



Г.И. Горбацевич<sup>1</sup>  ,  
Л.С. Зеневич<sup>2</sup>,  
И.Р. Баталова<sup>2</sup>,  
С.А. Коваленко<sup>3</sup> ,  
П.М. Бычковский<sup>2</sup> 

## Химический состав и антиоксидантная активность экстрактов плодовых тел *Ganoderma lingzhi* и *Ganoderma lucidum*

<sup>1</sup> Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», пр. Дзержинского, д. 83, г. Минск, 220116, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Учебно-научно-производственное республиканское унитарное предприятие «Унитехпром БГУ», ул. Академика Курчатова, д. 1, г. Минск, 220045, Республика Беларусь

<sup>3</sup> Государственное научное учреждение «Институт леса Национальной академии наук Беларуси», ул. Пролетарская, д. 71, г. Гомель, 246001, Республика Беларусь

✉ Горбацевич Глеб Иванович; [hleb.harbatsevich@gmail.com](mailto:hleb.harbatsevich@gmail.com)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Грибы рода *Ganoderma* spp., используемые в восточной медицине и в качестве биологически активных добавок к пище, представляют интерес как источники эффективных антиоксидантов. В Российской Федерации и Республике Беларусь не разработана нормативная документация по контролю качества этого вида сырья и его биологически активных веществ, поэтому исследование химического состава и спектра фармакологической активности экстрактов *G. lingzhi* и *G. lucidum* является актуальной задачей.

**ЦЕЛЬ.** Установление химического состава и антиоксидантной активности экстрактов плодовых тел *G. lingzhi* и *G. lucidum*.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Объектами исследования явились чистые культуры *G. lingzhi* и *G. lucidum* из коллекции штаммов грибов ГНУ «Институт леса НАН Беларуси». Для культивирования биомассы использовали два субстрата на основе опилок ольхи (степень измельчения 1–3 мм) и стружки дуба (степень измельчения 5–10 мм). Экстрагирование биомассы проводили 70% этанолом по методу ремацерации. Для определения антирадикальной активности экстрактов грибов использовали реакцию со стабильным свободным радикалом DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) и катион-радикалом ABTS (2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты). Химический состав экстрактов исследовали методом хроматомасс-спектрометрии. Определение количества фенольных, стероидных и тритерпеновых соединений проводили спектрофотометрически.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Установлено, что наибольшую антирадикальную активность проявляет экстракт штамма 334 *G. lucidum*, выращенный на субстрате ольхи (концентрация полумаксимального ингибирования ( $IC_{50}$ ) по реакции с DPPH=3,1±0,2 мкг/мл,  $IC_{50}$  (ABTS)=3,7±0,2 мкг/мл) и характеризующийся максимальным содержанием фенольных (326,2±16,5 мкмоль/г) и тритерпеновых соединений (2,00±0,11 ммоль/г). Антиоксидантная активность полученных экстрактов может быть обусловлена содержанием ганодеровой кислоты D, люциденовой кислоты D и нарингенина и других фенольных соединений.

**ВЫВОДЫ.** Высокий выход экстракта со значительным уровнем антиоксидантной активности позволяет рассматривать искусственно выращенные грибы *G. lingzhi* и *G. lucidum* в качестве перспективных источников природных антиоксидантов.

**Ключевые слова:** *Ganoderma lingzhi*; *Ganoderma lucidum*; антиоксидантная активность; антирадикальная активность; ганодеровые кислоты; люциденовые кислоты; нарингенин; фенольные соединения; тритерпены

**Для цитирования:** Горбачевич Г.И., Зеневич Л.С., Баталова И.Р., Коваленко С.А., Бычковский П.М. Химический состав и антиоксидантная активность экстрактов плодовых тел *Ganoderma lingzhi* и *Ganoderma lucidum*. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2024;14(6):686–697. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609>

**Финансирование.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Hleb I. Harbatsevich<sup>1</sup>   
Liliana S. Zenevich<sup>2</sup>,  
Irina R. Batalova<sup>2</sup>,  
Snezhana A. Kovalenko<sup>3</sup>   
Pavel M. Bychkovsky<sup>2</sup> 

## Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Ganoderma lingzhi* and *Ganoderma lucidum* Fruiting Body Extracts

<sup>1</sup> Belarusian State Medical University,  
83 Dzerzhinsky Ave, Minsk 220116, Republic of Belarus

<sup>2</sup> Unitechprom BSU,  
1 Academician Kurchatov St., Minsk 220045, Republic of Belarus

<sup>3</sup> Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus,  
71 Proletarskaya St., Gomel 246050, Republic of Belarus

✉ Hleb I. Harbatsevich; [hleb.harbatsevich@gmail.com](mailto:hleb.harbatsevich@gmail.com)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** *Ganoderma* spp. have been used as a traditional oriental medicine and a bioactive dietary supplement. These fungi are a promising source of effective antioxidants. Currently, there is no regulatory framework to control the quality of this herbal drug and its bioactive components in the Russian Federation and the Republic of Belarus. Therefore, it is essential to study the chemical composition and pharmacological activity spectrum of *G. lingzhi* and *G. lucidum* extracts.

**AIM.** The aim of this study was to determine the chemical composition and antioxidant activity of *G. lingzhi* and *G. lucidum* fruiting body extracts.

**MATERIALS AND METHODS.** The study focused on pure cultures of *G. lingzhi* and *G. lucidum* obtained from the fungal species collection of the Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus. Fungal biomass was grown using two substrates, including alder sawdust (1–3 mm fraction) and oak shavings (5–10 mm fraction). The fungal biomass was extracted using repeated maceration with 70% ethanol. The study tested the free radical-scavenging activity of the extracts in reactions with the stable free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and the radical cation derived from 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS). The chemical composition was analysed by high-performance liquid chromatography–mass spectrometry (HPLC–MS). The assays for phenols, steroids, and triterpenes used spectrophotometry.

**RESULTS.** The extract of *G. lucidum* strain 334 cultivated on the alder substrate demonstrated the highest free radical-scavenging activity ( $IC_{50}=3.1\pm 0.2$   $\mu\text{g/mL}$  (DPPH),  $IC_{50}=3.7\pm 0.2$   $\mu\text{g/mL}$  (ABTS)), the highest phenolic content ( $326.2\pm 16.5$   $\mu\text{mol/g}$ ), and the highest triterpene content ( $2.00\pm 0.11$   $\text{mmol/g}$ ) of all the studied extracts. The antioxidant activity of the extracts of *G. lingzhi* and *G. lucidum* may be attributed to the content of ganoderic acid D, lucidenic acid D, naringenin, and other phenolic compounds.

**CONCLUSION.** The high yield of extracts with a significant radical-scavenging activity makes artificially cultivated *G. lingzhi* and *G. lucidum* mushrooms a promising source of natural antioxidants.

**Keywords:** *Ganoderma lingzhi*; *Ganoderma lucidum*; antioxidant activity; free radical-scavenging activity; ganoderic acids; lucidenic acids; naringenin; phenolic compounds; triterpenes

**For citation:** Harbatsevich H.I., Zenevich L.S., Batalova I.R., Kovalenko S.A., Bychkovsky P.M. Chemical composition and antioxidant activity of *Ganoderma lingzhi* and *Ganoderma lucidum* fruiting body extracts. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(6):686–697. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609>

**Funding.** The study was performed without external funding.

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

За последние годы описано около 220 видов грибов рода *Ganoderma*, более 400 таксонов, из которых 167 относится к лакированным видам [1]. Молекулярно-генетический анализ таксонов, обозначенных как *G. lucidum*, включая штаммы, коммерчески культивируемые для производства лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище, позволил выявить, что это название охватывает множество различных видов и ранее часто применялось неправильно [2]. Ошибки таксономической идентификации штаммов ганодермы препятствуют комплексным стратегиям поиска новых лекарственных средств. Используемые в медицинских, химических, геномных исследованиях изоляты *G. lingzhi* (син. *G. sichuanense*), а также коммерчески культивируемые штаммы до сих пор объединяют под общим названием *G. lucidum*, хотя около 20 лет назад было показано, что образцы *G. lucidum* из Европы и Восточной Азии в большинстве своем не являются конспецифическими [3], а вид *G. lingzhi* отличается от близкородственного вида *G. lucidum* [4].

