

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»

Директор інституту(декан факультету)

Наталія ГРЕГІРЧАК
(підпис) (прізвище та ініціали)

« » лютого 2022 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри

Віктор СТАБНІКОВ
(підпис) (прізвище та ініціали)

« » лютого 2022 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код та назва спеціальності)

освітньо-професійної програми Фармацевтична біотехнологія

на тему: Антифунгальні властивості грибів відділу *Basidiomycetes*

Виконав: здобувач II курсу, групи 02

КЕРНЕР Аліна Олександрівна

(прізвище, ім'я, по батькові повністю)

(підпис)

Керівник

КРАСІНЬКО Вікторія Олегівна

(прізвище, ім'я та по батькові повністю)

(підпис)

Консультанти Галеб АЛЬ-МААЛІ

(ім'я та прізвище)

(підпис)

(ім'я та прізвище)

(підпис)

(ім'я та прізвище)

(підпис)

Рецензент

Оксана МИХАЙЛОВА

(ім'я та прізвище)

(підпис)

Я, як здобувач(ка) Національного університету харчових технологій, розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавав(-ла) і не одержував(-ла) незгоєвоєної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ієї, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Здобувач _____
(підпис)

Київ - 2022 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю

Кафедра біотехнології і мікробіології

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Фармацевтична біотехнологія»

(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

біотехнології і мікробіології

Віктор СТАБНИКОВ

«03» листопада 2021 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

КЕРНЕР Аліни Олександрівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Антифунгальні властивості грибів відділу *Basidiomycetes*

керівник роботи КРАСІНЬКО Вікторія Олегівна, к.т.н., доц.

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом вищого навчального закладу від «02» листопада 2021 року
№863-кв

2. Строк подання здобувачем роботи 3 лютого 2022 року

3. Вихідні дані до роботи базидієві гриби із Колекції культур шапинкових грибів
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) вступ, літературний огляд, матеріали та методи, результати і обговорення, висновки

5. Перелік графічного матеріалу

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
3,4	Аль-Маалі Г.А., к.б.н., н.с. відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України	03.11.21	01.02.22

7. Дата видачі завдання «03» листопада 2021 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Прояв антифунгальної активності базидіоміцетів до збудників грибкових інфекцій	03.11.2021-15.11.2021	
2	Антифунгальні речовини базидіоміцетів	16.11.2021-02.12.2021	
3	Матеріали та методи	03.12.2021-26.12.2021	
4	Результати та обговорення	27.12.2021-15.01.2022	
5	Висновки	16.01.2022-01.02.2022	

Здобувач _____ Аліна КЕРНЕР
(підпис) (ім'я та прізвище)

Керівник роботи _____ Вікторія КРАСІНЬКО
(підпис) (ім'я та прізвище)

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	5
ВСТУП.....	6
ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	8
РОЗДІЛ 1. Прояв антифунгальної активності базидіоміцетів до збудників грибкових інфекцій	8
1.1. Антифунгальні властивості базидіоміцетів проти збудників кандидозу.....	8
1.2. Антифунгальні властивості базидіоміцетів проти збудників аспергільозу.	14
1.3. Антагоністична активність базидіоміцетів проти збудників мукормікозу	16
1.4. Антифунгальні властивості базидіоміцетів проти збудників дермато мікозів	18
РОЗДІЛ 2. Антифунгальні речовини базидіоміцетів.	22
2.1. Сполуки терпенової природи	22
2.2. Полісахариди із протигрибковою дією	28
2.3. Сполуки білкової природи	29
2.4. Інші біологічно активні антифунгальні сполуки	30
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	35
РОЗДІЛ 3. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	35
РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ	42
ВИСНОВКИ.....	54
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	56

РЕФЕРАТ

Дипломна робота складається із теоретичної та експериментальної частин. Теоретична частина являє собою літературний огляд наукових праць вітчизняних та зарубіжних вчених у напрямку досліджень антифунгальної активності вищих базидіоміцетів та їх сполук, які здатні проявляти таку активність. У дипломній роботі представлені матеріали науково-дослідної роботи, яка була виконана на базі Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Робота уміщує в собі результати експериментальних досліджень щодо визначення властивостей екстрактів культуральної рідини та біомаси деяких базидіоміцетів та їх протигрибкової активності.

В роботі проаналізовано вплив екстрактів базидіоміцетів різних екологічних груп на ріст деяких збудників людських захворювань: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium griseofulvum* та *Mucor racemosus*. Отримані результати свідчать про інгібування спороношення культур роду *Aspergillus* під впливом екстрактів *Inonotus obliquus*, *Fomitopsis pinicola* та *Fomitopsis officinalis*. Було встановлено мінімальні інгібуючі концентрації для пригнічення розвитку вищезазначених мікроміцетів, а також визначено загальний вміст фенолів та антиоксидатну активність отриманих екстрактів.

Дипломна робота складається зі 70 сторінок друкованого тексту, містить 12 рисунків, 6 таблиць, вступ, чотири розділи та висновок. Кількість інформаційних джерел, які були використані в роботі, складає 106.

Ключові слова: базидіоміцети, антифунгальна активність, антиоксидантна активність, екстракти грибів.

ВСТУП

На сьогоднішній день грибкові інфекції є одними з найскладніших для лікування захворювань у людей [1]. До інфекцій, які спричиняють гриби відносять такі хвороби як аспергільоз, кандидоз, кокцидіоїдомікоз, криптококоз, гістоплазмоз, міцетоми, мукормікоз і паракоксиідомікоз. Так звані дерматофітні та кератинофільні грибки можуть вражати очі, нігті, волосся і особливо шкіру і викликати місцеві інфекції, такі як стригучий лишай і мікоз [2].

Незважаючи на масштабні дослідження, присвячені розробці нових терапевтичних засобів, існує лише обмежена кількість доступних препаратів для боротьби з інвазивними грибовими інфекціями. Наразі для лікування системних грибових інфекцій використовуються в клінічній практиці лише чотири молекулярні класи: аналоги фторпіримідину, полієни, азоли та ехінокандини. Деякі інші класи, такі як морфоліни та аліламіни, використовуються лише як місцеві засоби через низьку ефективність або серйозні побічні ефекти при системному введенні [2].

Сучасні протигрибкові лікарські засоби обмежені у своїх можливостях для лікування інфекцій. Окрім цього, боротьба із мікопатогенами характеризується ефемерністю через швидкий розвиток стійкості грибків до хімічних сполук, оскільки грибки мають дуже пластичний геном і швидко розмножуються. Поєднання цих властивостей дає змогу біологічним агентам швидко генерувати варіанти для опору, що і призводить до резистентності [3, 4]. Тому актуальним є пошук нових методів боротьби із патогенними грибами.

Одним із підходів для виявлення чи створення нових протигрибкових препаратів є тестування сполук із природних джерел, таких як рослини, гриби, мікроорганізми. Отримані сполуки можуть відкрити нові ефективні шляхи у лікуванні грибових інфекцій. Протигрибкові сполуки з більш-менш значною активністю можуть бути виділені з багатьох видів грибів і можуть бути корисними для людини, адже на основі грибних компонентів можна створювати, наприклад,

протигрибкові мазі або креми у комбінації синтетичних протигрибкових сполук із грибними [5-7].

Мета і завдання роботи – аналіз сучасних літературних даних для встановлення основних напрямків та технологічних прийомів одержання протифунгальних сполук базидіоміцетного походження, а також одержання та аналіз властивостей екстрактів базидієвих грибів з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного, визначення їх протигрибкової та антиоксидантної активностей.

Наукова новизна одержаних результатів. У ході експериментальної роботи здійснювалось дослідження антифунгальної активності 60 екстрактів базидієвих грибів, перевірка протигрибкової активності окремих видів базидіоміцетів раніше не здійснювалась. Уперше було встановлено здатність отриманих екстрактів здійснювати демеланізацію грибів роду *Aspergillus* та пригнічувати їх спороношення. Вперше встановлена здатність екстрактів базидіоміцетів *Hericium cirrhatum*, *Hericium coralloides*, *Fomitopsis pinicola*, *Fomitopsis officinalis*, *Inonotus obliquus* посилювати спороношення культури *Mucor racemosus*.

Практичне значення одержаних результатів. Результати, отримані в ході виконання експериментальної роботи, являють собою первинний етап вивчення біологічно активних сполук, екстрагованих з базидіоміцетів. Отримано екстракти біомаси грибів із досить високою антифунгальною та антиоксидантною активністю, що дозволяє розглядати такі сполуки як потенційні кандидати для створення нових лікарських засобів для внутрішнього та зовнішнього застосування.

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

РОЗДІЛ 1. Прояв антифунгальної активності базидіоміцетів до збудників грибкових інфекцій

1.1. Антифунгальні властивості базидіоміцетів проти збудників кандидозу

Дріжджі роду *Candida* є збудником інвазивного грибкового захворювання – кандидозу, яке найчастіше зустрічається у розвинутих країнах. Літературні дані свідчать про те, що інвазивний кандидоз вражає близько 250 000 людей у всьому світі щорічно і є причиною більше, ніж 50 000 смертей. Дослідження більше 1800 клінічних ізолятів грибів із 31 країни показали, що 82% грибкових інфекцій в 2013 році були спричинені *Candida*. Існує багато видів роду *Candida*, однак близько 90% інфекцій викликають 5 основних видів: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* і *C. krusei*. Патогенність видів *Candida* пов'язана із їх здатністю утворювати біоплівки на небіотичних поверхнях медичних приборів, таких як катетери, зубні протези, хірургічні інструменти, а також на тканинах хазяїна (слизових) [8-10].

У теперішній час ефективне лікування кандидозу має певні обмеження, пов'язані із важкістю швидкої та точної діагностики інвазивного агента, а також із обмеженою кількістю терапевтичних можливостей. Окрім цього, проблемою в лікуванні кандидозу є також і зростаюча резистентність дріжджів до лікарських засобів та виникнення нових стійких штамів. Такі аспекти зумовлюють пошук нових сполук, що проявлятимуть активність проти *Candida*, аналіз літературних джерел свідчить про значну активність компонентів базидієвих грибів проти даного збудника [8, 9].

Так, після культивування базидіоміцету *Daedaleopsis confragosa* на синтетичному середовищі було отримано етилові та метанольні екстракти, які використовували для дослідження антифунгальних та антиоксидантних властивостей

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.05 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Кернер А.О.</i>			Розділ 1. Прояв антифунгальної активності базидіоміцетів до збудників грибкових інфекцій	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Красінько В.О.</i>					8	85
<i>Консульт.</i>		<i>Аль-Маалі Г.А.</i>				Кафедра БТМ		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

Антагоністичну активність встановлювали по відношенню до таких умовно-патогенних для людей штамів: *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *Aspergillus glaucus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes*. Встановлено, що екстракти плодових тіл володіють слабкою фунгістатичною дією. Екстракти ж міцелію проявили значно більшу активність. Так, МІК водного екстракту по відношенню до *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *A. flavus*, *A. fumigatus* та *T. mentagrophytes* становить 32 мг/мл [11].

Дослідження із визначення активності проти дріжджового грибка *Candida albicans*, який було виділено із сечі інфікованого пацієнта здійснювали у роботі [12]. Перевірку на протигрибкову активність проводили із використанням екстрактів 25 штамів грибів. Визначення активності здійснювали диско-дифузійним методом. Серед досліджених штамів високу активність проявив представник базидіоміцетів *Ganoderma lucidum*. Зона інгібування росту *Candida albicans* екстрактами становила від 10 мм для метилового екстракту до 16 мм для етилацетатного екстракту культуральної рідини.

Для дослідження протикандидозного ефекту у роботі [13] використовували плодові тіла гриба *Trametes elegans*, як екстрагенти застосовували н-гексан, ацетон, метанол. Під час екстракції було виділено ряд активних сполук, які проявляють протикандидозну активність. Значення МІК вказують на те, що усі отримані екстракти пригнічують виділені штами *C. albicans*, концентрації коливаються від 25 мг/мл до 50 мг/мл. Найнижче значення МІК має метиловий екстракт *T. elegans* – 25 мг/мл, а найвище н-гексановий екстракт – 50 мг/мл.

Іншою групою вчених була встановлена здатність грибних ферментів хітиназ, одним із продуцентів яких є базидіоміцет *Coprinellus congregatus*, інгібувати патогенні для людини штами *C. albicans* та *Cryptococcus neoformans*. Інтенсивність росту патогенних мікроорганізмів встановлювали вимірюванням оптичної густини. Встановлено, що мінімальна інгібувальна концентрація обох культур становить 10

мкг хітинази/мл, а при додаванні у середовище 20 мкг ферменту/мл середовища відбувається затримка росту на 40-50% [14].

При вивченні властивостей базидіоміцетів вчені досить часто одночасно проводять визначення окрім антифунгальних властивостей ряду інших: антиоксидатної, протимікробної, імуномодулюючої тощо, оскільки ці властивості між собою взаємопов'язані. Так у роботі [15] визначали антиоксидантну, антибактеріальну та протигрибкову активність базидіоміцета *Auricularia polytricha*. Антимікробну активність визначали методом паперових дисків. Встановлено, що спиртовий та водний екстракти гриба мають високе значення антиоксидантної активності (0,73 та 0,91 мкмоль тролоксу/ л відповідно). Зона затримки росту *S. albicans* становить $15,6 \pm 1,5$ мм.

Іншими вченими із Нігерії у роботі [16] була визначена антимікробна активність базидієвого гриба *Lycoperdon perlatum* до ряду бактерій, а також дріжджів роду *Candida* – *S. albicans* та *S. glabrata*. Для визначення протигрибкової активності використовували водний, метиловий та етиловий екстракти плодових тіл. Встановлено, що найвищу активність проти вищезазначених видів проявляють етиловий та метиловий екстракти, при цьому для обох значення МІК становить 7,81 мг / мл.

У досить масштабному дослідженні [17] визначали активність проти дріжджоподібних грибків *S. tenuis* ряду базидієвих грибів родів: *Inonotus*, *Fomitiporia*, *Ganoderma*, *Skeletocutis*, *Perenniporia*, *Favolaschia*, *Hexagonia*, *Polyporus*, *Antrodia* та *Echinochaete*. Згідно отриманих результатів, значну активність проти даного організму проявляє *Favolaschia calocera*, при цьому значення МІК для етилацетатних екстрактів для міцелію та культуральної рідини становлять 2,34 та 4,69 мкг / мл відповідно.

У роботі [18] здійснювали визначення впливу базидіоміцетів на ріст умовно-патогенних мікроорганізмів, зокрема дріжджоподібного грибка *S. albicans* АТСС 18804. Методом дифузії в агар визначали антимікробну активність плодових тіл, їх

екстрактів та вегетативного міцелію п'яти комерційних штамів лікарських базидіоміцетів *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes*, *Flammulina velutipes* та *Hericium erinaceus*. Затримка росту *C. albicans* навколо фрагментів плодових тіл грибів була лише навколо *G. lucidum* і становила 12 ± 2 мм. Результати визначення антагоністичної активності показали, що найзначніше пригнічення росту культури *C. albicans* спричиняв міцелій *L. edodes*, при цьому розмір зони затримки росту складав $9 \pm 0,6$ мм. Водні та спиртові екстракти не спричиняли пригнічення росту *C. albicans*.

У роботі [19] досліджували здатність ксилотрофних базидіоміцетів *Laetiporus sulphureus*, *Fomes fomentarius* і *Fistulina hepatica* до синтезу каротиноїдів і проводили визначення антиоксидантної і протимікробної активності препаратів, отриманих після виділення цих метаболітів із міцелію грибних культур. Антибактеріальну активність препаратів каротиноїдів, отриманих екстракцією етиловим спиртом міцелію грибів, вивчали на тест-штамах, рекомендованих ВООЗ, серед яких присутній штам дріжджоподібного грибка *C. albicans* ATCC 885/653. Для контрольного порівняння використовували водні розчини сангвіритрину, який широко використовується як антисептичний засіб із вираженою антикандидозною дією. Встановлено, що виготовлений препарат із 20%-ю концентрацією каротиноїдів із міцелію *F. hepatica* Fh-18 мав найвищу антифунгальну активність серед усіх досліджених штамів відносно тест-культури *C. albicans*, але зона затримання росту гриба не перевищує аналогічний показник для 1% розчину сангвіритрину, зони інгібування становлять $27,7 \pm 0,3$ мм та $32,2 \pm 0,6$ мм відповідно.

Своїми антифунгальними властивостями відомі також гриби роду *Lactarius*. Так, активне інгібування росту *C. albicans* здійснює ацетоновий екстракт плодових тіл *Lactarius piperatus*, значення МІК при цьому становить 2,5 мг/мл [20]. Інший представник цього роду, *Lactarius deliciosus*, також активно пригнічує ріст *Candida albicans*, МІК для метанольного екстракту талому становить 5 мг/мл [21].

Вченими також встановлена здатність базидіоміцетів до синтезу наночастинок, які володіють багатогранними властивостями, серед яких і антифунгальні. Так, було встановлено, що мінімальна інгібуюча концентрація наночастинок срібла, які синтезовані базидіоміцетом *G. lucidum*, проти *C. albicans* становить 64 мкг/л [22]. Іранські вчені виявили здатність *Agaricus bisporus* синтезувати наночастинок золота, які проявляють високу антифунгальну активність проти *A. flavus* [23]. У дослідженні Jaloota та інших також перевіряли здатність *Inonotus hispidus* до синтезу наночастинок срібла, і визначали активність грибного екстракту до мікроміцетних грибів. Встановлено, що найвища активність екстракту проявляється у відношенні до *Aspergillus niger* [24]. Здатністю до синтезу наночастинок срібла, які можуть впливати на антифунгальні властивості, володіє також *Pleurotus sajor-caju*. За допомогою двох методів було визначено синтезовані агентом наночастинок срібла, а також встановлено що частинки такого розміру мають значний інгібуючий вплив на ріст *C. albicans* [25].

Про перспективу базидіоміцетів як антифунгальних агентів свідчать також й експериментальні лікувальні засоби на основі грибів. Наприклад, плантеросомальний гель створений на основі висушених плодових тіл *Ganoderma lucidum* має високу протигрибкову активність проти *C. albicans*, зона інгібування при цьому складає 15,66 мм [26]. Результати із визначення антифунгальної активності базидіоміцетів проти дріжджоподібних грибків роду *Candida* наведено в узагальнюючій таблиці 1.1.

Таблиця 1.1.

Антифунгальна активність базидіоміцетів проти *Candida* sp.

Представник базидіоміцетів	Організм, проти якого діє	Значення МІК, мг/мл	Речовина з антифунгальною активністю	Джерело
<i>Daedaleopsis confragosa</i>	<i>C. albicans</i>	32,0	Водний екстракт міцелію	[11]
	<i>C. parapsilosis</i>			

<i>Inonotus pachyphloeus</i>	<i>C. tenuis</i>	150	Етилацетатний екстракт міцелію після культивування на YMG середовищі	[17]
		37,5	Етилацетатний екстракт культуральної рідини після культивування на цукрозно-мальтозному середовищі	
<i>Lycoperdon perlatum</i>	<i>C. albicans</i>	62,5	Етиловий екстракт плодових тіл	[16]
	<i>C. glabarta</i>	7,81		
	<i>C. albicans</i>	7,81	Метиловий екстракт плодових тіл	
	<i>C. glabarta</i>	31,25		
	<i>C. albicans</i>	62,5	Водний екстракт плодових тіл	
	<i>C. glabarta</i>	62,5		
<i>Trametes gibbosa</i>	<i>C. albicans</i>	32	Етилові екстракти міцелію	[27]
	<i>C. krusei</i>	-		
	<i>C. parapsilosis</i>	32		
<i>Trametes elegans</i>	<i>C. albicans</i>	25	Метилові екстракти плодових тіл	[13]
	<i>C. krusei</i>	25		
	<i>C. glabrata</i>	25		
	<i>C. tropicalis</i>	50		
<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>C. albicans</i>	4		[28]
<i>Hypsizigus tessulatus</i>	<i>C. albicans</i>	6		[29]
<i>Auricularia auricula</i>	<i>C. albicans</i>	512	Етилацетатний екстракт плодових тіл	[30]
<i>Lactarius piperatus</i>	<i>C. albicans</i>	2,5	Ацетоновий екстракт плодових тіл	[20]
<i>Lactarius deliciosus</i>	<i>C. albicans</i>	5	Метиловий екстракт талому	[21]

Отже, аналіз літературних даних свідчить про наявність у базидіоміцетів та сполук, які вони синтезують, значної антикандидозної активності. Окрім цього, одночасний прояв активності проти ряду інших збудників захворювань являє собою високу перевагу, адже це дасть в майбутньому можливість створювати антимікотичні засоби широкого спектру дії.

1.2. Антифунгальні властивості базидіоміцетів проти збудників аспергільозу

Аспергільоз – це захворювання, що вражає легені, збудниками якого є мікроміцети роду *Aspergillus*. Розвиток хвороби характерний для осіб із послабленим імунітетом (онкохворих, пацієнтів після трансплантації органів тощо) і виникає після вдихання спор грибів. Збудниками аспергільозу найчастіше є види *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* і *A. versicolor*. За останні 10 років стійкість грибів роду *Aspergillus* до протигрибкових засобів, особливо до азольних фунгіцидів, стала серйозною проблемою, вирішення якої потребує пошуку нових сполук із протигрибковою активністю [31, 32].

