УДК 582.284:547.458.5

# РАЗВЕТВЛЕННЫЙ ГЛЮКАН ПЛОДОВЫХ ТЕЛ *Piptoporus betulinus* (Bull.:Fr.) Karst.

© 2012 г. Д. Н. Оленников\*, С. В. Агафонова\*\*, А. В. Рохин\*\*\*, Т. А. Пензина\*\*, Г. Б. Боровский\*\*

> \* Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, 670047; e-mail: oldaniil@rambler.ru

\*\* Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, 664033 \*\*\* Иркутский государственный университет, Иркутск, 664033

Поступила в редакцию 17.01.2011 г.

Из плодовых тел *Piptoporus betulinus* (Bull.:Fr.) Karst. (сем. Fomitopsidaceae) был выделен новый глюкан — пиптопоран I с молекулярной массой 270 кДа. С применением комплекса физико-химических методов установлено, что пиптопоран I представляет собой разветвленный глюкан, основная цепь которого построена из остатков  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  3)-глюкопиранозы, замещенной на 17.3% по положению С-6 единичными остатками  $\beta$ -D-глюкопиранозы. Полисахарид с подобным строением выделен впервые из грибов рода *Piptoporus*.

Базидиомицеты занимают важное место в структуре растительных и лесных биоценозов. Благодаря исследованиям последних десятилетий стало известно, что базидиальные грибы являются продуцентами биологически активных веществ. *Piptoporus betulinus* (Bull.:Fr.) Karst. (сем. Fomitopsidaceae) – ксилотрофный базидиомицет, повсеместно встречающийся в зоне умеренного пояса России и поражающий исключительно представителей рода *Betula* [1]. Несмотря на широкое распространение гриба, информация о химическом составе P. betulinus ограничена; известно о присутствии в плодовых телах данного вида ланостановых тритерпенов [2, 3], жирных кислот [4], пиптамина [5], 2-(4-гидрокси-3-метил-2-бутенил)-гидрохинона [6] и эфирного масла [7]. Для экстрактов и индивидуальных соединений *P. be*tulinus выявлено наличие антибактериальной [5, 8], противовоспалительной [2], антигиалуронатлиазной [3] и антиметаллопротеиназной [6] активности. Ранее упоминалось о присутствии в плодовых телах *P. betulinus* α-глюканов [9, 10], но химическое исследование полисахаридов данного базидиального вида не проводилось. Сведения о выраженной иммуностимулирующей и противоопухолевой активности базидиальных α-глюканов и их производных [11, 12], а также сырьевой доступности P. betulinus, позволяют рассматривать данный базидиальный вид в качестве потенциального источника для получения лекарственных препаратов с заданным видом фармакологического действия.

Цель работы — выделение и структурная характеристика доминирующего полисахарида плодовых тел *P. betulinus*.

## МЕТОДИКА

Плодовые тела *P. betulinus*. Плодовые тела были собраны в Усть-Кутском районе Иркутской области в июле 2008 г. Сырье после сбора разрезали на куски и высушивали до постоянной массы при 60°С, после чего измельчали до частиц размером 0.5 мм. Видовая принадлежность определена Пензиной Т.А (СИФИБР СО РАН). Образцы *P. betulinus* хранятся в гербарии СИФИБР СО РАН.

Выделение фракции щелочерастворимых глюканов из *P. betulinus*. Высушенные и измельченные плодовые тела *P. betulinus* (170 г) экстрагировали в аппарате Сокслета последовательно хлороформом, этилацетатом и метанолом. Обезжиренное сырье высушивали до полного удаления растворителей, после чего экстрагировали водой на кипящей водяной бане (1:50; 5-кратная экстракция по 60 мин) и далее 5%-ным раствором КОН при 50°С (1 : 20; 3-кратная экстракция по 180 мин). Щелочные извлечения объединяли, подкисляли концентрированной уксусной кислотой до рН 4.5 и оставляли при 10°С на 4 ч. Выпавший осадок центрифугировали (30 мин, 6000 g), промывали 5%-ной уксусной кислотой и ледяной водой до нейтральной реакции и высушивали. Получено 7.412 г щелочерастворимой фракции ПБЩ-1.