Экстракты плодовых тел, мицелия, культуральная жидкость, споры *G. lucidum* и *G. lingzhi* обладают широким спектром фармакологических свойств и используются в качестве источника биологически активных веществ (БАВ) [5], оказывающих иммуномодулирующее, противоопухолевое [6, 7], противовирусное [8], антимикробное [9], гиполипидемическое, гипогликемическое [10], гепатопротекторное [11] и противовоспалительное действия [12]. Стоимость препаратов, получаемых из грибов рода *Ganoderma*, в настоящее время ежегодно оценивается почти в два млрд \$ [4]. Плодовые тела *Ganoderma* spp. имеют уникальный химический состав: содержат микроэлементы (железо, цинк, медь, марганец, селен) [13], полисахариды [14, 15], белки [16], лектины [17], витамины (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, PP, D<sub>2</sub>), тритерпеновые соединения преимущественно ланостанового ряда [18].

Биологическая активность *Ganoderma* spp. в значительной степени может быть обусловлена антиоксидантным действием содержащихся в плодовых телах соединений. Избыточное образование свободных радикалов является причиной повреждения клеточных структур

и составляющих их биомолекул (мембранные липиды, нуклеиновые кислоты, белки и ферменты), что может приводить к развитию хронических заболеваний (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, сердечно-сосудистые заболевания, заболевания печени, язвенный колит, воспаление и рак) [19]. Снизить риски или предотвратить прогрессирование этих патологических состояний возможно путем усиления естественной антиоксидантной защиты организма или с помощью экзогенных антиоксидантов. В связи с этим изучение природных антиоксидантов и поиск содержащего их сырья являются весьма актуальными задачами современных исследований в области химии, биологии и фармации [20].

Дополнительной задачей при использовании нового природного сырья для фармацевтических целей является его стандартизация. Химический состав растительного сырья зависит от вида производящего растения, условий выращивания, фазы вегетации и времени сбора, способа подготовки сырья, режима экстракции и других факторов. Если источником сырья являются грибы, то на качественный и количественный состав продукта влияют характеристики не только исходного штамма гриба, но и используемого для его выращивания субстрата. Представляется актуальным изучение влияния этих факторов на биологическую активность целевого продукта с дальнейшей стандартизацией грибного сырья и оптимизацией условий выделения БАВ. Необходимым этапом исследования является установление взаимосвязи между химическим составом сырья и биологической активностью полученных экстрактов.

В настоящее время на территории Российской Федерации и Республики Беларусь отсутствуют зарегистрированные лекарственные средства, содержащие компоненты грибов рода *Ganoderma*. В обращении находится лишь биологически активная добавка «Рейши, трутовик лакированный, сырье растительное 25 г». Отсутствует также нормативная документация по контролю качества этого вида сырья и его биологически активных веществ.

Цель работы – установление химического состава и антиоксидантной активности экстрактов плодовых тел *G. lingzhi* и *G. lucidum*.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования по получению плодовых тел *G. lucidum* и *G. lingzhi* проведены в лабораторных условиях сектора пищевых и лекарственных ресурсов леса Государственного научного учреждения «Институт леса Национальной академии наук Беларуси». В качестве объектов

исследований использовали чистые культуры из коллекции штаммов грибов (FIB) ГНУ «Институт леса НАН Беларуси». *G. lingzhi* S.H. Wu, Y. Cao & Y.C. Dai (син. *G. sichuanense* J.D. Zhao & X.Q. Zhang): штаммы 244, 266, 303, 304, 331, 333, 357, 362; *G. lucidum* (Curtis) P. Karst.: штаммы 171, 334, 335, 358 (табл. 1) и коммерческий доступный

**Таблица 1.** Происхождение коллекционных штаммов *Ganoderma* spp.

**Table 1.** Origins of collection strains of *Ganoderma* spp.

№ образца Sample No.	Вид, субстрат Species, substrate	№ штамма, год Strain No., year	Источник поступления в коллекцию Source for the collection	Растворитель, использованный для экстракции Solvent used for extraction		
1	<i>G. lingzhi</i> , дуб <i>G. lingzhi</i> , oak	244, 2006	Гомельский р-н, п. Корневка, выделен из плодового тела <i>Gomel region, Korenevka village, isolated from a fruiting body</i>	Этанол : вода (70:30 об./об.) <i>Ethanol : water (70:30 v/v)</i>		
2	<i>G. lingzhi</i> , ольха <i>G. lingzhi</i> , alder					
3	<i>G. lingzhi</i> , дуб <i>G. lingzhi</i> , oak	303, 2011	Брестская обл., Березовский р-н, г. Белоозерск, грибоводческое хозяйство «Виола», выделен из посевного мицелия <i>Brest region, Byarozha district, Byelaazyorsk, Viola mushroom farm, isolated from seed mycelium</i>			
4	<i>G. lingzhi</i> , ольха <i>G. lingzhi</i> , alder					
5	<i>G. lingzhi</i> , дуб <i>G. lingzhi</i> , oak	304, 2011	Брестская обл., Березовский р-н, г. Белоозерск, грибоводческое хозяйство «Виола», выделен из посевного мицелия <i>Brest region, Byarozha district, Byelaazyorsk, Viola mushroom farm, isolated from seed mycelium</i>			
6	<i>G. lingzhi</i> , ольха <i>G. lingzhi</i> , alder					
7	<i>G. lingzhi</i> , дуб <i>G. lingzhi</i> , oak	333, 2004	г. Киев, Институт ботаники им. Н.Г. Холодного, чистая культура штамма IBK-1787 <i>Kyiv, M.G. Kholodny Institute of Botany, pure culture of strain IBK-1787</i>			
8	<i>G. lingzhi</i> , ольха <i>G. lingzhi</i> , alder					
9	<i>G. lucidum</i> , ольха <i>G. lucidum</i> , alder	334, 2004	г. Киев, Институт ботаники им. Н.Г. Холодного, чистая культура штамма IBK-1788 <i>Kyiv, M.G. Kholodny Institute of Botany, pure culture of strain IBK-1788</i>			
10	<i>G. lucidum</i> , дуб <i>G. lucidum</i> , oak	335, 2004	г. Киев, Институт ботаники им. Н.Г. Холодного, чистая культура штамма IBK-1683 (Германия, Weser-Champignon). Депонирован в БИМ F-373 Д <i>Kyiv, M.G. Kholodny Institute of Botany, pure culture of strain IBK-1683 (Germany, Weser-Champignon). Deposited in the Belarusian Collection of Non-pathogenic Microorganisms (BIM F-373 D)</i>			
11	<i>G. lucidum</i> , ольха <i>G. lucidum</i> , alder					
12	<i>G. lingzhi</i>	—*	Китай, Bozhou Swanf Commercial and Trade Co., Ltd <i>China, Bozhou Swanf Commercial and Trade Co., Ltd</i>		Петролейный эфир 40–70** <i>Petroleum ether 40–70**</i>	
13	<i>G. lingzhi</i>	—*				
14	<i>G. lingzhi</i>	—*				Хлороформ** <i>Trichloromethane**</i>
15	<i>G. lingzhi</i>	—*				Этилацетат** <i>Ethyl acetate**</i>
16	<i>G. lingzhi</i>	—*				Этанол 96% (об.)** <i>Ethanol 96% (v/v)**</i>

Таблица составлена авторами по данным работы [21] / The table is prepared by the authors using [21]

**Примечание.** \* Штамм не внесен в коллекцию ГНУ «Институт леса НАН Беларуси».

\*\* Последовательная дробная экстракция растворителями растущей полярности.

