

# Противовирусные свойства метаболитов базидиальных грибов

А. В. АВТОНОМОВА, Л. М. КРАСНОПОЛЬСКАЯ

ФГБУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе РАМН, Москва

## Antiviral Properties of Basidiomycetes Metabolites

A. V. AVTONOMOVA, L. M. KRASNOPOLSKAYA

G. F. Gause Institute of New Antibiotics, Moscow

В статье обобщена информация о противовирусном действии метаболитов базидиальных грибов *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, *Agaricus brasiliensis* и др. Указанные виды базидиомицетов синтезируют вещества, проявляющие прямое противовирусное действие в отношении вирусов простого герпеса I и II типов, вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), вируса гепатита В, вируса везикулярного стоматита, вируса гриппа, вируса Эпштейна–Барр и др. Также выявлены метаболиты базидиомицетов, повышающие противовирусный иммунитет организма.

**Ключевые слова:** метаболиты базидиальных грибов, противовирусное действие.

The data on the antiviral action of the *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, *Agaricus brasiliensis* and other basidiomycetes metabolites are summarized. The metabolites of these species of basidiomycetes exhibit a direct antiviral effect on herpes simplex virus types I and II, human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus, vesicular stomatitis virus, influenza virus, Epstein–Barr virus, and others. Moreover, metabolites of basidiomycetes increased antiviral immunity.

**Key words:** basidiomycetes metabolites, antiviral action.

Вирусные заболевания представляют серьезную опасность, связанную с высокой контагиозностью инфекций, высокой частотой тяжелого течения и возникновением осложнений. В структуре смертности среди вирусных инфекций лидирующие позиции сохраняют грипп, ОРВИ, герпес-вирусные инфекции, вирусные гепатиты, ВИЧ-инфекция. На 67-й Всемирной ассамблее здравоохранения были приведены данные об одновременной вспышке в мире четырех тяжелых вирусных заболеваний, вызываемых вирусом лихорадки Эбола, коронавирусом ближневосточного респираторного синдрома и двумя разновидностями птичьего гриппа H5N1 и H7N9. Поиск новых веществ, активных в отношении патогенных для человека вирусов, остается по-прежнему актуальной задачей современной науки.

Источником соединений с искомой активностью могут стать базидиальные грибы. Противовирусное действие обнаружено у метаболитов многих видов базидиомицетов. Оно проявляется в отношении вирусов, относящихся к различным систематическим группам.

В настоящем обзоре суммированы сведения, касающиеся действия метаболитов базидиомицетов в отношении вирусов, поражающих человека.

В основе механизма противовирусного действия метаболитов высших грибов лежит прямое действие на вирусы, выражающееся в ингибировании различных этапов взаимодействия вируса с клеткой-хозяином, или повышение иммунной защиты организма, подвергающегося воздействию вируса.

### I. Прямое противовирусное действие

Прямой противовирусной активностью обладают метаболиты базидиальных грибов, такие как полисахариды, гликопротеины, тритерпены, белки и др. Источниками их получения служат плодовые тела, споры, мицелий, культуральная жидкость. Эти метаболиты проявляют прямое противовирусное действие в отношении разнообразных вирусов, среди которых вирус простого герпеса (ВПГ), вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирус гепатита В, вирус везикулярного стоматита, вирус гриппа, вирус Эпштейна–Барр и др.

#### 1. Действие в отношении герпесвирусов

Герпесвирусы (семейство *Herpesviridae*) представляют большое семейство ДНК-содержащих вирусов. Из представителей этого семейства у человека встречается восемь типов вирусов герпеса.

© А. В. Автономова, Л. М. Краснополянская, 2014

Адрес для корреспонденции: 119021, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11. НИИИНА им. Г. Ф. Гаузе РАМН

Наиболее известными являются вирус простого герпеса I и II типа, вирус ветряной оспы, вызывающий ветрянку в детском возрасте, опоясывающий лишай (вирус III типа), вирус Эпштейна–Барр, вызывающий инфекционный мононуклеоз (вирус IV типа), цитомегаловирус (вирус V типа).

**1.1 Активность в отношении вирусов простого герпеса I и II типа.** Заболевание, вызванное вирусами простого герпеса типа I и II, характеризуется высыпаниями сгруппированных пузырьков на коже и слизистых оболочках. Простой герпес типа I чаще всего проявляется на губах и вирус типа II в большинстве случаев поражает гениталии.

Основными терапевтическими средствами для лечения заболевания, вызванного вирусами простого герпеса, являются нуклеозидные препараты, такие как ацикловир и видарабин. Мишенью для этих соединений служит ДНК-полимераза вируса. В последнее время возрос интерес к ингибиторам вируса герпеса ненуклеозидной природы.

Показано, что гликопротеины, выделенные из плодовых тел *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst., и полисахаридные фракции, полученные из мицелия этого гриба, проявляли противогерпетическое действие в опытах *in vitro* [1]. Гликопротеины и полисахариды ингибировали образование бляшкообразующих единиц в культуре клеток Vero и Her-2, инфицированных вирусами герпеса типов I и II и снижали цитопатические эффекты в инфицированных клетках [2]. Дальнейшие исследования одного из гликопротеинов, названного авторами АРВР, показали, что он не оказывал токсического действия на клетки линии Vero в концентрации  $1 \times 10^4$  мкг/мл и проявлял противовирусное действие в отношении вирусов простого герпеса типов I и II [3, 4]. Гликопротеин АРВР в концентрации 100 мкг/мл ингибировал свыше 50% прикреплений вирусов герпеса типов I и II к клеткам линии Vero и предотвращал проникновение вирусов обоих типов в клетки линии Vero [5]. Этот гликопротеин потенцировал действие нуклеозидных противогерпетических препаратов ацикловира и видарабина [4]. Сильный синергический эффект был обнаружен при совместном применении гликопротеина АРВР с интерферонами- $\alpha$  и - $\gamma$  [3]. При этом изученный гликопротеин не индуцировал выработку интерферона- $\gamma$  или других интерфероноподобных субстанций [5].

