

POLYSACHARIDOVÉ KOMPLEXY DŘEVNÍCH HUB RODŮ *Phellinus*

A *Inonotus*

MIROSLAV NOVÁK, ANDRIY SYNYTSYA,
ANEŽKA VESELÁ, GORDON K. GOMBA
a JANA ČOPIKOVÁ

Ústav chemie a technologie sacharidů, Vysoká škola chemicko technologická v Praze, Technická 1905, 166 28 Praha 6

Miroslav.Novak@vscht.cz

Došlo 7.1.09, přepracováno 3.8.09, přijato 6.8.09.

Klíčová slova: dřevní houby, glukánové komplexy, termická analýza, FTIR

Úvod

Dřevní houby jsou významnou součástí lesních ekosystémů, protože tato skupina organismů disponuje unikátními lignolytickými enzymy, které jsou nezbytné pro rozklad dřevní hmoty a koloběh uhlíku v přírodě. Kromě těchto enzymů ovšem produkují dřevní houby i řadu makromolekulárních látek, zejména polysacharidů, které jsou potenciálně použitelné jako součást farmak v medicíně. Houby rodů *Phellinus* (ohňovec) a *Inonotus* (rezavec) (*Basidiomycota*, *Hymenochaetales*) působí tzv. bílou hnilobu dřeva listnáčů i jehličnanů. Jednotlivé druhy se liší parazitickým nebo saprofytickým způsobem života. U parazitických druhů je dřevní hmota rozkládána ve velkém objemu v celém průřezu kmene. Na napadených stromech se vytvářejí charakteristické nápadné plodnice, zpravidla kopytovitého tvaru – nesprávně označované „choroše“ (skutečný choroš – *Polyporus* – vytváří plodnice poněkud odlišného tvaru).

Z hlediska medicíny jsou tyto houby zkoumány pro svůj obsah biologicky aktivních látek. Houby obecně jsou významným zdrojem látek fyziologicky aktivních, neboť produkují široké spektrum sekundárních metabolitů se zajímavými biologickými aktivitami představující potenciální zdroj různých léčivých látek, a dřevní houby rodu *Phellinus* a *Inonotus* mezi léčivými houbami zaujímají významné místo. Rod *Phellinus* zahrnuje řadu druhů, z nichž mnohé se po řadu století používají v asijské medicíně. *Phellinus igniarius* (L.: Fr) Quel (ohňovec obecný) se využívá v tradiční čínské medicíně pod názvem „sanghuang“ (žlutý choroš)¹, *Phellinus linteus* se používá při léčení různých chorob – k léčbě rakoviny gastrointestinálního traktu, kardiovaskulárních chorob, tuberkulózy, chorob jater a srdce, hnisavých ran, bolestí žaludku, gonorrhoe a diabetu^{2–8}. U výtazku získaného extrakcí *Phel-*

linus linteus horkou vodou byly potvrzeny výrazné protirakovinné a imunomodulační účinky⁷. Imperfektní plodnice rezavce šikmého (*Inonotus obliquus*), parazitujícího převážně na břízách, které pod názvem „čaga (chaga)“ jsou používány jako kancerostatikum v lidové medicíně, obsahují velká množství polycyklických sloučenin, majících významný antioxidační efekt⁹, a rovněž spektrum imunostimulačních fyto-sloučenin s antimutagenními a cytotoxickými účinky¹⁰, převážně polysacharidů typu β -glukanů¹¹.

Obecně nejvýraznější projevy biologické aktivity rodů *Phellinus* a *Inonotus* jsou přičítány obsahu proteoglykanů a homo- či heteropolysacharidů. Existuje řada studií, týkající se izolace a biologické aktivity polysacharidů získaných z těchto léčivých hub^{12–14}.

Poměrně dobře prozkoumaný je acidický proteoheteroglykan s velikostí asi 150 kDa (cit.¹⁵), izolovaný z *Phellinus linteus*, obsahující mannosu, galaktosu, glukosu, arabinosu a xylosu, jak bylo dokázáno NMR spektroskopii¹⁶; v polysacharidové části se vyskytují jak vazby α , tak β . Tato látka vyvolává sekreční a buněčnou odezvu u makrofágů, i když mechanismy, kterými reguluje funkce makrofágů, jsou dosud nejasné. Nicméně bylo zjištěno, že její působení na myší peritoneální makrofágy *in vitro* i *in vivo* dramaticky zvyšuje produkci NO (cit.¹⁷) produkovaného inducibilní syntasou oxidu dusnatého (iNOS), jejíž syntéza je spouštěna navázáním polysacharidu na receptor makrofágu. Produkovaný oxid dusnatý působí cytotoxicky na nádorové buňky (viz např. cit.^{18,19}) a má výrazný antimikrobiální účinek na řadu patogenů^{20,21} ovšem na druhé straně působí poškození tkání a DNA²² a ve vysokých koncentracích může působit septický šok²³.

Kyselý polysacharid z *Phellinus linteus* jsou známy jako stimulatory proliferace T-lymfocytů, polyklonální aktivátory B-lymfocytů a jako inhibitory růstu a metastáz tumorů. Rovněž aktivují fagocytující dendritické buňky. Podání těchto polysacharidů vede nejenom k tvorbě morfologicky zralých dendritických buněk, ale indukuje i predominantní migraci těchto buněk do lymfoidních tkání²⁴.

