Оригинальное исследование | Original study article
DOI: https://doi.org/10.35693/AVP678202

This work is licensed under CC BY 4.0
©Authors, 2025

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ФОМИТОИДНЫХ ТРУТОВИКОВ, РАСПРОСТРАНЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Г.И. Горбацевич

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет» (Минск, Республика Беларусь)

Для цитирования: Горбацевич Г.И. **Антимикробная активность экстрактов фомитоидных трутовиков, распространенных на территории Республики Беларусь.** *Аспирантский вестник Поволжья.* 2025;25(2):56-62. DOI: https://doi.org/10.35693/AVP678202

Сведения об авторе

Горбацевич Глеб Иванович – канд. хим. наук, доцент, доцент кафедры фармацевтической химии с курсом повышения квалификации и переподготовки. ORCID: 0009-0002-0226-8636 E-mail: hleb.harbatsevich@gmail.com

Получено: 07.04.2025 Одобрено: 29.04.2025 Опубликовано: 07.05.2025

Аннотация

Цель – оценить антимикробный потенциал суммарных и фракционированных экстрактов плодовых тел фомитоидных трутовиков, распространенных на территории Республики Беларусь.

Материал и методы. Для получения экстрактов трутовых грибов использовали ремацерацию и фракционирование растворителями растущей полярности в аппарате Сокслета, определение суммы фенольных, стероидных и тритерпеновых соединений проводили фотометрическими методами, а антимикробную активность в отношении тест-микроорганизмов оценивали диффузионно-луночным методом.

Результаты. Показано, что экстракты *P. betulinus* демонстрируют сопоставимый с антибиотиками эффект в отношении *S. aureus*, *B. subtilis* и *S. marcescens*. У экстрактов *F. pinicola* установлена умеренная активность против *S. aureus* и *Ps. aeruginosa*. Фракционирование экстрактов по полярности позволило выявить преобладание тритерпеновых соединений в неполярных фракциях, причем их наибольшее количество обнаружено в экстрактах *P. betulinus*. Фенольные соединения преимущественно накапливаются в этилацетатных и спиртовых фракциях, с особенно высоким содержанием в экстрактах *Ph. igniarius* и *F. fomentarius*. Результаты антимикробного скрининга фракционированных экстрактов подтвердили ведущую роль липофильных компонентов в антимикробной активности трутовиков: неполярные фракции (ПЭ, $CHCl_3$ и ЭА) продемонстрировали более высокие уровни антимикробной активности.

Выводы. Результаты подчеркивают перспективность изучения липофильных соединений фомитоидных трутовиков как потенциальных источников природных антимикробных средств. Перспективы исследования направлены на выделение и характеристику активных соединений, определение механизма их действия и возможности их применения в медицине.

Ключевые слова: антимикробная активность, тритерпеновые и стероидные соединения, фенольные соединения, фомитоидные трутовики.

Конфликт интересов: *не заявлен.*

Список сокращений

FF – Fomes fomentarius, FP – Fomitopsis pinicola, GA – Ganoderma applanatum, GL – Ganoderma lingzhi, IO – Inonotus obliquus, PB – Piptoporus betulinus, PI – Phellinus igniarius, LS – Laetiporus sulphureus, СФ – сумма фенолов, СТС – сумма тритерпеноидов и стероидов, ПЭ – петролейно-эфирные, $CHCl_3$ – хлороформные, ЭА – этилацетатные, 96% EtOH – этанольные фракции.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FOMITOID FUNGI EXTRACTS GROWING IN THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF BELARUS

Hleb I. Harbatsevich

Belarusian State Medical University (Minsk, Republic of Belarus)

Citation: Harbatsevich HI. **Antimicrobial activity of fomitoid fungi extracts growing in the territory of the Republic of Belarus.** *Aspirantskiy vestnik Povolzhiya.* 2025;25(2):56-62. DOI: https://doi.org/10.35693/AVP678202

Information about the author

Hleb I. Harbatsevich – Cand. Sci. (Chemistry), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry with the course of advanced training and retraining. ORCID: 0009-0002-0226-8636 E-mail: hleb.harbatsevich@gmail.com

Received: 07.04.2025 Accepted: 29.04.2025 Published:07.05.2025

Abstract

Aim – to evaluate the antimicrobial potential of crude and fractionated extracts from polypore fruiting bodies (Fomitopsis spp.) native to Belarus.