Известны результаты испытания *in vitro* выделенной из мицелия *G. lucidum* фракции, содержащей полисахариды и белки в соотношении 10,4:1 и названной GLPG. Исследуемая фракция ингибировала цитопатический эффект вирусов простого герпеса I и II типов. Противовирусный эффект носил дозозависимый характер. Выделенная фракция не проявляла цитотоксиче-

ского действия на клетки даже в такой высокой концентрации, как 2000 мкг/мл [6].

Механизм противогерпетического действия гликопротеинов *G. lucidum* неизвестен. Однако, по всей видимости, гликопротеины связываются со специфичными гликопротеинами вируса герпеса, ответственными за прикрепление и проникновение в клетку, или ингибируют адгезию вируса герпеса с клеткой, в конечном счёте, препятствуя взаимодействию вируса с мембраной клетки [7]. Способностью влиять на ранние этапы взаимодействия вируса с клеткой-хозяином авторы, получившие фракцию GLPG, объясняют тот факт, что она обладала минимальной противогерпетической эффективностью при обработке клеток после инфицирования, тогда как в тех же концентрациях при обработке до и во время инфицирования продемонстрировала достоверный высокий эффект [8].

Содержащий лигнин водорастворимый экстракт мицелия *Lentinus edodes* (Berk.) Singer, известный под названием JLS и JLS-18, останавливал высвобождение вируса простого герпеса типа I в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [9].

Из плодовых тел *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray был выделен белок, ингибирующий репликацию вируса простого герпеса типа I в системе *in vivo*. Белок, названный авторами GFАНР, значительно нейтрализовал у лабораторных животных последствия заболевания вирусом простого герпеса типа I, такие как блефарит, неоваскуларизация и кератит. Местное введение GFАНР в роговицу мышам значительно тормозило вирусную продукцию. По-видимому, GFАНР одновременно инактивировал вирус и ингибировал его проникновение в клетки линии Vero [10].

Сесквитерпены, выделенные из плодовых тел *Lactarius* spp., ингибировали репликацию вируса простого герпеса типа I в системе *in vitro* [11]. Тритерпены ганодерон А, люциальдегид В и эргоста-7,22-диен-3 $\beta$ -ол, выделенные из плодовых тел *Ganoderma pfeifferi* Bres., проявляли высокую ингибирующую активность в отношении вируса простого герпеса [12].

Водный экстракт *Inonotus obliquus* (Ach. ex Pers.) Pilát проявлял противовирусную активность в отношении вируса простого герпеса типа I, выражающуюся в ингибировании прикрепления вируса к мембране. Водный экстракт *I. obliquus* воздействовал на вирусные гликопротеины, что приводило к воспрепятствованию прикрепления вирусов к мембранам клеток [13].

Две группы ученых изучали действие полисахаридов *Agaricus brasiliensis* Wasser, M. Didukh в отношении вирусов простого герпеса. Из мицелия *A. brasiliensis* был выделен глюкоманнан ( $\beta$ -(1  $\rightarrow$  2)-глюко- $\beta$ -(1  $\rightarrow$  3)-маннан), его сульфатированное производное, названное MI-S,

показало эффективность в отношении вирусов простого герпеса типов I и II в опытах *in vitro* и *in vivo*. С использованием культуры клеток Vero было показано, что MI-S был активен в отношении вирусов простого герпеса типа I, включая ацикловирустойчивый штамм 29R, и типа II. Согласно полученным результатам MI-S препятствовал адсорбции вируса, его проникновению в клетку, экспрессии вирусных белков [14]. MI-S был эффективен в опытах на лабораторных животных при пероральном введении, уменьшая количественные показатели повреждения кожи и слизистых. Также он был способен к ингибирующему действию в отношении простого герпеса типа II, блокируя его передачу половым путем [15].

В работе К.М. Yamamoto с соавт. выделенный из *A. brasiliensis* полисахарид и его сульфатированное производное в опытах *in vitro* ингибировали репликацию простого вируса герпеса I типа и вируса герпеса крупного рогатого скота I типа, воздействуя на ранние этапы этого процесса, однако не оказывая влияния на адсорбцию вируса к клеточной стенке [16].

Активность в отношении вируса простого герпеса II типа в опытах *in vitro* проявили водные экстракты и суммарные фракции полисахаридов, полученные из мицелия *G. lucidum*, *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *Pleurotus citrinopileatus* Singer, мицелия и плодовых тел *L. edodes* [17]. В опытах *in vivo* было показано, что выживаемость мышей при внутрибрюшинном введении им за сутки до инфицирования вирусом простого герпеса II типа водных экстрактов выращенного на зерне мицелия *L. edodes* или *P. ostreatus* составляет 100%, водного экстракта собранных в природе плодовых тел *Hydnellum compactum* (Pers.) P. Karst. — 90% [18].

Водные экстракты плодовых тел *Coprinus comatus* (O. F. Müll.) Pers. и *Trametes trogii* Berk., а также этаноловые экстракты плодовых тел *Lycoperdon pyriforme* Vent., *Phallus impudicus* L., *Steccherinum ochraceum* (Pers.) Gray и *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. показали выраженную активность в отношении вируса простого герпеса II типа в опыте *in vitro* с использованием перевиваемой линии клеток Vero [19].

**1.2 Активность в отношении вируса Эпштейна–Барр.** Вирус Эпштейна–Барр является одним из самых распространенных вирусов человека. У многих людей, зараженных вирусом Эпштейна–Барр, болезнь проходит бессимптомно. С этим вирусом ассоциирован ряд заболеваний, среди которых: инфекционный мононуклеоз, лимфогранулематоз (болезнь Ходжкина), лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома, синдром хронической усталости и другие заболевания.

