Литература

1. Алеутский Н.Н. Противоопухолевое средство кониум / Н.Н. Алеутский, Н.А. Наза-ренко, Э.В. Рехачева [и др.] Российское агентство по патентам и товарным знакам, № 94042544/14, опубликовано 20.09.1996.

2. Заболотный М.А. Модификация лечебных и оптических свойств кониума с помо-щью С60 / М.А. Заболотный, Н.В. Башмакова, Ю.М. Барабаш, [и др.] Тез. II Межд.научт конф. "Наноструктурные материалы - 201-: Беларусь - Россия - Украина"Киев, 19 - 22 ок-тября 2010, с.677.

3. Пясковская О.Н. Влияние аконитин-содержащего агента ВС1 на электрокинети-ческие характеристики опухолевых клеток / О.Н. Пясковская, Ю.В. Яниш, Д.Л. Колесник, Біофізичний Вісник, 2008 Вип. 21(2), стр. 35-41.

4. Соляник Г.І. Спосіб застосування аконітинвмісного агента як антиангіогенного протипухлинного засобу / Г.І. Соляник, О.Г. Федорчук, О.М. Пясковська, Пат. 48524 Україна, МПК А 6I К 33/76, А 6I Р 33/04. М и 2009 08934; заявл. 28.08.2009; опубл. 23.03.20I0, Бюл. М 6.

3. Galey F.D., Holstege D.M., Fisher E.G.,Toxicosis in dairy cattle to poison hemlock (Conium maculatum) in hay: isolation of Conium alkaloids in plants, hay, and urine, J. Vet. Diagn. Invest., I992, Vol.4, 60 - 64.

6. Kondoh M, Suzuki I, Nagashima F, Simizu S, Harada M, Fujii M, Osada H, Asakawa Y, Watanabe Y. Kaurene diterpene induces apoptosis in human leukemia cells partly through a caspase-8-dependentpathway. J Pharmacol Exp Ther 2004; 3II: II3-22.

7. Stephen T. Lee, Benedict T. Green, Kevin D. Welch, James A. Pfister and Kip E. Panter, Stereoselective Potencies and Relative Toxicities of Coniine Enantiomers, Chem. Res. Toxicol., 2008, 2I (I0), pp 206I-2064.

Надійшла до редакції 30.08.20ii

УДК 612.017.2; 621.317

М.А. Заболотний, О.І. Момот, М.П. Куліш, О.П. Дмитренко, Н.В. Башмакова, Г.І. Довбешко, О.П. Гнатюк, Г.І. Соляник. Л.М. Кіркілевська, П. Шарф, У Риттер

МОДИФІКАЦІЙНІ ВЛАСТИВОСТІ АЛКАЛОЇДІВ СОМИМ МАСИЬАТИМ Б6 ^ЕЬЕБА)

Ключові слова: водний розчин фулеренів, нанокомпозит, коніум, у- коніцеін, оптичне поглинання, квантово-хімічні розрахунки, ІЧ- спектри

В роботі досліджуються можливості біонанотехнологій з метою модифікування власти-востей ліків. Методами оптичного поглинання, інфрачервоного поглинання та квантово-хімічним методом теорії функціоналов густини досліджено взаємодію водних розчинів фуле-ренів з препаратом Сопіиш шасиМиш (Weieda). Показано можливість утворення комплексу між молекулою фулерену та одним з алкалоїдів препарату Сопіиш - у- коніцеіном за рахунок розри-ву в молекулі алкалоїду подвійного зв'язку.

М.А. Заболотный, А.И. Момот, Н.В Башмакова, О.П. Дмитренко, Н.П. Кулиш, Г.И. Довбешко, Г.И. Соляник, Л.Н. Киркилевская, Е.П. Гнатюк, П. Шарф, У Риттер

МОДИФИКАЦИЯ СВОЙСТВ АЛКАЛОИДОВ СОМИМ МАСИЬАТИМ Б6 ^ЕЬЕБА)

Ключевые слова: водный раствор фуллеренов, нанокомпозит, кониум, у-коницеин, оптическое поглощение, квантово-химические расчеты, ИК-спектры.

В работе исследуются возможности бионанотехнологий для модифицирования свойств лекарств. С помощью методов оптического поглощения, инфракрасного поглощения и квантово- химических расчетов при использования методов теории функционала плотности исследовано взаимодействие водорастворимых фуллеренов с препаратом Conium maculatum (Weieda). Доказана возможность образования комплекса с одним из алкалоидов препарата Conium - у- коницеином за счет разрыва двойной связи в молекуле алкалоида.

M.A. Zabolotny, A.I. Momot, N.V. Bashmakova, O.P. Dmytrenko, M.P. Kulish, G.I. Dovbeshko, G.I. Solyanyk, L.N. Kirkilevskaya, E.P. Gnatyuk, P. Scharf, U. Ritter

MODIFICATION OF PROPERTIES OF ALKALOIDS OF CONIUM MACULATUM D6 (WELEDA)

Key words: Fullerene water solution, nanocomposite, conium, y- coniceine, optical ab-sorption, quantum -chemical calculation, IR - spectra

In this work possibilities of bionanotecnology for the purpose of improvement of ofproperties of medicines are investigated. The interaction of a fullerene water solution with Conium maculatum (Weieda) drug was investigated by the UV - Vis absorption, IR - absorption and quantum -chemical calculation using the density functional theory. It was showed the possibility of formation of a complex between a fullerene molecule and one of the alkaloids of the drug conium y- coniceine through the breaking the double bond in alkaloid.

●

УДК 582.284.612.017.616-006.04.

- **А.Н. Макаренко, д.мед.н., проф. каф. микробиол. и общей иммунол.**
  М.П. Рудик, к.биол.н., асист. каф. микробиол. и общей иммунол.
  Р.С. Довгий, студ. 4 кур. каф. микробиол. и общей иммунол.

