

УДК 541.6.69.615.01

## ПОЛУЧЕНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ГАЛАКТОМАННАНОВ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК

© *Д.М. Амонова\**, *Б.И. Мухитдинов*, *А.С. Тураев*, *Х.Х. Киргизбаев*, *А.А. Бойдедаев*, *Б.А. Синдаров*,  
*Ж.Н. Бекмирзаев*

*Институт биоорганической химии АН РУз, ул. Мирзо Улугбека, 83,  
Ташкент, 100125 (Узбекистан), e-mail: amonovadilnoza@gmail.com*

Целью данного исследования было изучение влияния условий кислотного гидролиза на молекулярные параметры галактоманнана, такие как средневесовая степень полимеризации (СП), средневесовая молекулярная масса ( $M_w$ ), выход продукта, скорость реакции деполимеризации и соотношение манноза/галактозы (Man/Gal) в присутствии соляной кислоты и получение низкомолекулярных олигогалактоманнанов, растворимых в воде. Изучена возможность получения низкомолекулярных галактоманнанов посредством кислотного гидролиза гуарового галактоманнана (СП=1138,  $M_w=563.8$  кДа, Man/Gal=1.89) в присутствии соляной кислоты. Исследования проводили в растворах соляной кислоты различной концентрации (0.05–1.0 моль/л) в течение разного времени (10–240 мин) при постоянной температуре (80 °С). В ходе исследований было проанализировано влияние условий реакции на молекулярные параметры полученных продуктов. В результате проведенных исследований были получены низкомолекулярные галактоманнаны и олигогалактоманнаны с различными молекулярными параметрами (СП=6–1021,  $M_w=2.6–505.1$  кДа, Man/Gal=1.90–3.19) и выходами (2.8–97.1%). На основании полученных результатов были предложены оптимальные условия реакции (НСI 0.1 моль/л, 240 мин, 80 °С) для получения водорастворимых олигосахаридов галактоманнана. Структурные исследования продуктов показали, что этим методом могут быть получены продукты с пониженным содержанием остатков галактозы.

*Ключевые слова:* галактоманнан, олигогалактоманнан, кислотный гидролиз, степень полимеризации, деполимеризация.

### Введение

Галактоманнаны представляют собой разветвленные гетерополисахариды, которые структурно состоят из остатков D-маннозы, связанных  $\beta$ -(1,4)-гликозидными связями в основной цепи, и остатков D-галактозы, связанных  $\alpha$ -(1,6)-гликозидными связями в разветвленной цепи. Они отличаются друг от друга соотношением остатков манноза/галактоза (Man/Gal) в макромолекулярной цепи [1–3]. Галактоманнаны являются полисахаридами с высокой молекулярной массой, равной 1000–2000 кДа в зависимости от источника выделения [4]. Галактоманнаны являются водорастворимыми полисахаридами, которые нерастворимы в органических растворителях. В литературе также приводятся сведения, что данные полисахариды хорошо растворимы в ионных жидкостях [5, 6]. Основная  $\beta$ -(1,4) цепь полиманнана в

*Амонова Дилноза Мухтаровна* – старший научный сотрудник, e-mail: amonovadilnoza@gmail.com  
*Мухитдинов Бахтиер Икромович* – старший научный сотрудник, e-mail: muhitdinov.bahtiyor@gmail.com  
*Тураев Аббасхан Сабирханович* – главный научный сотрудник, e-mail: abbaskhan@mail.ru  
*Киргизбаев Хусниддин Хасанбаевич* – базовый докторант, e-mail: kirgizbayev.husnididin@gmail.com  
*Бойдедаев Азизбек Анваржанович* – стажер, e-mail: azizbek\_boydedayev92@mail.ru  
*Синдаров Бобур Актамович* – младший научный сотрудник, e-mail: bobursindarov1@gmail.com  
*Бекмирзаев Жахонгир Нематуллаевич* – младший научный сотрудник, e-mail: jahongir\_9890@mail.ru

галактоманнанах подобна цепи  $\beta$ -(1,4)-глюкана в целлюлозе, с той разницей, что манноза является эпимером глюкозы в состоянии C2. Данное состояние свидетельствует о том, что гидроксильные группы маннозы в атомах углерода C2 и C3 находятся в цис-пространственном состоянии. Цис-конфигурация гидроксильных групп атомов C2 и C3 маннозных единиц обеспечивает образование более тесных межмолекулярных водородных связей по сравнению с транс-конфигурацией в глюкозных единицах [7]. Следовательно, полиманнаны без

\* Автор, с которым следует вести переписку.

единиц галактозы представляют собой нерастворимые в воде полисахариды с более плотной кристаллической структурой, в отличие от целлюлозы. Разветвленные остатки галактозы в галактоманнанах пространственно и размерно не могут связываться с основными цепями полиманнана посредством межмолекулярных водородных связей и формировать плотную кристаллическую структуру. Следовательно, галактоманнаны представляют собой водорастворимые полисахариды, в отличие от полиманнанов. В том случае, когда количество галактозы в цепи полиманнана превышает 12%, галактоманнаны становятся водорастворимыми [3, 8]. Соотношение Man/Gal в макромолекуле галактоманнана и распределение галактозных единиц вдоль полисахаридной цепи приводят к значительным изменениям их растворимости в воде. Например, галактоманнаны выделенные из растения таро (Man/Gal=3.0 : 1.0) и цератония (Man/Gal=3.9–4.0 : 1.0) набухают в холодной воде и практически не растворяются в горячей воде [9, 10]. Однако Фенугрек (Man/Gal=1.0-1.1 : 1.0) и гуар (Man/Gal=1.6-1.8 : 1.0) галактоманнаны растворимы в холодной воде [11, 12].

Галактоманнаны стабильны в водных, нейтральных, слабокислых и щелочных растворах (pH 4.0–8.0) и деполимеризуются в сильноокислых и щелочных условиях. Например, в галактоманнанах в сильноокислой среде (pH≤3.0) происходит кислотный гидролиз гликозидных связей, в то время как в умеренных и сильных щелочных условиях (pH≥9.0) деполимеризуется за счет β-элиминирования восстанавливаемого конечного звена полисахаридной цепи [13].

