

УДК 615.322

doi: 10.26907/2542-064X.2019.2.211-221

ЭКСТРАКТЫ И МЕЛАНИНЫ ЧАГИ, ПОЛУЧЕННЫЕ ПОСЛЕ ПЛАЗМЕННОЙ ОБРАБОТКИ СЫРЬЯ

О.Ю. Кузнецова¹, 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

Исследованы экстракты и меланины чаги (*Inonotus obliquus* (Pers.) Pil.), полученные из сырья, предварительно обработанного высокочастотной емкостной плазмой (ВЧЕ-плазмой) пониженного давления в различных технологических режимах. Показаны преимущества ВЧЕ-плазменной обработки сырья в трех плазмообразующих средах (аргоне, воздухе и азоте). Во всех случаях наблюдается модификация поверхности природных частиц, которая в дальнейшем оказывает влияние на процесс экстракции. Оптимизация параметров процесса экстрагирования показала, что наилучшие результаты (увеличение выхода экстрактивных веществ и повышение их антиоксидантной емкости) достигаются в режиме с плазмообразующей средой «воздух». Оценена топология поверхности исследуемых меланинов методом атомно-силовой микроскопии. Показано отличие структурных особенностей меланинов по степени шероховатости, высоте и диаметру отдельных частиц в зависимости от режимов ВЧЕ-плазменной обработки сырья, что позволяет расширить представление о грибных меланинах. Использование предварительной ВЧЕ-плазменной обработки сырья можно рекомендовать для получения экстрактов гриба *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. при производстве лекарственных средств на их основе.

Ключевые слова: гриб *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil., чага, ВЧЕ-плазменная обработка, экстракт, меланин, экстрагирование, антиоксидантная емкость, атомно-силовая микроскопия

Введение

Использование биологически активных веществ, получаемых путем экстрагирования природного лекарственного сырья, является актуальным направлением разработок в современной фармацевтической промышленности. Натуральные природные ингредиенты востребованы на фармацевтическом рынке. При их получении возникает необходимость правильного подбора способа экстракции в зависимости от типа используемого природного сырья и особенностей его строения (листья, цветы, корни и т. д.), выбора подходящего экстрагента в зависимости от природы извлекаемых веществ (жиро- или водорастворимых и т. п.). Дополнительная предобработка сырья, а также параметры проведения процесса экстракции оказывают влияние как на количественный, так и на качественный состав извлекаемых из сырья биологически активных веществ [1].

Среди большого разнообразия природного лекарственного сырья можно выделить чагу (березовый гриб *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil.) [2]. В настоящее время из этого сырья производят галеновые препараты «Бефунгин» и «Настойка чаги». Кроме того, экстракты и вытяжки из этого гриба являются одними из компонентов различных биологически активных добавок. Препараты на основе чаги используются при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта [3] и в онкологической практике [4–6]. Чага и ее экстракты обладают биологической активностью, проявляя антиоксидантные, генопротекторные, иммуномодулирующие, противовирусные, антитоксические и радиопротекторные свойства [7, 8]. Показана низкая клеточная токсичность водных, водно-спиртовых и щелочных экстрактов чаги и их эффективность против цитодеструктивного действия вируса простого герпеса в отношении культуры клеток Vero [9].

Основным действующим веществом препаратов из чаги является полифенольный комплекс или меланины. Меланины чаги – это пигменты темно-коричневого цвета, находящиеся в клетках гриба в тесной связи с белками и полисахаридами. Биологически активными компонентами чаги, помимо меланинов, являются углеводы и фенольные соединения, обладающие противовоспалительным действием [1]. В связи с этим в настоящей работе анализ экстрактивных веществ исследуемых извлечений ведется именно по этим соединениям.

Предварительная модификация лекарственного природного сырья различными физическими, химическими, биологическими и другими методами позволяет существенно повлиять на качество экстрагирования. Так, описан способ интенсификации извлечения активных компонентов из чаги с помощью постоянно-токового электрического поля [10]. Воздействие на исходное сырье γ -излучения обеспечивает повышение степени извлечения фенольных компонентов, что, в свою очередь, приводит к усилению антиоксидантных свойств получаемых экстрактов [11]. Для извлечения полисахаридов успешно применена ультразвуковая/микроволновая обработка сырья [12]. Одним из новых способов предварительной обработки лекарственного природного сырья является современный электрофизический метод – обработка высокочастотным емкостным (ВЧЕ) плазменным разрядом пониженного давления. Эффективность применения такой обработки сырья чаги рассмотрена в работах [13, 14].