**Note.** \*Not part of the collection of the Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus.

\*\*Consecutive fractional extraction with solvents in order of increasing polarity.

продукт из Китая (Bozhou Swanf Commercial and Trade Co., Ltd; серия 09-2022) в качестве образца сравнения.

До молекулярно-генетической идентификации, проведенной в 2015 г. в лаборатории геномных исследований и биоинформатики ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», считалось, что все штаммы относятся к *G. lucidum*. Видовая идентификация проводилась с использованием генетических методов анализа: полимеразная цепная реакция, секвенирование по Сэнгеру. В качестве маркерного региона для видового определения использовался фрагмент рибосомной ДНК «18S рДНК-ITS1-5,8S рДНК-ITS2-28S рДНК», который является «золотым стандартом» при идентификации грибов на протяжении нескольких десятилетий и до настоящего времени<sup>1</sup> [22].

В эксперименте использовали два опилочных субстрата: на основе опилок ольхи *Alnus glutinosa* (степень измельчения 1–3 мм) и стружки дуба *Quercus robur* (степень измельчения 5–10 мм), обогащенных ржаными отрубями (ОАО «Молодечненский КХП», ТУ ВУ 500022448.002-2019) в весовом соотношении 4:1, с добавлением по 1% мела и гипса (ОАО «Фелуценовое подворье», кормовой), повторность опыта шестикратная. Субстрат стерилизовали при давлении 0,12 МПа (температура 122 °С) в течение 2 ч. Блоки массой по 1 кг инокулировали зерновым посевным мицелием в количестве 5% от массы субстрата; рН субстрата из ольховых опилок после автоклавирования составляла 5,9, дубовой стружки – 4,7. Влажность ольховых блоков составляла 65%, дубовых – 66%. Субстратные блоки созревали при температуре 22–24 °С. В период плодоношения в культивационном помещении поддерживали относительную влажность воздуха на уровне 70–80%, температуру 20–22 °С, уровень освещения не ниже 200 люкс. Плодовые тела отделяли от субстрата и высушивали воздушно-теневым способом (потеря в массе при высушивании сырья составляла 7,0–9,9%).

Для приготовления экстрактов грибов применяли метод ремацерации. Для экстракции использовали 10,0 г высушенного сырья, а в качестве экстрагента – 70% (об./об.) раствор этанола в воде. Экстракцию проводили в течение двух недель при комнатной температуре. Каждые 48 ч экстракт отделяли, а к сырью добавляли свежую порцию экстрагента. По завершении экстракты объединяли и фильтровали. Объединенные экстракты упаривали в вакууме

(40–50 °С) на роторном испарителе RV 05 (Ika Werke GmbH) досуха.

Для получения фракционированных экстрактов использовали последовательную экстракцию растворителями растущей полярности: петролейный эфир (40–70, х.ч., ЭКОС-1), хлороформ (х.ч., ЭКОС-1), этилацетат (х.ч., ЭКОС-1) и этанол (ректифицированный, ОАО «Белхим»). Такой подход позволяет провести предварительное разделение БАВ по полярности. Измельчение проводили после высушивания сырья на дробилке молотковой (МОЛОТ 200). Для экстракции использовали измельченное сырье массой 20,0 г (размер частиц – не более 1000 мкм). Экстракцию проводили в течение 48 ч для каждого извлечения в аппарате Соклета. Полученные экстракты упаривали в вакууме (30–50 °С) на роторном испарителе.

Каждый экстракт готовили в трех параллельных извлечениях. Готовые продукты хранили в герметично закрытой таре в холодильнике при температуре 4±2 °С. Выход экстракта выражали как отношение массы сухого экстракта к взятой навеске сухого сырья. Потерю в массе при высушивании определяли гравиметрически после высушивания навески сырья до постоянной массы при температуре 105±2 °С.

Для определения общего содержания фенольных соединений (ОСФ) с реактивом Фолина-Чокальтеу (Merck, кат. № 109001) использовали растворы 1% экстрактов в этаноле 70% (об.). Для построения калибровочного графика готовили серию растворов галловой кислоты (ГК) в диапазоне концентраций 15,625–500 мкг/мл. В пробирки отбирали по 20 мкл растворов экстрактов, добавляли 100 мкл раствора Фолина-Чокальтеу, 400 мкл 10% раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (ч.д.а., ЗАО «Пять океанов»), 1500 мкл воды очищенной (получена на аквадистилляторе ДЭ-10М) и оставляли растворы на 1 ч при комнатной температуре в темном месте [23]. ОСФ в экстрактах определяли спектрофотометрически. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре HALO VIS-20 (Dynamica Scientific Ltd.) в кварцевой кювете (длина оптического пути 1 см) при длине волны 725 нм. Содержание фенольных соединений выражали в микромолях галловой кислоты на грамм сухого экстракта (мкмоль/г).

Определение количества стероидных и тритерпеновых соединений (ОСТС) в образцах экстрактов проводили спектрофотометрическим

<sup>1</sup> The National Center for Biotechnology Information. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

методом [24]. К 0,5 мл 0,1% спиртового раствора экстракта добавляли 0,5 мл 10% спиртового раствора ванилина (Merck, кат. № 8187180100) и 2,5 мл 70% раствора серной кислоты (х.ч., Экос-1), перемешивали, смесь выдерживали при температуре 60 °С на водяной бане WB-4 (ОДО «БЕЛАКВИЛОН») в течение 10 мин, после чего растворы охлаждали и проводили измерение их оптической плотности при длине волны 548 нм. В качестве раствора сравнения использовали реакционную смесь, не содержащую экстракта, а калибровочный график строили с использованием серии этанольных растворов холестерина 0,1–10,0 мг/мл (Merck, кат. № C8667-5G).

Для определения антирадикальной активности (как одного из составляющих антиоксидантной активности) экстрактов грибов использовали реакцию со стабильным свободным радикалом DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) и катион-радикалом ABTS (2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфонової кислоты) [25]. К 20 мкл растворов экстрактов (область концентраций 0,01–1%) добавляли по 2,0 мл раствора DPPH (Merck, кат. № 300267) или ABTS (Merck, кат. № A1888), перемешивали раствор и выдерживали в течение 40 мин. Оптическую плотность растворов измеряли при длине волны 517 (DPPH) или 734 нм (ABTS) относительно раствора сравнения (20 мкл растворов проб и 2 мл 96% этанола). В качестве контроля использовали раствор, состоящий из 20 мкл этанола и 2 мл раствора DPPH (ABTS). Степень ингибирования (*I*) свободных радикалов рассчитывали по формуле:

$$I = \frac{A_{\text{контр}} - (A_{\text{осн}} - A_{\text{сравн}})}{A_{\text{контр}}} \times 100\%, \quad (1)$$

где  $A_{\text{контр}}$  — оптическая плотность, полученная в контрольном опыте (без добавления исследуемого экстракта);  $A_{\text{осн}}$  — оптическая плотность, полученная в основном опыте;  $A_{\text{сравн}}$  — оптическая

плотность раствора сравнения (для учета поглощения света компонентами экстракта). Антирадикальную активность экстрактов выражали в единицах концентрации полумаксимального ингибирования ( $IC_{50}$ ).

