

На правах рукописи



**ГОРНОСТАЙ
ТАТЬЯНА ГЕННАДЬЕВНА**

**ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ, СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И
ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИЦЕЛИЯ
INONOTUS RHEADES (HYMENOSCHAEACEAE)**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Улан-Удэ – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Сибирский институт физиологии и биохимии растений» Сибирского отделения Российской академии наук

Научный руководитель:

Оленников Даниил Николаевич – доктор фармацевтических наук

Официальные оппоненты:

Анцупова Татьяна Петровна – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» Министерства науки и высшего образования РФ / кафедра неорганической и аналитической химии, профессор

Рандалова Туяна Эрдэмовна – кандидат фармацевтических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» Министерства науки и высшего образования РФ / кафедра фармации медицинского института, доцент

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ

Защита диссертации состоится «10» декабря 2019 г. в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 999.140.03 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН по адресу: 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Бурятского научного центра СО РАН и на сайте ИОЭБ СО РАН: <http://igeb.ru>

Автореферат разослан «08» октября 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук, доцент

В.Б. Хобракова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. В современной медицине и фармакологии все больше внимания уделяется природным источникам биологически активных соединений. Этот интерес обусловлен нарастающим объемом производства синтетических лекарств и все большим количеством нежелательных побочных последствий для организма, а также адаптацией патогенной микрофлоры к вновь созданным препаратам, имеющим узкую направленность в применении. Природные соединения, в отличие от синтетических, имеют многофункциональное и многонаправленное действие в организме, за счет чего в значительной степени снижаются отрицательные последствия и привыкание.

В настоящее время базидиальные грибы рассматривают как источник различных биологически активных веществ. Наиболее изученным и широко распространенным объектом в фунготерапии является стерильный склероций трутовика скошенного [*Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát], формирующийся, в основном, на живых стволах берез. Выявлен широкий диапазон проявления биологической активности экстрактов и соединений из *I. obliquus* (Zhong et al., 2009; Zheng et al., 2010; Balandaykin, Zmitrovich, 2015). На основе данного грибного вида разработан ряд лекарственных средств (Кузнецова, 2016; Аляутдин и др., 2009). Однако природная сырьевая база *I. obliquus* ограничена, а по причине широкого ареала распространения вида и разных условий его произрастания существуют сложности в стандартизации сырья из-за вариабельности его химического состава. В связи с многочисленностью видов рода *Inonotus*, значительная часть из них до сих пор малоизучена. Таким образом, изучение химического состава одного из представителей данного рода *I. rheades* – трутовика лисьего, как потенциального продуцента ценных веществ является актуальным. Углубленное исследование факторов влияющих на накопление целевых веществ данного вида также не проводились. Получение таких знаний необходимо как для фундаментальной науки, так и для возможного применения в биотехнологии с целью управления химическим составом выращиваемого сырья для последующего использования грибных метаболитов.

Степень разработанности проблемы. Анализ литературы показал, что данные о химическом составе многих представителей рода *Inonotus* ограничены или отсутствуют вообще, таким образом, углубленные исследования компонентного состава представителей данного рода необходимы, в том числе *I. rheades*.

Целью исследования явилось изучение химического состава мицелия *Inonotus rheades*, разработка способа его получения и методов анализа.

Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие **задачи:**

1. Изучить состав тритерпеноидов, жирных кислот, стирилпиранов и полисахаридов мицелия *I. rheades*.

2. Установить особенности изменения химического состава мицелия *I. rheades* полученного с использованием различных типов субстрата и параметров освещенности.

3. Разработать способ получения мицелия *I. rheades* сухого.

4. Определить товароведческие показатели и разработать методы стандартизации мицелия *I. rheades* сухого.

5. Разработать проект ФСП «Трутовика лисьего мицелий сухой».

Научная новизна. В результате экспериментальной работы был впервые изучен химический состав мицелия *Inonotus rheades*. Впервые для вида было выявлено присутствие стеролов (инотодиол, ланостерол, эргостерол пероксид), лупановых тритерпеноидов (лупеол, бетулин, бетулиновая кислота, бетулон, бетулоновый альдегид, бетулоновая кислота, бетулиновый альдегид), полисахаридов, жирных кислот, а также стирилпиранов (феллинины А1 и А2, 1,1-дистирилпирилэтан, *транс*-/*цис*-биснорянгонины, 3-биснорянгонил-14'-гиспидин, 3,14'-бисгиспидинил, *транс*-/*цис*-гиспидины, гифоломины А и В), в том числе нового бис(стирилпирана) – реадина, представляющего собой 3,3'-этилиден-бис-[4-гидрокси-6-(4-гидроксистирил)-2Н-пиран-2-он]. Установлено, изменение в синтезе стирилпиранов, водорастворимых полисахаридов, жирных кислот и терпеноидов в зависимости от использованного типа субстрата и светового режима при культивировании мицелия *I. rheades*. Впервые показана способность мицелия *I. rheades* к биотрансформации бетулина в бетулиновую кислоту.

Практическая значимость работы. Выявлена возможность получения чистой мицелиальной массы *I. rheades* на твердом древесном субстрате разных пород. Показала световая и субстратная зависимость синтеза компонентного состава мицелиальной массы мицелия *I. rheades*. Предложен способ получения мицелия трутовика лисьего сухого. Определены показатели качества нового лекарственного сырья «Трутовика лисьего мицелий сухой» и разработаны методы его стандартизации.

Методология и методы исследования. Методология исследования заключалась в изучении и разработке универсальных физико-химических методик анализа, которые могут быть применены в сквозной стандартизации ЛРС и препаратов с учетом метаболизма лекарственных грибов, их обобщении в алгоритме выбора методики анализа и параметра стандартизации. При выполнении работы были использованы микробиологические, биотехнологические, физико-химические методы, методы препаративного и аналитического выделения соединений, математические методы анализа и обработки результатов.

Степень внедрения. Результаты разработки технологии получения сухого мицелия трутовика лисьего, а также результаты разработки и валидации методики количественного определения гиспидина в грибном мицелии методом ВЭЖХ используются в учебном процессе кафедры химии и пищевой технологии им. проф. В.В. Тутурина ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет».

На защиту выносятся:

1. Результаты исследования химического состава мицелия *I. rhedades*.
2. Характеристика нового природного соединения – реадинин, выделенного из мицелия *I. rhedades*.
3. Результаты исследований влияния древесного субстрата и освещенности на химический состав мицелия *I. rhedades*.
4. Показатели качества нового лекарственного сырья «Трутовика лисьего мицелий сухой»

Степень достоверности результатов. Научные положения, выводы диссертационной работы основываются на большом объеме экспериментального материала, полученного с использованием современных химических, физико-химических методов анализа. При выполнении экспериментальной части работы использовано современное сертифицированное оборудование, прошедшее поверку. Все результаты работы обработаны статистически в соответствии с требованиями ГФ РФ XIII издания, а также с помощью программы «Microsoft Excel» и «Sigma Plot 12.0». Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Достоверность подтверждена многократным повторением экспериментов, валидационной оценкой разработанных методик, статистической обработкой полученных данных.

Апробация работы. Основные положения и результаты работы докладывались и обсуждались на: Всероссийской конференции «Факторы устойчивости растений в экспериментальных природных условиях и техногенной среде» (Иркутск, 2013), III Международной конференции «Biomedical Engineering and Biotechnology. Bio-Medical Materials and Engineering» (Beijing, China, 2014), I Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 2014), IX Международной конференции «Биоантиоксидант» (Москва, 2015), Mongolian-Russian forum of young scientists (Ulaanbaatar, Mongolia, 2016), Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых «Факторы устойчивости растений и микроорганизмов в экспериментальных природных условиях и техногенной среде» (Иркутск, 2016), II Всероссийской конференции с участием иностранных ученых «Проблемы изучения и сохранения растительного мира Евразии» (Иркутск - Кырен, 2017), Всероссийской научной конференции с международным участием и школе молодых ученых «Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды» (Иркутск, 2018).

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с программой и планом научно-исследовательских работ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (Проект РФФИ № 16-43-030857 на тему: «Фенольные ингибиторы реакции Майларда и некоторых пищеварительных ферментов (амилаза, альфа-глюкозидаза) природного происхождения как

модельные соединения для создания антидиабетических лекарственных средств», Проект ЦНМТ СО РАН № 25.10. на тему: «Структурно-функциональное исследование низкомолекулярных фенольных соединений как антитирозиновых агентов», Проект СО РАН № VI.62.1.8 на тему: «Создание лекарственных средств системного действия на основе Тибетской медицины», Проект СО РАН № VI.52.1.3. на тему: «Молекулярно-клеточные механизмы стресс-индуцированных патологических состояний и коррекция их средствами природного происхождения»).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности «14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия». Результаты проведенных экспериментов соответствуют области исследований специальности, конкретно пунктам 3, 5, 6, 7 паспорта специальности «14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия».