Цель настоящей работы состоит в оценке физико-химических и антиоксидантных свойств экстрактов и меланинов чаги, полученных из сырья, обработанного ВЧЕ-плазмой. Особое внимание уделено топологии поверхности получаемых меланинов чаги.

1. Экспериментальная часть

В работе использовали коммерчески доступное лекарственное сырье – березовый гриб чага (*Inonotus obliquus* (Pers.) Pil.) (Производитель ООО «Красногорсклексредства», Россия, Московская область, Красногорский район, серия 140815 08/2015), которое предварительно упаковывалось в хлопчатобумажные пакеты. Полученные заготовки помещали в камеру экспериментальной ВЧЕ-установки (ВЧПУ-МЕХ, Россия) и обрабатывали плазмой в предварительно рассчитанных технологических режимах [14] при давлении 30.0 Па, силе тока на аноде 0.7 А, расходе газа 0.04 г/с варьируя плазмообразующий газ (аргон,

воздух или азот), мощность ВЧЕ-разряда (от 5.0 до 7.0 кВ) и длительность обработки (от 30 до 60 мин).

На следующем этапе из обработанного таким образом сырья получали экстракты методом мацерации согласно [15]. Для характеристики полученных экстрактов и меланинов чаги использовали следующие показатели: сухой остаток, выход меланинов, содержание углеводов и фенольных соединений, интегральную антиоксидантную емкость (АОЕ). Определение сухого остатка проводили по [16]. Меланины из экстрактов чаги выделяли осаждением соляной кислотой согласно общепринятой методике [16, 17]. Содержание углеводов устанавливали колориметрически фенолсернокислотным методом [18], а фенольных соединений – спектрофотометрически по реакции с 4-аминоантипирином [19]. Оценку АОЕ экстрактов и меланинов чаги проводили методом кулонометрического титрования электрогенерированным бромом [20].

Характеристики поверхности частиц меланинов чаги получали с помощью атомно-силового микроскопа MultiModeV (Veeco, США) в полуконтактном режиме с использованием кремниевого кантеливера RTESP (Veeco, США) с коэффициентом упругости 40 Н/м и радиусом кривизны зонда 10 ± 2 нм [21].

Статистическую обработку результатов исследования проводили при помощи программного обеспечения Statistica 6.0, включающего в себя математические методы планирования и анализа экспериментов.

3. Обсуждение результатов

Как показано ранее [13, 14], обработка ВЧЕ-плазмой оказывает влияние на интенсификацию процесса извлечения экстрактивных веществ. При этом наблюдается увеличение доли меланинов в них и, соответственно, увеличение АОЕ экстрактов гриба чаги. АОЕ меланинов, выделенных из этих экстрактов, меняется незначительно. Анализ влияния параметров ВЧЕ-обработки сырья чаги с применением математических методов планирования эксперимента позволил провести оптимизацию соответствующих технологических параметров. В качестве плазмообразующих сред были выбраны аргон, воздух или азот, а критериями оценки эффективности экстракционного процесса являлись физико-химические и антиоксидантные характеристики экстрактов и меланинов чаги. Установленные оптимальные режимы ВЧЕ-плазменной обработки сырья приведены в табл. 1.