Выделенные из плодовых тел *G. lucidum* три-терпены: люцидиновые кислоты А, С, D(2), E(2), Р, ганодеровые кислоты Е, F, Т-Q, сложные эфиры — метиллюциденаты А, D(2), E(2), F, L и метилганодерат F ингибировали в клетках линии Raji индукцию антигена EBV-ЕА вируса Эпштейна–Барр, происходившую под действием 12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетата [20].

## 2. Противовирусное действие в отношении ретровирусов

К ретровирусам (семейство *Retroviridae*) относятся РНК-содержащие вирусы, заражающие преимущественно позвоночных. После инфицирования клетки в цитоплазме начинается синтез вирусного генома с использованием РНК в качестве матрицы по механизму обратной транскрипции. Наиболее известный и активно изучаемый представитель — вирус иммунодефицита человека (ВИЧ).

**Активность в отношении вируса ВИЧ.** ВИЧ вызывает заболевание, последняя стадия которого известна как синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД). ВИЧ поражает, прежде всего клетки иммунной системы: CD4+, Т-лимфоциты, макрофаги и дендритные клетки.

В настоящее время существует несколько активно используемых в терапии СПИДа препаратов, которые можно разделить на три класса: 1) ингибиторы протеазы, 2) нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, 3) нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы. Однако появление устойчивых штаммов вирусов и потенциальная токсичность используемых на сегодняшний день препаратов в антиретровирусной терапии усиливают актуальность поиска новых эффективных средств. Известно около 100 препаратов из растительного и грибного сырья, ингибирующих ВИЧ.

Результаты исследований *in vitro* показали, что низкомолекулярные фракции и тритерпены, выделенные из *G. lucidum*, оказывали сильное ингибирующее действие на протеазу вируса, обратную транскриптазу ВИЧ и ДНК-полимеразу, что препятствовало функционированию ВИЧ [21–25]. Инкубирование Т-клеток Jurkat с этилацетатной (50 мкг/мл) и щелочной (100 мкг/мл) фракциями плодовых тел *G. lucidum* привело к ингибированию ВИЧ на 75 и 66% соответственно. Высокомолекулярные фракции плодовых тел *G. lucidum* не ингибировали цитопатические эффекты, вызываемые ВИЧ [22, 23]. Ганодериол F и ганодерманонтриол, выделенные из метанолового экстракта плодовых тел *G. lucidum*, ингибировали ВИЧ-1: их IC<sub>100</sub> составляла 7,8 мкг/мл [21].

Достоверную ингибирующую активность в отношении протеазы ВИЧ-1 проявляли ганодер-

ровые кислоты А, В, С1, Н,  $\alpha$ , ганодериолы А и В, выделенные из метанолового экстракта плодовых тел *G.lucidum* и выделенные из спор *G.lucidum* ганодеро-вая кислота  $\beta$ , люцидумол В, ганодерманондиол, ганодерманонтриол, ганолуцидовая кислота А [24].

Выделенные из плодовых тел *G.lucidum* люциденовая кислота О и люциденовый лактон ингибировали обратную транскриптазу ВИЧ-1 [25].

Полисахаридные препараты *L.edodes*, выделенные из мицелия и плодовых тел, такие как лентинан, ЛЕМ (сухой экстракт мицелия шиитаке) и KS-2 обладают противовирусным действием в отношении ВИЧ. Экстракт культуральной жидкости и ЛЕМ подавляли в опытах *in vitro* репликацию и цитопатическое действие вируса иммунодефицита человека, стимулируя Т-лимфоциты и увеличивая образование интерлейкина-1 (ИЛ-1) за счёт перитонеальных макрофагов Лентинан повышал противовирусную активность азидотимидина, проявляющуюся в остановке поверхностной экспрессии ВИЧ на Т-клетках [26, 27]. Лентинан и его сульфатированная форма ингибировали репликацию ВИЧ и его проникновение в клетку. Сульфатированный лентинан предотвращал цитопатические эффекты в клеточной линии, зараженной ретровирусом — Т-клеточным лимфотропным вирусом человека типа 1 [28]. Белок лентин, выделенный из культуральной жидкости *L.edodes*, подавлял активность обратной транскриптазы ВИЧ [29].

### 3. Действие в отношении гепаднавирусов

Семейство гепаднавирусов (семейство *Hepadnaviridae*) включает представителей, которые вызывают заболевания печени у человека и животных. Геном гепаднавирусов состоит из двуни-тчатой ДНК с дефектом плюс-цепи. К гепаднавирусам относится вирус гепатита В.

**Активность в отношении вируса гепатита В.** Вирус гепатита В отличается чрезвычайно высокой устойчивостью к различным физическим и химическим факторам. При вирусном гепатите В происходит гибель заражённых гепатоцитов вследствие атаки собственными иммунными агентами.

Для лечения гепатита В используют противовирусные препараты группы  $\alpha$ -интерферонов и аналоги нуклеозидов (ламивудин, адефовир и др.). Длительное лечение антивирусными препаратами нуклеозидной природы приводит к появлению устойчивых мутантных штаммов вируса гепатита В. Поэтому важным является поиск эффективных в отношении вируса гепатита В препаратов ненуклеозидной природы.

В опытах *in vitro* фракция ганодеро-вых кислот, выделенная из культуральной жидкости *G.lucidum*, обладала активностью в отношении вируса гепа-

тита В. Эта фракция подавляла репликацию вируса гепатита В в клетках линии HepG2215, стабильно продуцирующей вирионы вируса гепатита В, ингибируя секрецию HBs-Ag (поверхностный антиген гепатита В) и HBe-Ag (один из маркёров репликации вируса в клетках печени) из клеток. Изученная фракция ганодеро-вых кислот была не токсична для клеток HepG2215 [30].