Качественный и полуколичественный состав экстрактов образцов грибов изучали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Готовили 0,1% раствор сухого экстракта в метаноле (квалификация для ВЭЖХ, CARLO ERBA Reagents GmbH). Анализ проводили на хроматографе Thermo Scientific Ultimate 3000 с масс-спектрометрическим детектором Q Exactive™ Focus Orbitrap (Thermo Fisher Scientific). Для разделения компонентов использовали колонку с обращенной фазой C18 Kinetex 150 мм × 2,1 мм × 2,6 мкм (Phenomenex). Элюирование проводили в градиентном режиме (табл. 2), объем ввода пробы — 15 мкл, скорость потока — 0,4 мл/мин. Температура колонки поддерживалась на уровне 25 °С. Ионизация проводилась при напряжении распылительного капилляра 4 кВ в диапазоне сканирования  $m/z$  120–1000. Скрининг молекулярных ионов проводили в режиме Full-MS (отрицательно заряженные ионы), а для идентификации отдельных компонентов дополнительно изучали продукты фрагментации целевых ионов, полученных в режиме MS/MS (энергия соударения 35 эВ). Для обработки хроматограмм использовали программные продукты Thermo Scientific Xcalibur и Chromeleon v.7.2.6.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы MS Excel 2019.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор 70% этанола в качестве экстрагента связан с его высокой извлекающей способностью в отношении широкого спектра БАВ, относительно высокой летучестью и химической стабильностью. Метод ремацерации при комнатной

Таблица 2. Соотношение растворителей для градиентного элюирования

Table 2. Solvent ratios for gradient elution

Время, мин Time, min	Подвижная фаза А, 0,5% водный раствор уксусной кислоты, % Mobile phase A (0.5% acetic acid in water), %	Подвижная фаза В, ацетонитрил, % Mobile phase B (acetonitrile), %
0	80	20
1	70	30
20	70	30
60	2	98
70	2	98
75	80	20

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

температуре, несмотря на свою длительность и высокий расход растворителя, позволяет максимально сохранить содержащиеся в сырье БАВ в нативном состоянии, что крайне важно в исследовании химического состава новых природных объектов. В *таблице 3* приведен выход экстрактов, полученных из образцов грибов различных штаммов. Сопоставление этих результатов с уровнем антиоксидантной активности позволяет заключить, что высокий выход экстрактивных веществ из плодовых тел отдельных штаммов *Ganoderma* spp. (образцы 1, 4, 6, 10–12) при относительно невысоком ОСФ и антирадикальной активности могут свидетельствовать об интенсивной созкстракции балластных веществ (прежде всего полисахаридов). Напротив, экстракты образцов с максимальной активностью характеризуются сравнительно невысоким выходом (*табл. 3*).

Антиоксидантную активность оценивали по трем параметрам: ОСФ и ингибированию DPPH и ABTS радикалов (*табл. 3*). Методики являются общепринятыми при оценке антиоксидантной активности природных соединений [26]. Отметим, что определение ОСФ основано на восстановлении соединений Mo(VI) до молибденовой сини. В эту реакцию могут вступать фенольные соединения: флавоноиды (нарингенин), производные гидрохинона (лингжины); а также органические соединения других классов с низким значением электрохимического потенциала (углеводы, стероиды, тритерпены, витамины и др.) [23].

Наибольшая антиоксидантная активность была отмечена для экстракта штамма 334 *G. lucidum* (образец 9), выращенного на субстрате ольхи: его ОСФ составляет  $326,2 \pm 16,5$  мкмоль/г,  $IC_{50}$  (DPPH) =  $3,1 \pm 0,2$  мкг/мл,

**Таблица 3.** Выходы экстрактов, общее содержание фенольных (в пересчете на галловую кислоту), тритерпеновых и стероидных (в пересчете на холестерин) соединений экстрактов *Ganoderma* spp. и их антирадикальная активность

**Table 3.** Yield, total phenolic content (expressed as gallic acid), triterpene and steroid content (expressed as cholesterol), and free radical-scavenging activity of the *Ganoderma* spp. extracts

Образец, из которого получен экстракт Extracted sample	Выход экстракта, % Extract yield, %	ОСФ, мкмоль/г TPC, $\mu\text{mol/g}$	ОСТС, ммоль/г TSTC, $\text{mmol/g}$	$IC_{50}$ (DPPH), мкг/мл $IC_{50}$ (DPPH), $\mu\text{g/mL}$	$IC_{50}$ (ABTS), мкг/мл $IC_{50}$ (ABTS), $\mu\text{g/mL}$
1	11,3±0,6	15,6±0,8	1,04±0,05	69,5±3,5	31,4±1,6
2	7,9±0,4	10,2±0,5	0,62±0,03	76,7±3,8	46,4±2,3
3	3,8±0,2	39,3±1,9	1,69±0,08	63,3±3,2	9,0±0,5
4	10,4±0,5	2,1±0,1	0,53±0,03	127,6±6,4	77,1±3,9
5	6,4±0,3	42,0±2,1	1,78±0,09	63,8±3,2	34,5±1,7
6	14,4±0,7	7,5±0,4	0,35±0,02	149,9±7,5	75,5±3,8
7	6,3±0,3	23,8±1,2	0,50±0,03	92,3±4,6	44,7±2,2
8	6,7±0,3	19,0±0,9	1,04±0,05	53,3±2,7	39,7±2,0
9	1,3±0,1	326,2±16,5	2,00±0,11	3,1±0,2	3,7±0,2
10	9,6±0,5	22,5±1,1	0,97±0,05	56,3±2,8	6,3±0,3
11	10,2±0,5	22,5±1,1	0,72±0,04	67,4±3,4	49,8±2,5
12	10,3±0,5	21,7±1,1	0,88±0,04	60,9±3,0	40,7±2,0
13	1,3±0,1	20,4±1,5	0,76±0,06	>200	>200
14	6,1±0,3	120,5±9,4	1,84±0,09	58,7±2,9	31,1±1,6
15	1,0±0,1	142,8±10,6	1,96±0,10	55,2±2,8	8,0±0,4
16	8,1±0,4	155,2±8,8	0,36±0,02	90,7±4,5	35,1±1,8

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

**Примечание.** ОСФ – общее содержание фенольных соединений в сухом экстракте в пересчете на галловую кислоту; ОСТС – общее содержание тритерпеновых и стероидных соединений в сухом экстракте в пересчете на холестерин;  $IC_{50}$  (DPPH) и  $IC_{50}$  (ABTS) – концентрации полумаксимального ингибирования по реакции со свободным радикалом (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) и катион-радикалом (2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) соответственно.

**Note.** TPC, total phenolic content in dry extract, expressed as gallic acid; TSTC, total steroid and triterpene content in dry extract, expressed as cholesterol;  $IC_{50}$  (DPPH), half maximal inhibitory concentration in 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl stable free radical assay;  $IC_{50}$  (ABTS), half maximal inhibitory concentration in 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical cation assay.

а  $IC_{50}$  (ABTS)=3,7±0,2 мкг/мл, что на порядок превосходит активность других образцов, в том числе коммерчески доступного продукта (образец 12). Для образца 9 также характерно высокое значение ОСТС (2,00±0,11 ммоль/г), и следует отметить, что стероидные и тритерпеновые соединения наряду с фенолами могут вносить дополнительный вклад в антиоксидантную активность *G. lucidum*. В представленной выборке наблюдается корреляция величин  $IC_{50}$  (DPPH) и  $IC_{50}$  (ABTS).