Личный вклад автора в получении научных результатов. Автором диссертационной работы проведен поиск и анализ данных по теме исследования, осуществлены планирование экспериментов, сбор данных; соискателем непосредственно проведены все биологические, химические и аналитические эксперименты. Согласно сформулированным задачам подготовлены доклады, тезисы и статьи, оформлена диссертация и автореферат, представленные к защите.

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 14 научных работ, в том числе 9 статей - в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 208 печатных страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, трех глав, отражающих результаты собственных экспериментальных исследований, выводов, заключения, списка цитируемой литературы, состоящего из 279 источников, в том числе 241 на иностранном языке, и включает 18 рисунков, 32 таблицы и 7 приложений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали чистую культуру базидиального гриба *Inonotus rheades* (Pers.) Bondartsev et Singer штамм 0186, приобретенного в коллекции культур высших базидиальных грибов Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE BIN). Мицелиальную массу получали выращиванием на древесных дисках *Betula pendula* Roth (Betulaceae) и *Populus tremula* L. (Salicaceae) в стерильных камерах в течение 30 суток при температуре 25±1 °С. Световую обработку мицелия проводили цветными и белыми (холодный белый) высокоэффективными трехкристальными светодиодами SMD-5050 (Рубикон, Барнаул, Россия) с разной интенсивностью светового потока. Полученный материал высушивали до воздушно-сухого состояния при температуре не выше 37 °С, измельчали, далее подвергали химическому анализу. Для исследования биохимического состава мицелия использовали ряд

стандартных методов. Спектрофотометрические исследования проводили на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ Спектр). ИК-спектры регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре ФТ-801 (Симекс) в интервале 4000-450 см⁻¹. Спектры ¹³С-ЯМР регистрировали на ЯМР-спектрометре VXR 500S (Varian), обработку результатов с применением пакета программ MestReC 4.9.9.6 (Mestelab Research). Анализ тритерпеноидов и фенольных соединений осуществляли на микроколоночном жидкостном хроматографе Милихром А-02 (Эконова, Россия), колонка ProntoSIL-120-5-C18 AQ (2×75 мм, Ø5 мкм; Metrohm AG). Расчет содержания индивидуальных компонентов проводили по градуировочным графикам, построенным с применением коммерческих образцов лупеола, бетулина, бетулиновой кислоты и гиспидина (Sigma Aldrich). Исследование водорастворимых полисахаридов осуществляли с применением гель-хроматографии на Sephacryl[®] 300 HR (Sigma-Aldrich Inc., Германия), колонка 1,6×60 см. Определение моносахаридного состава анализировали методом ВЭЖХ на Милихром А-02 (Эконова, Россия), снабженный колонкой Separon 5-NH₂ (80×2 мм, 5 мкм, Tessek Ltd., Чехия). Метилирование полисахарида осуществляли йодистым метилом с последующим формолизом, гидролизом перметилата и анализом методом ГХ/МС, который проводили на хромато-масс-спектрометре 5973/6890N MSD/DS (Agilent, США) с масс-селективным детектором (№5973) с диффузным насосом с применением капиллярной колонки RH-Innowax (30 м×250 мкм×0,50 мкм). Статистические расчеты осуществляли с помощью пакета Sigma Plot 12.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Фракционирование и предварительная химико-биологическая характеристика экстрактивных веществ мицелия *I. rhodes*. Для химического исследования экстрактивных веществ мицелия *I. rhodes* было проведено фракционирование с получением пяти фракций (Ir-01–Ir-05). Исследование биологической активности фракций Ir-01–Ir-05 демонстрировали широкий диапазон биологической активности комплекса экстрактивных веществ мицелия *I. rhodes*, обладающих противовоспалительной, антиоксидантной и иммуностимулирующей активностью. Дальнейшая экспериментальная работа была ориентирована на изучение компонентного состава наиболее активных фракций, а именно, гексановой (Ir-01), этилацетатной (Ir-03) и водной (Ir-05).

Лупановые тритерпеноиды и стеролы фракции Ir-01 мицелия *I. rhodes*. Из фракции Ir-01 было выделено и идентифицировано 3 стерола (инотодиол, ланостерол, эргостерол пероксид) и 7 лупановых тритерпеноида (лупеол, бетулин, бетулиновая кислота, бетулон, бетулоновый альдегид, бетулоновая кислота, бетулиновый альдегид). Все указанные соединения выделены из *I. rhodes* впервые. Тритерпеновые соединения явились доминирующими липофильными компонентами мицелия *I. rhodes* (данные ВЭЖХ). Бетулин был основным тритерпеноидом с содержанием 1,23 мг/г, концентрация бетулиновой кислоты и лупеола были 0,97 и 0,22 мг/г,

соответственно. На долю стеролов пришлось не более 0,10 мг/г от массы воздушно-сухого мицелия.

Стирилпироны и бис(стирилпироны) фракции Ir-03 мицелия *I. rhodes*. Из фракции Ir-03 выделили и идентифицировали с использованием УФ-, ИК-, МС- методов 6 стирилпиронов (*транс-/цис*-гиспидин, *транс-/цис*-биснорянгонин, феллинин А1/А2) и 5 бис(стирилпиронов) (1,1-дистирилпирилэтан, 3,14'-бисгиспидинил, гифоломин В, 3-биснорянгонил-14'-гиспидин). Общее количество стирилпиронов в мицелии *I. rhodes* составило 3,75 мг/г, доминирующим компонентом в их составе был гиспидин 2,33 мг/г от массы мицелия. Меньшее содержание было характерно для биснорянгонина 0,70 мг/г, и 1,1-дистирилпирилэтана – 0,31 мг/г. Соединения феллинины А1 и А2, 3-биснорянгонил-14'-гиспидин, и гифоломин В присутствовали в мицелии в следовых концентрациях. Все указанные соединения выделены из *I. rhodes* впервые.

Строение реадина – нового бис(стирилпирона) из мицелия *I. rhodes*. Соединение представляет собой желтый порошок, растворы которого обладали характерным спектром поглощения (λ_{\max} 238, 270, 368 нм), типичным для стирилпиронов. Согласно данным HR-ESI-МС и ^{13}C ЯМР спектроскопии соединению соответствует формула $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_8$. В спектре ^1H ЯМР присутствовали два ароматических метиновых сигнала, отнесенных к АА'ВВ' системе *para*-замещенного фенильного кольца (δ_{H} 6,75, 7,40) (таблица 1),

Таблица 1 – Спектры ЯМР ^1H (500 МГц, MeOH-d₄, δ_{H} , м.д., J/Гц) и ^{13}C (125 Гц, MeOH-d₄, δ_{C} , м.д.) соединения

C-атом	DEPT	δ_{H}	δ_{C}	HMBC
2, 2'	C		165,9	
3, 3'	C		105,7	
4, 4'	C		167,8	
5, 5'	CH	6.12 (с)	101,7	C-3, C-4, C-6, C-7, C-3', C-4', C-6', C-7'
6, 6'	C		157,2	
7, 7'	CH	6,71 (2H, д, J = 16.0)	116,3	C-5, C-6, C-9, C-5', C-6', C-9'
8, 8'	CH	7,25 (2H, д, J = 16.0)	134,5	C-6, C-10, C-14, C-6', C-10', C-14'
9, 9'	C		126,4	
10, 10'	CH	7,40 (2H, д, J = 8.5)	129,1	C-12, C-14, C-12', C-14'
11, 11'	CH	6,75 (2H, д, J = 8.5)	115,4	C-9, C-13, C-9', C-13'
12, 12'	C		158,0	
13, 13'	CH	6,75 (2H, д, J = 8.5)	115,4	C-9, C-11, C-9', C-11'
14, 14'	CH	7,40 (2H, д, J = 8.5)	129,1	C-10, C-12, C-10', C-12'
1''	CH	4,56 (1H, кв., J = 7.5)	25,4	C-2, C-3, C-4, C-2', C-3', C-4'
2''	CH ₃	1,48 (3H, д, J = 7.5)	16,2	C-1'', C-3, C-3'

два сигнала олефиновых метиновых протонов (δ_{H} 6,71, 7,25) с КССВ 16.0 Гц, что характерно для *транс*-1,2-замещенной двойной связи, а также sp^2 -метиновый сигнал при δ_{H} 6,12. Спектр ^1H ЯМР содержал сигналы метинового квартета при δ_{H} 4,56 и метильного дуплета при δ_{H} 1,48, интенсивность которых значительно была ниже остальных сигналов. В спектре ^{13}C ЯМР выявлено присутствие 15 сигналов, включая сигналы от метильного (δ_{C} 16,2), sp^3 -метинового (δ_{C} 25,4), семи sp^2 -метиновых и шести четвертичных атомов углерода. Сигнал при δ_{C} 165,9 указывал на присутствие конъюгированной карбоксильной группы, что также подтверждалось наличием полосы при 1656 cm^{-1} в ИК-спектре соединения. Совокупность спектральных данных указывала на близость строения к известному симметричному бис(стирилпиرونу) – 1,1-дистирилпирилэтану, представляющему собой димер гиспидина (Wangun, Hertweck, 2007).