Табл. 1

Оптимальные технологические режимы ВЧЕ-плазменной обработки сырья чаги

| Образец | Плазмообразующий газ (среда) | Мощность, кВ | t , мин | Давление, Па | Массовый расход плазмообразующего газа, г/с | Сила тока, А |
|----------|------------------------------|--------------|-----------|--------------|---|--------------|
| Контроль | без обработки плазмой | | | | | |
| A3 | Аргон | 5.0 | 60 | 30 | 0.04 | 0.7 |
| B6 | Воздух | 5.0 | 45 | 30 | 0.04 | 0.7 |
| N9 | Азот | 5.0 | 30 | 30 | 0.04 | 0.7 |

Табл. 2

Физико-химические и антиоксидантные характеристики экстрактов и меланинов чаги, полученные в оптимальных режимах ВЧЕ-обработки

| Образец | Сухой остаток, г/100 мл | Выход меланина, % * | Содержание углеводов, мг/мл | Содержание фенольных соединений, мкг/мл | АОЕ экстракта, Кл/мл | АОЕ меланина, кКл/100 г |
|----------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|---|----------------------------|-----------------------------|
| Контроль | 1.91 ± 0.02 | 8.04 ± 0.03 | 2.66 ± 0.03 | 0.19 ± 0.03 | 3.5 ± 0.1 | 8.8 ± 0.3 |
| A3 | 2.44 ± 0.01 ^{а,б,в} | 10.14 ± 0.02 ^{а,б,в} | 3.40 ± 0.03 ^{а,б,в} | 0.44 ± 0.01 ^{а,б,в} | 4.8 ± 0.2 ^{а,в,д} | 18.9 ± 0.4 ^{а,б} |
| B6 | 2.52 ± 0.02 ^{а,б,г} | 14.53 ± 0.01 ^{а,б,г} | 4.78 ± 0.03 ^{а,б,г} | 0.63 ± 0.03 ^{а,б,г} | 5.4 ± 0.2 ^{а,д} | 21.8 ± 0.6 ^{а,б,г} |
| N9 | 2.24 ± 0.03 ^{а,в,г} | 10.54 ± 0.02 ^{а,в,г} | 3.91 ± 0.03 ^{а,в,г} | 0.47 ± 0.02 ^{а,в,г} | 5.3 ± 0.1 ^{а,в} | 18.8 ± 0.6 ^{а,г} |

Примечание: * по отношению к сырью

^а достоверно отличается от контроля ($p < 0.0001$);

^б результаты для образцов A3 и B6 достоверно отличаются от ($p < 0.01$);

^в результаты для образцов A3 и N9 достоверно отличаются от ($p < 0.01$);

^г результаты для образцов B6 и N9 достоверно отличаются от ($p < 0.01$);

^д результаты для образцов A3 и B6 достоверно отличаются от ($p < 0.05$).

Во всех случаях независимо от природы выбранной плазмообразующей среды оптимальные результаты были достигнуты при невысокой мощности 5.0 кВ, длительность же обработки сырья плазмой пропорционально уменьшалась в ряду аргон – воздух – азот.

Результаты определения физико-химических и антиоксидантных параметров экстрактов и меланинов чаги, полученных в оптимальных условиях, представлены в табл. 2.

Обобщение теоретических и экспериментальных данных показало, что ВЧЕ-плазменная обработка сырья чаги приводит к более глубокому извлечению экстрактивных веществ в процессе экстрагирования. Это выражается в увеличении сухого остатка в среднем на 28–32% и выхода меланина на 26–81% по отношению к контролю. Кроме того, наблюдается рост содержания углеводов на 28–80% и фенольных веществ в 2–3 раза и статистически достоверное увеличение интегральной АОЕ экстрактов и меланинов чаги по сравнению с контрольным образцом. Максимальное увеличение всех показателей наблюдается при использовании плазмообразующей среды «воздух».

Оценка топологии поверхности выбранных меланинов проводилась с помощью метода атомно-силовой микроскопии (АСМ), активно применяемого в анализе различных наноразмерных и наноструктурированных биологических объектов (белков, нуклеиновых кислот, бактерий, клеток крови и т. п.), в том числе меланинов различного происхождения [21].

