

## Фотозащитные, антиоксидантные и цитотоксические свойства экстрактов из двух видов полипоровых грибов

О.М. ХРАМЧЕНКОВА<sup>1</sup>, М.В. МАТВЕЕНКОВ<sup>1,2</sup>

Изучали *in vitro* фотозащитные, антиоксидантные и цитотоксические свойства этаноловых экстрактов из двух видов грибов семейства Polyporaceae: *Fomes fomentarius* и *Trametes versicolor*. Биомассу грибов экстрагировали этанолом по Сокслету; фотозащитные свойства оценивали по величинам солнцезащитного фактора (SPF), критической длины волны ( $\lambda_{\text{крит}}$ ) и соотношения УФ-А/УФ-Б; антиоксидантные свойства – методами определения содержания флавоноидов, ДФПГ-теста и окисления эмульсии  $\beta$ -каротина; цитотоксичность – при помощи МТТ-теста в отношении культуры клеток линии HaCaT. Установлено, что этаноловые экстракты из *F. fomentarius* и *T. versicolor* являются фотозащитными субстанциями с высоким содержанием флавоноидов, выраженными антиоксидантными свойствами и отсутствием цитотоксичности в отношении кератиноцитов человека.

**Ключевые слова:** *Fomes fomentarius*, *Trametes versicolor*, этаноловые экстракты, фотозащитные свойства, антиоксидантная активность, содержание флавоноидов, ДФПГ-тест, окисление эмульсии  $\beta$ -каротина, культура клеток HaCaT, МТТ-тест.

The photoprotective, antioxidant, and cytotoxic properties of ethanol extracts from two species of fungi of the Polyporaceae family, *Fomes fomentarius* and *Trametes versicolor*, were studied *in vitro*. Fungi biomass was extracted with ethanol according to Soxhlet; photoprotection properties were evaluated by sun protection factor (SPF), critical wavelength ( $\lambda_{\text{crit}}$ ), and UV-A/UV-B ratio; antioxidant properties – according to the flavonoid content, DPPH assay and  $\beta$ -carotene bleaching assay; cytotoxicity – using the MTT test against HaCaT cells. It has been shown that ethanol extracts from *F. fomentarius* and *T. versicolor* are photoprotective substances with a high content of flavonoids, pronounced antioxidant properties and no cytotoxicity against human keratinocytes.

**Keywords:** *Fomes fomentarius*, *Trametes versicolor*, ethanol extracts, photoprotective properties, antioxidant activity, flavonoid content, DPPH assay,  $\beta$ -carotene bleaching, cell culture HaCaT, MTT test.

**Введение.** Жесткие, кожистые, пробковато-деревенистые «наросты» на живых, а чаще гниющих стволах деревьев испокон веку называемые трутовиками, являются паразитарными или сапрофитными видами грибов, широко распространенных в лесах Беларуси. Термин «трутовики» не является таксономическим, так как обозначает довольно много видов грибов из разных систематических групп. Семантическая связанность этого понятия со словом «трут» (материал для разжигания огня) уходит в глубокую древность человечества и никак не связана с научными знаниями. Однако трутовики зачастую входили в фармакопеи и лекарственные препараты, используемые на протяжении тысячелетий разными народами во всем мире. В настоящее время имеет место большой научный интерес к трутовикам в связи с тем, что различные экстракты и выделенные из них соединения показали широкий спектр биологических свойств, среди которых антиоксидантная, противовоспалительная, цитотоксическая и противомикробная активность [1], [2].

В зависимости от способа экстрагирования, из трутовиков можно получить субстанции, содержащие вещества определенных химических классов: полисахариды – экстракция этанолом, горячей водой, растворами щелочей и кислот; фенольные и стероидные соединения – экстракция органическими растворителями (этанол, метанол, гексан, хлороформ, водные растворы ацетона) [3].

Целью настоящего исследования была оценка фотозащитных, антиоксидантных и цитотоксических свойств этаноловых экстрактов из трутовиков настоящего и разноцветного.

**Методы исследований.** Для исследования выбрали два вида грибов семейства полипоровые (Polyporaceae) – Трутовик настоящий (*Fomes fomentarius* (L.) Fr.) и Трутовик разноцветный (*Trametes versicolor* (L.) Lloyd) – рисунок 1 [4].

