

УДК 615.322

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСТРАКТОВ И МЕЛАНИНОВ ГРИБА *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil., ПОЛУЧЕННЫХ ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ СЫРЬЯ ВЧЕ-ПЛАЗМОЙ

О.Ю. Кузнецова¹, И.Ш. Абдуллин¹, М.Ф. Шаехов¹,
Г.К. Зиятдинова², Г.К. Будников²

¹Казанский национальный исследовательский технологический университет,
г. Казань, 420015, Россия

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, 420008, Россия

Аннотация

Для повышения эффективности экстракции природного лекарственного сырья проведена предварительная обработка высокочастотным емкостным разрядом (ВЧЕ-плазмой) пониженного давления. ВЧЕ-плазменную обработку осуществляли в двух режимах, отличающихся природой плазмообразующего газа.

В качестве перспективного источника сырья выбран березовый гриб чага *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. Экстрагирование проводили двумя способами – ремацерацией и мацерацией. Анализ экстрактов и меланинов чаги осуществляли по традиционным методикам, включавшим определение физико-химических, антиоксидантных и спектральных характеристик.

Проведено сравнение полученных экстрактов и меланинов с контрольными образцами и литературными данными. Показано, что ВЧЕ-плазменная обработка лекарственного сырья приводит к увеличению выхода экстрактивных веществ, в частности основного действующего компонента чаги – меланина. Антиоксидантная активность экстрактов чаги возрастает, а для меланинов остается на уровне контроля.

ИК-спектральные характеристики изученных меланинов чаги близки между собой и хорошо согласуются с литературными данными. Наблюдаются лишь незначительные отклонения в положении и интенсивности полос поглощения для образцов после ВЧЕ-обработки. ИК-спектры исследуемых меланинов чаги подобны ИК-спектрам грибных меланинов, что свидетельствует о схожести их природы.

ВЧЕ-плазменная обработка лекарственного сырья чаги позволяет провести частичную его модификацию, при этом сохраняются структурно-механические свойства модифицированных меланинов.

Ключевые слова: ВЧЕ-плазменная обработка, чага, меланин, экстрагирование, антиоксидантная активность

Введение

Использование натуральных природных ингредиентов при производстве фармацевтической продукции в последнее время приобрело повышенный интерес и стало актуальным направлением развития отрасли. Лекарственные препараты

из природного сырья характеризуются разнообразием биологического действия и обладают в основном минимумом побочных эффектов.

Отдельное важное место в лечебно-профилактической практике занимает фито- и фунготерапия [1]. В медицине широко используются галеновый препарат «Бефунгин», спиртовая настойка чаги, различные биологически активные добавки (БАД) чаги. Препараты из березового гриба чаги *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. часто применяют при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта (язвы двенадцатиперстной кишки и желудка, различного рода гастритов и т. п.) и онкологических заболеваний (для профилактики и облегчения болей у пациентов в тяжелой стадии) [1–4]. Препараты чаги обладают широким спектром биологической активности: иммуномодулирующей, антиоксидантной, антитоксической, противовирусной, генопротекторной, радиопротекторной, ауксиноподобной, адаптогенной и др. Известно их влияние на активность ферментов крови, на деятельность дыхательной, сердечной и нервной систем живого организма. Меланины чаги проявляют сорбционные и хелатирующие свойства [1–13].

Повышение эффективности экстракции является перспективной задачей. В предыдущих работах [14–17] интенсификацию экстракции проводили подбором метода предобработки сырья, способа экстракции или экстрагента. Известны также способы экстрагирования чаги, включающие обработку сырья ультразвуком [18], сверхвысокочастотным излучением [19], электрическим полем постоянного тока [20] и др.

В настоящей работе предлагается обрабатывать сырье чаги высокочастотной емкостной плазмой (ВЧЕ-плазмой) пониженного давления для увеличения выхода экстрактивных веществ и меланинов чаги, обладающих высокой антиоксидантной активностью (АОА).

1. Экспериментальная часть

В работе использовали два сырья чаги, закупаемых в аптечной сети: сырье 1 – ПКФ «Фитофарм» ООО (Россия, Краснодарский край, г. Анапа) серия 020615; сырье 2 – ООО «Красногорсклексредства» (Россия, Московская область, Красногорский район) серия 70515 05/2015.

Обработку сырья чаги проводили высокочастотным емкостным разрядом (ВЧЕ-плазмой) в двух режимах: режим 1 – давление $P = 30$ Па, расход газа $G = 0.04$ г/с, напряжение $U = 7.0$ кВ, ток на аноде $J = 0.7$ А, продолжительность обработки $t = 60$ мин, среда – воздух; режим 2 – при тех же параметрах только в среде аргона. Образцы перед обработкой помещались в однослойные хлопчатобумажные пакеты.