В спектре НМВС установлено наличие протон-углеродных корреляций между Н-10 и С-12, С-14 (Н-10' и С-12', С-14'), Н-13 и С-9, С-11 (Н-13' и С-9', С-11') и Н-14 и С-10, С-12 (Н-14' и С-10', С-12'), что подтверждает присутствие в структуре соединения *n*-гидроксистирильного (биснорянгонильного) остатка. Корреляции между протоном Н-1'' и атомами С-2, С-3, С-4, С-2', С-3', С-4', а также Н-2'' и атомами С-1'', С-3, С-3' свидетельствовали о присоединении этильного остатка С-1''-С-2'' к атомам С-3 и С-3'.

Таким образом, для соединения определено строение 3,3'-этилиденбис[4-гидрокси-6-(4-гидроксистирил)-2Н-пиран-2-он], названный нами реадинин (рисунок 1).

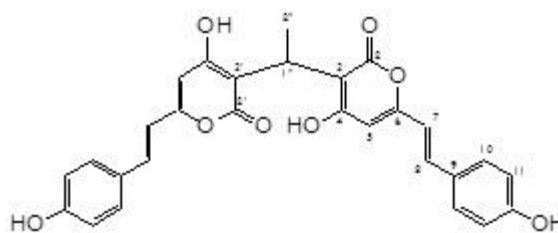


Рисунок 1 – Структура реадинина

Водорастворимые полисахариды фракции Ir-05 мицелия *I. rheades*.

Фракция Ir-05 характеризовалась высоким содержанием водорастворимых полисахаридов (ВРПС) Ir-05ПС. С помощью препаративной ГПХ были выделены 5 компонентов суммарного комплекса ВРПС мицелия *I. rheades* (Ir-05ПС): Ir-05ПС-1 – Ir-05ПС-5. Анализ моносахаридного состава в виде производных с 3 метил-1-фенил-2-пиразолин-5-оном (РМР) осуществляли методом ВЭЖХ. Полимер Ir-05ПС-1 с молекулярной массой 1520 кДа характеризовался доминированием глюкозы, галактозы и маннозы в соотношении 6,1:1,2:1. Полимер Ir-05ПС-2 с молекулярной массой 1150 кДа также содержал глюкозу, галактозу и маннозу в качестве основных моносахаридов, в соотношении 2,9:2,2:1. Для компонента Ir-05ПС-3 с молекулярной массой 820 кДа было отмечено повышенное содержание ксилозы (15,9 моль%); соотношение основных моносахаридов галактозы, маннозы и ксилозы составляло 3,6:1,2:1. Доминирующий полимер Ir-05ПС-4 имел молекулярную массу 148 кДа и представлял собой гетерополисахарид, содержащий галактозу, маннозу и глюкозу в качестве основных моносахаридов

в соотношении 4,2:1,4:1; на долю минорных моносахаридов приходилось не более 4,5 моль%. Низкомолекулярный компонент Ir-05ПС-5 представлял собой глюкан с содержанием глюкозы 81,7 моль%.

Определена структура доминирующего полимера Ir-05ПС-4 – представляет собой высокоразветвленный полисахарид, содержащий на невосстанавливающих концах цепей остатки галактозы (2,3,4,6-Me4-Gal), маннозы (2,3,4,6-Me4-Man), глюкозы (2,3,4,6-Me4-Glc), ксилозы (2,3,4-Me3-Xyl), арабинозы (2,3,4-Me3-Ara) и фукозы (2,3,4-Me3-Fuc). Выявлено высокое содержание 6-О-(2,3,4-Me3-Gal) и 2,6-ди-О-замещенных галактозных остатков (3,4-Me2-Gal), дающих в сумме 56,3% остатков в молекуле полимера. Также установлено присутствие таких углеводных остатков как 2-О-замещенные галактоза (3,4,6-Me3-Gal) и манноза (3,4,6-Me3-Man), а также 6-О-замещенная глюкоза. Последние остатки, вероятно, образуют боковые цепи полисахарида.

Для определения типа моносахаридов, образующих основную цепь молекулы полимера, был осуществлен частичный гидролиз, приведший к образованию фрагмента Ir-05ПС-4* с молекулярной массой 25 кДа, единственным компонентом которого является галактоза. Анализ альдитол ацетатов после метилирования показал, что основным фрагментом Ir-05ПС-4* является 6-О-замещенная галактоза (2,3,4-Me3-Gal; 92,6%), которая формирует кор молекулы полимера в виде цепи [\rightarrow 6)-Gal-(1 \rightarrow].

Таким образом, комплекс водорастворимых полисахаридов мицелия *I. rheades* представляет собой смесь глюканов (Ir-05ПС-1, Ir-05ПС-2, Ir-05ПС-5) и галактанов (Ir-05ПС-3, Ir-05ПС-4) с различной молекулярной массой, а также впервые установить предварительное строение доминирующего полимера из мицелия Ir-05ПС-4 в виде (1 \rightarrow 6)-связанного галактана, у которого более 60% остатков галактозы замещено по положению С-2 различными углеводными фрагментами. Полисахариды мицелия *I. rheades* охарактеризованы нами впервые.

Влияние субстратного фактора на накопление лупановых тритерпеноидов в мицелии *I. rheades*. Проведенные исследования выявили, что мицелий *I. rheades* способен концентрировать тритерпеновые соединения, источником которых является древесина, используемая в качестве субстрата.

Таблица 2 – Содержание тритерпеноидов в мицелии *I. rheades* на разных субстратах, мг/г

Объект	Лупеол	Бетулин	Бетулиновая кислота	Σ
Мицелий <i>I. rheades</i> (субстрат – <i>B. pendula</i>)	0,22 \pm 0,00	1,23 \pm 0,03	0,97 \pm 0,02	2,42
Древесина <i>B. pendula</i>	0,53 \pm 0,01	9,35 \pm 0,24	0,33 \pm 0,00	10,21
Мицелий <i>I. rheades</i> (субстрат – <i>P. tremula</i>)	0,19 \pm 0,00	н.о.	н.о.	0,19
Древесина <i>P. tremula</i>	0,50 \pm 0,01	н.о.	н.о.	0,50
Мицелий <i>I. rheades</i> (субстрат – жидк. ср.)	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
Жидкая среда	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.

Примечание: н.о. – не обнаружено. n=3. M \pm S.D.

Так было показано, мицелий, полученный на *B. pendula*, содержит бетулин, бетулиновую кислоту и лупеол, на *P. tremula*, содержит лупеол, а применение жидкой среды приводит к получению мицелия, не содержащего тритерпеноидов (таблица 2).

Влияние субстратного фактора на жирнокислотный состав мицелия *I. rheades*. В ходе исследования было показано, что субстрат влияет на концентрацию насыщенных (НЖК) и ненасыщенных (ННЖК) жирных кислот мицелия *I. rheades*. Выявлено содержание НЖК и ННЖК на древесине *B. pendula*, составило 34,1 и 65,7%, на древесине *P. tremula* 41,1 и 58,7%, соответственно. Основные изменения пришлись на долю олеиновой, линолевой и бегеновой кислот (рисунок 2).

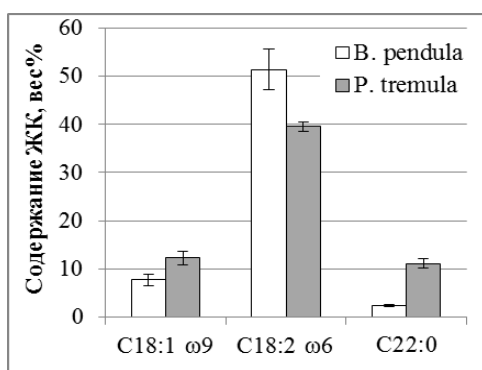


Рисунок 2 – Состав жирных кислот мицелия *I. rheades*, культивированного на двух древесных субстратах, % от общего содержания жирных кислот

Примечание: на рисунке представлены только ЖК на долю которых пришлись основные изменения. n=3. M±S.D.