Благодаря хорошей растворимости в воде продуктов деполимеризации галактоманнана, их можно использовать в медицине для доставки различных биологически активных соединений к пораженным органам-мишеням и повышения их растворимости в физиологических средах. В недавних исследованиях для получения низкомолекулярных галактоманнанов были использованы биохимические и химические методы. Например, Cheng и Prud'homme провели ферментативное расщепление гуарового галактоманнана [14]. Sun и его коллеги, а также Wang со своими коллегами получили образцы водорастворимого галактоманнана путем кислотной деполимеризации полисахарида. [15, 16]. Однако молекулярные параметры полученных образцов (скорость реакции деполимеризации, соотношение Man/Gal, выход продуктов реакции) полностью не изучены.

Цель работы – изучение влияния условий кислотного гидролиза на реакцию деполимеризации и молекулярные параметры галактоманнана, такие как средневесовая степень полимеризации (СП), средневесовая молекулярная масса (Mw), выход продуктов, и соотношение манноза/галактозы (Man/Gal) в присутствии соляной кислоты и получение низкомолекулярных олигогалактоманнанов, растворимых в воде.

### **Экспериментальная часть**

*Кислотная деполимеризация галактоманнана.* Приготовлен раствор гуарового галактоманнана в растворе соляной кислоты (0.05–1.0 моль/л) с концентрацией 1.0 мг/мл. После полного растворения галактоманнана реакционную смесь помещали на масляную баню. Реакцию проводили при 80 °С в течение 10–240 мин. После окончания реакции раствор охлаждали до комнатной температуры. Реакционную смесь фильтровали и осаждали, используя 96% этанол (объемное соотношение 1 : 5). Остаточную соляную кислоту в полученных образцах олигогалактоманнана промывали 70% этанолом до нейтрального значения pH. Полученный образец после процесса нейтрализации растворяли в дистиллированной воде, образовавшийся раствор подвергали фильтрованию, диализу и лиофильной сушке.

*Определение молекулярной массы.* Молекулярную массу (Mw) образцов определяли с помощью метода гель-хроматографии. Эксперименты проводились на гель-хроматографии, состоящий из насоса Jasco PU-980 (JASCO GmbH, Германия), колонки Suprema 3000 Å и 30 Å (PSS Polymer Standards Service GmbH, Германия), детектора MALLS SLD7100 (PSS Polymer Standards Service GmbH, Германия), УФ-видимого детектора (PSS Polymer Standards Service GmbH, Германия) и системы гель-хроматографии, оборудованную рефрактометрическим детектором (RI) Jasco RI-930 (JASCO GmbH, Германия). Определение Mw проводили при 25 °С, в качестве элюента использовали водный раствор 0.1 М NaNO<sub>3</sub>. Колонки калибровали по стандартам пуллулана (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Германия).

*Определение структурной характеристики.* ИК-спектры образцов получены на спектрометре Thermo Nicolet AVATAR 370 FTIR в диапазоне поглощения 400–4000 см<sup>-1</sup> таблеточным методом с KBr. Спектры 13С ЯМР, 1Н ЯМР были сняты на спектрометрах Varian Unity-400 plus 400 MHz, в D<sub>2</sub>O при 22 °С, при частоте 100 МГц и ширине импульса 30°, в течение 0.3 сек и при задержке релаксации 3 сек.

**Обсуждение результатов**

Реакция деполимеризации гуарового галактоманнана в присутствии раствора соляной кислоты показана на рисунке 1.

Исследования проводились с образцом гуарового галактоманнана (Sigma Aldrich) со значением степени полимеризации СП=1138, Mw=563.8 кДа и соотношением Man/Gal 1.89. Во время реакции изучали значения Mw и СП продукта, отношения Man/Gal, структурные изменения, скорость реакции деполимеризации, изменение выхода продуктов и анализировали потенциальную селективность деполимеризации полисахаридной цепи. Реакцию деполимеризации проводили растворами соляной кислоты концентрацией 0.05–1.0 моль/л в течение 10–240 минут при 80 °С. Условия реакции и молекулярные параметры продуктов деполимеризации приведены в таблице.

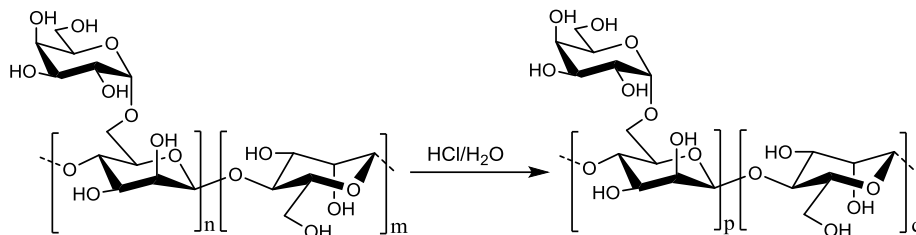


Рис. 1. Реакция деполимеризации гуарового галактоманнана в присутствии соляной кислоты (в данном исследовании  $(n+m)/n=1.89$ ;  $(p+q)/p=1.90-3.19$ )

Условия деполимеризации гуарового галактоманнана в присутствии соляной кислоты и молекулярные величины полученных продуктов реакции (температура 80 °С)

