

УДК 615.322

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ЭКСТРАГЕНТА ФЕНОЛЬНЫХ И ТРИТЕРПЕНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ ТРУТОВИКА ЛОЖНОГО

Горбацевич Г.И.*¹, Комлач И.А.

УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск

*автор для переписки – hleb.hrbatsevich@gmail.com

Аннотация. В статье представлено исследование по выбору оптимального экстрагента для выделения фенольных и тритерпеновых соединений из плодовых тел *Phellinus igniarius* (трутовика ложного). Установлено, что водно-спиртовые смеси с концентрацией этанола 50–60% обеспечивают наибольший выход экстрактивных веществ (3,6–3,7%), тогда как максимальное содержание фенольных соединений (53,7–59,6 мкг/мл, пересчет на галловую кислоту) достигается при экстракции 60–80% этанолом. Показано, что концентрация тритерпеновых и стероидных соединений значительно возрастает с увеличением содержания этанола, достигая 196,9±6,5 мкг/мл при использовании 96% спирта. Изучение экстракции с органическими растворителями показало, что петролейный эфир и хлороформ дают низкие выходы экстрактов (1,9–2,0%), однако хлороформ позволяет выделять тритерпены и стероиды с высокой эффективностью (204,2±7,5 мкг/мл). Этилацетат, в свою очередь, характеризуется умеренными показателями извлечения фенольных соединений и тритерпенов. Таким образом, наиболее подходящим экстрагентом для выделения биологически активных компонентов является 80% этанол, который сочетает высокую извлекающую способность, экономическую доступность и низкую токсичность, что делает его перспективным для промышленной переработки плодовых тел *Phellinus igniarius*.

Ключевые слова: трутовик ложный, фенольные и тритерпеновые соединения.

RATIONALE FOR THE CHOICE OF AN EXTRACTANT OF PHENOLIC AND TRITERPENE COMPOUNDS FROM THE PHELLINUS IGNIARIUS FRUITING BODIES

Harbatsevich H.I.*¹, Komlach I.A.

Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk

* corresponding author – hleb.hrbatsevich@gmail.com

Abstract. The article presents a study on the selection of an optimal extractant for the isolation of phenolic and triterpene compounds from the fruiting bodies of *Phellinus igniarius*. It was found that water-alcohol mixtures with an ethanol concentration of 50–60% provide the highest yield of extractive substances (3.6–3.7%), while the maximum content of phenolic compounds (53.7–59.6 µg/ml, converted to gallic acid) is achieved with 60–80% ethanol. It is shown that the concentration of triterpene and steroid compounds increases significantly with an increase in the ethanol content, reaching 196.9±6.5 µg/ml when using 96% alcohol. The study of extraction with organic solvents showed that petroleum ether and chloroform provide low yields of extracts (1.9–2.0%), but chloroform allows to isolate triterpenes and steroids with high efficiency (204.2±7.5 µg/ml). Ethyl acetate, in turn, is characterized by moderate rates of extraction of phenolic compounds and triterpenes. Thus, the most suitable extractant for the extraction of biologically active components is 80% ethanol, which combines high extraction capacity, economic availability and low toxicity, which makes it promising for industrial processing of *Phellinus igniarius* fruiting bodies.

Keywords: *Phellinus igniarius*, phenolic and triterpene compounds.

Введение

Актуальность исследования нового природного сырья обусловлена растущим интересом к разработке натуральных, экологически безопасных и эффективных продуктов для медицины, фармакологии, пищевой промышленности, косметологии и сельского хозяйства. В условиях повышения устойчивости патогенов к синтетическим препаратам, а также роста побочных эффектов при их применении, природные источники биоактивных веществ

представляют собой перспективную альтернативу. Исследование природного сырья позволяет не только расширить арсенал терапевтических средств, но и открыть новые классы соединений с уникальными свойствами, которые невозможно синтезировать искусственным путём. Кроме того, природное сырьё, включающее грибы, растения, водоросли и микроорганизмы, содержит сложные биологически активные комплексы, которые часто проявляют синергетическое действие, усиливающее терапевтический эффект (Grienke, 2014). Исследования природных ресурсов помогают также выявить устойчивые и экологически рациональные источники, что способствует более рациональному использованию ресурсов и сохранению биоразнообразия. В этом контексте важно изучать и разрабатывать методы оптимальной экстракции и выделения активных веществ, чтобы повысить их доступность и эффективность использования.

