

УДК 615.322

ОЦЕНКА ПРОТИВОБОЛЕВОГО И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТА ДРЕВЕСНОГО ГРИБА *GANODERMA LUCIDUM* НА ЖИВОТНЫХ

*Джелдубаева Э. Р., Ярмолюк Н. С., Чуян Е. Н., Сидякин А. И.,
Заячникова Т. В., Туманянц К. Н., Молотова И. Р.*

*Институт биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский
федеральный университет имени В. И. Вернадского», Республика Крым, Симферополь, Россия
E-mail: delviza@mail.ru*

Показано, что у животных, которым вводили экстракт древесного гриба *Ganoderma lucidum*, отмечается выраженный анальгетический и противовоспалительный эффекты по сравнению с данными крыс, которым вводился эквивалентный объем физраствора. Полученные данные свидетельствуют о том, что экстракт древесного гриба *Ganoderma lucidum* может быть мощным анальгетиком на основе натурального продукта.

Ключевые слова: боль, древесный гриб, *Ganoderma lucidum*, крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что лекарственные грибы являются богатыми источниками биологически активных соединений. Одним из грибов, обычно используемых в традиционной китайской медицине, является *Ganoderma lucidum*. В азиатских странах его считают нутрицевтиком, регулярное употребление которого придает жизненную силу и укрепляет здоровье [1]. Показано, что *G. lucidum* содержит около 400 различных биологически активных компонентов, в основном полисахариды, тритерпеноиды, белки, ферменты, стероиды, стеролы, нуклеотиды, жирные кислоты, витамины и минералы, которые, как было доказано, обладают несколькими терапевтическими свойствами для контроля различных заболеваний [2–4].

В многочисленных исследованиях выявлено, что фармакологически активная фракция полисахаридов обладает антиоксидантной, иммуномодулирующей, антинейродегенеративной, антидиабетической, противоопухолевой, обезболивающей, противовоспалительной, противомикробной, гепатопротекторной, антиандрогенной, антиангиогенной, омолаживающей и противоязвенной активностями [5, 6]. Установлена эффективность использования гликопротеинов культуральной жидкости *G. lucidum* при головокружениях, а водных экстрактов спор – при миотонии [7].

Вместе с тем, показано, что качественные экспериментальные доклинические данные получены в недостаточном объеме и они крайне необходимы для поддержки

исследования фармакологической активности данного вещества для использования человеком.

В связи с вышеизложенным целью данной работы явилось выявление противоболевого и противовоспалительного действия экстракта раствора на основе древесного гриба *Ganoderma lucidum*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Исследования выполнены на 60 беспородных белых крысах-самцах массой 180–220 граммов, содержащихся в стандартных условиях вивария при температуре 18–22 °С с естественным 12-тичасовым свето-темновым циклом, свободным доступом к воде и полноценному гранулированному корму (ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур»).

Экспериментальная часть работы выполнялась в центре коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики Института биохимических технологий, экологии и фармации.

Животных разделили на 6 групп по 10 особей в каждой.

Животные первой, третьей и пятой групп составляли контрольные группы, им однократно внутрибрюшинно вводился физиологический раствор объёмом 0,2 мл. Животным второй, четвертой и шестой экспериментальных групп, за 1 час до тестирования произведена внутрибрюшинная инъекция 0,2 мл/особь водного раствора на основе древесного гриба *Ganoderma lucidum* из расчета 100 мг/кг.

У животных первой и второй групп изменение болевой чувствительности оценивали в tail-flick-тесте (ТОХ, тест отдергивания хвоста), у крыс третьей и четвертой групп – в тесте «горячая пластина» (ТГП) (термическая болевая чувствительность). В данных тестах при появлении болевой реакции фиксировали время – латентный период болевой реакции (ЛПБР).

Применение разных алгометрических тестов связано с тем, что регуляция болевой чувствительности обеспечивается интегративным комплексом механизмов, имеющих избирательную, динамически изменяющуюся нейрхимическую и нейроморфологическую структуру, которая определяется видом действующего фактора [8]. Так, ТГП основан на поведенческих реакциях, контролируемых супраспинальными структурами, в ответ на болевое воздействие. Использование условнорефлекторной процедуры привыкания к слабому болевому воздействию (ТОХ) при введении веществ различной природы, позволяет фиксировать изменения, которые отражают не только особенности периферического ответа, но и влияние центральных механизмов.

