

Министерство образования и науки России
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Казанский национальный исследовательский
технологический университет»

М. А. Сысоева

ВЫСОКОДИСПЕРСНЫЕ КОЛЛОИДНЫЕ СИСТЕМЫ И МЕЛАНИНЫ ЧАГИ

Монография

Казань
Издательство КНИТУ
2013

М. А. Сисоева

**Высокодисперсные коллоидные
системы и меланины чаги**

«БИБКОМ»

2013

УДК 615.451.1+615.015.11+57.014/.016
ББК 52+35.66

Сысоева М. А.

Высокодисперсные коллоидные системы и меланины чаги /
М. А. Сысоева — «БИБКОМ», 2013

Монография посвящена исследованию и применению
высокодисперсных коллоидных систем водных извлечений чаги. В
ней систематизированы и развиты теоретические представления о
структурной организации меланинов на примере меланинов чаги.

УДК 615.451.1+615.015.11+57.014/.016
ББК 52+35.66

© Сысоева М. А., 2013
© БИБКОМ, 2013

Содержание

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
Исторические аспекты исследования полидисперсных коллоидных систем и меланина гриба чаги	8
Биологический вид гриба <i>Inonotus obliquus</i> (Fr.) Pil (чага)	9
Способы получения лекарственных средств, созданных на основе чаги	11
Лечебное и физиологическое действие препаратов, созданных на основе чаги и выделенных из неё компонентов	14
Химический состав чаги	21
Водные извлечения чаги	26
Конец ознакомительного фрагмента.	37

М. Сысоева

Высокодисперсные коллоидные системы и меланины чаги

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АОА – антиоксидантная активность
АОЕ – антиоксидантная ёмкость
атм. – атмосфера
БАД – биологически активная добавка
БАВ – биологически активное вещество
БХ – бумажная хроматография
ВЖК- высшие жирные кислоты
ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
ГЖХ – газожидкостная хроматография
ГФ – Государственная фармакопея
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия
ИК-спектр – спектр, снятый в инфракрасной области спектра
ККМ – критическая концентрация мицеллообразования
КЧ – культивируемая чага
МП – экстракция, с применением механического перемешивания
ОДЭФ – гидроксиэтилендифосфоновая кислота
ПФК – полифенолоксикарбоновый комплекс
ПМЦ – парамагнитный центр
ПЧ – природная чага
РЕМ – ремацерация
РЕП – реперколяция
ССИ – спад свободной индукции
СЭ – сухой экстракт
Трилон Б – натриевая соль этилендиамин-N,N,N¹,N¹-тетрауксусной кислоты
т. пл. – температура плавления
ТСХ – тонкослойная хроматография
УФ-спектр – спектр, снятый в ультрафиолетовой области спектра
ФКС – фотонная корреляционная спектроскопия
ФК – фенолкарбоновые кислоты
Ф – фенолы
ЭПР – электронный парамагнитный резонанс
ЯМР – ядерный магнитный резонанс
AFM – атомно-силовая сканирующая электронная микроскопия
ABTS – 2,2'-азинобис-3-этилбензотазолин-6-сульфоновая кислота
DHI – 5,6-дигидроксииндол
DHICA – 5,6-дигидроксииндол-2-карбоновой кислоты
DHN – 1,8-дигидрокси нафталин
DPPH – 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил
FB часть чаги – плодовое тело гриба (fruiting body)

LD₅₀ – величина средней дозы, после поступления которой в организм животных в течение трех суток наступает гибель 50 % подопытных животных

L-ДОФА – дофамин, 2-(3,4-дигидроксифенилэтиламин))

MALDI – масс спектрометрия

n – количество данных, взятых для статистической обработки

SEM – сканирующая электронная микроскопия

STM – сканирующая тоннельная микроскопия

ST часть чаги – плотная часть (sclerotium)

SAXS – малое угловое рентгеновское рассеивание

TM-AFM – полуконтактный режим атомной силовой микроскопии

WAXS – широкий угловой рентген, рассеивающий

ВВЕДЕНИЕ

В монографии систематизирован материал по исследованию и применению гриба *Inonotus obliquus* (Fr.) Pil (чаги), который широко применяется в народной и официальной медицине России, стран Дальневосточного региона, Северной Америки и Европы. Представлены обзор и анализ существующих и перспективных методов получения водных извлечений чаги, способов исследования этой коллоидной системы и её дисперсной фазы – полифенолоксикарбонового комплекса – хромогенного комплекса – меланина; проанализирована глубина исследования биологически активных веществ в водном извлечении чаги и в меланине; приведен спектр физиологической активности препаратов на основе чаги; показана возможность использования химических, физических и биотехнологических методов реструктуризации коллоидной системы водного извлечения чаги для расширения теоретических представлений о её структуре и получения практических результатов. На основе обзора современных литературных данных, используя широкий спектр исследований меланина чаги и принцип универсальности построения биологических объектов, развиты теоретические представления об их структурной организации.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы» по госконтракту №_01201252915 от 28.02.2012 г., тема: "Разработка биологически активных добавок на основе супрамолекулярных бионаносистем".

Исторические аспекты исследования полидисперсных коллоидных систем и меланина гриба чаги

К чаге как природному объекту, способному обеспечить безопасность жизнедеятельности организма человека, исследователи обращались в трудные времена. Основные прорывы в изучении её действующих компонентов, физиологической и терапевтической активности, связаны с окончанием второй мировой войны и аварией на Чернобыльской атомной станции.

Начатые в пятидесятые годы в Ленинграде исследования чаги были направлены на изучение биологии чаги, образование в ней физиологически активных веществ в природных условиях и при выращивании в культуре, а также на поиск методов выделения и очистки лечебных веществ чаги с целью их всестороннего химического и биохимического исследования. Кроме того, были разработаны и внедрены в производство ряд препаратов на основе водных извлечений чаги. Они были протестированы на ряде биологических объектов, в том числе накоплен большой материал при лечении ими людей, больных неоперабельным раком различной этиологии [1]. Огромный вклад в изучении чаги был внесен большим коллективом представителей трёх структур – учёными Ботанического института им. В.Т.Комарова, медиками I Ленинградского медицинского института им. И.П. Павлова и технологами Ленинградского химико-фармацевтического завода № 1. Химический состав и биосинтетическую деятельность гриба изучали П.А. Якимов, А.Н. Шиврина, Е.В. Ловягина, О. П. Низковская, С.М. Андреева, Г.А. Кузнецова, Е.Г. Платонова с соавторами. Действие биологически активных веществ чаги на организм исследовали, а также проводили клинические испытания препаратов из чаги П.К. Булатов, М.П. Березина, Е.Я. Мартынова, М.В. Еременко, Н.Л. Маттисон и ряд других исследователей. В этот же период польские учёные выделяют и идентифицируют терпены из чаги [2,3], Я. Краусс Жаки [4] и С. Пясковский [5] применяют водные экстракты чаги для лечения рака, Тейлор в США – для лечения аденокарциномы [6].

Вторым этапом изучения чаги стали работы девяностых годов прошлого века. Г.Л. Рыжова с соавторами разработала способ получения препарата на основе водного извлечения чаги с использованием в экстракции ультразвука. Этими исследователями проведена большая работа по изучению состава нового препарата и его физиологического действия [7,8]. В работе Е.А. Калашниковой (Пятигорская фармацевтическая академия) проведено изучение сырья чаги, препарата «Бефунгин», водных извлечений чаги, полифенооксикарбонного комплекса и фильтрата, остающегося после его выделения хлористоводородной кислотой. [9] В это же время учёные из Белоруссии исследуют меланины, которые выделяют из водных извлечений чаги. [10,11] К. Kahlos (Финляндия) исследует терпены чаги, их структуру и физиологическую активность. [12-14] Ряд авторов из Польши публикует сообщения о меланинах, выделенных из водного извлечения чаги. Они также изучают механизм влияния водных извлечений чаги на раковые клетки и ферментативную активность каталазы. [15-18].

С конца XX века учёные Японии и Китая, а также ряд ученых других стран проводят исследования чаги по нескольким направлениям. Они публикуют работы по водной и спиртовой экстракции чаги с выделением из экстрактов различных компонентов фенольной, терпеновой, белковой природы и полисахаридов. Определяют их структуру, антиоксидантную и антибластомную активность. Их интересы распространяются на поиск способов культивирования чаги [19-29].

Биологический вид гриба *Inonotus obliquus* (Fr.) Pil (чага)

По ботанической классификации гриб чагу (Chaga) определяют как трутовик косо-трубчатый – *Inonotus obliquus* (Rers.) Pil. sterilis; семейство трутовиковые (Polyparaceae) или гименохетовые (Hymenochaetaceae), тип базидиальные грибы (Basidiomycetes) [30-35]. Это стерильная форма трутового гриба чаги (рис. 1), поскольку его тело образовано бесплодным мицелием. Развитие гриба начинается с момента попадания в поврежденные участки коры дерева рассеянных в воздухе базидиоспор гриба, которые быстро прорастают, образуя мицелий.



Рисунок 1 Трутовый гриб *Inonotus obliquus* – чага

Нити мицелия (гифы) проникают в древесину, постепенно разрушая её. Одновременно под корой (в местах первоначального проникновения спор) образуется плодовое тело, дающее базидиоспоры. На четвертый год грибница выходит наружу и начинает развиваться бесплодный мицелий, образуя на коре медленно растущие бесформенные черные наросты, которые могут достигать 0,5-1,5 м длины, 10-15 см толщины и массы до 5 кг и более. Именно эти наросты и называют чагой. Гриб постепенно разрушает ствол дерева, который в результате ломается, и дерево гибнет. После этого гриб развивает плодовое тело, представляющее собой плоское образование, состоящее из трубочек, находящихся под слоем коры, при разрушении которой споры высыпаются и разносятся ветром. Цикл развития гриба и образования чаги колеблется в среднем от 1 до 15 лет. [31,32,36]. Ареалы распространения гриба – Россия, Польша, Белоруссия, Северная Америка, Канада [30] а также северо-восточные районы Китая [31]. Чага может расти на березе, реже ольхе, рябине, черемухе, вязе, клене, буке

[31,37], но лекарственными свойствами обладает только чага, произрастающая на березе и черной ольхе [36,38].

По системе Фалька, чагу относят к древоразрушающим грибам, вызывающим белую гниль, то есть распад древесины осуществляется по коррозионному типу гниения с одновременным разрушением клетчатки и лигнина [38-42]. Исходными субстратами для этого гриба являются продукты окисления сахаров и сами сахара, а также ароматические соединения, высвобождающиеся при распаде молекулы лигнина [42]. Грибы белой гнили обладают способностью связывать высвобождающиеся лигниновые мономеры в высокополимерные соединения типа гуминовых кислот, а соединения такого рода не свойственны грибам, вызывающим деструктивный распад древесины [42-46]. Бондарцев А.С. по морфологической картине разрушения относит чагу к древоразрушающим грибам с деструктивным типом гниения [47]. Низовской О.П. на основании данных, полученных при культивировании гриба на березовой древесине [39], чага была отнесена к III группе (по Кэмпбеллу [48]), так как для неё характерен одновременный распад лигнина и клетчатки. Некоторые авторы предлагают называть такой тип гнили коррозионно-деструктивным [45, 49,50].

Заготовку чаги ведут в течение всего года, но удобнее её собирать поздней осенью, зимой или ранней весной, когда из-за отсутствия листвы гриб хорошо заметен [38]. Кроме того, в это время содержание в сырье чаги биологически активных веществ достигает максимума [38,36]. Не следует считать, что чага всегда безопасна и может быть использована для лечения и профилактики различных заболеваний. Существуют два главных повода для осторожного отношения к этому грибу. В первую очередь важно установить то, что гриб, который вы нашли на берёзе, действительно чага. Отличительными признаками чаги от сходных видов трутовиков (ложного и настоящего) является её овальная или округлая форма и изрытая, потресканная, с большим количеством мелких бугорков и трещин, поверхность [38]. Кроме того, наросты чаги являются беспорядочным сплетением однородных грибных нитей (мицелия) и в них не обнаруживается дифференциация на ткани [51]. Во-вторых, чага, растущая в экологически не благополучных районах, может накапливать тяжелые металлы, такие, как свинец, мышьяк, стронций [31,52].