Образцы	Условия реакции		Результаты				
	HCl, моль/л	Время, мин	Mw, кДа	СП	ИПД	Man/Gal	Выход, %
GM	–	–	563.8	1138	2.78	1.89	–
GM-K-1	0.05	10	505.1	1021	2.78	1.90	97.1
GM-K-2	0.05	20	424.8	862	2.81	1.92	93.8
GM-K-3	0.05	30	346.5	699	2.90	1.89	90.2
GM-K-4	0.05	60	222.3	454	3.05	1.95	82.2
GM-K-5	0.05	90	176.9	362	3.16	1.96	74.5
GM-K-6	0.05	120	148.2	304	3.26	1.98	67.9
GM-K-7	0.05	180	110.4	227	3.37	1.99	60.1
GM-K-8	0.05	240	75.6	156	3.35	2.01	54.7
GM-K-9	0.10	30	165.9	338	2.98	1.95	82.3
GM-K-10	0.10	60	53.5	110	3.12	2.02	64.4
GM-K-11	0.10	90	24.7	51	3.25	2.08	50.1
GM-K-12	0.10	120	18.2	38	3.32	2.10	39.3
GM-K-13	0.10	180	13.4	29	2.97	2.30	28.4
GM-K-14	0.10	240	9.7	22	2.63	2.70	21.2
GM-K-15	0.50	30	112.7	233	3.08	2.02	69.2
GM-K-16	0.50	60	28.1	58	3.28	2.07	46.8
GM-K-17	0.50	90	16.5	35	3.36	2.15	32.6
GM-K-18	0.50	120	10.2	22	3.15	2.29	22.7
GM-K-19	0.50	180	7.1	16	2.37	2.45	11.3
GM-K-20	0.50	240	5.9	13	1.77	2.79	6.3
GM-K-21	1.00	30	65.6	139	3.38	2.18	62.3
GM-K-22	1.00	60	11.2	24	3.39	2.25	32.5
GM-K-23	1.00	90	6.7	15	2.28	2.41	17.4
GM-K-24	1.00	120	3.8	9	1.85	2.67	10.2
GM-K-25	1.00	180	3.1	7	1.41	2.84	5.7
GM-K-26	1.00	240	2.6	6	1.25	3.19	2.8

Полученные результаты показали снижение значений СП полученных продуктов с увеличением продолжительности реакции деполимеризации в условиях неизменной концентрации кислоты и температуры (HCl 0.05–1.0 моль/л, 80 °С). Это указывает на то, что количество фракций полисахаридов с малой молекулярной массой в образующемся продукте возрастает с увеличением времени гидролиза. Результаты также показали, что скорость реакции деполимеризации макромолекулы галактоманна снижалась относительно быстро в начале реакции (10–30 мин) и медленно снижалась в последующие периоды. Например, при деполимеризации с 0.05 моль/л соляной кислоты значение СП снизилось на 439 единиц в течение первых 30 мин и на 245 единиц в течение следующих 30 мин.

Результаты показали, что скорость реакции деполимеризации была высокой в течение первых 10–30 мин после начала реакции, а затем постепенно снижалась. В этом случае, например, в реакции с 0.05 моль/л соляной кислоты средняя скорость реакции деполимеризации составила 16.11 моль/мин через 30 мин, но через 60 мин это значение снизилось до 8.52 моль/мин.

Кроме того, при анализе индекса полидисперсности (ИПД) образцов, взятых в разное время в условиях неизменной концентрации кислоты и температуры (HCl 0.05–1.0 моль/л, 80 °С), было обнаружено, что первоначальное увеличение ИПД во время реакции далее уменьшение значения и это было более выражено в исследованиях с более высокими концентрациями растворов кислоты (табл.). Это указывает на то, что на ранних стадиях процесса деполимеризации образуются продукты с резко различающимися значениями СП, и со временем разница между их значениями СП уменьшается и стремится к однородности. Кроме того, было обнаружено, что отношения Man/Gal в полученных продуктах увеличивались с увеличением продолжительности реакции в условиях постоянной концентрации кислоты и температуры (HCl 0.05–1.0 моль/л, 80 °С) по сравнению с исходным образцом. В частности, было обнаружено, что соотношение Man/Gal увеличилось до 2.70 в образце, полученном деполимеризацией гуарового галактоманна (Man/Gal=1.89) с 0.10 моль/л соляной кислоты в течение 240 мин. В реакции наблюдали, что со временем выход полученных продуктов снижался относительно исходной массы полисахарида. Например, в реакциях с 0.10 моль/л соляной кислоты в течение 30 и 240 мин выход продуктуков составил 82.3 и 21.2% соответственно.

При исследовании влияния концентрации кислоты на СП продукта в условиях неизменной продолжительности времени деполимеризации и температуры (30–240 мин, 80 °С) было обнаружено, что значения СП продуктов деполимеризации резко уменьшаются с увеличением концентрации соляной кислоты (рис. 2а). Например, образцы со значением СП=6–156 были получены гидролизом гуарового галактоманна (СП=1138) в растворах соляной кислоты с концентрацией 0.05–1.0 моль/л в течение 240 мин. Эти результаты показывают, что концентрация кислоты играет важную роль в получении олигосахаридов галактоманна методом кислотного гидролиза. Скорость реакции деполимеризации в реакциях также увеличивалась в зависимости от концентрации кислоты. Различия в скоростях деполимеризации были очевидны на начальных стадиях реакции (рис. 2б). Например, в реакциях, проводимых в растворах соляной кислоты 0.05–1.0 моль/л, средняя скорость реакции деполимеризации через 30 мин находилась в пределах 16.11–34.20 моль/мин. В ходе исследований также были получены образцы с наименьшим значением ИПД в результате деполимеризации с более высокой концентрацией соляной кислоты в неизменных условиях времени и температуры. Это указывает на то, что значения ИПД полученного продукта уменьшаются с увеличением концентрации кислоты в реакционной среде. Например, при гидролизе гуарового галактоманна (ИПД=2.78) в растворах соляной кислоты 0.05–1.0 моль/л в течение 240 мин были получены образцы со значениями ИПД 1.25–3.35.

При изучении влияния концентрации кислоты на выход продуктов было обнаружено, что при увеличении концентрации кислоты уменьшается выход по отношению к исходной массе полисахарида (рис. 3а). Например, в реакциях с участием 0.05–1.0 моль/л соляной кислоты в течение 240 мин выход продуктов деполимеризации составил 2.8–54.7%. Также было замечено, что отношения Man/Gal в продуктах деполимеризации увеличиваются по сравнению с исходным образцом гуарового галактоманна с увеличением концентрации кислоты в условиях определенного времени реакции и постоянной температуры (30–240 мин, 80 °С) (рис. 3б). Также было обнаружено, что отношение Man/Gal продуктов, полученных в реакциях гуар галактоманна (Man/Gal = 1.89) в 0.05–1.0 моль/л растворах соляной кислоты в течение 240 мин, увеличилось с 2.01 до 3.19.