- ***УНЦ «Институт биологии» Национального университета им. Тараса Шевченка, г. Киев***

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ GANODERMA LUCIDUM И ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ОТЕЛЬНЫХ ЕГО ВЕЩЕСТВ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ^ ^ ^ П ^ А Ю Щ И Х В УСЛОВИЯХ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

Гриб Рейши (Ganoderma lucidum) - «гриб бессмертия». В Китае его причисляют к самым важным лекарственным растениям, которые возвращают молодость и продлевают жизнь. Согласно древним источникам этот гриб назывался средством, которое «дает вечную молодость», или «божественной травой» и использовался только императорами или зажиточными аристократами. Более 2000 лет назад в «Священной книге о чудодейственных лекарственных растениях» гриб Рейши был назван «лучшим среди 365 самых ценных лекарственных растений Востока», превосходящим по эффективности знаменитый женьшень. В традиционной китайской медицине гриб считается отличным средством от многих болезней, при этом достаточно недешёвым вследствие очень редкого распространения его в природе. За последние 20 лет учёным Японии удалось культивировать гриб Рейши на специальных плантациях, что сделало это растение доступным не только императорам [1].

1. Биохимический состав гриба Рейши. Главными элементами сухого гриба Рейши являются: стероидные

О А.Н. Макаренко, М.П. Рудик, Р.С. Довгий, 2011

соединения, сапонины, флавоноиды, аминокислоты, алкалоиды, полисахариды, водорастворимые белки, кумарины, макро- и микроэлементы: Ag, Ca, Be, K, N8, Mn, Ba. В грибе содержится 2,54% полисахаридов, 5% липидов, 17,11% белков и 62,63% клетчатки, есть 0,3% сапонинов, 1,15% стероидов (табл. 1).

Многие лекарственные свойства Рейши связаны с присутствием полисахаридов. В Японии доказана эффективность использования гриба Рейши в профилактике и лечении онкологических заболеваний. Доказан иммуномодулирующий эффект, обусловленный действием полисахаридов на костный мозг, что сопровождается увеличением РНК и ДНК на 50%, увеличением числа В-лимфоцитов и макрофагов [1].

Таблица 1

Биохимический состав Ganoderma lucidum

Полисахарид	Белки	Коплексы	Пищевые волокна	Тритерпены/ тритерпеноиды	Молекулы других веществ
Растворимые: р-глюкан, глюкуроно р-глюкан	LZ-S	Гликонротеин	Растворимые	Ганодермадоил	Алкалоиды
Нерастворимые: гетеро р-глюкан, ксиломанно р-глюкан, манно р-глюкан	LZP-1	GLPP	Нерастворимые	Ганодериновые кислоты: A, B, C1, C2, D, E, F, G, H, K, LM2, R, S, Mf, U, V, W, X, Y, Z	Стеролы: ергостерол
Ганодерины: A, B, C	LZP-2	Лектин		Ганолюцидиновые кислоты: A, D	Стероиды: ганодостерол
Моносахариды: глюкоза, галактоза, манноза, глюкуроновая кислота, ксилоза, фукоза, рамноза, арабиноза, галакуроновая кислота	LZP-3	Кумарин гликозид		Метил ганодерат A	Аденозин
	Аминокислоты	Протеинсвязанные полисахариды		Люцидиновые кислоты: A, B, N	Нуклеозиды
	Энзимы				Нуклеотиды
					РНК
					Жирные кислоты: олеиновые кислоты
					Циклооктасульфур
					Витамины
					Минералы
					Органический германий

При исследовании влияния Ganoderma lucidum на опухолевые клетки было показано ингибирование пролиферации и апоптоз клеток лейкоза, лимфомы и миеломы [31]. Ингибирование острого миелобластного лейкоза было связано с арестом клеточного цикла и апоптозом. G. lucidum угнетает разные сигнальные пути у разнообразных опухолевых клеток. Использовались также стандартизованные экстракты G. lucidum, которые содержали 0,15% ганодериновой кислоты C2. Однако непонятно, может ли такое количество ганодериновой кислоты влиять на кроветворные клетки. Состав и количество биологически активных тритерпенов зависит от места производства, условий выращивания, процедур добывания и штаммов G. lucidum.

Некоторые экстракты G. lucidum заметно ингибируют внутриклеточную сигнализацию и инвазивное поведение раковых клеток, в то время как остальные такого действия не оказывают. Такая сложность может принести существенные преимущества. Некоторые компоненты могут уменьшить цитотоксичность всего продукта (и наоборот). Кроме того, взаимодействие между разными биологически активными компонентами может обеспечивать их эффекты in vivo. Тритерпены в G. lucidum супрессируют рост и инвазивное поведение опухолевых клеток, тогда как полисахариды стимулируют иммунную систему в результате продукции цитокинов и активации противораковой деятельности иммунных клеток.

Стэнли и соавт. продемонстрировали, что G. lucidum индуцирует апоптоз, ингибирует клеточную пролиферацию и супрессирует миграцию клеток рака простаты. Но молекулярные механизмы не были полностью выяснены [15].

G. lucidum оказывает иммуномодулирующий эффект у пациентов с колоректальным раком. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы изучить преимущества и безопасность для больных раком. Кроме того, существуют ещё более весомые доказательства способности G. lucidum ингибировать распространение рака простаты. Исследована комбинация грибных экстрактов (Cordyceps sinensis, Grifola blazei, Gr. frondosa, Trametes versicolor, G. lucidum) с целью оптимизации разных режимов иммуностимуляторного действия. Эффективность была меньшей, чем ожидалось. Тем не менее, несмотря на это, были получены убедительные доказательства того, что сочетание дало аддитивные или синергические эффекты для здоровья. Кроме того, вытяжка из G. lucidum была исследована относительно борьбы с пролиферативной активностью с использованием человеческих клеточных линий рака. Результаты показали, что вытяжка G. lucidum улучшила активность против лейкемии, лимфомы и множественной миеломы и может быть дополнительной терапией для лечения гематологических злокачественных новообразований [14]. Получили подтверждение доказательства влия-

ния сухого мицелия G. I и ^ и ш на повышение врождённого иммунного ответа.

Итак, доклинические и клинические исследования необходимы для проверки этого натурального продукта в предотвращении и/или лечении рака [31].

Противораковые эффекты G. lucidum были связаны с тритерпенами, полисахаридами, (и)/или иммуномодулирующими белками, через ингибирование ДНК-полимеразы, посттрансляционной модификации онкобелка Кає, или стимуляции продукции цитокинов [31]. Активные компоненты гриба были выявлены в культуральной жидкости мицелия, среды и спор [12].

Тритерпеноиды и стеролы. Терпеноиды состоят из четырех групп: а) летучие моно- и сесквитерпены (эфирные масла) (С10 и С15); б) менее летучие дитерпены (С20), в) нелетучие тритерпеноиды и стерины (С30) и г) каротиноиды (С40). Большинство исследований посвящены менее летучим тритерпеноидам (тритерпенам) и стеролам, хотя есть некоторая путаница в названиях. Большинство видов исследованы по поводу тритерпеноидов и стероидов. Химическая структура тритерпенов базируется на ланостероле, важном интермедиате (рис. 1).

