

# ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРУТОВИКА БЕРЕЗОВОГО

**Комлач И.А., Горбацевич Г.И.**

Научный руководитель: Горбацевич Г.И.

Белорусский государственный медицинский университет  
innakomlac@gmail.com

**Аннотация:** Цель: получение фракций водно-спиртового экстракта трутовика березового разной полярности и изучение их антиоксидантной и антимикробной активности. Материалы и методы: общее содержание фенольных соединений определяли с использованием реактива Фолина-Чокальтеу. С помощью спектрофотометрического метода установили радикал-ингибирующую активность на моделях DPPH и ABTS. Ингибирующую активность экстрактов в отношении оксида азота (II) определяли путем спектрофотометрического определения концентрации NO, сгенерирован-



ного в растворе натрия нитропрусида. Исследование Fe (II)- и Cu (II)-хелатирующей активности, основанной на способности биологически активных веществ экстрактов связывать ионы металлов в стабильные комплексы, определяли фотометрически. Антимикробную активность 1 % фракций чаги и трутовика березового исследовали методом диффузии в агар. Результаты: В проведенных тестах трутовик березовый не показал выраженной антиоксидантной активности. Выявлено, что *P. betulinus* проявляет антимикробную активность в отношении *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*, незначительно в отношении *Candida albicans*. Антимикробная активность трутовика березового предположительно связана с присутствием тритерпеновых кислот. Высокий уровень антимикробной активности малополярных фракций экстракта *P. betulinus* в отношении *Staphylococcus aureus* ( $2,1 \pm 0,4$  мм), и *Bacillus subtilis* ( $3,4 \pm 0,4$  мм) открывает перспективы для разработки очищенных лекарственных препаратов этого гриба с высоким содержанием действующих веществ, а также целенаправленной разработки технологии их выделения.

**Введение и цель:** Высшие базидиальные грибы на протяжении веков использовались в народной медицине во всем мире. Одним из таких грибов является трутовик березовый или березовая губка (*Piptoporus betulinus*), вызывающий бурую гниль древесины. Самые ранние доказательства применения *P. betulinus* человеком отмечены 5300 лет назад [1]. Настой из плодовых тел трутовика березового пользовался популярностью, особенно в России, странах Балтии, Венгрии, Румынии благодаря своим питательным и успокаивающим свойствам. Грибной чай использовался против различных типов рака, как иммуностимулирующее, противопаразитарное средство и средство от желудочно-кишечных расстройств. На раны накладывали антисептические повязки, приготовленные из свежих плодовых тел *P. betulinus*, а порошок, полученный из высушенных плодовых тел, использовали в качестве обезболивающего средства [2]. *P. betulinus* является богатым источником биологически активных соединений [3]. Своими антиоксидантными свойствами он обязан наличию  $\beta$ -каротина, ликопина, токоферолов, аскорбиновой кислоты и ряда соединений из группы флавоноидов и полифенолов. В свою очередь, противовоспалительные свойства могут быть связаны с наличием бетулиновой кислоты, бетулина, полипоровых кислот и лупеола. Эти соединения также обладают противораковой активностью, аналогичной  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3) и  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6)-D-глюканам, а также производным эргостерина и индола, выделенным из экстракта *P. betulinus*. В связи со стремительным развитием резистентности микроорганизмов к различным классам антибиотиков, ведется поиск альтернативных антимикробных агентов и препаратов природного происхождения. В этом контексте растет интерес к исследованию трутовика березового, который обладает широким спектром

фармакологической активности и относительно низким уровнем токсичности экстрактов [4]. Цель исследования — получение фракций водно-спиртового экстракта трутовика березового разной полярности и изучение их антиоксидантной и антимикробной активности.