Některé polysacharidy z hub rodu *Phellinus* vykazují hypoglykemické účinky, které byly rovněž podrobeny zkoumání. Nečištěný extrakt z *Phellinus baumii*, obsahující dva rozdílné heteropolysacharidy a dva proteoglykany, vykazoval výrazný antidiabetický efekt u myši a předpokládá se jeho možná aplikace při léčbě diabetes mellitus²⁵.

Mezi nejúčinnější – a také nejvíce prozkoumané – polysacharidy obsažené v houbách rodů *Phellinus* a *Inonotus*, náležejí β -glukany. Jako β -glukany jsou označovány homopolymery glukosy s lineární molekulou obsahující (1 \rightarrow 3)- β -D-glykosidové vazby, případně s větvenou molekulou, obsahující navíc ještě postranní řetězec, vázaný (1 \rightarrow 6)- β -D-glykosidovými vazbami. Účinkům fungálních β -glukanů je věnován bezpočet studií (viz např. cit.²⁶). Nejvýrazněji se účinek β -glukanů projevuje zvýšením fagocytární a proliferativní aktivity profesionálních fagocytů, tedy neutrofilních granulocytů, monocytů, makrofágů a dendritických buněk; nejvýrazněji se v tomto směru uplatňují makrofágy^{27–29}. Hlavní imunofarmakologické

aktivity β -glukanů zahrnují zvýšení rezistence hostitele vůči virovým³⁰, bakteriálním^{31,32}, fungálním a parazitickým infekcím³³, protinádorový efekt a prevenci karcinogeneze^{20,34,35}, a také radioprotektivní účinky^{36–38}. Významný je prokázaný účinek hub daný obsahem β -glukanů na snižování hladiny sérového cholesterolu a jaterního lipoproteinu s nízkou hustotou (LDL)^{39–41}, vedoucí ke snižování rizika aterosklerózy a onemocnění srdce; nestravitelné β -glukany představující významnou složku hub mohou rovněž modulovat mukosální imunitu střevního traktu⁴².

Sumárně lze tedy říci, že houby rodů *Phellinus* a *Inonotus* jsou významnými producenty biologicky aktivních látek s řadou výrazných léčebných účinků a jejich zkoumání, včetně izolace a identifikace těchto látek, může přinést zajímavé, prakticky využitelné výsledky. Cílem této práce bylo popsat pomocí metod strukturní a termické analýzy komplexní polysacharidy s převážným obsahem β -glukanů, vyskytující se v těchto houbách.

Experimentální část

Použité suroviny a chemikálie

Plodnice sledovaných hub byly získány sběrem v lokalitách v Čechách, na Moravě a na Slovensku a jsou uchovávány v herbáři Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně (BRNL). Analyzované druhy, spolu s místem původu a hostitelskými dřevinami, jsou uvedeny v tabulce I.

Celulosa (prášková celulosa, Aldrich) a β -glukan z pekařského droždí (*Saccharomyces cerevisiae*, Fluka) byly zvoleny jako porovnávací vzorky.

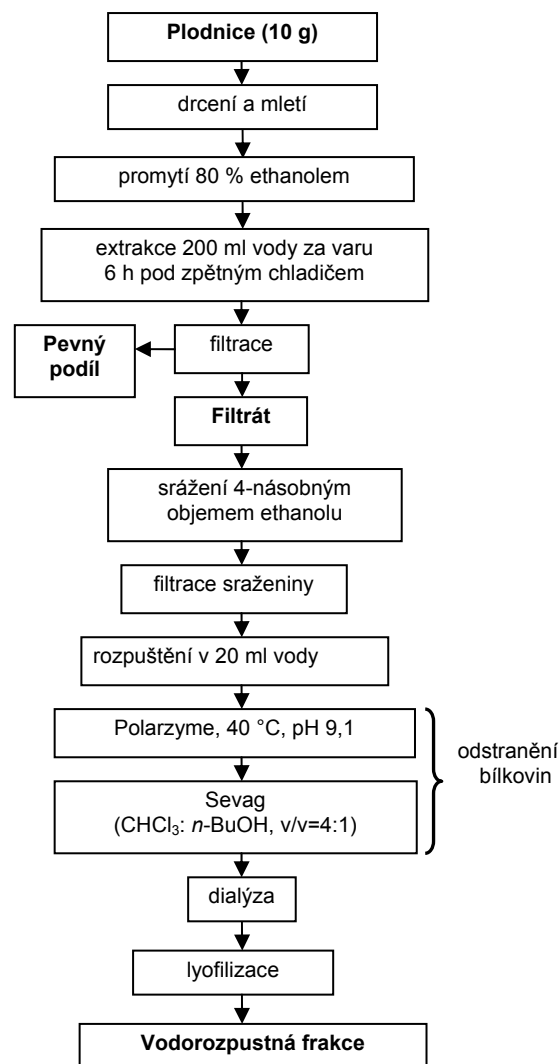
Vodorozpustné polysacharidy byly z plodnic extrahovány postupem uvedeným na obr. 1; odstranění balastních bílkovin bylo provedeno směsí proteinas Polarzyme a činidlem Sevag (CHCl_3 : *n*-BuOH, v/v = 4:1).