Обработанные ВЧЕ-плазмой образцы экстрагировали по разработанным ранее методикам [14, 15] и получали соответственно экстракты и меланины чаги с рабочими названиями Фунги Б12 и Фунги Б1.

Определение сухого остатка осуществляли по [21]. Меланины чаги выделяли согласно общепринятой методике [21–23] осаждением хлористоводородной кислотой из экстрактов чаги.

АОА экстрактов и меланинов чаги определяли кулонометрическим способом [24–26].

ИК-спектры меланинов чаги снимали на ИК-Фурье-спектрометре IRAffinity-1 (Shimadzu, Япония) в таблетках КВг в диапазоне от 4000 до 400 см⁻¹ [27].

Характеристики экстрактов и меланинов чаги приведены в табл. 1–2 и на рис. 1–3.

Результаты экспериментов обрабатывали с помощью программы «Статистика 6», при доверительной вероятности $P = 0.95$, $n = 3$ (n – объем выборки или количество экспериментов).

2. Обсуждение результатов

Первым этапом исследования было изучение влияния ВЧЕ-плазмы на модификацию сырья. Для этого сырье чаги помещали в однослойные хлопчатобумажные пакеты и подвергали обработке ВЧЕ-плазмой в двух режимах, отличающихся средой, в частности в аргоне или на воздухе. Далее сырье экстрагировали по методикам [14, 15], позволяющим извлечь из плодового тела гриба экстрактивные вещества с высокой долей меланинов, обладающих антиоксидантными свойствами.

Поскольку в результате экспериментальных исследований были выявлены одинаковые закономерности для обеих партий сырья, в табл. 1 представлены данные только по одному сырью (сырью 1). Как видно из табл. 1., характер высвобождения экстрактивных веществ из сырья зависит от способа экстракции. В случае мацерации наблюдается максимальное увеличение выхода экстрактивных веществ в режиме воздух, а для ремацерации максимум достигается при использовании аргона. В обоих случаях наблюдается прирост доли меланинов, выделяемых из сырья.

Табл. 1

Физико-химические и антиоксидантные характеристики экстрактов и меланинов чаги

| Способ экстрагирования | Режим плазменной обработки | Сухой остаток, г/100 мл | Выход меланина, % * | АОА экстракта, Кл/мл | АОА меланина, кКл/100 г |
|------------------------|----------------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|
| Мацерация (Фунги Б12) | Контроль | 2.09 ± 0.10 | 11.61 ± 0.05 | 3.33 ± 0.03 | 19.0 ± 1.0 |
| | Режим 1 | 3.92 ± 0.08 | 12.26 ± 0.05 | 4.90 ± 0.10 | 19.0 ± 1.0 |
| | Режим 2 | 3.46 ± 0.08 | 15.45 ± 0.02 | 5.27 ± 0.07 | 13.0 ± 1.0 |
| Ремацерация (Фунги Б1) | Контроль | 1.22 ± 0.10 | 11.31 ± 0.06 | 2.18 ± 0.03 | 16.0 ± 1.0 |
| | Режим 1 | 1.47 ± 0.04 | 11.51 ± 0.10 | 2.35 ± 0.05 | 17.0 ± 1.5 |
| | Режим 2 | 1.55 ± 0.05 | 11.84 ± 0.09 | 2.46 ± 0.02 | 21.0 ± 1.0 |

Примечание: * по отношению к сырью

АОА модифицированных плазмой экстрактов возрастает в случае мацерации на 47% и 58% в воздухе и аргоне соответственно. Для ремацерации также наблюдается увеличение АОА экстрактов, но не столь значительное (7.8÷12%).

АОА меланинов, выделенных из исследуемых экстрактов Фунги Б12 и Фунги Б1, находится примерно на одном уровне 18 ± 3 кКл/100 г.

ИК-спектры поглощения меланинов чаги являются их важной идентификационной характеристикой [5]. Рассматривая ИК-спектры меланинов, получаемых как мацерацией (Фунги Б12), так и реперколяцией (Фунги Б1) (рис. 1), можно прийти к выводу, что ИК-спектры незначительно отличаются друг от друга,