Material and methods. Polypore mushroom extracts were obtained through remaceration and fractionation using solvents of increasing polarity in a Soxhlet apparatus. Total phenolic, steroid, and triterpenoid content was quantified by photometric methods, while antimicrobial activity against test microorganisms was assessed via agar well diffusion assay.

Results. It was shown that the extracts of *P. betulinus* demonstrate an effect on *S. aureus*, *B. subtilis* and *S. marcescens* compared to that of antibiotics. The extracts of *F. pinicola* showed morerate activity against *S. aureus* and *Ps. aeruginosa*. The fractioning of extracts based on their polarity revealed prevalence of triterpenoid compounds in non-polar fractions, their major concentration being found in the extracts of *P. betulinus*. Phenolic compounds accumulate mostly in ethylacetate and ethanolic fractions, the highest concentration being found in the extracts of *Ph. igniarius* and *F. fomentarius*. The results of antibacterial screening of fractionated extracts confirmed the leading role of lypophillic components in the antimicrobial activity of polypores: the non-polar fractions (petroleum ether, $CHCl_3$, and ethylacetate) demonstrated higher levels of antimicrobial activity.

Conclusions. The results highlight the promise of investigating lipophilic compounds from Fomitopsis polypores as potential sources of natural antimicrobial agents. Future research will focus on isolating and characterizing active compounds, elucidating their mechanisms of action, and exploring medical applications.

- **Keywords:** antimicrobial activity, triterpenoid and steroid compounds, phenolic compounds, fomitoid polypores.
- **Conflict of interest:** *nothing to disclose.*

ВВЕДЕНИЕ

Фомитоидные трутовики представляют собой группу базидиомицетов, известных своим уникальным химическим составом и широким спектром биологической активности. На территории Республики Беларусь наблюдается значительное разнообразие таких грибов, включающее виды *Ganoderma applanatum, Ganoderma lingzhi, Fomes fomentarius, Fomitopsis pinicola, Laetiporus sulphureus, Phellinus igniarius* и *Piptoporus betulinus* [1, 2]. Эти грибы относятся к ксилотрофным и поражают как живые деревья, выступая как паразитические организмы, так и мертвую древесину, играя важную роль в лесных экосистемах в качестве переработчиков органических веществ. В настоящее время отмечается заметный интерес к изучению трутовиков в качестве потенциального сырья для получения биологически активных добавок соединений[1, 2].

Фомитоидные трутовики нашли широкое применение в народной медицине благодаря их выраженным целебным свойствам: в традиционных практиках эти грибы использовались для лечения различных заболеваний, включая воспалительные процессы, инфекции, раны, а также для общего укрепления иммунной системы. Современные исследования подтверждают, что экстракты этих грибов обладают антимикробной, противоопухолевой, антиоксидантной, гипогликемической и иммуностимулирующей активностью, что делает их перспективными для дальнейшего изучения [3–7].

Природные источники, такие как растения и грибы, представляют собой ценный ресурс биологически активных веществ, многие из которых обладают уникальными механизмами действия на микроорганизмы [8]. В этом контексте фомитоидные трутовики представляют собой перспективный объект для исследований, направленных на разработку новых природных антимикробных препаратов.

ЦЕЛЬ

Сопоставительный анализ антимикробной активности суммарных и фракционированных экстрактов фомитоидных трутовиков, произрастающих на территории Республики Беларусь, в отношении грамотрицательных, грамположительных бактерий, дрожжевых и плесневых грибов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Заготовка сырья. Плодовые тела текущего года трутовика березового (*Piptoporus betulinus* – PB), скошенного (*Inonotus obliquus* – IO) и настоящего (*Fomes fomentarius* – FF) были собраны с березы повислой, трутовика плоского (*Ganoderma applanatum* – GA) – с дуба, трутовика ложного (*Phellinus igniarius* – PI), серно-желтого (*Laetiporus sulphureus* – LS) и окаймленного (*Fomitopsis pinicola* – FP) – с сосны, а плодовые тела трутовика лакированного (*Ganoderma lingzhi* – GL) были выращены на субстрате на основе дубовых опилок. Сбор сырья осуществлялся в июле – ноябре 2022 года в Минской и Гродненской областях Республики Беларусь. Сырье сушили воздушно-теневым методом при температуре 25±2°C, предварительно разделив на куски 2-3 см.