Analytické metody

Obsah monosacharidů byl stanoven po hydrolyze izolovaných vodorozpustných frakcí 3 M kyselinou trifluoroctovou (1 h/110 °C) vysokoúčinnou aniontovou výměnnou chromatografií s pulzní amperometrickou detekcí (HPAEC-PAD). Modulární chromatografický systém Dionex BIO LC byl osazen předkolonou 2 × 50 mm CarboPac

PA1 a analytickou kolonou 2 × 250 mm CarboPac PA1 (Dionex Corporation, USA), jako eluent byl použit 16 mM NaOH, průtoková rychlost byla 0,25 ml min⁻¹.

α -Glukany a β -glukany byly stanoveny enzymovou metodou (set KYBGL 10/2005, Megazyme International,



Obr. 1. Schéma extrakce a čištění vodorozpustných polysacharidů z plodnic dřevních hub

Tabulka I

Analyzované plodnice hub a místa jejich sběru

Druh	Lokalita	Hostitelská dřevina
<i>Inonotus obliquus</i> 991	Třeboňsko, NPR Červené bláto, ČR	bříza (<i>Betula sp.</i>)
<i>Phellinus alni</i> 857	NP Pieniny, Slovensko	olše (<i>Alnus incana</i>)
<i>Phellinus alni</i> 885	Moravský kras, PR U Výpůstku, ČR	habr (<i>Carpinus betulus</i>)
<i>Phellinus chrysoloma</i> 879	Moravský kras, NPR Vývěry Punkvy, ČR	smrk (<i>Picea abies</i>)

Irsko).

FTIR spektra ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) byla měřena v KBr tabletách na spektrofotometru Nicolet 6700 (Thermo Scientific, USA); počet skenů 64, rozlišení 2 cm^{-1} . Spektra byla zpracována softwarem Omnic 7.0 (Thermo Scientific, USA).

Diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC) byla prováděna na přístroji DSC 131 (Setaram, Francie) v proudu N_2 . Rychlost záhřevu byla $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, teplotní rozmezí $20\text{--}700\text{ }^\circ\text{C}$. Tento přístroj pracuje na principu diferenční termoanalýzy (DTA).

Termogravimetrická měření (TGA) byla prováděna na přístroji Pyris 1 TGA (Perkin Elmer, USA) v proudu N_2 . Rychlost záhřevu byla $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, teplotní rozmezí $30\text{--}900\text{ }^\circ\text{C}$.

Obsah vody ve vzorcích byl stanoven metodou Karl Fischera (AF 8, Orion Research Inc., USA).

Analytické údaje představují průměrné hodnoty ze 3 stanovení.

Výsledky a diskuse

Vodorozpustné frakce, získané z plodnic zmíněných dřevních hub, byly podrobeny analýzám s cílem blíže objasnit složení a strukturu izolovaných polysacharidů. Byl sledován obsah základních monosacharidových jednotek a charakter glykosidové vazby, průběh termální dekompozice a změřena FTIR spektra. K FTIR spektrům vodorozpustných frakcí, která umožňují kromě identifikace přítomných polysacharidů i identifikaci doprovodných látek, byla pro srovnání proměřena spektra původních plodnic a pevných zbytků po izolaci vodorozpustných podílů.

Obsah α - a β -glukanů v plodnicích zjištěný enzymovou metodou je uveden v tabulce II. Je patrné, že obsah α -glukanů je nejvýznamnější u extraktu z plodnice *I. obliquus* 991, kde tvoří téměř třetinu celkového obsahu glukanů, zatímco v ostatních vzorcích významně převažují β -glukany a obsah α -glukanů se pohybuje kolem 6 % sumy glukanů. Tento rozdíl v zastoupení jednotlivých glukanů by mohl být vysvětlen anatomickou strukturou imperfektní plodnice *I. obliquus*, tvořící nepohlavní chlamyospóry, odlišnou od plodnic ostatních druhů tvořících pohlavní bazidiospóry.

Tabulka II

Obsah α - a β -glukanů v plodnicích dřevních hub rodů *Phellinus* a *Inonotus*

Druh	Obsah [% v sušině]		Sušina [%]
	α -glukany	β -glukany	
<i>Inonotus obliquus</i> 991	2,1	5,2	88,7
<i>Phellinus alni</i> 857	0,8	12,1	88,4
<i>Phellinus alni</i> 885	0,7	11,7	87,0
<i>Phellinus chrysoloma</i> 879	0,9	13,8	90,3

