

\*Katarzyna Sułkowska-Ziaja, Paulina Motyl, Bożena Muszyńska, Anna Firlej

## *Piptoporus betulinus* (Bull.) P. Karst. – bogate źródło związków aktywnych biologicznie

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie

Kierownik Katedry i Zakładu: prof. dr hab. Halina Ekiert

*PIPTOPORUS BETULINUS* (BULL.) P. KARST. – A RICH SOURCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

### SUMMARY

*Piptoporus betulinus* Bull. P. Karst. is a mushroom species belonging to the family of Fomitopsidaceae. It is a relatively common component of the native mycoflora. This species had been used in folk medicine due to its antimicrobial properties, helping agent in acceleration of wounds healing, but also as laxative as well as assisting in stomach diseases. Chemical and biological studies have shown that extracts of its fruiting bodies as well as isolated from them compounds are curative, comprising a multidirectional antimicrobial and antiviral activity. They have the ability to inhibit cell mitoses in plants, stimulate the growth of yeasts and moulds, and the induction of interferon synthesis. The present work describes the chemical composition and biological activity of extracts from fruiting bodies and biomass from in vitro cultures of this species.

KEY WORDS: *PIPTOPORUS BETULINUS* – CHEMICAL COMPOSITION – BIOLOGICAL ACTIVITY

### Pozycja taksonomiczna i etymologia

*Piptoporus betulinus* (Bull.) P. Karst – białoporek brzozy, przedstawiciel rodziny *Fomitopsidaceae* – Pniarkowate, jest grzybem bardzo pospolitym. Swoim zasięgiem obejmuje półkulę północną. Charakterystyczną cechą tego gatunku jest kolonizowanie brzoź (*Betula* sp.). Występuje zarówno na żywych, jak i martwych pniach i gałęziach tego gatunku. Najczęściej spotykany jest on w lasach, zaroślach, parkach, przy drogach, szczególnie w miejscach wilgotnych i zacienionych. Jego owocniki wyrastają od wiosny do jesieni, są jednoroczne. Przez niektórych autorów młode owocniki tego gatunku uważane są za jadalne. Powszechnie jest on jednak zaliczany do grzybów niejadalnych (1).

Nazwa *piptoporus* to połączenie dwóch słów – greckiego czasownika *piptein*, które oznacza „spadać”, „zrzucić” i wywodzącego się z łaciny słowa *porus*, któ-

re oznacza „pory”. Drugi człon nazwy *betulinus* (łac.) oznacza „brzozy” i nawiązuje do rodzaju drzewa, na którym rośnie białoporek (2).

### Opis morfologiczny

Owocniki białoporka osiągają rozmiary od 50 do 200 mm szerokości i od 20 do 60 mm grubości. Występują pojedynczo lub w nielicznych grupach. Są mocno zrosnięte z drewnem, przyrosnięte bokiem do podłoża lub też wyrastają z silnie skróconego, szczytkowego trzonu. Początkowo owocnik ma barwę białą, ciemniejącą z czasem w brudnoorzechową, płową. Młode owocniki mają kształt kolisty, przechodzący następnie w nerkowaty. Powierzchnia początkowo jest gładka i sprawiająca wrażenie pokrytej cienką, przypominającą papier błonką. Z wiekiem staje się matowa, często popękana i lekko się złuszcza. Brzegi owocnika są tępe, nabrzmięte, mocno zaokrąglone i często podwinięte, o wałkowatym kształcie.

Pory warstwy hymenialnej są białe, jasnobrązowe lub białoszare, o średnicy od 0,15 do 0,25 mm, mają kształt kulisty bądź lekko kanciasty. Rurki mają początkowo barwę białą, która z wiekiem przechodzi w słomkową. Są one krótkie, od 1 do 8 mm długości, w jednej warstwie. Charakterystyczną cechą jest ich oddzielanie się od miąższu. Grubość miąższu mieści się pomiędzy 15 a 40 mm. Miąższ barwy białej, w młodych owocnikach miękki, soczysty i elastyczny, z wiekiem szarzeje, staje się kruchy i bardzo lekki. Smak grzyba jest łagodny lub nieco gorzkawy i kwaskowaty (1).

### Skład chemiczny owocników *Piptoporus betulinus*

Analiza cukrów prostych wchodzących w skład polisacharydów nierozpuszczalnych w wodzie, a rozpuszczalnych w środowisku zasadowym, określonych jako WIP (ang. *water insoluble polysaccharides*) wykazała,

że w przeważającej ilości składają się one z glukozy (94,3%), w niewielkiej ilości z mannozy (4,1%) i ksylozy (1,5%), zaś galaktoza występowała tylko w ilościach śladowych.

Wiązaniem przeważającym w polisacharydach jest połączenie  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3) (3). Całkowitą zawartość węglowodanów w owocnikach określono na poziomie 12,51 g/100 g s.m., w tym ok. 0,36 g/100 g s.m. stanowi mannitol i ok. 12,15 g/100 g s.m. trehaloza.