Получение экстрактов. Суммарные водно-спиртовые экстракты получали методом ремацерации, используя 70% (об.) этанол и сырье после дробления на молотковой дробилке MOLOT 200 с ситом диаметром отверстий 2 мм. Экстракцию проводили в течение двух недель, обновляя экстрагент каждые 72 часа. Для получения фракционированных экстрактов 50 г измельченного сырья последовательно экстрагировали в аппарате Сокслета, используя петролейный эфир (40–70, х.ч., ЭКОС-1), хлороформ (х.ч., ЭКОС-1), этилацетат (х.ч., ЭКОС-1) и 96% этанол (ректификат). Каждая экстракция длилась 48 часов. Полученные экстракты упаривали под вакуумом (100 мбар) при температуре 40–50°C с помощью роторного испарителя RV 05 (Ika Werke GmbH) до состояния сухого остатка. Для получения водной фракции оставшийся шрот выдерживали в кипящей воде в течение 2 часов, после чего фильтровали извлечение и упаривали его досуха на водяной бане WB-4 (ОДО «БЕЛАКВИЛОН»).

Готовые экстракты хранили в герметичной таре в морозильной камере при температуре –18±2°C. При приготовлении растворов экстрактов пересчет вели на сухое вещество. Потерю в массе при высушивании определяли гравиметрически, высушивая образцы в сушильном

[1] Государственный реестр лекарственных средств Республики Беларусь. URL: https://www.rceth.by/Refbank
[2] Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx

шкафу при температуре 105±2°С до достижения постоянной массы[1].

Определение суммы фенольных соединений. Сумму фенольных соединений (СФ) определяли фотометрически с использованием реактива Фолина – Чокальтеу (Merck, кат. № 109001), используя 1% растворы экстрактов в 70% (об.) этаноле. Для построения калибровочного графика готовили серию растворов галловой кислоты с концентрацией от 15,625 до 500 мкг/мл. В пробирки помещали по 20 мкл растворов экстрактов, 100 мкл реактива Фолина – Чокальтеу (разведение 1:3), 400 мкл 10% раствора Na_2CO_3 (ч.д.а., ЗАО «Пять океанов») и 1500 мкл очищенной воды (полученной с использованием аквадистиллятора ДЭ-10М) и выдерживали в темноте при комнатной температуре в течение 1 часа [9]. Измерение оптической плотности растворов выполняли на спектрофотометре HALO VIS-20 (Dynamica Scientific Ltd.) с использованием кварцевой кюветы (длина оптического пути 1 см) при длине волны 725 нм. СФ выражали в микрограммах на грамм сухого экстракта в пересчете на галловую кислоту.

Определение суммы тритерпеновых и стероидных соединений. Сумму тритерпеновых и стероидных соединений (СТС) в образцах полученных экстрактов определяли спектрофотометрическим методом по реакции Либермана – Бурхардта [10]. Для анализа применяли профильтрованные 1% растворы экстрактов в хлороформе. К 1,00 мл хлороформного раствора добавляли 1,00 мл реактива Либермана – Бурхардта (смесь уксусного ангидрида и серной кислоты в соотношении 10:1, об./об., х.ч., Экос-1). Полученную смесь перемешивали и оставляли при комнатной температуре на 90 минут. После выдержки измеряли оптическую плотность растворов при длине волны 665 нм. Для построения калибровочного графика использовали серию растворов холестерина в хлороформе с концентрацией от 10 до 1000 мкг/мл (Merck). В качестве контрольного раствора применяли реакционную смесь, не содержащую экстракта. СТС выражали в миллиграммах на грамм сухого экстракта в пересчете на холестерин.

Определение антимикробной активности экстрактов. Антимикробную активность экстрактов определяли с использованием диффузионно-луночного метода [11]. Чашки Петри с мясо-пептонным агаром засевали микроорганизмами сплошным газоном, после чего с помощью стерильного пробойника формировали лунки диаметром 5 мм. В каждую лунку вносили по 50 мкл 1% раствора тестируемого экстракта. В качестве стандартов

[1] Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание. Федеральная электронная медицинская библиотека. URL: https://femb.ru/record/pharmacopea14