Tabulka III

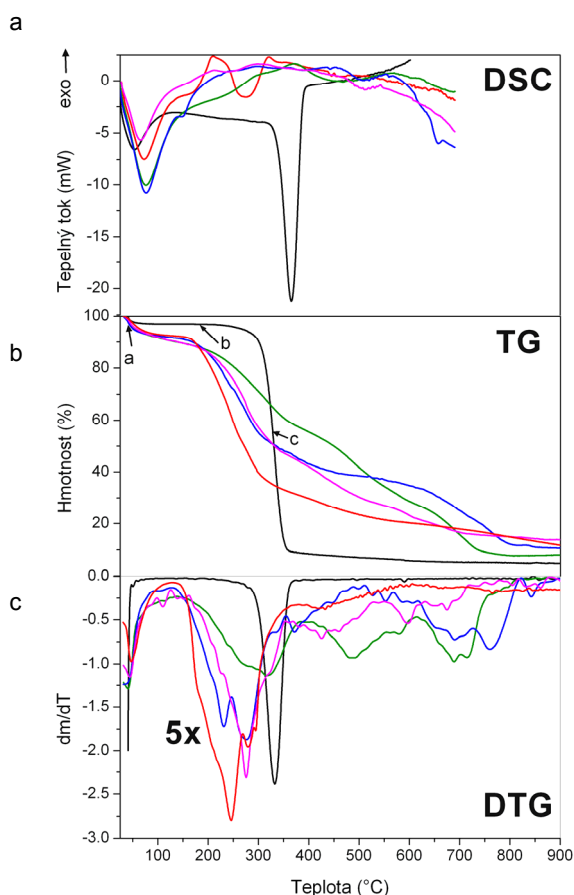
Monosacharidové složení kvasničného β -glukanu a vodorozpustných frakcí izolovaných z plodnic dřevních hub rodů *Phellinus* a *Inonotus*

Polysacharid/ frakce	Molární poměr [%]					
	Glc	GlcN	Gal	Ara	Man	Xyl
Kvasničný β -glukan	98,4	0	0	0	1,7	0
<i>Inonotus obliquus</i> 991	53	2	15	7	8	16
<i>Phellinus alni</i> 857	44	1	26	2	21	6
<i>Phellinus alni</i> 885	45	2	30	2	17	5
<i>Phellinus chrysoloma</i> 879	48	2	27	2	17	5

V tab. III je uvedeno monosacharidové složení kvasničného β -glukanu a hydrolyzátů izolovaných vodorozpustných frakcí plodnic. Je zřejmé, že ve vodorozpustných frakcích zdaleka nejsou přítomny pouze glukany, ale že jde o směs polysacharidů s různým zastoupením monosacharidových jednotek, což je v souladu s většinou literárních odkazů. Na základě výsledků uvedených v tab. III není možné vyvodit absolutní závěry, avšak je zřejmé, že polysacharidy z vodného extraktu *I. obliquus* obsahují podstatně více arabinoxylanů ve srovnání s polysacharidy získanými stejným postupem z plodnic *Phellinus sp.*

Jednou z možností, jak charakterizovat polysacharidy, je využití metod termické analýzy. Na obr. 2 (horní panel) jsou naměřené DSC křivky vodorozpustných frakcí kmenů *Inonotus obliquus* a *Phellinus alni*. Vzhledem k předpokladu, že vodorozpustná frakce je tvořena převážně β -glukany, byly změřeny jako standardy také křivky celulosy a β -glukanu izolovaného z kvasnic. Charakteristické teploty zjištěné pomocí DSC jsou shrnuty v tab. IV. Křivky všech vzorků měly při teplotách do $140\text{ }^\circ\text{C}$ podobný průběh. Endotermický děj s minimem v rozmezí $55\text{--}75\text{ }^\circ\text{C}$ odpovídá odstranění vlhkosti⁴⁴ a změnám terciární struktury polymerů⁴⁵. Křivka celulosy, která má známou a orientovanou strukturu, vykazuje ostrý endotermní pík s minimem při $365\text{ }^\circ\text{C}$, který odpovídá fragmentaci polysacharidového řetězce ($\beta(1\text{--}4)\text{-D-glukanu}$). Kvasničný β -glukan, který má větvenou strukturu ($\beta(1\text{--}3), (1\text{--}6)\text{-D-glukan}$), se rozkládá proti celulose při nižší teplotě a křivka vykazuje exo- a endotermní píky při $210, 275$ a $320\text{ }^\circ\text{C}$. Křivky DSC vodorozpustných podílů izolovaných z hub *Inonotus* a *Phellinus sp.* nad $77\text{ }^\circ\text{C}$ představují obálky termických pochodů, kde převažují exotermické tepelné efekty kolem $211, 300$ a $360\text{--}373\text{ }^\circ\text{C}$. Při teplotách nad $400\text{ }^\circ\text{C}$ již jednotlivé děje lze těžko identifikovat.

Na obr. 2 (střední panel) jsou naměřené termogravimetrické (TG) křivky; jejich interpretace je názornější z vypočtené 1. derivace (DTG) (obr. 2, dolní panel). Z TG a DTG křivek celulosy je zřejmé, že rozklad tohoto polysacharidu probíhá maximální rychlostí při teplotě $333\text{ }^\circ\text{C}$, což je v souladu s křivkou DSC (obr. 2, horní panel), ze