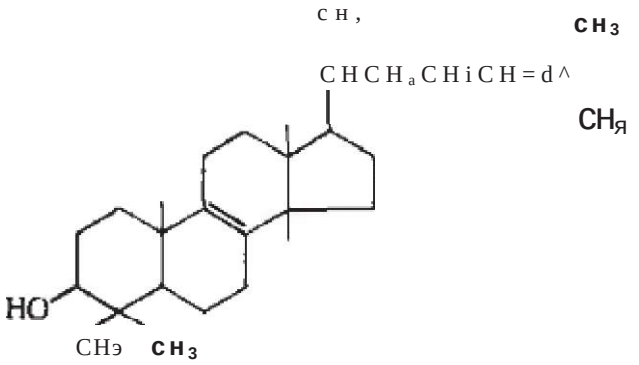

Рис. 1. Структурная формула ланостерола [Ленинджер, 1985]

Структурное разнообразие обусловлено стереохимическими перестройками этого соединения. Физико-химические свойства более чем 130 тритерпеноидов ланостеролового типа были описаны с тех пор, как были впервые открыты ганодериновые кислоты А и В [19].

Есть предположение, что тритерпены являются специфическими для G. lucidum. Но позже они были записаны в следующие виды: G. colossum, G. applanatum, не идентифицированный Ganoderma sp., G. tsugae, G. concinna, G. tropicum and G. pfeifferi. Это безусловно указывает на то, что они более тесно связаны, чем ранее рассматривалось. Выделение тритерпенов из базидиокарпов было очень хорошо задокументировано. Некоторые исследователи указали на их биологическую активность как противоопухолевых и антивирусных агентов. Споры также являются их источником. Есть указания на то, что споры имеют более высокую концентрацию ганодериновых спиртов и кислот, чем базидиокарпы. Есть данные о том, что культивированный мицелий содержит подобные вещества [37].

Тритерпены считаются потенциальными противораковыми агентами: они проявляют непосредственную цитотоксичность против опухолевых клеток, а не стимуляцию иммунной системы, как полисахариды. Базидиокарпы G. lucidum содержат уникальные соединения, которые, возможно, могут быть связаны с их активностью [25].

Также тритерпеноиды базидиокарпов G. lucidum и G. applanatum и малоновые полуэстеры из тех же видов рода Ganoderma ингибируют прогрессирование опухоли [10]. Хотя, некоторые эфиры продемонстрировали токсичность при высоких концентрациях [22].

Авторы исследовали цитотоксическую активность ланостеролов из G. tsugae и нашли активность против трех линий рака [23]. Ланостерол и стерол из G. tsugae вызывал гибель клеток путем апоптоза [27]. Также наблюдали апоптоз клеток человеческой промиелоцитарной лейкемии HL-60, экспонированных с тремя ланостеролами, выделенными из G. concinna. В отличие от этого, три тритерпеноида из G. concinna ингибировали телячью и крысиную полимеразы, которые принимают участие в репарации, рекомбинации и репликации ДНК. Ланостероловые тритерпены, выделенные из G. amboinense, ингибировали рост многочисленных клеточных линий рака, и деятельность топоизомераз I и IIa. Одним из самых мощных тритерпенов была ганодериновая кислота X (GAX). Способность GAX блокировать топоизомеразы и возвращать раковым клеткам способность к апоптозу позволяет использовать ее как потенциальное противораковое средство. Некоторые авторы заявляют, что спиртовой экстракт G. lucidum продемонстрировал супрессирующее влияние на рост простаты [6]. Анализ засвидетельствовал, что активными веществами in vivo были тритерпеноиды. Эти результаты демонстрируют, что три тритерпеновые фракции G. lucidum могут быть полезным компонентом в лечении доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Экстракты G. lucidum, которые содержат 0,15% ганодериновой кислоты С2, были использованы при демонстрации противоракового эффекта. Но неизвестно, может ли такое количество ганодериновой кислоты быть ответственным за эффект.

Полисахариды представляют собой структурно разнообразный класс биологических макромолекул с широким спектром физико-химических свойств. Главными биологически активными полисахаридами видов рода Ganoderma являются р-1-3 и Р-1-6-D глюканы (рис. 2). Структура представляет собой р-1-3 D-глюкопиронан с боковыми цепями, представленными 1 - 15 единицами Р-1-6 моноглюкозила.

Альтернативные противоопухолевые вещества являются гликопротеинами (полисахаридами и белками), гетерополисахаридами и ганодериновыми кислотами А, В и С [27]. Они имеют большую молекулярную массу, общим их свойством является растворимость в воде и как результат более эффективная противоопухолевая активность. Но некоторые нерастворимые в воде полисахариды также выявляют противоопухолевую активность [7]. Полисахаридные ответвления также влияют на активность. Результаты исследований, которые касаются противоопухолевой и иммуномодулирующей активностей G. lucidum, были сообщены уже в 1957 году и, совсем недавно были проведены широкие исследования противоопухолевых компонентов, особенно полисахаридов и протеин/пептид связанных полисахаридов. Например, оказались биологически активными несколько глюканов, выделенных в начале 1980-х годов, отделенных в начале 1980-х годов от воды и щелочей.

Биологически активные полисахариды были выделены из базидиокарпов и из мицелиальной биомассы, культивированной в жидкой культуре [33]. Немного было выделено из культуральной жидкости. Важно, что водорастворимые полисахариды G. lucidum сильно ингибировали рост саркомы 180 солидного типа, при этом коэффициент ингибирования составлял более 95%. Большинство противоопухолевых глюканов содержали разветвленное глюкановое ядро и имели средний вес 1050 кДа. Полисахариды, как считается, осуществляют противоопухолевое действие за счет стимуляции иммунитета, а не прямой цитотоксичности против опухолевых клеток.