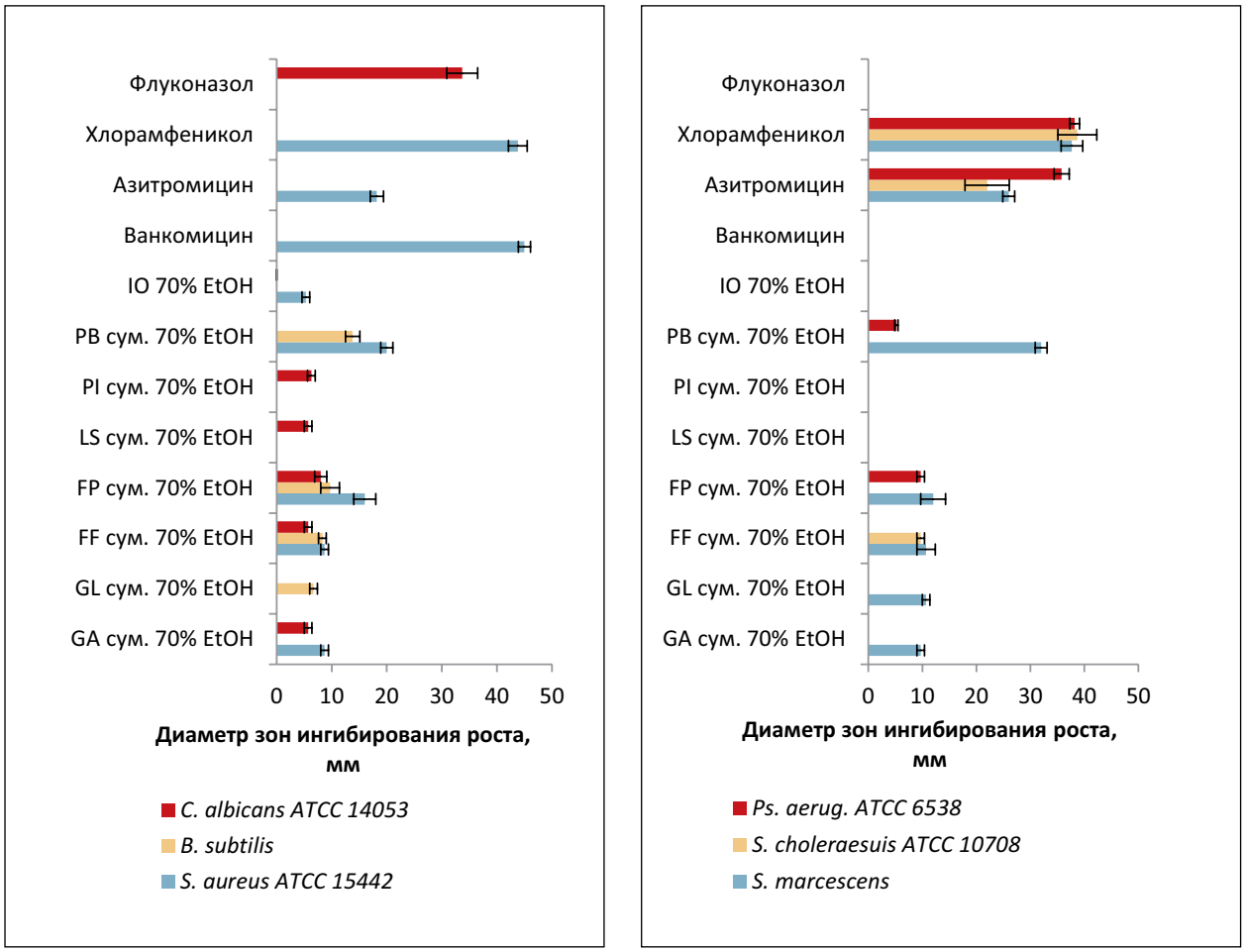

Рисунок 1. Антимикробная активность суммарных водно-этанольных экстрактов плодовых тел фомитоидных трутовиков (*n=3*).

Figure 1. Antimicrobial activity of raw water-ethanol extracts of fruiting bodies of fomitoid polypore fungi (*n=3*).

