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 summurized. 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 серьёзную опасность, связанную с высокой контагиозностью инфекций, высокой частотой тяжёлого 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 тяжёлых 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.

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

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

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.

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 Hep-2, инфицированных вирусами герпеса типов I и II и снижали цитопатические эффекты в инфицированных клетках [2]. Дальнейшие исследования одного из гликопротеинов, названного авторами APBP, показали, что он не оказывал токсического действия на клетки линии Vero в концентрации 1×10^4 мкг/мл и проявлял противовирусное действие в отношении вирусов простого герпеса типов I и II [3, 4]. Гликопротеин APBP 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 APBP с интерферонами-α и -γ [3]. При этом изученный гликопротеин не индуцировал выработку интерферона-γ 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 цитотоксического 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 лигнины 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 GFAHP, значительно нейтрализовал у лабораторных животных последствия заболевания вирусом простого герпеса типа I, такие как блефарит, неоваскулризация и кератит. Местное введение GFAHP в роговицу мышам значительно тормозило вирусную продукцию. По-видимому, GFAHP одовременно 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 A, люциальдегид B и эргоста-7,22-диен-3β-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 (β-(1 → 2)-глюко-β-(1 → 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 ацикловироустойчивый 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 K.M.Yamomoto 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 распространённых вирусов человека. У многих людей, заражённых вирусом Эпштейна–Барр, болезнь проходит бессимптомно. С этим вирусом ассоциирован ряд заболеваний, среди которых: инфекционный мононуклоз, лимфогранулематоз (болезнь Ходжкина), лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома, синдром хронической усталости и другие заболевания.

Выделенные из плодовых тел *G.lucidum* тритерпены: люцидиновые кислоты A, C, D(2), E(2), P, ганодеровые кислоты E, F, T-Q, сложные эфиры — метиллюциденаты A, D(2), E(2), F, L и метилганодерат F ингибировали в клетках линии Raji индукцию антигена EBV-EA вируса Эпштейна–Барр, происходившую под действием 12-О-тетрадеканоилфорбол-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) ненуклеозидные 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_{100} составляла 7,8 мкг/мл [21].

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

ровые кислоты A, B, C1, H, α, ганодериолы A и B, выделенные из метанолового экстракта плодовых тел *G.lucidum* и выделенные из спор *G.lucidum* ганодеровая кислота β, люцидумол B, ганодерманондиол, ганодерманонтриол, ганолюцидовая кислота A [24].

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

Полисахаридные препараты *L.edodes*, выделенные из мицелия и плодовых тел, такие как лентинан, LEM (сухой экстракт мицелия шиитаке) и KS-2 обладают противовирусным действием в отношении ВИЧ. Экстракт культуральной жидкости и LEM 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*, подалял 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 двунитчатой ДНК с дефектом плюс-цепи. К гепаднавирусам относится вирус гепатита B.

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

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

В опытах *in vitro* фракция ганодеровых кислот, выделенная из культуральной жидкости *G.lucidum*, обладала активностью в отношении вируса гепатита B. Эта фракция подавляла репликацию вируса гепатита B в клетках линии HepG2215, стабильно продуцирующей вирионы вируса гепатита B, ингибируя секрецию HBs-Ag (поверхностный антиген гепатита B) и HBe-Ag (один из маркёров репликации вируса в клетках печени) из клеток. Изученная фракция ганодеровых 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 B 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 B в сыворотке крови. Снижение уровня HBe-Ag и ДНК вируса гепатита B 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 B (наличие этого антигена свидетельствует об инфицированности гепатитом B). Ни у одного пациента из контрольной группы не было обнаружено снижения уровня аланинаминотрансферазы или отсутствие HBs-Ag [31].

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

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

русной ДНК и вирусных антигенов. Сочетанное применение Д-фракции с интерфероном-α-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 аланинаминотрасферазы и аспартатаминотрансферазы с крайне высокого до нормального [34].

4. Действие в отношении пикорнавирусов

Семейство пикорнавирусов (семейство *Picornaviridaea*) 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 антивирусной 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 антивирусные 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 Hep-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 антивирусное 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.frondosa, A.brasiliensis, Flammulina velutipes* (Curtis) Singer, *P.ostreatus* и многих других, стимулировали экспрессию и-РНК интерферона-γ 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-γ, а вторая, предположительно, интерферона-α [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-1β, интерлейкина-6, интерлейкина-12, фактора некроза опухоли-α, 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-γ [51].

Полисахариды и тритерпены *G.lucidum* способны повышать активность естественных киллеров, лимфоцитов, способных осуществлять быстрый цитолиз 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. Полисахариды базидиомицетов могут стимулировать активность цитотоксичных 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. *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.
2. *Eo 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., Eo 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., Eo 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. *Eo 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., Gördes 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* antiherpes 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., Щербакова 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., Шишкина 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 Pharmacal 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 Pharmaceutic Bull 1998; 46: 10: 1607—1612.
25. *Mizushina 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]. Режим 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. Antviral 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., Rincao V.P., Mfntovani M.S., Soares S.A., Gonzaga M.L., Nozawa C., Carvalho Linhares R.E.* Antiviral activity of aqueus and ethanol extracts and of an isolated polysaccharide from *Agaricus brasiliensis* against pliovirus type 2. Lett App Microbiol 2007; 45: 24—28.
36. *Przybylowicz P., Donoqhue 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*.. Fititerapia 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., Yamazakki, 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. *Краснопольская Л.М., Автономова А.В., Щегловитова О.Н., Гущин 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., Краснопольская Л.М.* Полисахариды из мицелия *Ganoderma lucidum* и *Flammulina velutipes* индуцируют интерферон в культуре лейкоцитов крови человека, но различаются по типу продуцируемого интерферона. Иммунопатол аллергол 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 (Aphyllophoromycetideae). 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.