Характер микрорельефа поверхности твердых частиц полученных меланинов чаги показан на рис. 1 и 2, а характеристики исследуемых частиц приведены в табл. 3. Как видно из табл. 3, диаметр частиц снижается в ряду контроль – воздух – аргон – азот в среднем в 1.5–2 раза. Высота частиц меланинов, выделенных из экстрактов чаги с предварительной обработкой ВЧЕ-плазмой, ниже контроля в 6–11 раз. Оценка степени шероховатости поверхности исследуемых модифицированных ВЧЕ-плазмой образцов (A3, B6 и N9) показывает резкое в 10–20 раз снижение дисперсности частиц меланинов по сравнению с контролем. При этом

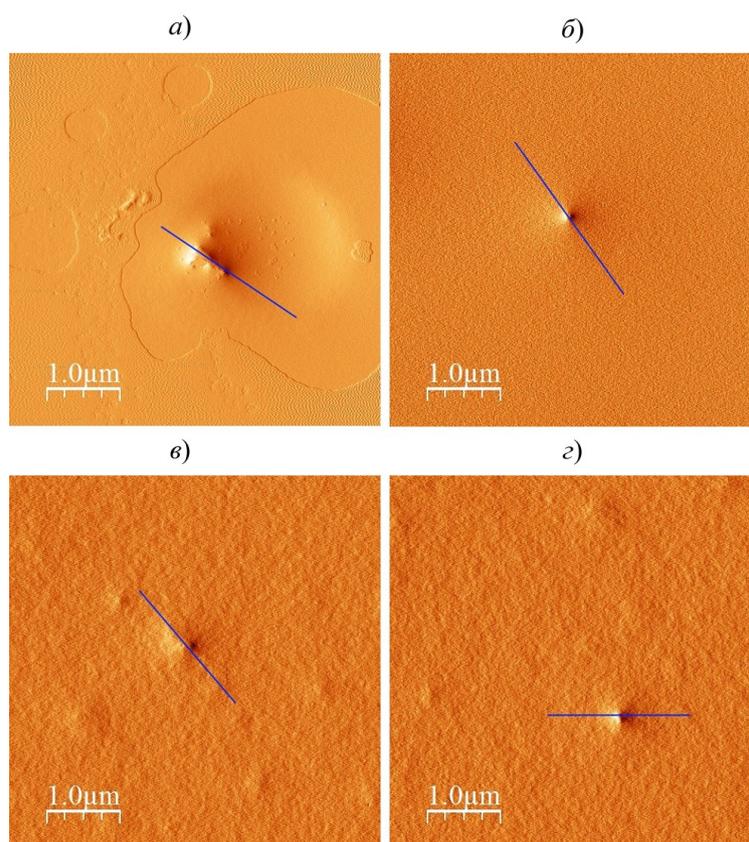


Рис. 1. АСМ-изображения топологии поверхности меланинов: а) меланин контроль; б) меланин А3; в) меланин В6; г) меланин N9

Табл. 3

Характеристики частиц меланинов чаги по данным АСМ

| Образец меланина чаги | Средняя шероховатость, нм* | Среднеквадратичная шероховатость, нм* | Высота частицы, нм* | Диаметр на полувысоте, нм* |
|-----------------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------|----------------------------|
| Контроль | 10.80 ± 0.02 | 18.50 ± 0.03 | 146.8 ± 0.2 | 629 ± 2 |
| А3 | 1.27 ± 0.01 | 1.95 ± 0.02 | 21.89 ± 0.06 | 399 ± 1 |
| В6 | 0.59 ± 0.01 | 1.02 ± 0.01 | 12.10 ± 0.05 | 449 ± 1 |
| N9 | 0.48 ± 0.01 | 0.81 ± 0.01 | 13.07 ± 0.05 | 290 ± 1 |

Примечание: * среднее значение для 7–9 частиц исследуемого меланина.

как средняя, так и среднеквадратичная шероховатость уменьшается в ряду контроль – аргон – воздух – азот. Наблюдаемое уменьшение размеров частиц меланинов, изменение их формы и приобретение более гладкой поверхности косвенно указывают на происходящие в них изменения структурных компонентов и их перегруппировки между собой. Подобные превращения могут оказывать влияние на доступность активных химических фрагментов и парамагнитных центров в структуре меланинов, влияющих на их биологическую активность.