Група сербських вчених виявила, що екстрактам *Pleurotus ostreatus* та *Agrocybe cylindracea* майже не притаманна антифунгальна активність. Так було встановлено, що активність проти *Aspergillus flavus* здатний проявляти лише екстракт міцелію *Agrocybe cylindracea*. Решта ж екстрактів проявляли стимулюючий ефект на культури мікроміцетів [33]. Окрім цього, іншими сербськими вченими на чолі з Кнежевіч А. було виявлено чутливість шести патогенних для людини штамів мікроміцетів, серед яких були види роду *Aspergillus*: *A. glaucus*, *A. flavus* та *A. fumigatus* до екстрактів міцелію *Trametes* spp [27]. Наявність антифунгальної активності грибів роду *Trametes* підтверджують й результати іншої роботи. Так, у дослідженні [34] була встановлена чутливість культур *A. niger*, *A. fumigatus* та *A. flavus* до метанольного екстракту плодових тіл *Trametes versicolor*, зони інгібування росту мікроміцетів при цьому становили 14, 14 та 13 мм, відповідно.

Визначення антифунгальної активності проти мікроміцетів роду *Aspergillus* проводили у також у роботах [35, 36]. Встановлено, що метанольні екстракти базидіоміцетів проявляють значну протигрибкову активність. *Boletus edulis* інгібує ріст *Rhizopus stolonifer* на 53%; *Hortiboletus rubellus* пригнічує ріст *Aspergillus niger* до 55%, а *Suillus sibiricus* має високу протигрибкову активність проти *Aspergillus terreus* і інгібує ріст на 54% [35]. При перевірці антифунгальної активності та демеланізації (зменшення вмісту меланіну) сульфатованого з β -(1,3)-D-глюкану, який був отриманий із гриба *Ganoderma lucidum* екстрагуванням, сульфат глюкану проявляв протигрибкову активність щодо *A. niger* A60 (мінімальна інгібуюча концентрація 60 мг/мл та мінімальна фунгіцидна концентрація 100 мг/мл) [36].

Іншими вченими було досліджено протигрибкову активність екстрактів *P. ostreatus* проти *Mucor luteus*, *Penicillium* sp. та *Aspergillus* sp. Так було виявлено, що найвища антифунгальна активність проти всіх трьох видів грибів спостерігається при використанні хлороформу як екстрагенту. Варто зазначити, що етанольний екстракт показав дещо вищу активність проти *Penicillium* sp. порівняно із екстрактом хлороформом, однак МІК для *Mucor luteus* була вища, ніж при використанні вищезазначеного екстракту [28].

Цікавий порівняльний аналіз дикого (некультивованого) та культивованого базидієвого гриба *Coprinus comatus* провели у роботі [37]. Для перевірки на антифунгальну активність використовували такі штами тест-культур: *A. fumigatus* 1022, *A. ochraceus* ATCC 12066, *A. versicolor* ATCC 11730, *A. niger* ATCC 6275. Встановлено, що найвищу активність базидіоміцет проявляв у відношенні до *A. versicolor*, при цьому МІК для культивованого та дикого гриба становлять 0,2 та 0,75 мг/мл відповідно. Такі результати свідчать про значну перспективу даних екстрактів, адже вони не поступаються такому відомому антимікотику як кетоконазол, а кращі показники культивованих форм вказують про зручність використання у біотехнології. У таблиці 1.2 представлено деякі результати досліджень із визначення антифунгальної активності базидіоміцетів.

Антифунгальна активність базидіоміцетів проти *Aspergillus* sp.

Представник базидіоміцетів	Організм, проти якого діє	Значення МІК, мг/мл	Речовина з антифунгальною активністю	Джерело
<i>Daedaleopsis confragosa</i>	<i>Aspergillus glaucus</i>	-	Водні екстракти міцелію	[11]
	<i>Aspergillus flavus</i>	32,0		
	<i>A. fumigatus</i>	32,0		
<i>Trametes gibbosa</i>	<i>Aspergillus glaucus</i>	32	Етанольні екстракти міцелію	[27]
	<i>Aspergillus flavus</i>	32		
	<i>A. fumigatus</i>	32		
<i>Pleurotus ostreatus</i>	<i>Aspergillus</i> spp	61	Хлороформовий екстракт міцелію	[28]
		41	Етанольний екстракт міцелію	
<i>Auricularia auricula</i>	<i>A. flavus</i>	2048	Етилацетатний екстракт плодових тіл	[30]

Отже, незважаючи на те, що базидіоміцети та їх метаболіти проявляють не дуже високу активність проти грибів роду *Aspergillus*, результати впливу деяких штамів все ж заслуговують на увагу і потребують подальшого вивчення,

1.3. Антагоністична активність базидіоміцетів проти збудників мукомікозу

Мукомікоз – небезпечна для життя, часто смертельна, інфекція, яка виникає у пацієнтів, які є імунокомпрометованими внаслідок діабетичного кетоацидозу, нейтропенії, трансплантації органів, онкологічних захворювань та / або підвищення рівня доступного заліза в сироватці крові [18]. Збудниками даної хвороби є гриби класу зигоміцетів (клас *Zygomycetes*, порядок *Mucorales*). Найпоширенішими збудниками зигомікозу є *Rhizopus* spp. (47 %), *Rhizomucor* spp. (28 %), *Lichtheimia corymbifera* (17 %) і *Mucor* spp. (8 %). Зважаючи на резистентність грибів *Mucorales* до значної кількості протигрибкових засобів (триазоли, амфотеріцин В, ехінокандіни тощо) нині широкої популярності набув пошук нових з'єднань для боротьби із даним патогеном [39, 40].

Українськими вченими був проведений скринінг 30 макроміцетів різних систематичних (*Basidiomycota*, *Ascomycota*) та екологічних (ксилотрофи, гумусові

сапротрофи, ентомофіли, підстилковий сапротроф) груп на здатність проявляти антагоністичну активність проти мікроміцета *Mucor* sp. IFBG 139 [38]. В результаті дослідження було встановлено, що гриби проявляють незначну антагоністичну активність проти досліджуваного *Mucor* sp. IFBG 139. Також було виявлено, що *Lentinus edodes* здатен продукувати метаболіти з антифунгальною дією, які здатні пригнічувати ріст *Mucor* sp.

Однак далеко не всі базидіоміцети мають таку слабку антагоністичну активність проти збудників мукомікозу. Вченими Richter та іншими у дослідженні [41] виявлена здатність дитерпенових сполук, виділених із *Cyathus striatus*, інгібувати ріст *Mucor plumbeus*, МІК становить 150 мг/мл. А результат дослідження антифунгальної активності дитерпенових сполук коралоцинів, отриманих із *Hericium coralloides*, показав, що МІК коралоцину В для *M. plumbeus* MUCL 49355 складає 57,4, що теж є досить непоганим результатом [42]. Іншим прикладом є результат дослідження [43], де було виявлено наявність надзвичайно високої активності компонентів базидіоміцету *Heimiomyces* sp до *Mucor hiemalis*. Так, серед сполук терпенової природи, отриманих із даного гриба варто відзначити дві – геміоміцин С та 4-гідрокси-5-ізопропіл-2-метил-9,10-дигідронафталінкарбонову кислоту, значення МІК *M. hiemalis* для кожної з цих сполук складало 25 мг/мл, що свідчить про доволі потужні можливості даних компонентів у боротьбі з мукомікозами.

Про значний потенціал базидіоміцетів у боротьбі із грибами роду *Mucor* свідчить і робота Sum та інших. При визначенні активності екстрактів базидієвих грибів проти *M. plumbeus* було визначено, що значення МІК для етилацетатних екстрактів супернатанту та міцелію *Favolaschia calocera* становлять 75 та 37,5 мг/мл відповідно [17]. Активність проти *Mucor* sp була виявлена і у метанольних екстрактах плодових тіл різних груп базидіоміцетів. Так, зони затримки росту при використанні екстрактів грибів *Cerrena meyenii*, *Coriolopsis polyzona*, *Ganoderma xylonoides*, *Trametes cingulate*, *Trametes lactinea* становили 10 мм і такий результат дещо

поступається протигрибковому препарату ністатину, при використанні якого зона інгібування складала 24 мм [44].

Отже, компоненти базидіоміцетів потребують подальших досліджень з метою вивчення їх антифунгальних речовин та механізмів їх дії й розробки потенційно ефективної нової фунгіцидної продукції, що прийде на заміну вже існуючим застарілим засобам.

1.4. Антифунгальні властивості базидіоміцетів проти збудників дерматомікозів

Одними із поширених різновидів грибкових інфекцій є дерматомікози, збудниками яких є дерматофіти. Дерматофіти – це кератинофільні гриби, які викликають поверхневі мікози у людей та тварин, які інфікують роговий шар, нігті чи людське волосся. До дерматофітів належать патогенні гриби, які мають високу спорідненість до ороговілих структур, що містяться в нігтях, шкірі та волоссі, дані організми належать до трьох основних родів: *Trichophyton*, *Microsporum* та *Epidermophyton*. І хоча на сучасному фармацевтичному ринку існує велика кількість протигрибкових препаратів для контролю мікозів, однак їх клітинні мішені обмежені, а також гриби можуть виявляти резистентність до даних препаратів, тому важливим є пошук нових сполук із активністю проти дерматомікозів [6, 45]

У роботі [46] досліджено антифунгальну активність *Pleurotus ostreatus* та *Trichoderma harzianum* проти *Microsporum audouinii*, який є збудником лишая у людини. Результати проведеного вченими дослідження свідчать, що відсоткове значення інгібування радіального росту *M. audouinii* (час культивування 7 діб, $t=28^{\circ}\text{C}$) становить: метод подвійної культури – 62,95% для *P. ostreatus* та 73,28% для *T. harzianum*; метод агарових блоків (концентрація фільтратів та клотримазолу у середовищі 10%) – 66,3% для *P. ostreatus*; 62,90% для *T. harzianum* та 65,07 % для клотримазолу.

Індійські вчені у своїй роботі [47] встановили, що інший представник роду *Pleurotos* – *P. florida* окрім антимікробної активності володіє й антифунгальною. У роботі досліджували здатність екстрактів міцелію пригнічувати життєдіяльність

мікроміцетів, що є збудниками дерматомікозів. Як тест-культури використовували штами *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* та *Microsporum gypseum*. Було встановлено, що етиловий екстракт міцелію *P. florida* найкраще пригнічує ріст *E. floccosum* МІК для якого становить 50 мг/мл.

Інша група вчених також проводила дослідження антифунгальних властивостей базидіоміцетів проти дерматопатогенів [48]. У своїй роботі вони використовували *Auricularia auricula-judae*, перевірку здійснювали на мікроміцетах *Trichophyton schoenleinii*, *T. mentagrophytes*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum ferugineum*. Також проводили перевірку чутливості *C. albicans* щодо екстрактів вищого базидіоміцету. Було встановлено, що екстракти білків даного гриба проявляють активність лише проти *T. schoenleinii* та *C. albicans*. Інше ж дослідження *A. auricula* дало дещо інші результати. Так було виявлено, що екстракти даного базидіоміцету володіють антифунгальною активністю проти *A. flavus*, *C. albicans* та *M. gypseum* [30].

Вчені Olusola Clement Ogidi та Victor Olusegun Oyetao у своїй роботі [49] досліджували здатність екстрактів макроміцетів *Lenzites quercina*, *G. lucidum* та *Rigidoporus ulmarius* інгібувати ріст патогенних дерматофітів *Epidermatophyton floccosum*, *Trichophyton yaoundei*, *Microsporum ferrugineum*, *T. tonsurans*, *M. Nanum*, *T. verrucosum*, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *T. rubrum*. Встановлено, що екстракти грибів у концентрації 50 мг / мл ефективно пригнічують ріст усіх дерматофітів, що майже рівноцінно дії антимікотичних препаратів гризеофульвіна та флуконазола.

У роботі Shahbazyan Т. А. Досліджували антифунгальну активність грибів роду *Trametes* проти мікроміцетів, які можуть бути патогенними для людей та тварин: *Chrysosporium keratinophilum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton terrestre*, *Penicillium griseofulvum*. Досліди проводили з використанням культуральної рідини, екстрактів міцелію, а також методом сумісного вирощування. У роботі використовували штами *T. versicolor*, *T. zonata*, *T. hirsuta* та *T. gibbosa*. В результаті експерименту встановлено, що усі штами володіють високою протигрибковою

активністю, так зразки культуральної рідини та метанольні екстракти плодівих тіл пригнічували швидкість росту міцелію досліджуваних грибів до 55,6% та 29,7% відповідно [50].

1.5. Антифунгальні властивості базидіоміцетів проти збудників криптококозу

Криптококоз – це грибкова інфекція, яку спричиняють дріжджі роду *Cryptococcus* (в основному *Cryptococcus neoformans* та *Cryptococcus gattii*). Особливо небезпечною дана хвороба є для осіб із послабленим імунітетом, в тому числі й для ВІЛ-інфікованих. Основними органами враження є легені та мозок, таке зараження призводить до небезпечного для життя менінгіту/менінгоенцефаліту. Незважаючи на значну небезпеку криптококозу, після 1990-х років на фармацевтичний ринок не було випущено жодного нового препарату для лікування криптококозу. Наразі основними препаратами, які використовують для лікування є Амфотерицин В, Флуцитозин та Флуконазол. Ці протигрибкові засоби характеризуються токсичністю, низькою ефективністю, а також вони недоступні у всьому світі і швидко призводять до резистентності мікроорганізмів. Отже, існує нагальна потреба у нових вдосконалених, менш токсичних, більш доступних засобах лікування цього грибкового захворювання, основою для яких можуть стати грибні метаболіти [51].

На наявність антифунгальної активності проти збудника криптококозу *Cryptococcus neoformans* було досліджено чотири штами базидіоміцетів – *Auricularia polytricha*, *A. auricular-judae*, *T. elegans*, *G. lucidum*. Серед зазначених штамів найбільшу активність проявили гриби *A. polytricha* та *G. lucidum* [52]. Антифунгальна активність макроміцетів *in vivo* проти *Cryptococcus* може бути результатом імуномодулюючої дії. Так у роботі [53] встановлено, що водорозчинні екстракти екзополісахаридів (які складаються з β -(1,3) -D-глюкану) базидіоміцету *Auricularia auricular* мають імуномодулюючі властивості і посилюють імунну відповідь мишей у відповідь на *Cryptococcus neoformans*, який є збудником криптококозу.

У роботі [54] досліджували антимікробні та антифунгальні властивості водних екстрактів *Ganoderma applanatum*. Встановлено, що, найбільш ефективним проти дріжджів *C. albicans*, та *Cryptococcus neoformans* є екстракт отриманий гарячим лугом (в порівнянні із водним екстрактом та очищеним екстрактом полісахаридів).

Досить високу активність до збудника криптококозу проявили компоненти *Hericium* sp., МІК для дитерпенової сполуки 2-хлор-1,3-диметокси-5-метил бензену, виділеної із даного базидіоміцету складає 31,25 мг/мл. Однак варто зазначити, що екстракти міцелію, супернатанту та плодових тіл або взагалі не проявляли активності, або проявляли дуже низьку (МІК > 250 мг/мл) [55].

Отже, нині у світі спостерігається тенденція до збільшення стійкості збудників різноманітних грибкових інфекцій. Така тенденція є передумовою для пошуку нових сполук, особливо біологічної природи, які стануть основою нових протигрибкових лікарських засобів, або допоможуть модифікувати вже існуючі. Проведений аналіз літературних джерел підтверджує правильність даного напрямку досліджень і вказує на значний потенціал багатьох видів базидіоміцетів у боротьбі із патогенними мікроорганізмами.

РОЗДІЛ 2. Антифунгальні речовини базидіоміцетів

Гриби вважаються активними продуцентами різноманітних первинних та вторинних метаболітів (алкалоїди, жирні кислоти, лектини, нуклеїнові кислоти, нуклеозиди, пептиди, фенольні сполуки, полікетиди, полісахариди, білки, статини, стероїди, терпеноїди тощо), які відповідають за їх фармакологічну активність, у тому числі й протигрибкову [56].

2.1. Сполуки терпенової природи

Одними із найважливіших вторинних біологічно активних метаболітів є терпеноїди. Терпеноїди являють собою органічні з'єднання, що складаються із ізопренових ланок. В залежності від кількостей атомів вуглецю терпеноїди класифікуються на монотерпени, дитерпени, сесквітерпени тощо. Аналіз сучасної літератури показує, що дані сполуки володіють протимікробною, противірусною, протираковою та протигрибковою активностями. Такі доступні нині на ринку терапевтичні терпеноїди як паклітаксел, елеутеробін, саркодиктин А, екзокаріатоксин отримують із рослин, однак останнім часом дедалі більшу цікавість вчених викликають терпени, які продукують гриби [57].

Терпеноїди, виділені з грибів, асоціюються з різними фармакологічними діями такими як: протиракова, протималарійна, антихолінестеразна, противірусна, антибактеріальна, протизапальна та антифунгальна [58]. Так, вченими Birthe Sandargo та іншими, після культивування базидіоміцету *Rhodotus palmatus* у 100 літровому ферментері, було виділено 7 раніше невідомих сесквітерпеноїдів родокоранів (Rhodocorane F, G, H, I, J, K, L), які володіють антибактеріальними та антифунгальними властивостями. Дослідження проводили на штаммах фітопатогенних та умовно-патогенних для людей грибів. Найактивнішою протигрибною сполукою виявився терпен родокоран H [57].

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.05 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	<i>Розділ 2. Антифунгальні речовини базидіоміцетів</i>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Розроб.</i>		<i>Кернер А.О.</i>						
<i>Перевір.</i>		<i>Красінько В.О.</i>					22	85
<i>Консульт.</i>		<i>Аль-Маалі Г.А.</i>				<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

Фунгіцидні властивості проявляють також і терпеноїди іншого гриба – збудника білої гнилі – *Crinipellis rhizomaticola*. Відтак було виявлено, що крїніпеліни А та І здатні затримувати ріст таких фітопатогенів як *Alternaria porri*, *Fusarium oxysporum*, *Magnaporthe oryzae* (збудник «рисового вибуху»), *Colletotrichum coccodes*, *Botrytis cinerea* (збудник сірої гнилі помідорів), *Phytophthora infestans* (збудник фітофторозу помідорів), *Rhizoctonia solani* (спричиняє гниття рису). Мінімальна інгібуюча концентрація крїніпеліну І була ж рівною 250 мкг/мл і більше. Окрім цього, у даній роботі [59] здійснювали обробку рослин етилацетатним та н-бутаноловим екстрактами *C. rhizomaticola*, в результаті обробки було встановлено, що фунгіцидною активністю володіє лише етилацетатний екстракт і найактивніша його дія проявляється у відношенні до збудника фітофторозу.

У роботі [60] було встановлено, що метаболіти такого гриба як *Stereum complicatum* містять сесквітерпеноїди Стеростреїн Y, Гірсутенол G, Стерпуrol C, Стеростреїн H, Стеростреїн P та Стеростреїн Q. Так виявлено, що Стеростреїн P у концентрації 20 мМ проявляє активність проти *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus*.

Іншою групою сполук терпенової природи біологічно активних речовин базидіоміцетів, що проявляють антифунгальну активність є оудеманзини, які продукують базидіоміцети роду *Oudemansiella*. Так було виявлено здатність екстрактів *Oudemansiella mucida* інгібувати ріст таких мікопатогенів: *Alternaria brassicae*, *Alternaria longipes*, *Gloesporium fructigenum* з мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК) 10 мкг/мл, *Fusarium graminearum*, *Alternaria alternata* з МІК 5 мкг/мл, що вказує на можливість використання даних екстрактів з метою створення біопестицидів [61,62].

Окрім грибів роду *Oudemansiella* оудеманзини продукують і інші базидіоміцети, наприклад *Xerula* sp. Так у роботі [63] встановлено, що даний гриб здатний продукувати 22 сполуки, серед яких і оудеманзини. Найбільшу цікавість як протигрибкових агентів становлять Оудеманзини А та Х, які мають активність проти

C. albicans (МІК 50 мг/мл), а також активність проти таких фітомікопатогенів як *Alternaria brassicicola*, *Colletotrichum capsici* та *C. gloeosporioides* (МІК 25-50 мг/мл).

У роботі [64] із базидіоміцету *Cyathus subglobisporus* було виділено 6 раніше невідомих дитерпенів, які було названо Циатініни А-Е (cyathinins А-Е) та 10-гідроксиерінацин S (hydroxyerinacine S). Окрім цього даний грибок продукує і інші терпени, які було виділено раніше. Так терпен Стріатал В (Striatal В) здатний пригнічувати ріст *C. albicans*, ІС₅₀ становить 8,6 мМ.

2. 1.1. Стробілури́ни

Стробілури́ни являють собою групу біоактивних метаболітів, які продукують різними видами грибів. Муцидин **1** – перша виділена сполука із даної категорії. Вперше муцидин був виділений у 1965 році із базидіоміцета *Oudemansiella mucida*. Дана сполука володіє потужною протигрибковою активністю, що призвело до комерціалізації у вигляді продукту «Муцидермін» для лікування шкірних інфекцій. У 1977 році було виділено два інші антифунгальні метаболіти – стробілурін А **2** та В **3** із базидіоміцету *Strobilurus tenacellus*, дані сполуки виявились ідентичними муцидину, однак володіли іншою конфігурацією. Багато інших аналогів стробілуріну були виділені із інших базидіоміцетів. Так, структурні варіації стробілуріну включають в себе оудеманзин А **4**, виділений із *Oudemansiella mucida*, 9-метоксистробілурін А **5** із *Flaviolaschia* sp, гідроксистробілурін А **6** із *Petrula* sp. Ряд стробілури́нів мають складні діоксипенові замісники, які містять два модифікованих пренильних фрагментів на фенольному кільці. Наприклад, стробілурін G **7** та болінеол **8**, виділені із *Bolinea lutea*. Хімічна будова даних сполук зображена на рис. 2.1. [65].