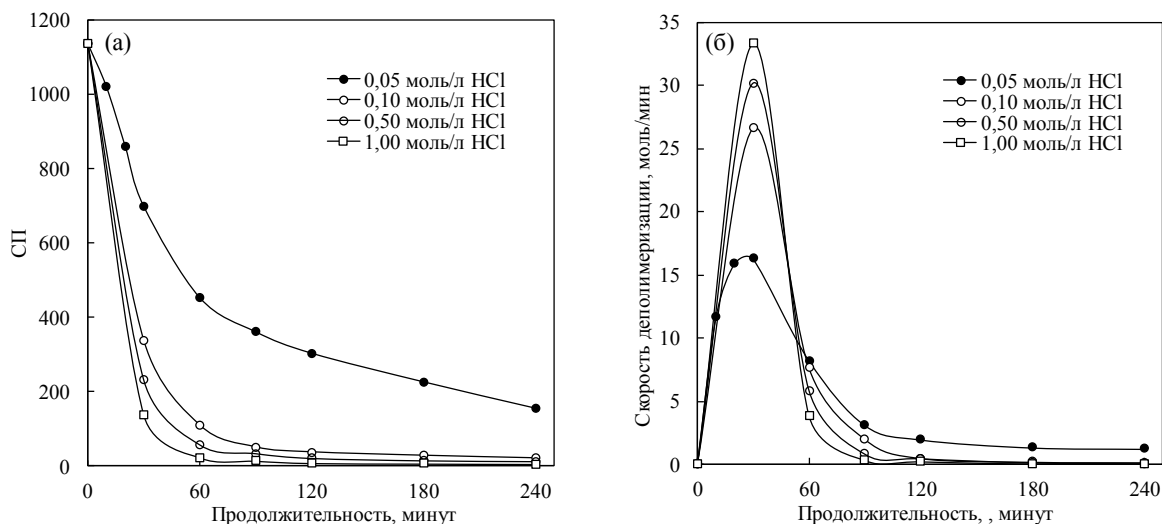


Рис. 2. Изменение значения СП (а) и скорости деполимеризации (б) в реакции деполимеризации гуарового галактоманнана в присутствии соляной кислоты (HCl 0.05–1.0 моль/л, 80 °С)

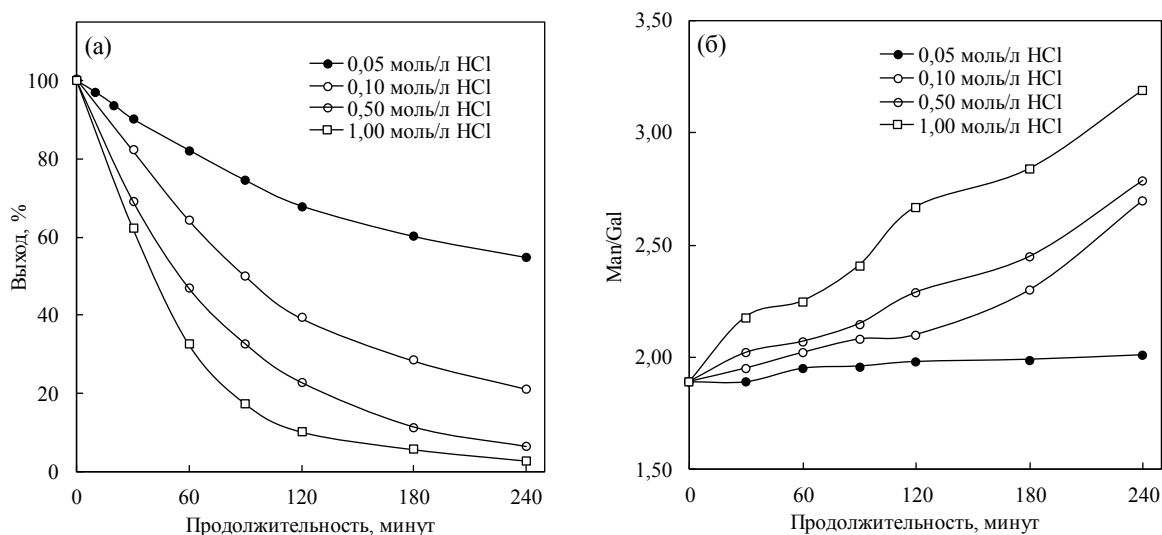


Рис. 3. Выход продукта при реакции деполимеризации гуарового галактоманнана в присутствии соляной кислоты (а) и изменение соотношения Man/Gal (б) (HCl 0.05–1.0 моль/л, 80 °С)

В исследованиях олигосахариды галактоманнана были получены в основном в реакциях деполимеризации, проводимых с растворами соляной кислоты с концентрацией 0.1–1.0 моль/л. Образцы со значениями СП=22–51, Mw=9.7–24.7 кДа, Man/Gal=2.08–2.70 получали деполимеризацией в течение 90–240 мин в растворах соляной кислоты с концентрацией 0.1 моль/л. Образцы со значениями СП=13–58, Mw=5.9–28.1 кДа, Man/Gal=2.07–2.79 в реакциях проводят в течение 60–240 мин в растворах с концентрацией 0.5 моль/л соляной кислоты. Образцы со значениями СП=6–24, Mw=2.6–11.2 кДа, Man/Gal=2.25–3.19 подвергали деполимеризации с растворами соляной кислоты с концентрацией 1.0 моль/л в течение 60–240 мин. В ходе исследования были найдены оптимальные условия реакции деполимеризации с раствором соляной кислоты с концентрацией 0.1 моль/л в течение 240 мин при 80 °С.

Строение продуктов кислотного гидролиза гуарового галактоманнана изучено методами ИК- и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии. Полученные результаты показали, что ИК-спектры гуарового галактоманнана и продуктов его деполимеризации практически схожи (рис. 4).