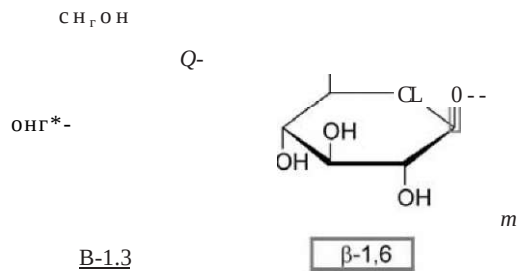

Рис. 2. Структурная формула fi-1-3 и в-1-6 глюканов [en.wikipedia.org, 2009]

Следует отметить, что количество биологически активных нерастворимых в воде полисахаридов оказалась выше, чем водорастворимых полисахаридов. Более 200 полисахаридов было выделено из плодовых тел, спор и мицелия гриба [16].

Фракции из G. lucidum продемонстрировали ингибирование роста опухоли путем активации иммунных реакций, стимулируя продукцию цитокинов мононуклеарными лейкоцитами и цитотоксическими Т-лимфоцитами и содействуя продукции интерлейкина-2 [21]. Активность и механизм действия этих полисахаридов были основной областью исследований в тот период. Также было отмечено, что противоопухолевый эффект увеличивается за счет присоединения полиоловой группы к глюканам. Противоопухолевая активность против перевитой саркомы 1S0 у мышей была показана за счет р-D-глюкановых полисахаридов из базидиокарпов G. applanatum, G. lucidum и культуральной жидкости G. lucidum. Ooi et al. (2002) также наблюдал супрессию роста саркомы 1S0 у мышей и заметное увеличение уровня экспрессии иммуномодулирующих цитокинов при наличии выделенных горячей водой полисахаридов G. lucidum [29]. В отличие от этого, цитотоксический эффект не наблюдался для нерастворимых в воде глюканов, выделенных из G. japonicum, или для экстракта мицелия из G. lucidum на клетках опухолей ротовой полости in vitro.

В более поздних сообщениях представляли результаты, которые указывают на то, что G. lucidum может иметь иммуномодулирующий эффект у пациентов с колоректальным раком. Более поздние исследования полисахаридов указывают на то, что:

1. Водорастворимые полисахариды, выделенные из G. lucidum, были эффективны в предотвращении разрывов ДНК; противоопухолевые и иммуномодулирующие эффекты гриба связаны с его антиоксидантными свойствами.

2. Антиоксидантные свойства полисахаридов G. lucidum заключались в снижении окисления липопротеинов низкой плотности и в обезвреживании активных форм кислорода.

3. Протеогликан, выделенный из G. lucidum, стимулировал пролиферацию спленоцитов у мыши в результате три - четырехкратного увеличения: а) процента В-клеток, б) секреции иммуноглобулинов, в) продукции интерлейкина-2 и г) экспрессии протеинкиназы.

4. Было установлено, что полисахариды из экстрактов мицелия G. lucidum проявляли противоопухолевое действие против фибросаркомы у самцов и самок мышей и ингибировали метастазирование опухоли в легкие. Биологически активные полисахариды могут стимулировать мононуклеарные клетки крови к синтезу цитокинов, фактора некроза опухоли, интерферона и интерлейкинов. Длительность жизни мышей с перевитыми опухолями достоверно повышалась.

Протеины, пептиды и аминокислоты. Было установлено, что три вида биологически активных белков из плодовых тел и спор Линчжи продемонстрировали очевидную митогенную активность. Один из таких белков, LZ-S, похож на вариабельный домен тяжелой цепи иммуноглобулинов своей последовательностью аминокислот и прогнозированной вторичной структурой. Главная биологическая активность похожая на биологическую активность лектинов, с митогенной активностью к спленоцитам мышей и человеческих периферических лимфоцитов, агглютинацией эритроцитов овец in vitro. Не ингибировался моно- или димерными сахарами, что указало на то, что LZ-S не является лектином (рис. 3). Принадлежит к белкам суперсемейства иммуноглобулинов [11]. Кроме того, разнообразные аминокислоты были найдены в G. lucidum. Оксидативный стресс связан с патогенезом многих болезней, включая рак. Их изучение выявило мощную антиоксидантную активность пептидов, выделенных из G. lucidum. Считалось, что за этот антиоксидантный эффект ответственными являются полисахариды, пептидсвязанные полисахариды и фенольные компоненты. Хотя исследования продемонстрировали, что пептиды, выделенные из G. lucidum, являются главным антиоксидантным компонентом. В остальных исследованиях G. lucidum пептидсвязанные полисахариды (Gl-PP) продемонстрировали некоторые эффекты как противоопухолевые компоненты и потенциальные ингибиторы ангиогенеза [3]. Индуцирование апоптоза может быть механизмом ингибирования пролиферации пептидсвязанными полисахаридами. При действии высоких доз пептидсвязанных полисахаридов на клетки карциномы легких в условиях гипоксии в течении 1S часов наблюдалось уменьшение количества важного маркера рака. Взятые вместе, эти данные подтверждают гипотезу о том, что ключевым в ингибировании ангиогенеза пептидсвязанными полисахаридами является прямое ингибирование пролиферации эндотелиальных клеток или непрямое уменьшение экспрессии фактора роста эндотелия сосудов опухолевыми клетками.

Рис. 3. Кристаллическая структура LZ-8 [Protein Data Bank, http://www.rcsb.org/pdb/]

2. Иммуномодулирующие эффекты компонентов Ganoderma lucidum. Митогенная активность. Экстракты G. lucidum (например, полисахаридные фракции, метаноловый экстракт и LZ-S) оказывают митогенное действие на спленоциты мыши и человеческие моноциты периферической крови (МПК) в присутствии разных иммуностимулирующих и иммуносупрессирующих агентов [34]. Лечение МПК циклоспорином А привело к блокаде пролиферации клеток. Метаноловый экстракт G. lucidum снял ЦсА-индуцированное ингибирование пролиферации клеток, что может быть связано с ингибированием сигнального пути протеинкиназы С.

Спленоциты. Исследования in vitro и in vivo на мышах

показали, что водный экстракт G. lucidum стимулирует продукцию IL-2 спленоцитами в присутствии гидрокортизона [40].

Т-лимфоциты. Экстракты G. lucidum являются мощными активаторами Т-клеток, индуцируя продукцию ряда цитокинов, в частности IL-2. В человеческих МПК (в первую очередь Т-клеток) in vitro, водный экстракт G. lucidum индуцировал экспрессию цитокинов включая IL-10 и ФНО-а, IL-ip, IL-6 и IL-2 [38]. Полисахаридные фракции, выделенные из свежих плодовых тел, повышали продукцию ИНФу человеческими Т-клетками [35]. Полисахаридная фракция (GL-B) стимулировала продукцию IL-2 в зависимости от концентрации и заметно повышала цитотоксичность цитотоксических Т-лимфоцитов, которая достигала 100% при концентрации 200 мг/мл. GL-B также восстанавливал ответ на чужеродные антигены смешанных лимфоцитов, пролиферацию и продукцию IL-2 спленоцитами у старых мышей, которая была пониженной сравнительно с молодыми мышами in vitro.