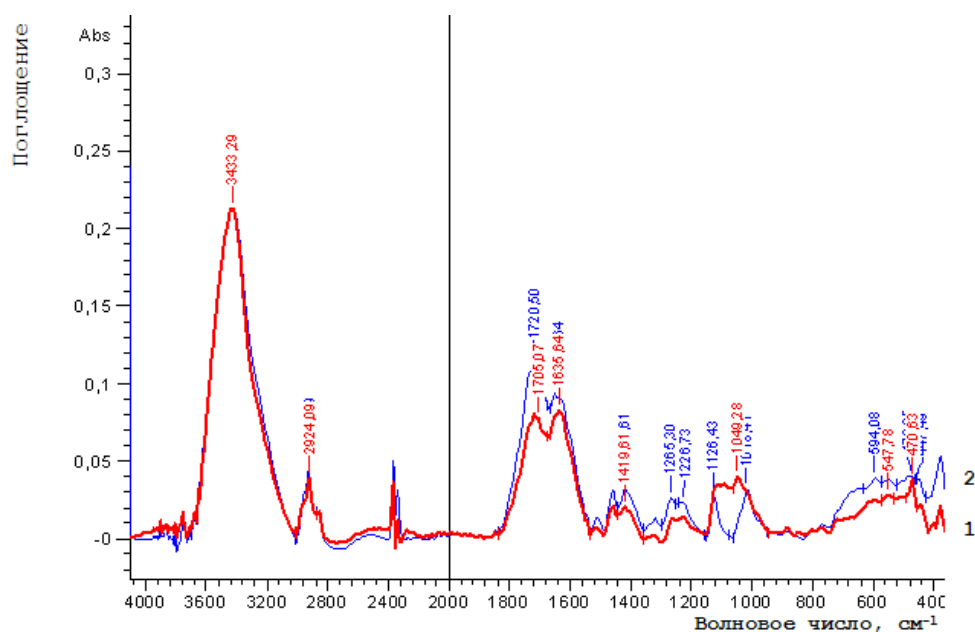


Рис. 1. ИК-спектры меланинов чаги, полученных: 1 – мацерацией (Фунги Б12), 2 – рематерацией (Фунги Б1)

то есть при смене способа экстракции на молекулярном уровне не происходит значительных изменений в структурно-физических свойствах меланиновых пигментов чаги.

Анализ ИК-спектров поглощения меланинов чаги Фунги Б12 (спектр 1а и 1б) и Фунги Б1 (спектр 2а и 2б), модифицированных плазмой (рис. 2 и 3), показывает, что под действием ВЧЕ-плазмы не происходит существенной деформации молекулы меланинов Фунги Б12 (спектр 1) и Фунги Б1 (спектр 2). Наблюдаются незначительные смещения полос поглощения и их интенсивности, что свидетельствует о сохранении структурно-механических свойств модифицированных ВЧЕ-плазмой меланинов, частично отличающихся преобладанием на их поверхности тех или иных группировок.

Для всех анализируемых ИК-спектров меланинов характерны полосы поглощения в определенных областях, которые можно отнести к функциональным группам, представленным в табл. 2 [27].

Все рассматриваемые ИК-спектры меланинов чаги хорошо согласуются с литературными данными [5, 28, 29]. Из рис. 1–3 видно, что по набору и положению полос поглощения и их относительной интенсивности они соответствуют ИК-спектрам грибных меланинов, что свидетельствует о схожести их природы.

Таким образом, проведенные качественные исследования показывают, что обработка сырья чаги ВЧЕ-плазмой не приводит к существенным изменениям в содержании активных групп в структуре меланинов и их деструктивным изменениям.

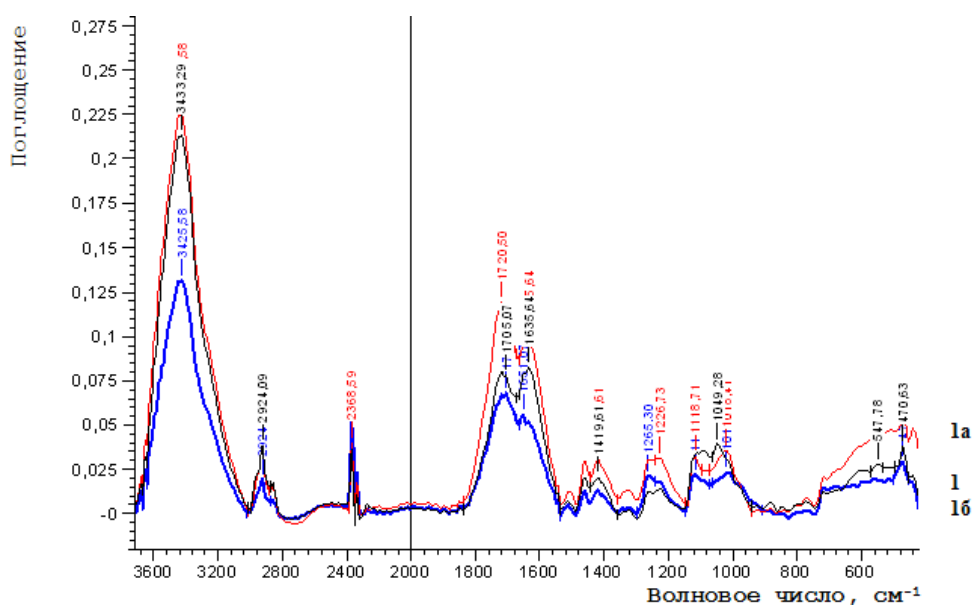


Рис. 2. ИК-спектры меланинов чаги, полученных мацерацией (Фунги Б12): 1 – контроль; 1а – режим 1 (воздух); 1б – режим 2 (аргон)