У животных 5-ой и 6-ой групп острую воспалительную реакцию воспроизводили путем субплантарного введения 0,1 мл 2 % раствора формалина в

виде водного раствора в левую заднюю лапу крысы («формалиновый тест»). Величину отека конечности измеряли с помощью метода водной плетизмометрии [9]. Данная методика используется для наблюдения за развитием экспериментально вызванной воспалительной реакции у грызунов и оценки противовоспалительной активности фармакологических препаратов.

Величину отека конечности измеряли с помощью цифрового водного плетизмометра LE 7500 (Bioseb, Франция, США), предназначенного для измерения малых изменений объема и использования для наблюдения за развитием экспериментально вызванной воспалительной реакции у грызунов и оценки противовоспалительной активности фармакологических препаратов.

Развитие отека оценивали по формуле:

$$П = (О-И) / И \cdot 100 \%,$$

где П – прирост отека; О – величина объема лапы после введения индуктора воспаления; И – величина объема лапы до введения индуктора воспаления [9].

Для оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Вилкоксона.

Расчеты и графическое оформление полученных в работе данных проводили с использованием программы Microsoft Excel и программного пакета «STATISTICA – 6.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что у животных, которым вводили экстракт древесного гриба *Ganoderma lucidum*, отмечается выраженный анальгетический и противовоспалительный эффекты по сравнению с данными крыс, которым вводился эквивалентный объем физраствора.

Таблица.

Показатели латентного периода болевой реакции (ЛПБР, с) в тестах отдергивания хвоста (ТОХ) и горячая пластина (ТГП), а также прироста отёка (усл.ед.) в тесте плетизмометрии у крыс в контроле и после введения экстракта древесного гриба *Ganoderma lucidum*

Показатели \ Группы	Контроль	Экспериментальная группа (<i>Ganoderma lucidum</i>)
ЛПБР, с (ТГП)	3,82± 0,86	4,79±0,77 p<0.05
ЛПБР, с (ТОХ)	3,99±1,06	6,93±1,58 p<0.05
Прирост отёка, усл.ед	235,00±33,54	101,39±36,38 p<0.05

Примечание: p – достоверность полученных результатов в сравнении с показателями у животных в контрольной группе по критерию Вилкоксона.

Так, в ТПП у данных животных отмечается увеличение показателя ЛПБР на 25,44 % ($p < 0.05$) по сравнению со значениями крыс контрольной группы.

В ТОХ при введении крысам экстракта гриба *G. lucidum* ЛПБР увеличился на 73,90 % ($p < 0.05$) относительно значений у животных контрольной группы.

В тесте плетизмометрии у животных экспериментальной группы отмечается уменьшение прироста отека на 56,86 % ($p < 0.05$) по сравнению со значениями крыс контрольной группы.

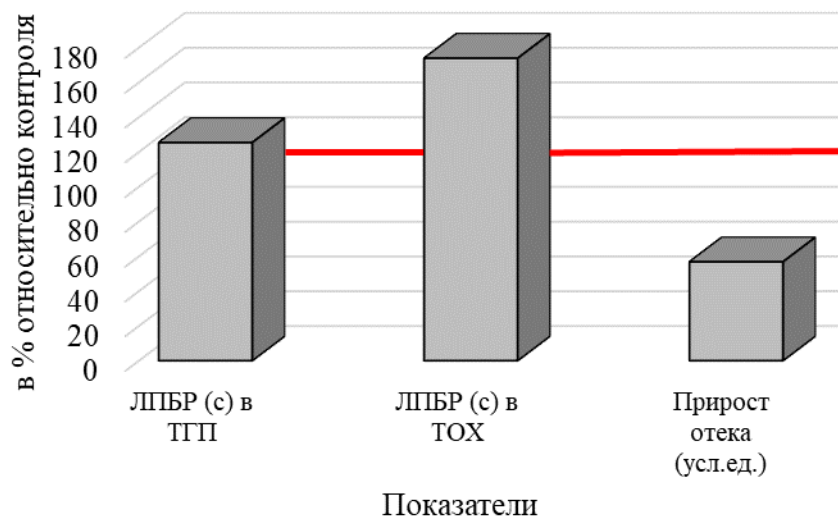


Рис 1. Изменение показателей болевой и противовоспалительной реакции у животных после введения экстракта древесного гриба *Ganoderma lucidum* по сравнению с контрольной группой.