Влияние субстратного фактора на накопление стирилпионов и бис(стирилпионов) в мицелии *I. rheades*. Субстрат оказывает существенное влияние на состав стирилпионов и бис(стирилпионов) мицелия *I. rheades* – мицелий, полученный в темноте при использовании древесины *B. pendula*, содержал значительно большее количество соединений, чем мицелий, выращенный на *P. tremula* (таблица 3).

Таблица 3 – Содержание стирилпионов и бис(стирилпионов) в мицелии *I. rheades* на разных субстратах, мкг/г

Соединение	Субстрат	
	<i>B. pendula</i>	<i>P. tremula</i>
<i>транс</i> -Биснорянгонин	1,26±0,05	следы
<i>цис</i> -Биснорянгонин	0,94±0,02	следы
3-Биснорянгонил-14'-гиспидин	3,72±0,11	0,63±0,01
<i>транс</i> -Гиспидин	16,21±0,82	3,75±0,08
<i>цис</i> -Гиспидин	1,40±0,06	следы
Σ	23,53	4,38

Примечание: н.о. – не обнаружено. n=3. M±S.D.

Влияние субстратного фактора на накопление водорастворимых полисахаридов в мицелии *I. rheades*. При изучении состава водорастворимых полисахаридов (ВРПС) мицелия *I. rheades* было показано, что синтез

доминирующих моносахаридов изменяется при выращивании мицелии на разных древесных субстратах (таблица 4).

Таблица 4 – Моносахаридный состав полисахаридных фракций (моль%)

Образец	Ara	Gal	Glc	Fuc	Man	Rha	Xyl	GalA	GlcA
<i>B. pendula</i>	0,4	56,8	13,8	3,9	15,3	1,7	5,0	2,3	0,7
<i>P. tremula</i>	1,6	74,2	4,4	2,8	7,6	2,6	3,4	2,9	0,4

Примечание: н.о. – не обнаружено. n=3.

Выявлено, для мицелия, полученного на *P. tremula* характерно преобладание галактанов, в то время как мицелий на *B. pendula* накапливает больше глюкозана и маннана. В мицелии, выращенном на *B. pendula* содержание фукозы и ксилозы больше, чем в мицелии на *P. tremula*, содержание арабинозы и рамнозы напротив выше при использовании *P. tremula* в качестве субстрата.

Влияние светового режима на накопление лупановых тритерпеноидов в мицелии *I. rhodes*. Исследование показали, что длина волны света оказывает влияние на состав тритерпеноидов мицелия *I. rhodes* (рисунок 3). В частности, в мицелии, полученном в условиях освещения красным, желтым и зеленым светом наблюдалось доминирование бетулиновой кислоты с максимальными показателями содержания в области желтого света 4,84 мг/г. Под действием синей части спектра мицелий накапливал бетулин, максимальное накопление лупеола при красном свете.

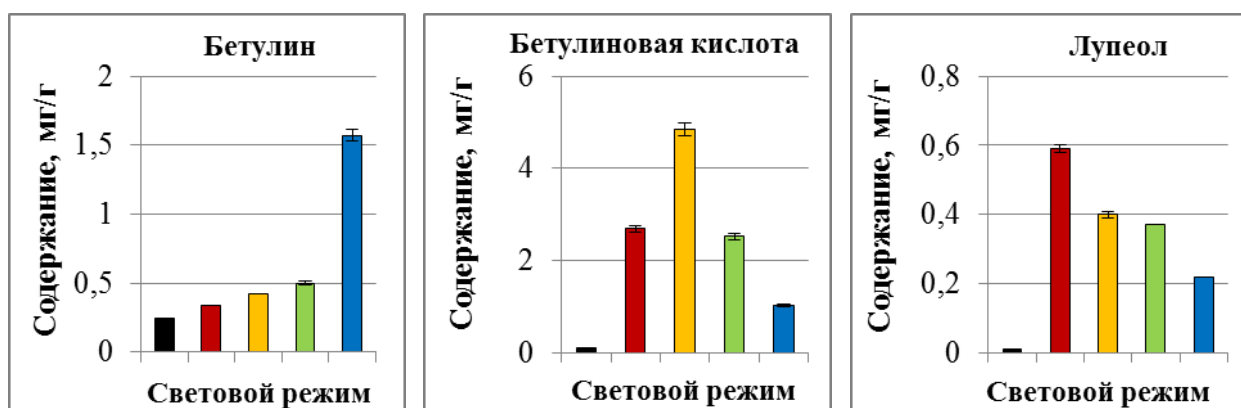


Рисунок 3 – Содержание тритерпеноидов в мицелии *I. rhodes*, выращенного при различных световых режимах, мг/г

Примечание: красный свет с интенсивность светового потока (46,4 мкмоль/м²*с), желтый (41,5 мкмоль/м²*с), зеленый (55,3 мкмоль/м²*с), синий (24,1 мкмоль/м²*с). n=3. M±S.D.

При изучении влияния интенсивности синего света на процесс накопления тритерпеноидов. было установлено, что повышение мощности светового потока от 24,1 до 48,3–96,8 мкмоль/м²*с способствует повышению концентрации тритерпеноидов в мицелии от 2,80 до 6,15–6,19 мг/г, в том числе бетулина от 1,57 до 4,85–4,87 мг/г (рисунок 4).

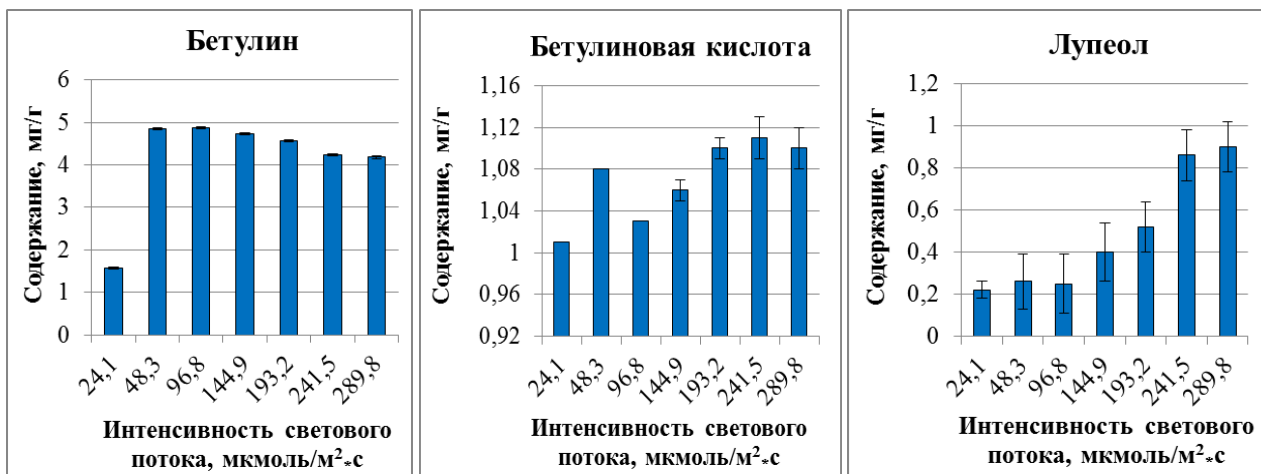


Рисунок 4 – Содержание тритерпеноидов в мицелии *I. rheades*, выращенного с применением синего света различной интенсивности, мг/г
Примечание: n=3. M±S.D.

Учитывая, что основным тритерпеноидом субстрата *B. pendula* является бетулин, можно предположить, что мицелий *I. rheades* при облучении желтым светом способен к трансформации данного соединения в бетулиновую кислоту. Так, наши исследования позволяют предположить схему возможных путей биотрансформации лупановых тритерпеноидов в мицелии *I. rheades* (рисунок 5). Бетулин транспортируется в мицелий *I. rheades* в процессе роста организма, подвергаясь при этом некоторым химическим изменениям. В частности, нами было показано, что под влиянием желтой части светового спектра наблюдается сдвиг химического профиля тритерпеноидов в сторону окисленных форм бетулина, каковой является бетулиновая кислота, образуемая в результате каскада реакций окисления/восстановления.

