

ХЕМОТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИДОВ *ARMILLARIA*

Т.П. Кукина¹, И.А. Горбунова², И.И. Баяндина³, О.И. Сальникова¹

¹Новосибирский институт органической химии СО РАН
630090 Новосибирск, проспект академика Лаврентьева, 9; e-mail: kukina@nioch.nsc.ru

²Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
630090 Новосибирск, ул. Золотогорная, 101; e-mail: root@botgard.nsk.su

³Новосибирский Государственный Агроуниверситет
Новосибирск

Фитохимическое исследование экстрактов плодовых тел дереворазрушающего гриба опенка осеннего *Armillaria mellea* (Vahl ex. Fr.) P. Kumm. привело к выделению и идентификации ряда биологически активных веществ, таких как жирные кислоты, терпеноиды, стерины, полипренолы, долихолы, пигменты и другие соединения. В Китае опенок осенний используется в пищу, а также для лечения головокружения, головной боли, невралгии, бессонницы и судорог. Тем не менее, сведения о химическом составе экстрактов опенка серого *Armillaria cepistipes* Velen в литературе отсутствуют.

Мы приготовили экстракт опенка серого и разделили его для исследования на кислые и нейтральные фракции. Наши условия анализа позволили идентифицировать ряд веществ, таких как алифатические кислоты, спирты и углеводороды, а также ди- и тритерпеновые соединения. Селективно выделен эритритол. Большинство БАВ обнаружено в исследованном сырье впервые. Полученные данные отличаются от компонентов экстрактов *Armillaria mellea*.

Ключевые слова: хромато-масс-спектрометрия, липофильные компоненты, опенок осенний, *Armillaria*

Phytochemical investigation of extracts of fruiting bodies of the wood-rotting fungi honey mushroom *Armillaria mellea* (Vahl ex. Fr.) P. Kumm. led to the isolation and identification of several biologically active substances, such as fatty acids, terpenoids, sterols, polyprenols, dolichols, pigments and other compounds. In China honey mushroom is eaten as food by people and used to treat of dizziness, headache, neurasthenia, insomnia, numbness in limbs, and convulsion. But information on the dominant components of extracts of *Armillaria cepistipes* Velen. is absent.

We obtained MTBE-extract of fruiting bodies of *Armillaria cepistipes* and separated it towards neutral and acid constituents.

The neutral constituents were analyzed without the treatment (acetylation and silylation) using a Hewlett-Packard G 1800 A system with mass-selective detector HP 5971 and HP-5 MS column (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm). The investigation of the acid fractions was carried out after full methylation by diazomethane on the same conditions.

Our conditions of analysis permit to identify a row of substances such as aliphatic acids, hydrocarbons and alcohols, and to investigate some di- and triterpenic compounds. Erythritol was obtained selective. The most of these biologically active substances were found for the first time in this raw material. The obtained data were different from constituents of *Armillaria mellea* extracts.

Key words: chromatomass-spectrometry, liophylic components, *Armillaria*, Honey Mushroom

Грибы вида *Armillaria mellea* (Vahl ex. Fr.) P. Kumm. являются ценным пищевым продуктом и лекарственным сырьем. В Китае плодовые тела этого гриба используют для профилактики и лечения депрессии, головной боли, судорог, обморочных состояний, неврастении, бессонницы (Guo, 2008). В лечебных целях выращивают культуру ткани, содержащую, по данным исследователей, ряд ценных метаболитов. Исследованы также составы плодовых тел и микоризы. При этом обнаружены алифатические кислоты в свободном и этерифицированном виде (Yilmaz, 2006), дитерпеновые соединения, преимущественно кислого характера (Ayer, 1987), стерины и тритерпеноиды (Guo, 2007; Guo, 2008), пигменты и флюоресцентные ароматические соединения (Ayer, 1987; Ebrahimzadeh, 1995), полипrenoлы и долихолы (Кукина, 2007), полиолы и углеводы (Birkinshaw, 1948) и другие биологически активные вещества.