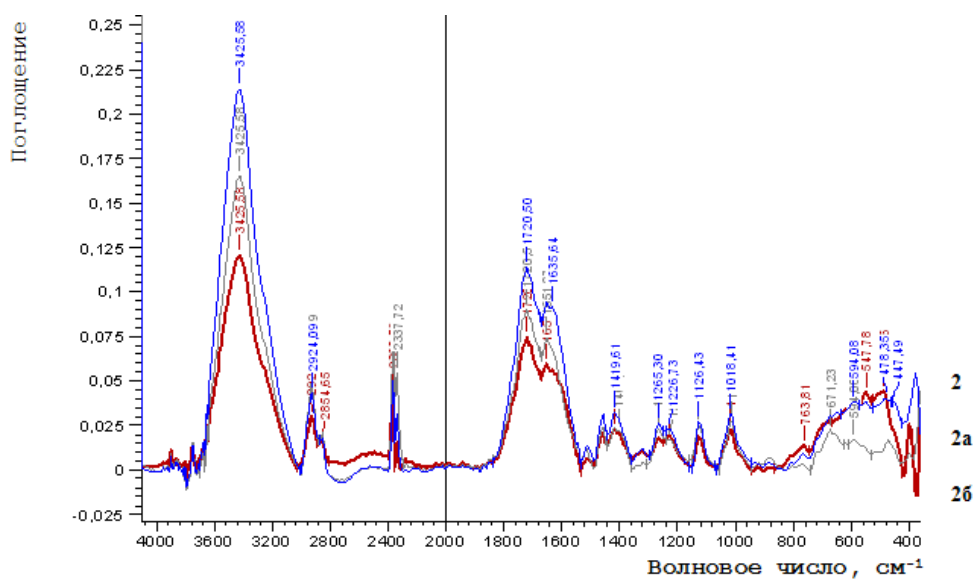


Рис. 3. ИК-спектры меланинов чаги, полученных ремацерацией (Фунги Б1): 2 – контроль; 2а – режим 1 (воздух); 2б – режим 2 (аргон)

Заключение

Сопоставление полученных физико-химических, антиоксидантных и спектральных характеристик экстрактов и меланинов чаги позволяет сделать следующие выводы. Обработка ВЧЕ-плазмой пониженного давления оказывает влияние на интенсификацию процесса извлечения экстрактивных веществ, увеличивая долю меланина в них и, как следствие, приводя к увеличению АОА экстрактов

Табл. 2

ИК-спектральные характеристики меланинов чаги

| ν , см^{-1} | Тип колебаний, структурные фрагменты |
|--------------------------|--|
| 3500÷3300 | Валентные колебания =N–H-групп |
| 3300÷3000 (3433.29) | Валентные колебания OH-групп, соединенных водородными связями |
| 1720.50÷1705.07 | Валентные колебания C=O-групп кетонов, карбонильных и эфирных групп наиболее характерные для меланинов |
| 1635.64 | Валентные колебания C=O-группы в сопряженных <i>n</i> -замещенных ароматических кетонах |
| 1419.61 | Ароматические скелетные колебания, объединенные с плоскостной деформацией C–H-групп |
| 1265.35 | Валентные колебания C=O-группы в кольце G-звена |
| 1226.73 | Валентные колебания C–O-, C–C- и C=O-групп |
| 1118.71 | Характерная для S-звена внутриплоскостная деформация ароматических C–H-групп |
| 1018.41÷1049.28 | Внутриплоскостная деформация ароматических C–H-, C–O-групп, характерная для первичных спиртов |
| 594.08÷447.49 | Не идентифицированы |
| 3710÷3820 | Не идентифицированы |

чаги серий Фунги B12 и Фунги B1. Однако после выделения из экстрактов меланинов и их высушивания не наблюдается существенных отличий в их АОА. Спектральные характеристики меланинов имеют схожую картину с незначительными отклонениями по степени интенсивности полос поглощения.