**Материалы и методы:** Объектами исследования являлись экстракты, полученные из плодовых тел *P. betulinus* (субстрат — береза пушистая), собранных в окрестностях д. Дукора, Пуховичского района, Минской области Республики Беларусь, а также выделенные из них фракции различной полярности. Для получения сухих водно-спиртовых экстрактов использовался метод циркуляционной экстракции по Соклету. Плодовые тела трутовика березового экстрагировали 12 часов 70% (об/об) этиловым спиртом. Полученный экстракт упаривали в вакууме (40-50оС) на роторном испарителе и высушивали в вакуумном эксикаторе до содержания влаги не более 5%. Готовый продукт хранили в герметично закрытой таре в холодильнике для дальнейшего использования. Для изучения антиоксидантной и антимикробной активности экстракты подвергали фракционированию. Для этого 1 г сухого экстракта диспергировали в 50 мл воды, а затем последовательно взбалтывали 5 порциями по 40 мл петролейного эфира (ПЭ), хлороформа (ХЛ), этилацетата (ЭА). Оставшийся раствор фильтровали: фильтрат представлял собой водную фракцию (H<sub>2</sub>O), а осадок растворяли в 96% (об/об) этиловом спирте (EtOH-фракция). Содовый экстракт — выделение суммы тритерпеновых кислот. Для его получения измельченное сырье смешивали с 5% водным раствором NaHCO<sub>3</sub>, выдерживали при температуре 50оС, после чего фильтровали. Затем добавляли HCl, отделяли осадок. Органические фракции отделяли, обезвоживали безводным натрия сульфатом и отгоняли растворитель под вакуумом. Общее содержание фенольных соединений (TPC) определяли с использованием реактива Фолина-Чокальтеу. С помощью спектрофотометрического метода установили радикал-ингибирующую активность экстрактов и их фракций на моделях DPPH и ABTS. Ингибирующую активность экстрактов в отношении оксида азота (II) определяли путем спектрофотометрического определения концентрации NO, сгенерированного в растворе натрия нитропруссид. Расчеты концентрации фракции, необходимой для полумаксимальной деградации (IC<sub>50</sub> мкг/мл), проводили в программе Microsoft Excel. Исследование Fe (II)- и Cu (II)-хелатирующей активности, основанной на способности биологически активных веществ экстрактов связывать ионы металлов в стабильные комплексы, определяли фотометрически. Антимикробную активность 1 % фракций чаги и трутовика березового исследовали методом диффузии в агар (диффузно-лучным методом) в отношении грамположительных (*Staphylococcus aureus* ATCC 15442, *Bacillus subtilis* 26 D), грамотрицательных бактерий (*Escherichia*



coli ATCC 11229, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 6538) и дрожжевых грибах (*Candida albicans* ATCC 14053). Учет результатов проводили путем измерения диаметра зоны ингибирования роста вокруг лунок в миллиметрах (мм).

**Результаты:** Общее содержание фенолов определяли с использованием реагента Фолина-Чокальтеу в пересчете на эквивалент галловой кислоты (GAE) в мг/г экстракта. Содержание фенольных веществ оценено с учетом калибровочной кривой галловой кислоты и выражено в эквивалентах GAE на грамм массы сухого экстракта. Согласно результатам теста ТРС, спиртовая фракция чаги, которая традиционно используется как мощный антиоксидант, характеризуется в 1,5 раза большим содержанием фенолов ( $105,48 \pm 5,27$  мг/г), чем соответствующая фракция трутовика березового. При DPPH и ABTS-скрининге установлено, что трутовик березовый не обладает выраженной способностью ингибировать свободные радикалы (IC<sub>50</sub> для этанольной фракции составил  $88,56 \pm 4,43$  мкг/мл и  $102,69 \pm 5,13$  мкг/мл соответственно). Важно отметить, что спиртовая фракция *Inonotus obliquus* проявляют примерно в 1,4 раз большую ингибирующую активность в отношении радикалов хромогена DPPH по сравнению с соответствующей фракцией *P. betulinus*. Результаты исследования ингибирования NO-радикала для *P. betulinus* показали низкую активность (IC<sub>50</sub> =  $22,90 \pm 1,15$  мкг/мл), что в 3,4 раза ниже по сравнению с чагой ( $79,52 \pm 3,98$  мкг/мл). Обнаружено, что трутовик березовый демонстрирует незначительную способность связывать Fe<sup>2+</sup> (для спиртовой фракции —  $31,92 \pm 1,60$  мг\*эквивалент ЭДТА/г). Хелатирующая активность трутовика березового и чаги в отношении Cu<sup>2+</sup> сопоставимы ( $52,45 \pm 2,62$  мг/г и  $58,06 \pm 2,90$  мг/г соответственно). Трутовик березовый обладает высокой антимикробной активностью в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC15442 и *Bacillus subtilis* 26 D, а также способен ингибировать рост дрожжевого гриба *Candida albicans* ATCC 14053. При этом антимикробная активность более выражена для штамма *Bacillus subtilis* 26 D. Наибольшие зоны ингибирования наблюдаются для неполярных фракций: так, диаметры зон ингибирования *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis* фракциями ХЛ составляют  $2,1 \pm 0,4$  мм и  $3,4 \pm 0,5$  мм соответственно. Это связано с содержанием в данных фракциях антимикробных агентов, таких как тритерпеновые кислоты ланостанового ряда (полипореновые кислоты А и С, 3β-ацетокси-16α-гидрокси-24-оксо-5α-ланоста-8-ен-21-овая кислота [5]). Высокий уровень активности проявляет также сумма тритерпеновых кислот трутовика березового ( $2,4 \pm 0,3$  мм и  $3,3 \pm 0,2$  мм соответственно). Умеренную активность демонстрируют спиртовая и этилацетатная фракции ( $1,2 \pm 0,5$  мм,  $3,2 \pm 0,6$  мм для *Bacillus subtilis*), что определяется присутствием в их составе фенольных соединений ((E)-2-(4-гидрокси-3-метил-2-бутенил)-гидрохинон, сиригиновая кислота,