Препарат Ганополи, представляющий собой сухой остаток водного экстракта плодовых тел *G.lucidum* с 25% содержанием неочищенных полисахаридов, продемонстрировал достоверную активность в отношении вируса гепатита В в клинических испытаниях. Девяносто пациентов в возрасте от 18 до 70 лет приняли участие в двойном слепом, рандомизированном, многоцентровом исследовании. Лечение в течение 12 недель препаратом в дозе 1800 мг три раза в сутки привело к снижению у 25 % (у 13 из 52) пациентов в сыворотке крови уровня HBe-Ag (секреторная часть ядерного с-антигена HBc-Ag), являющегося одним из маркёров репликации вируса в клетках печени. Его наличие свидетельствует о высокой инфицирующей способности крови и повышенной вероятности хронического поражения печени. Лечение привело также к снижению уровня ДНК вируса гепатита В в сыворотке крови. Снижение уровня HBe-Ag и ДНК вируса гепатита В в сыворотке крови контрольной группы было только у 1 пациента (4% от группы). В результате шестимесячного лечения у 33% пациентов, принимавших экстракт, нормализовался уровень сывороточной аланинаминотрансферазы и у 7 из 52 (13 %) пациентов в сыворотке не был обнаружен HBs-Ag — поверхностный антиген гепатита В (наличие этого антигена свидетельствует об инфицированности гепатитом В). Ни у одного пациента из контрольной группы не было обнаружено снижения уровня аланинаминотрансферазы или отсутствие HBs-Ag [31].

Экстракт мицелия *L.edodes* ЛЕМ стимулировал выделение защитных антител против вируса гепатита В. В клинических испытаниях ЛЕМ участвовали 40 человек с хроническим гепатитом В, которые принимали ЛЕМ по 6 г перорально ежедневно в течение четырёх месяцев. Было показано, что ЛЕМ защищал мембраны клеток печени от проникновения вируса и токсических метаболитов. Проявление симптомов гепатита В было снижено у всех пациентов, у 15 из них вирус был инактивирован. В ходе исследования также было отмечено, что ЛЕМ заметно улучшает функции печени и не вызывает побочных эффектов [32].

Д-фракция (D-fraction) — полисахаридная фракция, выделенная из плодовых тел и мицелия *G.fondosa*, в комбинации с интерфероном- $\alpha$ -2b выражено ингибировали вирус гепатита В в клетках линии HepG2 2.2.15, снижая количество ви-

русной ДНК и вирусных антигенов. Сочетанное применение Д-фракции с интерфероном- $\alpha$ -2b обеспечивало больший эффект, чем каждый препарат по отдельности. Активность комбинации препаратов в 9 раз превышала активность интерферона [33].

Экстракт плодовых тел *A. brasiliensis* нормализовал функции печени у пациентов с гепатитом В. После ежедневного приёма 1500 мг экстракта в течение 12 месяцев у больных снизились уровни аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы с крайне высокого до нормального [34].

#### 4. Действие в отношении пикорнавирусов

Семейство пикорнавирусов (семейство *Picornaviridae*) объединяет маленькие икосаэдрические вирусы высших позвоночных, содержащих одноцепочечную геномную РНК положительной полярности. Эта группа вирусов лишена внешней оболочки. К вирусам этого семейства относятся энтеровирусы, риновирусы, вирус полиомиелита, вирус ящура и др.

**Активность в отношении полиовируса.** Полиовирус — энтеровирус человека, вызывающий полиомиелит.

Водный экстракт, полисахаридная фракция и этаноловый экстракт плодовых тел *A. brasiliensis* показали противовирусный эффект в отношении полиовируса. Наибольший эффект препараты *A. brasiliensis* оказывали при их введении на стадии инфицирования клеток. Так как, метаболиты *A. brasiliensis* лишь незначительно снижали адсорбцию вируса и не проявляли вирулицидной активности, можно предположить, что противовирусные метаболиты *A. brasiliensis* действуют на начальной стадии репликации полиовируса [35].

Водорастворимая фракция JLS, полученная из плодовых тел *L. edodes*, обладала противовирусной активностью в отношении вируса полиомиелита [36].

#### 5. Действие в отношении ортомиксовирусов

Семейство ортомиксовирусы (семейство *Orthomyxoviridae*) включает в себя РНК-содержащие вирусы, которые размножаются в клеточном ядре и цитоплазме птиц, млекопитающих. Распространяются без переносчика. Поражают дыхательные органы. Типичным представителем является вирус гриппа.

Активность в отношении вируса гриппа. Вирус гриппа имеет внешнюю оболочку, состоящую из липопротеидов, при попадании которых в организм начинается тяжёлая интоксикация. Существует три типа вируса гриппа: А, В и С. Большие эпидемии способны вызвать первые два.

Водорастворимая фракция JLS, полученная из плодовых тел *L. edodes*, проявляла иммунологические и противовирусные эффекты в отношении вируса гриппа [36]. Действие в отношении пандемического вируса 2009 г. H1N1, человеческого вируса H3N2, птичьего вируса H9N2, осельтамивироустойчивого вируса H1N1 было обнаружено у водного экстракта *Phellinus igniarius* (L.) Quél. [37]. Изучение действия в отношении вирусов гриппа типа А — человеческого H3N2 и птичьего H5N1 у водных экстрактов мицелия базидиомицетов, собранных на Алтае, позволило выявить активность у штаммов, относящихся к видам *Daedaleopsis confragosa* (Bolton) J. Schröt., *Datronia mollis* (Sommerf.) Donk, *Ischnoderma benzoinum* (Wahlenb.) P. Karst., *Trametes gibbosa* (Pers.) Fr., *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, *Laricifomes officinalis* (Vill.) Kotl., и *Lenzites betulina* (L.) Fr. [38].

Активность в отношении вирусов гриппа была выявлена у индивидуальных соединений — метаболитов базидиомицетов. Существенная противовирусная активность в отношении вирусов гриппа типов А и В была выявлена у двух фенольных соединений гисполона и гиспидина, выделенных из плодовых тел *Inonotus hispidus* (Bull.) P. Karst. [39]. Тритерпены *G.pfeifferi* — ганодермадиол, люцидадиол и аппланоксидовая кислота G были активны в отношении вируса гриппа А типа [40]. Белок массой около 10 KD, выделенный из *Rozites caperatus* (Pers.) P. Karst. и названный RC-183, обладал противовирусной активностью в отношении вируса гриппа А типа [41].