Поглощение в областях 3200–3600 и 2900  $\text{см}^{-1}$  галактоманнана и его олигосахаридов в ИК-спектре соответствует валентным колебаниям связей О-Н и Н-С-Н соответственно [17]. Поглощение в области

спектра  $1060\text{ см}^{-1}$  характерно для валентных колебаний связей С-О-С глюкопиранозного цикла [18], а поглощение в области  $894\text{ см}^{-1}$  характерно для  $\beta$ -(ManC1-O-ManC4)-гликозидные связи между остатками маннозы полиманнановой цепи [19]. Поглощение, соответствующее гликозидным связям Man(C6)-O-Gal(C1) между остатками маннозы и галактозы, также определялось в области  $870\text{ см}^{-1}$  спектра. Поглощения в областях спектров  $1300\text{--}1400\text{ см}^{-1}$  соответствуют деформационным колебаниям связей С-Н [20].

При изменении соотношения Man/Gal в образцах наблюдалось изменение интенсивности сигналов в их ИК-спектрах, специфичных для связей Н-С-Н в области  $2900\text{ см}^{-1}$  и специфичных для гликозидных связей ManC6-O-GalC1 в области  $870\text{ см}^{-1}$ . Поглощение в областях спектров  $2900\text{ см}^{-1}$  характерно для связей Н-С-Н остатков маннозы и галактозы, а изменение соотношения Man/Gal в полисахаридной цепи вызывает изменение интенсивности вибрационных сигналов в этих областях. Кроме того, поглощение в области  $870\text{ см}^{-1}$  характерно для гликозидных связей Man(C6)-O-Gal(C1), и изменения интенсивности этих сигналов поглощения отражают изменения в соотношении Man/Gal в макромолекуле [21]. Поглощение в области ИК-спектров  $1640\text{ см}^{-1}$  соответствует валентным колебаниям связей О-Н в молекулах воды и формируется за счет остаточной влаги после сушки образцов [22].

Спектры  $^{13}\text{C}$  ЯМР в  $\text{D}_2\text{O}$  олигосахаридов галактоманнана, полученных методами кислотной деполимеризации, показаны на рисунке 5. В полученных спектрах сигналы, характерные для атомов углерода ManC6 и GalC6, проявляются в области 63.04 и 63.78 м.д. соответственно. Кроме того, сигнал, характерный для галактозированных атомов углерода ManC6' наблюдается в области 68.95 м.д.. В галактоманнанах отношения Man/Gal в полисахаридной цепи можно определить с помощью интегралов сигналов, специфичных для этих атомов углерода ManC6 (63.04 м.д.) и ManC6' (68.95 м.д.). С увеличением количества негалактозированных остатков маннозы в продуктах кислотной деполимеризации сигналы для атомов углерода ManC6' в области 68.95 м.д. и характерного для атомов углерода GalC6 в области 63.78 м.д. интенсивности сигнала уменьшаются, при 63.04 м.д. увеличение интенсивности сигналов, специфичных для атома углерода ManC6. Кроме этого спектры проявляются в области 70.94, 71.78 и 71.83 м.д. Сигналы в полях специфичны для атомов углерода GalC2, GalC4 и GalC3 соответственно [23].

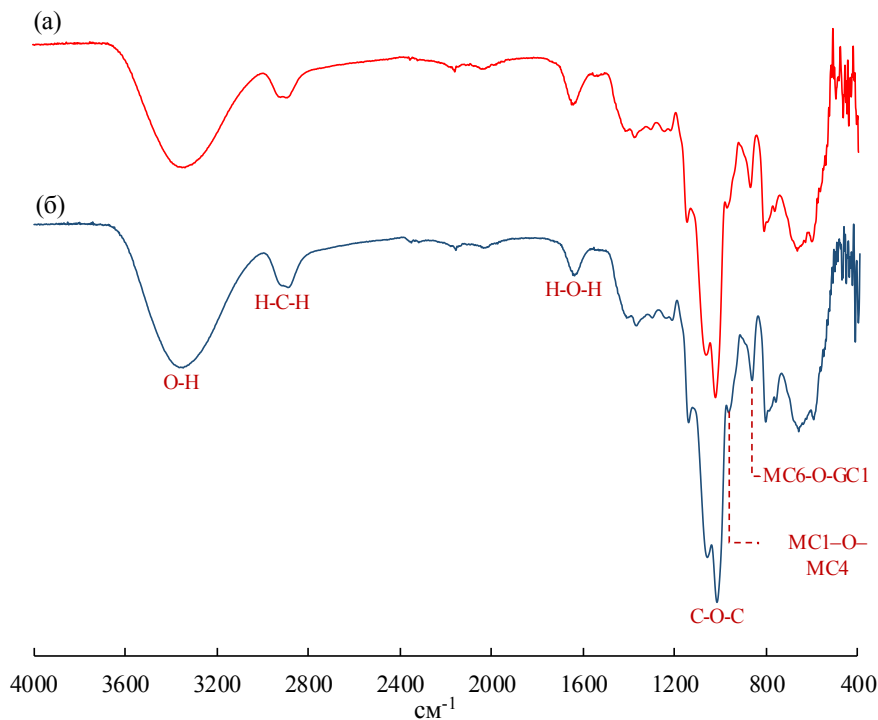


Рис. 4. ИК-спектры гуарового галактоманнана и продуктов кислотного гидролиза (а – гуаровый галактоманнан  $M_w=563.8$  кДа, СП=1160, Man/Gal=1.89; б – GM-K-14,  $M_w=9.7$  кДа, СП=22, Man/Gal=2.70)