Сырье чаги при поступлении на производство и перед поступлением в аптечную сеть обязательно проходит стандартизацию [53]. В нем регламентируется содержание: хромогенного комплекса (меланина) – не менее 10 %, золы общей – не более 14 %, органических примесей (бересты, остатков древесины) – не более 1 %, влажность – не более 14 %. Срок годности для сырья чаги установлен 2 года. Поэтому следует покупать чагу или препараты на её основе, выпускаемые фармацевтической промышленностью, в аптечной сети.

Способы получения лекарственных средств, созданных на основе чаги

Для получения препаратов на основе чаги в пятидесятые годы разработан промышленный способ получения диффузионных соков гриба.

Первой лекарственной формой препарата из чаги становятся водные экстракты, получаемые методом противоточной диффузии и содержащие около 2 % сухого остатка [54]. Водная экстракция измельченного сырья осуществлялась по принципу противотока в диффузионной батарее из 6 диффузоров (продолжительность настаивания в каждом диффузоре – 1 час) при последовательно повышающейся от 45 до 80 °С температуре (температура головного диффузора 45÷50 °С и хвостового – 75÷80 °С). Гидро модуль в установившемся процессе экстракции – 1:2 или 1:2.5. При такой системе экстракции обеспечивалась концентрация соков головного диффузора от 6.5 до 8.5 % в зависимости от качества сырья. На стадии нуч-филтрования добавляется микроэлемент кобальт в виде водного раствора $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ или $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в количествах, предусмотренных регламентом. Последующее вакуум-уваривание водных извлечений до получения густого экстракта с содержанием 30-32 % сухого вещества протекает при температуре не более 50÷55 °С и остаточном давлении не выше 70 мм рт. ст. Далее в концентрат, охлажденный до 40 °С, в целях консервирования добавляют спирт ректификат из расчета 10 % от веса концентрата. После этого концентрат поступает в разливочный аппарат и его фасуют в герметически закрывающиеся толстостенные склянки. Эта форма препарата после всесторонней клинической проверки начинает выпускаться фармацевтическими заводами под названием «Экстракт из березового гриба чаги (густой)». Содержание зольных веществ в препарате 25-29 % [55, 56].

Клинические испытания препарата чаги показали, что вследствие нарушений технологического режима при переработке чаги происходит ухудшение качества препарата и снижается его лечебное действие. Поэтому на протяжении всего процесса необходимо обеспечивать постоянный контроль гидро модуля и температурного режима. Недостаточно строгое соблюдение батарейно-противоточного процесса и, главным образом, температурного режима при экстрагировании чаги, и особенно при вакуумуваривании водных извлечений, приводит к нарушению целостности и агрегативной устойчивости коллоидной системы полифенолоксикарбонового комплекса [57].

С целью получения лекарственных средств со сниженным содержанием зольных элементов созданы лекарственные формы таблетированных препаратов чаги. Они разработаны группой исследователей, возглавляемых П.А. Якимовым. В технологии одного из них полифенолоксикарбоновый комплекс выделяют из традиционно полученных диффузионных соков чаги различными электролитами, а также осаждением его совместно с белками (казеин или альбумин) при соответствующих значениях pH среды [54]. Получение другой формы – «БИН-чага» отличается от традиционной специфической обработки сырья чаги. Она заключается в вакуум инфльтрации в сырьё воды, охлаждённой до +4 – +6 °С, настаиванием его при этой температуре. Затем настой удаляют и обработанное таким образом сырьё подвергают противоточной экстракции по традиционной технологии. Полученные диффузионные соки подвергают вакуум-выпариванию [58]. Оба препарата после вакуум высушивания купажируют с наполнителями и затем проводят таблетирование.

Разработан способ, защищённый патентом [7], в котором водное извлечение получают экстракцией чаги водой в две стадии при температуре 60-65 °С, с использованием ультразвука частотой 20-55кГц, интенсивностью 0,1-2,3Вт/см². Соотношение сырьё: экстрагент составляет 1:10-15. Экстракт сушат в тонкой плёнке при вакууме 83 мм рт. ст. и температуре

60 °С. Выход экстрактивных веществ по предлагаемому способу повышается с 62-75 % до 92-95 %.

55кГц, интенсивностью 0,1-2,3Вт/см². Соотношение сырья: экстрагент составляет 1:10-15. Экстракт сушат в тонкой плёнке при вакууме 83 мм рт. ст. и температуре 60 °С. Выход экстрактивных веществ по предлагаемому способу повышается с 62-75 % до 92-95 %.

Разработан способ получения экстракта чаги сухого «Фитопродукт», защищенный патентом [59]. Согласно этому способу сырьё экстрагируют водой в соотношении 1:4-6 в течение 6-12 часов при периодическом перемешивании, затем надосадочную жидкость отделяют, а осадок повторно экстрагируют водой в соотношении 1:3-4 в течение 4-6 часов. Далее экстракты объединяют и высушивают. В препарате регламентируется содержание флавоноидов в пересчёте на кверцетин не менее 15 %.

Проведены клинические испытания разработанных стерильных ампульных препаратов на основе диффузионных соков и полифенолоксикарбонового комплекса, описание которых приведены далее.

В народной медицине существует ряд методов приготовления настоев чаги [37,57,60,61] с получением различной концентрации экстрактивных веществ, что учитывается рекомендуемой дозой их применения.

В 60-х годах на Ленинградском химико-фармацевтическом заводе проведена серия работ по изучению и разработке технологических параметров производственного получения бефунгина [54,57,62-64]. Рекомендовано использовать сырьё размером 2÷3 мм для проведения экстрагирования в более мягких температурных условиях без ущерба для выхода экстрактивных веществ, что приводит к улучшению качества препарата. Бефунгин – полугустой экстракт – получают увариванием водных вытяжек чаги до содержания сухих веществ около 20 % с последующим введением в препарат солей кобальта и спирта. По этой технологии измельченную на вальцовой дробилке чагу экстрагируют горячей водой (70 °С) методом противотока на батарее из трех диффузоров, с продолжительностью настаивания в каждом диффузоре – 1.5 час. К концентрированному извлечению прибавляют расчетное количество кобальта хлористого и упаривают извлечение до готовности при давлении 0.06 МПа и температуре 75±5 °С, после чего в экстракт вводят расчетное количество спирта этилового (10 %) и фасуют. В соответствии с требованиями ФС, оценка качества бефунгина проводится только по содержанию в нем хромогенного комплекса и кобальта. Содержание хромогенного комплекса в препарате должно быть не менее 6.5 %. В настоящее время бефунгин – это наиболее распространенная лекарственная форма, которую производит фармацевтическая промышленность на основе сырья чаги.

В последнее время производители БАД и косметических средств часто используют в их рецептурах экстракты чаги. Например, в Санкт-петербургской серии пищевых добавок «Драже жизни» выпускают БАД «Драже жизни – коктейль «Тростинка»». Основу препарата составляют: экстракт чаги, лактобактерии, молочная закваска, аминокислоты, микроэлементы, фруктовый пектин. Биологически активные вещества чаги в данном препарате благоприятно сочетаются с лактобактериями «Драже». Данный коктейль рекомендуется больным с онкологическими заболеваниями, язвой желудка и гастритами, также он хорошо подходит для лиц, склонных к аллергии. В продукции серии «Уссурийская тайга» разработана концентрированная основа для производства сиропов «Чага с травами», включающая в себя смесь чаги, шиповника, череды, элеутерококка, мяты. Особое внимание обращает на себя продукция, разработанная в Российском Онкологическом Научном Центре РАМН совместно с Лабораторией натуральных лечебно-профилактических средств. Это фитокапсулы «Чаговит» и «Чаголюкс», в состав которых входит экстракт чаги, полученный по оригинальной технологии. В препарате экстракт чаги сочетается с витаминами С, В₁, В₂, В₆, фолиевой кислотой, что усиливает и дополняет стимулирующие, антиоксидантные, антитоксические,

антибластомные и защитные свойства, оптимизирует активность ферментативной системы и метаболизма человека [65,66].

Большой популярностью пользуются кремы в рецептуры, которых включены экстракты чаги, такие как «Чага» (Украина); массажный бальзам Валентина Дикуля (ООО «Фора-Фарм», Москва); бальзам для тела «Лесной лекарь» («ФЛОРА-SI», Балашиха, МО) и ряд других. Они обладают омолаживающим, противоотечным, противовоспалительным, восстанавливающими эффектами, заживляют раны, ожоги и обморожения.

Фармацевтической промышленностью выпускаются спиртовые настойки чаги. Технология их получения заключается в экстракции сырья чаги 70 % спиртом [67]. Проверка препарата на подлинность заключается в определении наличия в нем хромогенного комплекса. Содержание спирта в настойке регламентируется не менее 65 %, сухого остатка – не менее 0,25 %.

Лечебное и физиологическое действие препаратов, созданных на основе чаги и выделенных из неё компонентов

Чем же обусловлен интерес к этому природному объекту? Он объясняется тем, что в народной медицине чагу используют для лечения широкого спектра заболеваний. Настои, отвары, чай из чаги, а также порошок истолченного гриба применяют при желудочно-кишечных заболеваниях, раке, пародонтозе, экземах, дерматитах, псориазе, для лечения ран. Чагу используют как общеукрепляющее средство для повышения общего тонуса организма. По-видимому, особо привлекают исследователей использование чаги в народной медицине для лечения рака. По преданию, от рака губы берёзовым грибом был излечен князь Владимир Мономах. [68-70].

Рассмотрим, какое действие оказывает чага на организм животных и человека. Постараемся ответить на вопрос – Почему она обладает такой разнообразной и высокой биологической активностью, что способна бороться с раком?. Особое внимание необходимо обратить на то, какие препараты на основе чаги подвергались исследованиям. К сожалению, не во всех литературных источниках указывается, каким образом они приготовлены или выделены.

Обширные исследования по физиологической активности различных препаратов на основе чаги проведены в пятидесятые годы прошлого века. Было показано, что токсичность водных экстрактов чаги при пероральном введении белым мышам LD_{50} составляет 6,5 г/кг веса животного, при подкожном введении LD_{50} – 0,5 г/кг. Испытывались различные формы препаратов из чаги: жидкий, густой экстракты и порошок. Их токсичность и общее действие изучали на кроликах, кошках и собаках. Индивидуальная переносимость, в зависимости от вида животного к препаратам из чаги, имела существенные различия. Однако, в целом, опыты, поставленные на большом количестве животных, свидетельствовали о том, что эти препараты хорошо ими переносятся.

Токсическое действие препаратов из чаги испытанных на различных видах животных проявлялось у них в виде расстройства движений, а затем паралича. Было установлено, что они действуют угнетающе на центральную нервную систему, а не на периферическую – в области нервно-мышечного синапса, то есть показано их курареподобное действие. Кумулятивные свойства препаратов из чаги исследованы на крысах и кроликах. Крысам ежедневно вводили зондом в желудок препараты чаги в дозе 1 г/кг веса животного в течение пяти месяцев, а кроликам в дозе 0,3 г/кг до шести месяцев. Установлено, что они не обладают кумулятивными свойствами [71], также показано отсутствие у препаратов из чаги пирогенных свойств [72].

Средней лечебной дозой при пероральном применении чаги для человека является 15 мл 2 % раствора три раза в день, что составляет 1 г сухого вещества чаги в сутки (20 мг на 1 кг веса) [1].

Внутривенное и внутримышечное введение препаратов на основе диффузионных соков чаги оказывало более сильное влияние на организм животного. Недостаточная очистка их от балластных веществ, в том числе зольных элементов, приводила к побочным явлениям, таким, как озноб, некроз тканей вокруг места инъекционирования, изменения в дыхании и нарушение сердечного ритма [73].

Проведены исследования на животных внутримышечного и внутривенного введения очищенных препаратов из чаги. Для этого были приготовлены образцы из диффузионного сока чаги (при различных способах проведения экстракции) и полифенолоксикарбонового

комплекса с различной степенью очистки от балластных примесей и зольных элементов. Наиболее хорошие результаты показали два препарата. Препарат для внутримышечного введения, полученный из диффузионного сока с низкой температурой экстракции (в батарее диффузоров, $T^{\circ}=30-45^{\circ}\text{C}$), подвергнутый диализу с низкой зольностью 13,5 %, $\text{pH}=5,4$. Другой препарат для внутривенного введения получен на основе полифенолоксикарбонового комплекса, подвергнут диализу с низкой зольностью 12,2 %, $\text{pH}=7,0$. В связи с низкой растворимостью полифенолоксикарбонового комплекса он растворён с использованием хлористого аммония. Первый препарат оказывал благоприятное влияние на сердечную деятельность, повышая сократительную способность миокарда у кролика, кроме того, наблюдался сдвиг дыхания в сторону более спокойного ритма. Второй препарат активировал и восстанавливал жизненные функции нерва, утраченные под влиянием хлористого калия. Авторами сделано заключение о том, что различные способы получения препаратов из чаги видоизменяют их действия на физиологические функции организма животного и функциональные свойства нерва [73].