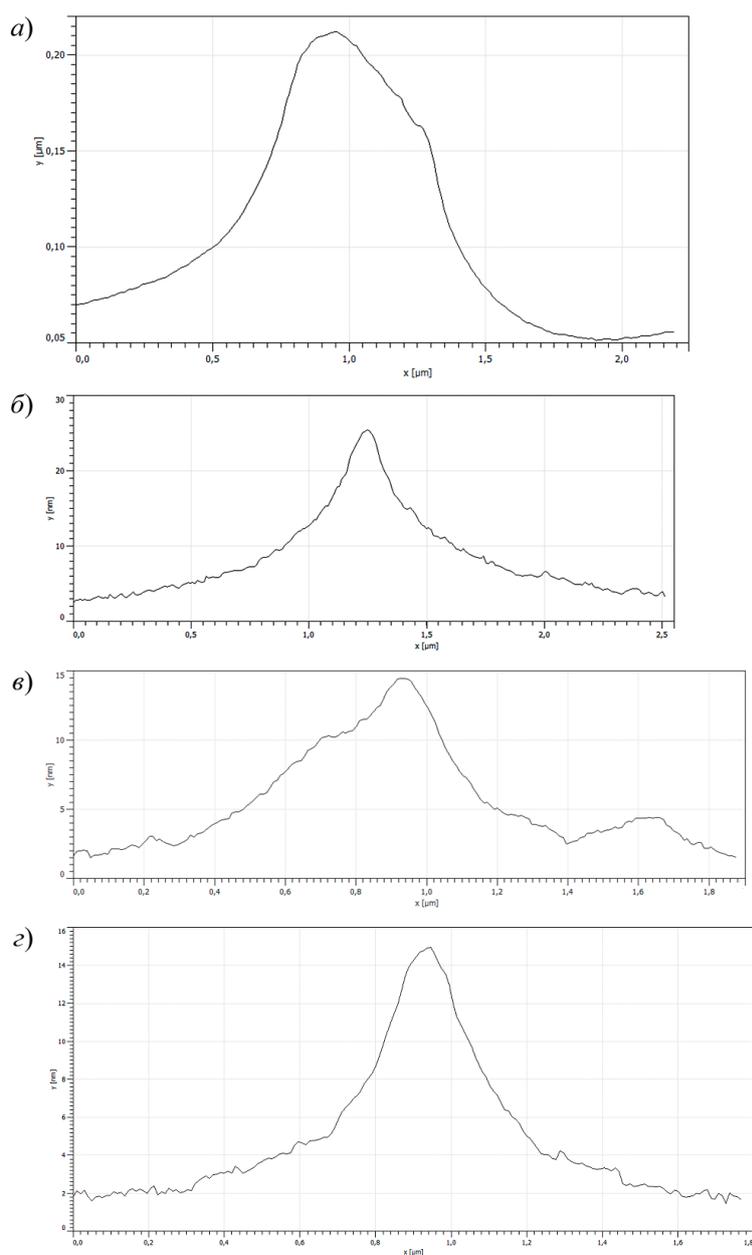


Рис. 2. Графики распределения высот пигментных частиц: а) меланин контроль; б) меланин АЗ; в) меланин В6; г) меланин N9

Таким образом, проведенные исследования экстрактов и меланинов чаги показывают, что предварительная обработка сырья чаги ВЧЕ-плазмой пониженного давления позволяет интенсифицировать процесс извлечения биологически активных соединений из чаги, получать более мелкие по размеру и менее шероховатые меланины чаги, а также экстракты чаги, обладающие высокой антиоксидантной емкостью. Варьирование плазмообразующего газа показало, что наиболее эффективным является режим обработки в среде «воздух».

Благодарности. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Наноматериалы и нанотехнологии» ФГБОУ ВО «КНИТУ». Авторы благодарят доктора технических наук, профессора И.Ш. Абдуллина за консультации в области плазменных процессов и сотрудников лаборатории «Спектроскопии, микроскопии и термического анализа» кафедры физики ФГБОУ ВО «КНИТУ» Е.С. Нефедьева и Р.А. Сафиуллина за регистрацию АСМ-изображений.