Фракцию ПБЩ-1 (7 г) обрабатывали кипящим 80%-ным этанолом (4 раза по 150 мл, 60 мин), нерастворившийся осадок отфильтровывали, промывали 96%-ным этанолом и высушивали. В результате получено 4.123 г фракции ПБЩ-2.

Фракцию ПЩБ-2 (4 г) растворяли в 100 мл 5%ного раствора КОН, после чего к полученному раствору приливали 20 мл 5%-ного раствора сульфата железа (II) и оставляли при постоянном перемешивании в течение 60 мин. Выпавший осадок центрифугировали (30 мин, 6000 g), супернатант нейтрализовали концентрированной HCl до pH 6.8 и диализовали в диализных тубах с пределом диализа 2 кДа ("Sigma-Aldrich Inc.", Германия) против дистиллированной воды в течение 48 ч. Диализат осаждали ацетоном (1 : 6), выпавший осадок центрифугировали (15 мин, 3000 g), промывали ацетоном и высушивали. Получено 2.244 г фракции **ПБЩ-3**.

Углеводы определяли антрон-сернокислотным методом в пересчете на глюкозу [13], уроновые кислоты — 3,5-диметилфенол-сернокислотным методом в пересчете на галактуроновую кислоту [14], фенолы — методом Фолина в пересчете на галловую кислоту [15], белок — по методу Бредфорд с применением кумасси G250 ("Силекс", Россия) [16]. Оптическое вращение измеряли для 0.5%-ных растворов в 5%-ной КОН на поляриметре СМ-3 ("Загорский оптико-механический завод", Россия) в кювете 1 дм при 20°С; рН — с применением рН-метра рН-410 ("Аквилон", США). Спектроскопические исследования проводили на спектрофотометре СФ-2000 ("Ломо", Россия) в кварцевых кюветах 10 мм.

**ИК-спектроскопия**. ИК-спектры регистрировали на ИК-Фурье спектрометре  $\Phi$ T-801 ("Симекс", Россия) в интервале 4000–600 см<sup>-1</sup> в таблетке с бромидом калия (1 : 100).

Гель-хроматография. Использовали Sephacryl 300HR ("Sigma-Aldrich Inc.", Германия), колонка 1.6 × 60 см, элюент – фосфатный буфер pH 5.5, скорость потока – 800 мкл/мин, объем элюатов – 1 мл, температура колонки – 20°С. Колонку градуировали с использованием стандартов декстранов с молекулярными массами 6, 100, 200, 500 кДа ("Fluka", Швейцария). Внешний объем колонки определяли по синему декстрану (2000 кДа, "Pharmacia", Швеция). Концентрация раствора полисахарида – 10 мг/мл, стандартов декстранов – 1 мг/мл, объем вводимой пробы – 1 мл. Объем выхода определяли спектрофотометрическим фенол-сернокислотным методом при 480 нм [17].

Полный гидролиз. Растворяли 10 мг полисахарида в 5 мл 2 М ТФУ и нагревали при 120°С в течение 2 ч. ТФУ удаляли в вакууме в присутствии метанола, остаток растворяли в бидистиллированной воде и анализировали методом ВЭЖХ.

**ВЭЖХ**. Проводили на жидкостном хроматографе Милихром А-02 ("Эконова", Россия) на колонке Separon 5-NH<sub>2</sub> ( $80 \times 2$  мм, 5 мкм, "Tessek Ltd.", Чехия). Подвижная фаза: ацетонитрил—вода (3 : 1), скорость подвижной фазы 0.1 мл/мин, температура колонки 22°С. Детектирование проводили при 190 нм.

Выделение глюкана ПБЩ-3-2. Выделение проводили с применением препаративной гель-хроматографии в условиях, описанных ранее, на колонке Sephacryl 300HR размером 2.6 × 60 см; объем фракций – 5 мл. Фракции, содержащие доминирующий компонент, объединяли, диализовали и диализат лиофильно высушивали. Из 1.5 г ПБЩ-3 получено 675 мг компонента ПБЩ-3-2.