Внутривенное введение различных по степени очистки препаратов из чаги благоприятно влияло на физиологическую деятельность органов и систем животных, но отличалось по характеру их воздействия на дыхание и сердечную деятельность. Испытанные образцы получены из диффузионного сока с низкой температурой экстракции (в батарее диффузоров, $T^{\circ}=30-45^{\circ}\text{C}$) путём его сгущения и растворения в бидистилляте, либо выделением полифенолоксикарбонового комплекса и растворением его в натриевой щёлочи. Они имели близкие значения сухого остатка, зольности (20,5 %-27,2 %) и pH . Все образцы снижали ритм дыхательных движений. Те, которые имели наименьшую зольность не приводили к изменению амплитуды дыхательных движений, а остальные препараты её увеличивали или уменьшали. Все испытанные образцы положительно влияли на работу сердца, способствовали усилению сократительной способности мышц его желудочков. Образец с наименьшей зольностью, подвергнутый диализу уваренный диффузионный сок, показал наилучший результат, поскольку улучшал коронарное кровообращение. Непосредственно диффузионный сок и диффузионный сок, упаренный досуха, а затем растворённый в бидистилляте, несколько укорачивали длительность сердечного цикла. Автором сделан вывод о том, что на деятельность сердца препараты чаги влияют не только через центральную нервную систему, но и гуморальным путём, непосредственно повышая трофику сердечной мышцы [74]. В другом исследовании установлено, что неочищенный препарат из чаги влияет на работу сердца и эффект воздействия зависит от дозы препарата. Низкие концентрации чаги (0,1 %) оказывали благоприятный эффект на работу сердечной мышцы, а концентрация 0,2 % вызывала его остановку [75]. Применение полифенолоксикарбонового комплекса не вызывало возникновения патологических явлений аритмии. Оптимальная его концентрация (0,5-1,0 %) оказывала трофическое действие на сердечную мышцу (увеличивалась мощность работы сердца и амплитуды сокращений), повышался тонус вегетативной иннервации [76]. Внутривенное введение препарата чаги не влияло на частоту α -волн, изменяло высоту их амплитуды. По мнению автора, это свидетельствует о влиянии препарата на кору больших полушарий головного мозга, при этом изменялся обмен веществ в клетках коры мозга [77].

Выделенные из чаги индивидуальные фракции и вещества, такие, как биоглюканы [78], трипептид с молекулярной массой 365Да [23], показали высокую биологическую активность. Раствор биоглюканов в очень низкой концентрации (0,0001 %) улучшал электровозбудимые свойства мембран клеток сопоставимо с эффектом гипокальциевых растворов, но в отличие от них, положительный хронотропный эффект биоглюканов удлинился в 50-100 раз. Трипептид эффективно ингибировал процесс агрегации тромбоцитов. Клинические испытания на больных полипозом желудка и язвенной болезнью проводили, применяя препараты чаги перорально [79-82], внутримышечно [83,84] и внутривенно [84,85].

Установлено, что 2 % раствор чаги, принимаемый в количестве 15 мл 3 раза в день, оказывает нормализующее и, по-видимому, тонизирующее действие на центральную нервную систему больных язвенной болезнью и через неё на весь организм в целом. Кроме 2 % раствора чаги эффективно применение сухих таблеток БИН-чага, обладающих аналогичными лечебными свойствами. Их терапевтическая доза составляла 3-4 таблетки в день [82]. Показано, что внутримышечное введение обеззоленного препарата из чаги, по сравнению с пероральным применением 2 % водной вытяжки чаги, более эффективно для лечения этих заболеваний, однако это было очень болезненно. Кроме того, этот препарат обладал пирогенным действием. Внутривенное введение препарата из чаги оказалось более эффективным по срокам ликвидации язвенной болезни по сравнению с лечением препаратами чаги, применяемыми другими способами, а также другими медикаментозными средствами.

Проведено исследование влияния полифенолоксикарбонового комплекса, осаждённого хлористоводородной кислотой (сухой осаждённый препарат), на организм животных. Введение этого препарата кроликам через зонд в течение 10 дней в дозах 1 г/кг веса не вызывало существенных изменений в весе их тела, составе крови и деятельности сердца. Использование более высоких доз – 5 г/кг веса, для мышей не сопровождалось токсическими явлениями [86].

Проводились клинические испытания применения полифенолоксикарбонового комплекса, осаждённого хлористоводородной кислотой, для лечения гастрита с преобладанием больных с анацидным состоянием и гипопластическими и атрофическими изменениями слизистой желудка. Необходимо отметить, что эти больные отрицательно реагировали на лечение обычным препаратом чаги, что проявлялось в усилении болей в животе и появлении частого жидкого стула. Было показано, что полифенолоксикарбоновый комплекс обладал более мягким действием, по сравнению с не осаждённым препаратом из чаги. У наблюдаемых больных произошло улучшение их общего состояния, а также нормализация электрофизиологических показателей. Этот препарат у больных гастритом и полипозом желудка оказывал стимулирующее влияние на центральную нервную систему и её регуляторные механизмы, которые, вводя компенсаторные реакции, нормализовывали деятельность желудочно-кишечного тракта [77]. Кроме того, приём препарата чаги приводил к нормализации активности в большей степени каталазы крови и в меньшей степени протеазы у больных язвенной болезнью [87].

Имеются данные [88] об успешном лечении запущенных форм псориаза у больных, одновременно страдающих заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Через 2-3 месяца непрерывного применения препарата чаги 38 человек выздоровели, а у 8 наблюдалось улучшение состояния.

В ряде работ [89-95] проведено исследование антитоксического, радиопротекторного и адаптогенного действия чаги.

На пекарских дрожжах было показано [89], что препараты из чаги ослабляют токсическое действие фтористого натрия, который является мощным ингибитором ферментов каталазы и эстеразы, катализирующих процесс брожения. Антитоксическое, восстанавливающее действие чаги наблюдали и в процессе прорастания семян пшеницы, протравленных медным купоросом.

В опытах *in vivo* было показано, что кормление чагой белых мышей приводило к уменьшению дистрофических изменений в печени, вызванных четыреххлористым углеродом [90]. Настой чаги, введенный через зонд в желудок мышам, проявлял антитоксическое действие. Мышам внутрибрюшинно вводили цитостатик этимидин в летальной дозе 30 мг/кг. Наблюдали 65 % выживших животных, получавших чагу, против 5 % в контроле. Установлено, что при добавлении настоя чаги в питье животным подобного эффекта не наблюдалось [91].

В работе [92] показано, что кормление крыс криопрепаратами чаги через 2-3 минуты после внутривенного введения радиоактивного изотопа ^{90}Sr способствовало снижению депонирования радионуклида в костной и мягких тканях. Достоверно показано и увеличение на 33-35 % выведения радионуклида с мочой.

При длительном гамма облучении (до 60 суток) мышей применение криопрепаратов чаги, в течение первых 30 суток увеличивало продолжительность жизни животных до 305 суток (в контроле 186 суток) и препятствовало резкому снижению лейкоцитов и развитию лейкопении, сдерживало перекисное окисление липидов крови на уровне, близком к контролю. Скорость восстановительных процессов кроветворной ткани (клетки костного мозга) была несколько выше в группах животных, получавших чагу, чем в контроле. Наблюдалась также умеренная активность синтеза белка и рост массы тела животных, что свидетельствует, по мнению авторов [93], об адаптогенном действии чаги.

Исследовано влияние чаги на развитие сопротивляемости к неблагоприятным факторам внешней среды на мышах. Испытывалось действие высокой температуры (70 °C) с длительностью пребывания животных в термостате от 13 до 20 минут [94]. Экстракт чаги вводили в желудок животным через зонд за 1 час до температурного воздействия, результаты оценивали по выживаемости мышей. В конце опыта в контроле выживало 30 % мышей и 75 % мышей, которым был предварительно введен препарат, через 48 часов выжило 7 % и 60 % мышей соответственно.

Таким образом, исследователями показано, что биологически активные вещества чаги выступают в роли биогенных стимуляторов, нормализующих физиологические функции организма [95].

Антиоксидантные свойства препаратов из чаги изучены в ряде работ. Проведена оценка антиоксидантной активности *in vitro* методом спонтанной и инициированной двухвалентным железом хемилюминесценцией [96]. Показано, что препарат из чаги уменьшает в 1,75 раза спонтанные свечения и в 2,5 раза – инициированную хемилюминесценцию. Аналогичный эффект наблюдается при действии ионола с концентрацией 0,01 мМ.

Криопорошок чаги сдерживал увеличение содержания малонилдальдегида в плазме крови крыс на фоне 60-суточного лучевого воздействия и снижал уровень Р-белков в 3,5 раза по сравнению с контролем. Как известно, данный тест является высокочувствительным показателем деструктивных процессов, происходящих в организме, дестабилизации иммунобиологической защиты и нарушения гомеостаза [92].

В работе [97] проведена оценка антиоксидантных и иммуномодулирующих свойств препарата из чаги – бальзама «Березка». Показано, что препарат нормализует содержание малонилдальдегида, SH-групп, активность каталазы, супероксиддисмутазы в плазме крови крыс, нарушенных введением четыреххлористого углерода.

Было установлено [24], что полифенольный экстракт гриба также, как и экстракт, содержащий тритерпены и стерины, обладают выраженной антиоксидантной активностью, тогда как полисахаридный экстракт не проявлял этих свойств. Показана высокая антиоксидантная активность метанольного экстракта чаги [21].

Антиоксидантный эффект чаги подтвержден в клинических условиях у больных пневмонией [98] и больных с мягкой артериальной гипертензией [96] по показателям перекисного окисления липидов.

Препараты из чаги применяют в качестве симптоматического средства при различных онкологических заболеваниях в тех случаях, когда исключены хирургическое вмешательство и лучевая терапия. Они особенно эффективны в сочетании с традиционными методами лечения. Значительно улучшается самочувствие и состояние здоровья у больных раком III-IV стадии заболевания независимо от локализации опухоли при длительном (6-9 месяцев)

применении препаратов. У большинства больных через 3-4 недели использования препаратов чаги уменьшаются, а через некоторое время прекращаются боли [99-103,4].

Наблюдения за органами и системами организмов у животных с привитыми опухолями и у больных раком людей, которые принимали препараты чаги, не позволили определить механизм их действия на опухоль [104-116]. Было сделано предположение, что чага, не обладая специфическим действием на опухоль, оказывает тонизирующее влияние на центральную нервную систему, а в дальнейшем, при длительном лечении, нормализует нарушенные обменные процессы в организме и тем самым оказывает тормозящее действие на рост опухоли [117]. Противоопухолевое действие чаги показано также в более поздних исследованиях [16,17,28,29].

Сухой экстракт, полученный на основе водного извлечения с применением ультразвука [7], превосходит в 1,5 раза по адаптогенной активности и в 2 раза по противоязвенному действию препарат бифунгин. Эти свойства экстракта авторы объясняют полисахаридной и флавоноидной фракциями, выделенными из экстракта [8]. Противоязвенный эффект этих фракций реализуется в основном за счёт снижения числа деструкций на слизистой оболочке желудка, а также снижения количества животных с язвами в группе. Этот экстракт эффективно тормозил образование метастазов у мышей с привитой карциномой лёгких Льюиса. Процент торможения развития метастазов при назначении бифунгина составлял 64 %, а при назначении сухого экстракта чаги – 99 %.