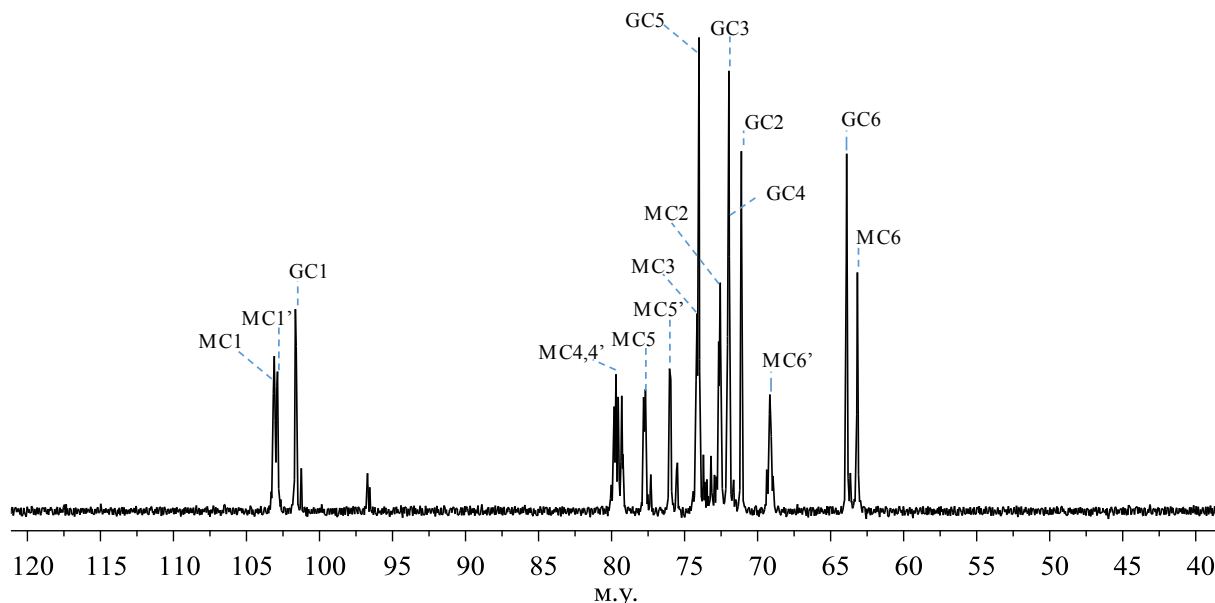


Рис. 5.  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектры продукта кислотного гидролиза гуарового галактоманнана (GM-K-14,  $M_w=9.7$  кДа, СП=22, Man/Gal=2.70)

Сигналы, характерные для атомов углерода ManC2, GalC5 и ManC3 в олигосахаридах галактоманнана, обнаруживаются в спектрах в области 72.37, 73.82 и 73.94 м.д. соответственно [24]. Сигналы, принадлежащие атомам углерода галактозных остатков маннозы ManC5' и негалактозных остатков маннозы ManC5, проявляются в области 75.73 и 77.55 м.д. соответственно. Спектры в области 78.90–79.70 м.д. характерны для атомов углерода ManC4, что позволяет проводить структурный, качественный и количественный анализ последовательности галактозированных и негалактозированных остатков маннозы в основной цепи полиманнана в галактоманнанах [21, 25].

### Выводы

Изучены условия реакции кислотного гидролиза гуарового галактоманнана СП=1160,  $M_w=563.8$  кДа в присутствии соляной кислоты (0.05–1.0 моль/л). Обнаружено, что с увеличением концентрации кислоты наблюдается снижение молекулярной массы, значения СП, ИПД и выход конечных продуктов. В результате проведенной реакции получены низкомолекулярные водорастворимые олигогалактоманнаны с выходом 2.8–97.1%. Структура полученных образцов была установлена методами ИК- и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии. Структурные исследования продуктов показали, что этим методом могут быть получены продукты с пониженным содержанием остатков галактозы.

### Список литературы

1. Pawar H.A. An Overview of Natural Polysaccharides as Biological Macromolecules: Their Chemical Modifications and Pharmaceutical Applications // *Biol. Med.* 2015. Vol. 7. 224. DOI: 10.4172/0974-8369.1000224.
2. Aravamudhan A., Ramos D.M., Nada A.A., Kumbar S.G. Natural polymers: Polysaccharides and their derivatives for biomedical applications // *Nat. Synth. Biomed. Polym.* Elsevier Inc., 2014. Pp. 67–89. DOI: 10.1016/B978-0-12-396983-5.00004-1.
3. Prajapati V.D., Jani G.K., Moradiya N.G., Randeria N.P., Nagar B.J., Naikwadi N.N. et al. Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide // *Int. J. Biol. Macromol.* 2013. Vol. 60. Pp. 83–92. DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2013.05.017.
4. Whistler R.L., BeMiller J.N. *Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives.* Academic Press, 2012. DOI: 10.1016/C2009-0-03188-2.
5. Borsig L. Selectins in cancer immunity // *Glycobiology.* 2018. Vol. 28. Pp. 648–655. DOI: 10.1093/glycob/cwx105.
6. Banerjee S., Parasramka M., Paruthy S.B. *Polysaccharides in Cancer Prevention: From Bench to Bedside // Polysaccharides.* Springer, Cham, 2015. Pp. 2179–2214. DOI: 10.1007/978-3-319-16298-0\_26.