Перйодатное окисление и деградация по Смиту. Растворяли 100 мг ПБЩ-3-2 в 50 мл фосфатного буфера, pH 5.5, приливали 20 мл 0.2 М раствора перйодата натрия и оставляли при 4°С. Через каждые 24 ч отбирали аликвоту раствора и анализировали на содержание перйодат-иона спектрофометрическим методом по уменьшению поглощения при 223 нм [18] и концентрацию муравьиной кислоты определяли титрованием 0.01 М NaOH. Деградацию по Смиту проводили после перйодатного окисления по методу [19]. Получено 63 мг деградированного полисахарида ПБЩ-3-2-д.

**Окисление хромовым ангидридом.** Реакцию проводили с хромовым ангидридом после предварительного ацетилирования по методу Хоффмана [20].

Метилирование. Метилирование полисахарида осуществляли йодистым метилом по методу [21] с последующим формолизом, гидролизом перметилата [22] и анализом методом ГХ/МС.

Газовая хроматография/масс-спектрометрия (ГХ/МС). ГХ/МС анализ проводили на хроматомасс-спектрометре 5973N/6890N MSD/DS ("Agilent", США) с масс-селективным детектором (№ 5973) с диффузным насосом с применением капиллярной колонки PH-Innowax (30 м × × 250 мкм × 0.50 мкм). Градиент температуры — 150—250°С, скорость нагрева 2°/мин. Газ-носитель – гелий, скорость 1 мл/мин.

Спектроскопия ЯМР. Спектры <sup>13</sup>С-ЯМР регистрировали на ЯМР-спектрометре VXR 500S ("Varian", США), рабочая частота 125.7 МГц. Спектры получены для 1%-ных растворов в ДМСО-d<sub>6</sub>.

Реакция с конго красным. По 2 мг полисахарида растворяли в 2 мл 0.15–0.7 М растворов NaOH, после чего приливали 60 мкл 0.01 М раствора конго красного ("Sigma-Aldrich Inc.", Германия) в 95%-ном этаноле. Через 10 мин определяли вид спектров поглощения полученных растворов. Контролем служили пахиман ("Biosuppliers", Австралия) и крахмал ("Merck", Германия).

2012

ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ том 48 № 1

Фракция	Выход, %		Содержание			
		углеводы	уроновые кислоты	фенолы	белок	глюкозы, мол. %
ПБЩ-1	4.4*	27.8	0.9	44.1	4.5	19.6
ПБЩ-2	58.9**	52.7	1.7	14.7	2.4	47.4
ПБЩ-3	56.1***	98.5	—	—	—	98.2

Таблица 1. Характеристика щелочерастворимых фракций P. betulinus

\* Выход от массы плодового тела. \*\* Выход от массы ПБЩ-1. \*\*\* Выход от массы ПБЩ-2.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для выделения щелочерастворимых полисахаридов плодовые тела *P. betulinus* предварительно обрабатывали рядом растворителей в аппарате Сокслета для удаления липофильных и фенольных соединений, после чего проводили экстракцию водой и раствором гидроксида калия. Из щелочных извлечений после подкисления была выделена щелочерастворимая фракция ПБЩ-1 с выходом 4.4% от массы плодовых тел. Фракция ПБЩ-1 представляла собой пигментированную аморфную субстанцию, в которой по данным химического анализа присутствовали фенольные (44.1%), углеводные (27.8%) и белковые компоненты (4.5%) (табл. 1). Высокое содержание фенольных соединений свидетельствовало о том, что ПБЩ-1 является мелано-углеводным комплексом. Для очистки данной фракции ее подвергали экстракции 80%-ным этанолом, что позволило освободиться от части фенольных пигментов; в результате была получена фракция ПБЩ-2, содержащая 52.7% углеводов и 14.7% фенольных соединений. Удаление оставшегося количества фенолов проводили после растворения ПБЩ-2 в 5%-ном растворе КОН и осаждения раствором



**Рис. 1.** Гель-хроматограмма фракции ПБЩ-3 (*a*), очищенного препарата ПБЩ-3-2 и ПБЩ-3-2-д (*б*). *I* – ПБЩ-3-1, *2* – ПБЩ-3-2, *3* – ПБЩ-3-3, *2* – ПБЩ-3-2-д.