Благодарности. Авторы выражают благодарность кандидату химических наук, старшему научному сотруднику кафедры плазмохимических и нанотехнологий высокомолекулярных материалов ФГБОУ ВПО «КНИТУ» А.А. Чижевскому за регистрацию ИК-спектров.

Литература

1. Корсун В.Ф., Краснопольская Л.М., Корсун Е.В., Авхукова М.А. Противоопухолевые свойства грибов. – М.: Практ. мед., 2012. – 210 с.
2. Чага и ее лечебное применение при раке IV стадии / Под ред. П.К. Булатова, В.И. Долина, П.С. Савельева и др. – Л.: Медгиз, 1959. – 334 с.
3. Шайкина М.Я., Шайкин П.Н., Сергеев А.В. Химические и медико-биологические свойства чаги // Хим.-фарм. журн. – 2006. – Т. 40, № 10. – С. 37–44.
4. Шайкина М.Я., Шайкин П.Н., Сергеев А.В., Горяйнова Л.К. Чага, чаговит, чагалюкс в лечебной и профилактической практике. – М.: Эдас, 2009. – 66 с.
5. Babitskaya V.G., Shcherba V.V., Ikonnikova N.V. Melanin complex of the fungus *Inonotus obliquus* // Appl. Biochem. Microbiol. – 2000. – V. 36, No 4. – P. 377–381.
6. Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Иконникова Н.В., Бисько Н.А., Митропольская Н.Ю., Билай В.Т. Антиокислительное и генопротекторное действие лекарственных базидиальных грибов *Inonotus obliquus* и *Phellinus robustus* // Усп. мед. микологии. – 2005. – Т. 5. – С. 174–175.

7. Butler M.J., Day A.W. Fungal melanins: A review // Can. J. Microbiol. – 1998. – V. 44, No 12. – P. 1115–1136. – doi: 10.1139/w98-119.
8. Ham S.S., Oh S.S., Kim Y.K., Shin K.W., Chang H.Y., Chung G.H. Antioxidant and genotoxic inhibition activity of ethanol extract from the *Inonotus obliquus* // J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. – 2003. – V. 32, No 7. – P. 1071–1075.
9. Ju H.K., Chung H.W., Hong S.-S., Park J.H., Lee J., Kwon S.W. Effect of steam treatment on soluble phenolic content and antioxidant activity of the Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) // Food Chemistry. – 2010. – V. 119, No 2. – P. 619–625.
10. Nakajima Y., Nishida H., Matsugo S., Konishi T. Cancer cell cytotoxicity of extracts and small phenolic compounds from Chaga [*Inonotus obliquus* (persoon) Pilat] // J. Med. Food. – 2009. – V. 12, No 3. – P. 501–507. – doi: 10.1089/jmf.2008.1149.
11. Hu H., Zhang Z., Lei Z., Yang Y., Sugiura N. Comparative study of antioxidant activity and antiproliferative effect of hot water and ethanol extracts from the mushroom *Inonotus obliquus* // J. Biosci. Bioeng. – 2009. – V. 107, No 1. – P. 42–48. – doi: 10.1016/j.jbiosc.2008.09.004.
12. Won D.P., Lee J.S., Kwon D.S., Lee K.E., Shin W.C., Hong E.K. Immunostimulating activity by polysaccharides isolated from fruiting body of *Inonotus obliquus* // Mol. Cells. – 2011. – V. 31, No 2. – P. 165–173. – doi: 10.1007/s10059-011-0022-x.
13. Kim Y.-R. Immunomodulatory activity of the water extract from medicinal mushroom *Inonotus obliquus* // Mycobiology. – 2005. – V. 33, No 3. – P. 158–162. – doi: 10.4489/MYCO.2005.33.3.158.
14. Пат. 2450817 РФ. Способ получения хромогенного комплекса чаги / О.Ю. Кузнецова, М.А. Сысоева. – № 2011105353/15; заявл. 14.02.2011. опубл. 20.05.2012. Бюл. 14. – 5 с.
15. Пат. 2343930 РФ. Способ получения водных экстрактов чаги / М.А. Сысоева, В.Р. Хабибрахманова, В.С. Гамаюрова, О.Ю. Кузнецова. – № 2007113965/15; заявл. 02.04.2007. опубл. 20.01.2009. Бюл. 2. – 4 с.
16. Пат. 2448721 РФ. Способ получения экстракта чаги / О.Ю. Кузнецова, М.А. Сысоева. – № 2010124076/15; заявл. 11.06.2010. опубл. 20.12.2011. Бюл. 35. – 4 с.
17. Пат. 2463064 РФ. Способ получения экстракта чаги / О.Ю. Кузнецова, М.А. Сысоева. – № 2011130148/15; заявл. 11.07.2011. опубл. 10.10.2011. Бюл. 28. – 6 с.
18. Рыжова Г.Л., Кравцова С.С., Матасова С.А., Грибель Н.В., Пашинский В.Г., Дычко К.А. Химические и фармакологические свойства сухого экстракта чаги // Хим.-фарм. журн. – 1997. – № 10. – С. 44–47.
19. Сысоева Е.В. Свойства водных извлечений и меланинов чаги, полученных с применением СВЧ: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. – Казань, 2011. – 16 с.
20. Грачева Н.В., Голованчиков А.Б. Исследование возможности интенсификации экстракции чаги электрическим полем постоянного тока // Хим.-фарм. журн. – 2010. – Т. 44, № 11. – С. 22–24.
21. Кондратьева Т.С. Руководство к лабораторным занятиям по аптечной технологии лекарственных форм. – М.: Медицина, 1986. – 288 с.
22. Государственная фармакопея СССР. – М., 1987. – 389 с.
23. Муравьева Д.А. Фармакогнозия. – М.: Медицина, 1981. – 714 с.
24. Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C., Pogorel'tzev V.I., Ganeev T.S. The application of coulometry for total antioxidant capacity determination of human blood // Talanta. – 2006. – V. 68, No 3. – P. 800–805. – doi: 10.1016/j.talanta.2005.06.010.