Результаты исследования химического состава полученных экстрактов методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием представлены на рисунке 1 «Общие хроматограммы (масс-детектор, режим полного сканирования отрицательных ионов в области  $m/z$  120–1000) образцов»<sup>2</sup>, рисунке 2 «Хроматограммы экстракта образца *G. lucidum* (штамм 335, выращенный

на дубовом субстрате) по выбранным молекулярным ионам»<sup>3</sup> (опубликованы на сайте журнала) и в таблицах 4 «Идентифицированные компоненты экстрактов *Ganoderma spp.*» и 5 «Качественный и полуколичественный состав экстрактивных извлечений *Ganoderma spp.*»<sup>4</sup> (опубликована на сайте журнала). Условия разделения и ионизации подбирали эмпирически. Идентификация соединений проводилась путем анализа продуктов фрагментации молекулярных ионов целевых веществ (табл. 4 «Идентифицированные компоненты экстрактов *Ganoderma spp.*», рис. 3 «Схема фрагментации люциденовой кислоты  $N. M_r$  ([ $M-H$ ]) = 459,28», рис. 4 «Масс-спектры идентифицированных веществ» (опубликован на сайте журнала)<sup>5</sup>). В экстрактах были обнаружены тритерпеновые соединения: люциденовые и ганодеровые кислоты и их производные; флавоноид нарингенин,

Таблица 4. Идентифицированные компоненты экстрактов *Ganoderma spp.*

Table 4. Identified components of *Ganoderma spp.* extracts

Соединение Compound	$m/z$ основных осколочных фрагментов, Да $m/z$ of main fragment ions, Da
Люциденовая кислота N <i>Lucidenic acid N</i>	459,27 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 441,26 [ $M-H-H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 361,20 [ $M-H-C_6H_{10}O$ (цикл А)] <sup>-</sup> ; 317,21 [ $M-H-C_6H_{10}O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 303,20 [ $M-H-C_8H_{12}O_3$ (цикл D)] <sup>-</sup> ; 299,16 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-2H_2$ ] <sup>-</sup> ; 289,18 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-CH_2$ ] <sup>-</sup> ; 285,15 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-CH_2-2H_2$ ] <sup>-</sup> ; 459,27 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 441,26 [ $M-H-H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 361,20 [ $M-H-C_6H_{10}O$ (cycle A)] <sup>-</sup> ; 317,21 [ $M-H-C_6H_{10}O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 303,20 [ $M-H-C_8H_{12}O_3$ (cycle D)] <sup>-</sup> ; 299,16 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-2H_2$ ] <sup>-</sup> ; 289,18 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-CH_2$ ] <sup>-</sup> ; 285,15 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-CH_2-2H_2$ ] <sup>-</sup>
Люциденовая кислота A <i>Lucidenic acid A</i>	457,26 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 439,25 [ $M-H-H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 431,27 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 359,19 [ $M-H-C_6H_{10}O$ (цикл А)] <sup>-</sup> ; 313,18 [ $M-H-C_6H_{10}O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 301,18 [ $M-H-C_8H_{12}O_3$ (цикл D)] <sup>-</sup> ; 299,17 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-2H_2$ ] <sup>-</sup> ; 287,18 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-CH_2$ ] <sup>-</sup> ; 285,15 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-CH_2-H_2$ ] <sup>-</sup> ; 247,13 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3$ (циклы С и D)] <sup>-</sup> ; 233,12 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3$ (циклы С и D)- $CH_2$ ] <sup>-</sup> ; 457,26 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 439,25 [ $M-H-H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 431,27 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 359,19 [ $M-H-C_6H_{10}O$ (cycle A)] <sup>-</sup> ; 313,18 [ $M-H-C_6H_{10}O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 301,18 [ $M-H-C_8H_{12}O_3$ (cycle D)] <sup>-</sup> ; 299,17 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-2H_2$ ] <sup>-</sup> ; 287,18 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-CH_2$ ] <sup>-</sup> ; 285,15 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-CH_2-H_2$ ] <sup>-</sup> ; 247,13 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3$ (cycles C and D)] <sup>-</sup> ; 233,12 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3$ (cycles C and D)- $CH_2$ ] <sup>-</sup>
Ганодеровая кислота A <i>Ganoderic acid A</i>	515,30 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 497,29 [ $M-H-H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 479,28 [ $M-H-2H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 453,30 [ $M-H-H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 435,29 [ $M-H-2H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 301,18 [ $M-H-C_8H_{12}O_3$ (цикл D)] <sup>-</sup> ; 299,17 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-2H_2$ ] <sup>-</sup> ; 285,15 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-CH_2-H_2$ ] <sup>-</sup> ; 247,13 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3$ (циклы С и D)] <sup>-</sup> ; 233,12 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3-CH_2$ ] <sup>-</sup> ; 417,23 [ $M-H-C_6H_{10}O$ (цикл А)] <sup>-</sup> ; 355,23 [ $M-H-C_6H_{10}O-CO_2-H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 515,30 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 497,29 [ $M-H-H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 479,28 [ $M-H-2H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 453,30 [ $M-H-H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 435,29 [ $M-H-2H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 301,18 [ $M-H-C_8H_{12}O_3$ (cycle D)] <sup>-</sup> ; 299,17 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-2H_2$ ] <sup>-</sup> ; 285,15 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-CH_2-H_2$ ] <sup>-</sup> ; 247,13 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3$ (cycles C and D)] <sup>-</sup> ; 233,12 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3-CH_2$ ] <sup>-</sup> ; 417,23 [ $M-H-C_6H_{10}O$ (cycle A)] <sup>-</sup> ; 355,23 [ $M-H-C_6H_{10}O-CO_2-H_2O$ ] <sup>-</sup>
Ганодеровая кислота H <i>Ganoderic acid H</i>	571,29 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 527,27 [ $M-H-CH_3CO-H_2$ ] <sup>-</sup> ; 511,31 [ $M-H-H_2O+H_2$ ] <sup>-</sup> ; 451,31 [ $M-H-H_2O+H_2-CH_3COOH$ ] <sup>-</sup>
Ганодеровая кислота D <i>Ganoderic acid D</i>	513,29 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 495,28 [ $M-H-H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 451,29 [ $M-H-H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 247,13 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3$ (циклы С и D)- $H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 149,06 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3-C_6H_{10}O$ (цикл В)- $H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 417,23 [ $M-H-C_6H_{10}O$ (цикл А)] <sup>-</sup> ; 355,23 [ $M-H-C_6H_{10}O-H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 301,18 [ $M-H-C_8H_{12}O_3$ (цикл D)] <sup>-</sup> ; 299,17 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-2H_2$ ] <sup>-</sup> ; 247,13 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3$ (циклы С и D)] <sup>-</sup> ; 513,29 [ $M-H$ ] <sup>-</sup> ; 495,28 [ $M-H-H_2O$ ] <sup>-</sup> ; 451,29 [ $M-H-H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 247,13 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3$ (cycles C and D)- $H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 149,06 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3-C_6H_{10}O$ (cycle B)- $H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 417,23 [ $M-H-C_6H_{10}O$ (cycle A)] <sup>-</sup> ; 355,23 [ $M-H-C_6H_{10}O-H_2O-CO_2$ ] <sup>-</sup> ; 301,18 [ $M-H-C_8H_{12}O_3$ (cycle D)] <sup>-</sup> ; 299,17 [ $M-H-C_8H_{12}O_3-2H_2$ ] <sup>-</sup> ; 247,13 [ $M-H-C_{12}H_{18}O_3$ (cycles C and D)] <sup>-</sup>

<sup>2</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-fig1>

<sup>3</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-fig2>

<sup>4</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-table5>

<sup>5</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-fig4>

Продолжение таблицы 4

Table 4 (continued)