LZ-8 также является мощным активатором Т-клеток за счет цитокиновой регуляции экспрессии интегрина. Стимулирование МПК за счет LZ-8 вызывало продукцию IL-2 и соответственную регуляцию экспрессии рецептора IL-2 [5]. Кроме пролиферации, микроскопическое исследование LZ-8 стимулированных лимфоцитов периферической крови выявило, что LZ-8 индуцировал формирование клеточных агрегатов. Это формирование связано с повышением экспрессии ICAM-1 и увеличения продукции ИНФу, ФНО и ILp, молекул, связанных с регуляцией экспрессии ICAM-1.

Натуральные киллеры (НК). Водные экстракты G. lucidum повышали цитотоксичность НК селезенки у мышей с опухолью [9].

Макрофаги. Активация макрофагов веществами из G. lucidum приводила к выделению цитокинов, NO и остальных посредников [30]. Все эти ответы связаны с противоопухолевым, противомикробным и противовоспалительным действием G. lucidum.

Полисахариды из G. lucidum, в частности p-D-глюканы, являются мощными стимуляторами мышиных и человеческих макрофагов in vitro и in vivo [30]. Водные экстракты полисахаридов, выделенные из свежих плодовых тел G. lucidum, усиливали продукцию цитокинов, включая IL-ip, IL-6, ИНФу и ФНОа человеческими макрофагами, которые были непролиферирующими и дифференцированными.

Ганодеран (ГАН), p-D-глюкан, выделенный из G. lucidum, повышает продукцию NO у RAW 264.7 макрофагов [30]. Самая большая продукция NO наблюдалась при действии полисахаридов, которые были экстрагированы из стенки мицелия. Частичное удаление белка из внеклеточного ГАН заметно снижает его способность секретировать NO. Пролиферация RAW 264.7 клеточных линий, на которые действовали ганодераном, была замедленной по сравнению с контролем. У макрофагов, активированных этим гликаном, процент цитотоксичности против клеток мышиной лейкемии L1210 немного зависел от количества NO в супернатантах активированных макрофагов. Эти результаты показывают, что p-глюкан-связанные полисахариды высших грибов активирую макрофаги и стимулируют секрецию NO, который является важным химическим мессенджером для индукции многих биологических реакций.

Мастоциты. Некоторые вещества из G. lucidum могут действовать на мастоциты. Водный экстракт плодового тела имеет ингибиторную активность против синтеза гистамина перитонеальными мастоцитами крысы. Две ганодериновые кислоты (C и D), экстрагированные из плодового тела метанолом, ингибировали выделение гистамина из мастоцитов крысы, индуцированного конканавалином А. Механизм ингибиторной активности на выделение гистамина из мастоцитов изучался позже. Пальмитиновая, стеариновая, олеиновая и линоленовая кислоты были выделены из активных фракций. Среди них, олеиновые кислоты индуцировали стабилизацию мембраны модельных мембранных систем. Циклооктасульфур, выделенный из культуральной жидкости G. lucidum, может уменьшать усвоение кальция из внеклеточной среды за счет дисульфидных обменов в клеточной мембране, приводя к ингибированию выделения гистамина из мастоцитов [2].

Система комплемента. Щелочной экстракт, выделенный из культивированного мицелия G. lucidum, активировал классический и альтернативный пути системы комплемента. Эта фракция также активировала ретикулоэндотелиальную систему. Щелочной экстракт состоял из 10% углеводов и 49% белков. Клинические исследования у пациентов пожилого возраста с бессонницей и ускоренным сердцебиением недавно показали, что прием эссенции G. lucidum в течении 4 - 6 недель повысил в их сыворотке крови уровень С3 компонента комплемента [24].

3. Противоопухолевое действие компонентов Ganoderma lucidum. Полисахариды (p-D-глюканы, гетерополисахариды и гликопротеины), выделенные из G. lucidum, продемонстрировали противоопухолевую активность против саркомы 180 у мышей [9]. Тритерпеноиды, в частности ганодериновые кислоты T - Z, выделенные из G. lucidum, показали цитотоксическую активность in vitro на клетках гепатомы [36]. Ланостаноид, 3р-гидроксил-26-оксо-5а-ланоста-8,24-диен-11-он, и стероид, ергоста-7,22-диен-3р,3а,9а-триол, выделенные из плодовых тел G. lucidum, продемонстрировали мощные ингибиторные эффекты на КВ клетки и человеческие PLC/PRF/5 клетки in vitro [34].

Компоненты, выделенные из G. lucidum, дозозависимо и зависимо от времени супрессировали рост клеток К562 лейкемии и индуцировали их дифференциацию в более зрелые эритроциты [39]. Ингибирование ДНК-полимеразы и посттрансляционных модификаций онкопротеинов могут быть противоопухолевыми эффектами рейши [4]. Органический германий также может осуществлять противоопухолевое действие [28].

Тритерпеноиды из G. lucidum могут ингибировать ферменты. Продемонстрировано, что ингибиторы белка фарнезил-трансферазы (FTP) ингибируют Ras-зависимую клеточную трансформацию и, таким образом, представляют потенциальную терапевтическую стратегию для лечения рака. Ганодериновые кислоты А и С являются ингибиторами FTP [26]. Пероксид эргостерола, 5,8-эпидиокси-5а,8р-эргоста-6,22Е-диен-3р-ол, из G. lucidum, селективно повышал ингибиторный эффект линолевой кислоты на ДНК полимеразу-р, но не оказывал ингибирующего действия на ДНК-полимеразу-а. Пероксид эргостерола отдельно не был эффективным, но в присутствии линолевой кислоты полностью блокировал крысиную ДНК-полимеразу р [20].

Тритерпеноидные фракции плодового тела G. lucidum ингибировали первичный рост солидных опухолей в селезенке, печеночных метастазах и метастатическом раке печени у мышей [20]. Также, тритерпеноидная фракция ингибировала матригель-индуцированную неоваскуляризацию, а биологически активный компонент, ответственный за ингибирование ангиогенеза, был идентифицирован как ганодериновая кислота F [20].