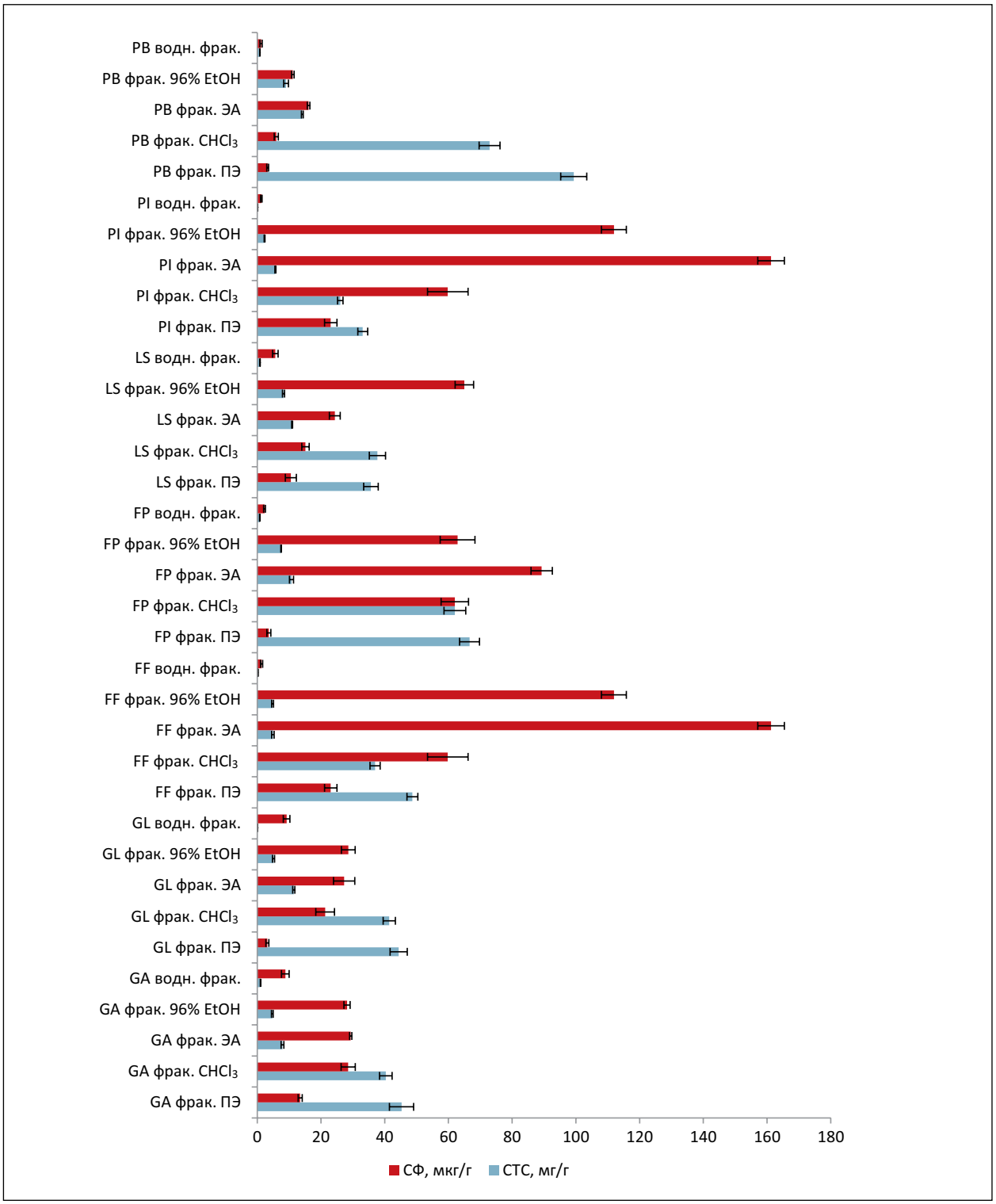

Рисунок 2. Сумма фенольных, сумма тритерпеновых и стероидных соединений экстрактов плодовых тел фомитоидных трутовиков (*n=3*).

Figure 2. Total phenolic content and total triterpene and steroid content of extracts of fruiting bodies of fomitoid polypore fungi (*n=3*).

использовали растворы антибиотиков (ванкомицин, азитромицин и хлорамфеникол) и антифунгального средства (флуконазол) с концентрациями 1 мг/мл. Подготовленные чашки Петри инкубировали в течение 48 часов при температуре 37±1°С в электрическом суховоздушном термостате ТС-1/20.