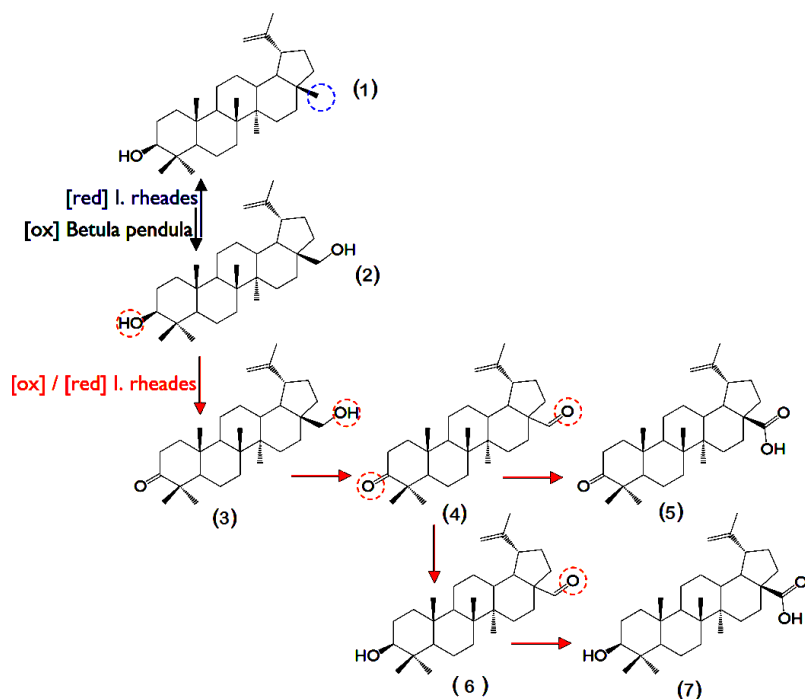


Рисунок 5 – Возможные пути биотрансформации лупановых тритерпеноидов в мицелии *I. rheades*

Обозначения: 1 – лупеол, 2 – бетулин, 3 – бетулон, 4 – бетулоновый альдегид, 5 – бетулоновая кислота, 6 – бетулиновый альдегид, 7 – бетулиновая кислота, red – направление реакции восстановления; ox – направление реакции окисления.

Обнаружение промежуточных продуктов данного процесса бетуллона,

бетулонового альдегида, бетулоновой кислоты, бетулинового альдегида подтверждает данный факт. Синий свет высокой интенсивности препятствует реакциям окисления, сохраняя бетулин в нативном состоянии или переводя его в восстановленную форму – лупеол. Способность мицелиальной культуры базидиомицета к биотрансформации бетулина в бетулиновую кислоту показана впервые.

Влияние светового режима на жирнокислотный состав мицелия *I. rhodes*. Световой режим выращивания влияет на жирнокислотный профиль мицелия *I. rhodes*. Изменения носят, как правило, количественный характер, и касаются в первую очередь показателей содержания основных компонентов. Содержание стеариновой ($C_{18:0}$), линолевой ($C_{18:1\omega6}$) кислот в темноте составило 3,92 и 46,37%, на свету 5,59–8,05% и 51,14–54,78%, соответственно. Содержание олеиновой ($C_{18:1\omega9}$), вакценовой ($C_{18:1\omega7}$) и бегеновой ($C_{20:0}$) кислот в условиях освещения составило 3,96–5,27%, 3,03–3,68% и 0,74–1,20%, максимум в темноте 7,66%, 5,43% и 4,13%, соответственно. Изменения качественного состава были незначительными, однако следует отметить присутствие гнейкозановой кислоты ($C_{21:0}$) только в мицелии, культивируемом в темноте, а арахидиновой ($C_{20:0}$) в темноте и при освещении мицелия желтым и зеленым светом. Изомеры пальмитолеиновой кислоты ($C_{16:1}$) не были выявлены в мицелии, культивируемом при синем свете.

Влияние светового режима на накопление стирилпионов и бис(стирилпионов) в мицелии *I. rhodes*. В результате изучения влияния спектра светового потока на синтез стирилпионов в мицелии *I. rhodes*, выявлено, что максимальное накопление стирилпионов наблюдалось при использовании синей части спектра (рисунок 6А).

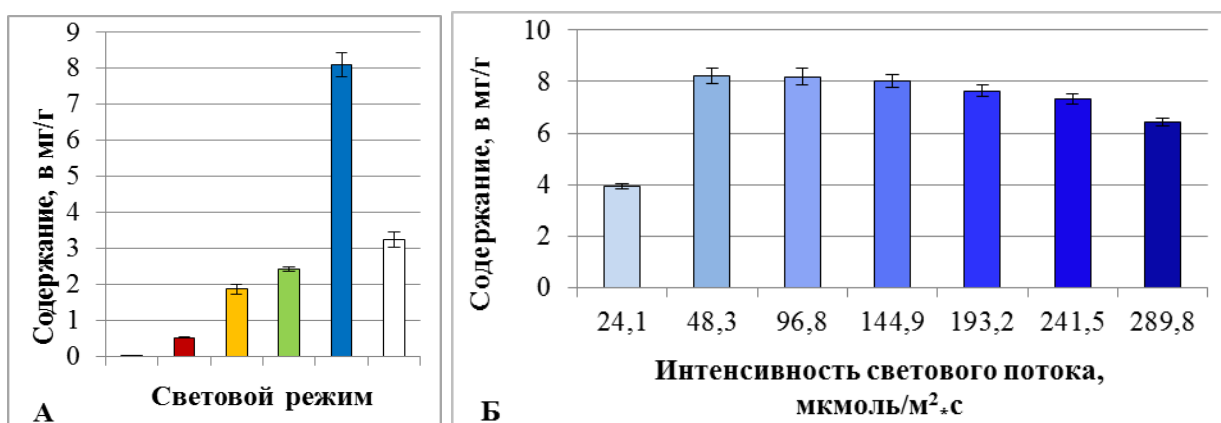


Рисунок 6 – Содержание стирилпионов и бис(стирилпионов) в мицелии *I. rhodes*, мг/г

А) Получение мицелия с использованием различных световых режимов.

Б) Получение мицелия с использованием синего света различной интенсивности.

Примечание: на рис. 5А – интенсивность светового потока составляет для красного 46,4, желтого 41,5, зеленого 55,3 и синего света 48,3 мкмоль/м²·с. n=3. M±S.D.

Суммарное содержание пигментов в образце, полученном при культивировании мицелия под действием синего света, составило 8,10 мг/г и постепенно снижалось до 0,54 мг/г в красной части спектра и 0,02 мг/г в отсутствие света. Компонентный состав фенольных соединений не претерпевал выраженных изменений: основным компонентом был гиспидин, максимальное содержание которого составило 5,30 мг/г. Способность мицелия *I. rheades* накапливать стирилпироны при культивировании в условиях синего света показана впервые (Gornostai et al., 2018).

Максимальные показатели содержания стирилпиронов были характерны для культур, выращенных при облучении синим светом при световом потоке интенсивностью 48,3 мкмоль/м²*с (рисунок 6Б). Таким образом, оптимальный световой режим, обеспечивающий максимальную продукцию стирилпиронов в мицелии *I. rheades*, является синий свет с интенсивностью 48,3–96,8 мкмоль/м²*с.

Влияние светового режима на накопление водорастворимых полисахаридов в мицелии *I. rheades*. В результате исследований выявлено, что синтез доминирующих моносахаридов ВРПС зависит от светового режима выращивания мицелия *I. rheades* (таблица 5).

Таблица 5 – Моносахаридный состав полисахаридов мицелия *I. rheades* при разных световых режимах

Световой режим культивирования	Моносахаридный состав (моль%)								
	Ara	Gal	Glc	Fuc	Man	Rha	Xyl	GalA	GlcA
Красный	2,3	25,4	28,1	11,8	14,3	4,9	12,4	0,6	0,1
Желтый	1,8	25,2	30,3	9,6	14,9	6,3	11,1	0,5	0,2
Зеленый	1,9	28,2	26,9	7,0	17,2	8,0	9,5	1,0	0,2
Синий	2,3	30,5	24,7	6,2	20,2	6,8	7,4	1,5	0,3
Белый	2,0	25,5	25,9	8,1	19,2	8,2	9,6	1,2	0,2
Темнота	0,4	56,8	13,8	3,9	15,3	1,7	5,0	2,3	0,7

Примечание: Интенсивность светового потока для красного составляла (46,4 мкмоль/м²*с), для желтого (41,5 мкмоль/м²*с), для зеленого (55,3 мкмоль/м²*с), синего (48,3 мкмоль/м²*с) и белого (58,8 мкмоль/м²*с).