сульфата железа (II). Данная последовательность операций привела к получению депигментированного продукта ПБЩ-3, содержащего 98.5% углеводов и представляющего собой фракцию щелочерастворимых полисахаридов.

Исследование моносахаридного состава показало, что глюкоза является единственным продуктом полного гидролиза ПБЩ-3. С применением гель-хроматографии установлено, что в составе исследуемой фракции присутствовало 3 компонента с молекулярными массами 320 (ПБЩ-3-1), 270 (ПБЩ-3-2) и 70 кДа (ПБЩ-3-3) (рис. 1а). Доминирующим является компонент ПБЩ-3-2, выделение которого с помощью препаративной гельхроматографии привело к получению гомогенного препарата полисахарида (рис. 16).

В составе ПБЩ-3-2 была обнаружена только глюкоза, а растворы обладали высоким положительным удельным вращением ( $[\alpha]_D + 107^\circ$ ). В ИКспектре ПБЩ-3-2 присутствовал интенсивный пик при 847 см<sup>-1</sup>, указывающий на доминирование  $\alpha$ -связей в структуре полисахарида (рис. 2). Наличие пика при 824 см<sup>-1</sup> характерно для (1  $\rightarrow$  3)-связанных полимеров [23]. Слабое поглощение при 890 см<sup>-1</sup> являлось следствием присутствия небольшого количества остатков с β-конфигурацией аномерного центра.

При перйодатном окислении ПБЩ-3-2 расходовалось 0.29 моль перйодат-иона на ангидрозвено, выделение муравьиной кислоты составило 0.15 моль/ангидрозвено. Дальнейшая обработка продуктов перйодатного окисления борогидридом натрия и разбавленной серной кислотой (деградация по Смиту) привела к получению деградированного продукта ПБЩ-3-2-д с молекулярной массой 225 кДа (рис. 16). В составе продуктов гидролиза был обнаружен глицерин. Полученные результаты указывали на наличие в структуре ПБЩ-3-2 перйодат-устойчивой области, что возможно в случае (1 → 3)-типа связи и некоторого количества точек ветвления, из которых образовался глицерин.

Для определения конфигурации аномерных центров глюкозы в ПБЩ-3-2 и ПБЩ-3-2-д было



Рис. 2. ИК-спектр ПБЩ-3-2. Цифрами обозначены значения волновых чисел.

проведено их исследование с применением окисления хромовым ангидридом. В гидролизатах продуктов окисления установлено наличие глюкозы, что возможно в случае ее α-конфигурации.

Согласно данным ГХ/МС анализа, после метилирования в составе продуктов гидролиза ПБЩ-3-2 обнаружены 2,3,4,6-тетраметилглюкопираноза, 2,4,6-триметилглюкопираноза и 2,4диметилглюкопираноза в соотношении 1:4.8:1 (табл. 2). Полученные данные свидетельствуют о том, что основная цепь ПБЩ-3-2 состоит из остатков незамещенной (1 — 3)-связанной глюкопиранозы и имеется небольшое число точек ветвления основной цепи по положению С-6, причем боковые цепи представлены единичными остатками глюкопиранозы. В составе продуктов метилирования ПБЩ-3-2-д обнаружена 2,4,6триметилглюкопираноза и следы 2,3,4,6-тетраметилглюкопиранозы, что указывает на линейный характер полимера, который представляет собой основную цепь макромолекулы ПБЩ-3-2.

Полученные сведения о строении ПБЩ-3-2 указывают на то, что он является  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  3)-глю-

каном, содержащим небольшое количество боковых цепей у атомов С-6, однако остается невыясненным факт наличия полосы β-связей в ИКспектре ПБЩ-3-2. Для исследования данного вопроса было проведено изучение ПБЩ-3-2 и ПБЩ-3-2-д с применением <sup>13</sup>С-ЯМР-спектроскопии. На рис. 3 приведен <sup>13</sup>С-ЯМР-спектро ПБЩ-3-2, величины химических сдвигов сигналов (м.д.) и их интерпретация для ПБЩ-3-2 и ПБЩ-3-2-д – в табл. 3.