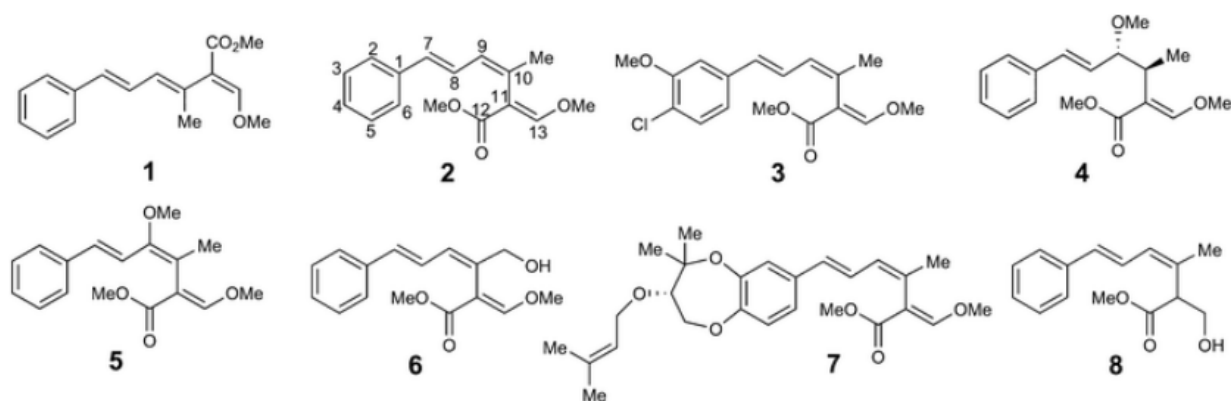


Рис. 2.1. Біологічно активні компоненти – стробіруліни

Цей клас природних сполук нестійкий за присутності світла тому є неефективним для лікування захворювань сільськогосподарських культур. Однак модифікації, внесені в хімічну структуру однієї з цих сполук дала фотостабільну форму з протигрибковою активністю, що дозволило з 1996 року вивести стробілури на ринок. В даний час існує 18 фунгіцидів цього класу, з різними хімічними групами за своєю структурою, доступними на ринку, в т.ч. метоксиакрилати, метоксиацетамід, метоксикарбамати, оксиміноацетати, оксиміноацетаміди, аксазолідиндони, дигідродіоксазини, імідазоліони та безилкарбамати, але всі вони мають схожий механізм дії [66].

Синонімом стробілуринів є «QoI» (quinone outside inhibitors), така назва виникла тому що цей клас фунгіцидів пригнічує зв'язування при Qo (окисленні хінолу) сайт комплексу III (ферментний комплекс цитохрому bc1) під час дихання мітохондрій. Таким чином, перенесення електронів між цитохромом b і c не відбувається, блокуючи окиснення НАДФН та утворення АТФ [67].

Однак, варто зазначити, що далеко не всі терпеноїди володіють фунгіцидними властивостями. У роботі [68] було виділено шість сесквітерпенів гриба *Hygrophorus penarius*, яким присвоїли назву пенаріни А-Ф (Penarines A–F). У результаті дослідження антифунгальної активності пенарінів проти фітопатогену *Cladosporium cucumerinum*, виявлено, що дані сполуки не пригнічують ріст вищезазначених мікроміцетів.

2.1.2. Ціатанові дитерпеноїди

Ціатанові дитерпеноїди – це структурно різноманітний клас вторинних метаболітів, які в основному продукують базидіоміцети родів *Suathus*, *Hericium*, *Sarcodon* та деякі інші. Вперше сполуки цього класу були виділені із *Suathus helenaе* у 1960-х рр. Пізніше кілька подібних сполук були виділені із споріднених видів *Nidulariaceae* та у видів інших порядків. Залежно від джерел виділення, ціатанові сполуки називали ціятинами, стріятинами, саркодонінами, скабронінами та еринацинами. Всі ці сполуки поділяють характерний 5–6–7 трициклічний карбоновий скелет. Багато з цих дитерпеноїдів виявляють різнобічну біологічну активність: антимікробну, протизапальну, а також проявляють антипроліферативні властивості[41, 69].

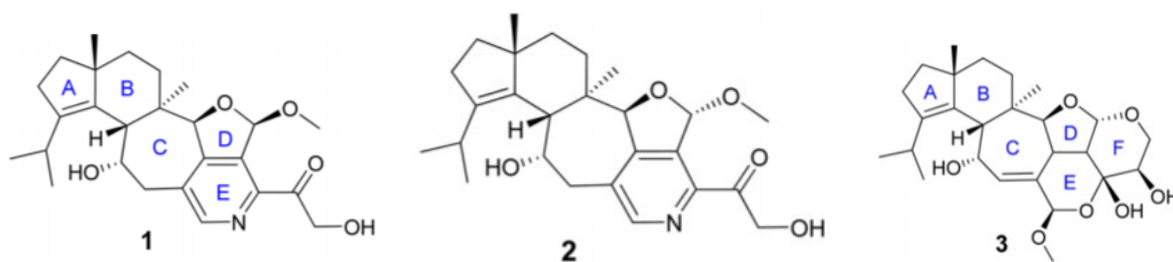


Рис. 2.2. Ціатанові дитерпеноїди: пірїстріатин А (1), пірїстріатин В (2) та стріатин (3)

Сучасні дослідження показують, що окрім антибактеріальної активності до широкого спектру бактерій, ціатинові дитерпеноїди здатні інгібувати ріст мікроміцеліальних грибів, а також дріжджів. Наприклад, мінімальна інгубуюча концентрація пірїстріатину А та пірїстріатину В для *Mucor plumbeus* становить 150 мг/мл, а показники МІК для *Rhodotorula glutinis* та *Schizosaccharomyces pombe* складають 8,3 та 16,7 мг/мл пірїстріатину А та пірїстріатину В відповідно, такі показники МІК є значно нижчі, ніж показники для протигрибкового препарату ністатину (МІК 66,7 мг/мл) [41]. В той же час ціатинові дитерпеноїди, отримані із *Suathus subglobisporus*, а саме: ціатинін D, стріатин С, стріатал А та В проявляють

високу активність проти *C. albicans* (IC₅₀ 8,6-80,3 мМ) [64]. На рис.2.2. зображена хімічна структура деяких цітанових дитерпеноїдів.

2.1.3. Сесквітерпеноїди *Flammulina velutipes*

F. velutipes, що належить до родини *Marasmiaceae* (*Agaricales*, *Basidiomycota*), є поширеним їстівним грибом, широко споживається в Китаї та Японії. Сполуки з лікарськими властивостями були виділені з плодових тіл та міцелію культури цього гриба, включаючи білки з протівірусною та імуномодулюючою активністю, полісахариди з імуномодулюючою активністю, лектин з протипухлинною активністю, сесквітерпеноїди з антимікробною активністю, стерол і монотерпентріол. У дослідженні [70] повідомлено про виділення шести нових сесквітерпенів купаренів (1–6), два нових стерпуранових сесквітерпенів (10 і 11) та чотири раніше відомих сесквітерпенів (7–9, і 12) із твердої культури *F. velutipes*. Їх хімічні структури наведені на рис. 2.3.

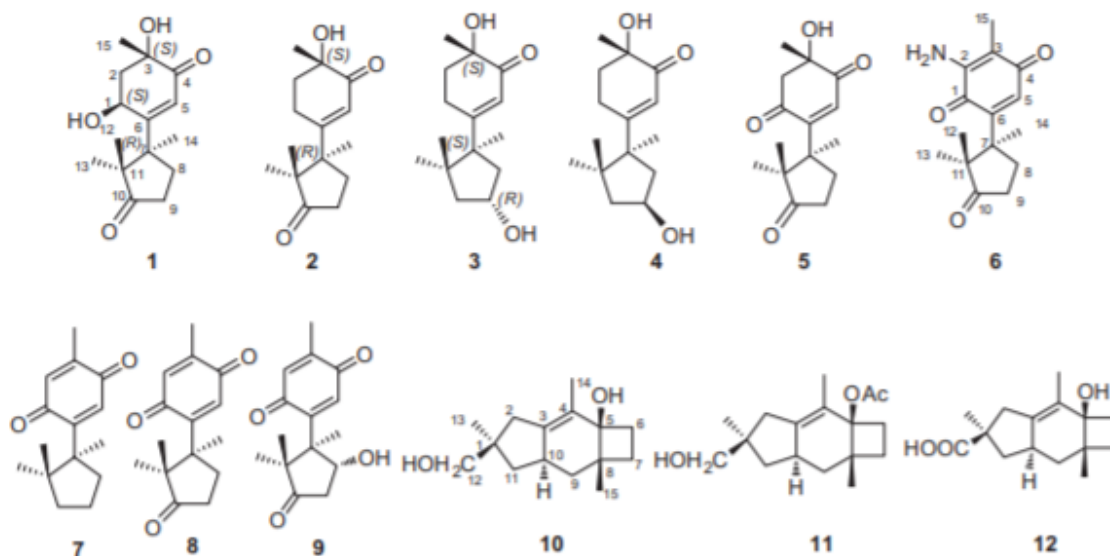


Рис.2.3.Хімічні структури терпеноїдів *F. velutipes*

Високу протигрибкову активність проявляють і сесквітерпеноїди *Pholiota* sp.. У роботі [71] було виділено п'ять нових сесквітерпеноїдів кадінанового ряду – фоліотини А – Е (1–5) та три відомих сполуки, 11-гідрокси-1 (10) -валент-2-он, 8,11-дигідрокси-1(10)-еремофілен-2-он та дургамон були виділені з неочищеного

екстракту плодових тіл *Pholiota* sp, які проявляли активність проти *Aspergillus flavus*, *Piricularia oryzae* та *Fusarium nivale*.

2.2. Полісахариди із протигрибковою дією

Сучасні хімічні та фармакологічні дослідження показують, що полісахариди є одними із найголовніших біологічно активних з'єднань у грибах. Значної популярності в сучасних дослідженнях нині набув напрямок створення на основі грибних полісахаридів альтернативних засобів проти онкологічних захворювань [56]. Грибні полісахариди демонструють різноманітні напрямки активності. Наприклад, полісахариди, виділені із *Phellinus linteus* володіють гіпоклікемчним ефектом і сприяють нормалізації мікрофлори кишківника [72]. Внутрішньоклітинні полісахариди *Pleurotus eryngii* проявляють високу антиоксидантну та гепатопротекторну дію [73], а полісахариди, виділені з плодових тіл *Coriolus versicolor* мають імуномодуляторні властивості [74]. Окрім проявів вищезазначених активностей грибні полісахариди здатні проявляти й протигрибкову активність.

Так у роботі [75] досліджували протимікробну та протигрибкову активність такого широко розповсюдженого гриба як *Flammulina velutipe*. Для визначення використовували полісахариди гриба, а також залізо-полісахаридний комплекс, який був отриманий шляхом нейтралізації розчину із вуглеводами FeCl₃. Даний комплекс проявляє помірну інгібуючу активність по відношенню до міцеліальних грибів *Rhizopus* та *Aspergillus*, зони затримки росту 7,99 та 8,0 мм відповідно. Варто зазначити, що діаметр зони затримки росту був однаковий після впливу полісахаридів та залізо-полісахаридного комплексу.

Вченими у роботі [76] повідомлялось про активність водорозчинних полісахаридів *Oudemansiella radica* проти *Penicillium digitatum*. Застосування даних сполук зумовлювало морфологічні зміни гіфів мікроміцетів, що призводило до збільшення проникності клітинної мембрани та порушувало клітинний метаболізм, внаслідок таких змін мікроміцети гинули під впливом полісахаридів *O. radica*.

2.3. Сполуки білкової природи

У роботі [77] вченими було виділено 46 потенційних протигрибкових білків, які поділили на п'ять груп на основі ферментативних механізмів, які можуть брати участь у процесі інгібування росту мікроміцетів. Цими групами були хітинази, протеази, глюканази, дезоксирибонуклеази та рибонуклеази. Дослідження антифунгальної активності здійснювали проти *Mycosphaerella fijiensis* – збудника чорної сигатоки бананів. Результати дослідження суміші ферментів показують інгібування культури на 79%, що вказує на наявність різноманітних активних білків і свідчить про потенціал даних сполук з метою лікування хвороб бананових культур.

Про наявність антифунгальної активності грибних сполук білкової природи свідчить і робота [78], в якій досліджували протигрибкову активність пептидів, виділених із плодових тіл *Lentinus squarrosulus*. Найбільшу активність проти грибків мав пептид з молекулярною масою приблизно 17 кДа за оцінками SDS-PAGE (додецилсульфат натрій-поліакриламідний гель електрофорез). Дана сполука проявляла значну активність проти дерматофітів роду *Trihophyton*: *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* та дріжджів роду *Candida*: *C. tropicalis* та *C. albicans*.

Значну протигрибкову активність здатні проявляти і лектини – неімунні білки і глікопротеїни, які специфічно зв'язуються з вуглеводами на поверхнях клітин і викликають їх аглютинацію. У дослідженні [80] здійснювали визначення активності лектинів, екстрагованих з плодових тіл *Sparassis latifolia*. Як тест-культури використовували дріжджі роду *Candida*: *C. albicans* (в т.ч. антибіотикорезистентні штами), *C. catenulate*, *C. glabrata*, *C. rugosa*, та фітопатогени роду *Fusarium*: *F. solani* та *F. oxysporum*. Результати досліджень показують, що лектини *S. latifolia* виявляють протигрибкову активність проти дріжджових клітин *C. albicans*, *C. catenulate*, *C. glabrata* та *C. rugosa*, а також здійснюють порушення механізму гіфоутворення грибів *F. oxysporum* та *F. solani*. Висока інгібуюча активність лектинів проти грибків і низька токсичність до навколишнього середовища свідчить про те, що лектини є перспективним засобом біологічного контролю, у тому числі й для генетично

модифікованих рослин, які вражаються фузаріозами. Також варто відмітити нижчу мінімальну інгібуючу концентрацію лектинів проти антибіотикостійкого штаму *C. albicans*, на відміну від антимікотика флуконазола, МІК 100 мг/мл та більше 200 мг/мл відповідно.

2.4. Інші біологічно активні антифугальні сполуки

Група вчених у роботі [81] досліджувала антиоксидантні та антимікробні властивості метанольного, метиленхлоридного та петролейного ефірів висушених та свіжих плодових тіл *Lactarius pergamenus*. Результати дослідження продемонстрували, що антиоксидантна активність екстрактів метиленхлориду плодових тіл *L. pergamenus* забезпечується веллерним діальдегідом, азуленовими сесквітерпенами, пеларгонічними альдегідами та амідами олеїнової кислоти. Отримані дані важливі для контролю хімічного складу під час виділення фармакологічно активних речовин, а також для приготування протигрибкових мазей, зокрема. Так, у патенті [7] описано процес створення та властивості мазевої композиції для зовнішнього лікування мікозів стоп, що містить діючу лікарську речовину, що входить до мазевої основи. Згідно з корисною моделлю, як діючу лікарську речовину мазь містить фармакологічно активну субстанцію, одержану з плодових тіл грибів базидіоміцетів *Lactarius pergamenus*, яку вводять у мазеву основу. Як активний фармацевтичний інгредієнт використовують метанольний екстракт, який обробляють гексаном або петролейним ефіром. В результаті такого оброблення екстрагуються речовини, активні проти грибків *C. albicans*, а також *Trichophyton rubrum* та *Trichophyton violaceum*, активність даних речовин перевищує активність контрольного препарату Ністатину.

У дослідженні [82] був здійснений обширний скринінг екстрактів етилацетату з міцеліальних культур 41 штамів представників 35 видів базидіоміцетів проти аскоміцетів на наявність антифунгальної активності проти *Saccharomyces cerevisiae* та базидіоміцету *Ustilago maydis*. В ході дослідження було виявлено біоактивну сполуку з базидіоміцету *Fistulina hepatica*, який показав селективну протигрибкову

активність. Результат з'ясування структури даної сполуки показав, що це є полієном, який було названо фельдином.

Наявність активності проти фітопатогенних грибів було виявлено у летких органічних сполук, які синтезував *Hypsizygus marmoreus*. Результати показали, що леткі сполуки міцелію та культуральних фільтратів *H. marmoreus* мали протигрибкову активність щодо деяких фітопатогенних грибів. Так міцеліальний ріст і проростання конідій *Alternaria brassicicola* було інгібовано на 60 і 100% відповідно. Більш того, леткі сполуки з культурального фільтрату перешкоджають утворенню уражень *A. brassicicola* на відокремлених капустияних листках на 94%. Леткі сполуки були виділені з культурального фільтрату *H. marmoreus* та були ідентифіковані як 2-метилпропанова кислота та 2,2-диметил-1-(2-гідрокси-1-метилетил) пропіловий ефір. Оскільки леткі сполуки, синтезовані *H. marmoreus*, є продуктами біосинтезу їстівного гриба та мають фунгістатичну активність щодо деяких фітопатогенних грибів, то, можливим є варіант використання даних сполук як новий засіб для захисту посівів у полі та під час зберігання [83].

Наявність летких сполук із фунгіцидною активністю зафіксована і у базидіоміцетів роду *Russula*. Після екстрагування плодових тіл ацетоном та п-гексаном було отримано сполуки, які далі було ідентифіковано як як ізовелерал, сесквітерпеновий діальдегід із скелетом марасмани (рис. 2.4.). Даний компонент був виявлений у плодових тілах *R. chloroides* та *R. senecis*. та *R. cf. anthracina*, аналіз вмісту ізовелералу з використанням очищеного ізовелералу як стандарту показав наявність 13 мг/г ізовелералу у *R. cf. anthracina*, 9,5 мг/г у *R. chloroides*, та 15,1 мг/г в *R. senecis* [84].

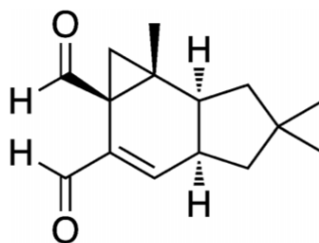


Рис. 2.4. Хімічна структура ізовелералу

Авторами роботи [55] було виявлено цілий ряд сполук базидіоміцету *Hericium* sp., які проявляли активність проти представників родів *Candida* та *Cryptococcus*. Так, серед виділених сполук були: 5-ацетил-2-(гідроксиметил)-1-(2-гідроксифеніл) піридин-4 (1H)-он (1), який отримав тривіальну назву еринацерин V; похідне альдегіду 4-гідроксихромана-4-гідрокси-2,2-диметилхроман-6-карбальдегід (2). З'єднання 3-9 були визначені як 4-хлор-3,5-диметоксибензальдегід (3), 2-хлор-1,3-диметокси-5-метилбензол (4), (4-хлор-3,5-диметоксифеніл) метанол (5), 3,6-біс (гідроксиметил) -2-метил-4H-піран-4-он (6), 4-хлор-3,5-диметоксибензойна кислота (7) та 5-гідрокси-6-(1-гідроксиетил) ізобензофуран-1 (3H) -он (8) [31], еринацин E (9). Активність проти *C. albicans* та *C. neoformans* проявляв 4-й компонент, тобто 2-хлор-1,3-диметокси-5-метилбензол. Хімічна будова вищеописаних сполук наведена на рис.2.5.

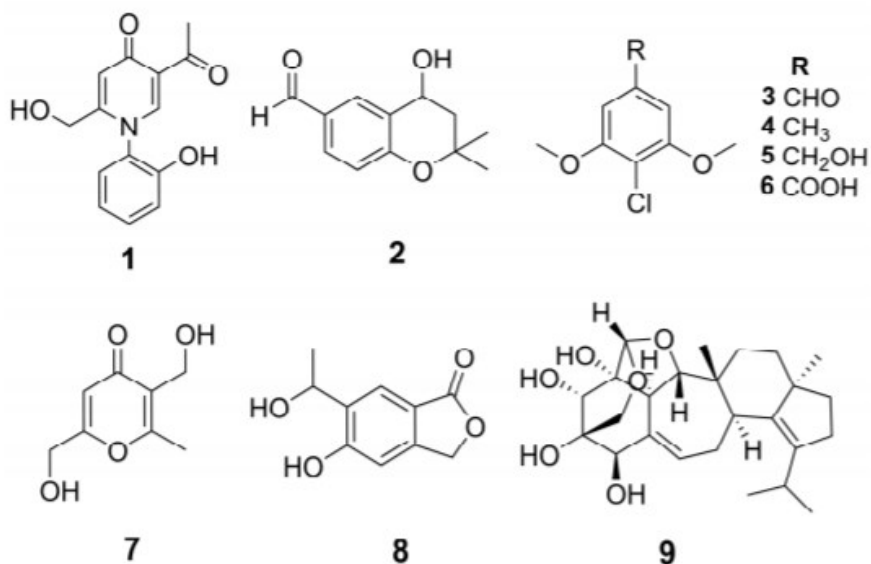


Рис.2.5. Структури ізольованих сполук *Hericium* sp.

