

УДК 615.322:582.284].015:616-001.17-002.18-092.9

АНТИМИКРОБНАЯ И ПРОТИВООЖГОВАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПИДНОЙ ФРАКЦИИ ТРУТОВИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО FOMITOPSIS OFFICINALIS (VILL.) BOND. ET SING.

© 2011 А.Ю. Айрапетова, Т.А. Шаталова, Ю.А. Огурцов, Л.С. Ушакова

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

Поступила в редакцию 19.05.2011

Была изучена антимикробная и противовоспалительная активность липидной фракции, полученной из плодового тела трутовика лекарственного. Эффективность антимикробного действия оценивали по методу, основанному на способности липидов трутовика диффундировать в агар, зараженный тест-культурами микроорганизмов, подавляя рост последних. Выявлено выраженное антимикробное действие соединенной липидной фракции трутовика лекарственного в отношении *St. aureus*, *St. epidermidis* Wood-46, *Shigella sonnei* и др. Установили ранозаживляющую активность липидной фракции в сравнении с контролем на модели термического поражения кожи спины крыс.

Ключевые слова: *трутовик лекарственный, липидная фракция, жирные кислоты, термический ожог, антимикробные свойства, противовоспалительная активность*

Базидиальные грибы являются продуцентами целого ряда биологически активных веществ – белков, органических кислот, витаминов, липидов и др., изучение которых продолжает быть актуальным. Широкое распространение макромицетов в природе открывает возможность как для поиска новых источников биологически активных веществ (БАВ), так и для нетрадиционного использования этой группы организмов в медицине. *Fomitopsis officinalis* (Vill.) Bond. et Singer, сем. Polyporaceae – трутовик лекарственный (лиственничная губка, белый агарик), один из наиболее известных базидиальных грибов, являющийся уникальным представителем рода *Fomitopsis*, известный давно и высоко ценимый за свои целебные свойства. В народной медицине агариком лечили ушибы, астму, туберкулез, болезни печени. Для обработки и заживления ран использовали так называемую трутовиковую вату. Изучение химического состава плодовых тел трутовика лекарственного показало, что высушенное плодовое тело лиственничной губки содержит достаточно высокое содержание (около 60%) липидной фракции, в состав которой входят агаритиновая кислота и другие биологически активные соединения [1]. Известно, что данная группа биологически активных соединений

обладает ранозаживляющей и противовоспалительной активностью [3]. Однако в литературе отсутствуют сведения о возможности применения извлечений из плодового тела агарика в качестве лекарственного средства с антимикробной и противовоспалительной активностью.

Цель исследования: получение, изучение химического состава и исследование противовоспалительной и антимикробной активности биологически активных соединений липидной фракции трутовика лекарственного.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служило измельченное плодовое тело трутовика лекарственного (*Fomitopsis officinalis* Bond. et Sing., сем. Polyporaceae), собранного в Алтайском крае. Липидную фракцию получали после экстракции плодового тела трутовика, измельченного до размера частиц не более 0,5 мм смесью хлороформ-спирт этиловый 96% (1:2) до полного истощения сырья. Полученное извлечение упаривали при температуре 50-60°C до состояния густой массы, высушивали при температуре 100°C до остаточной влажности 5%. Выход сухого извлечения составил 62-64% от массы воздушно-сухого сырья. Выделенное извлечение исследовали на наличие фосфолипидов, тритерпеноидов, каротиноидов и высших жирных кислот методом газожидкостной и тонкослойной хроматографии. Определение жирнокислотного состава масла трутовика проводили методом газожидкостной хроматографии на газовом хроматографе «Цвет 500» с пламенно-ионизационным детектором. Компоненты идентифицировали по стандартным образцам (Sigma) метиловых эфиров жирных кислот. Количественное определение проводили методом внутренней нормализации после ацетилирования

Айрапетова Ася Юрьевна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии. E-mail: asyaprgfa@mail.ru;

Шаталова Татьяна Анатольевна, кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры технологии лекарственных средств

Огурцов Юрий Александрович, кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры биологии
Ушакова Любовь Семеновна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры аналитической химии

смолистой фракции с метиловым спиртом и ацетилхлоридом при нагревании с обратным холодильником.

