

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 °C) [7]. В полученных экстрактах определяли содержание сухих веществ [8], стеринов 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 этанольный раствор экстрактивных веществ вносили в хроматографическую колонку, заполненную силикагелем «Lachema» (Chemapol, Чехословакия) с размером зерен 100/160μ [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 петролевым эфиром

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

* 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 (Rэфф), нм	%
1	159,8	30,01
2	61,0	20,4
3	108,0	1,0
4	68,0	32,0

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-алкилмоноглицериды 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, стерины 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 петролевым эфиром веществ. 3. Исследование количественного состава липидных веществ позволило установить, что в составе петролевого экстракта помимо фракции стериновых веществ преобладает фракция углеводов и восков