Фенолы, выделенные метанолом из G. lucidum, продемонстрировали антиоксидантную активность, ингибируя пероксидное окисление липидов. Липиды, выделенные из прорастающих спор G. lucidum, заметно ингибировали рост клеток мышиной гепатомы, саркомы S-180 и ретикулоцитарной саркомы LII у мышей, что свидетельствует о том, что биологическая активность G. lucidum может быть повышена за счет прорастания спор, которые находились в состоянии покоя [8].

Аминополисахаридная фракция (G009) из G. lucidum продемонстрировала ингибирование активных форм кислорода, которые являются характерными для патофизиологии рака. G009 ингибировала железоиндуцированное пероксидное окисление липидов и инактивировала гидроксильные радикалы и супероксидные анионы. Кроме того, G009 также снижала окислительное повреждение ДНК [17].

Хотя идентификация биологически активных ком-

понентов G. lucidum имеет важное значение для характеристики их специфической активности, некоторые из этих компонентов могут быть токсическими. Кроме того. некоторые компоненты могут уменьшить цитотоксичность всего продукта, и взаимодействие между разными биологически активными соединениями может увеличить их эффекты. Поэтому некоторые исследования показали эффект всего продукта либо нефракционированной вытяжки из G. lucidum на некоторые сигнальные пути раковых клеток [1S].

Одной из характеристик высокометастатических раковых клеток является существенная активация транскрипционных факторов ЛР-1 и NF-kB. Ингибирование ЛР-1 и NF-kB проявляется в супрессии секреции урокиназного активатора плазминогена (uPA), последствием чего является ингибирование миграции клеток высокоинвазивного рака молочной железы. При использовании коммерчески доступных диетических добавок - спор и плодового тела G. lucidum наблюдается ингибирование гиперактивации АР-1 и NF-kB клеток высокометастатического рака молочной железы и рака простаты. Кроме того, споры и плодовые тела G. lucidum снижали экспрессию uPA и его рацептора uPAR, а также секрецию uPA, в результате чего ингибировалась подвижность клеток рака молочной железы и рак простаты. Также G. lucidum подавляет клеточную адгезию к фибронектину (FN), который связывается с о3рі рецептором интегрина, и к витронектину (VN), который связывается с аур3 и рецептором интегрина. Итак, G. lucidum блокирует образование uPAuPAR-FN-a3 в 1 и uPA-uPAR-VN-аур3 комплексов, в результате чего ингибируется адгезия и подвижность клеток высокоинвазивного рака молочной железы и рака простаты. Таким образом, G. lucidum блокирует инвазию и метастазирование рака молочной железы и рака простаты [32].

Спиртовый экстракт G. lucidum ингибировал пролиферацию клеток рака молочной железы за счет ареста клеточного цикла во время фазы G1, повышая уровень ингибитора клеточного цикла p21/Waf-1 и снижая уровень циклина D1. Кроме того, спиртовый экстракт также индуцировал апоптоз клеток рака молочной железы за счет повышения экспрессии проапоптического белка Bax. Тритерпенобогащенный экстракт G. lucidum ингибировал рост клеток гепатомы и не имел ингибиторного влияния на нормальные клетки печени. Ингибирующий эффект был вызван снижением активности протеинкиназы С (PKC) и активацией JNK киназы (c-Jun N-terminal kinase) и p38 MAPK, результатом чего был арест клеточного цикла в фазе G2. Водный экстракт из G. lucidum индуцировал нейрональную дифференциацию и предотвращал апоптоз клеток крысиной феохромоцитомы PC12, что свидетельствует о наличии нейроактивных компонентов у G. lucidum. Эти эффекты скорее всего опосредованы через сигнальные пути Erk киназы (ras / extracellular signal-regulated kinase) и белка CREB (cAMP-response element binding protein), потому что G. lucidum индуцирует активацию Erk-1, Erk-2 и CREB [13].

Выводы

1. Ganoderma lucidum содержит ряд биологически активных веществ, среди которых в противоопухолевой защите самую важную роль играют полисахариды и тритерпены.

2. Полисахариды осуществляют противоопухолевое действие путем активации иммунной системы.

3. Тритерпены обеспечивают противоопухолевую защиту за счет цитотоксического действия на опухолевые клетки.

4. Вытяжки из G. lucidum влияют на некоторые сигнальные пути опухолевых клеток.

Литература.

1. Деякі аспекти застосування фунготерапії в лікарській практиці / Т.П. Гарник, І.В. Білоусова, В.А. Петріщева [та ін.]. - К.: Легко Инк, 2009. - С. 11 - 12.

2. 5,6-Dimethylxanthenone-4-acetic acid: a novel biological response modifier for cancer therapy I Sh. Zhou, P. Kestell, B. C. Baguley, J. W. Paxton II Investig. New Drugs. - 2002. - Vol. 20. - P. 281 - 295.

3. A lectin from mycelia of the fungus Ganoderma lucidum / H. Kawagishi, S. Mitsunaga, M. Yamawaki [et al.] II Phytochem. - 1997. - Vol. 44. - P. 7 - 10.

4. A mushroom fruiting body-including substance inhibits activities of replicative DNA polymerases I Y. Mizushina, L. Hanashima, T. Yamaguchi [etal.]//Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1998. - Vol. 249. - P. 17 - 22.

3. A novel T cell mutagen induces cytokine production and *upregulation of ICAM-1 expression / M. Haak-Frendscho, K. Kino, T. Sone [et al.] // Cell. Immunol. - 1993. - Vol. 150. - P. 101 - 113.*

6. Anti-androgenic activities of the triterpenoids fraction of Ganoderma lucidum / J. Liu, K. Shimizu, F. Konishi [et al.] // Food Chem.

7. Antitumor active polysaccharides from the Chinese mushroom Songshan lingzhi, the fruiting body of Ganoderma tsugae / G. Wang, J. Zhang, T. Mizuno [et al.] // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. - 1993. - V. 57. - P. 894 - 900.

8. Antitumor activity of the sporoderm-broken germinating spores of Ganoderma lucidum I X. Liu, J. P. Yuan, C. K. Chung, X. Chen // Cancer Lett. - 2002. - Vol. 182 (2). - P. 155 - 161.

9. A phase I/II study of a Ganoderma lucidum (Curt.: Fr.) P.Karst extract (ganopoly) in patients with advanced cancer / Y. Gao, Sh. Zhou, G. Chen [et al.] // Int. J. Med. Mushrooms. - 2002. - Vol. 4 (3). - P. 207 - 214.