Про наявність значної кількості активних компонентів у базидіоміцетів свідчить і дослідження [48], в якому були оцінені фітохімічні властивості та антимікробні ефекти екстракту трісового буфера та водних екстрактів сухого міцелію гриба *Auricularia auricula-judea*. Фітохімічний аналіз екстрактів виявив наявність вуглеводів (43,15%; 38,30%), білків (23,75%; 23,75%), флавоноїдів (1,20%; 0,80%),

алкалоїдів (0,60%; 1,00%), сапонінів (6,00%; 2,40%), танінів (1,65%; 1,57%), ціаніду (0,24%; 0,40%), золи (12,40%; 10,40%), ліпідів (6,00%; 6,00%) та клітковини (8,70%; 6,45%) для тріс-буферного та водного екстрактів відповідно. Особливу цінність складають саме екстраговані протеїни, які проявляють високу активність до *C. albicans* та *Trichophyton schoenleinii*, МІК екстрактів складають 5 мг/мл для кожного.

Як відомо, базидіоміцети є активними продуцентами таких цінних метаболітів як ліпіди та жирні кислоти, однак дані сполуки є корисними не лише як компоненти харчових продуктів, але й здатні до прояву протигрибкової активності. У роботі [79] досліджували антимікробні властивості ліпідів та жирних кислот базидіоміцету *Laetiporus sulphurous*. В ході дослідження було виявлено, що профіль жирних кислот та ліпідний склад залежать від обраних розчинників, наприклад після екстрагування n-гексаном екстракт містить значну кількість C15:0, C18:4 ω -3 та C22:5 ω -3 кислот. Тому в залежності від використаного екстракту відрізнявся і вплив на ріст грибків. Так мінімальні інгібуючі концентрації n-гексанового екстракту були в межах 1,5-2,0 мг / мл, а для хлороформового екстракту 3,125-8,0 мг/мл. Фунгіцидні концентрації екстрактів n-гексану та хлороформу коливалися в межах від 3,0-5,0 мг / мл до 6,25-17,0 мг / мл відповідно. Найнижче значення МІК було у n-гексанового екстракту проти *Trichoderma viride* і складало 1,5 \pm 0,03 мг/мл. У таблиці 2.1 наведені деякі приклади біологічно активних сполук базидієвих грибів і спектру їх дії.

Таблиця 2.1.

Антифунгальні біологічно активні сполуки базидієвих грибів

Представник базидіоміцетів	Сполука	Спектр дії	Джерело
<i>Lactarius pergamenus</i>	Веллерний діальдегід, азуленові сесквітерпени, пеларгонічні альдегіди та аміді олеїнової кислоти	<i>Candida albicans</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> та <i>Trichophyton violaceum</i>	[81,7]

Закінчення таблиці 2.1.

<i>Fistulina hepatica</i>	Полієн фельдин	<i>Saccaromyces cerevisiae</i> та <i>Ustilago maydis</i>	[82]
<i>Hypsizygus marmoreus</i>	2-метилпропанова кислота та 2,2-диметил-1- (2-гідрокси-1-метилетил) пропіловий ефір	<i>Alternaria brassicicola</i>	[83]
<i>Hericium</i> sp	2-хлор-1,3-диметокси-5-метилбензол	<i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>	[55]
<i>Auricularia auricula-judea</i>	Тріс-буферний та водний екстракти білків	<i>C. albicans</i> та <i>Trichophyton schoenleinii</i>	[48]
<i>Laetiporus sulphurous</i>	Ліпіди та жирні кислоти н-гексанового та хлороформового екстрактів	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus versicolor</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Penicillium ochrochloron</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>	[80]

Отже, швидке та неспинне зростання резистентності патогенних грибків зумовлює здійснювати пошук нових протигрибкових сполук, особливо природного походження. Проаналізовані літературні джерела яскраво свідчать про здатність базидіоміцетів до продукування значної кількості біоактивних сполук, які мають широкий спектр застосування. Такі метаболіти як білки, полісахариди, сполуки терпенової природи, жирні кислоти та ліпіди здатні здійснювати фунгіцидний та фунгістатичний вплив на ряд грибків, які завдають шкоду різним галузям сільського господарства або навіть здоров'ю людей. Проаналізовані наукові праці вітчизняних та світових вчених свідчать про значний потенціал базидіоміцетів та їх компонентів для створення нових ефективних протигрибкових засобів, особливо з метою лікування кандидозів, аспергільозів, дерматомікозів та мукормікозів. Таким чином, подальші дослідження антифунгальних властивостей базидієвих грибів є актуальним та своєчасним завданням, яке потребує проведення нових експериментальних робіт для вирішення цих завдань.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА
РОЗДІЛ 3.МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктами дослідження були штами грибів із різних екологічних груп з Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України (ІВК): *Coprinellus ephemerus* (Bull.) 8, *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers. 2325, *Coprinopsis atramentaria* (Bull.) 2336; *Crinipellis schevczenkovi* Buchalo 31, *Hericium coralloides* (Bull) 2332, *Hericium cirrhatum* (Pers.) 2393, *Hericium erinaceus* 2530, *Inonotus obliquus* 2026, 2512, 2513, *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst 2129, 2291, *Fomitopsis officinalis* (Vill.:Fr.) 2498, 2497, 5004, *Psathyrella candolleana* (Fr.) Maire 2387, *Phallus impudicus* L, 7 штамів семи видів роду *Pholiota*: *P.adiposa* 2169, *P. alnicola* 2404, *P. aurivella* 2605, *P. limonella* 2335, *P. nameko* 2154, *P. squarrosa* 2010, *P. subochracea* 2335.

Культури грибів зберігали в холодильнику за температури 4 ± 1 °С в пробірках з 20 см³ сусло-агару (рН 6,5) і періодично пересівали на щільне пивне сусло один раз на 10-11 місяців.

У роботі використовували такі поживні середовища:

- 1) Сусло-агар (СА) такого складу: пивне сусло (8° Б) – 1л; агар – 20г/л.
- 2) Напівсинтетичне глюкозо-пептоно-дріжджове агаризоване середовище (ГПДА) такого складу, г/л: глюкоза – 25; пептон – 3; дріжджовий екстракт – 3; KH_2PO_4 – 1,0; K_2HPO_4 – 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25; агар – 20.
- 3) Напівсинтетичне глюкозо-пептоно-дріжджове рідке середовище (ГПД) такого складу, г/л: глюкоза – 25; пептон – 3; дріжджовий екстракт – 3; KH_2PO_4 – 1,0; K_2HPO_4 – 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25.
- 4) Агаризоване середовище Чапека з дріжджовим екстрактом (СУА) такого складу, г/л: сахароза – 30; NaNO_3 – 3; $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; KCl – 0,5;

					<i>НУХТ БТЕК 02.02.05 КР ПЗ</i>			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розроб.</i>		<i>Кернер А.О.</i>			<i>Розділ 3. Матеріали та методи</i>	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Аркушів</i>
<i>Перевір.</i>		<i>Красінко В.О.</i>					36	85
<i>Консульт.</i>		<i>Аль-Маалі Г.А.</i>				<i>Кафедра БТМ</i>		
<i>Н. Контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Стабніков В.П.</i>						

дріжджовий екстракт – 5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; агар – 20.

5) Сабуро декстрозний агар такого складу, г/л: глюкоза – 40, пептон – 10, агар – 15.

6) Рідке Сабуро декстрозне середовище такого складу, г/л: глюкоза – 40, пептон – 10.

Міцелій грибів із пробірок із СА пересівали в чашки Петрі з ГПДА і інкубували за температури $26 \pm 1^\circ\text{C}$ до повного обростання всієї площі поживного середовища у чашці протягом 7 діб. У фазі активного росту з культури стерильним мікробіологічним свердлом у асептичних умовах вирізали міцеліальні диски діаметром 5 мм і використовували їх для інокуляції матрасів із рідким поживним середовищем (ГПД). Культивування здійснювали протягом 7-28 днів, залежно від виду макроміцета, при температурі $26 \pm 1^\circ\text{C}$.

Отримання екстрактів.

Екстракти міцеліальної біомаси.

Вирощену біомасу відділяли від культуральної рідини фільтруванням через нейлоновий фільтр. Вологий міцелій висушували до постійної маси при 60°C . Далі висушену біомасу подрібнювали та екстрагували за допомогою органічних розчинників та води у співвідношенні 1:2 (біомаса:розчинник). Як екстрагенти використовували, етанол (70%), етилацетат, ацетонітрил та воду.

Для отримання водних екстрактів екстракцію проводили гарячою дистильованою водою (температура 98°C) упродовж доби. Для запобігання бактеріальної контамінації до водного екстракту додавали етиловий спирт (концентрація отриманого розчину 30%). При екстрагуванні біомаси *Phallus impudicus* співвідношення вода:біомаса складало 5:1, оскільки біомаса даного продуцента імпрегнувала значно більшу кількість води, ніж інші об'єкти.

Екстрагування біомаси грибів *Coprinellus ephemerus*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Coprinus comatus*, *Coprinopsis atramentaria*, *Phallus impudicus* та *Psathyrella candolleana* здійснювали таким чином: до висушеної та подрібненої біомаси додавали

етилацетат та залишали на добу при температурі 4°C. Далі етилацетатну фракцію, відділяли від біомаси за допомогою паперового фільтру. Отримані екстракти випарювали на роторному випарювачі при температурі 50°C до повного упарювання. Після чого використану біомасу просушували при температурі 60°C і проводили повторні етапи екстракції ацетонітрилом.

Екстрагування міцеліальної біомаси представників родів *Inonotus*, *Fomitopsis* та *Hericium* здійснювали так: вирощену біомасу відділяли від культуральної рідини фільтруванням через нейлоновий фільтр. Вологий міцелій висушували до постійної маси при 60°C. Далі висушену біомасу подрібнювали та екстрагували за допомогою 70%-го розчину спирту у співвідношенні 20 мг біомаси на 1 мл розчинника. Далі проводили екстракцію на ультразвуковій бані при температурі 45 °C протягом 30 хвилин, залишали на 24 год в холодильнику при 4 °C. Після цього фільтрували та центрифугували протягом 20 хвилин при G=13500 [85].

Екстракти культуральної рідини.

Для отримання екстрактів культуральної рідини грибів *Coprinellus ephemerus*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Coprinus comatus*, *Coprinopsis atramentaria* та *Psathyrella candolleana* в пробу вносили етилацетат у співвідношенні 2:1 (культуральна рідина:етилацетат), перемішували протягом 30 хвилин, після чого залишали на добу при температурі 4°C. Далі етилацетатну фракцію відділяли за допомогою ділильної лійки. Отримані екстракти випарювали на роторному випарювачі при температурі 50°C до повного висихання. Після чого до отриманого осаду додавали етилацетат в кількості 1/100 до початкового об'єму проби. Осад, який залишився після концентрування етилацетатом, змивали метанолом у кількості 11 мл.

Визначення антифунгальної активності.

*Визначення протигрибкової активності культуральної рідини базидіоміцетів роду *Pholiota*.*

Визначення активності культуральних рідин *P. adiposa* 2169, *P. alnicola* 2404, *P. aurivella* 2605, *P. limonella* 2335, *P. nameko* 2154, *P. squarrosa* 2010, *P. subochracea*

2335 здійснювали методом лунок[86]. Для цього в товщі чашки із середовищем СУА, з попередньо засіяною тест-культурою за допомогою стерильного мікробіологічного свердла робили лунки діаметром 5 мм. Далі в лунки за допомогою стерильної піпетки вносили 0,1 мл культуральної рідини досліджуваного макроміцету. Інкубування чашок здійснювали протягом 7 діб в термостаті при температурі 26 °С. Далі за допомогою лінійки здійснювали вимір зон інгібування. Як тест культури використовували *Penicillium griseofulvum*; *Aspergillus niger*; *Mucor racemosus*.

Визначення антифунгальної активності грибних екстрактів. Після концентрування екстрактів здійснювали визначення антифунгальної активності по відношенню до мікроміцеліальних культур. Чутливість мікроорганізмів до метаболітів базидіоміцетів, екстрагованих з міцелію та культуральних рідин, визначали диско-дифузійним методом. Для цього попередньо простерилізовані диски (діаметром 5 мм) з фільтрувального паперу змочували у випробовуваних екстрактах, просушували та накладали на поверхню поживного середовища (СУА) з попередньо засіяною тест-культурою.

При визначенні чутливості диско-дифузійним методом використовували інокулом досліджуваних тест-культур у концентрації приблизно $1,5 \times 10^5$ клітин/мл, концентрацію визначали методом порівняння зі стандартними зразками каламутності визначених тест-культур. Інокулом використовували протягом 15 хвилин після приготування. Далі в чашки Петрі із середовищем СУА вносили піпет-дозатором по 1 мл тест-культури, розподіляли по всій поверхні агаризованого середовища за допомогою стерильного шпателя Дригальського і далі поміщали диски із екстрактами грибів. На одну чашку поміщали 4 диски. Як тест-системи використовували чисті культури *Penicillium polonicum*, *Aspergillus niger*, *Mucor racemosus*. Далі чашки поміщали в термостат при температурі 26 °С на 7 днів. Після чого візуально оцінювали зону затримки росту тест-культури довкола диску та зміну морфолого-культуральних ознак тест-культур. У випадку зміни морфолого-культуральних ознак тест-культур, порівняно із контрольним зразком проводили повторний дослід із

розміщенням одного диску на чашку Петрі. Як контроль використовували чашки засіяні лише тест-культурою.

Визначення мінімальних фунгіцидних та фунгістатичних концентрацій

Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) етилових екстрактів *I. obliquus* 2513, *F. pinicola* 2291 та 2129, *F. officinalis* 2498 проти досліджуваних організмів визначали за допомогою методу розведення рідкого середовища Сабуро [87]. Суспензію спор тест-культури готували на стерильній водопровідній воді, концентрацію колонієутворюючих одиниць в 1 мл суспензії визначали стандартним методом за допомогою камери Горяєва. Конідії обережно збирали бактеріологічною петлею з поверхні та вносили у воду, ретельно перемішуючи, аби «розбити» ланцюжки конідій. Перед кожним відбором суспензії для підрахунку спор її ретельно перемішували, оскільки спори швидко осідають на дно пробірки. Кожну пробірку заповнювали 1 мл поживного середовища, далі здійснювали внесення 1 мл екстрактів з відповідними концентраціями (концентрації для кожного з екстрактів наведено в таблиці 3.1), після чого додавали 0,5 мл інокулюму (концентрація спор мікроміцетів роду *Aspergillus* 1×10^6 КУО/мл) [88]. Після чого пробірки інкубували при температурі 26°C протягом 48 год. МІК визначали як найнижчу концентрацію, при якій не спостерігали ріст тест-культури.

Мінімальну фунгістатичну концентрацію (МФК) визначали як найнижчу концентрацію, при якій спостерігали затримку спороношення тест-культур. Для відзначення затримки спороношення культури залишали на інкубування протягом 7 діб [89]. У якості контролю використовували пробірки із поживним середовищем, спиртом та тест-культурою. [90].

Таблиця 3.1.

Концентрація екстрактів у пробірках для визначення мінімальних фунгіцидних концентрацій методом серійних розведень

Базидіоміцет	Штам	Доба культивування	Концентрації, мкг/мл						
			1	2	3	4	5	6	7
<i>Fomitopsis</i>	2129	28	120	62	31	15	8	4	2
<i>pinicola</i>	2291	14	2930	1465	733	366,3	183	92	46
<i>Inonotus</i>	2513	21	3770	1885	943	471	236	118	59
<i>obliquus</i>		28	7070	3535	1768	884	441,9	221	111
<i>Fomitopsis</i>	2498	28	360	180	90	45	23	11	6
<i>officinalis</i>									

Визначення загального вмісту фенольних сполук

Загальний вміст фенольних сполук отриманих водно-спиртових екстрактів міцелію визначали за допомогою реагенту Фоліна-Чокальте згідно з методикою Донкор [91]. Суть методу Фоліна-Чокальте полягає у хімічному відновленні реагенту (суміш оксидів вольфраму та молібдену) під впливом фенолів. Продукція відновлення оксиду металів має синє забарвлення, з широким спектром поглинання та максимумом при 765 нм. Інтенсивність оптичної густини розчину пропорційна концентрації фенолів [92].

Для проведення дослідження аліквоту екстракту в кількості 0,5 мл змішували з 0,5 мл реагенту Фоліна-Чокальте. Отриману суміш інкубували протягом 3 хв при кімнатній температурі, після чого додавали 10 мл розчину карбонату натрію (концентрація 75 г/л) і 5 мл дистильованої води, перемішували та інкубували протягом 1 год при кімнатній температурі в захищеному від потрапляння світла місці. Після інкубування вимірювали поглинання отриманого розчину при 750 нм за допомогою УФ-спектрофотометра. Для визначення концентрації фенолів у досліджуваних зразках будували калібрувальний графік за розчином тимолу із

відомими концентраціями. Загальний вміст фенольних сполук виражали у мг еквівалентів тимолу/г [93].

Визначення антиоксидатної активності

Визначення активності знешкодження вільних радикалів здійснювали з використанням 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилу (DPPH реагент) за методом Ельфакірі[94]. 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразил (DPPH) є стабільним вільним радикалом, метод заснований на відновленні реагенту DPPH під впливом антиоксиданту. Отримуючи водень від відповідного донора, його розчини змінює характерний глибокий фіолетовий колір на жовтий (λ_{\max} 515–517 нм), відповідно чим вища антиоксидантна активність екстрактів, тим меншою буде інтенсивність фіолетово-синього кольору [95, 96].

Для здійснення аналізу в скляні пробірки додавали 800 мкл реагенту DPPH (0,1 мМ DPPH, розчиненого в 95% метанолі) та 200 мкл водно-спиртового екстракту міцелію. Зразки інтенсивно струшували та інкубували при кімнатній температурі в темному місці протягом 30 хв. Паралельно готували контрольну пробу – розчин DPPH з 95% метанолом для того, щоб виміряти інтенсивність забарвлення самого розчину без екстрактів. Розчином порівняння був 95 % метанол. Поглинання зразками світла вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 517 нм. Відсоток активності знешкодження вільних радикалів знаходили за формулою:

$$S(\%) = \frac{P_c - P_s}{P_c} \cdot 100\%,$$

де S активність знешкодження вільних радикалів, P_c – поглинання світла контрольним зразком, P_s – поглинання світла досліджуваним зразком.

РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Отримання екстрактів міцеліальної біомаси

В результаті екстрагування біомаси було отримано такі екстракти:

Етилацетатні, ацетонітрильні, водні екстракти біомаси таких грибів: *Coprinellus ephemerus*, *Coprinus comatus*, *Coprinopsis atramentaria*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Psathyrella candolleana*, *Phallus impudicus*.

Етилові екстракти біомаси таких грибів після культивування протягом 14, 21 та 28 днів: *Hericium coralloides* (міцелій та плодові тіла), *Hericium cirrhatum*, *Hericium erinaceus*, *Inonotus obliquus* (14, 21, 28 та 60 днів культивування), *Inonotus officinalis*, *Fomitopsis pinicola*, *Fomitopsis officinalis*, *Phallus impudicus*.

Отримання екстрактів культуральної рідини

В результаті екстрагування культуральної рідини було отримано етилацетатні та метанольні екстракти культуральної рідини таких грибів: *Coprinellus ephemerus*, *Coprinus comatus*, *Coprinopsis atramentaria*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Psathyrella candolleana*, *Phallus impudicus*.

Загалом у дослідженнях було отримано і використано 60 екстрактів.

Визначення антифунгальної активності культуральної рідини

Значну антифунгальну активність культуральної рідини було відмічено для *P. adiposa* 2169 у випадку всіх трьох використовуваних видів мікроміцетів. Зони інгібування становили для *Aspergillus niger* 44 мм, для *Penicillium griseofulvum* 35 мм та для *Mucor racemosus*. 57 мм (рис. 4.1).

Цілком ймовірно, що протигрибкова активність культуральної рідини грибів даного роду може бути зумовлена сесквітерпеноїдами, які даний організм продукує. Раніше у роботі [71] повідомлялось, що саме сполуки терпеноїдної природи (фоліотіни А-Е) проявляють антагоністичну активність проти *Aspergillus niger*.

					НУХТ БТЕК 02.02.05 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розроб.		Кернер А.О.			Розділ 4. Результати та обговорення	Літ.	Арк.	Акрушіє
Перевір.		Красінько В.О.					43	85
Консульт.		Аль-Маалі Г.А.				Кафедра БТМ		
Н. Контр.								
Затверд.		Стабніков В.П.						

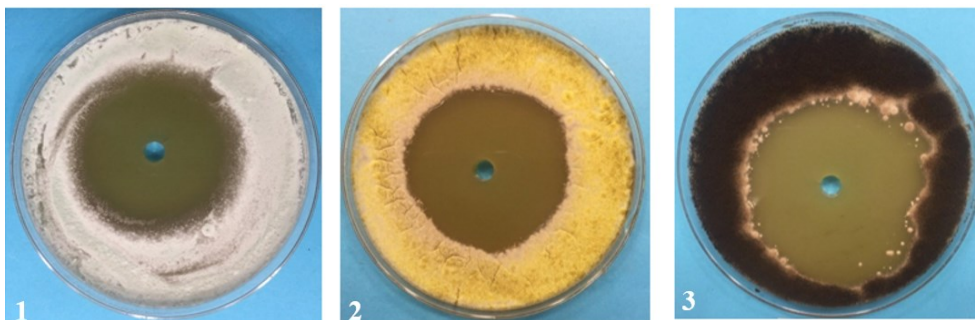


Рис. 4.1. Визначення антифунгальної активності культуральної рідини *P. adiposa* 2169 по відношенню до тест-культур: 1) *P. griseofulvum*; 2) *A. niger*; 3) *M. racemosus*

Визначення антифунгальної активності грибних екстрактів проти *Penicillium polonicum*

Результати досліджень свідчать про відсутність протигрибкової активності кожного із аналізованих екстрактів проти *Penicillium polonicum*. Використання екстрактів не зумовлювало й зміни морфолого-культуральних ознак мікроміцету.