Алифатические кислоты в основном в виде жиров представлены пальмитиновой, олеиновой, стеариновой и арахидиновой кислотами, доминирует линолевая кислота, содержание линоленовой незначительно. Непредельные кислоты преобладают над насыщенными (Yilmaz, 2006). Кроме того, среди липидов обнаружены азелаиновая и орселлиновая кислоты и глицерин-моноолеат (Yang, 1991). В составе дитерпеновых соединений идентифицированы дегидроабетиновая кислота, пимаровая, изопимаровая, сандаракопимаровая, левопимаровая, 7-оксо-дегидроабетиновая, 7-оксо-15-гидроксидегидроабетиновая кислоты, а также эндо-пероксид (Ayer, 1987). Среди тритерпеновых соединений идентифицированы 3 α -гидроксифриделан-2-он, 5 α ,6 α -эпокси-24(R)-метилхолеста-7,24-диен-3 β -ол, 6,9-эпокси-эргоста-7,24-диен-3 β -ол, эргостерин, 5,8-эргостерин-пероксид, небольшие количества β -ситостерина и стигмастерина (Guo, 2007; Guo, 2008). Обнаружено три оранжевых пигмента: аустоцистин F, аверуфин и аверуфанин, а также флюоресцентные соединения ароматической природы (Ebrahimzadeh, 1995) и сесквитерпеновые эфиры 4'-метилмелледональ, армилларитин и армилларивин (Yang, 1991). Нами также впервые обнаружены заметные количества полипrenoлов и долихоллов (Кукина, 2007). Полиолы идентифицированы как D-эритритол и D-маннитол (Birkinshaw, 1948; Yang, 1991). В составе экстрактов *Armillaria mellea* обнаружена также уникальная армилляриевая кислота, обладающая антибиотическими свойствами против грам-положительных бактерий и дрожжевых грибов (Obuchi, 1990).

Однако детальное изучение морфологических особенностей плодовых тел *Armillaria mellea* позволило выделить несколько отдельных видов, отличающихся, в частности, строением спор, формой и расположением чешуек на шляпке, формой ножки. Теперь перед химиками стоит задача изучения химического состава каждого вида, так как эта информация отсутствует в литературе.

Нами была предпринята попытка изучить состав липофильных компонентов эфирного экстракта плодовых тел опенка серого (*Armillaria cepistipes* Velen.). В литературе сведения о химическом составе этого гриба практически отсутствуют. Сырье заготовлено на юге Красноярского края в сентябре 2006 года.

В ходе работы плодовые тела грибов фракционированы вручную на шляпки и ножки, каждая фракция измельчена при помощи шнековой дробилки и проэкстрагирована метил-трет-бутиловым эфиром (МТБЭ) в аппарате Сокслета. Липофильные компоненты отделены от водорастворимых экстракцией водогексан или вода:МТБЭ.

Липофильные компоненты исследовали при помощи хроматомасс-спектрометрии (ХМС). Липофильная часть экстракта ножек грибов разделена на кислые и нейтральные составляющие путем омыления водно-спиртовым раствором щелочи. Кислоты переводили в метиловые эфиры при помощи диазометана, нейтральные компоненты исследовали без дериватизации. Исследование кислых фракций проводилось при помощи прибора Hewlett-Packard G 1800 А с масс-селективным детектором HP 5971 и колонкой HP-5 MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm). В качестве газа-носителя использовали гелий. Температура колонки повышалась со скоростью 4°/мин от 50° до 300° С и далее сохранялась в течение 30 мин. при 300° С. Нейтральные компоненты анализировали без обработки при тех же условиях анализа.

В составе кислой фракции из ножек грибов идентифицированы алифатические кислоты: пентадекановая, пальмитиновая, пальмитолеиновая, олеиновая, линолевая, линоленовая, стеариновая и тетракозановая. Более половины фракции составляет линолевая кислота. Среди нейтральных компонентов основным является эргостерин, обладающий активностью провитамина D. Кроме него, идентифицированы фунгистерин, эргоста-7,22-диен-3β-ол, (22E)-эргоста-5,7,9(11),22-тетраен-3β-ол и сквален. Около 10 % входящих компонентов не удалось однозначно идентифицировать ввиду отсутствия в базе данных соответствующих масс-спектров.