Соединение Compound	m/z основных осколочных фрагментов, Да m/z of main fragment ions, Da
Люциденовая кислота D <i>Lucidenic acid D</i>	513,25 [M-H] <sup>-</sup> ; 495,32 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 471,27 [M-H-CH <sub>3</sub> CO] <sup>-</sup> ; 453,18 [M-H-CH <sub>3</sub> COOH] <sup>-</sup>
Ганодеровая кислота XL5 <i>Ganoderic acid XL5</i>	547,33 [M-H] <sup>-</sup> ; 499,311 [M-H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>-</sup> ; 481,30 [M-H-H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> OH] <sup>-</sup> ; 455,30 [M-H-CH <sub>3</sub> OH-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 437,31 [M-H-H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> OH-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 303,20 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> (цикл D)] <sup>-</sup> ; 301,18 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> -2H <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 287,17 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 249,15 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> (циклы C и D)] <sup>-</sup> ; 235,13 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> ; 431,24 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> (цикл A)] <sup>-</sup> ; 355,23 [M <sup>2</sup> -H-C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> OH] <sup>-</sup> ; 547,33 [M-H] <sup>-</sup> ; 499,311 [M-H-CH <sub>3</sub> OH] <sup>-</sup> ; 481,30 [M-H-H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> OH] <sup>-</sup> ; 455,30 [M-H-CH <sub>3</sub> OH-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 437,31 [M-H-H <sub>2</sub> O-CH <sub>3</sub> OH-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 303,20 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> (cycle D)] <sup>-</sup> ; 301,18 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> -2H <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 287,17 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 249,15 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> (cycles C and D)] <sup>-</sup> ; 235,13 [M-H-C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub> -CH <sub>3</sub> ] <sup>-</sup> ; 431,24 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> (cycle A)] <sup>-</sup> ; 355,23 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> OH] <sup>-</sup>
3,7-Оксо-12-гидрокси-ганодериновая кислота DM <i>3,7-Oxo-12-hydroxy-ganoderic acid DM</i>	483,31 [M-H] <sup>-</sup> ; 465,30 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 385,24 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O (цикл A)] <sup>-</sup> ; 301,18 [M-H-C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> (цикл D)] <sup>-</sup> ; 247,13 [M-H-C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> (циклы C и D)] <sup>-</sup> ; 483,31 [M-H] <sup>-</sup> ; 465,30 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 385,24 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O (cycle A)] <sup>-</sup> ; 301,18 [M-H-C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> (cycle D)] <sup>-</sup> ; 247,13 [M-H-C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> (cycles C and D)] <sup>-</sup>
Нарингенин <i>Naringenin</i>	271,06 [M-H] <sup>-</sup> ; 243,07 [M-H-CO] <sup>-</sup> ; 203,07 [M-H-C <sub>3</sub> O <sub>2</sub> (цикл A)] <sup>-</sup> ; 151,00 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O (цикл B и C)] <sup>-</sup> ; 271,06 [M-H] <sup>-</sup> ; 243,07 [M-H-CO] <sup>-</sup> ; 203,07 [M-H-C <sub>3</sub> O <sub>2</sub> (cycle A)] <sup>-</sup> ; 151,00 [M-H-C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O (cycle B and C)] <sup>-</sup>
Линолевая кислота <i>Linoleic acid</i>	279,22 [M-H] <sup>-</sup>
Стеариновая кислота <i>Stearic acid</i>	283,26 [M-H] <sup>-</sup>
12-Гидроксиганодериновая кислота C2 <i>12-Hydroxy-ganoderic acid C2</i>	533,31 [M-H] <sup>-</sup> ; 515,30 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 497,29 [M-H-2H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 471,31 [M-H-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 453,30 [M-H-2H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 433,22 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O (цикл A)] <sup>-</sup> ; 533,31 [M-H] <sup>-</sup> ; 515,30 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 497,29 [M-H-2H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 471,31 [M-H-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 453,30 [M-H-2H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 433,22 [M-H-C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O (cycle A)] <sup>-</sup>
Лингжин D <i>Lingzhine D</i>	269,08 [M-H] <sup>-</sup>
Ганодеровая кислота G <i>Ganoderic acid G</i>	531,30 [M-H] <sup>-</sup> ; 495,41 [M-H-2H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 469,36 [M-H-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>
Ганодеровая кислота C2 <i>Ganoderic acid C2</i>	517,32 [M-H] <sup>-</sup> ; 499,33 [M-H-H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 481,34 [M-H-2H <sub>2</sub> O] <sup>-</sup> ; 455,51 [M-H-H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup> ; 437,47 [M-H-2H <sub>2</sub> O-CO <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>
(±)-Лингжин B (±)- <i>Lingzhine B</i>	257,20 [M-H] <sup>-</sup>
α-Линоленовая кислота <i>α-Linolenic acid</i>	277,21 [M-H] <sup>-</sup>
Олеиновая кислота <i>Oleic acid</i>	281,25 [M-H] <sup>-</sup> ; 267,20 [M-H-CH <sub>2</sub> ] <sup>-</sup>

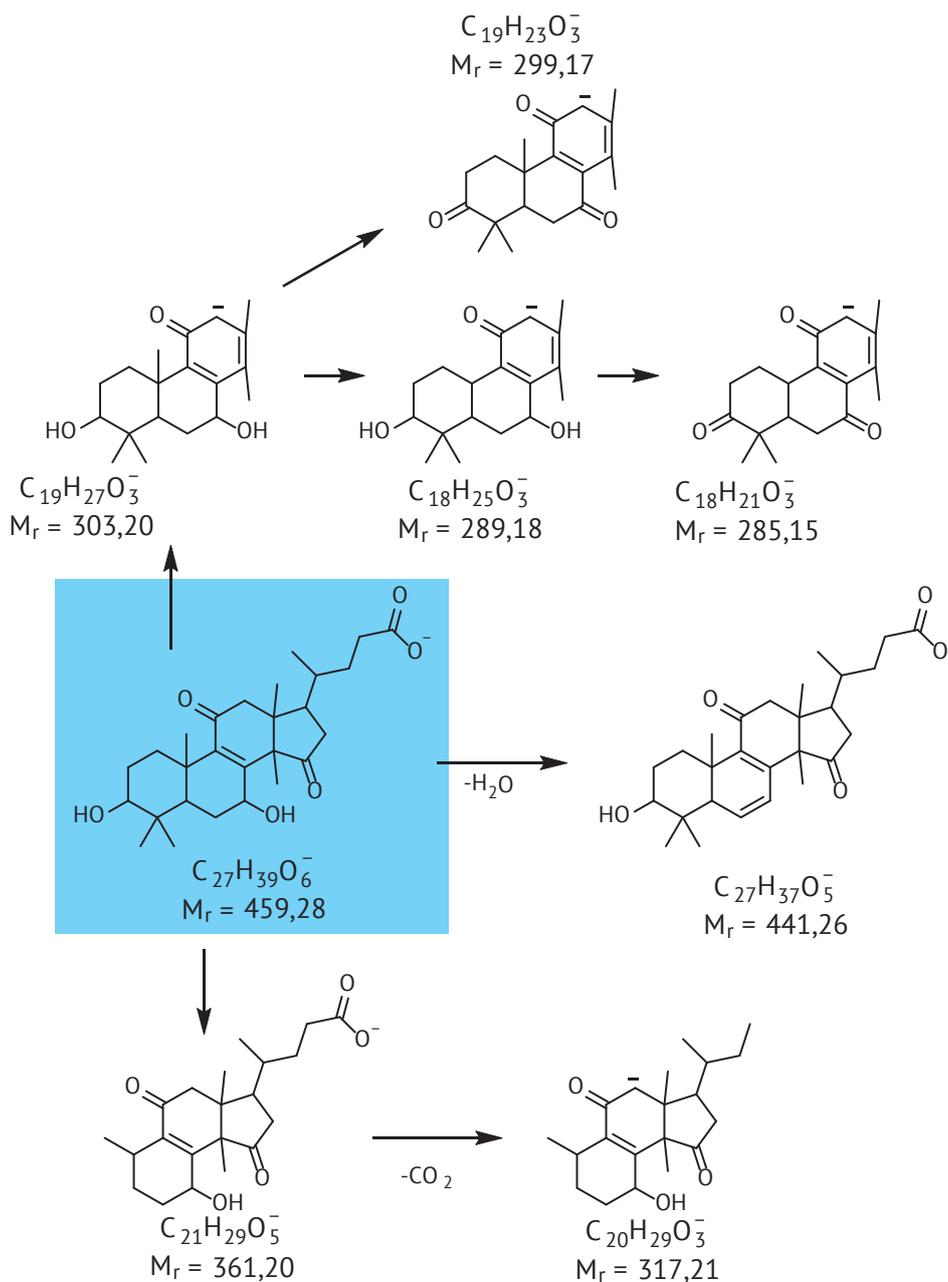
Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