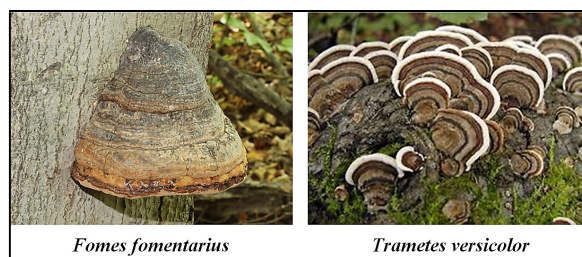


Рисунок 1 – Объекты исследования

Трутовик настоящий (*F. fomentarius*) встречается на лиственных породах деревьев, а также на сухостое, валежнике и пнях. Для данного вида грибов показана иммуномодулирующая, противомикробная, антиоксидантная, противовирусная, гипогликемическая, фибринолитическая, тромболитическая, противоопухолевая активность [5], [6]. Трутовик разноцветный (*T. versicolor*) часто встречается в лиственных лесах и почти никогда в хвойных. Обычно растет на пнях и ветвях деревьев, предпочтительно в солнечных местах [5]. Для него показана иммуномодулирующая, противовирусная и противоопухолевая активность [5], [7].

Образцы плодовых тел грибов были получены из лаборатории микологии кафедры лесохозяйственных дисциплин биологического факультета Гомельского государственного университета имени Ф. Скорины. Навески воздушно-сухой биомассы экстрагировали этанолом по Сокслету, растворитель отгоняли, экстракты высушивали при комнатной температуре.

Для оценки фотозащитных свойств экстракты растворяли в этаноле в концентрации 200 мкг/мл, снимали спектры поглощения в диапазоне 290 ÷ 400 нм, рассчитывали величины SPF,  $\lambda_{\text{крит}}$  и УФ-А/УФ-Б [8].

При изучении антиоксидантных свойств экстракты и вещество сравнения ( $\alpha$ -токоферол) растворяли в этаноле в концентрации 1 мг/мл. Суммарное содержание флавоноидов определяли по методике с применением хлорида алюминия [9]; ДФПГ-тест и окисление эмульсии  $\beta$ -каротина – с использованием методических подходов, изложенных в [10].

МТТ-тест на культурах клеток HaCaT выполняли с использованием растворов экстрактов в ДМСО по методике, описанной в [11].

Спектрофотометрию образцов производили с помощью УФ-спектрофотометра Solar PB 2201, измерительные кюветы – кварцевые, длина оптического пути 10 мм, а также планшетного спектрофотометра TecanSafire I.

Анализ результатов исследования осуществляли с помощью программного продукта MicrosoftExcel.

**Результаты и их обсуждение.** Процентный выход этаноловых экстрактов из воздушно-сухой биомассы изучаемых макромицетов составил  $5,6 \pm 0,39$  и  $5,1 \pm 0,68$  для *F. fomentarius* и *T. versicolor*, соответственно. Полученные данные практически не с чем сравнивать, так как имеющиеся в научной литературе результаты получены методом мацерации (настаивания биомассы в растворителе) – таблица 1.

Таблица 1 – Эффективность экстракции плодовых тел макромицетов

В процентах

Виды макромицетов	Экстрагенты	Выходэкстрактов	Источник	
<i>F. fomentarius</i>	дихлорметан	0,6	[5]	
	метанол	0,7		
	петролейный эфир	4,3	[12]	
	хлороформ	0,4	[13]	
	циклогексан	4,3	[14]	
	этанол		1,7	[5]
			2,3	[13]
			4,1	[15]
			5,7	[16]
			5,5	[17]
		5,8	[14]	
		2,6	[12]	
<i>T. versicolor</i>	гексан	0,17	[18]	

По понятным причинам мы исключили из рассмотрения все данные о выходе экстрактов, где в качестве экстрагента выступала вода. Очевидно, что при экстрагировании биомассы грибов по Сокслету выходы экстрактов не хуже таковых, полученных методом мацерации.

Содержание флавоноидов в этаноловых экстрактах из *F. fomentarius* и *T. versicolor* составляло  $22,5 \pm 1,04$  и  $17,9 \pm 0,65$  мг-экв рутина на 1 г экстракта, соответственно. Эти данные можно сопоставить лишь с результатами для метаноловых экстрактов, выраженными в мг-экв катехина ( $1,2 \pm 0,01$ , *F. fomentarius*) и кверцетина ( $13,8 \pm 0,21$ , *T. versicolor* на 1 г экстракта [19], [20].