Поскольку иммунная система обеспечивает безопасность жизнедеятельности организма и борется с образующимися в нём раковыми клетками, рост или регрессия раковых клеток в теле хозяина зависит от его статуса пролиферации клеток и апоптоза [118]. То есть развитие раковых клеток в теле хозяина определяется экспрессией *bax* и *bcl-2* генов [119-120]. *Bax* принадлежит к семейству *bcl-2*, продукты которых регулируют смерть клетки, тогда как продукты *bcl-2* распознаются как факторы выживания для многих типов клеток, в том числе раковых [118]. Считается, что жизнедеятельность раковых клеток влияет на функциональный потенциал клеток иммунной системы за счёт секреции иммуноподавляющих факторов. Это изменяет иммунные ответы организма хозяина [121-123]. Появился ряд сообщений о том, что раковые клетки посылают сигналы об апоптозе для лимфоцитов [124].

В настоящее время исследователи обращают внимание на ответ иммунной системы при введении медикаментозного средства, предназначенного для борьбы с раком. Показано, что препараты, приготовленные на основе чаги, обладают выраженным иммуномодулирующим действием.

Препарат «БРМ-Ц», приготовленный на основе чаги, исследовался на мышах, подвергавшихся гамма-излучению. Через месяц после облучения у животных, получавших препарат в течение 7 дней, сразу после облучения обнаруживалось увеличение содержания иммунорегуляторных клеток. Процент Т-хелперных лимфоцитов возрастал с 7,8 до 16,0, нормализовалась цитотоксическая активность клеток киллеров [125].

В исследованиях [95], проведённых на мышах, экстракт чаги обладал широким спектром иммуностропной активности в концентрациях от 1 до 100 мг/кг, стимулировал в 1,5-2,0 раза пролиферативную активность лимфоцитов, трансформированных *in vitro* поликлональным митогеном или аллоантигеном смешанной культуры лимфоцитов селезенки аллогенных мышей. Этот препарат индуцировал дополнительное образование цитолитических лимфоцитов. Кроме того, показана возможность коррекции экстрактом чаги вторичных иммунодефицитных состояний у мышей, вызванных введением противоопухолевого цитостатика арапозы.

В работах [25,26] установлено противовоспалительное действие метанольного и этанольного экстрактов чаги. Водный экстракт чаги сдерживает повреждение ДНК в лимфоцитах под действием перекиси водорода [27].

Ключевой работой в объяснении механизма противоракового действия препаратов на основе чаги является исследование профессора Weifa Zheng с соавторами [126]. Для испытаний приготовлен водный экстракт восьмикратной экстракцией чаги кипящей водой. Удалив растворитель, получен сухой экстракт (СЭ), содержащий меланины (56,1 %), полифенолы (19,7 %) и полисахариды (22,9 %). Применение СЭ в дозе 100 мг/кг не показало иммунотоксичности на тестируемых здоровых мышах. Трансплантация Саркомы 180 привела к снижению индекса лимфоидных органов (селезёнки и тимуса) и в особенности снижению индекса Т лимфоцитов (с 2,37 мг/г до 1,26 мг/г). Применение СЭ в концентрации 20 мг/мл показало ингибирование пролиферации клеток Саркомы 180 на 30 % и подавляет рост раковых клеток в концентрации 60 и 100 мг/мл на 40 % и 57 % соответственно. В то время как СЭ во всех исследованных концентрациях (20, 60 и 100 мг/кг) не показал цитотоксического эффекта в отношении клеток почки K293.

У мышей с трансплантированной Саркомой 180 индекс Т лимфоцитов снизился вдвое, а лимфоцитов селезёнки на 2/3 от нормального уровня. Применение СЭ в дозе 60 мг/кг привел к незначительному увеличению индекса Т лимфоцитов от 1,26 до 1,81 мг/г и существенному повышению индекса лимфоцитов селезенки с 4,13 до 11,22 мг/г (в сравнении с мышами с трансплантированной Саркомой 180, которые не принимали СЭ). Оральное применение СЭ в дозе 60 мг/кг предохраняет лимфоидный орган у мышей с Саркомой 180 не только за счёт возрастания количества лимфоцитов селезёнки, но и за счёт стимуляции пролиферации лимфоцитов. Поскольку применение СЭ в дозе 100 мг/кг в сравнении с предыдущей дозой слегка снижает накопление лимфоцитов, их пролиферацию и антираковый эффект, авторами высказано предположение о том, что снижение иммуномодулирующего эффекта с повышением концентрации СЭ обусловлено присутствием в СЭ полисахаридов, которые обычно запускают инактивацию иммунной системы организма хозяина [127]. С другой стороны, Мизуно описал 21 разновидность полисахаридов, присутствующих в природной чаге, отличающихся по структуре [128]. Из них ксилогалактогликан обладает выраженной иммуномодулирующей и противораковой активностью [129].

Как упоминалось ранее, рост или регрессия рака в организме хозяина в большей степени зависит от экспрессии *baх* и *bcl-2* генов. Многие противораковые средства уничтожают раковые клетки, запуская их апоптоз как *in vitro*, так и *in vivo* через митохондрии или через «рецептор смерти» [130,131]. Запуск апоптоза в ответ на химиотерапию заключается в индукции или активации различных медиаторов, включая экспрессию или функционирование генов семейства *bcl-2* [132]. Массовое производство про-апоптозных протеинов за счёт сверх высокой экспрессии гена *baх* приводит к регрессии рака. В противоположность этому массовая экспрессия гена *bcl-2* приводит к созданию условий для роста раковых клеток [133]. У мышей с привитой Саркомой 180 не наблюдалась экспрессия антиапоптозного гена *bcl-2*, в то время как отмечена экспрессия проапоптозного гена *baх* в нормально развивающейся Саркоме 180. Масса опухоли достигла 2,19 г через 14 дней после трансплантации. Лечение мышей, имеющих Саркому 180, с помощью СЭ в дозе 20 мг/кг существенно ингибировало экспрессию гена *bcl-2* и стимулировало экспрессию гена *baх*. Это отразилось в уменьшении веса опухоли на 27,71 %. При применении СЭ в дозе 60 мг/кг экспрессия гена *baх* увеличилась максимально и вес опухоли снизился на 76,86 %. При увеличении дозы СЭ до 100 мг/кг стимуляция экспрессии гена *bcl-2* и снижение роста опухоли стали менее эффективны.

Ранее было установлено, что в клетках с апоптозом синтез ДНК блокируется в фазе G0-G1 [133]. Соответственно, интервенция синтеза ДНК раковых клеток становится одной

из терапевтических целей противораковых лекарств. Основная терапия рака обычно применяет ДНК – повреждающие агенты, такие, как ионизирующая радиация и химиотерапевтические средства в дополнение к хирургическому вмешательству. Однако применение этих агентов также приводит к сильнейшему подавлению лимфоцитов организма хозяина в то же время, когда запускается апоптоз в раковых клетках [134]. Побочные эффекты химиотерапии очень сильно лимитируют лечебные дозы и прогнозы на выздоровление. Бурсцук с соавторами [135] показали, что водный экстракт чаги блокировал митоз клеток HeLa с возрастанием числа клеток в фазе G0-G1 *in vitro*. При нормальном росте клеток Саркомы 180 более 60 % клеток были в фазах G2-M, 35 % в S и только 2,02 % в G0-G1 фазе. В соответствии с их статусом активного роста только 2,06 % клеток имели стадию апоптоза. Динамика количества клеток Саркомы 180, находящихся в G0-G1 фазе, в зависимости от применённой концентрации СЭ составило: 20 мг/мл – 32,54 %, 60 мг/мл – 86,79 %, 100 мг/мл – 34,11 %. Апоптоз клеток Саркомы 180 существенно возрастал при применении СЭ и составил 22,28 %, 34,67 % и 43,36 % соответственно указанным концентрациям СЭ по сравнению с апоптозом, наблюдаемым в нормально развивающихся клетках Саркомы 180, – 2,36 %. С другой стороны, СЭ также показал защитный эффект от окислительного повреждения ДНК в лимфоцитах человека [27]. Эти результаты отчётливо демонстрируют, что СЭ селективно запускает апоптоз раковых клеток.

TNF является одним из факторов, выделяемый активированными макрофагами [136]. Адекватная доза TNF может воздействовать на рецептор, запускающий апоптоз [137]. В норме TNF- α ответ макрофагов у здоровых мышей находится на уровне $ca. 10$ pg/ml в фильтратах культуры и достигает до 22,35 pg/ml и 68,73 pg/ml при применении СЭ в дозе 20 и 60 мг/мл соответственно. Повышение концентрации СЭ до 100 мг/мл приводит к снижению TNF- α в фильтрате культуры до 55,69 pg/ml. В сравнении – этот показатель у мышей с Саркомой 180 в фильтрате культуры составлял 4,27 pg/ml. Таким образом, одним из механизмов для запуска апоптоза раковых клеток с помощью СЭ, вероятно, является активация макрофагов и, возможно, других лимфоцитов, что приводит к увеличению выделения TNF. Следовательно, препарат из чаги (СЭ) осуществляет эффективную защиту лимфоцитов от индуцированного раковой опухолью их апоптоза и имеет значительный потенциал для индуцирования апоптоза в раковых клетках. Его применение приводит к активации клеток иммунной системы и усилению ими защиты организма в отношении онкогенеза.

Таким образом, показано, что на действие извлечений и препаратов чаги на организм животных и человека влияет способ их получения. В основе лечебных свойств препаратов чаги лежат – их действие на центральную нервную и иммунную системы, антиоксидантные свойства и активация ферментов крови. Это объясняет их высокую эффективность применения в качестве антитоксических, радиопротекторных и адаптогенных средств, а также использование для профилактики и лечения предраковых и раковых заболеваний.

Химический состав чаги

Наросты чаги в продольном сечении имеют три слоя, отличающихся по цвету. Верхний слой черный, его в иностранной литературе ряд авторов называет его *sclerotium* (ST) – плотная часть, затем идёт плотный слой темно-коричневого цвета, его называют *fruiting body* (FB) – плодовое тело, и далее рыхлый светлокоричневый, непосредственно прилегающий к древесине. При заготовке для производственной переработки и поступления в аптечную сеть используются первые два слоя.

Элементный состав чаги. Количество зольных элементов в чаге составляет в среднем 12-15 %, что в 2-3 раза больше, чем в многолетних трутовых грибах и в 7-13 раз больше, чем в древесине и коре березы [55]. Резкое повышение содержания зольных элементов в чаге автор связывает с усиленным притоком древесных соков из корневой системы, а также – из кроны к камбию, окружающему пораженный чагой участок дерева. Определён состав катионов: SiO_2 – 1,73 %, Fe_2O_3 – 0,03 %, Al_2O_3 – 0,17 %, CaO – 1,88 %, MgO – 2,45 %, $\text{Na}_2\text{O} + \text{K}_2\text{O}$ – 52,30 %, ZnO – 0,06 %, CuO – 0,005 %, Mn_2O_3 – 1,24 %, и анионов: SO_4 – 5,90 %, P_2O_5 – 8,89 %, CO_2 – 40,90 %. Следует отметить высокое содержание калия и натрия в золе чаги – около 52 % всей золы. При этом содержание калия почти в 5-6 раз больше, чем натрия. Преобладание в золе калия, особенно активно участвующего в метаболизме растительных клеток и тканей, указывает на интенсивный приток продуктов ассимиляции внутрь наростов чаги [55].