Obr. 2. DSC, TG a DTG křivky celulosy (—), kvasničného β -glukanu (—) a vodorozpustných frakcí z plodnic dřevních hub (— *I. obliquus* 993; — *P. alni* 857; — *P. alni* 885). Na TG grafu jsou označeny oblasti sušení (a), tepelné stability (b) a nejvyšší rychlosti rozkladu (c)

které je zřejmé, že tento rozklad končí kolem teploty 370 °C (tab. IV). Vzorek β -glukanu představuje poměrně čistý polysacharid, ovšem s méně uspořádanou strukturou ve srovnání s celulosou; oproti ní se postupně rozkládá při třech teplotách 246, 282 a 295 °C a uvolňování těkavých látek rovněž končí kolem teploty 370 °C. Mnohem složitější je tepelný rozklad vodorozpustných frakcí izolovaných z *I. obliquus* a *P. alni* (obr. 2, tab. IV). Postupné uvolňování těkavých složek probíhá při šesti, resp. sedmi teplotách a je ukončeno při teplotě nad 700 °C. Endotermní děje mezi teplotami 200 až 370 °C přísluší termickému rozkladu polysacharidů, v teplotním rozmezí 400 až 600 °C se rozkládají látky obsahující aromatické struktury^{44,46}. Nad 600 °C dochází k úplné pyrolýze⁴⁷. Komplikovaný rozklad je důkazem toho, že izolované frakce ze sledovaných hub nejsou čisté polysacharidy, což potvrzují i FTIR spektra. Pevný zbytek při 900 °C byl nejnižší u celulosy a nejvyšší u *P. alni* 885. Je možné shrnout, že křivky naměřené termickou analýzou u polysacharidových frakcí dokládají, že ve vodných extraktech jsou, kromě aromatických složek, přítomny i další polysacharidy, jiné než β -glukany. To samozřejmě vyplývá i z obsahu stanovených monosacharidů po hydrolýze (tab. III).

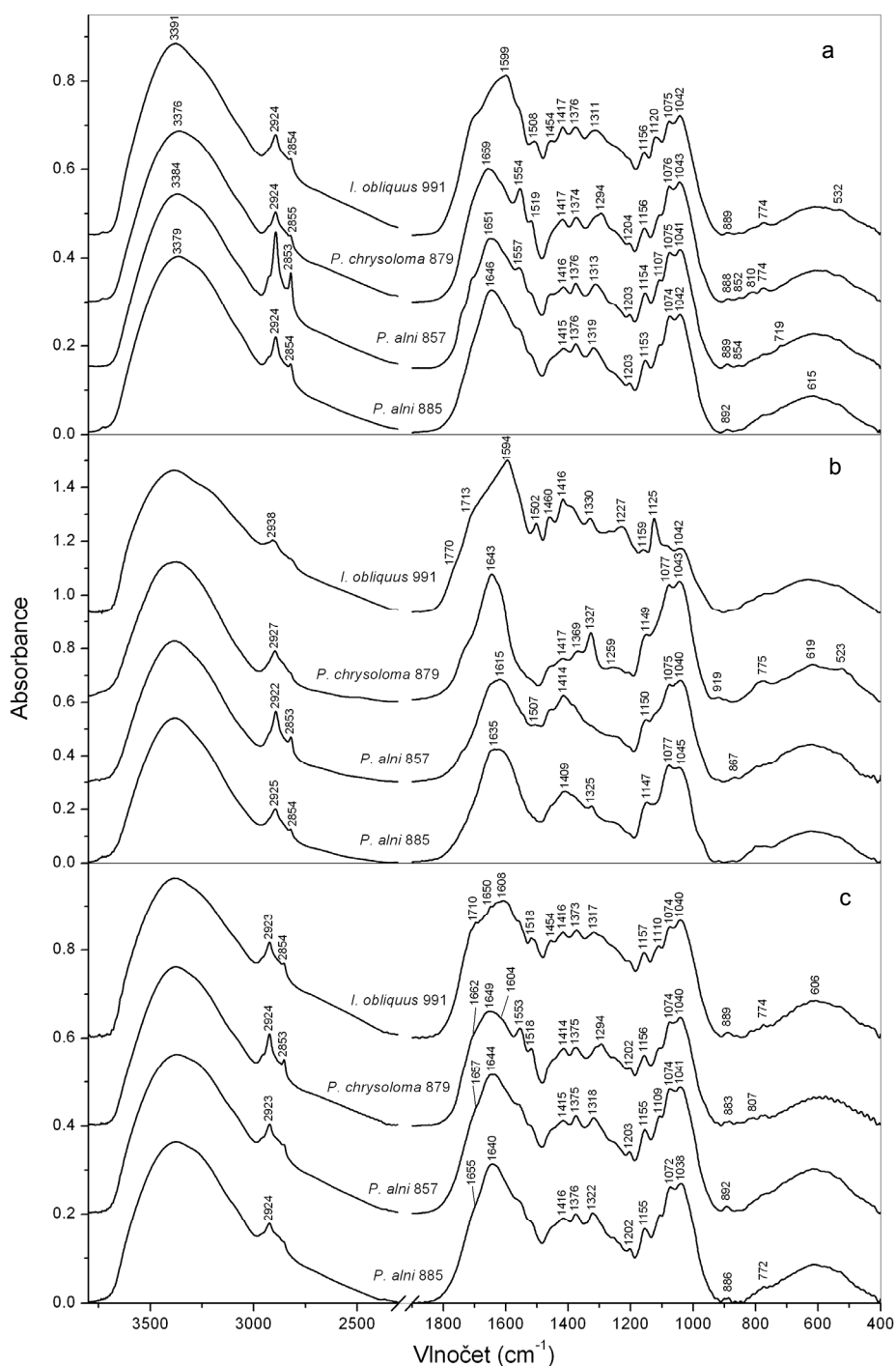
Na obr. 3 jsou FTIR spektra plodnic hub rodů *Phellinus* a *Inonotus* (obr. 3a), vodorozpustných frakcí (obr. 3b) a pevných podílů (obr. 3c) získaných z těchto plodnic. Spektra pevných podílů jsou podobná spektrům plodnic, což potvrzuje, že vodorozpustný podíl obsahuje pouze minoritní složky a většina polysacharidového komplexu je ve vroucí vodě nerozpustná. Široký pás okolo 3370 až 3390 cm^{-1} nalezený u všech spekter byl přiřazen valenčním vibracím vazeb OH, dva úzké pásy okolo 2922 až 2925 cm^{-1} a 2853–2955 cm^{-1} valenčním vibracím skupin CH_2 a ramena kolem 2958–2960 cm^{-1} a 2874 cm^{-1} valenčním vibracím skupin CH_3 . Všechna spektra mají výrazné pásy v oblasti valenčních vibrací karboxylových skupin (1800–1500 cm^{-1}). Tyto pásy se vzájemně překrývají a není snadné určit jejich maxima ve spektrech. Proto byla v řadě případů použita minima 2. derivací spekter, která ukázala vlnočty odpovídající ramenům: 1773 cm^{-1}