В аномерной области <sup>13</sup>С-ЯМР-спектра ПБЩ-3-2 присутствуют три сигнала при 101.5, 101.8 и 106.3 м.д., отнесенные к атомам С-1 остатков незамещенной и замещенной глюкопиранозы основной цепи и глюкопиранозы боковых цепей соответственно. Положения первых двух сигналов указывают на  $\alpha$ -конфигурацию аномерных центров глюкозы в основной цепи. Для сигналов С-1 глюкозы боковых цепей наблюдается сильное смещение в слабое поле, что объясняется ее β-конфигурацией. Смещение сигналов атомов С-3 замещенной и незамещенной глюкопиранозы основной цепи в слабое поле (85.3 и 86.3 м.д.)

Таблица 2.	Результаты метили	рования ПБЩ-	3-2 и ПБЩ-3-2-д
------------	-------------------	--------------	-----------------

Метицироранный остаток	Содерж	ание, %	Тип свази	
метилированный остаток	ПБЩ-3-2	ПБЩ-3-2-д	Типсьязи	
2,3,4,6-тетраметилглюкопираноза	14.7	следы	глюкопираноза-(1	
2,4,6-триметилглюкопираноза	70.5	99.8	→ 3)-глюкопираноза-(1 →	
2,4-диметилглюкопираноза	14.8	_	→ 3,6)-глюкопираноза-(1 →	

ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ том 48 № 1 2012



**Рис. 3.** <sup>13</sup>С-ЯМР-спектр ПБЩ-3-2 (I). А – остаток 3-О-α-D-глюкопиранозы, В – остаток 3,6-ди-О-замещенной-α-D-глюкопиранозы, С – остаток β-Dглюкопиранозы, 1–6 – номер атома углерода. Участок <sup>13</sup>С-ЯМР-спектра в диапазоне 72–74 м.д (II).

относительно такового свободной  $\alpha$ -D-глюкопиранозы указывает на их участие в образовании связи (1  $\rightarrow$  3)-типа, а расположение сигнала атома C-6 замещенных остатков при 68.1 м.д. подтверждает наличие замещения по данному положению. Следует также отметить наличие сдвига сигнала атома C-5 замещенной глюкопиранозы в сильное поле (73.5 м.д.), что подтверждает присутствие заместителя у атома C-6 [25]. Соотноше-

ние интегральных интенсивностей сигналов C-3 незамещенной и замещенной глюкопиранозы основной цепи составляет 4.77, что близко к результатам, полученным ранее методом метилирования (4.76).

Значения химических сдвигов атомов C-2–C-6 глюкопиранозы боковых цепей близки к таковым свободной  $\beta$ -D-глюкопиранозы, т.е. в боковых цепях присутствуют единичные остатки  $\beta$ -D-глюкопиранозы.

В <sup>13</sup>С-ЯМР-спектре ПБЩ-3-2-д обнаружено 6 сигналов при 100.1, 71.4, 84.9, 69.8, 73.4 и 60.9 м.д, отнесенных к атомам С-1, С-2, С-3, С-4. С-5 и С-6 соответственно, что указывает на его структуру в виде линейного  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  3)-глюкана.

Таким образом, проведенные исследования показали, что полисахарид ПБЩ-3-2 из P. betulinus, названный нами пиптопоран I, является разветвленным глюканом, основная цепь которого построена из остатков α-(1 -> 3)-глюкопиранозы, замещенной на 17.3% по положению С-6 единичными остатками β-D-глюкопиранозы. Глюканы смешанного типа, содержащие одновременно α- и β-связи, ранее были обнаружены в *Pleurotus florida* (β(1 -> 3)-глюкан, замещенный по С-6 глюкопиранозы основной цепи остатками α-глюкопиранозы) [26] и *Р. sajor-caju* (α-(1 → 2)-,  $(1 \rightarrow 3)$ - и  $(1 \rightarrow 6)$ -глюкан, замещенный по С-6 α-глюкопиранозы основной цепи остатками β-глюкопиранозы) [27]. Из плодовых тел P. florida также был выделен α-глюкан, у которого в боковых цепях, кроме единичных остатков β-глюкопиранозы, обнаружены цепочки из трех остатков β-(1 → 3)-связанной глюкопиранозы [28]. Глюканы со структурой, аналогичной пиптопорану I, ранее описаны не были.