В качестве тест-микроорганизмов были выбраны грамположительные (*Staphylococcus aureus* ATCC 15442, *Bacillus subtilis* ATCC 23857, *Enterococcus faecium* SF68), грамотрицательные (*Escherichia coli* ATCC 11229, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 6538, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048,

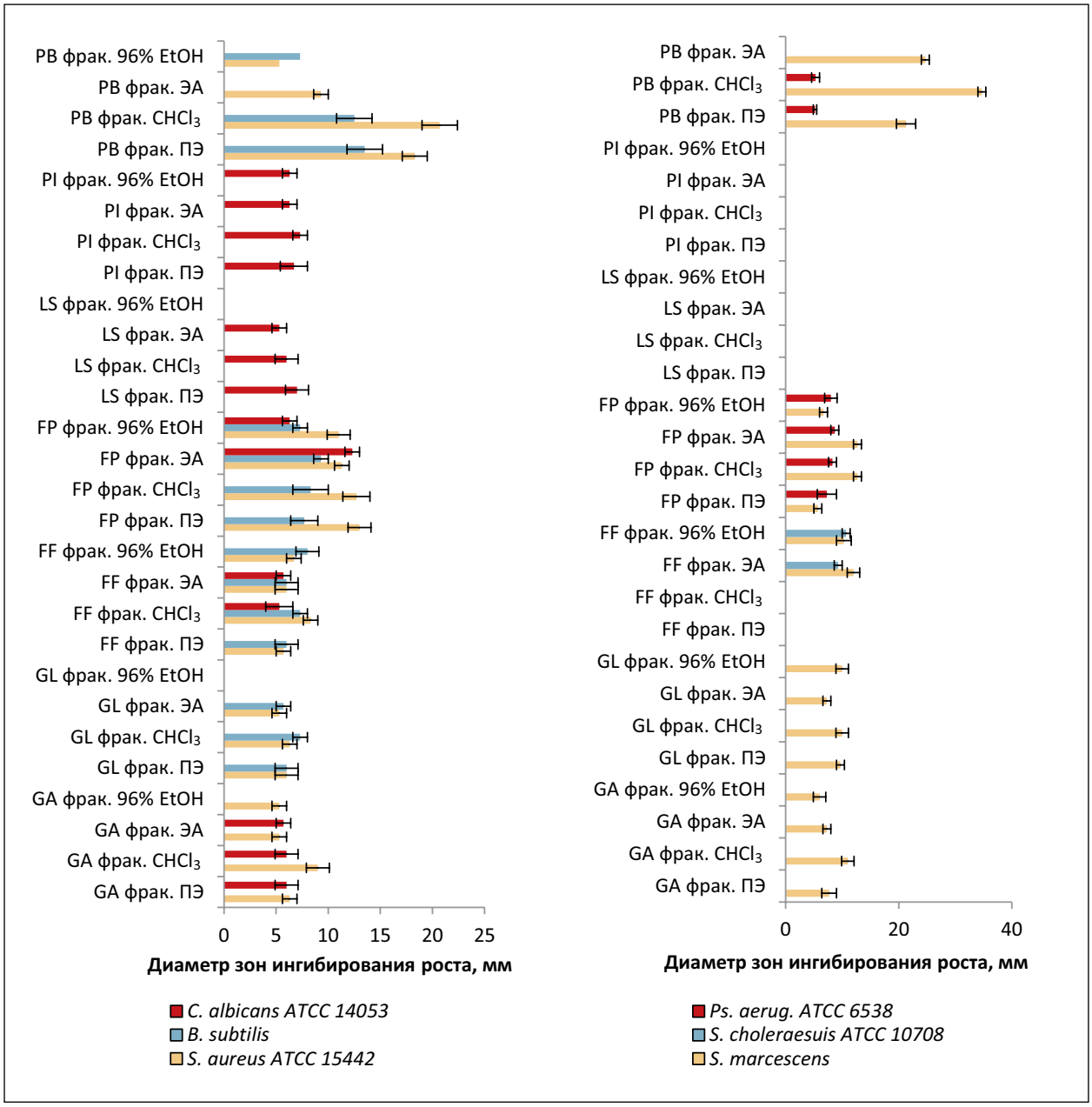

Рисунок 3. Антимикробная активность фракционированных экстрактов плодовых тел фомитоидных трутовиков (*n=3*).

Figure 3. Antimicrobial activity of fractionated extracts of fomitoid polypore fungi fruiting bodies (*n=3*).