25. *Абдуллин И.Ф., Турова Е.Н., Гайсина Г.Х., Будников Г.К.* Применение электрогенерированного брома для оценки интегральной антиоксидантной способности лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе // Журн. аналит. химии. – 2002. – Т. 57, № 6. – С. 666–670.
26. Пат. 2253114 РФ. Способ определения интегральной антиоксидантной емкости биологических жидкостей / В.И. Погорольцев, Г.К. Зиятдинова, Г.К. Будников. – № 2002134634/15; заявл. 23.12.2002. опублик. 27.05.2005. Бюл. 15. – 5 с.
27. *Козицына Л.А., Куплетская Н.Б.* Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. – М.: Высш. шк., 1971. – 264 с.
28. *Шиврина А.Н.* Химическая и спектрофотометрическая характеристика водорастворимых гуминоподобных соединений, образуемых грибом *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. // Почвоведение. – 1962. – № 11. – С. 51–60.
29. *Кузнецова О.Ю.* Физико-химические характеристики и биологическая активность водных извлечений и полифенолоксикарбонового комплекса чаги: Дис... канд. хим. наук – Казань, 2004. – 158 с.

Поступила в редакцию
09.12.15

Кузнецова Ольга Юрьевна, кандидат химических наук, доцент кафедры пищевой биотехнологии

Казанский национальный исследовательский технологический университет
ул. К. Маркса, д. 68, г. Казань, 420015, Россия
E-mail: kuznetsovaolga@mail.ru

Абдуллин Ильдар Шаукатович, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой плазмохимических и нанотехнологий высокомолекулярных материалов

Казанский национальный исследовательский технологический университет
ул. К. Маркса, д. 68, г. Казань, 420015, Россия
E-mail: abdyllin_@kstu.ru

Шаехов Марс Фаритович, доктор технических наук, профессор кафедры плазмохимических и нанотехнологий высокомолекулярных материалов

Казанский национальный исследовательский технологический университет
ул. К. Маркса, д. 68, г. Казань, 420015, Россия
E-mail: shaechov@kstu.ru

Зиятдинова Гузель Камилевна, кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: ziyatdinovag@mail.ru

Будников Герман Константинович, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии

Казанский (Приволжский) федеральный университет
ул. Кремлевская, д. 18, г. Казань, 420008, Россия
E-mail: Herman.Budnikov@kpfu.ru

**Investigation of *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. Extracts and Melanins
after RF-plasma Treatment of Raw Material**

O.Yu. Kuznetsova^{a*}, *I.Sh. Abdullin*^{a**}, *M.F. Shaekhov*^{a***},
G.K. Ziyatdinova^{b****}, *H.C. Budnikov*^{b****}

^aKazan National Research Technological University, Kazan, 420015 Russia

^bKazan Federal University, Kazan, 420008 Russia

E-mail: **kuznetsovaolga@mail.ru*, ***abdyllin_@ksty.ru*, ****shaekhov@kstu.ru*,
*****ziyatdinovag@mail.ru*, *****Herman.Budnikov@kpfu.ru*

Received December 9, 2015

Abstract

High-frequency capacitive discharge (RF plasma) at low pressure was used as preliminary stage for the intensification of extraction from natural medicinal raw material. RF-plasma treatment was carried out in two modes differed by the nature of plasma-forming gas.