лингжины, а также входящие в состав липидов жирные кислоты: линолевая, стеариновая, α-линоленовая, олеиновая (табл. 4).

Данные таблицы 3 свидетельствуют о взаимосвязи величин ОСФ и антирадикальной активности экстрактов в отношении DPPH и ABTS. В подтверждение этому отмечена низкая радикал-ингибирующая активность экстракта в петролейном эфире (образец 13, табл. 3), содержащего малое количество фенолов (20,4±1,5 мкмоль/г), в то время как для хлороформной (образец 14), этанольной (образец 16)

и в особенности этилацетатной (образец 15) фракций характерен достаточно высокий уровень активности (табл. 3). Данные таблицы 5<sup>6</sup> могут указывать на вклад флавоноида нарингенина и лингжинов в радикал-ингибирующую активность экстрактов [26, 27]. Кроме того, высокой радикал-ингибирующей активности экстрактов могут способствовать тритерпеновые кислоты (ганодеровая кислота D и люциденовая кислота D). При этом для хлороформного и этилацетатного экстрактов (табл. 3), содержащих большое количество тритерпеновых соединений (1,84±0,09 и 1,96±0,10 ммоль/г соответственно),

<sup>6</sup> <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-table5>



**Рис. 3.** Схема фрагментации люциденовой кислоты N.  $M_r$  ( $[M-H]^-$ ) = 459,28

**Fig. 3.** Fragmentation scheme for lucidenic acid N.  $M_r$  ( $[M-H]^-$ ) = 459,28

также отмечена высокая радикал-ингибирующая активность, но для этанольного экстракта, несмотря на более высокое содержание фенольных соединений, отмечен более низкий уровень активности (образец 16, табл. 3). Ганодеровая кислота D как тетрациклический тритерпеноид является эффективным активатором CaM/CaMKII/NRF2 сигнального пути и вследствие этого обладает способностью предотвращать развитие оксидативного стресса, а наличие 11-оксо- $\Delta^8$ -фрагмента в структурах исследуемых соединений позволяет им образовывать стабильные радикалы [28].

Достоинством полученных экстрактов как потенциальных антиоксидантных средств является наличие БАВ с различной липофильностью: тритерпеновые соединения обладают высокой растворимостью в липидах и защищают их от перекисного окисления при оксидативном стрессе, в то время как флавоноиды действуют в межклеточном пространстве и цитоплазме [29]. Полученные в работе данные согласуются с результатами исследований *in vivo*, проведенными другими научными коллективами: показано, что этанольные экстракты, проявляя антиоксидантную активность, оказывали

цитопротекторное действие на клетки печени, поджелудочной железы и почек у крыс [30]; водные экстракты демонстрировали противодиабетическое действие на стрептозоциновой модели у крыс [31]; терпеноидная фракция *G. lucidum* оказывала гепатопротекторное действие при инвазиях *Plasmodium berghei* за счет снижения оксидативного стресса [32].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам сравнительных исследований экстрактов штаммов грибов *G. lucidum* и *G. lingzhi*, выращенных на субстратах ольхи и дуба, было установлено, что наибольшую антиоксидантную активность проявляет экстракт FIB-334 *G. lucidum*, выращенный на субстрате ольхи: высокая радикал-ингибирующая активность в отношении DPPH

( $IC_{50}=3,1\pm 0,2$  мкг/мл) и ABTS ( $IC_{50}=3,7\pm 0,2$  мкг/мл) согласуется с общим содержанием фенольных соединений ( $326,2\pm 16,5$  мкмоль/г) и общим содержанием тритерпеновых и стероидных соединений ( $2,00\pm 0,11$  ммоль/г) в этом экстракте. Высокая антиоксидантная активность изученных штаммов грибов *G. lucidum* и *G. lingzhi* может быть обусловлена наличием фенольных соединений (флавоноидом нарингенином, производными гидрохинона лингжинами В и D), а также тритерпеноидами (ганодеровой кислотой D и люциденовой кислотой D).