Enterobacter cloacae ATCC 13047, *Serratia marcescens* ATCC 13880, *Salmonella thyphimurium* ATCC 14028, *Salmonella parathyphi* A ATCC 9150, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708, *Shigella flexneri* ATCC 13047, *Proteus vulgaris* ATCC 12022) бактерии, дрожжевые (*C. albicans* ATCC 14053) и плесневые (*Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Trichoderma harzianum* ВИЗР-18) грибы. Оценку антимикробной активности проводили по диаметру зоны задержки роста тест-микроорганизма в трех повторностях. Статистическую обработку результатов эксперимента проводили в программе IBM SPSS Statistics 27. Различия в диаметрах зон ингибирования микроорганизмов экстрактами грибов оценивались с использованием критерия Краскела – Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Скрининг антимикробной активности суммарных водно-спиртовых экстрактов плодовых тел фомитоидных трутовиков (**рисунок 1**) показал, что водно-спиртовые экстракты *P. betulinus* в наибольшей степени ($\alpha<0{,}05$) ингибируют рост *S. aureus, B. subtilis* и *S. marcescens* (в отношении *S. aureus* и *S. marcescens* эффект сопоставим с действием антибиотиков). Умеренную активность к *S. aureus* и *Ps. aeruginosa* также демонстрируют суммарные экстракты *F. pinicola*. Кроме того, сдерживать рост *S. marcescens* оказались способны экстракты *F. pinicola, F. fomentarius, G. lingzhi* и *G. applanatum*, а в отношении *C. albicans* активность продемонстрировали *Ph. igniarius*, *L. sulphureus*, *F. pinicola*, *F. fomentarius*, а также *G. applanatum*. Отметим,

что рост *S. choleraesuis, S. thyphimurium* и *Kl. pneumoniae* слабо ингибировался лишь экстрактом *F. fomentarius*. Ни один из испытанных объектов не оказал подавляющего действия на рост ни плесневых грибов *A. brasiliensis* и *Tr. harzianum*, ни грамотрицательных энтеробактерий *E. coli*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *S. parathyphi* A, *Sh. flexneri*, *P. vulgaris*.

Одним из технологических подходов, позволяющим провести разделение биологически активных веществ из природных объектов, является последовательная исчерпывающая экстракция сырья растворителями растущей полярности. В настоящей работе из исследуемого грибного сырья были получены петролейно-эфирные (ПЭ), хлороформные ($CHCl_3$), этилацетатные (ЭА) и этанольные (96% EtOH) фракции. Путем фитохимического скрининга (**рисунок 2**) было установлено, что в неполярных (ПЭ и $CHCl_3$) фракциях преобладают тритерпеновые соединения, наибольшие количества которых содержатся в экстрактах *P. betulinus* (72,9–99,3 мг/г).

Вместе с тем в полярных спиртовых и водных фракциях содержание тритерпеноидов оказалось минимальным (0,1–9,0 мг/г, рисунок 2). Наибольшее содержание фенольных соединений отмечено в ЭА и этанольных фракциях экстрактов трутовиков (в особенности у *Ph. igniarius* и *F. fomentarius*). Водные фракции, в которых преобладают полисахариды и белки, характеризуются низким содержанием как фенолов, так и тритерпеноидов.

Для выделенных фракций экстрактов был проведен последующий скрининг антимикробной активности. В отношении *S. aureus, B. subtilis* и *S. marcescens* фракции *P. betulinus* (**рисунок 3**), как и его суммарный экстракт (рисунок 1), показали наиболее высокий эффект. В данных, обобщенных на рисунке 3, наблюдается общая закономерность: неполярные фракции (ПЭ, $CHCl_3$ и ЭА) проявляют наибольшую антимикробную активность (к *S. aureus, B. subtilis* и *S. marcescens*, $\alpha<0,05$), которая коррелирует с содержанием тритерпеновых и стероидных соединений. При этом полярные водные фракции экстрактов трутовиков не продемонстрировали антимикробного эффекта ни к одному тест-штамму. Полученные данные могут свидетельствовать о вкладе липофильных компонентов фомитоидных грибов в их антимикробный эффект.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Предварительный скрининг антимикробной активности показал, что наибольшую эффективность демонстрируют экстракты *P. betulinus* ($\alpha<0,05$), особенно в отношении *S. aureus*, *B. subtilis* и *S. marcescens*, где их действие сопоставимо с антибиотиками. Умеренная активность против *S. aureus* и *Ps. aeruginosa* была выявлена у экстрактов *F. pinicola*.