Chaga (*Inonotus obliquus* (Pers.) Pil.) known as the birch mushroom was selected as a perspective source of raw material. Extraction was carried out in two ways – remaceration and maceration. The analysis of chaga extracts and melanins was performed using traditional techniques including determination of physical and chemical, antioxidant and spectral characteristics.

The obtained extracts and melanins were compared to the control samples and literature data. RF-plasma treatment of medicinal raw material increased the yield of extractive substances, in particular of the main active component of chaga – melanin. The antioxidant activity of chaga extracts grew, while for melanins it remained at the level similar to that of control samples.

The IR spectral characteristics of the studied chaga melanins are similar and agree well with the literature data. Insignificant deviations in the position and intensity of absorption strips were observed for the samples after RF treatment. IR spectra of the studied chaga melanins are similar to those for mushroom melanins, thereby confirming the similarity in their nature.

RF-plasma treatment of chaga medicinal raw materials allows to modify them partially. The structural and mechanical properties of melanins modified by RF plasma remain the same.

Keywords: RF-plasma treatment, chaga, melanin, extraction, antioxidant activity

Acknowledgments. We are grateful to A.A. Chizhevskii (PhD in Chemistry, Senior Research Fellow, Department of Plasma Technology and Nanotechnology of High Molecular Weight Materials, Kazan National Research Technological University) for registration of IR spectra.

Figure captions

Fig. 1. IR spectra of chaga melanins obtained by: 1 – maceration (Fungi B12), 2 – remaceration (Fungi B1).

Fig. 2. IR spectra of chaga melanins obtained by maceration (Fungi B12): 1 – control; 1a – regime 1 (air); 1b – regime 2 (argon).

Fig. 3. IR spectra of chaga melanins obtained by remaceration (Fungi B1): 2 – control; 2a – regime 1 (air); 2b – regime 2 (argon).

References

1. Korsun V.F., Krasnopol'skaya L.M., Korsun E.V., Avkhukova M.A. Antitumor Properties of Mushrooms. Moscow, Prakt. Med., 2012. 210 p. (In Russian)