Отримані результати свідчать лише про відсутність прояву активності досліджених нами екстрактів, однак ніяк не свідчать про повну відсутність у базидіоміцетів активності проти *Penicillium polonicum*. Адже раніше вченими у роботі [72] повідомлялось про активність водорозчинних полісахаридів *Oudemansiella radica* проти *Penicillium digitatum*. Застосування даних сполук зумовлювало морфологічні зміни гіфів мікроміцетів, що призводило до збільшення проникності клітинної мембрани та порушувало клітинний метаболізм, внаслідок таких змін мікроміцети гинули під впливом полісахаридів *O. radica*.

Визначення антифунгальної активності грибних екстрактів проти *Mucor racemosus*

Результати дослідження антифунгальної активності екстрактів базидіальних грибів до *Mucor racemosus* показали, що жоден із досліджуваних екстрактів не пригнічував ріст даного мікроміцету, зони інгібування росту відсутні. Також було встановлено, що використання екстрактів *Hericium cirrhatum*, *Hericium coralloides*, *Fomitopsis pinicola*, *Fomitopsis officinalis*, *Inonotus obliquus* зумовлює посилене спороношення культури, порівняно із контрольним зразком (рис. 4.2).

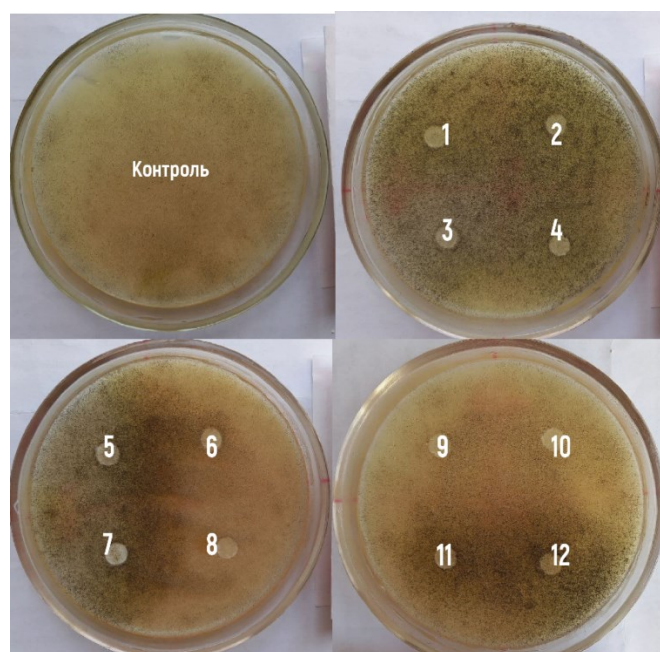


Рис.4.2. Вплив грибних екстрактів на *Mucor racemosus*. 3) Екстракт плодових тіл *Hericium coralloides*, 1) *Hericium cirrhatum*, 2,4) – *Hericium erinaceus*, 5,6,8) *Inonotus obliquus* 2513, 7) *Fomitopsis pinicola*, 9) *Fomitopsis officinalis*, 10- 12) *Inonotus obliquus* 2512

Раніше вченими Wittstein та іншими повідомлялось про слабку активність *Hericium coralloides* проти *Mucor racemosus* [42]. Дослідження антифунгальної активності методом подвійних культур 30 видів макроміцетів, серед яких є спільні штами для нашого дослідження, також показують на низьку активність або її повну відсутність [38].

Визначення антифунгальної активності грибних екстрактів проти мікроміцетів роду *Aspergillus*

*Визначення антифунгальної активності грибних екстрактів проти *Aspergillus niger**

При визначенні антифунгальної активності до тест-мікроорганізмів, встановлено, що значну чутливість до грибних метаболітів проявляє культура *A. niger*, незважаючи на відсутність зон інгібування, на чашках яскраво спостерігається пригнічення спороношення культури мікроміцету, що було

підтверджено під час дослідження на світловому мікроскопі. На рис. 4.3 зображено вплив екстрактів базидіоміцетів на 14-ту добу інкубування культури *A. niger*.

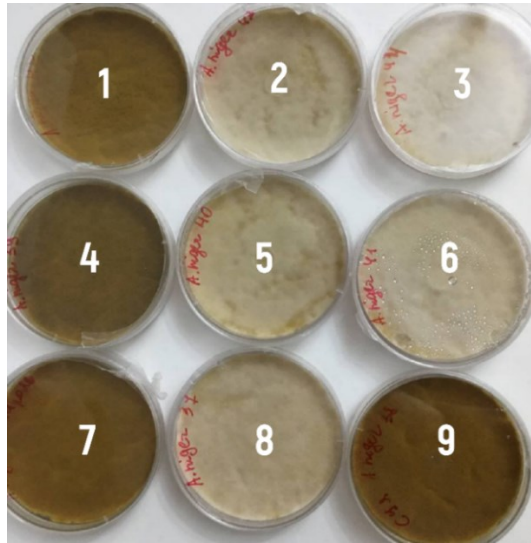


Рис. 4.3. Вплив екстрактів базидіоміцетів на *A. niger*. 1) *Inonotus obliquus* 2513 (21 доба культивування), 2) *Inonotus obliquus* 2513 (28 доба культивування), 3) *Fomitopsis pinicola* 2291 (14 доба культивування), 4) *Fomitopsis officinalis* 2498 (21 доба культивування), 5) *Inonotus officinalis* 2498 (28 доба культивування), 6) *Inonotus obliquus* 2513, 7) Контроль, 8) *Fomitopsis pinicola* 2129, 9) *Fomitopsis officinalis* 2498 (14 доба культивування)

Отже, серед досліджених екстрактів варто відзначити етилові екстракти біомаси *Inonotus obliquus* 2513 (28 доба культивування), *Fomitopsis pinicola* 2291 (14 доба культивування), *Inonotus officinalis* 2498 (28 доба культивування), *Inonotus obliquus* 2513 (14 доба культивування), *Fomitopsis pinicola* 2129 (28 доба культивування). Використання екстрактів даних видів грибів зумовило пригнічення спороношення мікроміцеліальної культури, про що яскраво свідчить зміна культуральних ознак тест-культур і підтверджують результати світлової мікроскопії.

Варто зазначити, що відмінності результатів між екстрактами однакових штамів можуть бути пов'язані із тривалістю їх культивування. Тому деякі дослідники вважають необхідним тривале культивування вищих базидіальних грибів для утворення антибіотиків [38]. Згідно літературних даних, біосинтетична здатність

макроміцетів до продукування антимікробних речовин може бути пов'язана із накопиченням в процесі їх росту органічних кислот, тритерпеноїдів, стероїдів, що пояснює вищу активність екстрактів, отриманих після 21-ї доби культивування [97].

*Визначення антифунгальної активності грибних екстрактів проти
Aspergillus fumigatus*

Результати досліджень із визначення протигрибкової активності екстрактів базидіоміцетів на *Aspergillus fumigatus* показують, що даний мікроміцет виявив незначну чутливість лише до метанольного екстракту культуральної рідини *Coprinellus ephemerus*, до решти екстрактів дана тест-культура виявила резистентність (рис. 4.4).

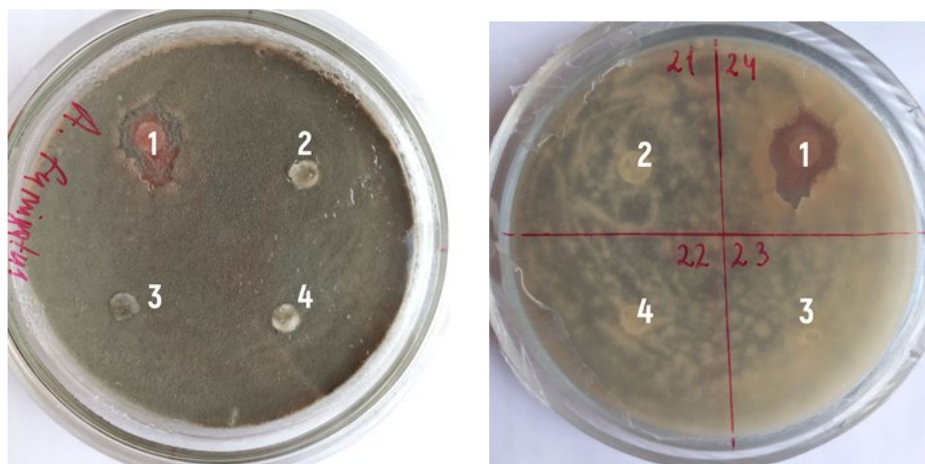


Рис. 4.4. Вплив екстрактів базидіоміцетів на *A. fumigatus*. 1)метанольний екстракт культуральної рідини *Coprinellus ephemerus*, 2) етилацетатний екстракт біомаси *Phallus impudicus*, 3) водний екстракт біомаси *P. impudicus*, 4)ацетонітрильний екстракт біомаси *P. impudicus*

Варто зазначити, що у сучасній літературі відсутня інформація про антифунгальну активність базидіоміцету *Coprinellus ephemerus*. Незважаючи на відсутність прояву активності інших представників цього роду у нашому дослідженні, експериментальні роботи зарубіжних вчених вказують на високий протигрибковий потенціал базидієвих грибів роду *Coprinus*. Наприклад, антифунгальна активність екстракту міцелію *Coprinus comatus* проти *Penicillium*

ochrochloron вища, ніж активність відомого антимікотика кетоконазола, МІК становлять 0,2 і 2,5 мг/мл відповідно [37].

Раніше у роботі [98] повідомлялось про високу антифунгальну активність *Fomitopsis pinicola* та представника роду *Inonotus* – *I. hispidus* до мікроміцетів родів *Aspergillus* та *Penicillium*. Так, мінімальна інгібуюча концентрація етилацетатного та метанольного екстрактів *Fomitopsis pinicola* для *Aspergillus fumigatus* та *Penicillium chrysogenum* становить 3,2 мг/мкл, екстрактів *Inonotus hispidus* для цих же мікроміцетів складає 6,4 мг/мкл.

*Визначення антифунгальної активності грибних екстрактів проти
Aspergillus flavus*

При визначенні антифунгальної активності до тест-мікроорганізмів, встановлено наявність чутливості до грибних метаболітів культури *A. flavus*, незважаючи на відсутність зон інгібування, на чашках яскраво спостерігається пригнічення спороношення культури мікроміцету. На рис. 4.5 зображено порівняння росту мікроміцету під впливом екстракту біомаси *Inonotus obliquus* 2513, культивованої протягом 28 діб та контрольного зразку без внесення екстракту.

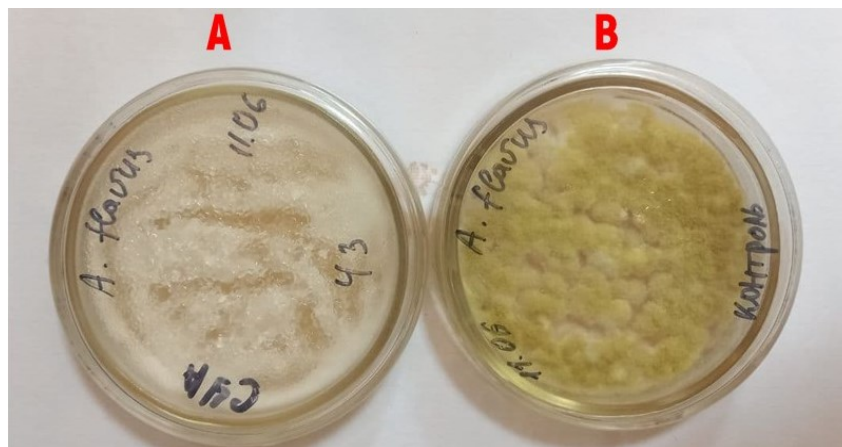


Рис.4.5. Зміна культуральних ознак *Aspergillus flavus*: А – екстракт *Inonotus obliquus* 2513 (28 діб), В – контроль

Отримані результати є дуже важливими і цінними, оскільки *Aspergillus flavus* є основним продуцентом афлатоксинів, які є небезпечними мікотоксинами

продовольчих продуктів і мають мутагенні, канцерогенні та тератогенні властивості [99].

Результати проведеної світлової мікроскопії (рис 3.6.) підтверджують затримку спороношення. Варто відмітити, морфологію міцелію – на конідієносцях демеланізованої культури майже відсутні конідії, порівняно із контрольним зразком. Меланін відіграє життєво важливу роль у вірулентності грибів, захищаючи мікроміцети від широкого спектру токсинів та забезпечуючи їм виживання в екстремальних умовах. Відповідно, руйнування такого захисту (демеланізація) є механізмом пригнічення росту патогенних грибків роду *Aspergillus* [100].

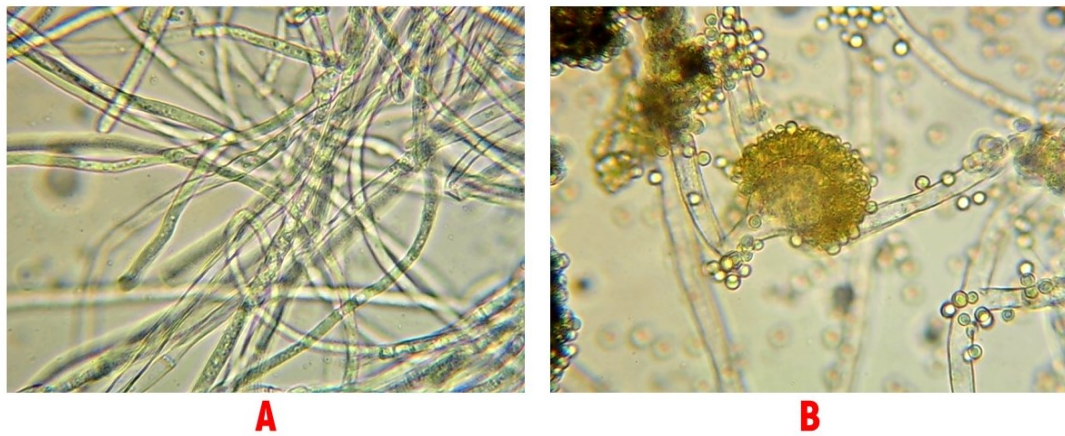


Рис.4.6. Зміна морфологічних ознак *Aspergillus flavus*: А – екстракт *Inonotus obliquus* 2513 (28 діб), В – контроль

Визначення антифунгальної активності грибних екстрактів проти Aspergillus nidulans

Результати визначення антифунгальної активності грибних екстрактів проти *Aspergillus nidulans*, показали, що серед досліджених екстрактів здатність до пригнічення спороношення мають спиртові екстракти біомаси *Inonotus obliquus* 2513 (культивовані протягом 28 діб та 21 доби) та *Fomitopsis pinicola* 2291 (14 діб культивування). На рис. 4.7 зображено затримку спороношення даного мікроміцету на 25 добу інкубування.

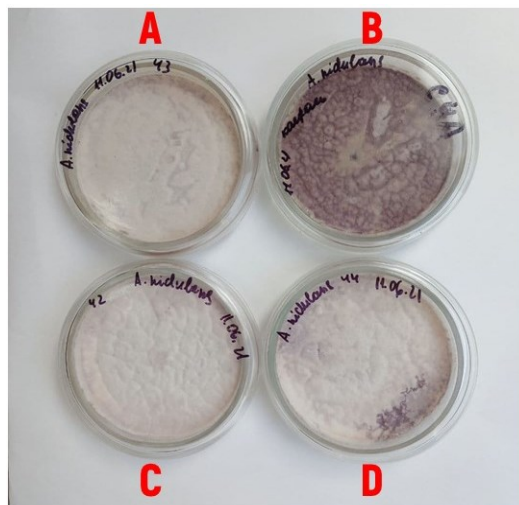


Рис. 4.7. Зміна культуральних ознак *Aspergillus nidulans*: А – екстракт *Inonotus obliquus* 2513 (28 діб), В – контроль, С – *Inonotus obliquus* 2513 (21 діб), *Fomitopsis pinicola* 2291 (14 діб)

Хоча в літературі відсутня інформація про інгібування росту *Aspergillus nidulans* дослідженими нами видами грибів, однак є дослідження про антифунгальну активність синтезованих грибами речовин проти даного мікроміцету. Наприклад, лаєтипорові кислоти, продуцентами яких є гриби роду *Laetiporus*, виявляють виражену протигрибкову дію на протопластах *Aspergillus niger* та суттєво знижують їх життєздатність [101].

Також було виявлено, що мелеоліди, які являють структурно різноманітну групу полікетид-сесквітерпенових гібридів, синтезованих грибом *Armillaria mellea* також інгібують ріст *A. nidulans*. Було встановлено, що механізм пригнічення росту мікроміцету даними сполуками полягає в пригніченні біосинтезу білків [102]. Отже, для встановлення природи речовин, які інгібують спороношення та з'ясування механізмів їх дії необхідно провести подальші дослідження.

Отже, можна зробити висновок, що жоден із досліджених екстрактів *C. comatus*, *C. atramentaria*, *C. schevczenkovi*, *P. candolleana*, *P. impudicus*, *F. officinalis*, *H. coralloides*, *H. cirrhatum*, *H. erinaceus* не володіють фунгіцидною активністю до тест-культур. Наявність слабкої фунгістатичної активності до культури *A. fumigatus*

була відмічена для метанольного екстракту культуральної рідини *C. ephemerus*. Значно вищу активність проявили екстракти культуральної рідини *I. obliquus*, *F. pinicola*, *I. officinalis* на культури грибів роду *Aspergillus*, що свідчить про антифунгальний потенціал даних сполук, що потребує подальших експериментальних робіт для визначення механізмів пригнічення спороношення. В результаті дослідження було встановлено, що високий прояв протигрибкової активності було відмчено і для культуральної рідини *P. adiposa* 2169, використання якої зумовлювало значне пригнічення росту культур *A. niger*, *P. griseofulvum* та *M. racemosus*. Таким чином, наше дослідження підтверджує наявність проявів антифунгальної активності у представників базидієвих грибів, і потребує проведення досліджень з метою виділення із міцелію та культуральної рідини протигрибкових субстанцій.

Результати визначення мінімальної фунгіцидної концентрації проти грибів роду Aspergillus

Оскільки в ході виконання експериментальної роботи було відмічено вплив екстрактів базидіоміцетів родів *Inonotus* та *Fomitopsis* на розвиток культури грибів роду *Aspergillus*, визначення мінімальних інгібуючих концентрацій проводили саме для представників даного роду. Отримані результати вказують на те, що найвищу активність має *Fomitopsis pinicola* 2129 (28 діб), значення мінімальної інгібуючої концентрації для *A. niger* та *A. nidulans* становлять 61 мкг/мл, а для *A. fumigatus* – 31 мкг/мл. Варто зазначити, що інгібування росту культур грибів роду *Aspergillus* спиртом спостерігалось лише у першій пробірці, тоді як у випадку з екстрактами – у 3-4 пробірках, що свідчить про антифунгальну активність саме екстрагованих із біомаси речовин, а не екстрагенту. Результати визначення МІК наведено у таблиці 4.1.

Антифунгальна активність водно-спиртових екстрактів базидієвих грибів

Тест-культура Екстракт	<i>Aspergillus niger</i>		<i>Aspergillus flavus</i>		<i>Aspergillus fumigatus</i>	
	МІК, мкг/мл	МФК*, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл
<i>Fomitopsis pinicola</i> 2129 (28 діб)	62	31	62	31	31	15
<i>Fomitopsis pinicola</i> 2291 (14 діб)	-	-	-	-	1465	733
<i>Inonotus obliquus</i> 2513 (21 діб)	1885	471	1885	943	1885	943
<i>Inonotus obliquus</i> 2513 (28 діб)	3535	884	3535	1768	3535	1768
<i>Fomitopsis officinalis</i> 2498	180	90	180	90	-	-

*МФК – мінімальна фунгістатична концентрація – концентрація, при якій відзначали затримку спороношення культури

Незважаючи на те, що у нашому дослідженні більшість екстрактів мають дуже високі мінімальні інгібуючі концентрації, що вказує на низьку антифунгальну активність, деякі дослідження закордонних вчених все ж таки вказують на наявність доволі потужної активності. Наприклад, мінімальні інгібуючі концентрації етилацетатних та метилових екстрактів плодових тіл *Fomitopsis pinicola* та *Inonotus hispidus* для *A. fumigatus* були 3,2 та 6,4 мг/мл відповідно [98].

Однак деякі дослідження мають схожі з нашим результати, наприклад етиловий екстракт біомаси *Fomitopsis pinicola* мав значення МІК для *A. fumigatus* та *A. flavus* 500 та 1000 мкг / мл [103]. Отже, досліджені нами екстракти майже не інгібують ріст культури, однак отримані результати підтверджують необхідність подальшого дослідження властивостей екстрактів.

Визначення загального вмісту фенольних сполук та антиоксидантної активності

Антиоксиданти – це сполуки, які інгібують або затримують окислення інших молекул, пригнічуючи ініціювання або поширення окислювальних ланцюгових реакцій. Майже всі організми добре захищені від пошкодження вільними радикалами

ферментами (супероксиддисмутазою, каталазою, пероксидазою) або сполуками, такими як аскорбінова кислота, токоферол та глутатіон. Варто зазначити, що хоча живі організми мають антиоксидантну систему захисту та відновлення, цих систем недостатньо для запобігання пошкодження повністю. Наявність різних окислювачів (радіація, отруєння та інші) порушує баланс між системою окислювального стресу та антиоксидантної активності, сприяючи розвитку багатьох захворювань, таких як рак, атеросклероз, серцево-судинні патології, інфекції та ін. Оскільки антиоксиданти є агентами, які пригнічують реакції окисного стресу, тим самим запобігаючи або зменшуючи окислювальне пошкодження тканин, передбачалося, що антиоксидантні добавки або продукти, що містять антиоксиданти можуть бути використані, щоб допомогти організму людини зменшити окислювальну шкоду [105]. Гриби зазвичай містять широкий спектр молекул, які запобігають дії вільних радикалів. Серед них феноли (токоферол, фенолові кислоти, флавоноїди), терпеноїди, стероїди тощо [104].