Анализ золы каждого из слоев чаги позволил обнаружить следующие элементы: в верхнем слое – Si, P (следы), Na, K, Cu, Mg, Ca, Zn, Al, Mn, Fe; в срединном плотном слое – Si, P (следы), Na, K (много), Ag (следы), Cu, Mg, Al, Mn, Fe; во внутреннем рыхлом слое – Si, P, Na, K, Ag (следы), Cu, Mg, Al, Mn, Fe. При этом наибольшее количество золы дает верхний и средний плотный слой наростов чаги. В более поздних исследованиях [81,52] с использованием рентгено-флюоресцентной адсорбции и атомно-адсорбционной спектроскопии в чаге были определены следующие элементы: C – 39 %, H – 3,6 %, O – 40-45 %, N – 0,4 %, K – 9–10 %, Mg – 0,64 %, Ca – 0,37 %, Cl – 0,33 %, P – 0,23 %, Na – 0,05 %, Rb – 0,04 %, S – 0,02 %, Mn – 0,02 %, Fe, Cu, Zn, V, Cr, следы Ni, Se, J, Ba, Br и Sr. Сравнение приведенных результатов с данными, полученными в работе [55], показывает, что состав зольных элементов чаги отличается, но сохраняется закономерность преобладания в золе калия над натрием. Распределение веществ по фракциям, экстрагируемым из гриба различными растворителями. Анализ эфирных и ацетоновых вытяжек из чаги [56] показал, что содержание ацетонорастворимых веществ (2,26 – 2,92 %, – здесь и далее приведены значения в двух слоях) во всех слоях чаги выше, чем веществ извлекаемых эфиром (1,10 – 1,39 %). После обезжиривания сырья была проведена водная экстракция чаги (содержание сухих веществ составило 36 – 40 и 30 – 32 % соответственно), а также её экстракция 2 % раствором HCl (17,60 – 17,90 %). Самое высокое содержание в водных экстрактах чаги составляют вещества, осаждаемые из них HCl, то есть полифенолоксикарбоновый или хромогенный комплекс или меланин (16,04 – 15,08 %). Содержание клетчатки в чаге составило 1,79 и 5,50 %, гемицеллюлоз 8,30 – 10,40 %, а лигнина 29,10 и 28,02 %. Это свидетельствует о том, что чага ассимилирует больше лигнина для включения в свой метаболизм по сравнению с клетчаткой и сопутствующие им полисахариды. Показано, что лигнин чаги представляет собой темно-коричневую комковатую массу, легко растворяющуюся в щелочах, дающий при щелочно-нитробензольном окислении вещества с запахом ванилина. Характерным для данного лигнина является также отсутствие реакции с фенолом [56]. Установлено [138], что водорастворимый лигнин,

выделенный из гриба чаги, подавляет действие протеазы вируса иммунодефицита человека в количестве 2,5 мкг/мл.

Интересно отметить, что в чаге практически не содержатся редуцирующие сахара, зато присутствует большое количество полисахаридов (4,80 %) синтезируемых грибом. Особый интерес вызывает то, что при экстракции чаги эфиром и ацетоном в экстракты переходит достаточно большое количество общего азота (5,10 – 6,50 и 5,80 – 6,00 мг/100 г чаги соответственно). То есть можно предположить, что белок чаги имеет достаточно много липофильных участков либо связан с липофильными веществами, если при экстракции чаги ацетоном или эфиром переходит в извлечение. В водное и кислое извлечение переходит очень мало азотсодержащих веществ менее 0,18 мг/100 г чаги. Малое количество водорастворимого азота, по мнению авторов, объясняется тем, что и в самой чаге содержание азота очень незначительно.

В более ранней работе Драгендорфа Г. [139] также показано низкое содержание азота в чаге. В другой работе [140] проводилось определение содержания в чаге общего азота по полумикрометоду Кьельдаля, белкового азота по методу Барнштейна и сырого белка путем умножения количества белкового азота на коэффициент 6,25. Было показано, что чага содержит: азот общий – 0,45 % от абсолютно сухого веса гриба; азот белковый – 0,41 %; сырой белок – 2,56 %. Таким образом, авторами было установлено, что практически весь азот чаги представлен белковым азотом. В более поздних исследованиях [95,141] определено наличие в чаге лектинов – веществ, относящихся к классу сложных гликопротеинов. Согласно литературным данным [142,143], лектины могут стимулировать рост и деление лимфоцитов, участвовать в регуляции иммунологических реакций, блокировать рецепторы опухолевых клеток, подавляя их миграцию.

Изучение кислотного состава чаги показало наличие в грибе летучих органических кислот: муравьиной – 0,078 %; уксусной – 0,108 %; масляной – 0,076 % на сухой вес гриба [144]. Содержание щавелевой кислоты составляет 0,88 – 1,21 %, а ароматических кислот, представленных сиреневой, ванилиновой, п-оксibenзойной и протокатеховой кислотами, – 0,28 – 0,31 % [56]. Кроме этого, выделены и идентифицированы кофейная и 2,5-дигидрокситерефталевая кислота, а также 3,4-дигидроксibenзальдегид, 3,4-дигидроксibenзиллацетон и 2-гидрокси-1-гидроксиметилэтиловый эфир 4-гидрокси-3,5-диметоксibenзойной кислоты [20].

Флуориметрическим методом в работе [145] показано наличие в чаге птериновых соединений типа фолиевой кислоты в количестве 6 – 10 мг/г, которые, по мнению авторов, могут обуславливать лечебное действие чаги.

Стерины и тритерпены, извлекаемые из гриба чаги. В исследованиях Ловягиной и Шивриной [146,147] проведено определение суммы стеринных и тритерпеновых кислот в чаге. Показано, что содержание стероидных веществ, извлекаемых спиртом, составляет 2,70 % от сухого веса гриба, неомыляемых веществ – 0,85 %, тритерпеновых кислот – 0,04 %. Из неомыляемой фракции спиртовой вытяжки чаги авторами было выделено в кристаллическом состоянии пять соединений [148-150,2-3]. Они были идентифицированы как ланостерол, производное ланостерола, инотодиол и эргостерол, а также обликвиновая и инонотовая кислоты. Все выделенные соединения были проверены на антибластомную активность *in vitro* против асцитного рака Эрлиха. Показано, что заметным действием на раковые клетки обладал инотодиол [146], кроме того, он ингибировал устойчивость колоний раковых клеток к лекарственным препаратам [19].

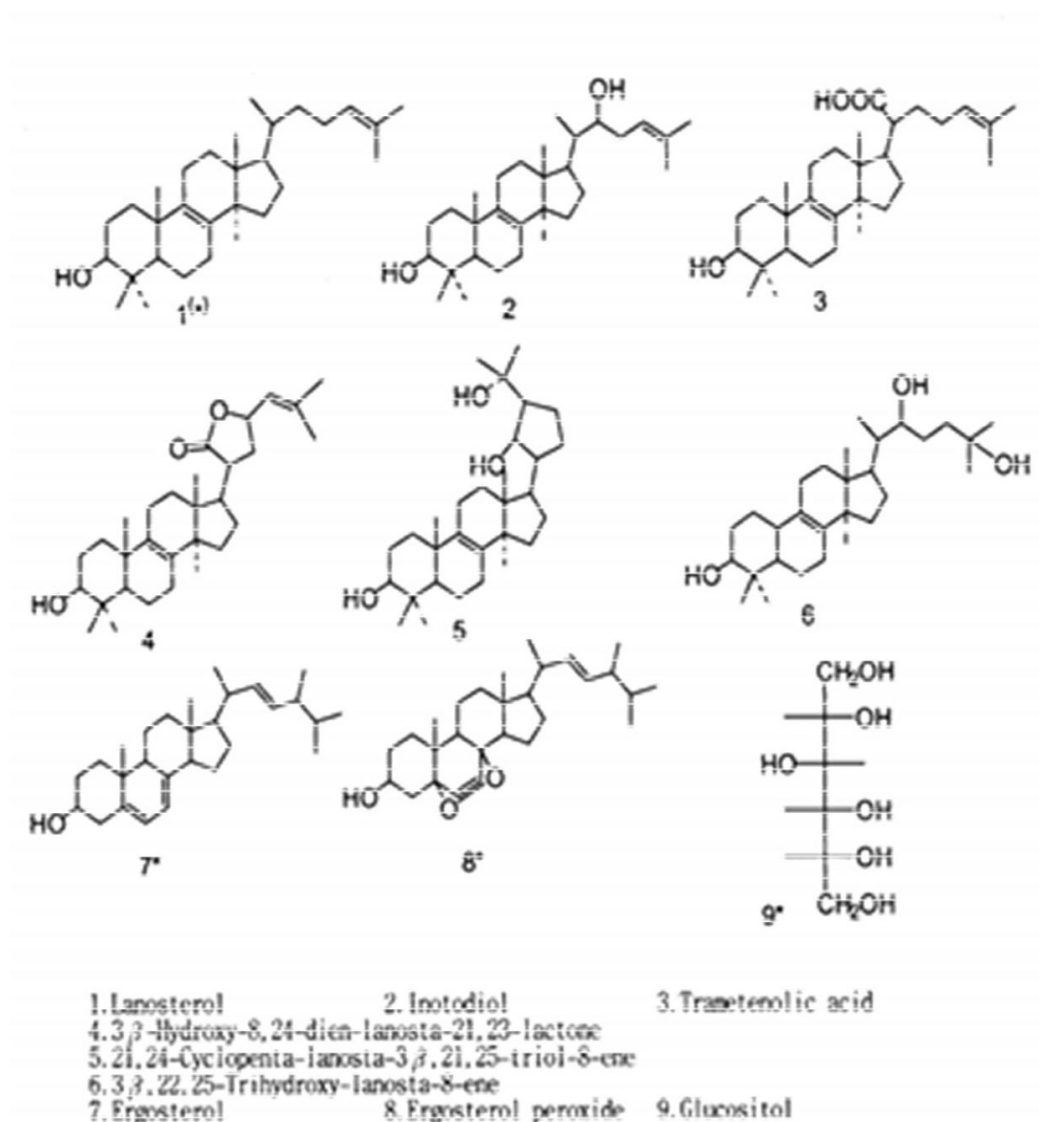


Рисунок 2 Структурные формулы идентифицированных веществ, выделенных из природной и культивируемой чаги (Вещества, отмеченные *, выделены из мицелия культивируемой чаги) [22]

Исследования, проведенные финляндским ученым Kahlos K., позволили подробно и глубоко изучить состав тритерпенов чаги и их биологическую активность, в частности, противоопухолевое действие [12-14]. В экстрактах, полученных путем обработки чаги 95 % этанолом, идентифицированы терпены, представленные на рисунке 2 [22].

Фенольные соединения, извлекаемые из гриба чаги. Исследуя 50 % этанольные экстракты природной чаги (ПЧ) и фильтрат культивируемой чаги (КЧ), Зхенг с соавторами [151] пришёл к выводу о различии биосинтеза фенольных соединений указанными объектами исследования. С помощью ВЭЖХ авторами идентифицированы 15 соединений фенольной природы, содержащихся в ПЧ (82,99 %), и 12 соединений этого класса – в КЧ (79,73 %). Показано, что в КЧ преобладают флавоноиды: кемпферол, нарингин, нарингенин, нарирутин, EGC (эпигаллокатехин), ECG (эпикатехингаллат), фортулетин; присутствует незначительное количество меланина и в следовом количестве наблюдаются аналоги гиспидина (6-(3,4-дигидроксистирил)-4-гидрокси-2-пирон); галловую и ферулловую кислоты было трудно определить.

Из фенольных соединений в ПЧ преобладают аналоги гиспидина, включая феллигридины (phelligridins) А и D, иноскавины (inoscavins) А и В, а также меланин. В небольших количествах в ней обнаружены галловая, феруловая кислоты и флавоноиды (фортунелетин, нарингенин, кемпферол, EGC (эпигаллокатехин), нарирутин). Как в ПЧ, так и в КЧ были обнаружены фенилаланин и тирозин. В более ранних исследованиях [152,153] в ПЧ также были обнаружены аналоги гиспидина, включая иноскавины А, В и С, инобилины (inobilins) А, В и С, феллигридины D, Е и G (рисунок 3).