Phellinus igniarius (трутовик ложный) – древесный многолетний гриб из семейства *Hymenochaetaceae*, который широко распространен на различных лиственных деревьях, таких как ива, береза, ольха и дуб. Трутовик ложный часто поражает деревья, вызывая у них белую сердцевинную гниль, которая постепенно разрушает древесину. Высокая плотность и прочность плодовых тел позволяют им сохраняться на деревьях в течение нескольких лет даже после гибели растения-хозяина. Сегодня он рассматривается как паразитический гриб и пока не находит своего применения в народном хозяйстве.

Однако исторически трутовик ложный использовался в народной медицине различных стран благодаря его выраженным терапевтическим свойствам (Zapora, 2016). Современные исследования подтвердили, что плодовые тела *Phellinus igniarius* содержат большое количество биоактивных компонентов, таких как полисахариды, фенольные соединения, тритерпены, стеролы и др. Эти вещества определяют его многочисленные фармакологические эффекты, включающие противовоспалительную, антиоксидантную, антимикробную и противоопухолевую активность. Биологическая активность трутовика ложного обусловлена синергетическим действием нескольких групп веществ: фенольные соединения оказывают мощный антиоксидантный эффект, тогда как полисахариды и тритерпеноиды обуславливают иммуномодулирующее и противоопухолевое действие. Именно эти свойства делают трутовик перспективным объектом для разработки новых природных средств с широким спектром биологической активности.

Одной из ключевых задач при исследовании биоактивных веществ нового природного сырья является выбор оптимального экстрагента, так как от растворителя зависят как выход экстрактивных веществ, так и их биологическая активность. Природа экстрагента определяет способность растворять биологически активные соединения, что сказывается на эффективности их извлечения. Например, фенольные соединения, отвечающие за антиоксидантный эффект, лучше растворяются в полярных растворителях, таких как водно-спиртовые смеси, в то время как тритерпеноиды – в органических растворителях (например, галогенуглеводородах). Оптимизация экстракции, выбор и обоснование подходящего растворителя играют важную роль для достижения максимального извлечения этих соединений, что особенно важно при исследовании фармакологического потенциала нового грибного сырья.

Целью данного исследования является выбор оптимального экстрагента для выделения фенольных и тритерпеновых соединений из плодовых тел *Phellinus igniarius*, позволяющего повысить степень извлечения данных веществ. В ходе работы предполагается определить зависимости между составом экстрагента и выходом целевых соединений, а также сравнить экстракционные характеристики различных растворителей для определения наилучших условий БАВ. Результаты будут способствовать созданию экономически обоснованных методов получения экстрактов гриба с высокой биологической активностью. Практическая значимость работы заключается также в возможности оптимизации технологического процесса экстракции и снижении затрат на сырьё и энергию. Обоснование выбора подходящего экстрагента не только повышает выход и биодоступность активных

компонентов, но и учитывает токсичность остаточных количеств растворителей, что особенно важно при создании препаратов, пригодных для массового производства.

Материалы и методы

Плодовые тела трутовика ложного (*Phellinus igniarius*) были заготовлены в июнь-октябре 2023 г. в Минской области Республики Беларусь. Сырьё сушили в сушильном шкафу (Витязь) при температуре 50 ± 2 °C, предварительно разделив на куски 2-3 см.