7. Zhang X., Qi C., Guo Y., Zhou W., Zhang Y. Toll-like receptor 4-related immunostimulatory polysaccharides: Primary structure, activity relationships, and possible interaction models // Carbohydr. Polym. 2016. Vol. 149. Pp. 186–206. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.04.097.
8. Cerqueira M.A., Bourbon A.I., Pinheiro A.C., Martins J.T., Souza B.W.S., Teixeira J.A. et al. Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications // Trends Food Sci. Technol. 2011. Vol. 22. Pp. 662–671. DOI: 10.1016/J.TIFS.2011.07.002.
9. Gaisford S.E., Harding S.E., Mitchell J.R., Bradley T.D., Mitchell J.R. A Comparison Between the Hot and Cold Water Soluble Fractions of Two Locust Bean Gum Samples // Carbohydr. Polym. 1986. Vol. 6. Pp. 423–442.
10. Pitkänen L., Tuomainen P., Mikkonen K.S., Tenkanen M. The effect of galactose side units and mannan chain length on the macromolecular characteristics of galactomannans // Carbohydr. Polym. 2011. Vol. 86. Pp. 1230–1235. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.06.018.
11. Rakhmanberdyeva R.K., Rakhimov D.A., Vakhobov A.A., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N. Galactomannan from Gleditsia macracantha Seeds and Its Biological Activity // Chem. Nat. Compd. 2005. Vol. 41. Pp. 11–13. DOI: 10.1007/s10600-005-0062-6.
12. Rashid F., Hussain S., Ahmed Z. Extraction purification and characterization of galactomannan from fenugreek for industrial utilization // Carbohydr. Polym. 2018. Vol. 180. Pp. 88–95. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.10.025.
13. Azimova L.B., Normakhamatov N.S., Khaymetova S.B., Mukhitdinov B.I., Amonova D.M., Filatova A.V. et al. Isolation and Study of the Physicochemical Properties of Galactomannans from Plant Materials // Russ. J. Bioorganic Chem. 2020. Vol. 46. Pp. 1317–1322. DOI: 10.1134/S106816202007002X.
14. Cheng Y., Prud'homme R.K. Enzymatic Degradation of Guar and Substituted Guar Galactomannans // Biomacromolecules. 2000. Vol. 1. Pp. 782–788. DOI: 10.1021/bm005616v.
15. Sun M., Tang H.B., Dong S.Q., Li Y.P. Preparation, Properties of Partially Hydrolyzed Guar Gum // Adv. Mater. Res. 2013. Vol. 781–784. Pp. 1901–1906. DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMR.781-784.1901.
16. Wang Q., Ellis P., Ross-Murphy S. The stability of guar gum in an aqueous system under acidic conditions // Food Hydrocoll. 2000. Vol. 14. Pp. 129–134. DOI: 10.1016/S0268-005X(99)00058-2.
17. Horinaka J., Yasuda R., Takigawa T. Rheological properties of concentrated solutions of galactomannans in an ionic liquid // Carbohydr. Polym. 2012. Vol. 89. Pp. 1018–1021. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.03.038.
18. 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 SO<sub>3</sub>/Py in N,N-dimethylacetamide/LiCl // Eur. Polym. J. 2019. Vol. 119. Pp. 181–188. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.07.030.
19. Wielinga W.C. Galactomannans // Handb. Hydrocoll., 2nd ed. Woodhead Publishing, 2009. Pp. 228–251. DOI: 10.1533/9781845695873.228.
20. Lacroix C., Sultan E., Fleury E., Charlot A. Functional galactomannan platform from convenient esterification in imidazolium-based ionic liquids // Polym. Chem. 2012. Vol. 3. Pp. 538–546. DOI: 10.1039/C2PY00512C.
21. Cunha P.L.R., Vieira Í.G.P., Arriaga Â.M.C., de Paula R.C.M., Feitosa J.P.A. Isolation and characterization of galactomannan from Dimorphandra gardneriana Tul. seeds as a potential guar gum substitute // Food Hydrocoll. 2009. Vol. 23. Pp. 880–885. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.05.005.
22. Muhitdinov B., Heinze T., Normakhamatov N., Turaev A. Preparation of sodium cellulose sulfate oligomers by free-radical depolymerization // Carbohydr. Polym. 2017. Vol. 173. Pp. 631–637. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.06.033.
23. Jiang J.-X., Jian H.-L., Cristhian C., Zhang W.-M., Sun R.-C. Structural and thermal characterization of galactomannans from genus Gleditsia seeds as potential food gum substitutes // J. Sci. Food Agric. 2011. Vol. 91. Pp. 732–737. DOI: 10.1002/jsfa.4243.
24. Chaubey M., Kapoor V.P. Structure of a galactomannan from the seeds of Cassia angustifolia Vahl // Carbohydr. Res. 2001. Vol. 332. Pp. 439–444. DOI: 10.1016/S0008-6215(01)00104-5.
25. Davis A.L., Hoffmann R.A., Russell A.L., Debet M. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR characterization of the digalactosylmannopentaose liberated from legume seed galactomannan by β-mannanase action // Carbohydr. Res. 1995. Vol. 271. Pp. 43–54. DOI: 10.1016/0008-6215(95)00038-U.

*Поступила в редакцию 5 мая 2021 г.*

*После переработки 11 ноября 2021 г.*

*Принята к публикации 3 февраля 2022 г.*

**Для цитирования:** Амонова Д.М., Мухитдинов Б.И., Тураев А.С., Киргизбаев Х.Х., Бойбедаев А.А., Синдаров Б.А., Бекмирзаев Ж.Н. Получение низкомолекулярных галактоманнанов и исследование их физико-химических характеристик // Химия растительного сырья. 2022. №2. С. 51–60. DOI: 10.14258/jcrpm.2022029551.



Amonova D.M.\*, Mukhitdinov B.I., Turaev A.S., Kirgizbayev Kh.Kh., Boydedayev A.A., Sindarov B.A., Bekmirzayev J.N.  
OBTAINING LOW-MOLECULAR WEIGHT GALACTOMANNANES AND STUDYING THEIR PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS

*Institute of Bioorganic Chemistry of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, ul. Mirzo Ulugbeka, 83, Tashkent, 100125 (Uzbekistan), e-mail: amonovadilnoza@gmail.com*

The aim of this study was studying the effect of acidic hydrolysis conditions on the molecular parameters of galactomannan, such as weight average degree of polymerization (DP<sub>w</sub>), weight average molecular weight (M<sub>w</sub>), product yield, depolymerization reaction rate, and mannose/galactose (Man/Gal) ratio in the presence of hydrochloric acid and obtaining low molecular weight oligogalactomannans soluble in water. A preparing possibility low molecular weight galactomannans by acid hydrolysis of guar galactomannan (DP<sub>w</sub>=1160, M<sub>w</sub>=563.8 kDa, Man/Gal=1.89) in the presence of hydrochloric acid was studied. The studies were carried out in hydrochloric acid solutions with various concentrations (0.05–1.0 mol/L) for different times (10–240 min) at a constant temperature (80 °C). In the course of the studies, effects of the reaction conditions on the molecular parameters of the product obtained were analyzed. The conducted reactions yielded low molecular weight galactomannans and oligogalactomannans with different molecular parameters (DP<sub>w</sub>=6–1021, M<sub>w</sub>=2.6–505.1 kDa, Man/Gal=1.90–3.19) and yields (2.8–97.1%). Based on the results obtained, the optimal reaction conditions (HCl 0.1 mol/L, 240 min, 80 °C) were supposed for the preparation of galactomannan oligosaccharides. The structural studies of the products indicated that products with reduced galactose residues could be prepared by this method.