#### 6. Действие в отношении арбовирусов

Арбовирусы — группа вирусов, переносчиками которых являются членистоногие. Арбовирусы относятся к различным семействам, в медицинском отношении наиболее важны представители семи семейств (ареновирусы, буньявирусы, филовирусы, флавивирусы, реовирусы, рабдовирусы, тогавирусы). Арбовирусы имеют одноцепочечную геномную РНК и могут передаваться от животных человеку через насекомых и вызывать такие заболевания, как энцефалит, жёлтая лихорадка, лихорадка Данге.

##### 6.1. Активность в отношении рабдовирусов

Представители семейства рабдовирусов (семейство *Rhabdoviridae*) вызывают ряд тяжёлых заболеваний человека, домашних животных и зерновых культур. Геном представлен одной молекулой одноцепочечной РНК. К рабдовирусам относятся вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита и др.

Активность в отношении вируса везикулярного стоматита. Вирус везикулярного стоматита вызывает болезнь животных и иногда поражает человека.

В опытах *in vitro* на клетках линий Vero и Her-2 было показано, что водорастворимые и метанолрастворимые субстанции, выделенные из плодовых тел *G.lucidum*, обладали противовирусным действием, ингибируя цитопатические эффекты вируса везикулярного стоматита. Одна из изученных метанолрастворимых фракций, не обладая цитотоксичностью в концентрации 1000 мкг/мл, проявила сильную противовирусную активность в отношении вируса везикулярного стоматита серотипа Нью-Джерси [42]. Водорастворимая фракция JLS, полученная из плодовых тел *L.edodes*, оказывала иммунологическое и противовирусное действие в отношении вирусов везикулярного стоматита [36].

### 6.2 Активность в отношении тогавирусов

Семейство тогавирусы (семейство *Togaviridae*) объединяет наиболее мелкие оболочечные РНК-содержащие вирусы животных, имеющие нуклеокапсид с кубической симметрией. Включает два основных рода: альфавирусы (вирусы, передаваемые членистоногими) и рубивирусы (вирус краснухи, патогенный только для человека). Переносчиками заболеваний, вызываемых альфавирусами, являются комары. Альфавирусы вызывают вирусный энцефалит, в частности западный, восточный и венесуэльский энцефаломиелит лошадей.

**Активность в отношении вируса Западного лошадиного энцефаломиелита.** Вирус Западного лошадиного энцефаломиелита в США циркулирует между птицами и комарами. Западным лошадиным энцефаломиелитом болеют люди и лошади, но они не играют роли в циркуляции вируса. Среди детей и пожилых людей высока летальность от этого заболевания.

Водный экстракт *A.brasiliensis* ингибировал цитопатический эффект вируса Западного лошадиного энцефаломиелита [43]. Выделенная из плодовых тел *L.edodes* водорастворимая фракция JLS проявляла активность в отношении лошадиного энцефалита [36].

## 7. Действие в отношении флавивирусов

Семейство *Flaviviridae* включает РНК-содержащие вирусы, сходные по строению с тогавирусами. Флавивирусы имеют сферическую форму, вирион состоит из оболочки, капсида и одноцепочечной линейной плюс-РНК. К флавивирусам относятся вирус лихорадки Западного Нила и вирус гепатита С.

В опытах *in vitro* выявлены фракции водного экстракта *I.obliquus*, проявляющие вирулицидное действие в отношении вируса гепатита С. Отобранные фракции гриба характеризовались низкими цитотоксическими и высокими противовирусными свойствами. Противовирусные свойства исследуемых фракций были отмечены как при их

применении за 24 часа до заражения клеток, так и одновременно с инфицированием клеток. [44].

## II. Иммуномодулирующее действие

Одним из важнейших свойств ряда метаболитов базидиальных грибов, прежде всего полисахаридов и их комплексов с белками, является их иммуномодулирующее действие. В частности, эти соединения способны повышать резистентность организма к различным инфекционным агентам, в том числе и к вирусам, повышать противовирусный иммунитет организма.

Противовирусный иммунитет определяется сочетанием специфических факторов (иммуноглобулинов, В- и Т-лимфоцитов) и факторов неспецифической (естественной) резистентности (воспалительной реакции, интерферонов, противовирусных ингибиторов, естественных киллеров, макрофагов и др.).

Важнейшими факторами неспецифической резистентности являются интерфероны, образование которых — одна из первых защитных реакций организма на вирусную инфекцию. Интерфероны подавляют внутриклеточные этапы репродукции вирусов в заражённых клетках и обеспечивают невосприимчивость к вирусам окружающих здоровых клеток. В опытах *in vivo* и *in vitro* было показано, что препараты, полученные из различных базидиальных грибов, например *L.edodes*, *G.lucidum*, *G.froncosa*, *A.brasiliensis*, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *P.ostreatus* и многих других, стимулировали экспрессию и-РНК интерферона- $\gamma$  и продукцию этого цитокина Т-лимфоцитами [45]. В опыте *in vitro* с использованием культуры лейкоцитов крови человека интерферон-индуцирующую способность показали суммарные полисахаридные фракции из мицелия *G.lucidum* и *F.velutipes*, при этом первая стимулировала образование интерферона- $\gamma$ , а вторая, предположительно, интерферона- $\alpha$  [46, 47].