В мицелии, выращенном в темноте, преобладают галактаны, в то время как мицелий на свету, вне зависимости от длины волны используемого светового режима, содержит меньшее количество галактанов. При культивировании мицелия на свету содержание глюкозы почти в 2 раза выше. Содержание глюкозы составляло 24,7–30,3 моль% с максимумом при облучении желтым светом. Содержание галактозы в полисахаридных комплексах было наибольшим при использовании синего света (30,5 моль%). Следует отметить, что при переходе от красного к синему типу света в ВРПС снижалось содержание фукозы (11,8→6,2 моль%) и ксилозы (12,4→7,4 моль%), напротив, концентрация маннозы (14,3→20,2 моль%) и кислых моносахаридов повышалась (0,6→1,5 моль% и 0,1→0,3 моль% для галактуроносовой и

глюкуроновой кислот, соответственно). Для мицелия, выращенного при белом свете, были характерны усредненные показатели содержания всех углеводов. Таким образом, можно сделать вывод о том, что для *I. rhodes* характерен светозависимый характер биосинтеза полисахаридов определенных типов.

Технологическая схема получения мицелия трутовика лисьего сухого. Изучение химического состава мицелия трутовика лисьего позволили заключить, что данное сырье является перспективным для получения соединений разной природы. Исследование изменений химического состава под действием светового и субстратного фактора позволили предложить технологию получения мицелия трутовика лисьего на древесине *B. pendula* с использованием обработки светом 465-470 нм и интенсивностью светового потока 48,3 мкмоль/м²*с для увеличения содержания действующего вещества – гиспидина (рисунок 7).

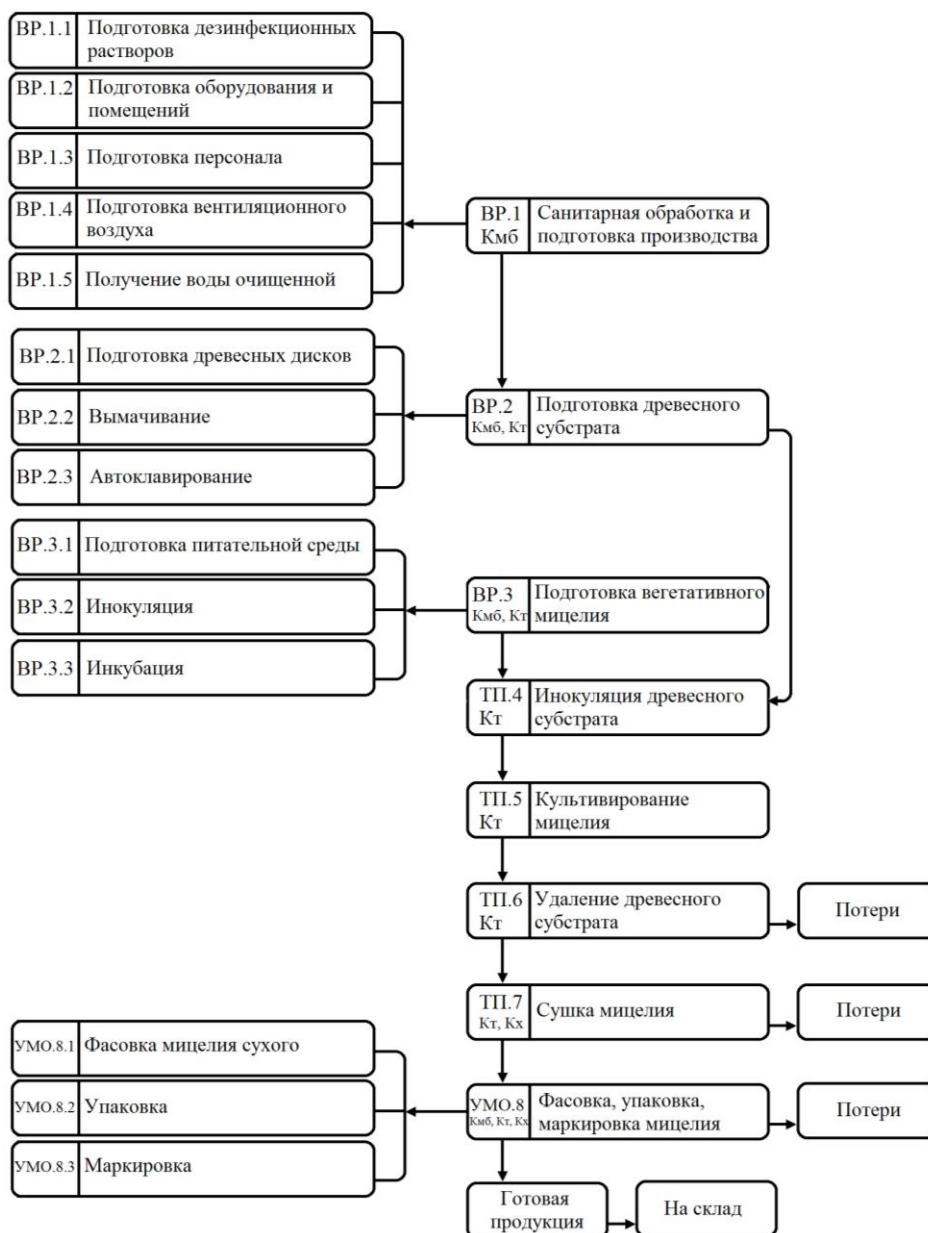


Рисунок 7 – Технологическая схема производства мицелия трутовика лисьего сухого.

Микроскопические признаки мицелия трутовика лисьего. При микроскопическом исследовании установлены диагностические признаки сырья трутовика лисьего. При рассмотрении поперечного и продольного среза цельного и измельченного сырья обнаружено мицелий состоит из септированных, ветвящихся однородно распределённых гиф, большая часть стенок которых пигментирована, пряжки отсутствуют (рисунок 8А, Б). При рассмотрении микропрепаратов порошка мицелия по поверхности и по краям кусочков видны ветвящиеся однородно распределённые гифы, часть их которых пигментирована полностью (рисунок 8В, Г).

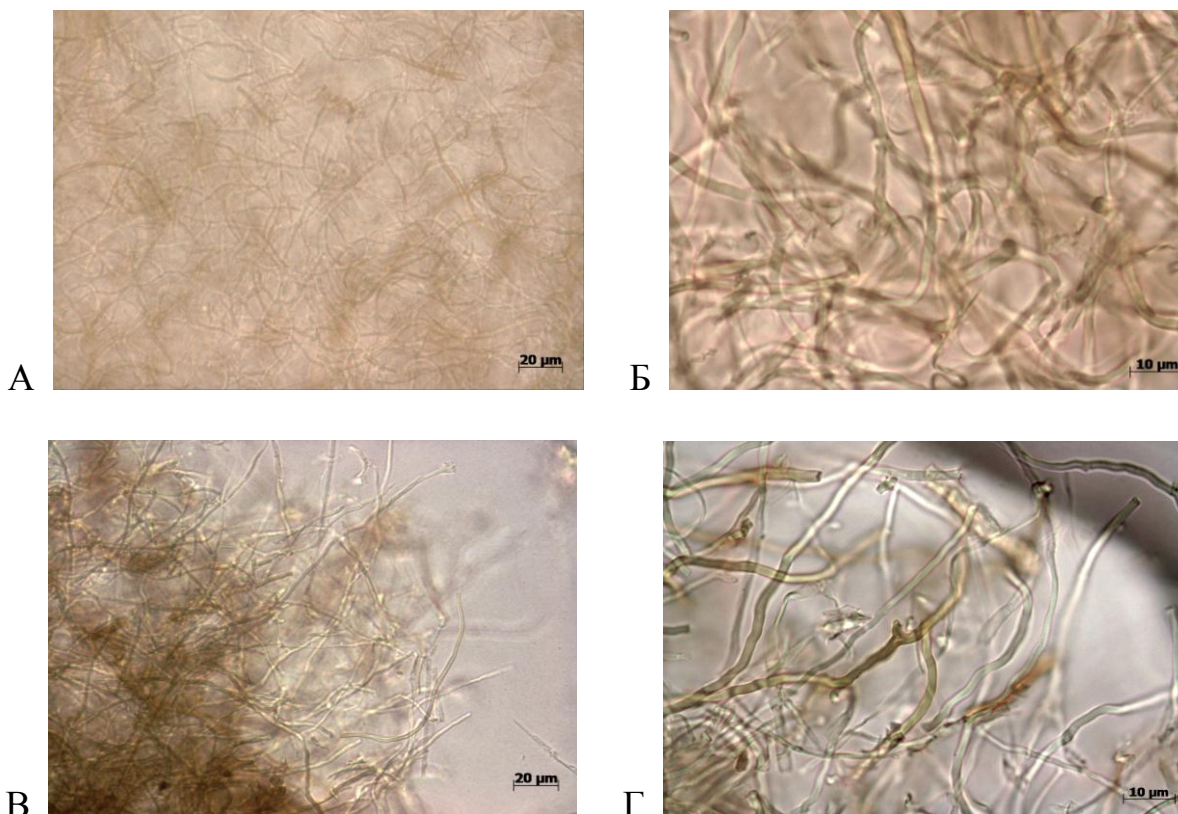


Рисунок 8 – Фрагменты микроскопического строения мицелия трутовика лисьего.