Фенольні кислоти окрім антиоксидантної активності, володіють і досить потужною протигрибковою активністю, про що свідчать роботи закордонних вчених. Наприклад, фенолові кислоти, які були синтезовані із базидіоміцету *Ganoderma lucidum* мають високу антифунгальну активність. Виділені сполуки: п-гідроксибензойна та корична кислоти проявили свою активність проти ряду мікроміцетів, серед яких *A. fumigatus* та *A. niger*, мінімальна фунгіцидна концентрація для яких була в межах 0,1-4,5 мг/мл [106].

Результати проведеного нами визначення загального вмісту фенольних сполук етилових екстрактів з використанням регенту Фоліна-Чокальте показали, що вміст фенолів перебуває в межі 0,16-0,28 мг еквівалентів тимолу/г. Варто відмітити, що найнижча кількість фенолів була у *Fomitopsis pinicola* 2291, культивованого протягом 14 діб. Цей же штам мав найнижчу активність знешкодження вільних радикалів, що підтверджує літературні дані про кореляцію між кількістю фенолів та антиоксидантної активності.

Результати визначення загального вмісту фенольних сполук та антиоксидантної активності наведено в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Загальний вміст фенольних сполук та активність знешкодження вільних радикалів
грибних екстрактів

Базидіоміцет	Концентрація сухих речовин в екстракті, мг/мл	Загальний вміст фенольних сполук, мг еквівалентів тимолу/г	Активність знешкодження вільних радикалів, %
<i>Fomitopsis pinicola</i> 2129 (28 діб)	0,37	0,27	86,2
<i>Fomitopsis pinicola</i> 2291 (14 діб)	8,8	0,16	76,2
<i>Inonotus obliquus</i> 2513 (21 діб)	11,3	0,27	91,38
<i>Inonotus obliquus</i> 2513 (28 діб)	21,2	0,28	82,27
<i>Fomitopsis officinalis</i> 2498 (28 діб)	10,8	0,26	90,2

Отже, отримані результати розширюють знання про властивості базидіоміцетів та їх екстрактів та свідчать про високу антиоксидантну активність усіх досліджених екстрактів. Отримані результати узгоджуються з роботами закордонних вчених і підтверджують перспективу використання базидіоміцетів як об'єктів біотехнології, в тому числі як антимікотиків та антиоксидантів.

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовані сучасні наукові праці вітчизняних та світових вчених свідчать про значний потенціал базидіоміцетів та їх компонентів у напрямку створення нових ефективних протигрибкових засобів, особливо з метою лікування кандидозів, аспергільозів та мукоормікозів.
2. У результаті експериментальних досліджень було встановлено, що культуральна рідина *Pholiota adiposa* 2169 володіє яскраво вираженою антифунгальною дією, зони інгібування росту становили для *Aspergillus niger* 44 мм, для *Penicillium griseofulvum* 35 мм та для *Mucor racemosus* 57 мм. Така активність може бути зумовлена синтезом сполук терпенової природи, які й пригнічують ріст мікроміцетів.
3. Найбільшу антифунгальну активність, яка проявлялась у демеланізації та пригніченні спороношення культур *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* та *Aspergillus nidulans*, спричиняли етилові екстракти культуральної рідини *Inonotus obliquus* 2513 (28 доба культивування), *Fomitopsis pinicola* 2291 (14 доба культивування), *Inonotus officinalis* 2498 (28 доба культивування), *Inonotus obliquus* 2513 (14 доба культивування) та *Fomitopsis pinicola* 2129 (28 доба культивування). Отже, розчинність антимікробних з'єднань та їх дифузія найкраща в етиловому спирті.
4. Серед 60 досліджених екстрактів дуже слабку антифунгальну активність проти *Aspergillus fumigatus* спричиняв лише метанольний екстракт культуральної рідини *Coprinellus ephemerus*.
5. На ріст і розвиток *Penicillium polonicum* екстракти базидієвих грибів не чинили ні фунгіцидної, ні фунгістатичної дії.
6. Результати визначення антифунгальної активності грибних екстрактів проти *Mucor racemosus* свідчать про відсутність протигрибкової дії грибних екстрактів, однак варто відмітити, що екстракти *Hericiium cirrhatum*, *Hericiium*

coralloides, *Fomitopsis pinicola*, *Fomitopsis officinalis*, *Inonotus obliquus* зумовлювали посилення спороношення мікроміцету, порівняно із контрольним зразком.

7. При визначенні мінімальних інгібуючих концентрацій найнижчі їх значення було отримано при використанні екстракту *Fomitopsis pinicola* 2129 (28 діб), МІК для *A. niger* та *A. nidulans* становлять 61 мкг/мл, а для *A. fumigatus* – 3 мкг/мл та при використанні екстракту *Fomitopsis officinalis* 2498 – МІК для *A. niger* та *A. flavus* 180 мкг/мл.
8. Загальний вміст фенольних сполук було визначено з використанням реагенту Фоліна-Чокальте, вміст фенолів у екстрактах перебуває в межі 0,16-0,28 мг еквівалентів тимолу/г.
9. Знешкодження вільних радикалів дослідженими екстрактами варіюється в межах від 76,2 до 91,38%, що свідчить про потужну антиоксидантну здатність усіх досліджених базидіоміцетів.
10. Таким чином результати теоретичних та експериментальних напрацювань свідчать про безумовну цінність базидіоміцетів та їх метаболітів, а також вказують на перспективу їх використання у промисловій та фармацевтичній біотехнологіях.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Köhler, J. R., Casadevall, A., Perfect, J. (2015). The spectrum of fungi that infects humans. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(1).
2. Vandeputte, P., Ferrari, S., & Coste, A. T. (2012). Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. *International journal of microbiology*, 2012.
3. Prasad R., Banerjee, A., Shah, A. H. Resistance to antifungal therapies. *Essays in Biochemistry*. 2017, 61(1), 157-166.
4. Fisher M. C., Hawkins, N. J., Sanglard, D., Gurr, S. J. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. *Science*. 2018, 360(6390), 739-742.
5. Alves M.J., Ferreira I.C., Dias J., Teixeira V., Martins A., Pintado M. A review on antifungal activity of mushroom (basidiomycetes) extracts and isolated compounds. *Curr Top Med Chem*. 2013;13(21):2648-59. doi: 10.2174/15680266113136660191. PMID: 24083794.
6. Abdullah M. H., Al-Janabi, J. K. Efficiency of antifungal agents with culture filtrates of two basidiomycetes fungi on growth and on citrate and isocitrate genes of *Trichophyton rubrum*. *Drug Invention Today*. 2019, 11(11).
7. Zaychenko O.I, Panchak L.V, Antonyuk V.O, Nemchenko O.O, Goschkina S.B, Tsivinska M.V, Stoika R.S, Kornijchuk O.P, Danylejchenko V.V 2010. The ointment composition for the external treatment of the human foot mycoses. Ukrainian patent № 54969. International Classes: A61K9/06, A61K35/84. Application Number: u 2010 08043. Filing Data: 20/07/2010. Publication Data: 25/11/2010 (in Ukrainian).
8. Kullberg B. J., Arendrup, M. C. Invasive candidiasis. *New England Journal of Medicine*. 2015, 373(15), 1445-1456.
9. Ksiezopolska E., Gabaldón, T. Evolutionary emergence of drug resistance in *Candida* opportunistic pathogens. *Genes*. 2018, 9(9), 461.
10. Bhardwaj A., Gupta, P., Kumar, N., Mishra, J., Kumar, A., Misra, K. (2017). Lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes), inhibits

- Candida* biofilms: A metabolomic approach. *International journal of medicinal mushrooms*, 19(8).
11. Knežević A, Stajić M, Živković L, Milovanović I, Spremo-Potparević B, Vukojević J. Antifungal, Antioxidative, and Genoprotective Properties of Extracts from the Blushing Bracket Mushroom, *Daedaleopsis confragosa* (Agaricomycetes). *Int J Med Mushrooms*. 2017;19(6):509-520. doi: 10.1615/IntJMedMushrooms.v19.i6.30. PMID: 29199561
 12. Shukla A., Pathak A. Evaluation of the in-vitro antifungal activity of selected fungal species tested against opportunistic human pathogen *Candida albicans*. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, Vol. 8, №1, 2020, pp. 1-8
 13. Adeyelu A. T., Oyetayo, V. O., Onile, T. A., Awala, S. I.. Anticandidal Effect of Extracts of Wild Polypore, *Trametes elegans*, on *Candida* Species Isolated from Pregnant Women in Selected Hospitals in Southwest Nigeria. *Microbiology Research Journal International*, 20(2), 2017, 1-10. <https://doi.org/10.9734/MRJI/2017/32914>
 14. Yoo, Y., Choi, H. T. (2014). Antifungal chitinase against human pathogenic yeasts from *Coprinellus congregatus*. *Journal of Microbiology*, 52(5), 441-443.
 15. Avcı E., Çağatay, G., Alp Avcı, G., Suiçmez, M., Coşkun Cevher, Ş. An Edible Mushroom With Medicinal Significance; *Auricularia polytricha* (2016). *Hittite Journal of Science and Engineering*, 3(2), 111-116.
 16. Akpi U.K., Odoh, C. K., Ideh, E. E., Adobu, U. S. (2017). Antimicrobial activity of *Lycoperdon perlatum* whole fruit body on common pathogenic bacteria and fungi. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 18(2), 79-85.
 17. Sum W. C., Indieka, S. A., Matasyoh, J. C. (2019). Antimicrobial activity of basidiomycetes fungi isolated from a Kenyan tropical forest. *African Journal of Biotechnology*, 18(5), 112-123.

18. Зінченко О Ю, Мірось, С Л. (2016). The Influence Of The Basidiomycetes Metabolites On The Opportunistic Bacteria Growth. *Microbiology&Biotechnology*, 69. doi:10.18524/2307-4663.2016.3(35).78130 (in Ukrainian)
19. Velygodska A. K.; Fedotov, O. V. (2016). The production and analysis of carotenoid preparations from some strains of xylophilic Basidiomycetes. *Biosystems Diversity*, 24(2), 290-294. doi:10.15421/011637
20. Kosanic M., Petrović, N., Milosevic-Djordjevic, O., Grujičić, D., Tubic, J., Marković, A., Stanojkovic, T. P. (2020). The Health Promoting Effects of the Fruiting Bodies Extract of the Peppery Milk Cap Mushroom *Lactarius piperatus* (Agaricomycetes) from Serbia. *International journal of medicinal mushrooms*, 22(4).
21. Kosanić M., Ranković, B., Rančić, A., Stanojković, T. (2016). Evaluation of metal concentration and antioxidant, antimicrobial, and anticancer potentials of two edible mushrooms *Lactarius deliciosus* and *Macrolepiota procera*. *Journal of food and drug analysis*, 24(3), 477-484.
22. Aygün A., Özdemir, S., Gülcan, M., Cellat, K., Şen, F. (2019). Synthesis and Characterization of Reishi Mushroom-mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles for the Biochemical Applications. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 112970. doi:10.1016/j.jpba.2019.112970
23. Eskandari-Nojedehi M., Jafarizadeh-Malmiri, H., Rahbar-Shahrouzi, J. (2018). Hydrothermal green synthesis of gold nanoparticles using mushroom (*Agaricus bisporus*) extract: physico-chemical characteristics and antifungal activity studies, *Green Processing and Synthesis*, 7(1), 38-47. doi: <https://doi.org/10.1515/gps-2017-0004>
24. Jaloot, A. S., Owaid, M. N., Naeem, G. A., Muslim, R. F. (2020). Mycosynthesizing and characterizing silver nanoparticles from the mushroom *Inonotus hispidus* (Hymenochaetales), and their antibacterial and antifungal activities. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 14.

25. Musa S. F., Yeat, T. S., Kamal, L. Z. M., Tabana, Y. M., Ahmed, M. A., El Ouweini, A., Sandai, D. (2017). Pleurotus sajor-caju can be used to synthesize silver nanoparticles with antifungal activity against *Candida albicans*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(3), 1197–1207. doi:10.1002/jsfa.8573
26. Joshi K., Vidyapeeth, D. (2019). Development, characterization and in-vitro antifungal evaluation of planterosomal gel of *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.10(9).4339-44
27. Knežević A, Stajić M, Sofrenić I, Stanojković T, Milovanović I, et al. (2018) Antioxidative, antifungal, cytotoxic and antineurodegenerative activity of selected Trametes species from Serbia. *Plos one* 13(8).
28. Kunjadia P. D., Nagee, A., Pandya, P. Y., Mukhopadhyaya, P. N., Sanghvi, G. V., Dave, G. S. (2014). Medicinal and Antimicrobial Role of the Oyster Culinary-Medicinal Mushroom *Pleurotus ostreatus* (Higher Basidiomycetes) Cultivated on Banana Agrowastes in India. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 16(3), 227–238. doi:10.1615/intjmedmushr.v16.i3.30
29. Chowdhury M, Kubra K, Ahmed S. Screening of antimicrobial, antioxidant properties and bioactive compounds of some edible mushrooms cultivated in Bangladesh. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2015 Feb 7;14:8. doi: 10.1186/s12941-015-0067-3. PMID: 25858107; PMCID: PMC4328533
30. Sukmawati I. K., Rakhmawati, D., Yuniarto, A. (2018). Antifungal activity of extract and fraction of *Aucularia auricular* on *Candida albicans*, *Microsporum gypseum*, and *Aspergillus flavus*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(13), 141. doi:10.22159/ajpcr.2018.v11s1.26591
31. Schauwvlieghe A. F., de Jonge, N., van Dijk, K., Verweij, P. E., Brüggemann, R. J., Biemond, B. J., Demandt, A. M. (2018). The diagnosis and treatment of invasive aspergillosis in Dutch haematology units facing a rapidly increasing prevalence of

- azole-resistance. A nationwide survey and rationale for the DB-MSG 002 study protocol. *Mycoses*, 61(9), 656-664.
32. Rudramurthy S.M., Paul, R.A., Chakrabarti, A., Mouton, J. W., Meis, J. F. (2019). Invasive aspergillosis by *Aspergillus flavus*: epidemiology, diagnosis, antifungal resistance, and management. *Journal of Fungi*, 5(3), 55.
33. Ćilerdžić J, Stajić M, Vukojević J, Milovanović I, Muzgonja N. Antioxidant and antifungal potential of *Pleurotus ostreatus* and *Agrocybe cylindracea* basidiocarps and mycelia. *Curr Pharm Biotechnol*. 2015;16(2):179-86. doi: 10.2174/1389201015666141202152023. PMID: 25483715.
34. Pranitha V., Krishna, G., Singara-Charya, M. A. (2014). Evaluation of antibacterial and antifungal activity of fruiting body extracts of *Trametes versicolor*. *Biolife*, 2(4), 1181.
35. Batool F., Sarwar S., Jabeen K., Shafiq T., Khalid A. N. Assessment of Antifungal Activity of Some Boletes Mushrooms Found in Himalayan Range of Pakistan Against Some Fungi. *Pure and Applied Biology*. Vol. 8, Issue 4, 2019, pp.2257-2261. <http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2019.80171>
36. Wan-Mohtar, Viegelmann, C., Klaus, A. et al. Antifungal-demelanizing properties and RAW264.7 macrophages stimulation of glucan sulfate from the mycelium of the mushroom *Ganoderma lucidum*. *Food Sci Biotechnol* 26, 159–165 (2017). <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0021-6>
37. Stojković, D., Reis, F. S., Barros, L., Glamočlija, J., Ćirić, A., van Griensven, L. J., Ferreira, I. C. (2013). Nutrients and non-nutrients composition and bioactivity of wild and cultivated *Coprinus comatus* (OF Müll.) Pers. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 289-296.
38. Круподьорова, Т. А., Барштейн, В. Ю. (2019). Антагоністична активність макроміцетів проти *Mucor* sp. IFBG 139. *Мікробіологія і біотехнологія*, (2), 65-75.

39. Самсонова, М. В., Черняев, А. Л., Лебедин, Ю. С., Михайличенко, К. Ю., & Поливанова, А. Э. (2018). Мукормикоз легких. *Пульмонология*, 28(2), 243-247.
40. Reid, G., Lynch III, J. P., Fishbein, M. C., Clark, N. M. (2020, February). Mucormycosis. *In Seminars in respiratory and critical care medicine* (Vol. 41, No. 01, pp. 099-114). Thieme Medical Publishers.
41. Richter, C., Helaly, S. E., Thongbai, B., Hyde, K. D., & Stadler, M. (2016). Pyristriatins A and B: Pyridino-cyathane antibiotics from the Basidiomycete *Cyathus cf. striatus*. *Journal of natural products*, 79(6), 1684-1688.
42. Wittstein K., Rascher, M., Rupcic, Z., Löwen, E., Winter, B., Köster, R. W., Stadler, M. (2016). Corallocins A–C, nerve growth and brain-derived neurotrophic factor inducing metabolites from the mushroom *Hericium coralloides*. *Journal of natural products*, 79(9), 2264-2269.
43. Cheng T., Chepkirui, C., Decock, C., Matasyoh, J. C., Stadler, M. (2020). Heimiomycins A–C and Calamenens from the African Basidiomycete *Heimiomycetes* sp. *Journal of Natural Products*, 83(8), 2501-2507.
44. Al-Fatimi, M., Schröder, G., Kreisel, H., Lindequist, U. (2013). Biological activities of selected basidiomycetes from Yemen. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68(3), 221-226.
45. Martinez-Rossi N.M., Bitencourt T.A., Peres N.T.A., Lang E.A.S., Gomes E.V., Quaresimin N.R., Martins M.P., Lopes L. and Rossi A. Dermatophyte Resistance to Antifungal Drugs: Mechanisms and Prospectus. *Front. Microbiol.* 2018, 9:1108. doi: 10.3389/fmicb.2018.01108
46. Kadhim, D. M., Shnawa, K. T., Hanawi, M. J. (2020). In vitro sensitivity of dermatophyte fungus *Microsporium audouinii* to fungal filtrate of *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma harzianum*. *Plant Archives*, 20(2), 1679-1684.
47. Thillaimaharani K. A., Sharmila K., Thangaraju P., Karthick M., Kalaiselvam M. Studies on antimicrobial and antioxidant properties of oyster mushroom *Pleurotus*

- florida*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2013. Vol. 4, Issue 4(4), 1540-1545
48. Oli, A. N., Edeh, P. A., Al-Mosawi, R. M., Amara Mbachu, N., Al-Dahmoshi, H. O. M., Al-Khafaji, N. S. K., Saki, M. (2020). Evaluation of the phytoconstituents of *Auricularia auricula-judae* mushroom and antimicrobial activity of its protein extract. European Journal of Integrative Medicine, 101176. doi:10.1016/j.eujim.2020.101176
49. Olusola C. O., Oyetayo V. O. (2016) Phytochemical property and assessment of antidermatophytic activity of some selected wild macrofungi against pathogenic dermatophytes, *Mycology*, 7:1, 9-14, DOI: 10.1080/21501203.2016.1145608
50. Shahbazyan T. A. Antifungal activity of Mycelia of *Trametes Gibbosa* Regarding Potentially Pathogenic for Humans and Animals Filamentous Fungi. Proc. of the Yerevan State Univ. *Chemistry and Biology*, 2017, 51(2), p. 118–122
51. Santos-Gandelman, J., Machado-Silva, A. (2019). Drug development for cryptococcosis treatment: what can patents tell us?. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 114.
52. Shaveta Singh, Astha Tripathi. (2018). Antimicrobial and phytochemical properties of methanol and hexane ex-tract of non- gilled mushrooms collected from North-Western Himalayas. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(4), 1174-1182.
53. Basso, A. M. M., De Castro, R. J. A., De Castro, T. B., Guimarães, H. I., Polez, V. L. P., Carbonero, E. R., Bocca, A. L. (2020). Immunomodulatory activity of β -glucan-containing exopolysaccharides from *Auricularia auricular* in phagocytes and mice infected with *Cryptococcus neoformans*. *Medical mycology*, 58(2), 227-239.
54. Klaus, A., Kozarski, M., Vunduk, J., Petrović, P., Nikšić, M. (2016). Antibacterial and antifungal potential of wild basidiomycete mushroom *Ganoderma applanatum*. *Lekovite sirovine*, 36, 37-46.

