

В. Р. Хабибрахманова, С. А. Никитина, М. А. Сысоева

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗОЛЯ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ЧАГИ. XIV. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ И КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ЛИПИДНЫХ ВЕЩЕСТВ ВОДНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ЧАГИ

Ключевые слова: чага, водные извлечения, петролейный экстракт, липидные вещества, колоночная хроматография, стерины и их эфиры.

Проведено исследование липидных и сопутствующих им веществ, экстрагируемых петролейным эфиром из водных извлечений чаги, полученных из разных партий сырья. Показано, что выход экстрактивных веществ зависит от партии сырья. Качественный состав липидных веществ полученных экстрактов в целом схож.

Keywords: Chaga, water extract, petroleum extract, lipid substances, column chromatography, sterols and their ethers.

Research of lipid and accompanying them substances, extracted by petroleum ether from water extract of chaga, received from different batches of raw materials was carried out. It was shown that the yield of extracted substances depends on the raw material batch. The qualitative composition of lipid substances in received extracts was in general similar.

Введение

Интерес исследователей к березовому грибу *Inonotus obliquus* (чага) в последнее десятилетие сильно возрос [1-5]. Расширен состав биологически активных веществ гриба, обеспечивающих его высокую терапевтическую активность [2-4]. При этом наиболее перспективным объектом исследования является не сам гриб, а его водные извлечения, поскольку именно на их основе производится лекарственный препарат «Бефунгин» и ряд биологически активных добавок («Чаговит», «Чаголюкс», «Экстракт чаги с витамином С», сироп «Чага» и др.).

Целью исследования являлось определение количественного и качественного состава липидных и сопутствующих им веществ, отделяемых петролейным эфиром из водных извлечений чаги.

Экспериментальная часть

Для исследования использовали сырье чаги, приобретенное в аптечной сети: ЗАО «Фирма Здоровье» партии 020605 (1) и 100808 (2); ОАО «Красногорсклексредства» партии 40707 (3) и 10210 (4).

Водные извлечения чаги, полученные по [6], обрабатывали петролейным эфиром (40-70 °С) [7]. В полученных экстрактах определяли содержание сухих веществ [8], стеринных и их эфиров [9]. Качественный состав липидных и сопутствующих им веществ в полученных экстрактах анализировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках «Sorbfil» в системе растворителей петролейный эфир - диэтиловый эфир - уксусная кислота (90:10:1) [10]. В качестве веществ-стандартов использовали миристиновую кислоту, витамин Е, кофермент Q и ланостерол.

Петролейный экстракт водного извлечения чаги, полученного из сырья 2, разделяли с помощью колоночной хроматографии. Пробоподготовку вели по следующей схеме: из экстракта полностью удаляли петролейный эфир путем отгонки при пониженном давлении, полученный сухой остаток (0,0448 г) растворяли в этаноле, при этом образовывался осадок (0,0082 г), который отделяли из раствора центрифугированием. Полученный этаноль-

ный раствор экстрактивных веществ вносили в хроматографическую колонку, заполненную силикагелем «Lachema» (Chemapol, Чехословакия) с размером зерен 100/160 мкм [11]. В качестве элюента использовали гексан с добавкой петролейного эфира от 0 до 100 %. В полученных пробах определяли содержание веществ и анализировали их качественный состав методом ТСХ [10]. Состав веществ в выпавшем осадке также исследовали с помощью ТСХ [10].

Для обработки экспериментальных данных использовали программный пакет «Statistica 6.0».

Обсуждение результатов

Водное извлечение чаги – это коллоидная система, дисперсная фаза которой представлена меланином [12]. Липидные и сопутствующие им гидрофобные вещества находятся в связанном состоянии с меланином [13]. Поэтому доступность для извлечения органическим растворителем в значительной степени будет зависеть от химической природы липидных веществ и вида комплексов, которые они образуют с другими веществами, участвующими в формировании частицы меланина чаги.

Исчерпывающая экстракция водного извлечения чаги петролейным эфиром проведена по разработанной ранее методике [7]. Показано, что выход экстрактивных веществ составляет 0,4-21,3 % от сухих веществ водного извлечения чаги в зависимости от взятой на экстракцию партии сырья (табл. 1).

Таблица 1 – Выход экстрактивных веществ при обработке водных извлечений чаги петролейным эфиром

Сырье	Содержание	
	экстрактивных веществ, %*	стериновых веществ, %**
1	21,30±0,01	0,51±0,01
2	0,40±0,02	44,19±0,02
3	1,67±0,05	1,37±0,05
4	3,07±0,10	1,32±0,10

* в % от сухих веществ водного извлечения чаги;

** в % от суммы экстрактивных веществ.

Обнаруженное существенное отличие в содержании липидных веществ, извлекаемых из водных извлечений, может быть обусловлено их различным содержанием в исходном сырье. Например, показано, что в чаге, собранной в Амурской области РФ осенью, количество общих липидов составило 0,25 %, собранной зимой – 0,5 %. Авторы связывают это с адаптацией чаги к суровым зимним условиям севера [14].