Большую роль в неспецифической резистентности организма в отношении вирусов играют макрофаги и естественные киллеры. Одним из важнейших механизмов иммуномодулирующего действия полисахаридов базидиальных грибов является активация макрофагов и влияние на их функции. В опытах *in vivo* и *in vitro* было показано, что полисахариды, выделенные из плодовых тел и мицелия базидиомицетов, повышают фагоцитарную активность и эффективность фагоцитоза перитонеальных макрофагов [45], значительно стимулируют продукцию макрофагами цитокинов: интерлейкина- $1\beta$ , интерлейкина-6, интерлейкина-12, фактора некроза опухоли- $\alpha$ , колониестимулирующих факторов: гранулоцитарного — Г-КСФ и макрофагального — М-КСФ [45, 48, 49]. Показано, что полисахариды *G.lucidum* и *L.edodes* могут



достоверно повышать количество естественных киллеров в популяции мононуклеарных клеток пуповинной крови человека [50]. Ганодеровая кислота Me, выделенная из мицелия *G.lucidum*, при введении мышам достоверно увеличивала активность естественных киллеров, повышала экспрессию интерлейкина-2 и интерферона- $\gamma$  [51].

Полисахариды и тритерпены *G.lucidum* способны повышать активность естественных киллеров, лимфоцитов, способных осуществлять быстрый цитолитический чужеродных пролиферирующих клеток, в том числе опухолевых клеток.

Факторы неспецифической резистентности в сочетании с медиаторами воспаления способны разрушать инфицированные вирусами клетки. Если этого не происходит и вирусы размножаются, наступает вторая (специфическая) стадия противовирусного иммунитета, связанная с продукцией вируснейтрализующих антител В-лимфоцитами и активацией регуляторных Т-лимфоцитов (Т-хелперов, Т-супрессоров, цитотоксических лимфоцитов), а также обширного круга Т-лимфоцитов — эффекторов лимфоцитарно-моноцитарного ряда.

Полисахариды, выделенные из плодовых тел, спор и мицелия базидиальных грибов, способны влиять на пролиферацию Т- и В-лимфоцитов. По-

лисахариды базидиомицетов могут стимулировать активность цитотоксических Т-лимфоцитов [45].

Полисахаридные фракции *G.lucidum* оказывают влияние на функционирование нейтрофилов — основных эффекторных клеток на ранних этапах инфекционной агрессии. Полисахаридная фракция, выделенная из плодовых тел, увеличивала фагоцитарную активность и хемотаксис нейтрофилов человека и ингибировала спонтанный и Fas-индуцированный апоптоз нейтрофилов [52].

Таким образом, приведённые выше данные литературы свидетельствуют о способности базидиальных грибов синтезировать метаболиты с противовирусными свойствами. Выявлены соединения или их композиции, обладающие как прямым противовирусным действием по отношению к различным патогенным для человека вирусам, так и оказывающие выраженное активирующее влияние на систему иммунитета и принимающие участие практически во всех его реакциях, увеличивая образование антител, стимулируя фагоцитоз, усиливая цитотоксическую активность лимфоцитов, влияя на процессы реализации иммунологической памяти. Продолжение исследований в данном направлении позволит разработать активные фармакологические субстанции с выраженным противовирусным действием.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Ео S.K., Kim Y.S., Lee C.K., Han S.S.* Antiviral activities of various water and methanol soluble substances isolated from *Ganoderma lucidum*. *J Ethnopharmacol* 1999; 68: 129—136.
2. *Ео S.K., Kim Y.S., Lee C.K., Han S.S.* Antiherpetic activities of various protein bound polysaccharides isolated from *Ganoderma lucidum*. *J Ethnopharmacol* 1999; 68: 175—181
3. *Kim Y.S., Ео S.K., Oh K.W., Lee C.K., Ham S.S.* Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with interferons. *J Ethnopharmacol* 2000; 72: 451—458.
4. *Oh K.W., Lee C.K., Kim Y.S., Ео S.K., Han S.S.* Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with acyclovir and vidarabine. *J Ethnopharmacol* 2000; 72: 221—227.
5. *Ео S.K., Kim Y.S., Lee C.K., Han S.S.* Possible mode of antiviral activity of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* on herpes simplex viruses. *J Ethnopharmacol* 2000; 72: 474—481.
6. *Liu J., Yang F., Ye L.B., Yang X.J., Timani K.A., Zheng Y., Wang Y.H.* Possible mode of action of antiherpetic activities of a proteoglycan isolated from the mycelia of *Ganoderma lucidum in vitro*. *J Ethnopharmacol* 2004; 95: 2—3: 265—272.
7. *Gao Y., Tang W., Gao H., Chan E., Lan J., Li X., Zhou S.* Antimicrobial activity of the medicinal mushroom *Ganoderma*. *Food Rev International* 2005; 21: 2: 211—229.
8. *Li Z., Liu J., Zhao Y.* Possible mechanism underlying the antiherpetic activity of a proteoglycan isolated from the mycelia of *Ganoderma lucidum in vitro*. *J Biochem Mol Biol* 2005; 38: 1: 34—40.
9. *Sarkar S. et al.* Antiviral effect of the extract of culture medium of *Lentinus edodes* mycelia on the replication of herpes simplex virus type 1. *Antiviral Res* 1993; 20: 293—303.
10. *Gu C.Q., Li J.W., Chao F., Jin M., Wang X.W., Shen Z.Q.* Isolation, identification and function of a novel anti-*HSV-1* protein from *Grifola frondosa*. *Antiviral Res* 2007; 75: 3: 250—257.
11. *Krawczyk E., Kniotek M., Nowaczyk M., Dzieciatkowski T., Przybylski M., Majewska A., Luczak M.* N-acetylphenylisoserinates of Lactarius sesquiterpenoid alcohols-cytotoxic, antiviral, antiproliferative and immunotropic activities *in vitro*. *Planta Med* 2006; 72: 7: 615—620.
12. *Niedermeyer T.H., Lindequist U., Mentel R., Gordes D., Schmidt E., Thurow K., Lalk M.* Antiviral terpenoid constituents of *Ganoderma pfeifferi*. *J Nat Prod* 2005; 68: 12: 1728—1731.