Антиоксидантные свойства этаноловых экстрактов из *F. fomentarius* и *T. versicolor* были превосходными – таблица 2.

Таблица 2 – Антиоксидантные свойства экстрактов из макромицетов,

В процентах ингибирования

Метод исследования	<i>F. fomentarius</i>	<i>T. versicolor</i>
ДФПГ-тест	$94,1 \pm 8,98$	$88,1 \pm 7,86$
Окисление эмульсии $\beta$ -каротина	$79,6 \pm 8,32$	$84,1 \pm 6,49$

Определенная нами активность  $\alpha$ -токоферола в отношении ДФПГ составила ( $91,4 \pm 1,18$ ) %; радикала  $\beta$ -каротина – ( $89,1 \pm 0,82$ ) %, что согласуется с [21] и [22]. Результаты оценки влияния этаноловых экстрактов из изучаемых видов макромицетов на окисление эмульсии  $\beta$ -каротина сравнивать не с чем, так как таких данных просто нет. ДФПГ-тест показал лучшие антирадикальные свойства наших экстрактов по сравнению с таковыми, описанными в [13], [15], [23], [24].

В современной научной литературе практически отсутствуют данные о фотозащитных свойствах экстрактов из макромицетов. Между тем, снятие спектров поглощения в диапазоне  $290 \div 400$  нм для растворов с концентрацией, при которой определяют простейшие параметры фотозащиты (SPF,  $\lambda_{\text{крит}}$  и УФ-А/УФ-Б), позволяет *in vitro* сделать вывод о перспективности упомянутых субстанций как солнцезащитных средств, особенно если такие данные подкрепляются отсутствием цитотоксичности в отношении культур клеток кожи человека (HaCaT).

Для этаноловых экстрактов мы выполнили все перечисленное – рисунок 2, таблица 3.

Все значения оптических плотностей растворов, превышающие 2,0 Б, получены путем экстраполяции после статистически надежного определения линейности зависимости оптической плотности раствора от его концентрации. Как и для экстрактов из лишайников [8], [11], следует отметить, что экстракты из плодовых тел грибов эффективнее поглощают УФ-Б ( $290 \div 320$  нм), чем УФ-А ( $320 \div 400$  нм).

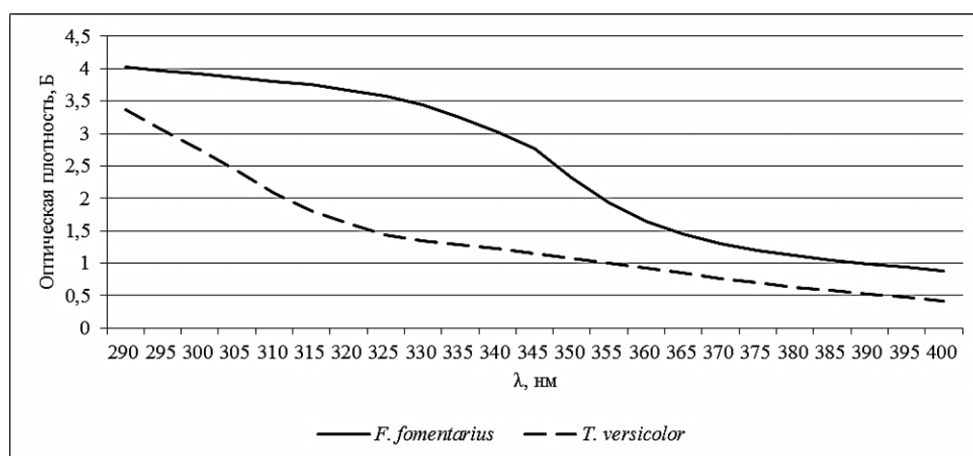


Рисунок 2 – Спектры поглощения этаноловых экстрактов из двух видов полипоровых грибов

Пологость кривых позволяет предположить наличие фотозащитных свойств у анализируемых экстрактов из макромицетов. Кроме того, оказалось, что анализируемые экстракты не оказывали достаточно выраженного и монотонного цитотоксического эффекта в отношении культуры кератиноцитов человека HaCaT. Это позволяет говорить об отсутствии зависимости цитотоксической активности экстрактов от их концентрации, и, как следствие, наличия токсического эффекта в целом.