*Keywords:* galactomannan, oligogalactomannan, acidic hydrolysis, degree of polymerization, depolymerization.

### References

1. Pawar H.A. *Biol. Med.*, 2015, vol. 7, 224. DOI: 10.4172/0974-8369.1000224.
2. Aravamudhan A., Ramos D.M., Nada A.A., Kumbar S.G. *Nat. Synth. Biomed. Polym.* Elsevier Inc., 2014, pp. 67–89. DOI: 10.1016/B978-0-12-396983-5.00004-1.
3. Prajapati V.D., Jani G.K., Moradiya N.G., Randeria N.P., Nagar B.J., Naikwadi N.N. et al. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2013, vol. 60, pp. 83–92. DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2013.05.017.
4. Whistler R.L., BeMiller J.N. *Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives*. Academic Press, 2012. DOI: 10.1016/C2009-0-03188-2.
5. Borsig L. *Glycobiology*, 2018, vol. 28, pp. 648–655. DOI: 10.1093/glycob/cwx105.
6. Banerjee S., Parasramka M., Paruthy S.B. *Polysaccharides*. Springer, Cham, 2015, pp. 2179–2214. DOI: 10.1007/978-3-319-16298-0\_26.
7. Zhang X., Qi C., Guo Y., Zhou W., Zhang Y. *Carbohydr. Polym.*, 2016, vol. 149, pp. 186–206. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.04.097.
8. Cerqueira M.A., Bourbon A.I., Pinheiro A.C., Martins J.T., Souza B.W.S., Teixeira J.A. et al. *Trends Food Sci. Technol.*, 2011, vol. 22, pp. 662–671. DOI: 10.1016/J.TIFS.2011.07.002.
9. Gaisford S.E., Harding S.E., Mitchell J.R., Bradley T.D., Mitchell J.R. *Carbohydr. Polym.*, 1986, vol. 6, pp. 423–442.
10. Pitkänen L., Tuomainen P., Mikkonen K.S., Tenkanen M. *Carbohydr. Polym.*, 2011, vol. 86, pp. 1230–1235. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.06.018.
11. Rakhmanberdyeva R.K., Rakhimov D.A., Vakhobov A.A., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N. *Chem. Nat. Compd.*, 2005, vol. 41, pp. 11–13. DOI: 10.1007/s10600-005-0062-6.
12. Rashid F., Hussain S., Ahmed Z. *Carbohydr. Polym.*, 2018, vol. 180, pp. 88–95. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.10.025.
13. Azimova L.B., Normakhamatov N.S., Khaytmetova S.B., Mukhitdinov B.I., Amonova D.M., Filatova A.V. et al. *Russ. J. Bioorganic Chem.*, 2020, vol. 46, pp. 1317–1322. DOI: 10.1134/S106816202007002X.
14. Cheng Y., Prud'homme R.K. *Biomacromolecules*, 2000, vol. 1, pp. 782–788. DOI: 10.1021/bm005616v.
15. Sun M., Tang H.B., Dong S.Q., Li Y.P. *Adv. Mater. Res.*, 2013, vol. 781–784, pp. 1901–1906. DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMR.781-784.1901.
16. Wang Q., Ellis P., Ross-Murphy S. *Food Hydrocoll.*, 2000, vol. 14, pp. 129–134. DOI: 10.1016/S0268-005X(99)00058-2.
17. Horinaka J., Yasuda R., Takigawa T. *Carbohydr. Polym.*, 2012, vol. 89, pp. 1018–1021. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.03.038.
18. Muhitdinov B., Heinze T., Turaev A., Koschella A., Normakhamatov N. *Eur. Polym. J.*, 2019, vol. 119, pp. 181–188. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.07.030.
19. Wielinga W.C. *Handb. Hydrocoll.*, 2nd ed. Woodhead Publishing, 2009, pp. 228–251. DOI: 10.1533/9781845695873.228.
20. Lacroix C., Sultan E., Fleury E., Charlot A. *Polym. Chem.*, 2012, vol. 3, pp. 538–546. DOI: 10.1039/C2PY00512C.
21. Cunha P.L.R., Vieira Í.G.P., Arriaga Â.M.C., de Paula R.C.M., Feitosa J.P.A. *Food Hydrocoll.*, 2009, vol. 23, pp. 880–885. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.05.005.

\* Corresponding author.

22. Muhitdinov B., Heinze T., Normakhamatov N., Turaev A. *Carbohydr. Polym.*, 2017, vol. 173, pp. 631–637. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.06.033.
23. Jiang J.-X., Jian H.-L., Cristhian C., Zhang W.-M., Sun R.-C. *J. Sci. Food Agric.*, 2011, vol. 91, pp. 732–737. DOI: 10.1002/jsfa.4243.
24. Chaubey M., Kapoor V.P. *Carbohydr. Res.*, 2001, vol. 332, pp. 439–444. DOI: 10.1016/S0008-6215(01)00104-5.
25. Davis A.L., Hoffmann R.A., Russell A.L., Debet M. *Carbohydr. Res.*, 1995, vol. 271, pp. 43–54. DOI: 10.1016/0008-6215(95)00038-U.

*Received May 5, 2021*

*Revised November 11, 2021*

*Accepted February 3, 2022*

**For citing:** Amonova D.M., Mukhitdinov B.I., Turaev A.S., Kirgizbayev Kh.Kh., Boydedayev A.A., Sindarov B.A., Bekmirzayev J.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 2, pp. 51–60. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2022029551.