Литература

1. Кузнецова О.Ю. Обзор современных препаратов с биологически активными композициями березового гриба чага // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – Т. 14, № 1. – С. 128–141.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. – М., 2018. – Т. IV. – С. 5188–7019.
3. Федосеева Г.М. О применении чаги в медицинской практике // Сиб. мед. журн. – 2004. – Т. 49, № 8. – С. 66–69.
4. Arata S., Watanabe J., Maeda M., Yamamoto M., Matsushashi H., Mochizuki M., Kagami N., Honda K., Inagaki M. Continuous intake of the Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) aqueous extract suppresses cancer progression and maintains body temperature in mice // Heliyon. – 2016. – V. 2, No 5. – Art. e00111, P. 1–16. – doi: 10.1016/j.heliyon.2016.e00111.
5. Staniszewska J., Szymański M., Ignatowicz E. Antitumor and immunomodulatory activity of *Inonotus obliquus* // Herba Pol. – 2017. – V. 63, No 2. – P. 48–58. – doi: 10.1515/hepo-2017-0013.
6. Géry A., Dubreule C., André V., Rioult J.-P., Bouchart V., Heutte N., de Pécoulas P.E., Krivomaz T., Garon D. Chaga (*Inonotus obliquus*), a future potential medicinal fungus in oncology? A chemical study and a comparison of the cytotoxicity against human lung adenocarcinoma cells (A549) and human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) // Integr. Cancer Ther. – 2018. – V. 17, No 3. – P. 832–843. – doi: 10.1177/1534735418757912.
7. Patel S. Chaga (*Inonotus Obliquus*) mushroom: Nutraceutical assesement based on latest findings // Emerging Bioresources with Nutraceutical and Pharmaceutical Prospects. Applied Environmental Science and Engineering for a Sustainable Future. – Cham, Springer, 2015. – P. 115–126. – doi: 10.1007/978-3-319-12847-4_11.
8. Balandaykin M.E., Zmitrovich I.V. Review on chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher basidiomycetes): Realm of medicinal applications and approaches on estimating its resource potential // Int. J. Med. Mushrooms. – 2015. – V. 17, No 2. – P. 95–104. – doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.v17.i2.10.
9. Полковникова М.В., Носик Н.Н., Гараев Т.М., Кондрашина Н.Г., Финогенова М.П., Шибнев В.А. Изучение противогерпетических свойств экстрактов из березового гриба *Inonotus Obliquus* // Вопр. вирусологии. – 2014. – Т. 59, № 2. – С. 45–48.
10. 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.
11. Kim J.H., Sung N.Y., Kwon S.K., Srinivasan P., Song B.S., Choi J.I., Yoon Y., Kim J.K., Byun M.W., Kim M.R., Lee J.W. γ -Irradiation improves the color and antioxidant properties of Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extract // J. Med. Food. – 2009. – V. 12, No 6. – P.1343–1347. – doi: 10.1089/jmf.2008.1281.
12. Chen Y., Gu X., Huang S.Q., Li J., Wang X., Tang J. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities // Int. J. Biol. Macromol. – 2010. – V. 46, No 4. – P. 429–435. – doi: 10.1016/j.ijbiomac.2010.02.003.

13. 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.
14. Кузнецова О.Ю., Абдуллин И.Ш., Шаехов М.Ф., Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Оптимизация предварительной обработки лекарственного сырья ВЧЕ-плазмой перед экстракцией // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2016. – Т. 158, кн. 2. – С. 197–206.
15. 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.
16. Кондратьева Т.С. Руководство к лабораторным занятиям по аптечной технологии лекарственных форм. – М.: Медицина, 1986. – 288 с.
17. Муравьева Д.А. Фармакогнозия. – М.: Медицина, 1981. – 714 с.
18. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // Anal. Chem. – 1956. – V. 28, No 3. – P. 350–356. – doi: 10.1021/ac60111a017.
19. Полудек-Фабини Р., Бейрих Т. Органический анализ. – Л.: Химия, 1981. – 624 с.
20. 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.
21. Кузнецова О.Ю. Изучение поверхности трансдермальных терапевтических систем с помощью атомно-силовой микроскопии // Биофарм. журн. – 2013. – Т. 5, № 2. – С. 13–21.