55. Song, X., Gaascht, F., Schmidt-Dannert, C., Salomon, C. E. (2020). Discovery of antifungal and biofilm preventative compounds from mycelial cultures of a unique North American *Herichium* sp. fungus. *Molecules*, 25(4), 963.
56. Badalyan, S. M., Barkhudaryan, A., Rapior, S. (2019). Recent progress in research on the pharmacological potential of mushrooms and prospects for their clinical application. *Medicinal Mushrooms*, 1-70.
57. Dasgupta, A., Acharya, K. (2019). Mushrooms: an emerging resource for therapeutic terpenoids. *Biotech*, 9(10), 1-14.
58. Duru, M. E., Çayan, G. T. (2015). Biologically active terpenoids from mushroom origin: a review. *Records of Natural Products*, 9(4), 456.
59. Han, J. W., Oh, M., Lee, Y. J., Choi, J., Choi, G. J., Kim, H. (2018). Crinipellins A and I, two diterpenoids from the basidiomycete fungus *Crinipellis rhizomaticola*, as potential natural fungicides. *Molecules*, 23(9), 2377.
60. Perera, W. H., Meepagala, K. M., Wedge, D. E., Duke, S. O. (2020). Sesquiterpenoids from culture of the fungus *Stereum complicatum* (Steraceae): structural diversity, antifungal and phytotoxic activities. *Phytochemistry Letters*, 37, 51-58
61. Zhou, Y., Bian, Q., Yang, P., Wang, L., Li, S., Sun, X., Zhong, J. (2017). Catalytic asymmetric syntheses of (-)-oudemanisin A and its diastereomer. *Tetrahedron: Asymmetry*, 28(7), 969-973.
62. Deng, X., Li, R., Zhang, Y., Li, R. (2020, February). Preliminary Study on Antimicrobial Activity of Fermentation Broths of *Oudemansiella mucida*. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 440(2).
63. Sadorn, K., Saepua, S., Boonyuen, N., Laksanacharoen, P., Rachtawee, P., Pittayakhajonwut, P. (2016). Antimicrobial activity and cytotoxicity of polyketides isolated from the mushroom *Xerula* sp. BCC56836. *RSC advances*, 6(97), 94510-94523.

64. Nitthithanasilp, S., Intaraudom, C., Boonyuen, N., Suvannakad, R., & Pittayakhajonwut, P. (2018). Antimicrobial activity of cyathane derivatives from *Cyathus subglobisporus* BCC44381. *Tetrahedron*, 74(48), 6907-6916.
65. Iqbal, Z., Han, L. C., Soares-Sello, A. M., Nofiani, R., Thormann, G., Zeeck, A., Simpson, T. J. (2018). Investigations into the biosynthesis of the antifungal strobilurins. *Organic & biomolecular chemistry*, 16(30), 5524-5532.
66. Brauer, V. S., Rezende, C. P., Pessoni, A. M., De Paula, R. G., Rangappa, K. S., Nayaka, S. C., Almeida, F. (2019). Antifungal agents in agriculture: Friends and foes of public health. *Biomolecules*, 9(10), 521.
67. Esser, L., Yu, C. A., Xia, D. (2014). Structural basis of resistance to anti-cytochrome bc1 complex inhibitors: implication for drug improvement. *Current pharmaceutical design*, 20(5), 704-724.
68. Otto, A., Porzel, A., Schmidt, J., Wessjohann, L., Arnold, N. (2014). Penarines A–F, (nor-) sesquiterpene carboxylic acids from *Hygrophorus penarius* (Basidiomycetes). *Phytochemistry*, 108, 229-233.
69. Zhang, Y., Liu, L., Bao, L., Yang, Y., Ma, K., Liu, H. (2018). Three new cyathane diterpenes with neurotrophic activity from the liquid cultures of *Herichium erinaceus*. *The Journal of antibiotics*, 71(9), 818-821.
70. Wang, Y., Bao, L., Yang, X., Li, L., Li, S., Gao, H., Liu, H. W. (2012). Bioactive sesquiterpenoids from the solid culture of the edible mushroom *Flammulina velutipes* growing on cooked rice. *Food chemistry*, 132(3), 1346-1353.
71. Lin, J., Wang, R., Xu, G., Ding, Z., Zhu, X., Liu, X., Liu, L. (2016). New cadinane sesquiterpenoids from the basidiomycetous fungus *Pholiota* sp. *RSC advances*, 6(113), 112527-112533.
72. Liu, Y., Wang, C., Li, J., Li, T., Zhang, Y., Liang, Y., Mei, Y. (2020). *Phellinus linteus* polysaccharide extract improves insulin resistance by regulating gut microbiota composition. *The FASEB Journal*, 34(1), 1065-1078

73. Zhang, C., Li, S., Zhang, J., Hu, C., Che, G., Zhou, M., Jia, L. (2016). Antioxidant and hepatoprotective activities of intracellular polysaccharide from *Pleurotus eryngii* SI-04. *International journal of biological macromolecules*, 91, 568-577.
74. Zhang, X., Cai, Z., Mao, H., Hu, P., Li, X. (2021). Isolation and structure elucidation of polysaccharides from fruiting bodies of mushroom *Coriolus versicolor* and evaluation of their immunomodulatory effects. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 1387-1395.
75. Dong, Y. R., Cheng, S. J., Qi, G. H., Yang, Z. P., Yin, S. Y., Chen, G. T. (2017). Antimicrobial and antioxidant activities of *Flammulina velutipes* polysaccharides and polysaccharide-iron (III) complex. *Carbohydrate polymers*, 161, 26-32.
76. Liu, Q., Kong, W., Hu, S., Kang, Y., Zhang, Y., Ng, T. B. (2020). Effects of *Oudemansiella radicata* polysaccharide on postharvest quality of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and its antifungal activity against *Penicillium digitatum*. *Postharvest Biology and Technology*, 166, 111207.
77. Arias-Londoño, M. A., Zapata-Ocampo, P. A., Mosquera-Arevalo, A. R., Sanchez-Torres, J. D., Atehortua-Garcés, L. (2019). Antifungal protein determination for submerged cultures of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (Ganodermataceae) with activity over the phytopathogen fungus *Mycosphaerella fijiensis* (Mycosphaerellaceae). *Actualidades Biológicas*, 41(111), 53-64.
78. Poompouang, S., Suksomtip, M. (2016). Isolation and characterization of an antifungal peptide from fruiting bodies of edible mushroom *Lentinus squarrosulus* Mont. *Malaysian Journal of Microbiology*, 12(1), 43-49.
79. Sinanoglou, V. J., Zoumpoulakis, P., Heropoulos, G., Proestos, C., Ćirić, A., Petrovic, J., Sokovic, M. (2015). Lipid and fatty acid profile of the edible fungus *Laetiporus sulphureus*. Antifungal and antibacterial properties. *Journal of food science and technology*, 52(6), 3264-3272.
80. Chandrasekaran, G., Lee, Y. C., Park, H., Wu, Y., Shin, H. J. (2016). Antibacterial and antifungal activities of lectin extracted from fruiting bodies of the Korean

- cauliflower medicinal mushroom, *Sparassis latifolia* (Agaricomycetes). *International journal of medicinal mushrooms*, 18(4).
81. Tsivinska M.V., Panchak L.V., Stoika R.S., Antonyuk V.O. (2015) Isolation, characteristics, and antioxidant activity of low molecular compounds of fruit bodies. *Lactarius pergamenus* (Fr.) Fr mushrooms. *J. Advances in Biol.* 6(3), 1023-1035.
82. Lee, J., Shi, Y. M., Grün, P., Gube, M., Feldbrügge, M., Bode, H., Hennicke, F. (2020). Identification of Feldin, an Antifungal Polyynes from the Beefsteak Fungus *Fistulina hepatica*. *Biomolecules*, 10(11), 1502.
83. Oka, K., Ishihara, A., Sakaguchi, N., Nishino, S., Parada, R. Y., Nakagiri, A., Otani, H. (2015). Antifungal Activity of Volatile Compounds Produced by an Edible Mushroom *Hypsizygus marmoreus* against Phytopathogenic Fungi. *Journal of Phytopathology*, 163(11-12), 987-996.
84. Osaki-Oka, K., Suyama, S., Sakuno, E., Ushijima, S., Nagasawa, E., Maekawa, N., Ishihara, A. (2019). Antifungal activity of the volatile compound isovelleral produced by ectomycorrhizal *Russula* fungi against plant-pathogenic fungi. *Journal of General Plant Pathology*, 85(6), 428-435.
85. Горностай, Т. Г., Чхенкели, В. А., Пензина, Т. А., Полякова, М. С., Боровский, Г. Б. (2014). Изучение антирадикальной и антимикробной активности водно-спиртовых экстрактов плодовых тел и мицелия *Inonotus rheades* (pers.) Bondartsev & Singer. *Acta Biomedica Scientifica*, 5 (99).
86. Билай, В. И. (1973). *Методы экспериментальной микологии*. Рипол Классик – Киев, 1982. – 551с.
87. Agyare, C., Koffuor, G. A., Voamah, V. E., Adu, F., Mensah, K. B., Adu-Amoah, L. (2012). Antimicrobial and anti-inflammatory activities of *Pterygota macrocarpa* and *Cola gigantea* (Sterculiaceae). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
88. Полянська, В. П., Кінаш, О. В., Коваленко, Н. П., Саргош, О. В. (2015). Визначення мінімальної пригнічуючої концентрації ефірної олії *Monarda*

- fistulesa для культури грибів виду *Aspergillus fumigatus*. *Світ медицини та біології*, (2), 169-173.
- 89.Appiah, T., Boakyе, Y. D., Agyare, C. (2017). Antimicrobial activities and time-kill kinetics of extracts of selected Ghanaian mushrooms. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- 90.Eid, J. I., Al-Tuwaijri, M. M. (2018). Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) inhibits growth of both adenocarcinoma (A549) cells and *Aspergillus fumigatus*. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 16(4).
- 91.Donkor, O. N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., Vasiljevic, T. (2012). Germinated grains - sources of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 135(3), 950-959. doi:10.1016/j.foodchem.2012.05.058
- 92.Rover, M. R., Brown, R. C. (2013). Quantification of total phenols in bio-oil using the Folin–Ciocalteu method. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 104, 366–371. doi:10.1016/j.jaap.2013.06.011
- 93.Ayyash, M., Johnson, S. K., Liu, S. Q., Mesmari, N., Dahmani, S., Al Dhaheri, A. S., Kizhakkayil, J. (2019). In vitro investigation of bioactivities of solid-state fermented lupin, quinoa and wheat using *Lactobacillus* spp. *Food chemistry*, 275, 50-58.
- 94.Elfahri, K. R., Vasiljevic, T., Yeager, T., Donkor, O. N. (2016). Anti-colon cancer and antioxidant activities of bovine skim milk fermented by selected *Lactobacillus helveticus* strains. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 31-40. doi:10.3168/jds.2015-10160
- 95.Tirzitis, G., Bartosz, G. (2010). Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta biochimica polonica*, 57(2).
- 96.Romulo, A. (2020). The Principle of Some In vitro Antioxidant Activity Methods. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 426, No. 1, p. 012177). IOP Publishing.

97. Бісько Н.А., Бабицька В.Г., Бухало А.С. та ін.. Біологічні властивості лікарських макромицетів в культурі: Збірник наукових праць в двох томах. Т. 2. / Під ред. С.П. Вассера. – Київ, 2012. – 459с.
98. Pala, S. A., Wani, A. H., Ganai, B. A. (2019). Antimicrobial potential of some wild Macromycetes collected from Kashmir Himalayas. *Plant Science Today*, 6(2), 137-146.
99. Christiane L, D. C., Marcia RF, G., Carla C, A., Carlos, K. (2010). In vitro activity of neem oil [*Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae)] on *Aspergillus flavus* growth, sporulation, viability of spores, morphology and aflatoxins B1 and B2 production. *Advances in Bioscience and Biotechnology*.
100. Wan, W. A. A. Q. I., Viegelmann, C., Klaus, A., Lim, S. A. H. (2017). Antifungal-demelanizing properties and RAW264. 7 macrophages stimulation of glucan sulfate from the mycelium of the mushroom *Ganoderma lucidum*. *Food Science and Biotechnology*, 26(1), 159-165.
101. Seibold, P. S., Lenz, C., Gressler, M., Hoffmeister, D. (2020). The *Laetiporus* polyketide synthase *LpaA* produces a series of antifungal polyenes. *The Journal of antibiotics*, 73(10), 711-720.
102. Dörfer, M., Heine, D., König, S., Gore, S., Werz, O., Hertweck, C., ... & Hoffmeister, D. (2019). Melleolides impact fungal translation via elongation factor 2. *Organic & biomolecular chemistry*, 17(19), 4906-4916.
103. Dresch, P., D'Aguzzo, M.N., Rosam, K. et al. Fungal strain matters: colony growth and bioactivity of the European medicinal polypores *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola* and *Piptoporus betulinus*. *AMB Expr* 5, 4 (2015). <https://doi.org/10.1186/s13568-014-0093-0>
104. Hu, H., Zhang, Z., Lei, Z., Yang, Y., Sugiura, N. (2009). Comparative study of antioxidant activity and antiproliferative effect of hot water and ethanol extracts from the mushroom *Inonotus obliquus*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 107(1), 42-48.

105. Asatiani, M. D., Elisashvili, V., Songulashvili, G., Reznick, A. Z., Wasser, S. P. (2010). *Higher Basidiomycetes Mushrooms as a Source Of Antioxidants. Progress in Mycology, 311–326.* doi:10.1007/978-90-481-3713-8_11
106. Heleno, S. A., Ferreira, I. C., Esteves, A. P., Ćirić, A., Glamočlija, J., Martins, A., Queiroz, M. J. R. (2013). Antimicrobial and demelanizing activity of *Ganoderma lucidum* extract, p-hydroxybenzoic and cinnamic acids and their synthetic acetylated glucuronide methyl esters. *Food and chemical toxicology, 58*, 95-100.

ДОДАТКИ

Додаток 1

Перелік наукових публікацій, виконаних протягом періоду навчання на магістратурі:

1. *Бондарук С.В., Кернер А.О.* Антимікробні речовини базидіоміцетних грибів як альтернатива антибіотикам // Збірник матеріалів VIII науково-практичної конференції школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво» (м. Київ, 2020 р.). – С. 5-6.
2. *Kerner A.O., Bondaruk S.V., Krasinko V.O.* Prospects of the basidiomycetes in the fight against micromycetes-causing diseases // Майбутній науковець – 2020: матеріали всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю 4 груд. 2020 р., м. Сєвєродонецьк. / укладач В. Ю. Тарасов – Сєвєродонецьк : Східноукр. нац. ун-т ім. В. Даля, 2020.. – С. 27-28.
3. *Кернер А.О., Красінько В.О.* Базидіоміцети як продуценти природніх фунгіцидів // Матеріали III науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (м. Харків, 15-16 квітня 2021 р.). – С. 52-53.
4. *Кернер А., Красінько В.* Дослідження антифунгальної активності грибів відділу *Basidiomycetes* проти мікопатогенів // Матеріали 87 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (м. Київ, НУХТ, 15-16 квітня 2021 р.). – Ч. 1.. – С. 391.
5. *Кернер А.О.* Перспектива створення протигрибкових засобів з компонентами базидіоміцетів // Матеріали XV Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» (м. Київ, 23 квітня 2021 р.). – С. 48.
6. *Бондарук С.В., Кернер А.О.* Перспектива використання екстрактів базидієвих грибів як природних фунгіцидних засобів // Збірник матеріалів IX науково-

практичної конференції школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво» (м. Київ, 2021 р.). – С. 13-14.

7. Кернер А.О., Красінько В.О., Ломберг М.Л., Михайлова О.Б., Аль-Маалі Г.А. Фунгіцидні властивості екстрактів деяких базидієвих грибів з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) // Матеріали міжнародної конференції молодих учених «Актуальні проблеми ботаніки та екології» (м. Київ, 20-22 жовтня 2021 р.). – С. 59.

АНТИМІКРОБНІ РЕЧОВИНИ БАЗИДІОМІЦЕТНИХ ГРИБІВ ЯК АЛЬТЕРНАТИВА АНТИБІОТИКАМ

Бондарук С.В, Кернер А.О.

Вступ. Неконтрольоване використання антибіотиків стало причиною виникнення та поширення антибіотикорезистентності серед патогенних мікроорганізмів. Розповсюдження даної властивості серед мікроорганізмів ставить під загрозу можливість швидкого та ефективного лікування інфекційних хвороб. Зараз практично до кожної групи антибіотиків існують резистентні мікроорганізми. Виходом із такої си-

5

Матеріали VIII Науково-практичної конференції Школи молодих науковців АТ «Фармак»

туації є пошук нових речовин із антибактеріальними властивостями.

Про бактеріостатичні і бактерицидні властивості грибів відомо давно. Тривалий період їх використовували у народній медицині, але за останнє століття проведено безліч наукових досліджень із визначено біологічно активні речовини грибів, які володіють антибактеріальними властивостями. Зокрема, було виявлено понад 150 видів грибів, які здатні синтезувати антибактеріальні сполуки та можуть використовуватись для промислового отримання потенційно дієвих антибіотиків. Перевагою використання грибів для отримання антибіотиків є можливість одночасної утилізації відходів різних виробництв як субстратів для промислового культивування базидіомицетів. Як антибактеріальні сполуки базидіомицетного походження значного поширення набувають антибіотики плейромутиліни, які вже понад 30 років використовуються у ветеринарній медицині та не викликають резистентності.

Мета дослідження. Теоретичне обґрунтування перспективності дослідження антибактеріальних властивостей плейромутиліну та його похідних як потенційних антибіотиків.

Матеріали і методи. Проведено пошук, аналіз та систематизацію сучасних літературних даних щодо особливостей біосинтезу антибактеріальних речовин базидіомицетного походження, особливу увагу приділено плейромутилінам.

Результати. Плейромутиліни належать до diterпенових сполук і як грибні метаболіти вперше були виділені на початку 1950-х рр. Унікальним механізмом біологічної дії цих сполук є їх здатність пригнічувати синтез бактеріального білка, зв'язуючись з пептидилтрансферазним центром рибосоми. Було порівняно отримання плейромутилінів хімічним синтезом та біотехнологічним способом: під час культивування *Pleurotus mutilus*. Порівняння антибактеріальних властивостей різних модифікацій плейромутилінів по відношенню до грамположитивних та грамнегативних культур показало більшу ефективність сполук біологічного походження.

Дослідження взаємодії плейромутиліну із іншими комерційними антибіотиками для боротьби із захворюваннями, спричиненими резистентними до антибіотиків штамми *S. aureus*, дозволили виявити, що використання комбінації тетрациклінів та плейромутилінів для боротьби із даною групою збудників може бути досить перспективним.

У результаті модифікації структури плейромутиліну китайськими вченими було отримано його похідні та проведено визначення мінімальних інгібуєчих концентрацій по відношенню до найрозповсюдженіших збудників інфекційних хвороб. Показано високу активність похідних плейромутиліну проти *Staphylococcus aureus* (MIC 0,125, 0,25 мкг / мл), *Streptococcus suis*. (MIC 2 мкг / мл), *Streptococcus agalactiae* (MIC 0,5 мкг / мл) та *Staphylococcus epidermidis* (MIC 0,25 мкг / мл).

Антибактеріальні властивості похідної сполуки плейромутиліну – лефамуліну були досліджені по відношенню до мультирезистентних культур клінічних ізолятів збудників бактеріальних інфекційних хвороб. Вплив лефамуліну визнано ефективним порівняно з використанням комерційних антибіотиків.

Висновки. Отже, біотехнологічне одержання плейромутилінів на основі культивування вищих базидіомицетів є перспективним для боротьби із бактеріальними збудниками захворювань.

6

**PROSPECTS OF THE BASIDIOMYCETES IN THE FIGHT AGAINST
MICROMYCETES-CAUSING DISEASES**

Kerner A.O., Bondaruk S.V., PhB-1-2M

Krasinko V.O., Associate Professor, Candidate of Technical Sciences

National University of Food Tehnologies

Aspergillus spp. are filamentous, environmental fungi that cause a wide spectrum of infections in humans, including hypersensitivity reactions, chronic pulmonary infections (aspergillosis), and acute life-threatening infections, the latter occurring primarily in immunocompromised individuals. For the treatment of aspergillosis in medical practice use such antifungal drugs as Azoles, Amphotericin B, Echinocandins, etc. However, epidemiological research demonstrated an increase in the prevalence of resistance of *Aspergillus* spp to these antifungal drugs.

This trend leads to the search for new antifungal compounds, especially of natural origin. Natural compounds with biological activity are normally present in plants, mushrooms, and other natural sources. Antifungal compounds with more or less strong activities could be isolated from many mushroom species and could be beneficial for humans.

Candida albicans, the causative agent of candidiasis, also acquires significant resistance to antifungal drugs. Numerous studies indicate high antifungal activity of such basidiomycetes as *Daedaleopsis confragosa*, *Ganoderma lucidum*, *Trametes gibbosa*, *Trametes elegans*, *Coprinellus congregatus*, *Auricularia polytricha* (Table 1). Moreover, in most cases, antifungal activity is manifested against pathogens of other diseases (cryptococcosis, aspergillosis, dermatomycosis).

27

Природничі науки

Table 1. Antifungal Activity of Some Basidiomycetes

Fungal Species	Microfungi	Minimal inhibitory concentrations, mg \ ml	A substance with antifungal activity	References
<i>Daedaleopsis confragosa</i>	<i>Candida albicans</i>	32	Aqueous extract of mycelium	[1]
	<i>Aspergillus fumigatus</i>			
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>			
<i>Trametes gibbosa</i>	<i>C. albicans</i>	32	Ethanol extract of mycelium	[2]
	<i>A. fumigatus</i>			
<i>Trametes elegans</i>	<i>C. albicans</i>	25	Methanolic extract of the basidiocarp	[3]
	<i>Candida tropicalis</i>	50		

Design of new antifungal drugs is currently a very important biotechnological direction, given the growing resistance of pathogenic micromycetes to existing drugs. Numerous studies indicate that fungal metabolites have significant antifungal activity and can be used to obtain new active pharmaceutical ingredients.