2. Chaga and Its Therapeutic Use in Cancer Stage IV. Bulatov P.K., Dolin V.I, Savel'ev P.S., et al. (Eds.). Leningrad, Medgiz, 1959, 334 p. (In Russian)
3. Shashkina M.Ya., Shashkin P.N., Sergeev A.V. Chemical and medicobiological properties of chaga (review). *Pharm. Chem. J.*, 2006, vol. 40, no. 10, pp. 560–568.
4. Shashkina M.Ya., Shashkin P.N., Sergeev A.V. Chaga, Chagovit, Chagalyuks in Clinical and Preventive Practice. Moscow, Edas, 2009. 66 p. (In Russian)
5. Babitskaya V.G., Shcherba V.V., Ikonnikova N.V. Melanin complex of the fungus *Inonotus obliquus*. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2000, vol. 36, no. 4, pp. 377–381.
6. Babitskaya V.G., Shcherba V.V., Ikonnikova N.V., Bis'ko N.A., Mitropol'skaya N.Yu., Bilai V.T. Antioxidant and gene-protecting effects of the medicinal basidiomycetes *Inonotus obliquus* and *Phellinus robustus*. *Usp. Med. Mikol.*, 2005, vol. 5, pp. 174–175. (In Russian)
7. Butler, M.J., Day A.W. Fungal melanins: A review. *Can. J. Microbiol.*, 1998, vol. 44, no. 12, pp. 1115–1136. doi: 10.1139/w98-119.
8. Ham S.S., Oh S.S., Kim Y.K., Shin K.W., Chang H.Y., Chung G.H. Antioxidant and genotoxic inhibition activity of ethanol extract from the *Inonotus obliquus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 2003, vol. 32, no. 7, pp. 1071–1075.
9. Ju H.K., Chung H.W., Hong S.-S., Park J.H., Lee J., Kwon S.W. Effect of steam treatment on soluble phenolic content and antioxidant activity of the Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*). *Food Chem.*, 2010, vol. 119, no. 2, pp. 619–625.
10. Nakajima Y., Nishida H., Matsugo S., Konishi T. Cancer cell cytotoxicity of extracts and small phenolic compounds from Chaga [*Inonotus obliquus* (persoon) Pilat]. *J. Med. Food*, 2009, vol. 12, no. 3, pp. 501–507. doi: 10.1089/jmf.2008.1149.
11. Hu H., Zhang Z., Lei Z., Yang Y., Sugiura N. Comparative study of antioxidant activity and anti-proliferative effect of hot water and ethanol extracts from the mushroom *Inonotus obliquus*. *J. Biosci. Bioeng.*, 2009, vol. 107, no. 1, pp. 42–48. doi: 10.1016/j.jbiosc.2008.09.004.
12. Won D.P., Lee J.S., Kwon D.S., Lee K.E., Shin W.C., Hong E.K. Immunostimulating activity by polysaccharides isolated from fruiting body of *Inonotus obliquus*. *Mol. Cells*, 2011, vol. 31, no. 2, pp. 165–173. doi: 10.1007/s10059-011-0022-x.
13. Kim Y.-R. Immunomodulatory activity of the water extract from medicinal mushroom *Inonotus obliquus*. *Mycobiology*, 2005, vol. 33, no. 3, pp. 158–162. doi: 10.4489/MYCO.2005.33.3.158.
14. Kuznetsova O.Yu., Sysoeva M.A. Method for producing chromogenic shelf fungus complex. Patent RF no. 2450817, 2011. (In Russian)
15. Sysoeva M.A., Khabibrakhmanova V.R., Gamayurova V.S., Kuznetsova O.Yu. Way of obtaining of shelf fungus water extracts. Patent RF no. 2343930, 2007. (In Russian)
16. Sysoeva M.A., Kuznetsova O.Yu. Method for preparing shelf fungus extract. Patent RF no. 2448721, 2011. (In Russian)
17. Kuznetsova O.Yu., Sysoeva M.A. Method for preparing shelf fungus extract. Patent RF no. 2463064, 2012. (In Russian)
18. Ryzhova G.L., Kravtsova S.S., Matasova S.A., Gribel' N.V., Pashinskii V.G., Dychko K.A. Chemical and pharmacological properties of dry extract from black birch fungus. *Pharm. Chem. J.*, 1997, vol. 31, no. 10, pp. 551–544.
19. Sysoeva E.V. The properties of water extracts and melanins of chaga obtained using SHF. *Extended Abstract of Cand. Chem. Sci. Diss. Kazan*, 2011. 16 p. (In Russian)
20. Gracheva N.V., Golovanchikov A.B. Intensification of the extraction of biologically active substances from chaga by DC electric field. *Khim. Farm. Zh.*, 2010, vol. 44, no. 11, pp. 22–24. (In Russian)
21. Kondratieva T.S. Laboratory Guide on Pharmaceutical Technology of Dosage Forms. Moscow, Meditsina, 1986. 288 p. (In Russian)
22. State Pharmacopoeia of the USSR. Moscow, 1987. 389 p. (In Russian)
23. Murav'eva D.A. Pharmacognosy. Moscow, Meditsina, 1981. 714 p. (In Russian)
24. Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C., Pogorel'tzev V.I., Ganeev T.S. The application of coulometry for total antioxidant capacity determination of human blood. *Talanta*, 2006, vol.68, no. 3, pp. 800–805. doi: 10.1016/j.talanta.2005.06.010.

25. Abdullin I.F., Turova E.N., Gaisina G.Kh, Budnikov G.K. Use of electrogenerated bromine for estimating the total antioxidant capacity of plant raw materials and plant-based medicinal preparations. *J. Anal. Chem.*, 2002, vol. 57, no. 6, pp. 557–560. (In Russian)
26. Pogorel'tsev V.I., Ziyatdinova G.K., Budnikov G.K. Method for determining integral antioxidant capacity of biological fluid. Patent RF no. 2253114, 2005. (In Russian)
27. Kozitsyna L.A., Kupletskaya N.B. Applications of UV, IR, and NMR Spectroscopy in Organic Chemistry. Moscow: Vysshaya Shkola, 1971, p. 264. (In Russian)
28. Shivrina A.N. Chemical and spectrophotometric characteristics of water-soluble humin-like compounds formed by the fungus *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. *Pochvovedenie*, 1962, no. 11, pp. 51–60. (In Russian)
29. Kuznetsova O.Yu. Physical and chemical properties and biological activity of the water extracts and polyphenol hydrocarboxylic complex of chaga. *Cand. Chem. Sci. Diss.* Kazan, 2004, 158 p. (In Russian)

Для цитирования: Кузнецова О.Ю., Абдуллин И.Ш., Шаехов М.Ф., Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Исследование экстрактов и меланинов гриба *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil., полученных после обработки сырья ВЧЕ-плазмой // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2016. – Т. 158, кн. 1. – С. 23–33.

For citation: Kuznetsova O.Yu., Abdullin I.Sh., Shaekhov M.F., Ziyatdinova G.K., Budnikov H.S. Investigation of *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. extracts and melanins after RF-plasma treatment of raw material. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki*, 2016, vol. 158, no. 1, pp. 23–33. (In Russian)