3,4-дигидрофенилуксусная кислота) и смолистых веществ. Водный остаток, полученный после последовательного фракционирования органическими растворителями и содержащий преимущественно полисахариды [6] не проявляет заметной антимикробной активности. Антимикробная активность в отношении *Candida albicans* составляет  $1,5 \pm 0,3$  мм хлороформным экстрактом. Исследуемые грибы не проявляют антимикробной активности в отношении грамотрицательных *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. Следует отметить, что у чаги противомикробная активность в отношении грамотрицательных бактерий проявлялась лучше, чем в отношении грамположительных. По сравнению с *P. betulinus*, способность ингибировать рост микроорганизмов у чаги слабо выражена (для хлороформной фракции в отношении *Pseudomonas aeruginosa*  $0,5 \pm 0,1$  мм).

**Выводы:** В проведенных тестах трутовик березовый не показал выраженной антиоксидантной активности. 2. Выявлено, что *P. betulinus* проявляет антимикробную активность в отношении *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*, незначительно в отношении *Candida albicans*. 3. Антимикробная активность трутовика березового предположительно связана с присутствием тритерпеновых кислот. Высокий уровень антимикробной активности малополярных фракций экстракта *P. betulinus* в отношении *Staphylococcus aureus* ( $2,1 \pm 0,4$  мм), и *Bacillus subtilis* ( $3,4 \pm 0,4$  мм) открывает перспективы для разработки очищенных лекарственных препаратов этого гриба с высоким содержанием действующих веществ, а также целенаправленной разработки технологии их выделения.

**Ключевые слова:** трутовик березовый, водно-спиртовой экстракт, антимикробная, антиоксидантная активность.

### Библиографический список литературы:

1. Alresly, Zeyad. Chemical and Pharmacological Investigations of *Fomitopsis betulina* (formerly: *Piptoporus betulinus*) and *Calvatia gigantea* / Zeyad Alresly // Inaugural dissertation. — Greifswald, 2019. — 241 p.
2. K. Sułkowska-Ziaja, A. Szewczyk. Chemical composition and biological activity of extracts from fruiting bodies and mycelial cultures of *Fomitopsis betulina* / Sułkowska-Ziaja K, Szewczyk A. // *Molecular Biology Reports*. — 2018. — Vol. 45. — P. 2535–2544.
3. K. Sułkowska-Ziaja, P. Motyl, B. Muszyńska. *Piptoporus betulinus* (Bull.) / Sułkowska-Ziaja K., Motyl P., Muszyńska B. A. // A rich source of biologically active compounds. — 2015. — Vol. 16. — P. 89–95.
4. Alresly, Zeyad. Bioactive Triterpenes from the Fungus *Piptoporus betulinus* / Zeyad Alresly, Ulrike Lindequist [et al.] // *Records of natural products*. –2016. –Vol. 10, No 1. –P. 103–108.
5. Kawagishi, Hirokazu. Novel Hydroquinone as a Matrix Metallo-proteinase Inhibitor from the Mushroom, *Piptoporus betulinus* / Hirokazu Kawagishi // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. –2002. –Vol. 66, No 12. –P. 2748–2750.
6. Chemical characterization and wound healing property of a  $\beta$ -D-glucan from edible mushroom *Piptoporus betulinus* / L.I. de Jesus [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. –2018. –Vol. 117. –P. 1361–1366

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования

Первый Московский государственный медицинский университет  
имени И.М. Сеченова

Министерства здравоохранения Российской Федерации  
(Сеченовский Университет)

# **СБОРНИК ТЕЗИСОВ**

Всероссийской научно-практической конференции  
с международным участием

**МЕДИЦИНСКАЯ ВЕСНА — 2024**

16–17 мая 2024 года  
Сеченовский Университет,  
Москва