а – цельное сырье, увеличение $\times 400$, б – цельное сырье, увеличение $\times 1000$, в – порошок, увеличение $\times 400$, г – порошок, увеличение $\times 1000$.

Качественное определение полифенольных соединений и гиспидина в мицелии трутовика лисьего. Изучение химического состава мицелия показало присутствие тритерпенов, жирных кислот, стирилпиранов, полисахаридов. Для стандартизации сухого мицелия предложены качественная реакция на полифенольные соединения и гиспидин (реакция Фолина) и высокоэффективная жидкостная хроматография (время удерживания основного пика на хроматограмме 70% спиртового экстракта должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме раствора СО гиспидина).

Методы испытаний мицелия трутовика лисьего. По результатам товароведческого анализа разработаны показатели качества сырья трутовика лисьего, которые включены в проект ФСП (таблица 6). Для цельного сырья, измельченного сырья и порошка мицелия трутовика лисьего сухого показатель «Влажность» должен быть не более 5%, показатель «Зола общая» не более 10%, показатель «Зола, нерастворимая в 10% растворе HCl» не более 3%, показатель «Органическая примесь» не более 1%, показатель «Минеральная примесь» не более 0,5%. Для цельного сырья частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм должно быть не более 3%. Для измельченного сырья частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм должно быть не более 3%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,25 мм должно быть не более 5%. Для порошка частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм должно быть не более 7%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм должно быть не более 5%.

Таблица 6 – Товароведческие показатели мицелия трутовика лисьего

Числовые показатели	Норма		
	Цельное сырье	Измельченное сырье	Порошок
Содержание влаги в сырье, %	Не более 5	Не более 5	Не более 5
Зола общая, %	Не более 10	Не более 10	Не более 10
Зола, нерастворимая в 10% растворе HCl, %	Не более 3	Не более 3	Не более 3
Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7 мм		Не более 3	
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм	Не более 3		
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, %			Не более 7
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,25 мм, %		Не более 5	
Частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,18 мм, %			Не более 5
Органическая примесь, %	Не более 1	Не более 1	Не более 1

Количественное определение гиспидина в мицелии трутовика лисьего.

Разработана методика количественного анализа гиспидина методом микроколоночной обращенно-фазовой ВЭЖХ с одноволновым детектированием (250 нм) с применением колонки *ProntoSIL-120-5-C18* (70×2 мм) и градиентной элюентной системы, включающей подвижную фазу [0,2 М LiClO₄ в 0,006 М HClO₄] и ацетонитрил (рисунок 9). Относительная ошибка методики определения гиспидина не превышала 1, 50% (таблица 7). Для цельного сырья, измельченного сырья и порошка мицелия трутовика лисьего сухого показатель «Содержание гиспидина» должен быть не менее 0,5%.

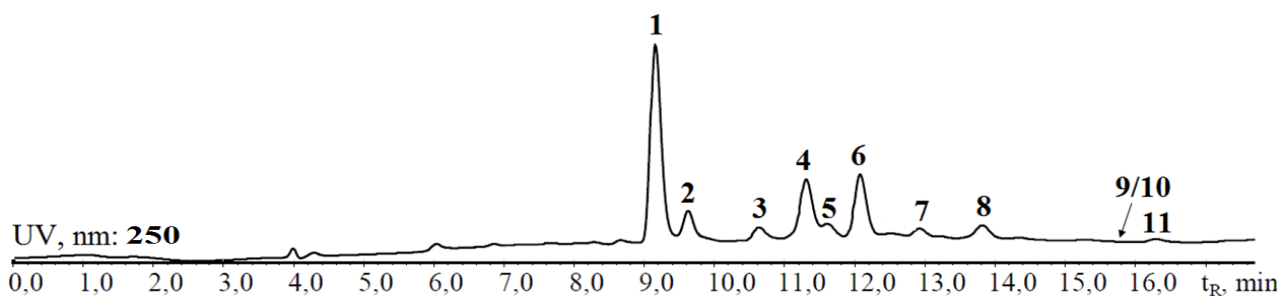


Рисунок 9 – Хроматограмма ВЭЖХ этанольного экстракта мицелия *I. rheades*. Условия: элюент А [0,2 М LiClO₄ в 0,006 М HClO₄], элюент В [MeCN]; режим элюирования 50-100% В (0-10 мин), 100% (10-20 мин). Скорость потока 0,15 мл/мин, T 35 °С. Числами обозначены положение соединений: **1** – транс-гиспидин, **2** – цис-гиспидин, **3** – транс-биснорянгонин, **4** – 3,14'-бисгиспидинил, **5** – цис-биснорянгонин, **6** – гифоломин В, **7** – 3-биснорянгонил-14'-гиспидин, **8** – 1,1-дистирилпирилэтан, **9/10** – феллинины А1 и А2, **11** – реадинин.

Таблица 7 – Метрологические характеристики разработанной методики ($n = 5$, $P = 0,95$, $tP, f = 2,57$)

f	$\bar{x}, \%$	S^2	S_x	$\pm \Delta x, \%$	$E, \%$
5	0,64	$7,21 \cdot 10^{-5}$	$3,75 \cdot 10^{-3}$	0,00(9)	1,50

Валидационный анализ показал, что зависимость площади хроматографического пика от концентрации гиспидина в диапазоне концентрации 5–1000 мкг/мл описывалась линейной регрессией со значением коэффициента детерминации 0,9999 (таблица 8).

Таблица 8 – Валидационные параметры методики количественного анализа гиспидина методом ВЭЖХ

Параметр	Гиспидин
a ^a	0,032
b ^a	1,463
Линейность (r^2)	0,9999
S_{yx}	$1,02 \cdot 10^{-2}$
LOD, мкг/мл	1,05
LOQ, мкг/мл	3,18
Диапазон, мкг/мл	5–1000
Воспроизводимость ^b , %	1,04
Правильность:	
день-в-день ^b , %	1,12
день-через-день ^b , %	1,29
Точность ^b , %	98,67–101,92

^a коэффициенты в уравнении регрессии $Y = a \cdot X + b$, где X – концентрация, мкг/мл, Y – площадь пика, mAU; ^b $n = 6$; ^c $n = 5$.

Величины пределов детектирования (LOD) и количественного определения гиспидина (LOQ) составили 1,05 и 3,18 мкг/мл, соответственно. Показатели воспроизводимости, вариабельности и стабильности не превышали 1,5%, а точность методики, определенная для пяти уровней концентрации (80–120%) составила 98,67–101,92%.

Проведенные фармакологические исследования показали, что экстракты мицелия *I. rheades* обладают антиоксидантной, противовоспалительной, иммуностимулирующей, антикомплементарной, антигликозидазной и антибактериальной активностью.

ВЫВОДЫ

1. Впервые детально охарактеризован химический состав мицелия *I. rheades*. Установлено наличие в составе мицелия следующих групп соединений: фенольных соединений 0,54%; аминокислот 0,72%; углеводов 5,74%, в том числе: водорастворимых полисахаридов 1,28%, щелочерастворимых полисахаридов 1,46%, спирторастворимых полисахаридов 2,19%, белков 0,92%; липидов 0,67%, золы 2,60%. Впервые в мицелии *I. rheades* идентифицированы три стерола (инотодиол, ланостерол, эргостерол пероксид) и семь лупановых тритерпеноидов (лупеол, бетулин, бетулиновая кислота, бетулон, бетулоновый альдегид, бетулоновая кислота, бетулиновый альдегид). Также первые идентифицированы шесть стирилпиронов (*транс*- и *цис*-гиспидин, *транс*- и *цис*-биснорянгонин, феллининов А1 и А2) и пять бис(стирилпиронов) (3,14'-бисгиспидинил, гифоломином В, 3-биснорянгонил-14'-гиспидин, 1,1-дистирилпирилэтана), а также выделен и охарактеризован новый бис(стирилпирон) – реадинин (3,3'-этилиден-бис-[4-гидрокси-6-(4-гидроксистирил)-2Н-пиран-2-он]). Впервые выделены и охарактеризованы полисахариды мицелия *I. rheades*. Установлено предварительное строение доминирующего полимера из мицелия в виде (1→6)-связанного галактана.

