda Y., Kodama N., Nanba H. Macrophage J774.1 cell is activated by MZ-Fraction (Klasma-MZ) polysaccharide in *Grifola frondosa* // *Mycoscience*. 2006. Vol. 47. Pp. 360–366. DOI: 10.1007/S10267-006-0315-7.

6. Wang N. Carcinogenic course of rat liver cancer induced by aflatoxin B 1 and effect of *Polyporus versicolor* polysaccharide on carcinogenic action // Tianjin Yiyao. 1989. Vol. 17. Pp. 534–536.
7. Халилова Г.А., Мухитдинов Б.И., Хайтметова С.Б., Нормакхатов Н.С., Тураев А.С. Водорастворимые анионные полисахариды гриба *Ganoderma lucidum* и их структурные характеристики // Узбекский химический журнал. 2020. №5. С. 88–94.
8. Азимова Л.Б., Нормакхатов 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.
9. Халилова Г.А., Мухитдинов Б.И., Хайтметова С.Б., Азимова Л.Б., Нормакхатов Н.С., Тураев А.С. Выделение водорастворимых полисахаридов из базидиальных грибов, изучение их состава и условий экстракции // Фармацевтический журнал. 2019. №4. С. 72–83.
10. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J., Robers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // Analyt. Chem. 1956. Vol. 28. Pp. 350–356.
11. Staub A.M. Removal of protein – Sevag method // Methods in Carbohydrate Chemistry. 1965. Pp. 5–6.
12. Ye T. et al. The pathway by which the yeast protein kinase Snf1p controls acquisition of sodium tolerance is different from that mediating glucose regulation // Microbiology. 2008. Vol. 154. Pp. 2814–2826. DOI: 10.1099/mic.0.2008/020149-0.
13. Jianguo W., Yahong Y., Tianli Y. Immunostimulatory activities of β -d-glucan from *Ganoderma Lucidum* // Carbohydrate Polymers. 2014. Vol. 10. Pp. 247–254. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.10.087.
14. Pan F., Su T.J., Liu Y., Hou K., Chen C., Wu W. Extraction, purification and antioxidation of a polysaccharide from *Fritillaria unibracteata* // International Journal of Biological Macromolecules. 2018. Vol. 112. Pp. 1073–1083. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.02.070.
15. Samanta S., Maity K., Nandi A.K., Sen I.K., Devi K.S.P., Mukherjee S. et al. A glucan from an ectomycorrhizal edible mushroom *Tricholoma crassum* (Berk.) Sacc.: isolation, characterization, and biological studies // Carbohydrate Research. 2013. Vol. 367. Pp. 33–40. DOI: 10.1016/j.carres.-2012.12.002.
16. Wang Y., Liu Y., Yu H., Zhou S., Zhang Z., Wu D. et al. Structural characterization and immuno-enhancing activity of a highly branched water-soluble β -glucan from the spores of *Ganoderma lucidum* // Carbohydrate Polymers. 2017. Vol. 167. Pp. 337–344. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.03.016.
17. Vidal S., Doco T., Williams P., Pellerin P., York W., O'Neill M., Glushka J., Darvill G., Albersheim P. Structural characterization of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II: evidence for the backbone location of the aceric acid-containing oligoglycosyl side chain // Carbohydrate Research. 2000. Vol. 326. Pp. 277–294. DOI: 10.1016/s0008-6215(00)00036-7.
18. Muhitdinov B., Heinze T., Normakhamatov N., Turaev A. Preparation of sodium cellulose sulfate oligomers by free-radical depolymerization // Carbohydrate Polymers. 2017. Vol. 173. Pp. 631–637. DOI: DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.06.033.
19. Muhitdinov B., Heinze T., Turaev A., Koschella A., Normakhamatov N. Homogenous synthesis of sodium cellulose sulfates with regulable low and high degree of substitutions with SO₃Py in N,N-dimethylacetamide/LiCl // European Polymer Journal. 2019. Vol. 119. Pp. 181–188. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.07.030.
20. Dong Q., Wang Y., Shi L., Yao J., Li J., Ma F., Ding K. A novel water-soluble β -D-glucan isolated from the spores of *Ganoderma lucidum* // Carbohydrate Research. 2012. Vol. 353. Pp. 100–105. DOI: 10.1016/j.carres.2012.02.029.

Поступила в редакцию 17 декабря 2020 г.

После переработки 19 января 2021 г.

Принята к публикации 4 марта 2021 г.

Для цитирования: Халилова Г.А., Тураев А.С., Мухитдинов Б.И., Филатова А.В., Хайтметова С.Б., Нормакхатов Н.С. Выделение, физико-химическая характеристика полисахарида, выделенного из плодового тела *Inonotus hispidus* // Химия растительного сырья. 2021. №3. С. 99–106. DOI: 10.14258/jcrpm.2021039028.