Полученную липидную фракцию растворяли в спирте этиловом 70% в соотношении 1:10 и проводили изучение антимикробной и противовоспалительной активности. При изучении антимикробных свойств целевого продукта изучали извлечение из плодового тела трутовика и настойку календулы (препарат сравнения). При исследовании антимикробной активности целевого продукта использовали метод, основанный на способности лекарственных веществ диффундировать в агар, зараженный тест-культурами микроорганизмов, и подавлять рост последних. Определение активности изучаемых извлечений проводили в 3-х чашках Петри одинакового диаметра с плоским дном. В чашки, устанавливаемые горизонтально, наливали по 15 мл расплавленного питательного агара. Слой агара в чашке Петри заливали 1-2 мл взвеси испытуемого микроба в физиологическом растворе. Затем излишек взвеси полностью удаляли, подсушивали поверхность агара в течение 30 минут. Затем сверлом (6 мм диаметром) пробуривали 6 отверстий («колодцев») на расстоянии 2,5 см от центра и на одинаковом расстоянии друг от друга, «колодцы» заполняли образцами настоек календулы и плодового тела гриба трутовика и растворителем в соответствующей концентрации (контроль). Чашки оставляли при комнатной температуре на 30 минут, после чего их ставили в термостат при температуре 37°C, не переворачивая, строго горизонтально, чтобы получить круглые зоны. Под крышки чашки Петри помещали стерильный фильтр во избежание попадания конденсата на лунки. Зоны угнетения роста микроорганизмов измеряли через 16 часов. Оценка результатов проводилась по диаметру зон задержки роста вокруг «колодца», включая диаметр самого «колодца»:

- отсутствие зоны задержки роста – испытуемая культура не чувствительна к данной концентрации препарата;
- диаметр зоны задержки роста 10 мм – умеренная чувствительность культуры к данной концентрации препарата;
- диаметр зоны задержки роста более 10 мм – высокая чувствительность испытуемой культуры к данной концентрации препарата.

Противоожоговую активность настойки плодового тела гриба трутовика, масла облепихового, настойки календулы и изучали на модели термического ожога кожи спины крыс. Термический ожог кожи спины у белых крыс вызывали контактным высокотемпературным способом с помощью лабораторной пробирки в водой, нагретой до 100°C. Данный способ позволяет получить стандартные по площади (2 см²) и глубине ожоги всей толщи кожи [2, 3]. Время экспозиции пробирки, нагретой до 100°C, составляло 20 сек. Ожог наносили животным под эфирным наркозом. При соблюдении этих условий у всех

подопытных животных ожоги кожи соответствовали III А степени по клинической классификации ожогов. Динамику ожогового повреждения оценивали на 14 сутки по площади раны весовым методом. В качестве лечения на ожоговую поверхность наносили масло облепиховое, настойку календулы (в опытной группе) и извлечение из плодового тела гриба трутовика в группе сравнения. В контрольной группе наносили спирт этиловый 70%. Процедуру проводили ежедневно 1 раз в сутки на протяжении 14 дней.

Результаты и обсуждение. Изучение химического состава липидной фракции агарика позволило идентифицировать пальмитиновую, олеиновую, линолевую, линоленовую и арахидоновую и другие ненасыщенные жирные кислоты. Количество агаризиновой кислоты в составе липидной фракции определяли методом внешнего стандарта (Sigma Ol.) с содержанием 96% с концентрацией 34,15 мг/мл в метиловом спирте. Содержание агаризиновой кислоты в липидной фракции исследуемого образца трутовика лекарственного составило 14,7%. Методом тонкослойной хроматографии были обнаружены фосфолипиды, тритерпеноиды (эбуриковая кислота), каротиноиды. Результаты эксперимента по определению антимикробной активности представлены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты изучения антимикробного действия извлечения из плодового тела гриба трутовика, настойки календулы

Тест-культуры микроорганизмов	Диаметр зоны задержки роста тест-культур микроорганизмов, мм	
	настойка плодового тела гриба трутовика (10%)	настойка календулы
Staphylococcus aureus (209)	25,0±2,0	8,0±1,0
Staphylococcus aureus (Type)	21,0±1,0	7,0±1,0
Staphylococcus epidermidis Wood- 46	22,0±1,0	8,0±1,0
Escherichia coli 675	9,0±1,0	9,0±1,0
Salmonella typhimurium	9,0±1,0	9,0±1,0
Shigella sonnei 3d	14,0±2,0	10,0±1,0
Bacillus subtilis L ₂	17,0±1,0	10,0±1,0
Bacillus anthracoides – 1.	17,0±1,0	10,0±2,0