Полученные результаты позволяют рассматривать искусственно выращенные штаммы *Ganoderma* spp. в качестве перспективного источника антиоксидантов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Cabarroi-Hernández M, Villalobos-Arámbula AR, Torres-Torres MG, Decock C, Guzmán-Dávalos L. The *Ganoderma weberianum-resinaceum* lineage: multilocus phylogenetic analysis and morphology confirm *G. mexicanum* and *G. parvulum* in the Neotropics. *MycKeys* 2019;59:95–131. <https://doi.org/10.3897/MYCOKEYS.59.33182>
- Moncalvo J-M. Molecular systematics of *Ganoderma*: what is Reishi? *Int J Med Mushrooms*. 2005;3:353–4. <https://doi.org/10.1615/INTJMEDMUSHROOMS.V7.I3.160>
- Baby S, Johnson AJ, Govindan B. Secondary metabolites from *Ganoderma*. *Phytochemistry*. 2015;114:66–101. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.03.010>
- Cao Y, Wu SH, Dai YC. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom “Lingzhi”. *Fungal Divers*. 2012;56:49–62. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0178-5>
- Galappaththi MCA, Patabendige NM, Premarathne BM, Napuarachchi KK, Tibpromma S, Dai DQ. A review of *Ganoderma* triterpenoids and their bioactivities. *Biomol*. 2022;13:24–35. <https://doi.org/10.3390/biom13010024>
- Chan WK, Cheung CCH, Law HKW, Lau YL, Chan GCF. *Ganoderma lucidum* polysaccharides can induce human monocytic leukemia cells into dendritic cells with immunostimulatory function. *J Hematol Oncol*. 2008;1:9. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-1-9>
- Kladar N V., Gavarić NS, Božin BN. *Ganoderma*: insights into anticancer effects. *Eur J Cancer Prev*. 2016;25:462–71. <https://doi.org/10.1097/CEJ.0000000000000204>
- Paydary K, Khaghani P, Emamzadeh-Fard S, Alinaghi SAS, Baesi K. The emergence of drug resistant HIV variants and novel anti-retroviral therapy. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2013;3:515–24. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60106-9](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60106-9)
- Kamra A, Bhatt AB. Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* extracts against human pathogenic. *Int J Pharm Sci*. 2012;2:359–62.
- Jia J, Zhang X, Hu YS, Wu Y, Wang QZ, Li NN, et al. Evaluation of *in vivo* antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats. *Food Chem*. 2009;115:32–6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.043>
- Lin JM, Lin CC, Chen MF, Ujiie T, Takada A. Radical scavenger and antihepatotoxic activity of *Ganoderma formosanum*, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma neo-japonicum*. *J Ethnopharmacol*. 1995;47:33–41. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(95\)01251-8](https://doi.org/10.1016/0378-8741(95)01251-8)
- Lee JM, Kwon H, Jeong H, Lee JW, Lee SY, Baek SJ, et al. Inhibition of lipid peroxidation and oxidative DNA damage by *Ganoderma lucidum*. *Phytother Res*. 2001;15:245–9. <https://doi.org/10.1002/ptr.830>
- Chen DH, Shiou WY, Wang KC, Huang SY, Shie YT, Tsai CM, et al. Chemotaxonomy of triterpenoid pattern of HPLC of *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma tsugae*. *J Chinese Chem Soc*. 1999;46:47–51. <https://doi.org/10.1002/jccs.199900006>
- Zhou X, Lin J, Yin Y, Zhao J, Sun X, Tang K. *Ganoderma*-*ceae*: natural products and their related pharmacological functions. *Am J Chin Med*. 2007;35:559–74. <https://doi.org/10.1142/S0192415X07005065>
- Mau JL, Lin HC, Chen CC. Non-volatile components of several medicinal mushrooms. *Food Res Int*. 2001;34:521–6. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(01\)00067-9](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(01)00067-9)
- Van der Hem LG, Van der Vliet JA, Bocken CF, Kino K, Hoitsma AJ, Tax WJ. Ling Zhi-8. Studies of a new immunomodulating agent. *Transplantation*. 1995;60(5):438–43. PMID: 7676490
- Thakur A, Rana M, Lakhnopal TN, Ahmad A, Khan MI. Purification and characterization of lectin from fruiting body of *Ganoderma lucidum*: lectin from *Ganoderma lucidum*. *Biochim Biophys Acta*. 2007;1770:1404–12. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2007.05.009>
- Li DW, Liu M, Leng YQ, Hu JF, Deng S, Leng AJ, et al. Lanostane triterpenoids from *Ganoderma lucidum* and their inhibitory effects against FAAH. *Phytochemistry*. 2022;203:113339. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113339>
- Raj Kapoor B, Burkan ZE, Senthilkumar R. Oxidants and human diseases: role of antioxidant medicinal plants – a review. *Pharmacologyonline*. 2010;1:1117–31.
- Ali SS, Kasoju N, Luthra A, Singh A, Sharanabasava H, Sahu A, et al. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*. 2008;41:1–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.10.001>
- Коваленко СА, Назарова ОМ, Лубянова ВМ. Штаммовое разнообразие *Ganoderma lingzhi* и *G. lucidum* в коллекционном фонде Института леса НАН Беларуси. *Проблемы лесоведения и лесоводства*: сб. науч. тр. ИЛ НАН Беларуси. Вып. 82. Гомель: Институт леса НАН Беларуси; 2022. С. 215–27.
- Kovalenko SA, Nazarova OM, Lubyanova VM. Diversity of *Ganoderma lingzhi* and *G. lucidum* strains in the collection fund of the Forest Institute of the National Academy of

- Sciences of Belarus. *Problems of Forest Science and Forestry*. 2022. Vol. 82. P. 215–27 (In Russ.).
22. White TJ. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. New York: Academic Press Inc; 1990. P. 315–22.  
<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1>
  23. 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.  
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
  24. Hiai S, Oura H, Nakajima T. Color reaction of some saponins and saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta Med*. 1976;29:116–22.  
<https://doi.org/10.1055/s-0028-1097639>
  25. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958;181:1199–200.  
<http://dx.doi.org/10.1038/1811199a0>
  26. Dong Q, He D, Ni X, Zhou H, Yang H. Comparative study on phenolic compounds, triterpenoids, and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* affected by different drying methods. *J Food Meas Charact*. 2019;13:3198–205.  
<https://doi.org/10.1007/s11694-019-00242-0>
  27. Rashmi R, Magesh SB, Ramkumar KM, Suryanarayanan S, SubbaRao MV. Antioxidant potential of naringenin helps to protect liver tissue from streptozotocin-induced damage. *Reports Biochem Mol Biol*. 2018;7:76.  
PMID: 30324121
  28. Yuan H, Xu Y, Luo Y, Zhang JR, Zhu XX, Xiao JH. Ganoderic acid D prevents oxidative stress-induced senescence by targeting 14-3-3ε to activate CaM/CaMKII/NRF2 signaling pathway in mesenchymal stem cells. *Aging Cell*. 2022;21:e13686.  
<https://doi.org/10.1111/ACEL.13686>
  29. Lagouri V. Lipophilic antioxidants. *Lipids Ski Heal*. 2015;301–10.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-09943-9\\_20](https://doi.org/10.1007/978-3-319-09943-9_20)
  30. Olorunnisola O.S. Biochemical and histological investigation on the protective effect of poly-herbal extract in high salt diet-fed male Wistar rats. *Phytomedicine Plus*. 2021;1(4):100116.  
<https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100116>
  31. Jia J. Evaluation of *in vivo* antioxidant activities of *Ganoderma lucidum* polysaccharides in STZ-diabetic rats. *Food Chem*. 2009;115(1):32.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.043>
  32. Oluba OM, Akpor OB, Adebisi FD, Josiah SJ, Alabi OO, Shoyombo AO, Olusola AO. Effects of co-administration of *Ganoderma* terpenoid extract with chloroquine on inflammatory markers and antioxidant status in *Plasmodium berghei*-infected mice. *J Integr Med*. 2020;18(6):522–9.  
<https://doi.org/10.1016/j.joim.2020.08.002>

**Дополнительная информация.** На сайте журнала «Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств» размещены рисунки 1, 2, 4 и таблица 5.  
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-fig1>  
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-fig2>  
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-fig4>  
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-table5>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Г.И. Горбацевич – руководство исследованием, подготовка сырья, получение экстрактов, проведение хромато-масс-спектрометрического исследования, подготовка публикации; Л.С. Зеневич, И.Р. Баталова – определение антиоксидантной активности с использованием спектрофотометрических методов, подготовка образцов; С.А. Коваленко – выращивание штаммов грибов, их идентификация, формирование коллекции; П.М. Бычковский – методическое руководство и консультация в вопросах хроматографического анализа.

**Additional information.** Figures 1, 2, 4 and Table 5 are published on the website of *Regulatory Research and Medicine Evaluation*.  
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-fig1>  
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-fig2>  
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-fig4>  
<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-609-table5>

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Hleb I. Harbatsevich managed the research, prepared and extracted the herbal drugs, conducted the experiments by high-performance liquid chromatography–mass spectrometry, and drafted the manuscript. Liliana S. Zenevich, Irina R. Batalova tested the free radical-scavenging activity of extracts by spectrophotometry and carried out sample preparation. Snezhana A. Kovalenko cultivated and identified fungal strains, curated the fungal collection. Pavel M. Bychkovsky provided methodological guidance and advice on chromatographic analysis.

## ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Горбацевич Глеб Иванович**, канд. хим. наук, доцент / **Hleb I. Harbatsevich**, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0226-8636>

**Зеневич Лилиана Сергеевна / Liliana S. Zenevich**

**Баталова Ирина Ростиславовна / Irina R. Batalova**

**Коваленко Снежана Александровна**, канд. сел.-хоз. наук / **Snezhana A. Kovalenko**, Cand. Sci. (Agr.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4632-9912>

**Бычковский Павел Михайлович**, канд. хим. наук, доцент / **Pavel M. Bychkovsky**, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5318-6599>

Поступила 29.12.2023

После доработки 01.04.2024

Принята к публикации 10.04.2024

Online first 21.08.2024

Received 29 December 2023

Revised 1 April 2024

Accepted 10 April 2024

Online first 21 August 2024