Tabulka IV

Výsledky termické analýzy celulosy, kvasničného β -glukanu a vodorozpustných frakcí izolovaných z plodnic dřevních hub rodů *Phellinus* a *Inonotus*

Polysacharid/ frakce	Teplota [°C]										Pevný zbytek [%] ^a		
	DSC píky				DTG píky								
celulosa	55			365				333				5	
kvasničný β -glukan	74	210	275	320	246	282	295					11	
<i>Inonotus obliquus</i> 991	77			373				317	390	490	580	715	8
<i>Phellinus alni</i> 857	66		301	359	230	276		372	553	690	760	11	
<i>Phellinus alni</i> 885	77	211	300	361		275		426	597	675		14	

^a při 900 °C



Obr. 3. FT-IR spektra plodnic dřevních hub (a), vodorozpuštěných frakcí (b) a pevných podílů (c)

(valenční vibrace C=O karboxylových dimerů), 1740 cm⁻¹ (valenční vibrace C=O esterů), 1711–1713 cm⁻¹ (valenční vibrace C=O karboxylů), 1659–1662 cm⁻¹ (valenční vibrace skupin C=O amidů), 1637–1645 cm⁻¹ (deformační vibrace vody), 1592 až 1615 cm⁻¹ (asymetrická valenční vib-

race COO⁻), 1546 až 1552 cm⁻¹ (deformační vibrace skupin NH amidů) a 1502 až 1516 cm⁻¹ (valenční vibrace vazeb C=C aromatických látek). Ramena kolem 1454 a 1466 cm⁻¹ ukazují na rovinnou deformaci skupin CH₂ resp. lipidů a polysacharidů. Dalším důkazem přítomnosti

lipidů je rameno či pás při 719–721 cm^{-1} (kyvadlová vibrace skupin CH_2). Lipidové pásy jsou nejvýraznější u plodnic *P. alni* 857. Pás okolo 1409–1418 cm^{-1} lze přiřadit symetrické valenční vibraci COO^- . Uvedené přiřazení pásů ukazuje na přítomnost bílkovin, případně chitinu, lipidů, aromatických látek a organických kyselin. Spektra plodnic rodu *Phellinus* a jejich pevné podíly mají široký pík při 1640–1659 cm^{-1} , který je obálkou příspěvku amidu I a deformační vibrace vody; pík s maximem kolem 1615 až 1643 cm^{-1} u všech vodorozpustných frakcí z těchto plodnic rodu *Phellinus* ukazuje na výrazný příspěvek valenční asymetrické vibrace karboxylátů ($\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$). V případě *I. obliquus* 991 je tento pík posunutý na 1594 až 1608 cm^{-1} , což ukazuje na větší množství karboxylových skupin. Navíc jsou přítomna široká ramena kolem 1770 cm^{-1} a 1710–1713 cm^{-1} , která ukazují na přítomnost volných karboxylových skupin.

Spektra všech plodnic, všech pevných podílů a vodorozpustných frakcí pouze z plodnic rodu *Phellinus* mají výraznou oblast CO a CC vibrací (1200–950 cm^{-1}), což ukazuje na přítomnost polysacharidů. Spektrum vodorozpustné frakce z *I. obliquus* 991 má tuto oblast méně výraznou než karboxylovou; poloha jednotlivých pásů a jejich relativní intenzita jsou také odlišné. Spektrum plodnice tohoto druhu má pás kolem 1120 cm^{-1} , ostatní spektra plodnic měla pík či rameno kolem 1109–1112 cm^{-1} . Tento rozdíl lze vysvětlit příspěvkem složky, pravděpodobně polysacharidu, která se projevuje ve vodorozpustném podílu píkem při 1125 cm^{-1} . Pevný podíl z *I. obliquus* 991 už tuto látku neobsahuje a má polysacharidový pás při 1110 cm^{-1} . Pásky při 1072–1077 cm^{-1} a 1038–1045 cm^{-1} na spektrech plodnic a pevných podílů jsou typické pro fungální $\beta(1\rightarrow3), (1\rightarrow6)$ -glukany. Tyto pásy byly nalezeny také ve spektrech vodorozpustných frakcí z plodnic rodu *Phellinus*. Pás COC valenční vibrace glykosidových vazeb okolo 1147–1150 cm^{-1} ukazuje na přítomnost $\alpha(1\rightarrow3)$ -glukanu v těchto frakcích. U $\beta(1\rightarrow3), (1\rightarrow6)$ -glukanů je pás COC posunut přibližně o 10 cm^{-1} směrem k vyšším vlnovým a byl nalezen u plodnic a pevných podílů při 1153–1157 cm^{-1} . Podle polohy slabých pásů v oblasti 900–850 cm^{-1} lze předpokládat, že plodnice a vodorozpustné frakce obsahují polysacharidy s vazbami α i β (cit.⁴³). U pevných podílů však podle pásu v oblasti 892 až 883 cm^{-1} lze předpokládat přítomnost β -polysacharidů jako hlavní polysacharidové složky, což by mohly být β -glukany a chitin.