Кроме того, выявленные различия в структурной организации водных извлечений чаги, также могут оказывать влияние на доступность липидных веществ для экстракции их органическим растворителем (таблица 2) [2, 15].

Таблица 2 – Размер частиц дисперсной фазы водных извлечений чаги

Сырье	Эффективный радиус частиц ($R_{эфф}$), нм	%
1	159,8	61,0
	30,01	20,4
2	108,0	68,0
	1,0	32,0
3	63,4	79,4
4	100,2	70,8

Так присутствие в дисперсных фазах коллоидных систем частиц только одного размера, с близким их содержанием в системах, в случае водных извлечений, полученных из сырья 3 и 4, позволяет извлечь из них близкое количество липидной компоненты. При наличии в дисперсных фазах коллоидных систем двух сильно отличающихся по размерам частиц (сырье 1 и 2) облегчается извлечение липидной компоненты в том случае, когда в коллоидной системе присутствуют мелкие частицы с диаметром 2 нм в большом количестве до 32,0 %. То есть мелкие частицы легче теряют свою гидрофобную компоненту.

Особый интерес представляют стериновые соединения, выделенные из чаги, поскольку известно, что они обладают противоопухолевыми, иммуномодулирующими и противовирусными свойствами [16-19]. Проведено количественное определение стериновых веществ в полученных экстрактах. Показано, что наибольшее их количество содержится в водном извлечении из 2 партии сырья и составляет 44,19 % от суммы экстрагируемых липидных веществ (таблица 1). При этом установлено, что содержание стериновых веществ в водных извлечениях чаги в зависимости от партии сырья находится на уровне (партии 3 и 4) или в 5,0-8,5 раз выше (партии 1 и 2) их содержания в препарате «Бефунгин» [20]. Такое различие в содержании стериновых веществ может быть связано как со способом получения извлечения, так и с примененным методом их анализа.

Качественный состав липидов в полученных экстрактах установлен с помощью ТСХ. Во всех исследуемых экстрактах показано наличие моно-, ди- и триглицеридов, высших жирных кислот и алифатических спиртов, углеводов и восков, стеринов и их эфиров. В 1 партии сырья чаги дополнительно обнаруживаются О-алкилмоноглице-

риды и высшие алифатические альдегиды. В экстрактах из сырья 1, 2 и 3 партий показано наличие таких биологически активных веществ, как витамин Е и кофермент Q. Алкен-1-илдиглицериды обнаружены в экстрактах, полученных из сырья 2, 3 и 4 партий.

Для разделения липидных и сопутствующих им веществ на фракции была применена колоночная хроматография. Для анализа был выбран петролейный экстракт, полученный при обработке водного извлечения чаги из 2 партии сырья, который содержал наибольшее количество стериновых соединений.

В ходе пробоподготовки образца для исследования при перерастворении экстракта в этаноле выпал осадок, содержащий 18,3 % от суммы экстрактивных веществ. Выпавший осадок был отделен из этанольного раствора липидных веществ и высушен. Он имел воскоподобный вид и ярко-желтую окраску. Методом ТСХ показано, что в него переходит часть стериновых веществ, полностью высшие алифатические спирты, витамин Е и кофермент Q. Кроме того обнаружен ряд пятен, отсутствующих ранее на хроматограмме анализа исходного петролейного экстракта, которые окрашиваются без проявления в желтый и розовый цвет и по-видимому являются производными тритерпенов, в частности ланостерола.

Этанольный раствор липидных веществ, полученный после отделения выпавшего осадка центрифугированием, вносили в подготовленную хроматографическую колонку. Для элюирования веществ использовали гексан, смесь гексана с петролейным эфиром в соотношениях 99:1, 95:5, 92:8, 85:15, петролейный эфир [10].

В ходе хроматографического разделения были получены 16 проб. В каждой пробе определен количественный и качественный состав веществ. Полученные данные представлены на рисунке 1.

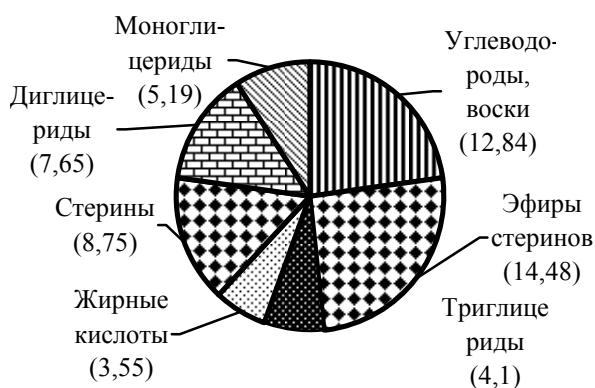


Рис. 1 – Состав липидных веществ этанольного раствора (в % от суммы веществ, внесенных в колонку)

Показано, что в составе липидных веществ, отделяемых петролейным эфиром из водного извлечения чаги, преобладают стерины и их эфиры – 23,23 %. Вторая по количеству веществ фракция содержит углеводороды или воски. Меньше всего в петролейном экстракте содержится высших жирных кислот – 3,55 %. Среди ацилглицеридов в экстракте

преобладают диглицериды, их содержание в 1,5 и 1,8 раза выше содержания моно- и триглицеридов соответственно.