13. *Pan H.H., Yu X.T., Li T., Wu H.L., Jiao C.W., Cai M.H., Li X.M., Xie Y.Z., Wang Y., Peng T.* Aqueous extract from a Chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher Basidiomycetes), prevents herpes simplex virus entry through inhibition of viral-induced membrane fusion. *Int J Med Mashroom* 2013; 15: 1: 29—38.
14. *Cardozo F. T. G., Camelini C. M., Mascarello A., Rossi M. J., Nunes R. J., Barardi C. R. M., Mendonza M. M., Simxes C. M. O.* Antiherpetic activity of a sulfated polysaccharide from *Agaricus brasiliensis* mycelia. *Antiviral Res* 2011; 92: 1: 108—114.
15. *Cardozo F.T., Larsen I.V., Carballo E.V., Jose G., Stern R.A., Brummel R.C., Camelini C.M., Rossi M.J., Simões C.M., Brandt C.R.* *In vivo* anti-herpes simplex virus activity of a sulfated derivative of *Agaricus brasiliensis* mycelial polysaccharide. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 6: 2541—2549.
16. *Yamamoto K.A., Galhardi L.C., Rincão V.P., Soares S.A., Vieira I.G., Ricardo N.M., Nozawa C., Linhares R.E.* Antiherpetic activity of an *Agaricus brasiliensis* polysaccharide, its sulfated derivative and fractions. *Int J Biol Macromol* 2013; 52: 9—13.
17. *Разумов И.А., Колосогова Т.А., Казачинская Е.И., Пучкова Л.И., Рязанова Н.С., Горбунова И.А., Михайловская И.Н., Локтев В.Б., Теплякова Т.В.* Противовирусная активность водных экстрактов и полисахаридных фракций, полученных из мицелия и плодовых тел высших грибов. *Антибиотики и химиотер* 2010; 55: 9—10: 14—18.
18. *Разумов И.А., Казачинская Е.И., Пучкова Л.И., Колосогова Т.А., Горбунова И.А., Локтев В.Б., Теплякова Т.В.* Протективная активность водных экстрактов из высших грибов при экспериментальной герпесвирусной инфекции белых мышей. *Антибиотики и химиотер* 2013; 59: 9—10: 8—12.
19. *Костина Н.Е., Ибрагимова Ж.Б., Проценко М.А., Макаревич Е.В., Скарнович М.А., Филиппова Е.И., Горбунова И.А., Власенко В.А., Трошкова Г.П., Мазуркова Н.А., Шишклина Л.Н.* Выделение, характеристика и противовирусные свойства биологически активных веществ из высших грибов Западной Сибири. *Совр пробл наук обр* 2013; 3 (Электронный журнал).
20. *Iwatsuki K., Akihisa T., Tokuda H., Ukiya M., Oshikubo M., Kimura Y., Asano T., Nomura A., Nishino H.* Lucidenic acids P and Q, methyl lucidenate P, and other triterpenoids from the fungus *Ganoderma lucidum* and their inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation. *J Natur prod* 2003; 66: 12: 1582—1585.
21. *El-Mekkawy S., Meselhy M.R., Nakamura H., Tezuka Y., Hattori M., Kakiuchi N., Shomotonho K., Kawahata T., Otake T.* Anti-HIV and