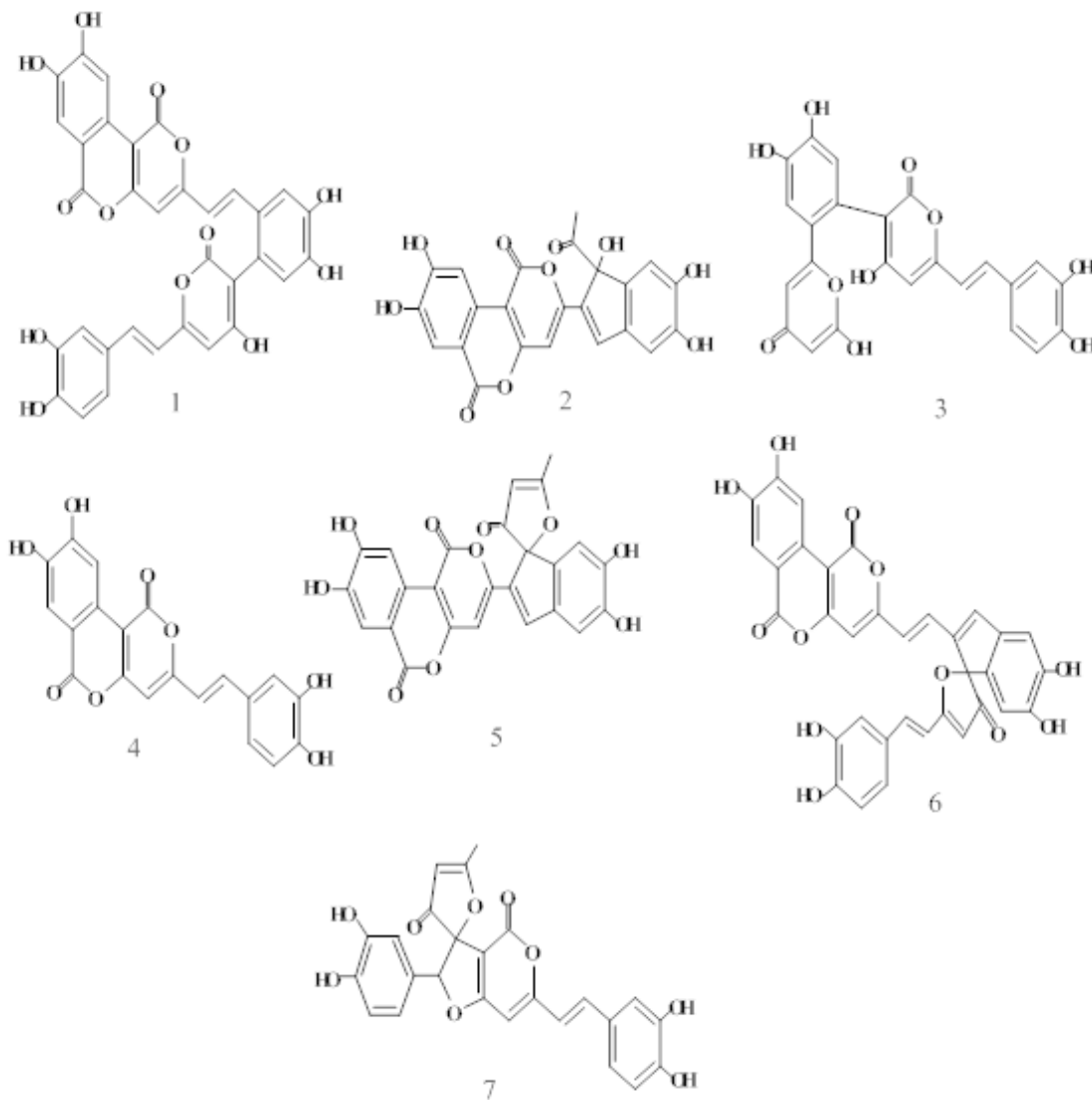


Рисунок 3 Структурные формулы инобилинов А (1), В(2), С (3), феллигридинов D (4), Е (5), G (6) и иноскавина А (7)

Эти соединения показали высокую активность по отношению к ABTS (2,2'-азино-бис-3-этилбензотазолин-6-сульфоновая кислота) радикалам и DPPH (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил) радикалам и умеренную активность по отношению к супероксид анион радикалу. Электронный потенциал (E°) рассматривают как меру реакционной способности антиоксиданта, как донора водорода или электрона в стандартных условиях. Более низкие значения E° указывают на то, что требуется меньше энергии для отдачи молекулой водорода или электрона. Катехины имеют значения E° (EGC = 430мВ, ECG = 550мВ) на уровне со значением E° для витамина Е (480мВ), но выше, чем у витамина С(280мВ) [154].

Предполагают, что эти соединения образуются из гиспидина, синтезируемого на основе фенилаланина по поликетидному пути [153]. Гиспидин растворим в ДМСО и нерастворим в воде. Необходимо отметить, что гиспидин является ингибитором протеинкиназы С (PKC) VI и VII изоформ [155]. Установлено [156], что высокоочищенный гиспидин в концентрации от 10^{-5} до 10^{-7} М/л обладает цитотоксичностью в отношении фибробластов MRC-5 человека и клеток рака человека – кератиноцитов (SCL-1), а также клеток рака поджелудочной железы (Сарап-1). В тоже время он не проявляет цитотоксичность к здоровым клеткам организма человека. В работе Зхенга с соавторами [151] показано, что при использовании в качестве иммунодепрессанта циклофосфамида восстановление иммунной системы мышей и их жизненного статуса при применении ПЧ оказалось в два раза более эффективным, чем применение КЧ. Ранее было установлено, что длительное применение циклофосфамида разрушает ДНК лимфоцитов и таким образом приводит к их апоптозу. Соответственно, циклофосфамид приводит к угнетению как клеточного, так и гуморального иммунитета. Это означает, что аналоги гиспидина и меланин более эффективно защищают ДНК лимфоцитов от окислительного повреждения у мышей с подавленной иммунной системой, чем флаваноиды, а также повышают потенциал пролиферации лимфоцитов HIV [157] и эффективны в отношении вирусов гриппа H1N1 и H3N2 [158].

Водные извлечения чаги

Основным отличительным свойством чаги от других трутовиков является большое количество в ней водорастворимых веществ [56]. Основным компонентом водных извлечений из чаги являлся меланин, количество которого составляет 50-60 % от их сухого остатка [56-57, 147, 159].

Зольные элементы в препаратах чаги составляют почти 28-30 % от сухого остатка препаратов чаги. Они представлены: SiO_2 – 1,64 %; R_2O_3 – 0,38 %; MgO – 1,86 %; CaO – следы; Mn_2O_3 – 1,04 %; Na_2O – 13,32 %; K_2O – 62,70 % от всей золы [55]. В другом исследовании показано наличие в водных извлечениях чаги К 55,0 мг/г, Mg 2,1 мг/г, Na 0,18 мг/г, Ca 0,39 мг/г, Mg 0,15 мг/г, Zn 0,1 мг/г, Al 0,052 мг/г, Fe 0,035 мг/г, B 0,033 мг/г, Ba 0,011 мг/г, Cu 0,0079 мг/г и Cd, Cr, Ni, Pb в следовых количествах [15]. При этом показано, что практически все соли калия, натрия и большая часть катионов магния, марганца переходят из сырья в водный экстракт чаги.

При проведении водной экстракции чаги без предварительного обезжиривания сырья, в целом, количество извлекаемых веществ и их качественный состав существенно не изменяется. Снижается количество птериновых соединений, а также стеридов и тритерпенов [146]. Алкалоидов в водном извлечении чаги не обнаружено [139, 159].

П.А. Якимов [160] охарактеризовал водные извлечения чаги как коллоидные полидисперсные гидрофильные системы, дисперсная фаза которых представлена полифенолоксикарбоновым комплексом – меланином. Агрегативная устойчивость лиофильных коллоидных систем не остается постоянной. Уже при не длительном хранении водных коллоидных систем самопроизвольно возникают явления агрегации, которые ведут к последовательной седиментации потерявших кинетическую устойчивость укрупненных коллоидных частиц.

Для оценки содержания меланина в получаемых водных извлечениях практическое применение имеет его осаждение соляной кислотой. Именно с количественным содержанием меланина в водном извлечении чаги связывают терапевтическую эффективность фармакологических препаратов, получаемых на его основе [53, 161]. Агрегативная устойчивость меланина резко снижается при изменении значения pH водного извлечения добавлением других минеральных и некоторых органических кислот [64]. Показано, что с помощью добавления различного количества кислоты можно получить различные фракции дисперсной фазы. При изменении исходного значения pH с 5,9 до 4,7 наблюдается выпадение темноокрашенной части осадка. Повторное подкисление фильтрата позволяет получить из него менее окрашенные фракции. Каждая из примененных минеральных кислот полностью осаждала меланин при значении pH среды, равной 2,2 и ниже. Щавелевая кислота даже при pH среды 1,9 осаждала две трети меланина, уксусная кислота не осаждала его совсем.

Процесс седиментации дисперсной фазы может быть проведен добавлением к водному извлечению чаги специально подобранных электролитов из числа нейтральных солей [64]. Авторами проведено исследование агрегативной устойчивости коллоидной системы водного извлечения чаги с содержанием сухих веществ 1,2 % растворами солевых электролитов различной концентрации. При применении максимальной концентрации раствора хлористого натрия (32 %) в осадок выпадало только 44,1 % меланина, что может свидетельствовать об относительно высокой устойчивости дисперсной фазы водного извлечения чаги к нейтральным солям одновалентных катионов. При добавлении 8 % раствора хлористого кальция из водной вытяжки чаги осаждалось почти в 2 раза больше меланина, чем при добавлении насыщенного раствора хлорида натрия. Применение в качестве осаждающего агента раствора алюмокалиевых квасцов в той же концентрации (8 %) вызывало почти полное оса-

ждении меланина (98,72 %). Растворы уксуснокислого свинца даже в незначительной концентрации (2 %) осаждали меланин полностью (98,90 %).

Для определения отличий в структурной организации коллоидных систем водных извлечений, полученных различными способами экстракции, они были исследованы с помощью ЯМР-релаксации. [162] Данный метод позволяет определить относительные изменения в строении и молекулярной подвижности компонентов меланина в зависимости от его состояния (в сырье, в водном извлечении, в твердом состоянии). На рисунке 4 представлены температурные зависимости спин-решеточной релаксации (T_1) водных извлечений чаги, полученных различными методами экстракции: реперколяцией, ремацерацией и с механическим перемешиванием среды [162, 243-248]. Времена спин-спиновой релаксации (T_2) исследуемых образцов меняются аналогично (T_1), и поэтому не приводятся. Как видно на рисунке 5, условная ширина спектров времен корреляции Δ ($\Delta \sim T_1/T_2$) меняется с температурой по экстремальному закону с общим максимумом для образцов, получаемых методами ремацерации (система 1) и реперколяции (система 2) в области 50 °С, а при использовании механического перемешивания (система 3) в области 60÷70 °С. Согласно полученным результатам, каждый из применённых способов экстракции приводит к формированию индивидуальной коллоидной системы с соответствующими значениями параметров релаксации.

Анализ данных в области 70 °С (температуры проведения экстракции) показывает, что релаксационные характеристики коллоидной системы 2 могут быть представлены как среднее значение соответствующих параметров для систем 1 и 3 (рисунки 4 и 5) [192].

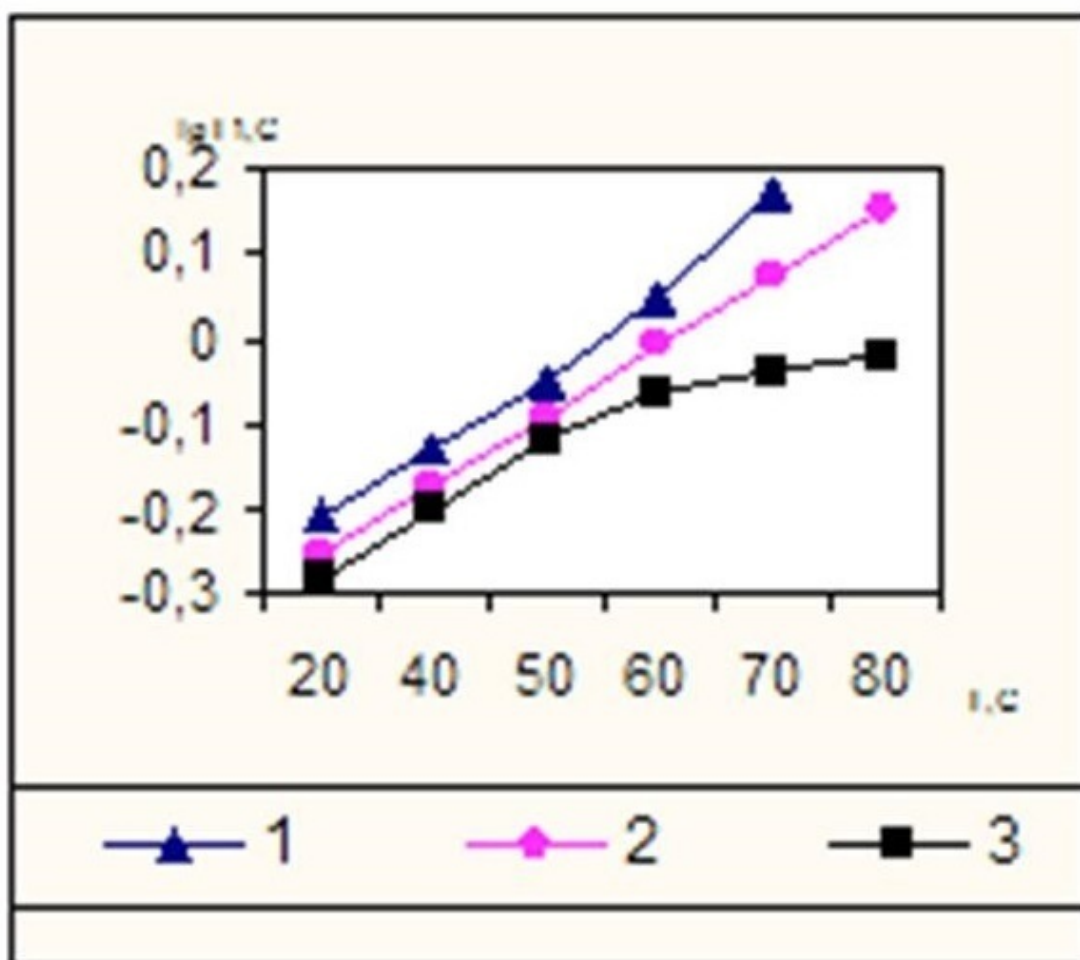


Рисунок 4 Температурная зависимость времен спин-решеточной релаксации водных извлечений чаги.