В экстракте шляпок *Armillaria cepistipes* отдельно исследовали свободные и связанные кислоты. Соотношение 1:14. Связанные кислоты находятся в сырье в виде жиров и эфиров с эргостерином и другими тритерпеновыми спиртами. Среди свободных кислот преобладают пальмитиновая, пальмитолеиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая, тетракозановая и 15-тетракозановая кислоты. Кроме того, идентифицированы минорные компоненты: лауриновая,

миристиновая, пентадекановая, дегидроабиетиновая, трикозановая, гексакозановая, гексакозеновая, октакозановая, триаконтановая кислоты. Около 5 % фракции составляют тритерпеновые кислоты, состав которых уточняется. Связанные кислоты представлены олеиновой, линолевой (50% фракции), пальмитиновой, пальмитолеиновой, стеариновой кислотами, в сумме составляющими более 90 %. Среди минорных компонентов идентифицированы лауриновая, миристиновая, пентадекановая, арахиновая, дегидроабиетиновая, тетракозановая, 15-тетракозеновая, гексакозеновая, гадолеиновая кислоты. Большинство минорных кислых компонентов, как свободных, так и связанных ранее в грибах не обнаруживались. Присутствует следовое количество фенолокислот.

В неомыляемом остатке экстракта шляпок идентифицированы эргостерин, фунгистерин, эргоста-7,22-диен-3 β -ол, (22E)-эргоста-5,7,9(11),22-тетраен-3 β -ол, ланостерин, неоэргостерин, эргоста-5,8-диен-3 β -ол, антраэргостатетраенол и сквален. Фракция содержит заметное количество эргона (эргоста-4,6,8(14),22-тетраен-3-она), для которого, согласно литературным данным (Lee, 2005), установлена цитотоксическая активность, а также до 5 % неустановленных ланостаноидов, масс-спектры которых отсутствуют в базе данных. Как в ножках, так и в шляпках плодовых тел гриба обнаружены при помощи ВЭЖХ полипrenoлы, состав и количественное содержание которых уточняется. Содержание полипrenoлов и долихоллов в экстракте *Armillaria cepistipes* существенно ниже, чем в *Armillaria mellea*.

Гидрофильная фракция экстракта ножек гриба состоит преимущественно из эритритола, применяемого в промышленности и фармакопее в качестве низкокалорийного сахарозаменителя. В экстракте шляпок эритритол практически отсутствует.

Полученные данные свидетельствуют о различиях в химическом составе опенка осеннего (*Armillaria mellea*) и опенка серого (*Armillaria cepistipes*).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Кукина, Т.П. Полипrenoлы некоторых гомобазидиальных грибов (НОМОБАСИДИОМЫЦЕТИДАЕ) / Т.П.Кукина, И.А.Горбунова, И.И.Баяндина // Химия растительного сырья. - 2007. - № 3. - С. 33-38.
- Ayer, W.A. Metabolites of the honey mushroom, *Armillaria mellea* / W. A. Ayer, J. B. Macaulay // Can. J. Chem. - 1987. - Vol. 65, N 1. - P. 7-14.
- Birkinshaw, J. H. Biochemistry of the wood-rotting fungi 5. The production of d-threitol (*L*-erythritol) by *Armillaria mellea* (Vahl) Quélet / J. H. Birkinshaw, C. E. Stickings, P. Tessier // Biochem J. - 1948. - Vol. 42, N 3. - P.329-332.
- Ebrahimzadeh, H. Isolation and Characterization of Six Highly Intrinsic Fluorescent Metabolites in *Armillaria mellea* (Vahl. Ex. Fr.) Karst / H. Ebrahimzadeh, G.R. Haddadchi // Journal of sciences. Islamic republic of Iran. - 1995. - Vol.6, N 2. - P.67-79.
- Guo, W.J. Triterpenes and steroids from *Armillaria mellea* Vahl. ex Fr./ W.J.Guo and other // Biochemical Systematic and Ecology - 2007. - Vol. 135, I. 11. - P. 790-793.
- Guo, W.J. Steroids from *Armillaria mellea* / W.J.Guo, S.X. Guo // Химия природн. соедин.

- 2008. - № 3. – С.322.
- Lee, W.Y. Cytotoxic Activity of Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one from the Sclerotia of *Polyporus umbellatus* / W.Y. Lee and other // Bull. Korean Chem. Soc. – 2005. - Vol. 26, N 9. – P. 1464-1466.
- Obuchi, T. Armillaric acid, a new antibiotic produced by *Armillaria mellea* / T. Obuchi and other // Planta Med. – 1990. – Vol. 56, N 2. – P. 198-201.
- Yang, J.S. Chemical constituents of *Armillaria mellea* mycelium. VII. Isolation and characterization of chemical constituents of the acetone extract / J.S.Yang and other // Yao Xue Xue Bao. – 1991. – Vol. 26, N 2. – P. 117-122.
- Yilmaz, N. Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey / N. Yilmaz and other // Food Chemistry. – 2006. – Vol. 99, 1. – P. 168-174.
-