Závěr

Vodné extrakty plodnic sledovaných dřevních hub obsahují jak α -, tak β -glukany. Plodnice *I. obliquus* obsahují mnohem více α -glukanů a naopak mnohem méně β -glukanů než plodnice druhů *Phellinu spp.* Hlavním neutrálním sacharidem ve všech sledovaných vzorcích je D-glukosa. Kromě ní byly nalezeny i D-mannosa a D-

galaktosa, což indikuje přítomnost heteroglykanů. Vodorozpustné frakce z *I. obliquus* ve srovnání s *Phellinus sp.* obsahují více D-xylosy a L-arabiny a méně D-mannosy a D-galaktosy. Oba rody tedy vykazují významné rozdíly ve složení obsažených vodorozpustných polysacharidů.

Infračervená spektra (FTIR) mj. poukazují na významné zastoupení karboxylových skupin, tj. na přítomnost uronových kyselin. Tomu odpovídá i převaha exotermních pochodů během termického rozkladu, což je vlastností polysacharidů obsahujících karboxylové skupiny (pektiny, algináty, karboxymethylcelulosa a oxidovaná celulosa). Kromě toho jsou přítomny pásy proteinů (amid I a II) a aromátů (C=C vibrace). FTIR spektra ukazují na přítomnost jak α -, tak β -vázaných polysacharidů, především glukanů, ve vodorozpustných podílech. Tyto polysacharidy však mají minoritní zastoupení v plodnicích na rozdíl od chitin-glukanového komplexu, který spolu s aromatickými polymery tvoří základ pevného podílu. Komplexnost vodorozpustných frakcí z plodnic *Phellinus* a *Inonotus spp.* potvrzují i výsledky termické analýzy (TGA a DSC), z nichž je patrná přítomnost aromatických složek.

Práce vznikla za podpory Grantové agentury České republiky, projekt č. 521/07/J039 a Výzkumného záměru Ministerstva školství mládeže a tělovýchovy, MSM 6046137305. Autoři článku děkují doc. RNDr. Michalovi Tomšovskému za cenné připomínky a Bc. Evě Kiliánové za pomoc při měření FTIR spekter.

LITERATURA

1. Song L., Sun P. L., Guo B. B.: *Edible Fungi of China* 24, 7 (2005).
2. Nakamura T., Matsugo S., Uzuka Y., Matsuo S., Kawagishi H.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68, 868 (2004).
3. Cho J. H., Cho S. D., Hu H., Kim S. H., Lee S. K., Lee Y. S., Kang K. S.: *Carcinogenesis* 23, 1163 (2002).
4. Sutton D. A., Thompson E. H., Rinaldi M. G., Iwen P. C., Nakasone K. K., Jung H. S., Rosenblatt H. M., Paul M. E.: *J. Clin. Microbiol.* 43, 982 (2005).
5. Song K. S., Cho S. M., Lee J. H., Kim H. M., Han S. B., Ko K. S.: *Chem. Pharm. Bull.* 43, 2105 (1995).
6. Rew Y. H., Jo W. S., Jeong K. C., Yoon J. T., Choi B. S.: *Korean J. Mycol.* 28, 6 (2000).
7. Han S. B., Lee C. W., Jeon Y. J., Hong N. D., Yang K. H., Kim H. M.: *Immunopharmacol.* 41, 157 (1999).
8. Ajith T. A., Janardhanan, K. K. J.: *Ethnopharmacol.* 84, 157 (2003).
9. Lee I.-K., Kim Y.-S., Jang Y.-W., Jung J.-Y., Yun B.-S.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 6678 (2007).
10. Ham S.-S., Oh S.-W., Kim Y. K., Shin K. S., Chang H. Y., Chung G. H.: *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32, 1088 (2003).
11. Rhee S. J., Chob S. Y., Kimb K. M., Chaa D.-S., Park H.-J.: *LWT - Food Sci. Technol.* 41, 545 (2008).