References:

1. Knežević A., Stajić M., Živković L. et al. Antioxidative, and Genoprotective Properties of Extracts from the Blushing Bracket Mushroom, *Daedaleopsis confragosa* (*Agaricomycetes*). *Int J Med Mushrooms*. 2017;19(6):509-520.
2. Knežević A., Stajić M., Sofrenić I., Stanojković T., Milovanović I. et al. (2018) Antioxidative, antifungal, cytotoxic and antineurodegenerative activity of selected *Trametes* species from Serbia. *Plos One* 13(8)
3. Adeyelu A.T., Oyeyayo V.O., Onile T.A. et al. Anticandidal Effect of Extracts of Wild Polypore, *Trametes elegans*, on *Candida* Species Isolated from Pregnant Women in Selected Hospitals in Southwest Nigeria. *Microbiology Research Journal International*, 20(2), 2017, 1- 10.

БАЗИДИОМЦЕТИ ЯК ПРОДУЦЕНТИ ПРИРОДНИХ ФУНГЦИДІВ**Кернер А.О., Красінько В.О.**

Кафедра біотехнології і мікробіології
Національний університет харчових технологій
м. Київ, Україна
malina_a_lina@ukr.net

Вступ. Гриби вважаються активними продуцентами різноманітних первинних та вторинних метаболітів (алкалоїди, жирні кислоти, лектини, фенольні сполуки, полікетиди, статини, стероїди, терпеноїди тощо), які відповідають за їх фармакологічну активність, у тому числі й протигрибкову.

Матеріали та методи: моніторинг та аналіз сучасних зарубіжних і вітчизняних літературних джерел за останні 10 років з використанням пошукових баз PubMed та Google Scholar.

Результати та обговорення. Стробілуїни являють собою групу біоактивних вторинних метаболітів терпенової природи, продуцентами яких, переважно, є різні види грибів. Муцидин – перша виділена сполука із даної категорії. Вперше муцидин був виділений у 1965 році із базидіоміцета *Oudemansiella mucida*. Дана сполука володіє потужною протигрибковою активністю, що призвело до її комерциалізації у вигляді продукту «Муцидермін» для лікування шкірних інфекцій [1].

Два інші антифунгальні метаболіти – стробілуїни А та В, виділені пізніше з базидіоміцету *Strobilurus tenacellus*, виявились ідентичними муцидину, однак володіли іншою конфігурацією. Багато аналогів стробілуїну були виділені із інших базидіоміцетів. Так, структурні варіації стробілуїну включають в себе оудеманзин А, виділений із *Oudemansiella mucida*, 9-метоксистробілуїн А із *Flaviolaschia* sp, гідроксистробілуїн А із *Petrula* sp. Ряд стробілуїнів мають складні діоксипенові замісники, які містять два модифікованих пренильних фрагменти на фенольному кільці. Наприклад, стробілуїн G та болінеол, виділені із *Bolinea lutea* [2].

Стробілуїни та їх похідні здатні проявляти протигрибкову активність проти таких мікроорганізмів як: *Candida albicans*, *Paecilomyces varioti*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces cerevisiae* тощо. Наприклад, базидіоміцет *Xerula* sp здатний продукувати 22 сполуки, серед яких і оудеманзини. Найбільшу цікавість для протигрибкової терапії становлять оудеманзини А та Х, які мають активність проти *C. albicans* (МІК 50 мг/мл), а також активність проти таких фітомікопатогенів як *Alternaria brassicicola*, *Colletotrichum capsici* та *C. gloeosporioides* (МІК 25- 50 мг/мл) [3]. Інший представник базидіоміцетів, *Oudemansiella mucida*, завдяки наявності оудеманзинів здатний інгібувати ріст таких мікопатогенів як *Alternaria longipes*, *A. brassicae*, *Gloesporium fructigenum* (МІК 10 мг/мл), *Fusarium graminearum*, *Alternaria alternata* (МІК 5 мг/мл) [4].

Цей клас природних сполук нестійкий у присутності світла тому є

неефективним для лікування захворювань сільськогосподарських культур. Однак модифікації, внесені в хімічну структуру однієї з цих сполук дали фотостабільну форму з протигрибковою активністю, що дозволило вивести стробілури на ринок з 1996 року. На даний час доступними на ринку є 18 фунгіцидів цього класу, які характеризуються різними видозмінами хімічної структури, у т.ч. метоксиакрилати, метоксиацетамід, метоксикарбамати, оксиміноацетати, оксиміноацетаміди, аксазолідиндони, дигідродіоксазини, імідазолінони та безилкарбамати, але всі вони мають схожий механізм дії. Стробілуринові фунгіциди руйнують дихальний ланцюг у мітохондріях шляхом зв'язування з сайтами QO комплексу цитохромів bc1 в грибі-мішені. Таким чином не відбувається перенесення електронів між цитохромами b і c, блокується окиснення НАДФН та утворення АТФ, що призводить до загибелі клітин [5].

Висновки. Отже, базидіоміцети здатні до синтезу значної кількості цінних вторинних метаболітів, серед яких важливе місце займають сполуки терпенової природи, до яких належать і стробілурини. Основними продуцентами стробілуринів є ряд вищих грибів. Виділення цих сполук із базидіоміцетів дало початок створенню нових протигрибкових засобів, які знайшли своє застосування у фармацевтичній галузі промисловості та сільському господарстві.

Література

1. Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре: Сборник научных трудов в двух томах. Т. 1 / Под ред. чл.-кор. НАН Украины С.П. Вассера. – Киев: Альтерпрес, 2011. – 212 с.
2. Iqbal, Z., Han, L. C., Soares-Sello, A. M., Nofiani, R., Thormann, G., Zeeck, A., Simpson, T. J. (2018). Investigations into the biosynthesis of the antifungal strobilurins. *Organic & biomolecular chemistry*, 16(30), 5524-5532
3. Sadorn, K., Saepua, S., Boonyuen, N., Laksanacharoen, P., Rachtawee, P., Pittayakhajonwut, P. (2016). Antimicrobial activity and cytotoxicity of polyketides isolated from the mushroom *Xerula* sp. BCC56836. *RSC advances*, 6(97), 94510-94523
4. Deng, X., Li, R., Zhang, Y., Li, R. (2020, February). Preliminary Study on Antimicrobial Activity of Fermentation Broths of *Oudemansiella mucida*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 440, No. 2, p. 022035).
5. Cooper, E. M., Rushing, R., Hoffman, K., Phillips, A. L., Hammel, S. C., Zylka, M. J., Stapleton, H. M. (2020). Strobilurin fungicides in house dust: is wallboard a source?. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*, 30(2), 247-252.

Матеріали 87 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів "Наукові здобутки молоді – вирішення проблем харчування людства у XXI столітті", 15–16 квітня 2021 р. – Київ: НУХТ. – Ч.1.

16. Дослідження антифунгальної активності грибів відділу *Basidiomycetes* проти мікопатогенів

Аліна Кернер, Вікторія Красінько

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Вступ. На сьогоднішній день актуальним є пошук нових сполук із протигрибковою активністю, зважаючи зростання резистентності грибків до вже існуючих засобів.

Матеріали та методи. Аналіз літературних даних проводили з метою визначення продуцентів антифунгальних речовин та спектру їх дії, методів отримання біологічно активних метаболітів і визначення майбутніх перспектив їх застосування.

Результати та обговорення. Проведений аналіз закордонних та вітчизняних робіт вчених вказує на здатність екстрактів грибів та їх культуральних рідин пригнічувати розвиток мікопатогенів рослин та людей. Значну антифунгальну активність проявляють сполуки терпенової природи. Наприклад, після культивування базидіоміцету *Rhodotus palmatus* було отримано ряд раніше невідомих терпенів родокоранів (Rhodocorane F, G, H, I, J, K, L). Подальші дослідження встановили активність цих сполук проти представників роду *Mucor*, які можуть спричинювати виникнення мукормікозів, зокрема *Mucor plumbeus* та *Mucor hiemalis* [1]. Встановлена й активність терпеноїдів іншого гриба – *Crinipellis rhizomaticola*. Відтак було виявлено, що крініпеліни, які він продукує – Crinipellin A та I здатні затримувати ріст таких фітопатогенів як *Alternaria porri*, *Fusarium oxysporum*, *Magnaporthe oryzae*, *Colletotrichum coccodes*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani* [2]. Іншою групою біологічно активних речовин базидіоміцетів, що проявляють антифунгальну активність, є оудеманзіни, які продукують базидіоміцети роду *Oudemansiella*. Так було виявлено здатність екстрактів *Oudemansiella mucida* інгібувати ріст таких мікопатогенів: *Alternaria brassicae*, *Alternaria longipes*, *Gloesporium fructigenum* з мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК) 10 мг/мл, *Fusarium graminearum*, *Alternaria alternata* з МІК 5 мг/мл, що вказує на можливість використання даних екстрактів з метою створення біопестицидів [3].

Висновки. Отже, проведений аналіз літератури вказує на значний потенціал біологічно активних метаболітів багатьох видів базидіоміцетів у боротьбі із патогенними мікроорганізмами.

Література

1. Sandargo, B., Michehl, M., Stadler, M., & Surup, F. (2019). Antifungal Sesquiterpenoids, Rhodocoranes, from Submerged Cultures of the Wrinkled Peach Mushroom, *Rhodotus palmatus*. *Journal of natural products*, 83(3), 720-724.
2. Han, J. W., Oh, M., Lee, Y. J., Choi, J., Choi, G. J., & Kim, H. (2018). Crinipellins A and I, two diterpenoids from the basidiomycete fungus *Crinipellis rhizomaticola*, as potential natural fungicides. *Molecules*, 23(9), 2377.
3. Deng, X., Li, R., Zhang, Y., & Li, R. (2020, February). Preliminary Study on Antimicrobial Activity of Fermentation Broths of *Oudemansiella Mucida*. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 440, No. 2, p. 022035).

УДК 582.28:604:615.282

**ПЕРСПЕКТИВА СТВОРЕННЯ ПРОТИГРИБКОВИХ ЗАСОБІВ З
КОМПОНЕНТАМИ БАЗИДІОМІЦЕТІВ**

Кернер А.О.

**Національний університет харчових технологій, 01033, Київ,
вул. Володимирська, 68, malina_a_lina@ukr.net**

Поширеність грибкових інфекцій людей постійно зростає, особливо таку тенденцію спостерігають у пацієнтів із ослабленим імунітетом. Зважаючи на обмежений арсенал антимікотичних засобів, які використовують у сучасній терапії і їх токсичність, наразі актуальним є напрямок створення протигрибкових засобів з природних компонентів. Антифунгальні сполуки можуть бути виділені з багатьох видів грибів і мати користь для людини, адже на основі грибних компонентів можна створювати, наприклад, протигрибкові мазі або креми у комбінації синтетичних фунгіцидних сполук із грибними компонентами.

Незважаючи на відсутність на фармацевтичному ринку протигрибкових лікарських препаратів із компонентами базидіоміцетів, численні дослідження вказують на перспективу цього напрямку. Наприклад, мазева композиція для зовнішнього лікування мікозів стоп, що містить фармакологічно активну субстанцію, одержану з плодових тіл грибів базидіоміцетів *Lactarius pergamenus*, має ряд переваг, порівняно із синтетичним лікарським препаратом. Дана композиція проявляє високу антифунгальну активність проти збудників мікозів: *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* та *Trichophyton violaceum* та не викликає побічних явищ у вигляді алергічних реакцій, печії і болей [1].

Іншим експериментальним засобом для лікування дерматофітозу є мазь на основі плодових тіл *Calvatia craniformis*. Основним збудником даного захворювання є *Trichophyton verrucosum*. Найкращий лікувальний ефект проявляла мазева композиція із 1%-ю концентрацією висушених та подрібнених плодових тіл. Період лікування для інфікованих (велика рогата худоба) становив 10-13 днів. Антифунгальна активність даної мазі зумовлена такими компонентами *Calvatia craniformis*: кальватинова кислота, краніформін та сполуки стероїдної природи [2].

Отже, проведений аналіз літературних джерел вказує на значний потенціал багатьох видів базидіоміцетів у боротьбі із патогенними мікроорганізмами і свідчить про можливість створення нових протигрибкових лікарських засобів на основі грибних компонентів або модифікації вже існуючих препаратів.

Автор висловлює подяку Красінько Вікторії Олегівні, доценту кафедри біотехнології і мікробіології НУХТ, за допомогу у проведенні дослідження.

1. Zaychenko O.I, Panchak L.V, Antonyuk V.O. et al. 2010. The ointment composition for the external treatment of the human foot mycoses. Ukrainian patent № 54969. International Classes: A61K9/06, A61K35/84. Application Number: u 2010 08043. Filing Data: 20/07/2010. Publication Data: 25/11/2010 (in Ukrainian).

2. Jameel, G. H., Al-Saidy, H. A. M., Sultan, A. A. (2014). Evaluation of *Calvatia craniformis* mushroom activity in treatment of ringworm disease ion cattle. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 4(19), 1-5.

Фунгіцидні властивості екстрактів деяких базидієвих грибів з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК)

Fungicidal properties of extracts of some basidiomycetes from the IBK Mushroom Culture Collection

¹Кернер А.О., ¹Красінько В.О., ²Ломберг М.Л.,

²Михайлова О.Б., ²Аль-Маалі Г.А.

¹Національний університет харчових технологій, Україна

²Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Україна

¹Kerner A.O., ¹Krasinko V.O., ²Lomborg M. L., ²Mykchaylova O.B., ²Al-Maali G.A.

¹National university of food technologies, Ukraine

²M.G. Kholodny Institute of Botany of NAS of Ukraine

e-mail: malina_a_lina@ukr.net

*This work presents the result of screening 17 mushroom strains from different ecological groups from the IBK Mushroom Culture Collection. The results showed that ethanol extracts of mycelial biomass of *Inonotus obliquus* 2513, *Fomitopsis pinicola* 2291 and 2129, *Inonotus officinalis* 2498 had the highest antifungal activity, which was demonstrated in the inhibition of sporulation of fungi cultures *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*.*

На сьогодні у світі гостро постає питання пошуку нових проти-грибкових сполук, які допоможуть розширити стратегії боротьби з грибковими інфекціями. Серед перспективних продуцентів антифунгальних речовин виділяють базидіоміцетів. Тому

метою нашої роботи був скринінг базидіоміцетів-продуцентів речовин з антифунгальними властивостями. Об'єктами дослідження були штами грибів із різних екологічних груп з Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України (ІВК): *Coprinus ephemeroideus*, *C. comatus*, *Coprinopsis atramentaria*, *Crinipellis schevczenkovi*, *Hericium coralloides*, *H. cirrhatum*, *H. erinaceus*, *Inonotus obliquus*, *Fomitopsis pinicola*, *F. officinalis*, *Psathyrella candolleana*, *Phallus impudicus*.

Культуральну рідину та біомасу зазначених грибів, отримані методом стаціонарного культивування на рідкому середовищі, використовували для одержання екстрактів. Визначення антифунгальної активності екстрактів по відношенню до культур *Penicillium polonicum*, *Mucor racemosus*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans* проводили диско-дифузійним методом.

Результати дослідження показали, що етилові екстракти біомаси *I. obliquus* 2513, *F. pinicola* 2291 та 2129, *F. officinalis* 2498, повністю пригнічували спороношення видів роду *Aspergillus*, а саме: *A. niger*, *A. flavus*, *A. nidulans*. Екстракти зазначених базидієвих грибів були обрані для подальших досліджень, з метою виділення біологічно активних компонентів.

Матеріали ІХ Науково-практичної конференції з міжнародною участю Школи молодих науковців АТ «Фармак»

the mucous membrane and venous plexuses of the submucosal layer. The microscopic picture of the proximal wall of the anal canal of rats retained a normal histological structure. In parallel, we carried out pharmacological studies on the introduction of rectal suppositories at this dose to mice and found satisfactory anti-inflammatory and venotonic properties.

Conclusions. It was established that the optimal technological, analytical and pharmacological parameters have a sample with a diosmin and hesperidin content of 300 mg.

ПЕРСПЕКТИВА ВИКОРИСТАННЯ ЕКСТРАКТІВ БАЗИДІЄВИХ ГРИБІВ ЯК ПРИРОДНИХ ФУНГІЦИДНИХ ЗАСОБІВ

Бондарук С.В. Кернер А.О.

Вступ. Стрімке зростання стійкості мікроорганізмів до протимікробних препаратів є світовою проблемою. Така тенденція викликає необхідність пошуку нових антимікробних засобів, продуцентами яких можуть бути гриби. В даний час деякі природні сполуки знаходяться в центрі уваги біотехнологічних компаній, які шукають нові антимікробні засоби. Як і інші організми, гриби підтримують свою життєздатність, розвиваючи ефективні механізми хімічного захисту для убезпечення міцелію та плодових тіл від антагоністів. Отже, вони виробляють безліч різноманітних унікальних біоактивних речовин. Кілька таких «біопрепаратів» досягли розвитку як пестициди та фармацевтичні сполуки, наприклад, цитотоксичні і людини, протигрибкові стробілурини та антибактеріальні плеуромутиліни.

Мета дослідження. Дослідити антимікробні властивості етилових екстрактів базидієвих грибів з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктами дослідження були водно-спиртові екстракти (концентрація етилового спирту 70%) базидієвих грибів *Inonotus obliquus*, *Fomitopsis pinicola* та *Fomitopsis officinalis*. Чутливість мікроорганізмів до метаболітів базидіоміцетів, екстрагованих з біомаси, визначали диско-дифузійним методом. Визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) проводили методом розведення рідкого середовища Сабуро. Як тест-культури використовували *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. fumigatus*.

Результати дослідження. Виявлена здатність екстрактів міцелію *I. obliquus* 2513 (культивовано протягом 28 діб та 21 доби) та *F. pinicola* 2291 (14

діб культивування) здійснювати демеланізацію та пригнічення спорношення культур *A. niger* та *A. nidulans*, аналогічний ефект для культури *A. flavus* спостерігали лише при застосуванні екстракту *I. obliquus* 2513, культивованого протягом 28 діб. При визначенні мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) найвищу антифунгальну активність спостерігали при використанні екстракту *F. pinicola* 2129 (28 діб), МІК для *A. niger* та *A. nidulans* становлять 61 мкг/мл, а для *A. fumigatus* – 31 мкг/мл. Визначенням антимікробної активності етилових екстрактів *I. obliquus* займався Glamoclijaа J. із співробітниками. Відповідно до отриманих дослідниками результатів МІК відносно *A. niger* та *A. fumigatus* становить 1500 мкг/мл, що значно гірше за показники отримані нами експериментально. Австрійськими вченими проводились дослідження із визначення антифунгальної активності етилових екстрактів *F. pinicola*. Відповідно до опублікованих науковцями результатів МІК відносно *A. fumigatus* знаходилася у межах 125-500 мкг/мл для різних штамів *F. pinicola*. Така розбіжність у отриманих показниках припускається, оскільки у попередніх дослідженнях як об'єкт для екстракції було використано не отриману культивуванням біомасу, а зібрані у лісі плодіві тіла базидіоміцета. У численних наукових дослідженнях, присвячених вивченню хімічного складу базидієвих грибів повідомлялося, що залежно від способу вирощування базидіоміцетів спостерігається різний хімічний склад біомаси.

Висновки. Проведені дослідження розширюють знання про властивості базидіоміцетів та їх екстрактів і вказують на значимість грибів як об'єктів біотехнології та перспективу їх використання з метою створення антифунгальних засобів. Отримані експериментально результати при порівнянні із літературними даними свідчили про більшу антимікробну активність біомаси базидіоміцетів, отриманої при глибинному культивуванні. Автори висловлюють щире подяку Ломберг Маргариті Леонідівні та Михайловій Оксані Борисівні, старшим науковим співробітникам відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного, за допомогу у проведенні дослідження.



Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації
Кафедра загальної фармації та безпеки ліків

Цим засвідчується, що

Кернер А. О.

приймав(ла) участь у III науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю:
«ФАРМАЦЕВТИЧНА НАУКА ТА ПРАКТИКА: ПРОБЛЕМИ, ДОСЯГНЕННЯ, ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ»
«PHARMACEUTICAL SCIENCE AND PRACTICE: PROBLEMS, ACHIEVEMENTS, PROSPECTS»
«ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ НАУКА И ПРАКТИКА: ПРОБЛЕМЫ, ДОСТИЖЕНИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ»

Дата проведення: 15-16 квітня 2021 року

Місце проведення: Україна, м. Харків,

Директор Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації,
доктор фармацевтичних наук, професор



Лариса ГАЛІЙ



ДИПЛОМ

нагороджується переможець конкурсу студентських
наукових проектів за благодійної підтримки
Корпорації «Артеріум»

Кернер Аліна Олександрівна


автор роботи «Дослідження антифунгальної активності
грибів відділу *Basidiomycota* проти поширених збудників
захворювань»

здобувачка Національного університету харчових технологій
спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» освітньо-
професійної програми «Фармацевтична біотехнологія»

17 червня 2021 р.

Директор
з управління персоналом



 О. І. Цапро



Фармак

СЕРТИФІКАТ

учасника ІХ науково-практичної конференції
школи молодих науковців АТ «Фармак»
«НАУКА ТА СУЧАСНЕ ФАРМАЦЕВТИЧНЕ ВИРОБНИЦТВО»

Нагороджується:

Кернер Аліна Олександрівна

за успішну усну доповідь на тему:

*Перспектива використання екстрактів базидієвих грибів
як природних фунгіцидних засобів*

Виконавчий директор
АТ «Фармак»

Костюк В. Г.

29.10.2021 р.
м. Київ