- anti-HIV-1-protease substances from *Ganoderma lucidum*. Phytochemistry 1998; 49: 6: 1651–1657.
22. Kim B.K., Kim H.W., Choi E.C. Medicinal efficacies of *Ganoderma lucidum* (XV) Anti-HIV activities of *Ganoderma lucidum*. Proceedings of the 2nd International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products, 1996. www.worldmushroomsociety.com
  23. Kim H.W., Shim M.J., Choi E.C., Kim B.K. Inhibition of cytopathic effect of human immunodeficiency virus-1 by water-soluble extract of *Ganoderma lucidum*. Archiv Pharmacol Res 1997; 20: 425–431.
  24. Min B.S., Nakamura N., Miyashiro H., Bae K.W., Hattori M. Triterpenes from the spores of *Ganoderma lucidum* and their inhibitory activity against HIV-1 protease. Chem Pharmaceut Bull 1998; 46: 10: 1607–1612.
  25. Mizushima Y., Takahashi N., Hanashima L., Koshino H., Esumi Y., Uzawa J., Sugawara F., Sakaguchi K. Lucidenic acid O and lactone, new terpene inhibitors of eukaryotic DNA polymerases from a basidiomycete, *Ganoderma lucidum*. Bioorganic & Medicinal Chemistry 1999; 7: 9: 2047–2052.
  26. Suzuki H., Okubo A., Yamazaki S., Suzuki K., Mitsuya H., Toda S. Inhibition of the infectivity and cytopathic effect of human immunodeficiency virus by water-soluble lignin in an extract of the culture medium of *Lentinus edodes* mycelia (LEM). Biochem Biophys Res Commun 1989; 160: 367–373.
  27. Tochikura T.S., Nakashima H., Ohashi Y., Yamamoto N. Inhibition (*in vitro*) of replication and of the cytopathic effect of human immunodeficiency virus by an extract of the culture medium of *Lentinus edodes* mycelia. Med Microbiol Immunol 1988; 177: 235–244.
  28. Hatanaka K., Yoshida T., Uryu T., Yoshida O., Nakashima H., Yamamoto N., Mimura T., Kaneko Y. Synthesis of an inhibitor of human immunodeficiency virus infection. Jpn J Cancer Res 1989; 80: 2: 95–98.
  29. Ngai P.H., Ng T.B. Lentin, a novel and potent antifungal protein from shiitake mushroom with inhibitory effects on activity of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase and proliferation of leukemia cells. Life Sci 2003; 73: 26: 3363–3374.
  30. Li Y.Q., Wang S.F. Anti-hepatitis B activities of ganoderic acid from *Ganoderma lucidum*. Biotechnol Lett 2006; 28: 11: 837–841.
  31. Gao Y., Zhou S., Chen G., Dai X., Ye J. and Gao H. A Phase I/II Study of a *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P.Karst. (Ling Zhi, Reishi Mushroom) Extract in Patients with Chronic Hepatitis B. Intern J Med Mush 2002; 4: 321–327.
  32. Jones K. Shiitake – medicine in a mushroom [Электронный ресурс]. Пежим доступа: <http://www.immunesupport.com/news/97spr007txt.htm>
  33. Gu C.Q., Li J., Chao F.H. Inhibition of hepatitis B virus by D-fraction from *Grifola frondosa*: synergistic effect of combination with interferon-alpha in HepG2 2.2.15. Antiviral Res 2006; 72: 2: 162–165.
  34. Hsu C.H., Hwang K.C., Chiang Y.H., Chou P. The mushroom *Agaricus blazei* Murill extract normalizes liver function in patients with chronic hepatitis B. J Altern Complement Med 2008; 14: 3: 299–301.
  35. Faccin L.C., Benati F., Rincão V.P., Mfontovani M.S., Soares S.A., Gonzaga M.L., Nozawa C., Carvalho Linhares R.E. Antiviral activity of aqueous and ethanol extracts and of an isolated polysaccharide from *Agaricus brasiliensis* against pliovirus type 2. Lett App Microbiol 2007; 45: 24–28.
  36. Przybyłowicz P., Donoghue J. Shiitake growers handbook. The art and science of mushroom cultivation. Northwest mycological consultants, Inc. Kendall. Hunt Publishing Company. 1460 Kerper Boulevard P.O. Box 539 Dubuque, Iowa 52004-0539, 1991. 217.
  37. Lee S., Kim J.I., Heo J., Lee I., Park S., Hwang M.W., Bae J.Y. The anti-influenza virus effect of *Phellinus ingiarius* extract. J Microbiol 2013; 51: 5: 676–681.
  38. Teplyakova T.V., Psurtseva N.V., Kosogova T.A., Mazurkova N.A., Khanin V.A., Vlasenko V.A. Antiviral activity of polyporoid mushrooms (higher Basidiomycetes) from Altai Mountains (Russia). Int J Med Mush 2012; 14: 1: 37–45.
  39. Awadh A.N.A., Mothana R.A., Lesnau A., Pilgrim H., Lindequist U. Antiviral activity of *Inonotus hispidus*. Fitoterapia 2003; 74: 5: 483–485.
  40. Mothana R.A., Awandh A.N.A., Jansen R., Wegner U., Mentel R., Lindequist U. Antiviral lanostanoid triterpenes from the fungus *Ganoderma pfeifferi*. Fitoterapia 2003; 74: 1–2: 177–180.
  41. Piraino F., Brandt C.R. Isolation and partial characterization of an antiviral, RC-183, from the edible mushroom *Rozites caperata*. Antiviral Res 1999; 43: 2: 67–78.
  42. Eo S.K., Kim Y.S., Lee C.K., Han S.S. Antiviral activities of various water and methanol soluble substances isolated from *Ganoderma lucidum*. J Ethnopharmacol 1999; 68: 129–136.
  43. Sorimachi, K., Ikehara, Y., Maezato, G., Okubo, A., Yamazaki, S., Akimoto, K. and Niwa, A. Inhibition by *Agaricus blazei* Murrill fractions of cytopathic effect induced by Western Equine Encephalitis (WEE) Virus on VERO Cells *in vitro*. Biosci Biotechnol Biochem 2001; 61: 1645–1647.
  44. Shibnev V.A., Mishin D.V., Garaev T.M., Finogenova N.P., Boticov A.G., Deryabin P.G. Antiviral activity of *Inonotus obliquus* fungus extract toward infection caused by hepatitis C virus in cell culture. Bull Exp Biol Med 2011; 151: 5: 612–614.
  45. Wasser S. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Appl Microbiol Biotechnol 2002; 60: 258–274.
  46. Краснополская Л.М., Автономова А.В., Щегловитова О.Н., Гушин П.А. Погружённое культивирование *Ganoderma lucidum* и интерферониндуцирующие свойства эндополисахаридов гриба. Башкир хим журн 2012; 19: 4: 83–88.
  47. Щегловитова О.Н., Бабаянц А.А., Склянкина Н.Н., Болдырева Н.А., Леонтьева М.И., Автономова А.В., Краснополская Л.М. Полисахариды из мицелия *Ganoderma lucidum* и *Flammulina velutipes* индуцируют интерферон в культуре лейкоцитов крови человека, но различаются по типу продуцируемого интерферона. Иммунопатол алергол инфектол 2010; 1: 276.
  48. Wang, S. Y., Hsu M. L., Hsu H. C., Tzeng C. H., Le S. S., Shiao M. S., Ho C. K. The antitumor effect of *Ganoderma lucidum* is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes. Intern J Can 1997; 70: 6: 669–705.
  49. Ooi L. S., Ooi V. E., Fung M. C. Induction of gene expression of immunomodulatory cytokines in the mouse by a polysaccharides from *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P.Karst. (Aphyllphoromycetidae). Intern J Med Mush 2002; 4: 1: 27–35.
  50. Chien C. M., Cheng J. L., Chang W. T., Tien M. H., Tsao C. M., Chang Y. H., et al. Polysaccharides of *Ganoderma lucidum* alter cell immunophenotypic expression and enhance CS56+ NK-cell cytotoxicity in cord blood. Bioorg Med Chem 2004; 12: 21: 5603–5609.
  51. Wang G., Zhao J., Liu J., Huang Y., Zhong J.J., Tang W. Enhancement of IL-2 and IFN-gamma expression and NK cells activity involved in the anti-tumor effect of ganoderic acid Me *in vivo*. Intern immunopharmacol 2007; 7: 6: 864–870.
  52. Hsu M. J., Lee S. S., Lee S. T., Lin W. W. Signaling mechanism of enhanced neutrophil phagocytosis and chemotaxis by the polysaccharides purified from *Ganoderma lucidum*. Brit J Pharmacol 2003; 139: 289–298.