Для экстракции использовали измельченное в молотковой мельнице сырьё (МОЛОТ, диаметр отверстий сита – 2 мм) сырьё и органические растворители: петролейный эфир, этилацетат, хлороформ, этиловый спирт различных концентраций. Экстракцию проводили путем мацерации: к 0,20 г измельченного сырья добавляли 10,0 мл необходимого растворителя и оставляли настаиваться на 7 суток при периодическом перемешивании. Выход экстрактивных веществ также определяли гравиметрически путем высушивания извлечений в бюксах до постоянной массы.

Для определения суммы фенольных соединений применяли фотометрический метод с реактивом Фолина-Чокальтеу (Merck, кат. № 109001). Для построения калибровочного графика готовили серию растворов галловой кислоты в диапазоне концентраций 15,625–500 мкг/мл. В пробирки отбирали по 20 мкл извлечений, добавляли 100 мкл раствора Фолина-Чокальтеу, 400 мкл 10% раствора Na_2CO_3 (ч.д.а., ЗАО «Пять океанов»), 1500 мкл воды очищенной (получена на аквадистилляторе ДЭ-10М) и оставляли растворы на 60 мин при комнатной температуре в темном месте (Singleton, 1999). Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре HALO VIS-20 (Dynamica Scientific Ltd.) в кварцевой кювете (длина оптического пути 1 см) при длине волны 725 нм. Сумму фенольных соединений выражали в мкг/мл в пересчете на галловую кислоту.

Определение суммы стероидных и тритерпеновых соединений в образцах экстрактов проводили спектрофотометрическим методом по реакции Либермана-Бурхардта (Nath, 1946). 0,50 мл извлечения упаривали досуха, а остаток растворяли в 1,20 мл хлороформа. К 1,00 мл раствора добавляли 1,00 мл реактива Либермана-Бурхардта (уксусный ангидрид : серная кислота 10:1, об/об, х.ч., Экос-1), перемешивали и выдерживали при комнатной температуре в течение 90 мин, после чего проводили измерение оптической плотности растворов при длине волны 500 нм. Калибровочный график строили с использованием серии хлороформных растворов холестерина с концентрацией 10–1000 мкг/мл (Merck).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы MS Excel 2019.

Результаты и обсуждение

Показано, что максимальный выход экстрактивных веществ наблюдается при использовании в качестве экстрагента 50-60% этанола (3,6-3,7%, рис. 1). При этом максимальное содержание фенольных соединений (53,7-59,6 мкг/мл в пересчете на галловую кислоту) в извлечениях достигается при содержании этанола в экстрагенте от 60 до 80% (рис. 1). Фенольная фракция представлена фенолкарбоновыми (кофейная, галловая, п-кумаровая, феруловая) кислотами, флавоноидами (катехин, рутин) и феллигридинами, которые имеют высокую растворимость в водно-спиртовых смесях с высоким содержанием этанола (Vazquez-Armenta, 2022). Сумма тритерпеновых и стероидных соединений в экстрактах стремительно растет с повышением концентрации этилового спирта: в водном извлечении содержится лишь $7,5\pm0,3$ мкг/мл этих веществ (в пересчете на холестерин), в то время как в спиртовом экстракте (96% об.) – $196,9\pm6,5$ мкг/мл (рис. 1).