Для определения пространственной организации молекулы пиптопорана I были проведены ис-

Моносахаридный остаток	<sup>13</sup> С-химический сдвиг (б), м.д.						
цепи полимера	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	
		ПБЩ-3-	2				
3-О-α-D-глюкопиранозил	101.5	72.6	85.3	70.1	73.8	61.2	
3,6-ди-О-α-D-глюкопиранозил	101.8	72.6	86.3	70.1	73.5	68.1	
β-D-глюкопиранозил	106.3	73.1	76.1	71.3	75.8	61.8	
		ПБЩ-3-2	-д				
3-О-α-D-глюкопиранозил	100.1	71.4	84.9	69.8	73.4	60.9	
α-D-глюкопираноза*	92.7	72.1	73.4	70.4	72.1	61.3	
β-D-глюкопираноза*	96.5	74.8	76.4	70.3	76.6	61.5	
* [34]							

Таблица 3. Положение и интерпретация сигналов <sup>13</sup>С-ЯМР спектров ПБЩ-3-2 и ПБЩ-3-2-д

<sup>\* [24].</sup> 



**Рис. 4.** Влияние концентрации NaOH (%) на положение максимума поглощения конго красного и его комплексов с полисахаридами (*a*). Спектры поглощения конго красного в присутствии полисахаридов в 0.15 M NaOH (б). *1* – конго красный, *2* – ПБЩ-3-2, *3* – пахиман, *4* – крахмал.

следования с использованием реакции комплексообразования с конго красным, которая применяется для выявления наличия спиральной (helical) конфигурации у полисахаридов. Установлено, что присутствие пиптопорана I не влияет на положение максимума поглощения конго красного, что указывает на отсутствие спиральной конфигурации у макромолекулы изучаемого полисахарида (рис. 4). В отличие от пиптопорана I для  $\beta$ -(1  $\rightarrow$  3)-глюкана пахимана наблюдается выраженный батохромный сдвиг на 18 нм при концентрации NaOH 0.15 М. Ранее было выявлено отсутствие спиральной конфигурации для α-(1 → 3)-глюканов [29], однако для смешанных глюканов подобный факт установлен впервые.

Работа выполнена при финансовой поддержке регионального конкурса РФФИ (р\_сибирь\_а № 08-04-98045) и Лаврентьевского конкурса молодежных проектов СО РАН.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Феофилова Е.П. // Прикл. биохимия и микробиология. 1998. Т. 34. № 6. С. 597–608.
- 2. *Kamo T., Asanoma M., Shibata H., Hirota M.* // J. Natur. Prod. 2003. V. 66. № 8. P. 1104–1106.
- 3. *Wangun H.V., Berg A., Hertel W., Nkengfack A.E., Hertweck C.* // J. Antibiot. (Tokyo). 2004. V. 57. № 11. P. 755-758.
- 4. *Rezanka T., Rozentsvet O.A., Dembitsky V.M.* // Folia Microbiol. 1999. V. 44. № 6. P. 635–641.
- Schlegel B., Luhmann U., Härtl A., Gräfe U. // J. Antibiot. (Tokyo). 2000. V. 53. № 9. P. 973–974.