Таблица 3 – Показатели фотозащиты и цитотоксичности этаноловых экстрактов из макромицетов

Показатель, единицы измерения	<i>F. fomentarius</i>	<i>T. versicolor</i>
SPF, абс.ед.	38,7 ± 4,47	24,5 ± 1,43
$\lambda_{\text{крит}}$ , нм	375 ± 4,1	377 ± 3,7
УФ-А/УФ-Б, абс.ед.	1,23 ± 0,11	0,82 ± 0,08
Полуингибирующая концентрация, мкг/мл	> 200	> 200

Уровень фотозащиты экстракта признается отсутствующим при SPF < 2; низким при SPF = 2–6; средним при SPF = 8–12; высоким при SPF = 15–25; очень высоким при SPF = 30–50; сверхвысоким при SPF > 50. Фотозащитные средства по величине УФ-А/УФ-Б делятся на слабые (0 ÷ 0,2); средние (0,2 ÷ 0,4); хорошие (0,4 ÷ 0,6); превосходные (0,6 ÷ 0,8) и максимальные (0,8 ≥). Субстанции, характеризующиеся  $\lambda_{\text{крит}} > 370$  нм и SPF > 15,0 признаются солнцезащитными [25], имеющие величину полуингибирующей концентрации в отношении культуры клеток ниже 30 мкг/мл – цитотоксичными [26]. Остальное – очевидно.

**Благодарности.** Авторы благодарят преподавателей и студентов кафедры лесохозяйственных дисциплин биологического факультета Гомельского государственного университета имени Ф. Скорины и лично к.с/х.н., доцента В.В. Трухоновца за предоставленные ими образцы плодовых тел полипоровых макромицетов.

**Заключение.** При выполнении *in vitro* оценки фотозащитных, антиоксидантных и цитотоксических свойств этаноловых экстрактов из плодовых тел полипоровых грибов *Fomes fomentarius* и *Trametes versicolor* созданы экспериментальные образцы, являющиеся фотозащитными субстанциями с высоким содержанием флавоноидов, хорошо выраженными антиоксидантными свойствами и отсутствием цитотоксичности в отношении кератиноцитов человека.

Исследование проводилось в рамках ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда», подпрограмма «Радиация и биологические системы», задание 10.3.03.01, № ГР 20211714.

## Литература

1. Medicinal mushrooms : bioactive compounds, use, and clinical trials / G. Venturella [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2021. – Vol. 22 (2). – P. 634–664.
2. Medicinal mushrooms : Valuable biological resources of high exploitation potential / M. L. Gargano [et al.] // Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology. – 2017. – Vol. 151 (3). – P. 548–565.
3. Valorization of Mushroom By-Products as a Source of Value-Added Compounds and Potential Applications / F. Antunes [et al.] // Molecules. – 2020. – Vol. 25. – P. 26–72.
4. Mycology Collections Portal [Electronic resource]. – Access mode : <https://www.mycportal.org>. – Data of access : 17.07.2023.
5. Antibacterial and cytotoxic activities of wild mushroom *Fomes fomentarius* (L.) Fr., Polyporaceae / M. Kolundžić [et al.] // Industrial Crops and Products. – 2016. – Vol. 79. – P. 110–115.
6. Antiproliferative activity and cytotoxicity of some medicinal wood-destroying mushrooms from Russia / A. V. Shnyreva [et al.] // International Journal of Medicinal Mushrooms. – 2018. – Vol. 20 (1). – P. 1–11.
7. Smolibowska, J. Medicinal properties of fungi occurring on *Betula* sp. trees. A review / J. Smolibowska, M. Szymański, A. Szymański // Herba Polonica. – 2016. – Vol. 62 (3). – P. 63–76.
8. Храменкова, О. М. Фотозащитные свойства экстрактов из пяти видов лишайников / О. М. Храменкова // Известия Гомельского гос. ун-та им. Ф. Скорины. – 2018. – № 6 (111). – С. 81–86.
9. Pełal, A. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay / A. Pełal, K. Pyrzynska // Food Analytical Methods. – 2014. – Vol. 7. – P. 1776–1782.
10. Munteanu, I. G. Analytical methods used in determining antioxidant activity : A review / I. G. Munteanu, C. Apetrei // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22 (7). – P. 3380–3409.
11. Храменкова, О. М. Фотозащитные, цитотоксические и фотомодифицирующие свойства неполярных фракций биомассы лишайников в отношении культуры кератиноцитов человека (HaCAT) / О. М. Храменкова, М. В. Матвеевков // Журнал БГУ. – 2021. – № 2. – С. 29–35.
12. Wild-growing lignicolous mushroom species as sources of novel agents with antioxidative and antibacterial potentials / M. Karaman [et al.] // International journal of food sciences and nutrition. – 2014. – Vol. 65 (3). – P. 311–319.