10. Applanoxidic acids A, B, C and D, biologically active tetracyclic triterpenes from Ganoderma applanatum I T. T. Chairul, Y. Hayashi, M. Nishizawa // Phytochemistry. - 1991. - Vol. 30. - P. 4105 - 4109.

11. Cao Q. Ganoderma lucidum polysaccharides peptide inhibits the growth of vascular endothelial cell and the induction of VEGF in human lung cancer cell / Q. Cao, Z. Lin //Life Sci. - 2006. - Vol. 78. - P. 1457 - 1463.

12. Effects of polysaccharides (FI0-c) from mycelium of Ganoderma tsugae on proinflammatory cytokine production by THP-1 cells and human PBMC (II) /X. X. Gao, B. X. Wang, X. F. Fei [et al.] //Acta pharmacol. Sinica. - 2000. - Vol. 21. - P. 1186 - 1192.

13. Ganoderma extract activates MAP kiases and induces the neuronal differentiation of ratpheochromocytoma PC12 cells / W. M. W. Cheung, W. S. Hui, P. W. K. Chu [et al.] //FEBS Letters. - 2000. - Vol. 486 (3). - P. 291 - 296.

14. Ganoderma lucidum causes apoptosis in leukemia, lymphoma and multiple myeloma cells I C. I. Muller, T. Kumagai, J. O'Kelly [et al.] //Leukemia Res. - 2006. - Vol. 30. - P. 841 - 848.

15. Ganoderma lucidum suppresses angiogenesis through the inhibition of secretion of VEGF and TGF-fi1 from prostate cancer cells / G. Stanley, K. Harvey, V. Slivova [et al.] // Biochem. and Biophys. Res. Commun. - 2005. - Vol. 330, P. 46 - 52.

16. Huie C. W. Chromatographic and electrophoretic methods for Lingzhi pharmacologically active components / C. W. Huie, X. Di // J. Chromatogr. B. - 2004. - Vol. 812. - P. 241 - 257.

17. Inhibition of lipid peroxidation and oxidative damage by Ganoderma lucidum / J. M. Lee, H. Kwon, H. Jeong [et al.] // Phytother. Res. - 2001. - Vol. 15 (3). - P. 245 - 249.

18. In vitro immunomodulatory effects of ten commonly used herbs on murine lymphocytes I C. Wilasrusmee, S. Kittur, J. Siddiqui [et al.] II J. Alternat. Complement. Med. - 2002. - Vol. 8 (4). - P. 467 - 475.

19. Kim H. W. Biomedicinal triterpenoids of Ganoderma lucidum (Curt.:Fr.) P. Karst (aphyllophoromycetidae) I H. W. Kim, B. K. Kim IIInt. J. Medicinal Mushrooms. -1999. - Vol. 1. - P. 121 -138.

20. Kimura Y. Antitumor and antimetastic effects on liver triterpenoid fractions of Ganoderma lucidum: mechanism of action and isolation of an active substance I Y. Kimura, M. Taniguchi, K.

Baba //Anticancer Res. - 2002. - Vol. 22 (6A). - P. 3309 - 33I8.

21. Lei L. S. Effect of Ganoderma polysaccharides on T cell subpopulations and production of interleukin 2 in mixed lymphocyte response / L. S. Lei, Z. B. Lin //Acta Pharmacol. Sinica. - I992. - Vol. 27. - P. 33I - 333.

22. Lin C. N. Novel cytotoxic principles of Formosan Ganoderma lucidum / C. N. Lin, W. P. Tome, S. J. Won // J. Nat. Prod. - I99I. - Vol. 34. - P. 998 - I002.

23. Malonate half-esters of homolanostanoid from an Asian Ganoderma fungus / T. T. Chairul, M. Nishizawa, M. Shiro [et al.] // Phytochem. - I990. - Vol. 29. - P. 923 - 928.

24. Mizuno T. Reishi, Ganoderma lucidum and Ganoderma tsugae: bioactive substances and medicinal effects / T. Mizuno // Food Reviews International. - I993. - Vol. II (I). - P. I3I - I66.

23. Mizuno T. Studies on bioactive substances and medicinal effect of Reishi, Ganoderma lucidum in Japan. In: Proceedings of the ^t International Symposium on Ganoderma lucidum in Japan, Toyo-Igaku-sha Co. Ltd., Tokyo, I997, P. I2I - I27.

26. Natural inhibitors for protein prenyltransferase / S. Lee, S. Park, J. W. Oh, C. H. Yang //Planta med. - I998. - Vol. 34. - P. 303 - 308.

27. New lanostanoids of Ganoderma tsugae / H. J. Su, Y. F. Fann, M. I. Chung // J. Nat. Prod. - 2000. - Vol. 63. - P. 3I4 - 3I6.

28. Nutritional value of Ganoderma extract and assessment of its genotoxicity and antigenotoxicity using comet assays of mouse lymphocytes /S. W. Chiu, Z. M. Wang, T. M. Leung, D. Moore //Food and chem. Toxicol. - 2000. - Vol. 38. - P. I73 - I78.

29. Ooi L. S. M. Induction of gene expression of immunomodulatory cytokines in the mouse by a polysaccharide from Ganoderma lucidum (Curt.: Fr.) P. Karst. (aphyllophoromycetidae). /L. S. M. Ooi, V. E. C. Ooi, M. C. Fung //Int. J. Med. Mushrooms. - 2002. - Vol. 4. - P. 27 - 33.

30. Production of nitric oxide in RAW 264.7 macrophages treated with ganoderan, the beta-glucan of Ganoderma lucidum / M. D. Han, E. S. Lee, Y. K. Kim [et al.]//Korean J. Med. Mycol. - I998. - Vol. 26. - P. 246 - 233.

31. Sliva D. Ganoderma lucidum in cancer research / D. Sliva //Leukemia Res. - 2006. - Vol. 30. - P. 767 - 768.

32. Sliva D. Ganoderma lucidum (Reishi) in cancer treatment / D. Sliva //Integrat. cancer therap. - 2003. - Vol. 2 (4). - 360 p.

33. Structural features of immunologically active polysaccharides from Ganoderma lucidum / X.-F. Bao, X.-S. Wang, Q. Dong [et al.] //Phytochem. - 2002. - Vol. 59. - P. 175 - 181.