2. Фракционирование экстрактов по полярности позволило установить, что тритерпеновые соединения в основном содержатся в неполярных фракциях (ПЭ и $CHCl_3$), причем их наибольшее количество обнаружено в экстрактах *P. betulinus*, а фенольные соединения преимущественно накапливаются в этилацетатных и спиртовых фракциях, с особенно высоким содержанием в экстрактах *Ph. igniarius* и *F. fomentarius*.

3. Показано, что неполярные фракции (ПЭ, $CHCl_3$ и ЭА) продемонстрировали более высокие уровни антимикробной активности ($\alpha<0,05$) в отношении *S. aureus*, *B. subtilis* и *S. marcescens*.

Полученные данные подчеркивают перспективность изучения липофильных соединений фомитоидных трутовиков как потенциальных источников природных антимикробных средств. Перспективы исследования направлены на выделение и характеристику активных соединений, определение механизма их действия и возможности их применения в медицине.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lemeshevsky VO, Ryshkel IV. Biological and ecological analysis of tinder fungi on the example of the agro-town of Olshany. *Ecological Bulletin*. 2017;2(40):52-57. [Лемешевский В.О., Рышкель И.В. Биолого-экологический анализ трутовых грибов на примере агрогородка Ольшаны. *Экологический вестник*. 2017;2(40):52-57]. URL: https://rep.polessu.by/bitstream/123456789/21803/1/Vnutrividovoy_polimorfizm.pdf
2. Bolshakov SYu. On wood-destroying fungi. *Zapovednik*. 2014;6:57-60. (In Russ.). [Большаков С.Ю. О дереворазрушающих грибах. *Заповедник*. 2014;6:57-60].
3. Grienke U, Zöll M. European medicinal polypores – A modern view on traditional uses. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014;154(3):564-83. DOI: 10.1016/j.jep.2014.04.030
4. Harbatsevich HI. Antimicrobial activity of the piptoporus betulinus water-alcohol extract. *Medical Scientific Bulletin of Central Chernozemye*. 2022;(89):34-38. [Горбацевич Г.И. Антимикробная активность водно-спиртового экстракта трутовика березового. *Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья*. 2022;(89):34-38]. DOI: 10.18499/1990-472X-2022-0-89-34-38
5. Zenevich LS, Harbatsevich HI, Bychkovsky PM. Antioxidant activity and chemical composition of *Ganoderma applanatum* extracts. In: *XXVI Republican scientific and practical conference of young scientists*. 2024:1013-17 (In Russ.). [Зеневич Л.С., Горбацевич Г.И., Бычковский П.М. Антиоксидантная активность и химический состав экстрактов *Ganoderma applanatum*. В сб.: *XXVI Республиканская научно-практическая конференция мо*лодых ученых. 2024:1013-17].
6. Harbatsevich HI, Zenevich LS, Batalova IR, et al. Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Ganoderma lingzhi* and *Ganoderma lucidum* Fruiting Body Extracts. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(6):686-697. [Горбацевич Г.И., Зеневич Л.С., Баталова И.Р., и др. Химический состав и антиоксидантная активность экстрактов плодовых тел *Ganoderma lingzhi* и *Ganoderma lucidum*. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(6):686-697]. DOI: 10.30895/1991-2919-2024-609
7. Harbatsevich HI, Komlach IA. Justification for the choice of an extractant for phenolic and triterpene compounds from the fruiting bodies of false tinder fungus. In: *Modern trends in the development of health-preserving technologies*. All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 2024:161-7. (In Russ.). [Горбацевич Г.И., Комлач И.А. Обоснование выбора экстрагента фенольных и тритерпеновых соединений из плодовых тел трутовика ложного. В сб.: *Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения*. ФГБНУ ВИЛАР, 2024:161-7].
8. Leeb M. Antibiotics: A shot in the arm. *Nature*. 2004;431:892-893. DOI: 10.1038/431892a

9. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 1999;299:152-78. DOI: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1
10. Nath M, Chakravorty M, Chowdhury S. Liebermann-Burchard Reaction for Steroids. *Nature*. 1946;157:103-104. DOI: 10.1038/157103b0
11. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016;6(2):71. DOI: 10.1016/j.jpha.2015.11.005

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	ADDITIONAL INFORMATION
Источник финансирования. Работа выполнена по инициативе автора без привлечения финансирования.	***Study funding.*** The study was the author's initiative without external funding.
Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.	***Conflict of Interest.*** The author declares that there are no obvious or potential conflicts of interest associated with the content of this article.