2. В результате исследования влияния субстратного и светового фактора на химический состав мицелия *I. rheades*, было показано, мицелий *I. rheades* способен накапливать тритерпеновые соединения из древесины *Betula pendula*, используемой в качестве субстрата. Доминирование бетулиновой кислоты среди тритерпеноидов наблюдается при культивировании мицелия в условиях освещения красной, желтой и зеленой частями спектра, с максимальным содержанием в желтой, и накоплением бетулина в синей части спектра. Использование в качестве субстрата *P. tremula* повышает насыщенность жирных кислот мицелия на 17 %, основные изменения приходятся на долю олеиновой, линолевой и бегеновой кислот. Мицелий *I. rheades* способен накапливать стирилпироны под действием света, с уменьшением их количества при изменении облучения от синей (8,10 мг/г) к красной (0,54 мг/г) части спектра и почти исчезая (0,02 мг/г) в темноте. Показан светозависимый характер биосинтеза полисахаридов определенных типов. Для моносахаридного состава установлено, в темноте преобладают галактаны, на свету глюканы.

3. Разработана технология получения сырья трутовика лисьего сухого, обогащённого гиспидином. Проведена стандартизация сырья (цельного, измельченного и порошка) трутовика лисьего сухого, в результате установлены показатели подлинности и доброкачественности с установлением его макро- и микроскопических признаков. Рекомендуемое содержание гиспидина в сырье – не менее 0,5%. Разработанные числовые показатели и нормы качества мицелия трутовика лисьего сухого включены в проект ФСП «Мицелий трутовика лисьего сухого».

4. Разработана методика количественного анализа гиспидина в мицелии трутовика лисьего методом ВЭЖХ. Методика валидирована и соответствуют критериям правильность, прецизионность, специфичность и линейность. Установлены числовые показатели качества сырья, включенные в проект ФСП «Мицелий трутовика лисьего сухого».

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Gornostay, T.G. Research of antioxidant and antimicrobial activity of water-alcohol extractions of mycotallus and mycelium of *Inonotus rheades* / T.G. Gornostay, T.A. Penzina, V.A. Chkhenkeli, M.S. Polyakova, S.N. Osipenko, G.B. Borovskii, D.N. Olennikov // **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**. – 2014. – Vol. 115. – Suppl. 4. – P. 10–10.
2. Горностай, Т.Г. Влияние температурного и субстратного факторов на скорость роста *Inonotus rheades*, *Hericium coralloides* и *Hypsizygus ulmarius* / Т.Г. Горностай, М.С. Полякова, С.Н. Осипенко, Т.А. Пензина, Г.Б. Боровский // **Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология**. – 2014. – № 1. – С. 90–93.
3. Горностай, Т.Г. Изучение антирадикальной и антимикробной активности водно-спиртовых экстрактов плодовых тел и мицелия *Inonotus rheades* (Pers.) Bondartsev & Singer / Т.Г. Горностай, В.А. Чхенкели, Т.А. Пензина, М.С. Полякова, Г.Б. Боровский // **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН**. – 2014. – № 5. – С. 76–79.
4. Горностай, Т.Г. Влияние температуры на скорость роста и антиоксидантную емкость экстрактов мицелия *Hericium coralloides*, *Hypsizygus ulmarius* и *Inonotus rheades* / Т.Г. Горностай, М.С. Полякова, Д.Н. Оленников, Т.А. Пензина, Г.Б. Боровский // **Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология**. – 2015. – Т. 11. – С. 13–21.
5. Горностай, Т.Г. Перспектива использования мицелия грибов рода *Inonotus* в качестве источника биоантиоксидантов / Т.Г. Горностай, Д.Н. Оленников Т.А. Пензина, М.С. Полякова, Г.Б. Боровский // Тезисы докладов IX Международной конференции «Биоантиоксидант». – Москва, 2015. – С. 42.
6. Горностай, Т.Г. Влияние света на синтез стирилпионов в мицелии *Inonotus rheades* Bondartsev & Singer. / Т.Г. Горностай, Д.Н. Оленников, Ю.Б. Захаров, Т.А. Пензина, Г.Б. Боровский // **Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых «Факторы устойчивости растений и микроорганизмов в экспериментальных природных и техногенных условиях и техногенной среде»**. – Иркутск, 2016. С. 71–72.

7. Gornostay, T.G. Light as a regulator of the chemical composition of the mycelium of *Inonotus rheades* (Pers.) Bondartsev & Singer / T.G. Gornostay, D.N. Olennikov, Y.B. Zakharov // *Материалы международной молодежной научно-практической конференции «Россия-Монголия»*. – Улан-Батор, 2016. – С. 13–14.
8. Borovskaya, M.K. Antioxidant and cytotoxic activity of water ethanol extracts from the mycelium of *Inonotus rheades* (Pers.) Bondartsev & Singer / M.K. Borovskaya, T.G. Gornostay, G.B. Borovskii // **Journal of Stress Physiology and Biochemistry**. – 2016. – Vol. 12. – No 4. – P. 62–71.
9. Olennikov, D.N. Rheadinin, a new bis(styrylpyrone) from mycelium of *Inonotus rheades* / D.N. Olennikov, T.G. Gornostai, T.A. Penzina // **Chemistry of Natural Compounds**. – 2017. – Vol. 53. – No 4. – P. 629–631.
10. Olennikov, D.N. Lupane triterpenoids and sterols from *Inonotus rheades* mycelium and its antiglycosidase activity / D.N. Olennikov, T.G. Gornostay, T.A. Penzina, G.B. Borovskii // **Chemistry of Natural Compounds**. – 2017. – Vol. 53. – No 5. – P. 841–842.
11. Горноста́й, Т.Г. Трансформация лупановых тритерпеноидов в мицелии *Inonotus rheades* (Pers.) Bondartsev & Singer под действием света / Т.Г. Горноста́й, Д.Н. Оленников, Ю.Б. Захаров, Г.Б. Боровский // *Материалы II Всероссийской конференции с участием иностранных ученых, посвященная памяти д.б.н., проф., заслуженного деятеля науки РФ Леонида Владимировича Бардунова (1932–2008 гг.) «Проблемы изучения и сохранения растительного мира Евразии»*. – Иркутск, 2017. – С. 188–189.
12. Горноста́й, Т.Г. Изменение химического состава мицелия *Inonotus rheades* под действием света / Т.Г. Горноста́й, Ю.Б. Захаров, Г.Б. Боровский, Д.Н. Оленников // *Материалы Годичного собрания Общества физиологов растений России, Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых «Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды»* – Иркутск, 2018. – С. 1222–1224.
13. Горноста́й, Т.Г. Липиды *Inonotus rheades* (Hymenochaetaceae): влияние субстрата и светового режима на жирнокислотный профиль мицелия / Горноста́й Т.Г., Полякова М.С., Боровский Г.Б., Оленников Д.Н. // **Химия растительного сырья**. – 2018. – № 1. – С. 105–111.
14. Gornostai, T.G. Phenolic compounds of *Inonotus rheades* mycelium: RP-UPLC-DAD-ESI/MS profile and effect of light wavelength on the styrylpyrone content / T.G. Gornostai, G.B. Borovskii, N.I. Kashchenko, D.N. Olennikov // **International Journal of Medicinal Mushrooms**. – 2018. – Vol. 20. – No 7. – P. 637–645.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВРПС – водорастворимые полисахариды, ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография, ГПХ – гель-проникающая хроматография, ИК – инфракрасный, УФ – ультрафиолетовый, ЯМР – ядерный магнитный резонанс Ара – арабиноза, Gal – галактоза, Glc – глюкоза, GalA – галактуроновая кислота, GlcA – глюкуроновая кислота, Fuc – фукоза, IC₅₀ – концентрация 50% ингибирования, Man – манноза, Rha – рамноза, Xyl – ксилоза.

ГОРНОСТАЙ Татьяна Геннадьевна
ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ, СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА МИЦЕЛИЯ *INONOTUS RHEADES* (HYMENOSCHAEETACEAE)
Автореф. дис. на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук

Подписано к печати 08.10.2019 г.
Формат 60×84/16. Объем 1,4 п.л. Тираж 100 экз. Заказ № 871.
Издательство Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН.
664033 г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 1.