Увеличение показателя ЛПБР в тестах ТПП и ТОХ свидетельствует о выраженном анальгетическом эффекте тестируемого вещества. Уменьшение прироста отека в тесте водной плетизмометрии свидетельствует о противовоспалительном эффекте экстракта древесного гриба *Ganoderma lucidum*.

Полученные результаты согласуются с литературными данными. Так, в работе Hossen S.M. и соавт [10] показан выраженный анальгетический эффект экстракта *Ganoderma applanatum* в тестах укусных корчей, горячей пластины и погружения хвоста. Кроме того, выявлен противовоспалительный эффект масла, извлеченное из *G. lucidum*, способное ингибировать отек при местном применении [11].

На мышях Swiss albino Joseph с соавт. [12] исследовали эффекты очищенных полисахаридов ганодермы и тритерпенов, экстрагированных хлороформом в моделях острого и хронического воспаления, вызванного инъекцией в лапу животного каррагинана. При определении величины местного отека было показано противовоспалительное действие этих соединений, сопоставимое по эффективности с известным противовоспалительным препаратом диклофенаком [13].

В работе К. J. Hong с соавт. [14] показано, что этанольный экстракт *G. lucidum* способен проявлять *in vitro* противовоспалительную активность в клетках карциномы толстой кишки человека HT-29 в ответ на воздействие противовоспалительных стимулов.

Вместе с тем, эффект может быть связан с составляющими амидов жирных кислот, особенно с олеамидом, который, как было показано, обладает обезболивающим и спазмолитическим действием [15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что выраженный анальгетический и противовоспалительный эффект отмечается у крыс, которым вводился экстракт древесного гриба *Ganoderma lucidum*, тогда как по сравнению с группой животных, которым вводился эквивалентный объем физраствора, таких изменений не наблюдалось.

Следовательно, полученные данные свидетельствуют о том, что экстракт древесного гриба *Ganoderma lucidum* может быть мощным анальгетиком на основе натурального продукта.

Исследование выполнено при финансовой поддержке программы «Приоритет 2030» в рамках проекта «Новые синтетические препараты и физические факторы в медицине, ветеринарии и растениеводстве: синтез, биологическое действие и доклинические исследования».

Работа выполнена на оборудовании ЦКП научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

Список литературы

1. Sanodiya B. S. *Ganoderma lucidum*: a potent pharmacological macrofungus / Sanodiya B. S., Thakur G. S., Baghel R. K., Prasad G. B., Bisen P. S. // *Curr Pharm Biotechnol.* – 2009 – 10(8) – P. 717–42. doi: 10.2174/138920109789978757.
2. Boh B. *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) Lloyd and *G. applanatum* (Pers.) Pat. (Aphyllorphomycetidae) from Slovenian habitats: cultivation, isolation, and testing of active compounds / Boh B., Berovic M., Wraber B. et al. // *International Journal of Medicinal Mushrooms.* – 2004. – 6, № 1. – P. 15–32.
3. Ковалева Г. К. Биологические особенности и биохимический состав ксилотрофных базидиомицетов *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Bond et Sing., *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. и *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilat: Автореф. дис... канд. биол. наук. / Ковалева Г. К. – М., 2009. – 22 с.
4. Евсенко М. С. Полисахариды базидиальных грибов, растворимые в щёлочи полисахариды из мицелия трутовика лакированного *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst. / Евсенко М. С., Шашков А. С., Автономова А. В., Краснополянская Л. М., Усов А. М. // *Биохимия.* – 2009. – 74, 5. – P. 657–667.
5. Seweryn E. Health-Promoting of Polysaccharides Extracted from *Ganoderma lucidum*. / Seweryn E., Ziała A., Gamian A. // *Nutrients.* – 2021. – 7, 13(8). – P. 2725.
6. Ahmad M. F. *Ganoderma lucidum*: Persuasive biologically active constituents and their health endorsement / Ahmad M. F. // *Biomed Pharmacother.* – 2018. – 107. – P. 507–519.
7. Chang S.-T. *Mushrooms. Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact.* / Chang S.-T., Miles P. G. – London; New York; Washington: CRC Press, 2004. – 450 p.

8. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р. У. Хабриева – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
9. Fereidoni M. An accurate and simple method for measurement of paw edema / Fereidoni M., Ahmadiani A., Semnanian S., Javan M. // *Pharm. Toxicol. Methods J.* – 2000. – Vol. 43. – P. 11–14.
10. Hossen S. M. CNS anti-depressant, anxiolytic and analgesic effects of *Ganoderma applanatum* (mushroom) along with ligand-receptor binding screening provide new insights: Multi-disciplinary approaches. / Hossen S. M., Islam M. J., Hossain M. R., Barua A., Uddin M. G., Emon N. U. // *Biochem Biophys Rep.* – 2021. – 9, 27. – P. 101062. doi: 10.1016/j.bbrep.2021.101062
11. Chen X. Gano oil: A novel antinociceptive agent extracted from *Ganoderma lucidum* inhibits paw oedema and relieves pain by hypnotic and analgesic actions of fatty acid amides. / Chen X., Veena R. K., Ramya H., Janardhanan K. K., George V. // *J Ethnopharmacol.* – 2020. – 5, 263. – P. 113144. doi: 10.1016/j.jep.2020.113144
12. Joseph S. Antitumor and anti-inflammatory activities of polysaccharides isolated from *Ganoderma lucidum* / Joseph S., Sabulal B., George V., Antony K. R., Janardhanan K. K. // *Acta. Pharm.* – 2011. – Vol. 61, № 3. – P. 335–342.
13. Joseph S. Antioxidative and antiinflammatory activities of the chloroform extract of *Ganoderma lucidum* found in South India / Joseph S., Sabulal B., George V., Smina T. P., Janardhanan K. K. // *Sci. Pharm.* – 2019. – Vol. 77. – P. 111–121.
14. Hong K. J. Effects of *Ganoderma lucidum* on apoptotic and anti-inflammatory function in HT-29 human colonic carcinoma cells / Hong K. J., Dunn D. M., Shen C. L., Pence B. C. // *Phyther. Res.* – 2004. – Vol. 18, № 9. – P. 768–770.
15. Cui X. Neuropharmacological Effect and Clinical Applications of *Ganoderma* (Lingzhi). / Cui X, Zhang Y. // *Adv Exp Med Biol.* – 2019. – 1182. – P. 143–157. doi: 10.1007/978-981-32-9421-9_5

EVALUATION OF THE ANTIPAIN AND ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF THE EXTRACT OF WOOD FUNGUS *GANODERMA LUCIDUM* ON ANIMALS

***Dzheldubaeva E. R., Yarmolyuk N. S., Chuyan E. N., Sidyakin A. I.,
Zayachnikova T. V., Tumanyants K. N., Molotova I. R.***

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: delviza@mail.ru*

Medicinal mushrooms are known to be rich sources of biologically active compounds. One of the mushrooms commonly used in traditional Chinese medicine is *Ganoderma lucidum*. In Asian countries it is considered a nutraceutical, regular use of which gives vitality and strengthens health [1]. *G. lucidum* has been shown to contain about 400 different biologically active components, mainly polysaccharides, triterpenoids, proteins, enzymes, steroids, sterols, nucleotides, fatty acids, vitamins and minerals, which have been shown to have several therapeutic properties to control various diseases [2-4].

It is shown that the qualitative experimental preclinical data were obtained in insufficient volume and they are extremely necessary to support the study of the pharmacological activity of this substance for human use.

In view of the above, the aim of this work was to identify the anti-pain and anti-inflammatory effects of a solution extract based on the wood fungus *Ganoderma lucidum*.

The experimental part of the work was performed in the Center for Collective Use of Scientific Equipment "Experimental Physiology and Biophysics", Department of Human and Animal Physiology and Biophysics, Institute of Biochemical Technologies, Ecology and Pharmacy.

Animals were divided into 6 groups of 10 individuals in each.

The results of the study showed that animals injected with *Ganoderma lucidum* wood fungus extract showed pronounced analgesic and anti-inflammatory effects compared to rats injected with an equivalent volume of saline.

Thus, in the hot plate test, these animals showed an increase in the index of the latent period of pain reaction by 25.44 % ($p < 0.05$) in comparison with the values of the control group rats.

In the tail yanking test, when rats were given an extract of the fungus *G. lucidum* mushroom extract, the latent period of the pain reaction increased by 73.90 % ($p < 0.05$) relative to the values of the control group animals.

In the plethysmometry test, the animals of the experimental group showed a 56.86 % ($p < 0.05$) decrease of the swelling increase in comparison with the values of the control group rats.