Результаты исследований, представленные в табл. 1, показывают, что извлечение из плодового тела гриба трутовика обладает:

- выраженным антимикробным действием в отношении грамположительных кокков рода Staphylococcus: Staphylococcus aureus (209) 25,0±2,0; Staphylococcus aureus (Type) 21,0±1,0; Staphylococcus epidermidis Wood- 46 22,0±1,0;

- выраженным антимикробным действием в отношении грамотрицательных микроорганизмов *Shigella sonnei* 3d 14,0±2,0;
 - выраженным антимикробным действием в отношении спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus*: *Bacillus subtilis* L217,0±1,0; *Bacillus anthracoides* – 1 17,0±1,0;
 - умеренным антимикробным действием в отношении *Salmonella typhimurium* - 9,0±1,0 и *Escherichia coli* - 9,0±1,0 (табл. 1).

Таблица 2. Влияние настойки календулы и извлечения из плодового тела гриба трутовика на процесс заживления ожоговой раны (14 сутки)

Группы животных	Площадь раны в весовых единицах, мг		Размер раны, в % к контролю
Контроль	168,8±6,2	-	100,00
Настойка календулы	107,3±5,3	P<0,05	79,20
Масло облепиховое	67,3±5,3	P<0,05	59,20
Извлечение из плодового тела гриба трутовика	59,6±5,9	P<0,05 P ₁ >0,05	35,27

Примечание: P – по отношению к контролю; P₁ – по отношению к настойке календулы

Результаты исследования извлечения из плодового тела гриба трутовика на процесс заживления ожоговой раны представлены в табл. 2. Это позволяет сделать вывод о выраженном противоожоговом действии извлечения из плодового тела гриба трутовика, превосходящем действие масла облепихового в 1,7 раза.

Выводы: в результате проведенных исследований было показано, что биологически активные соединения липидной фракции трутовика лекарственного обладают выраженным антимикробным и противоожоговым действием. По результатам эксперимента получен патент РФ на изобретение №2409378 от 27.02.09.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Белова, Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в России // Микол. и фитопатол., 2004. Т. 38. №2. С. 1-4.
2. Гублер, Е.В. Термические ожоги и ожоговая болезнь / Моделирование заболеваний. – М., 1973. С. 59-78.
3. Саратиков, А.С. Ранозаживляющие и противоожоговые свойства смолы *Abies sibirica* Ledeb. / А.С. Саратиков, В.Б. Хоецкий, Т.П. Прищеп, Л.С. Белова // Раст.ресурсы. 1998. Вып. 2. С. 68-70.

ANTIMICROBIAL AND BURNS HEALING ACTIVITY OF FOMITOPSIS OFFICINALIS (VILL.) BOND. ET SING. LIPID FRACTION

© 2011 A.Yu. Ayrapetova, T.A. Shatalova, Yu.A. Ogurtsov, L.S. Ushakova

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

Antimicrobial and burns healing activity of lipid fraction obtained from the fruit body of *Fomitopsis officinalis* is studied. The effectiveness of the antimicrobial action is evaluated by the method based on the ability of *Fomitopsis*' lipids to diffuse into the agar, infected with test cultures of microorganisms and to inhibit the growth of the latter. A significant antimicrobial action of *Fomitopsis*' compounds against *St. aureus*, *St. epidermidis* Wood-46, *Shigella sonnei*, etc. is determined. The wound healing activity of lipid fraction in comparison with the control on the model of thermal back skin injury of rats is found.

Key words: *Fomitopsis officinalis*, lipid fraction, fatty acids, thermal burn, anti-microbial properties, burns healing activity

Asya Ayrapetova, Candidate of Pharmacy, Senior Lecturer at the Pharmaceutical Chemistry Department. E-mail:

asyapgfa@mail.ru;

Tatiana Shatalova, Candidate of Pharmacy, Lecturer at the Medicine Technology Department

Yuriy Ogurtsov, Candidate of Medicine, Senior Lecturer at the Biology Department

Lyubov Ushakova, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Analytical Chemistry Department