- 1 – механическое перемешивание;
- 2 – ремацерация;
- 3 – реперколяция.

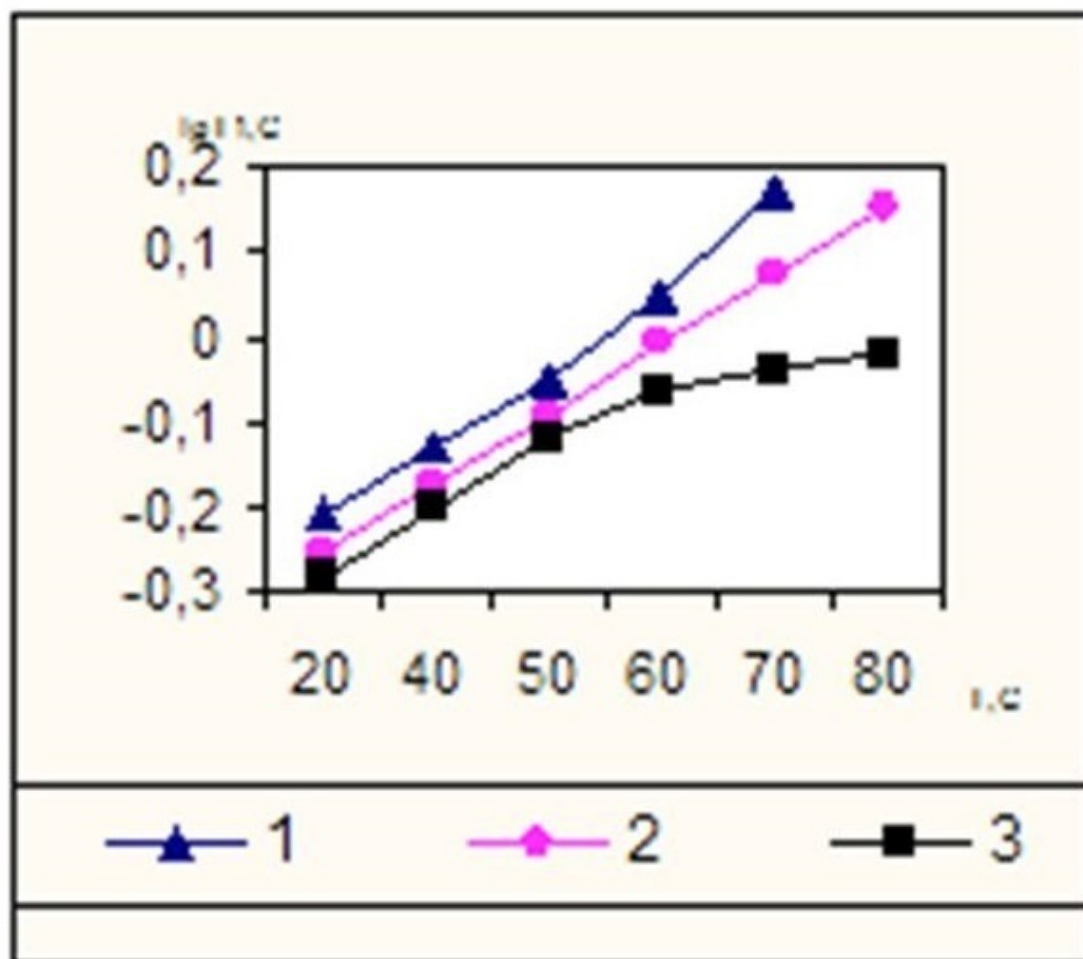


Рисунок 5 Температурная зависимость условной ширины спектра времен корреляции водных извлечений чаги ($\Delta = T_1/T_2$).

- 1 – механическое перемешивание;
- 2 – ремацерация;
- 3 – реперколяция.

Это позволяет предположить, что структурно-конформационный состав полимерной компоненты системы 2 представляет собой суперпозицию структурно-конформационных особенностей полимерных компонент систем 1 и 3. С увеличением температуры, как правило, происходит гомогенизация системы по молекулярной подвижности и, соответственно, падает величина Δ . Но судя по рисунку 5, до температуры 50 °C у системы 2 и 3 и до 60÷70 °C у системы 1 ширина спектра времен корреляции Δ возрастает, что можно объяснить ростом объема межмолекулярных взаимодействий в коллоидной системе, например, вследствие набухания полимерной компоненты.

Этот процесс протекает наиболее интенсивно в системе 2 и наименее эффективен для системы 3. Однако процесс гомогенизации в водных извлечениях по молекулярной подвиж-

ности наиболее легко протекает для системы 3 и с максимальными энергетическими затратами для системы 1 (рисунок 5). По эффективности процесса набухания полимерной компоненты (по объему и энергетическим затратам), по параметру однородности и молекулярной подвижности дисперсной фазы исследуемые системы можно расположить в следующем порядке: $1 < 3 \ll 2$. Эта зависимость количественных характеристик водных извлечений и молекулярной подвижности дисперсной фазы Δ при использовании различных способов получения водных извлечений приведена на схеме рисунка 6.

Способ получения водного извлечения			
Номер партии сырья	реперколяция	механическое перемешивание	ремацерация
I	1.38	1.47	1.58
II	1.24	1.32	1.60
	<u>Однородность водной фазы</u>	→	<u>Неоднородность водной фазы</u>

Рисунок 6 Схема изменения молекулярной подвижности дисперсной фазы $\Delta = T_1/T_2$

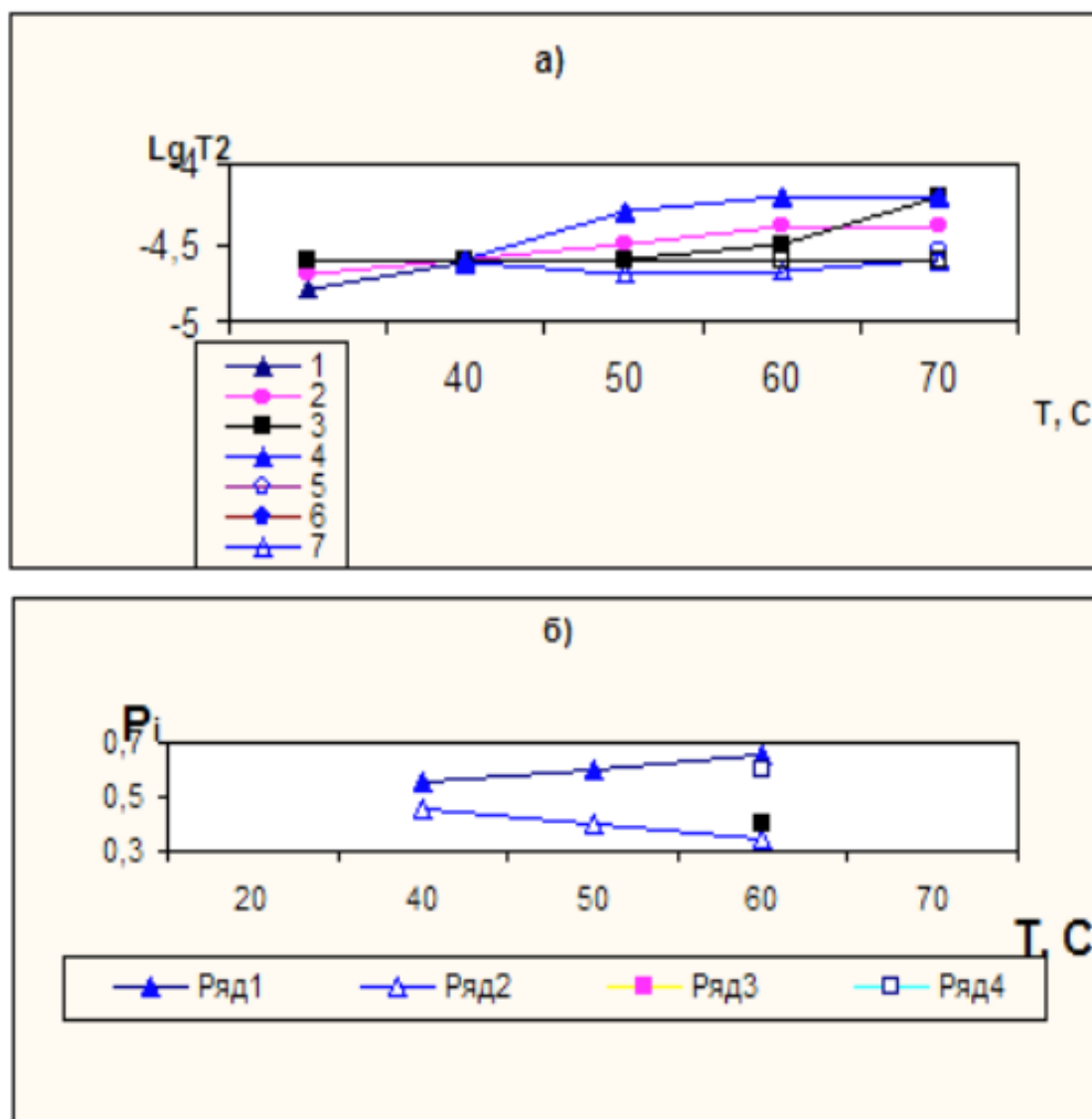


Рисунок 7 Температурная зависимость параметров спин-спиновой релаксации меланинов водных извлечений чаги.

а) времена релаксации линии ЯМР Лоренцевой формы: 1 – механическое перемешивание; 2 – ремацерация; 3 – реперколяция; 4 – T_{21} время релаксации длинной компоненты; 5 – T_{22} время релаксации короткой компоненты 6 – T_{21} время релаксации длинной компонент; 7 – T_{22} время релаксации короткой компоненты.

б) населенности соответствующих компонент ССИ: 1 – короткая компонента ССИ (P_2); 2 – длинная компонента ССИ (P_1); 3 – короткая компонента ССИ; 4 – длинная компонента ССИ.

Наблюдаемая корреляция релаксационных параметров водных извлечений показывает, что мы имеем дело с изменением конформационной структуры полимеров меланина, а не с особенностями механизмов релаксации, обусловленных присутствием жидкофазной компоненты в анализируемых коллоидных системах (рисунок 6).

Проведены исследования меланинов в твердом состоянии, которые выделены из водных извлечений. Меланин, выделенный из водного извлечения, полученного реперколяцией, обозначен как образец 1, ремацерацией – как образец 2 и с помощью перемешивания – как образец 3. Параметры релаксации, у образца 2, как и в дисперсионной среде, представляют

собой некую среднюю величину по сравнению с аналогичными параметрами образцов 1 и 3 (рисунок 7).

При этом только у образца 2 в области повышенных температур не наблюдается расслоения по молекулярной подвижности. Подобное расслоение для образцов 1 и 3 свидетельствует о значительно более широком распределении в них полимерной компоненты по молекулярной массе или составу.