13. Assessment of antioxidant properties of different *Fomes fomentarius* extracts / L. A. Bojin [et al.] // *Farmacia*. – 2020. – Vol. 68. – P. 322–328.
14. Kalyoncu, F. Antioxidant activity of the mycelium of 21 wild mushroom species / F. Kalyoncu, M. Oskay, H. Kayalar // *Mycology*. – 2010. – Vol. 1 (3). – P. 195–199.
15. Unleashing the biological potential of *Fomes fomentarius* via dry and wet milling / A. K. Darkal [et al.] // *Antioxidants*. – 2021. – Vol. 10 (2). – P. 303–322.
16. Выделение, характеристика и противовирусные свойства биологически активных веществ из высших грибов Западной Сибири / Н. Е. Костина [и др.] // *Современные проблемы науки и образования*. – 2013. – № 3. – С. 336–336.
17. Проценко, М.А. Получение экстрактов и характеристика биологически активных соединений из *Fomes fomentarius* / М. А. Проценко // *Journal of Siberian Medical Sciences*. – 2013. – №. 4. – С. 11–17.
18. Qualitative analysis of an ethanolic extract from *Trametes versicolor* and biological screening against *Leishmania amazonensis* / V. Leliebre-Lara [et al.] // *Emirates Journal of Food and Agriculture*. – 2015. – Vol. 27 (7). – P. 592–595.
19. In vitro antioxidant activity of some extracts obtained from *Agaricus bisporus* brown, *Pleurotus ostreatus* and *Fomes fomentarius* / C. Mircea [et al.] // *Farmacia*. – 2015. – Vol. 63 (6). – P. 927–933.
20. Assessment of total phenolic, total flavonoid, metal contents and antioxidant activities of *Trametes versicolor* and *Laetiporus sulphureus* / S. Bulam [et al.] // *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. – 2022. – Vol. 21 (5). – P. 39–47.
21. Boonsong, S. Antioxidant activities of extracts from five edible mushrooms using different extractants / S. Boonsong, W. Klaypradit, P. Wilaipun // *Agriculture and Natural Resources*. – 2016. – Vol. 50 (2). – P. 89–97.
22. Antioxidant activities and tyrosinase inhibitory effects of different extracts from *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies / N. Alam [et al.] // *Mycobiology*. – 2010. – Vol. 38 (4). – P. 295–301.
23. Chegini Nejad, Z. Hepatoprotective effect of *Fomes fomentarius* extract against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rat / Z. Chegini Nejad, M. Kurepaz-mahmoodabadi, A. Manayi // *Future Natural Products*. – 2021. – Vol. 7 (1). – P. 1–13.
24. Antioxidant/anti-inflammatory activities and chemical composition of extracts from the mushroom *Trametes versicolor* / M. Kamiyama [et al.] // *Int J Nutr Food Sci*. – 2013. – Vol. 2 (2). – P. 85–91.
25. Rojas, J. L. Metabolites with antioxidant and photo-protective properties from *Usnea roccellina* Motyka, a lichen from Colombian Andes / J. L. Rojas<sup>1</sup>, M. Diaz-Santos, N. A. Valencia-Islas. – *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences*. – 2015. – Vol. 3 (4). – P. 18–26.
26. In vitro cytotoxic activity of Thai medicinal plants used traditionally to treat cancer / A. Itharat [et al.] // *Journal of ethnopharmacology*. – 2004. – Vol. 90 (1). – P. 33–38.

<sup>1</sup>Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины

<sup>2</sup>Институт радиобиологии НАН Беларуси

Поступила в редакцию 14.08.2023