Поступила в редакцию
27.03.19

Кузнецова Ольга Юрьевна, кандидат химических наук, доцент кафедры технологии мясных и молочных продуктов

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

**Chaga Extracts and Melanins
After Plasma Treatment of Raw Material***O.Yu. Kuznetsova*^{a*}, *M.F. Shaehov*^{a**}, *G.K. Ziyatdinova*^{b***}, *H.C. Budnikov*^{b****}^a*Kazan National Research Technological University, Kazan, 420015 Russia*^b*Kazan Federal University, Kazan, 420008 Russia*E-mail: **kuznetsovaolga@mail.ru*, ***shaehov@kstu.ru*, ****ziyatdinovag@mail.ru*,
*****Herman.Budnikov@kpfu.ru*

Received March 27, 2019

Abstract

The extracts and melanins of chaga (*Inonotus obliquus* (Pers.) Pil.) obtained by raw material pre-treatment with high-frequency capacitive low-pressure plasma (RF-plasma) under different technological conditions were studied. The advantages of RF-plasma treatment of raw materials in three different plasma-forming media (argon, air, and nitrogen) were shown. In all cases, the modification of the natural particles surface affecting the extraction process was observed. Optimization of the extraction parameters demonstrated that best results (increase of the extractive compounds yield and higher antioxidant capacity) were achieved with the air-based plasma. The surface topology of the melanins under investigation was evaluated by atomic force microscopy (AFM). The difference of melanins structural features by roughness degree, height, and diameter of single particles in relation to the raw material RF-plasma treatment mode was shown that enabled a deeper insight into the nature of fungal melanins. Preliminary RF-plasma treatment of raw material can be recommended for *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. extraction while producing medications on their basis.

Keywords: *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. fungus, chaga, RF-plasma treatment, extract, melanin, extraction, antioxidant capacity, atomic force microscopy

Acknowledgments. The study was performed using the equipment of the “Nanomaterials and Nanotechnologies” Center of Shared Facilities of Kazan National Research Technological University. We thank I.Sh. Abdullin, Doctor of Technical Sciences and Professor, for his valuable advice concerning plasma processes, as well as E.S. Nefed’ev and R.A. Safiullin from the “Spectroscopy, Microscopy, and Thermal Analysis” Laboratory of Kazan National Research Technological University for kindly providing us with AFM images.

Figure Captions

Fig. 1. AFM images of melanins surface topology: *a*) melanin control; *b*) melanin A3; *c*) melanin B6; *d*) melanin N9.

Fig. 2. Plots of pigment particles height distribution: *a*) melanin control; *b*) melanin A3; *c*) melanin B6; *d*) melanin N9.

References

1. Kuznetsova O.Yu. Review of modern advanced medicinal products containing the biologically active components of chaga birch fungus. *Razrab. Regist. Lek. Sredstv*, 2016, vol. 14, no. 1, pp. 128–141. (In Russian)
2. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii* [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. Vol. IV. Moscow, 2018, pp. 5188–7019. (In Russian)