12. Vinogradov E., Wasser S. P.: Carbohydr. Res. 340, 2821 (2005).
13. Kim Y. O., Han S. B., Lee H. W., Ahn H. J., Yoon Y. D., Jung J. K., Kim H. M., Shin C. S.: Life Sci. 77, 2438 (2005).
14. Han S. B., Lee C. W., Kang J. S., Yoon Y. D., Lee K. H., Lee K., Park S. K., Kim H. M.: Int. Immunopharmacol. 6, 697 (2006).
15. Sutton D. A., Thompson E. H., Rinaldi M. G., Iwen P. C., Nakasone K. K., Jung H. S., Rosenblatt H. M., Paul M. E.: J. Clin. Microbiol. 43, 982 (2005).
16. Kim G. Y., Park H. S., Nam B. H., Lee S. J., Lee J. D.: Biores. Technol. 89, 81 (2003).
17. Kim G. Y., Oh Y. H., Park Y. M.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 309, 399 (2003).
18. Hibbs J. B. Jr., Taintor R. R., Vavrin Z.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 157, 87 (1988).
19. Stuehr D. J., Nathan C. F.: J. Exp. Med. 169, 1543 (1989).
20. Granger D. L., Hibbs J. B. Jr., Perfect J. A.: J. Clin. Invest. 81, 1129 (1988).
21. James S., Claven J.: J. Immunol. 143, 4208 (1989).
22. Billar T. R.: Ann. Surg. 221, 339 (1995).
23. Eiserich J. P., Patel R. P., O'Donnell V. B.: Molecul. Aspects Med. 19, 221 (1998).
24. Park S. K., Kim G. Y., Lim J. Y., Kwak J. Y.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 312, 449 (2003).
25. Hwang H. J., Kim S. W., Lim J. M., Joo J. H., Kim H. O., Kim H. M., Yun J. W.: Life Sci. 76, 3069 (2005).
26. Novák M.: Chem. Listy 101, 872 (2007).
27. Chihara G., Maeda Y. Y., Hamuro J., Sasaki T., Fukuoka F.: Nature 222, 687 (1969).
28. DiLuzio N. R.: Trends Pharmacol. Sci. 4, 344 (1983).
29. Quinn P. J.: Adv. Veter. Sci. Comp. Med. 35, 43 (1990).
30. Song M., DiLuzio N. R., v knize: *Lysosomes in Biology and Pathology*, (Dingle J. T., Jacques P. J., Shaw I. B., ed.), str. 533. Elsevier, Amsterdam 1979.
31. Saitô H., Ohki T., Takasuka N., Sasaki T.: Carbohydr. Res. 58, 293 (1977).
32. Hetland G., Lovik M., Wiker H. G.: Scand. J. Immunol. 47, 548 (1998).
33. Goldman R., Jaffe C. L.: Parasite Immunol. 13, 137 (1991).
34. Sherwood E. R., Williams D. L., DiLuzio N. R.: Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 8, 157 (1986).
35. Ross G. D., Větvicka V., Yan J., Xia Y., Větvická J.: Immunopharmacol. 42, 61 (1999).
36. Patchen M. L., MacVittie T. J.: Int. J. Immunopharmacol. 7, 923 (1985).
37. Patchen M. L., MacVittie T. J.: J. Biol. Response Mod. 5, 45 (1986).
38. Baker W. H., Nold J. B., Patchen M. L., Jackson W. E.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 201, 180 (1992).
39. Fukushima M., Ohashi T., Fujiwara Y., Sonoyama K., Nakano M.: Exp. Biol. Med. (Maywood) 226, 758 (2001).
40. Bobek P., Ozdin L., Kuniak L.: Nahrung 40, 222 (1996).
41. Fukushima M., Nakano M., Morii Y. T., Fujiwara Y., Sonoyama K.: J. Nutr. 130, 2151 (2000).
42. Tsukada C., Yokoyama H., Miyaji C., Ishimoto Y., Kawamura H., Abo T.: Cell. Immunol. 221, 1 (2003).
43. Šandula J., Kogan G., Kačuráková M., Machová E.: Carbohydr. Polym. 38, 247 (1999).
44. Yang H., Yan R., Chen H., Lee D. H., Zheng C.: Fuel 86, 1781 (2007).
45. Kitamura S., Ozasa H., Hara C., Ukai S., Kuge T.: Thermochim. Acta 163, 89 (1990).
46. Som M. P., Lemée L., Amblè A.: Bioresour. Technol. 100, 4404 (2009).
47. Sevilla M., Fuertes A. B.: Carbon 44, 468 (2006).

M. Novák, A. Snytytsya, A. Veselá, G. K. Gomba, and J. Čopíková (Department of Carbohydrate Chemistry and Technology, Institute of Chemical Technology, Prague): **Structural Investigation of Glucan Complexes Isolated from *Phellinus* and *Inonotus* Wood Fungi**

The structure of glucan complexes isolated from fruit bodies of medicinal white-rot fungi *Phellinus* and *Inonotus* spp. was investigated. Water-soluble fractions contained α - and β -glucans, glucose and other sugars (mannose, galactose, xylose and arabinose). FTIR spectra confirmed the presence of α - and β -polysaccharides (mostly glucans), uronic acids, some proteins and aromatic compounds. The water-soluble fractions of the *Inonotus* fruit bodies were structurally different from those of *Phellinus* sp. Water-soluble polysaccharides constituted only a minor part of the fruit bodies, while a chitin – glucan complex together with aromatic polymers made the basis of insoluble cell-wall residues. Complex structure of the water-soluble fractions was also investigated by TGA and DSC.