

АФИЛЛОФОРОИДНЫЕ ГРИБЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИСТОЧНИКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ

Н.В. Сушинская, В.П. Курченко, Т.А. Кукулянская, Н.В. Гавриленко

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь, kurchenko@tut.by

Трутовые грибы широко распространены в средней полосе и являются перспективным возобновляемым источником сырья для получения меланинов и других биологически активных веществ. Делаются попытки выращивания этих грибов в условиях культуры. Уже сейчас широкое применение в пищевой и фармацевтической промышленности юго-восточных стран находят такие представители афиллофороидных грибов как *Ganoderma applanatum*, *G. lucidum*. В отечественной медицине при лечении язвенной болезни и злокачественных новообразований с успехом применяется препарат Бефунгин – водный экстракт *Inonotus obliquus* (чага). На основе *Fomes fomentarius* создана уникальная биологически активная добавка Микотон, обладающая широким спектром действия – радиозащитным, антиоксидантным, иммуномодулирующим, противовоспалительным.

Меланиновые пигменты, полимеры фенольной природы, обладают низкой токсичностью и широким спектром биологических активностей, способствуют адаптации многих живых организмов к высокому содержанию тяжелых металлов в окружающей среде, действию ионизирующей радиации и УФ облучению. Этот факт позволяет предположить, что очищенные меланины из афиллофороидных грибов могут найти широкое применение в различных областях как эффективные сорбенты тяжелых металлов и ксенобиотиков, а так же в качестве фотозащитных средств.

Целью работы являлась разработка технологии получения меланиновых пигментов из афиллофоровых грибов и сравнение их физико-химических свойств.

В качестве источников получения меланинов были использованы трутовые грибы широко распространенные в лиственных и хвойных лесах Республики Беларусь. Сырьем служили плодовые тела грибов вызывающих бурую гниль – *Fomitopsis pinicola* (береза, ель) и белую гниль – *Fomes fomentarius* (береза), *Ganoderma applanatum* (осина), *Phellinus igniarius* (осина, маньчжурский орех), *Phellinus robustus* (дуб), а так же стерильная форма гриба *Inonotus obliquus*, чага (береза).

Афиллофороидные грибы характеризуются высоким содержанием низкомолекулярных жирорастворимых биологически активных вторичных метаболитов (липиды, стерины, птерины, терпены). Для их получения в схему выделения была включена стадия экстракции органическими растворителями. Измельченные плодовые тела грибов были обработаны смесью органических растворителей (гексан:изопропанол=1:1). Из обезжиренной и высушенной биомассы в “мягких” условиях экстрагировали меланины разбавленной натриевой щелочью (0,1N) при температура не выше 50°C в течение двух часов. Такие условия выделения меланинов не приводили к существенным изменениям в структуре природных пигментов и позволили получить водорастворимые полимеры с $\epsilon^{0,001\%}_{465\text{nm}}$ от 0,001 до 0,040, концентрацией парамагнитных центров (ПМЦ) $10^{16} - 10^{18}$ спин/г, значения которых несколько ниже в сравнении с литературными данными. Применение традиционных “жестких” условий с длительным воздействием высоких температур вследствие образования высокосопряженных структур увеличивает концентрацию ПМЦ и светопоглощение. В то же время наблюдалось уменьшение выхода меланина в сравнении с традиционной методикой, поскольку полной экстракции пигментов не достигалось. Выходы меланинов, выделенных таким образом, составили для *Ph.*

igniarius (осина, маньчжурский орех) 0,6 – 1,7%, *Ph. robustus* (дуб) 1,0%, *G. applanatum* (осина) 5 – 6 %, *F. fomentarius* (береза) 7 – 8%, *F. pinicola* (ель, береза) 9 – 13%, *I. obliquus* (береза) 12 – 17%.

Принадлежность выделенных полифенольных соединений к меланинам была подтверждена качественными реакциями с H_2O_2 , $KMnO_4$, $FeCl_3$; электронными и инфракрасными спектрами; парамагнитными свойствами.

При сравнении полученных пигментов по ряду физико-химических свойств – элементному составу, электронным и инфракрасным спектрам, парамагнитным свойствам – выявились существенные отличия меланинов, выделенных из грибов, вызывающих бурые и белые гнили. Меланины из плодовых тел грибов бурой гнили (*F. pinicola*) характеризовались высоким содержанием углерода (65,9 – 63,4%), низким содержанием кислорода (18,1 – 18,9 %) и азота (1,5 – 1,4%). Соотношение С/Н свидетельствовало о малом содержании сопряженных структур, что согласуется с результатами электронной, ИК спектроскопии и ЭПР анализа ([ПМЦ] 3×10^{16} , $\epsilon_{465nm}^{0,001\%} = 0,008$). Отличительной чертой ИК спектров меланина *F. pinicola* явилось присутствие узких интенсивных полос в области 2945 – 2920, 2860, 1460 – 1450 cm^{-1} , характерных для алифатических С-Н групп, что, по мнению некоторых авторов, связано с присутствием примесей, удаляемых многократной обработкой хлороформом. Вероятно, предложенный способ выделения меланинов из грибов бурой гнили не позволяет получить достаточно чистые препараты, что затрудняет интерпретацию их элементного состава и спектров. Соотношение элементов в меланиновых пигментах, выделенных из плодовых тел грибов, вызывающих белую гниль иное: С – от 38,5 до 49,4%, Н – от 4,7 до 6,4%, О – от 30,8 до 38,7%. Несмотря на химическую гетерогенность меланинов, выделенных из разных видов грибов, в изменении их элементного состава наблюдаются некоторые закономерности. Соотношение Н/С, косвенно свидетельствующее о ненасыщенности молекулы, растет в ряду уменьшения коэффициентов экстинкции в ультрафиолетовой и видимой области спектра. В то же время с ростом интенсивности светопоглощения наблюдается тенденция к увеличению содержания кислорода в пигментах. Можно заключить, что значительное поглощение в видимом свете и УФ обусловлено развитой системой сопряженных двойных связей, а также присутствием кислородсодержащих хромофоров. Наибольшие коэффициенты экстинкции и концентрация ПМЦ наблюдались для меланинов из трутовика ложного – *Ph. igniarius* (осина, маньчжурский орех) и *Ph. robustus* (дуб). Содержание азота в структуре меланинов, выделенных из грибов белой гнили колеблется в широких пределах (2,0 – 6,0%) и связано с присутствием азотсодержащих гетероциклов и аминокислот. Меланин из стерильной формы гриба *I. obliquus* (чага) отличается низким содержанием азота (0,6%) в сравнении с плодовыми телами трутовиков, что сравнимо с его содержанием в растительных пигментах – алломеланинах (0,3 – 0,7%). Причиной последнего вероятно является разрастание меристемных клеток вторичной коры растения-хозяина, возникающее в ответ на патогенный раздражитель, которое наряду с обменом веществ мицелия определяет образование наростов чаги. Соотношение С/Н свидетельствует о значительном вкладе сопряженных структур, что подтверждается и наличием интенсивного поглощения в области 270 – 280 нм.

Сочетание высокой интенсивности светопоглощения в УФ и видимой области спектра, высокой концентрации парамагнитных центров позволяет рассматривать меланины из грибов белой гнили (в большей степени *I. obliquus*, *Ph. igniarius*, *Ph. robustus* и в меньшей степени *G. applanatum*, *F. fomentarius*) как потенциальные сорбенты и фотопротекторы. В то же время при выделении меланина по указанной методике достаточно высокий выход продукта наблюдался лишь для *I. obliquus* (береза) и *F. fomentarius* (береза).