Суммарно с колонки было выделено лишь около 56 % от количества внесенных веществ. При проведении разделения образца верхний слой силикагеля в колонке окрашивался в ярко-оранжевый цвет. При последовательном элюировании примененными растворителями дополнительно ниже появились еще две окрашенные зоны, имеющие бледную голубовато-серую и слабо-желтую окраску. Возможно вещества, формирующие в колонке окрашенные зоны, являются производными обнаруженного ранее в чаге гваяцилового альдегида [21].

Количественный и качественный состав липидных веществ, выделенных из водных извлечений чаги, включает моно-, ди- и триглицериды, высшие жирные кислоты и алифатические спирты, О-алкилмоноглицериды, высшие алифатические альдегиды, углеводороды и воски, стеринны и их эфиры, витамин Е, кофермент Q. Их количество и состав зависит от взятой для экстракции партии сырья и физико-химических свойств водных извлечений чаги. Показано, что содержание стериновых веществ в водном извлечении чаги в зависимости от партии сырья находится на уровне или выше их содержания в препарате «Бефунгин».

Выводы

1. Установлено, что содержание липидных и сопутствующих им соединений в водных извлечениях чаги зависит от партии сырья, от состава, содержания и размера частиц дисперсной фазы коллоидной системы водного извлечения чаги.

2. Установлено, что в водных извлечениях чаги содержится от 0,51 до 44,19 % стериновых соединений от суммы экстрагируемых петролейным эфирами веществ.

3. Исследование количественного состава липидных веществ позволило установить, что в составе петролейного экстракта помимо фракции стериновых веществ преобладает фракция углеводородов и восков.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках целевой программы

«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007-2013 годы» по Госконтракту №01201252915 от 28.02.2012.

Литература

1. М.Я. Шашкина, П.Н. Шашкин, А.В. Сергеев, *Химико-фармацевтический журнал*, **40**, 10, С. 37-44 (2006).
2. М.А. Сысоева, Автореф. дис. д-ра хим. наук, КГТУ. Казань, 2009. 32 с.
3. W. Mazurkiewicz, *Acta Poloniae Pharmaceutica.*, **67**, 4, Р. 397-406 (2010).
4. W. Zheng, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **87**, Р. 1237-1254 (2010).
5. Y.J. Kim, J. Park, B.S. Min, S.H. Shim, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **54**, 2, Р. 287-294 (2011).
6. М.А. Сысоева, О.Ю. Кузнецова, В.С. Гамаюрова, Ф.Г. Халитов, П.П. Суханов, *Вестник КГТУ*, **2**, С. 172-179 (2003).
7. В.Р. Хабибрахманова, Автореф. дис. канд. хим. наук, КГТУ, Казань, 2008. 18 с.
8. С.Е. Северин, *Практикум по биохимии*. М.: Изд-во МГУ, 1989. 509 с.
9. Л.В. Антипов, *Физические методы контроля сырья и продуктов в мясной промышленности*. СПб.: ГИОРД, 2006. 200 с.
10. М. Кейтс, *Техника липидологии*. М., 1975. 324 с.
11. А.И. Ермаков, *Методы биохимического исследования растений*. М., 1972. 400 с.
12. М.А. Сысоева, В.Р. Хабибрахманова, В.С. Гамаюрова, Г.И. Халиуллина, А.С. Опарина, *Вестник КГТУ*, **4**, С. 143-147 (2006).
13. М.А. Сысоева, В.Р. Хабибрахманова, В.С. Гамаюрова, А.Х. Тазеева, *Химия растительного сырья.*, **3**, С. 119-122 (2008).
14. Е.В. Соловьева, Автореф. дис. канд. биол. наук, Дальневост. гос. аграр. ун-т, Благовещенск, 2011. 22 с.
15. М.А. Сысоева, Г.А. Иванова, Л.Я. Захарова, *Вестник КГТУ*, **9**, С. 595-601 (2010).
16. K. Kahlos, L. Kangas, R. Hiltunen, *Planta Medica*, **52**, Р. 554 (1986).
17. T. Nakata, S. Taji, T. Yamada, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **15**, 1, Р. 257-264 (2007).
18. M.J. Chung, *Nutrition research and practice*, **4**, 3, Р. 177-182 (2010).
19. Y. Shin, Y. Tamai, M. Terazawa, *Euras. J. Forest Res.*, **1**, Р. 43-50 (2000).
20. А.Н. Шиврина, *Продукты биосинтеза высших грибов и их использование*. М. Л.: Наука, 1966. 135 с.
21. Е.В. Ловягина, А.Н. Шиврина, Е.Г. Платонов, *Биохимия*, **25**, 4, С. 640-645 (1960).