Анализ колодных систем, на основании рисунка 5, позволяет заключить, что колодная система водного извлечения, полученного ремацерацией, характеризуется относительной легкостью набухания в воде (гидрофильностью), а результаты, приведенные на рисунке 7, позволяют отметить, что меланин в ней имеет одновременно – максимально плотную и/или однородную упаковку индивидуальных полимерных цепей. Это может быть связано с большим вкладом однородных высокомолекулярных линейных фрагментов в полимерную структуру меланина, а также подразумевает возможность формирования значительного числа жесткоцепных упорядоченных фрагментов в его составе. Хотя строгого отнесения полимеров, входящих в состав меланина и вносящих вклад в формирование его структуры, по проведенным исследованиям сделать невозможно, но хочется напомнить об основных полимерах, входящих в состав всех меланинов, в том числе и меланина чаги, – это полисахариды и белки. Согласно полученным данным, можно заключить, что образуемая в составе водного извлечения макромолекулярная структура меланина обусловлена его состоянием в золе водного извлечения и зависит от способа получения золя. [162,169,170].

Согласно релаксационным характеристикам, сырьё чаги по молекулярной подвижности имеет двухкомпонентную структуру (таблица 1) [171]. Обе компоненты соответствуют жесткоцепным полимерным формам, однако имеют существенные различия. Длинная компонента, описываемая временем спин-спиновой релаксации T_{21} , отвечает за состояние менее упорядоченной протонсодержащей структурной компоненты. Короткое время T_{22} характеризует состояние более упорядоченной компоненты. Во всех исследованных партиях сырья более жесткая компонента составляет около двух третей (в среднем 66 %) от общего количества протонсодержащего вещества, а менее жесткая компонента с более развитым молекулярным движением – приблизительно одну треть общего объема (в среднем 34 %). Качественно аналогичная картина наблюдается у всех меланинов (таблица 1). Принято считать, что основу меланина составляет трехмерный полимер нерегулярного строения, имеющий в своем составе остатки сиреневой, параоксибензойной, ванилиновой, галловой и протокатеховой кислот и их производных [43, 44, 147], в его состав еще входят белки [172] и полисахариды [173,174]. Следовательно, этот метод исследования также ставит под сомнение существование в меланине трехмерного полимера нерегулярного строения.

Таблица 1 Параметры ЯМР релаксации сырья и выделенного из него меланина

Номер партии	Длинная компонента		Короткая компонента	
	T_{21} , мкс	P_1	T_{22} , мкс	P_2
Сырье - чага				
III	92	31	18.5	69
IV	91.5	34	17	66
V	96	35	19.5	65
VI	85	32	18	68
VII	79	37	18	63
VIII	87	35	18	65
Меланин				
III	71	42	20.5	58
IV	72	46	19	54
V	73.5	42	22	58
VI	69	41	20	59
VII	73	45	19	55
VIII	56	33	20	67

Наличие в сырье и в составе меланина полимерных структур, отличающихся по своей структурной организации, могут быть различно связаны или ассоциированы в этих объектах исследования. Обе жесткоцепные полимерные формы присутствуют как в сырье, так и в меланине [168, 171]. Длинные времена T_{21} в меланине в среднем существенно ниже, чем в исходном сырье, при этом в меланине заметно возрастает средняя доля полимеров с менее упорядоченной протонсодержащей структурой. Эти данные хорошо согласуются с изменением упаковки компонентов в меланине по сравнению с их упаковкой в сырье, поскольку меланин в дисперсионной среде извлечения будет несколько изменяться под её воздействием (образование двойного электрического слоя, изменение заряда частицы ит.п.).

Таблица 2 Разница в населенностях длинной компоненты ССИ у меланина и исходного сырья общего происхождения

Номер партии сырья	III	IV	V	VI	VII	VI
$\Delta P = P_{2\text{меланина}} - P_{2\text{сырья}}, \%$	11	12	7	9	8	-2

Наибольшие различия в количестве и качестве более подвижной компоненты в меланине по сравнению с чагой, из которой он был выделен, наблюдаются для партий сырья III, IV (таблице 2) [171]. Наименьшим изменениям подвергается меланин (при проведении экстракции и выделении) из партии сырья VIII. Промежуточное положение занимают меланины, полученные из V, VI и VII партий сырья.

Согласно данным о зольности водных извлечений (таблица 3), наблюдается хорошая корреляция обсуждаемых параметров с зольностью водных извлечений и содержанием в них полисахаридов. Водные извлечения, полученные из V, VI и VII партий сырья, имеют самое высокое содержание зольных элементов и полисахаридов. Более высокое содержание меланина наблюдается у извлечения, полученного из V партии сырья, причём длинная и короткая компоненты ССИ как у сырья, так и у меланина этого образца максимальны среди исследованных партий сырья, в том числе и по сравнению с партиями сырья VI и VII.

Вероятно, поэтому выход меланина на 5-6 % выше при экстракции сырья партии V, чем из VI и VII. Водные извлечения из партий сырья III, IV имеют близкие значения зольности и количества полисахаридов. Их концентрация в извлечениях ниже по сравнению с извлечениями из партий сырья V и VI. При почти равном количестве полисахаридов и меланина в водном извлечении из партии сырья VIII, по сравнению с извлечениями из партий сырья III и IV, его зольность ниже. По всей видимости, при экстракции определенное содержание зольных элементов в извлечении способствует формированию золя и влияет на компоновку в нем меланина.

Таблица 3 Физико-химические характеристики водных извлечений чаги, полученных ремацерацией из сырья разных партий

Номер партии сырья	Содержание в водной вытяжке			
	Сухой остаток	Зольность	Выход меланина	Концентрация углеводов
	г	г	%	%
I	1.78	0.46	12.90	4.52
II	2.66	0.64	11.80	3.62
III	1.94	0.55	14.63	2.28
IV	1.52	0.65	9.75	1.84
V	2.38	1.37	20.89	2.84
VI	2.12	1.17	13.75	2.70
VII	1.27	0.65	10.50	2.30
VIII	1.60	0.44	11.39	1.86
IX	0,97	0,58	9,25	2,30
X	1,55	0,64	9,30	1,56
XI	1,70	0,37	10,65	-
XII	1,72	0,37	13,30	2,37
XIII	1,89	0,35	15,54	2,20
XIV	1,50	0,31	12,90	1,90
XV	1,61	0,34	12,40	-

На основании полученных результатов трудно приписать короткую и длинную компоненты к конкретному типу структурных фрагментов полимера в сырье и меланине, поскольку эти полимеры по-разному организованы в сырье, водном извлечении и меланине. В целом, состав полимерных компонентов у всех видов сырья в основном одинаков, но каждый из них отличается по степени их доступности.

Анализ углеводной компоненты водных извлечений [243,244,252-255] показывает, что содержание в них углеводов, представленных полисахаридами, также зависит от способа их получения. Максимальное содержание углеводов наблюдается в извлечениях, полученных ремацерацией (таблица 4). Анализ углеводов в фильтрате (таблица 4) показывает, что основная их часть переходит в состав меланина при его выделении хлористоводородной кислотой, вне зависимости от примененного способа экстракции.

Таблица 4 Физико-химические показатели водных извлечений чаги, полученных разными способами экстракции

Номер партии сырья	Способ экстракции *	Содержание в водном извлечении				
		Сухой остаток	Зольность		Выход меланина	Концентрация углеводов, $C_{\text{угл}}$
		г	г	%	%	%
I	РЕМ	1.78	0.46	25.84	12.90	4.52/4.06**
	РЕП	1.54	0.79	51.29	8.90	2.00/1.80**
	МП	1.36	0.58	42.65	7.00	1.77/1.36**
II	РЕМ	2.66	0.64	24.06	11.80	3.62
	РЕП	1.79	0.71	39.66	9.80	3.00
	МП	1.45	0.47	32.41	6.80	2.40

Примечание: * – РЕМ – ремацерация, РЕП – реперколяция, МП – при механическом перемешивании; ** – количество углеводов, перешедшее в состав меланина при его осаждении хлористоводородной кислотой.

Интересные данные получены по высвобождению углеводной компоненты при щелочном гидролизе меланинов (температура проведения гидролиза – 80-90 °С, концентрация гидроксида натрия – 10 %, время проведения гидролиза 15 часов). На зависимости количества высвобождаемых из матрицы меланина углеводов от времени проведения гидролиза наблюдалось два максимума (таблица 5), что можно объяснить тем, что они по-разному интегрированы с компонентами меланина. Первый максимум (5 час) можно объяснить разрушением полисахаридов, слабо связанных с матрицей меланина или физически адсорбированных ею. Вероятно, сюда можно отнести и те полисахариды, которые были ассимилированы меланином при его осаждении.

Таблица 5 Содержание связанных углеводов полифенольного комплекса

Способ экстракции	Суммарное содержание углеводов		
	Гидролизат полифенольного комплекса		Суммарное содержание связанных углеводов в полифенольном
	1 максимум	2 максимум	
	%	%	
РЕМ	8.90	12.72	21.62
РЕП	6.38	10.00	16.38
МП	5.00	5.36	10.05

Из данных, приведенных в таблицах 4 и 5, видно, что выделение углеводов при проведении гидролиза на первом максимуме в два – три раза выше, чем их количество, перешедшее в меланин при его выделении (таблица 4). Второй максимум, приходящийся на 11-13 часов гидролиза, характеризует более глубокую деградацию меланина и разрушение полисахаридов, более прочно связанных с его матрицей. Общее количество углеводов в меланинах, полученных разными способами экстракции, сильно отличается между собой, что указывает на различия в их строении. Содержание углеводов в меланине, полученном реперколяцией и при перемешивании, ниже, чем в меланине, полученном ремацерацией. Это косвенно доказывает, что первые имеют более плотную структуру, более конденсированы, чем последний.

АОА водных извлечений, полученных с применением различных способов экстракции, приведена в таблице 6.

Таблица 6 Антиоксидантная активность объектов исследования, полученных разными способами экстрагирования

Номер партии сырья	Способ получения	АОА водных извлечений кКл/100г
I	РЕМ	13.88±0.9
	РЕП	9.74±0.8
II	РЕМ	28.08±0.3
	РЕП	24.22±0.2
	МП	39.68±0.3
*	Настой	4.9±0.2

Примечание: * – неизвестно

Максимальное значение АОА имеет водное извлечение, полученное при механическом перемешивании. Водные извлечения, полученные методом ремацерации, обладают более высокой АОА по сравнению с водными извлечениями, полученными реперколяцией, и практически втрое превышают АОА настоя чаги. Низкое значение АОА настоя чаги, которое приведено авторами [175], можно объяснить тем, что его получали при кипячении в течение 15

минут с последующим настаиванием в течение 45 минут. Известно [57, 62], что при повышении температуры экстракции происходят глубокие, необратимые изменения меланина. Это приводит к конденсации меланина и снижению его устойчивости в растворе. Об этом свидетельствует увеличение содержания углерода и снижение количества функциональных групп.

Установлено, что описанные изменения в структуре меланина приводят к уменьшению терапевтической активности водных извлечений из чаги. Вероятно, в случае более конденсированного комплекса уменьшается количество участков комплекса, способных проявлять АОА. Самой высокой АОА должны обладать водные извлечения, полученные ремацерацией, поскольку при применении этого способа экстракции извлекается максимальное количество меланина, который считается основным действующим веществом извлечений [176]. Однако АОА у водного извлечения, полученного при механическом перемешивании, значительно выше. Вероятно, это связано с тем, что при данном способе экстрагирования происходит интенсификация процесса массопередачи и за счет изменения гидродинамических условий увеличивается скорость экстракции, так как сильно уменьшается слой неподвижной жидкости и появляются конвективные токи, способствующие переносу вещества. Похоже, за счет более быстротекущего процесса происходит извлечение в большей степени низкомолекулярных компонентов, таких например, как фенолы (п-крезол, пирокатехин, резорцин, гидрохинон, α -нафтол), флавоноиды, относящиеся к классам флавонов, флаванолов, катехинов [8], благодаря которым может возрастать АОА водного извлечения. Вероятно, при этом способе экстрагирования происходят более глубокие структурные изменения меланина при выходе из сырья и формировании частиц в дисперсионной среде. Очевидно, с этим связано получение более плотной упаковки меланина в золе водного извлечения [169].

Конец ознакомительного фрагмента.

Текст предоставлен ООО «ЛитРес».

Прочитайте эту книгу целиком, [купив полную легальную версию](#) на ЛитРес.

Безопасно оплатить книгу можно банковской картой Visa, MasterCard, Maestro, со счета мобильного телефона, с платежного терминала, в салоне МТС или Связной, через PayPal, WebMoney, Яндекс.Деньги, QIWI Кошелек, бонусными картами или другим удобным Вам способом.