*Khalilova G.A.**, *Turaev A.S.*, *Muhitdinov B.I.*, *Filatova A.V.*, *Haytmetova S.B.*, *Normakhamatov N.S.* ISOLATION, PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF POLYSACCHARIDE ISOLATED FROM THE FRUIT BODY OF *INONOTUS HISPIDUS*

A.S. Sadykov Institute of Bioorganic Chemistry, Uzbekistan Academy of Sciences, ul. Mirzo Ulugbeka, 83, Tashkent, 100125 (Republic of Uzbekistan), e-mail: gulnoza_xalilova@mail.ru

The article is devoted to the study of polysaccharides isolated from the basidiomycete raw material *I. hispidus* and studying their physical and chemical properties. Water-soluble polysaccharides were isolated from mushroom raw materials by the method of sequential water extraction and the yield was 9.44%. Polysaccharides were separated into neutral fractions by ion exchange chromatography and purified from proteins and peptides. During the separation process, it was determined that the polysaccharide sample consisted of homogeneous polysaccharides, while the carbohydrate content of the purified polysaccharide sample was 99.4%. The carbohydrate composition of polysaccharides was determined, it was found that the polysaccharide consists mainly of glucose residues and contains minor amounts of fructose and rhamnose residues. Molecular weight and molecular weight distribution were determined by size exclusion chromatography. The M_w of the polysaccharide sample obtained was 18.7 kDa, the polydispersity index was 1.3. The results of IR-, ^1H - and ^{13}C NMR spectroscopic studies have shown that the polysaccharide, according to its structural characteristics, belongs to the β -glucan type polysaccharide having β -(1,3) and β -(1,6)-glycosidic bounds.

Keywords: water-soluble polysaccharides, glucose, rhamnose, β -glucan, basidiomycete raw materials, carbohydrates.

References

1. Simon B., Anke T., Sterner O. *Phytochemistry*, 1994, vol. 3, pp. 815–816.
2. Meng X., Liang H., Luo L. *Carbohydrate Research*, 2016, vol. 424, pp. 30–41. DOI: 10.1016/j.carres.2016.02.008.
3. Zjawiony J. *Journal National Products*, 2004, vol. 67, pp. 300–310. DOI: 10.1021 / np030372w.
4. Chen B. *Carbohydrate Polymers*, 2010, vol. 81, pp. 420–424. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.02.039.
5. Masuda Y., Kodama N., Nanba H. *Mycoscience*, 2006, vol. 47, pp. 360–366. DOI: 10.1007/S10267-006-0315-7.
6. Wang N. *Tianjin Yiyao*, 1989, vol. 17, pp. 534–536.
7. Khalilova G.A., Mukhitdinov B.I., Khaytmetova S.B., Normakhamatov N.S., Turayev A.S. *Uzbekskiy khimicheskii zhurnal*, 2020, no. 5, pp. 88–94. (in Russ.).
8. Azimova L.B., Normakhamatov N.S., Khaytmetova S.B., Mukhitdinov B.I., Amonova D.M., Filatova A.V., Khalilova G.A., Kirgizbayev Kh.Kh., Turayev A.S. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 2, pp. 35–41. DOI: 10.14258/jcprm.2019024491. (in Russ.).
9. Khalilova G.A., Mukhitdinov B.I., Khaytmetova S.B., Azimova L.B., Normakhamatov N.S., Turayev A.S. *Farmatsevticheskii zhurnal*, 2019, no. 4, pp. 72–83. (in Russ.).
10. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J., Robers P.A., Smith F. *Analyt. Chem.*, 1956, vol. 28, pp. 350–356.
11. Staub A.M. *Methods in Carbohydrate Chemistry*, 1965, pp. 5–6.
12. Ye T. et al. *Microbiology*, 2008, vol. 154, pp. 2814–2826. DOI: 10.1099/mic.0.2008/020149-0.
13. Jianguo W., Yahong Y., Tianli Y. *Carbohydrate Polymers*, 2014, vol. 10, pp. 247–254. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.10.087.
14. Pan F., Su T.J., Liu Y., Hou K., Chen C., Wu W. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 112, pp. 1073–1083. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.02.070.
15. Samanta S., Maity K., Nandi A.K., Sen I.K., Devi K.S.P., Mukherjee S. et al. *Carbohydrate Research*, 2013, vol. 367, pp. 33–40. DOI: 10.1016/j.carres.-2012.12.002.
16. Wang Y., Liu Y., Yu H., Zhou S., Zhang Z., Wu D. et al. *Carbohydrate Polymers*, 2017, vol. 167, pp. 337–344. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.03.016.
17. Vidal S., Doco T., Williams P., Pellerin P., York W., O'Neill M., Glushka J., Darvill G., Albersheim P. *Carbohydrate Research*, 2000, vol. 326, pp. 277–294. DOI: 10.1016/S0008-6215(00)00036-7.
18. Muhitdinov B., Heinze T., Normakhamatov N., Turaev A. *Carbohydrate Polymers*, 2017, vol. 173, pp. 631–637. DOI: DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.06.033.
19. Muhitdinov B., Heinze T., Turaev A., Koschella A., Normakhamatov N. *European Polymer Journal*, 2019, vol. 119, pp. 181–188. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.07.030.
20. Dong Q., Wang Y., Shi L., Yao J., Li J., Ma F., Ding K. *Carbohydrate Research*, 2012, vol. 353, pp. 100–105. DOI: 10.1016/j.carres.2012.02.029.

Received December 17, 2020

Revised January 19, 2021

Accepted March 4, 2021

For citing: Khalilova G.A., Turaev A.S., Muhitdinov B.I., Filatova A.V., Haytmetova S.B., Normakhamatov N.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 3, pp. 99–106. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021039028.

* Corresponding author.