3. Fedoseeva G.M. On the use of chaga in medicinal practice. *Sib. Med. Zh.*, 2004, vol. 49, no. 8, pp. 66–69 (In Russian)
4. Arata S., Watanabe J., Maeda M., Yamamoto M., Matsushashi H., Mochizuki M., Kagami N., Honda K., Inagaki M. Continuous intake of the Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) aqueous extract suppresses cancer progression and maintains body temperature in mice. *Heliyon*, 2016, vol. 2, no. 5, art. e00111, pp. 1–16. doi: 10.1016/j.heliyon.2016.e00111.
5. Staniszevska J., Szymański M., Ignatowicz E. Antitumor and immunomodulatory activity of *Inonotus obliquus*. *Herba Pol.*, 2017, vol. 63, no. 2. pp. 48–58. doi: 10.1515/hepo-2017-0013.
6. Géry A., Dubreule C., André V., Rioult J.-P., Bouchart V., Heutte N., de Pécoulas P.E., Krivomaz T., Garon D. Chaga (*Inonotus obliquus*), a future potential medicinal fungus in oncology? A chemical study and a comparison of the cytotoxicity against human lung adenocarcinoma cells (A549) and human bronchial epithelial cells (BEAS-2B). *Integr. Cancer Ther.*, 2018, vol. 17, no. 3, pp. 832–843. doi: 10.1177/1534735418757912.
7. Patel S. Chaga (*Inonotus Obliquus*) mushroom: Nutraceutical assesement based on latest findings. In: *Emerging Bioresources with Nutraceutical and Pharmaceutical Prospects. Applied Environmental Science and Engineering for a Sustainable Future*. Cham, Springer, 2015, pp. 115–126. doi: 10.1007/978-3-319-12847-4_11.
8. Balandaykin M.E., Zmitrovich I.V. Review on chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher basidiomycetes): Realm of medicinal applications and approaches on estimating its resource potential. *Int. J. Med. Mushrooms*, 2015, vol. 17, no. 2. pp. 95–104. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.v17.i2.10.
9. Polkovnikova M.V., Nosik N.N., Garaev T.M., Kondrashina N.G., Phinogenova M.P., Shibnev V.A. A Study of the antiherpetic activity of the chaga fungus (*Inonotus obliquus*) extracts in the Vero cells infected with the herpes simplex virus. *Vopr. Virusol.*, 2014, vol. 59, no. 2. pp. 45–48. (In Russian)
10. Gracheva N.V., Golovanchikov A.B. Studies of the intensification of the extraction of biologically active substances from chaga using direct current electric fields. *Pharm. Chem. J.*, 2011, vol. 44, no. 11, pp. 608–610. doi: 10.1007/s11094-011-0528-8.
11. Kim J.H., Sung N.Y., Kwon S.K., Srinivasan P., Song B.S., Choi J.I., Yoon Y., Kim J.K., Byun M.W., Kim M.R., Lee J.W. γ -Irradiation improves the color and antioxidant properties of chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) extract. *J. Med. Food*, 2009, vol. 12, no. 6, pp. 1343–1347. doi: 10.1089/jmf.2008.1281.
12. Chen Y., Gu X., Huang S.Q., Li J., Wang X., Tang J. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2010, vol. 46, no. 4, pp. 429–435. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2010.02.003.
13. Kuznetsova O.Yu., Abdullin I.Sh., Shaekhov M.F., Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C. Investigation of *Inonotus obliquus* (Pers.) Pil. extracts and melanins after RF-plasma treatment of raw material. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2016, vol. 158, no. 1, pp. 23–33. (In Russian)
14. Kuznetsova O.Yu., Abdullin I.Sh., Shaekhov M.F., Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C. Optimizing pretreatment of medicinal raw materials by RFC plasma before extraction. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2016, vol. 158, no. 2, pp. 197–206. (In Russian)
15. Kuznetsova O.J., Sysoeva M.A. Method for producing chromogenic shelf fungus complex. Patent RF no. 2450817, 2011. (In Russian)
16. Kondratieva T.S. *Rukovodstvo k laboratornym zanyatiyam po aptechnoi tekhnologii lekarstvennykh form* [Laboratory Guide on Pharmaceutical Technology of Dosage Forms]. Moscow, Meditsina, 1986. 288 p. (In Russian)
17. Murav'eva D.A. *Farmakognoziya* [Pharmacognosy]. Moscow, Meditsina, 1981. 714 p. (In Russian)
18. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 1956, vol. 28, no. 3, pp. 350–356. doi: 10.1021/ac60111a017.
19. Pohloudek-Fabini R., Beyrich Th. *Organicheskii analiz* [Organic Analysis]. Leningrad, Khimiya, 1981. 624 p. (In Russian)

20. 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.
21. Kuznetsova O.Yu. Study of surface transdermal therapeutic systems using atomic force microscopy. *Biofarm. Zh.*, 2013, vol. 5, no. 2, pp. 13–21. (In Russian)

Для цитирования: Кузнецова О.Ю., Шаехов М.Ф., Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Экстракты и меланины чаги, полученные после плазменной обработки сырья // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2019. – Т. 161, кн. 2. – С. 211–221. – doi: 10.26907/2542-064X.2019.2.211-221.

For citation: Kuznetsova O.Yu., Shaehov M.F., Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C. Chaga extracts and melanins after plasma treatment of raw material. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2019, vol. 161, no. 2, pp. 211–221. doi: 10.26907/2542-064X.2019.2.211-221. (In Russian)