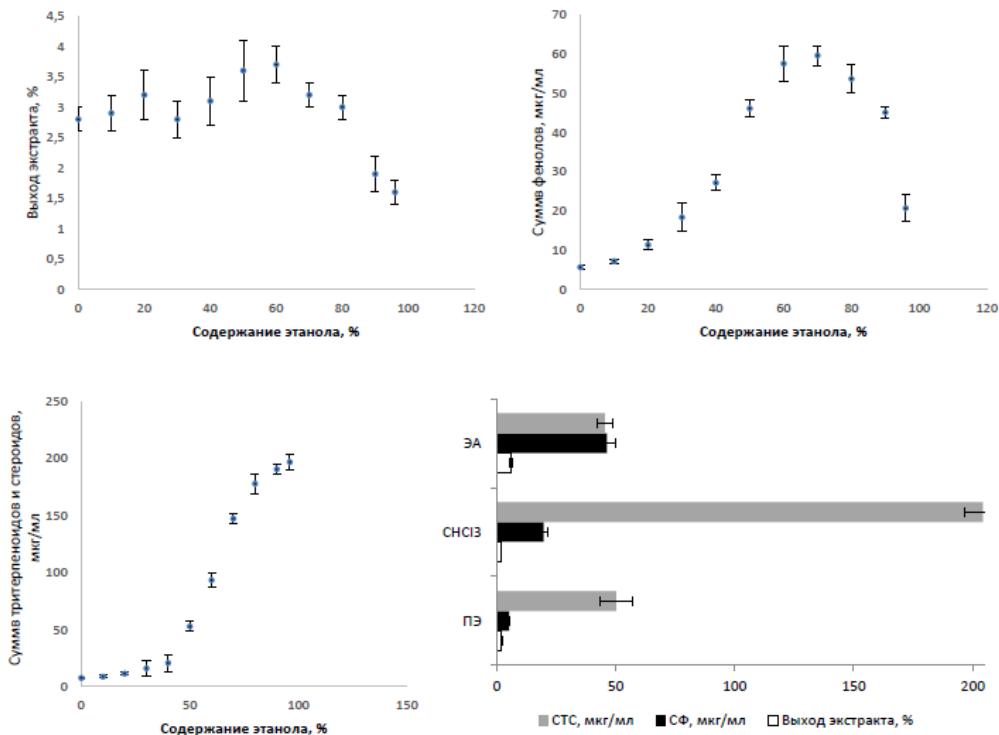


Рисунок 1 – Влияние природы и состава экстрагента на выход экстракта, сумму фенольных, сумму стероидных и тритерпеновых соединений

Было установлено, что петролейный эфир и хлороформ не позволяют достичь высоких выходов суммарных экстрактов (1,9-2,0%), однако выход экстрактивных веществ при использовании этилацетата ($6,1 \pm 0,7\%$) является существенным, а содержание фенольных соединений в таком экстракте составляет $46,4 \pm 3,5$ мкг/мл, что сопоставимо с водно-спиртовыми смесями (рис. 1). Следует отметить, что хотя хлороформ характеризуется относительно невысокой извлекающей способностью в отношении фенолов, однако он способен изолировать тритерпеноиды и стероиды с высоким выходом ($204,2 \pm 7,5$ мкг/мл).

Заключение

Таким образом, оптимальным растворителем для получения экстрактов *Phellinus igniarius*, содержащих максимальное количество фенольных и тритерпеновых соединений является этанол в концентрации 80%. С учетом экономической доступности и низкой токсичности этот растворитель может быть использован при переработке плодовых тел трутовика ложного.

Список литературы

1. Grienke, Ulrike. European medicinal polypores – A modern view on traditional uses / Ulrike Grienke, MargitZöll [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2014. – Vol. 154, № 3. – P. 564 – 583.
2. Phellinus igniarius: A Pharmacologically Active Polypore Mushroom /E. Zapora [et al.] // Nat. Prod. Commun. – Vol. 11 (7) – 2016. – P. 1043-1046.
3. Singleton, V. L. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent / V.L. Singleton, R. Orthofer, R.M. Lamuela-Raventós // Methods Enzymol. – Vol. 299. – 1999. –P. 152–78.
4. Nath, M. Liebermann-Burchard Reaction for Steroids / M. Nath, M. Chakravorty, S. Chowdhury// Nature. – Vol. 157. – 1946. – P. 103–104.
5. Phenolic compounds of *Phellinus* spp. with antibacterial and antiviral activities / F.J. Vazquez-Armenta // Braz. J. Microbiol. – Vol. 53(3) – 2022. – P. 1187-1197.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ»

**ХII МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ**

**СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ
РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИЙ
ЗДОРОВЬЕСБЕРЕЖЕНИЯ**

5-6 декабря 2024 года

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ

Москва, 2024