The increase in the index of the latent period of the pain reaction in the tests of hot plate and tail yanking indicates a pronounced analgesic effect of the tested substance. A decrease in the increase in edema in the test of aqueous plethysmometry testifies to the anti-inflammatory effect of the extract of the wood fungus *Ganoderma lucidum*.

Thus, the data obtained indicate that the extract of the wood fungus *Ganoderma lucidum* can be a powerful analgesic based on a natural product.

Keywords: pain, wood fungus, *Ganoderma lucidum*, rats.

References

1. Sanodiya B. S., Thakur G. S., Baghel R. K., Prasad G. B., Bisen P. S. *Ganoderma lucidum*: a potent pharmacological macrofungus, *Curr Pharm Biotechnol.*, **10(8)**, 717 (2009). doi: 10.2174/138920109789978757.
2. Boh B., Berovic M., Wraber B. et al. *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) Lloyd and *G. applanatum* (Pers.) Pat. (Aphylophoromycetideae) from Slovenian habitats: cultivation, isolation, and testing of active compounds, *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **6, 1**, 15 (2004).
3. Kovaleva G. K. Biological features and biochemical composition of xylotrophic basidiomycetes *Fomitopsis officinalis* (Vill.: Fr.) Bond et Sing., *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. and *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilat: Autoref. Candidate of Biological Sciences. 22 (M., 2009).
4. Evsenko M. C., Shashkov A. C., Avtonomova A. B., Krasnopolskaya L. M., Usov A. M. Polysaccharides of basidial fungi, alkali-soluble polysaccharides from mycelium of trutovik lacidum *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst., *Biochemistry*, **74, 5**, 657 (2009).
5. Seweryn E, Ziwała A, Gamian A. Health-Promoting of Polysaccharides Extracted from *Ganoderma lucidum*, *Nutrients.*, **7, 13(8)**, 2725 (2021).
6. Ahmad M.F. *Ganoderma lucidum*: Persuasive biologically active constituents and their health endorsement, *Biomed Pharmacother.*, **107**, 507 (2018).
7. Chang S.-T., Miles P. G. *Mushrooms. Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*, 450 p. (London; New York; Washington: CRC Press, 2004).
8. *Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances*, Edited by Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences, Professor R. U. Khabriev, 2 ed., 832 p. (2005).

9. Fereidoni M., Ahmadiani A., Semnanian S., Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema, *Pharm. Toxicol. Methods J.*, **43**, 11 (2000).
10. Hossen S. M., Islam M. J., Hossain M. R., Barua A., Uddin M. G., Emon N. U. CNS anti-depressant, anxiolytic and analgesic effects of *Ganoderma applanatum* (mushroom) along with ligand-receptor binding screening provide new insights: Multi-disciplinary approaches. *Biochem Biophys Rep.*, **9**, **27**, 101062. (2021) doi: 10.1016/j.bbrep.2021.101062
11. Chen X., Veena R. K., Ramya H., Janardhanan K. K., George V. Gano oil: A novel antinociceptive agent extracted from *Ganoderma lucidum* inhibits paw oedema and relieves pain by hypnotic and analgesic actions of fatty acid amides, *J Ethnopharmacol.*, **5**, **263**, 113144 (2020) doi: 10.1016/j.jep.2020.113144
12. Joseph S., Sabulal B., George V., Antony K. R., Janardhanan K. K. Antitumor and anti-inflammatory activities of polysaccharides isolated from *Ganoderma lucidum*, *Acta. Pharm.*, **61**, **3**, 335 (2011).
13. Joseph S., Sabulal B., George V., Smina T. P., Janardhanan K. K. Antioxidative and anti-inflammatory activities of the chloroform extract of *Ganoderma lucidum* found in South India, *Sci. Pharm.*, **77**, 111 (2019).
14. Hong K. J., Dunn D. M., Shen C. L., Pence B. C. Effects of *Ganoderma lucidum* on apoptotic and anti-inflammatory function in HT-29 human colonic carcinoma cells, *Phytother. Res.*, **18**, **9**, 768 (2004).
15. Cui X, Zhang Y. Neuropharmacological Effect and Clinical Applications of *Ganoderma* (Lingzhi), *Adv Exp Med Biol.*, **1182**, 143 (2019) doi: 10.1007/978-981-32-9421-9_5