ПРИКЛАДНАЯ БИОХИМИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ том 48

- Kawagishi H., Hamajima K., Inoue Y. // Biosci. Biotechnol. Biochem. 2002. V. 66. № 12. P. 2748–2750.
- Rösecke J., Pietsch M., König W.A. // Phytochemistry. 2000. V. 54. № 8. P. 747–750.
- Karaman M., Mimica-Dukić N., Knežević P., Svirčev Z., Matavuly M. // Int. J. Med. Mushrooms. 2009. V. 11. № 3. P. 269–279.
- 9. Jelsma J., Kreger D.R. // Arch. Microbiol. 1978. V. 119. № 3. P. 249–253.
- Jelsma J., Kreger D.R. // Carbohydr. Res. 1979. V. 71. № 1. P. 51–64.
- 11. *Bao X., Duan J., Fang X., Fang J.* // Carbohydr. Res. 2001. V. 336. № 1. P. 127–140.
- Lin Y., Zhang L., Chen L., Jin Y., Zeng F., Jin J., Wan B., Cheung P.C.K. // Int. J. Biol. Macromol. 2004. V. 34. № 2. P. 231–236.
- 13. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Samuelsen A.B. // Chem. Natur. Comp. 2006. V. 42. № 3. P. 265–268.
- 14. Usov A.T., Bilan M.I., Klochkova N.G. // Bot. Marina. 1995. V. 35. № 1. P. 43–51.
- Folin O., Ciocalteu V. // J. Biol. Chem. 1927. V. 73. № 2. P. 627–650.
- Bradford M.M. // Anal. Biochem. 1976. V. 72. № 2. P. 248–254.
- 17. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. // Anal. Chem. 1956. V. 28. № 3. P. 350–356.
- Gutierrez A., Prieto A., Martinez A. T. // Carbohydr. Res. 1996. V. 281. № 1. P. 143–154.
- 19. Olennikov D.N., Rokhin A.V., Tankhaeva L.M. // Chem. Natur. Comp. 2009. V. 45. № 3. P. 300–303.
- 20. *Hoffmann J., Lindberg B., Svenson S.* // Acta Chem. Scand. 1972. V. 26. № 4. P. 661–667.
- Ciukanu I., Kerek F. // Carbohydr. Res. 1984. V. 131. № 2. P. 209–217.
- 22. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. // Chem. Natur. Comp. 2007. V. 43. № 5. P. 501–507.
- 23. Sermour F.R., Julian R.L., Jeanes A., Lamberts B.L. // Carbohydr. Res. 1980. V. 86. № 2. P. 227–246.
- 24. Шашков А.С., Чижов О.С. // Биоорганическая химия. 1976. Т. 2. № 4. С. 437–497.
- 25. Olennikov D.N., Agafonova S.V., Nazarova A.V., Rokhin A.V. // Chem. Natur. Comp. 2010. V. 46. № 3. P. 444–445.
- Rout D., Mondal S., Chakraborty I., Pramanik M., Islam S.S. // Carbohydr. Res. 2005. V. 340. № 16. P. 2533–2539.
- 27. *Pramanik M., Chakraborty I., Mondal S., Islam S.S. //* Carbohydr. Res. 2007. V. 342. № 17. P. 2670–2675.
- Santos-Neves J.C., Pereira M.I., Carbonero E.R., Gracher A.H.P., Alquini G., Gorin P.A.J., Sassaki G.L., Iacomini M. // Carbohydr. Polym. 2008. V. 73. № 2. P. 309–314.
- 29. Stone B.A., Clarke A.E. Chemistry and biology of (1→ 3)-β-glucans. Victoria: La Trobe University Press. 2009. P. 81–85.

ом 48 № 1 2012

ОЛЕННИКОВ и др.

# Branched Glucan from the Fruiting Bodies of *Piptoporus betulinus* (Bull.:Fr.) Karst.

D. N. Olennikov<sup>a</sup>, S. V. Agafonova<sup>b</sup>, A. V. Rokhin<sup>c</sup>, T. A. Penzina<sup>b</sup>, and G. B. Borovskii<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Sakh'yanovoi 6, Ulan-Ude, 670047 Russia

<sup>b</sup> Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Irkutsk, 664033 Russia

> <sup>c</sup> Irkutsk State University, Irkutsk, 664033 Russia e-mail: oldaniil@rambler.ru Received January 17, 2011

**Abstract**—A new glucan, namely, piptoporane I, with a molecular mass of 270 kDa was isolated from fruiting bodies of *Piptoporus betulinis* (Bull.:Fr.) Karst. (Fomitopsidacaeae). Using a combination of physicochemical methods, it was established that piptoporane I was a branched glucan with a backbone consisting of  $\alpha$ -(1–>3)-glucopyranose residues substituted at the C-6 position by single residues of  $\beta$ -D-glucopyranose by 17.3%. A polysaccharide with such a structure was isolated for the first time from the fungus genus *Piptoporus*.