34. Studies of a new immunomodulating agent / L. G. Van der Hem, J. A. van der Vliet, C. F. Bocken // Transplant. - 1995. - Vol. 60. - P. 438 - 443.

35. The anti-tumor effect of Ganoderma lucidum is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes /S. Y. Wang, M. L. Hsu, H. C. Hsu [et al.]//Int. J. Cancer. - 1997. - Vol. 70. - P. 699 - 705.

36. Toth J. O. Ganoderic acid T and Z: cytotoxic triterpenes from Ganoderma lucidum (Polyporaceae) / J. O. Toth, B. Luu, G. Ourisson // Tetrahedron Letters. - 1983. - Vol. 24. - P. 1081 - 1084.

37. Triterpene-enriched extracts from Ganoderma lucidum inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest / [S. B. Lin, C. H. Li, S. S. Lee, L. S. Kan] // Life Sci. - 2003. - Vol. 72. - P. 2381 - 2390.

38. Two mushrooms, Grifola frondosa and Ganoderma lucidum, can stimulate cytokine gene expression and proliferation in human T lymphocytes / T. Mao, J. van De Water, C. L. Keen [et al.] // Int. J. Immunother. - 1999. - Vol. 15. - P. 13 - 22.

39. Zhong L. Effects of Ganoderma lucidum (Leyss ex Fr.) Karst. compound on the proliferation and differentiation of K652 leukemic cells / L. Zhong, D. Z. Jiang, Q. R. Wang // J. Hum. Med. Univ. - 1999. - Vol. 24. - P. 521 - 524.

40. Zhou Sh. The immunomodulating effects of Ganoderma lucidum (Curt.: Fr.) P. Karst. (Lin Zhi, reishi mushroom) (Aphyllophoromycetidae) / Sh. Zhou, Y. Gao // Int. J. Medicinal Mushrooms. - 2002. - Vol. 4 (1). - P. 1 - 11.

Надійшла до редакції 13.07.2011

УДК 582.284.612.017.616-006.04

О.М. Макаренко, М.П. Рудик, Р.С. Довгий

ХІМІЧНИЙ СКЛАД GANODERMA LUCIDUM І ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ОКРЕМИХ ЙОГО РЕЧОВИН НА ІМУННУ СИСТЕМУ ССАВЦІВ В УМОВАХ ПУХЛИННОГО РОСТУ

Ключові слова: Ganoderma lucidum, полісахариди, тритерпени, імунна система, пухлина

Огляд літератури присвячений аналізу даних щодо хімічного складу гриба Ganoderma lucidum та впливу окремих його компонентів на імунну систему організму та на пухлинні клітини. Ganoderma lucidum містить ряд біологічно активних речовин, серед яких найважливішими у протипухлинному захисті є тритерпени та полісахариди. Протипухлинна дія тритерпенів полягає у прямій цитотоксичній дії на пухлинні клітини, в той час як полісахариди здійснюють стимулюючий вплив на імунну систему організму. Також протипухлинною дією володіють білки, виділені із Ganoderma lucidum, зокрема ZP-8. Протипухлинна дія останніх пов'язана з їхнім антиоксидантним ефектом, оскільки оксидативний стрес пов'язаний з патогенезом багатьох хвороб, в тому числі і раку. Компоненти Ganoderma lucidum виявляють широкий спектр імуномодулюючих властивостей, зокрема активація Т-лімфоцитів, натуральних кілерів, мітогенна дія на спленоцити та моноцити периферичної крові та ін. Крім того, деякі дослідження продемонстрували ефект усього продукту або нефракціонованої витяжки із Ganoderma lucidum на певні сигнальні шляхи пухлинних клітин.

А.Н. Макаренко, М.П. Рудик, Р.С. Довгий

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ GANODERMA LUCIDUM И ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ЕГО ВЕЩЕСТВ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ МЛЕКОПИГАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

Ключевые слова: Ganoderma lucidum, полисахариды, тритерпены, иммунная система, опухоль

Обзор литературы посвящен анализу данных о химическом составе гриба Ganoderma lucidum и влияния отдельных его компонентов на иммунную систему организма и на опухолевые клетки. Ganoderma lucidum содержит ряд биологически активных веществ, среди которых самыми важными в противоопухолевой защите являются тритерпены и полисахариды. Противоопухолевое действие тритерпенов заключается в прямом цитотоксическом действии на опухолевые клетки, в то время как полисахариды осуществляют стимулирующее действие на иммунную систему организма. Также противоопухолевым действием обладают белки, выделенные из Ganoderma lucidum, в частности ZP-8. Противоопухолевое действие последних связано с их антиоксидантным эффектом, поскольку оксидативный стресс связан с патогенезом многих болезней, в том числе и рака. Компоненты Ganoderma lucidum выявляют широкий спектр иммуномодулирующих свойств, в частности активация Т-лимфоцитов, натуральных киллеров, митогенное действие на спленоциты и моноциты периферической крови и др. Кроме того, некоторые исследования продемонстрировали эффект всего продукта или нефракционированной вытяжки из Ganoderma lucidum на некоторые сигнальные пути опухолевых клеток.

A.N. Makarenko, R.S. Dovgiy, M.P. Rudik

CHEMICAL COMPOSITION OF GANODERMA LUCIDUM AND ITS INDIVIDUAL SUBSTANCES INFLUENCE ON THE IMMUNE SYSTEM OF MAMMALS IN TERMS OF TUMOR GROWTH

Key words: Ganoderma lucidum, polysaccharides, triterpene, immune system, tumor

The literature review is devoted to analysis of data on the chemical composition of the fungus Ganoderma lucidum and the impact of its individual components on the immune system and tumor cells. Ganoderma lucidum contains several biologically active substances, among which the most important in cancer protection are triterpene and polysaccharides. The antitumor effect of triterpene is a direct cytotoxic effect on tumor cells, while polysaccharides stimulate the immune system. Also, proteins isolated from Ganoderma lucidum have antitumor effects including ZP-8. The antitumor effect of proteins relates to their antioxidant effect, because the oxidative stress is associated with the pathogenesis of many diseases including cancer. The components of Ganoderma of lucidum have the wide spectrum of immunomodulative properties, in particular activating T-cell, natural killers, mitogen activity on splenocytes and monocytes of peripheral blood etc. In addition, some researchers show the effect of all product or unfractioned extracts from Ganoderma lucidum on the signaling pathways of cancer cells.