Analiza profilu kwasów tłuszczowych dowiodła, że ilościowo dominują nienasycone kwasy tłuszczowe: PUFA (61,98%) i MUFA (8,92%). Owocniki zawierają również witaminy, m.in.  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - i  $\delta$ - tokoferol (577,62  $\mu$ g/100 g s.m.) oraz witaminę C (87,9 mg/100 g s.m.). Ponadto stwierdzono obecność  $\beta$ -karotenu (0,09 mg/100 g s.m.) i likopenu (0,23 mg/g s.m.), a także oznaczono całkowitą zawartość flawonoidów (6,79 mg/g ekstraktu) i związków fenolowych (34,94 mg/g ekstraktu) (4).

Szeroko reprezentowane są związki o strukturze terpenów, takie jak neosterol czy fitosterol. W owocnikach zidentyfikowano również ergosta-7,22-dien-3- $\beta$ -ol, fungisterol, ergosterol oraz kwas tumulozowy (ryc. 1) (5, 6).

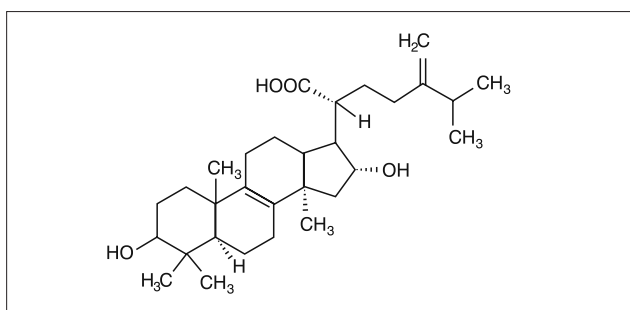
Badania produktów hydrodestylacji owocników pozwoliły na identyfikację związków reprezentujących różne grupy chemiczne. Stwierdzono obecność mono- i seskwiterpenów, alkoholi alifatycznych, aldehydów, ketonów, a także związków aromatycznych. Po raz pierwszy w historii wyizolowano (S)-(-)-daucen, izobazzanen oraz (-)- $\beta$ -barbaten (ryc. 2) – związki terpenowe o uznanej aktywności biologicznej (6).

Podczas analizy GC/MS lotnych związków występujących w ekstrakcie dichlorometanowym z owocników

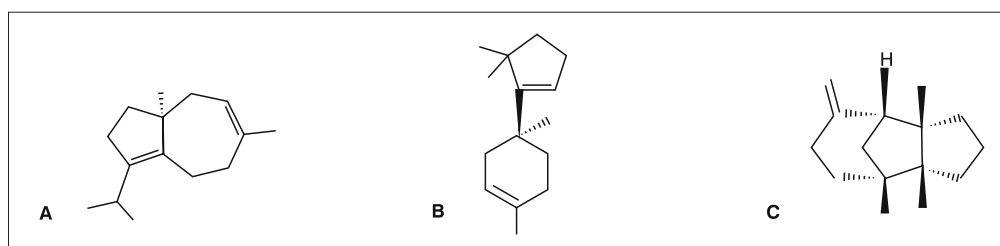
stwierdzono, że dominującymi ilościowo składnikami są 1-okten-3-ol i 1-oktanol. Oznaczono też niewielkie ilości 3-heptanonu i limonenu (ryc. 3). Związek 1-okten-3-ol, powszechnie występujący w grzybach, zwany alkoholem grzybowym, odpowiada za intensywny zapach owocników, zaś 1-oktanol jest mniej wyczuwalny i nadaje grzybom słodki owocowo-kwiatowy zapach (7, 8).

W 2011 roku grupa rosyjskich badaczy wyizolowała i określiła strukturę głównego polisacharydu występującego w owocnikach *P. betulinus* – piptoporanu I (9). Jest to rozgałęziony glukan, którego szkielet zbudowany jest z reszt  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-glukopiranozy podstawionej w pozycji C-6 przez pojedyncze reszty  $\beta$ -D-glukopiranozy. Taka struktura charakteryzuje glukany typu mieszanego, tzn. zawierające zarówno wiązania  $\alpha$ , jak i  $\beta$ . Przeprowadzając reakcję piptoporanu I z czerwienią Kongo, po raz pierwszy wykazano, że glukany typu mieszanego nie mają struktury helikalnej.

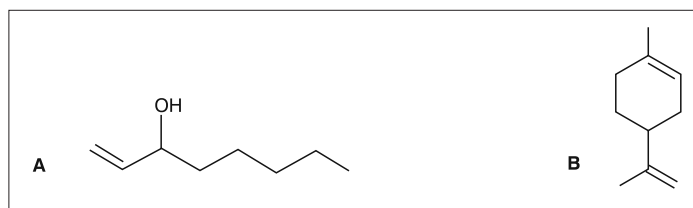
N-glikany to związki, które są przyłączone do asparaginy w motywie Asn-Xxx-Ser (Thr), gdzie Xxx jest dowolnym aminokwasem z wyjątkiem proliny. Obecnie N-glikany budzą znaczne zainteresowanie, ze względu na ich obecność w wielu biofarmaceutykach. Istnieje wiele metod strukturalnej analizy tych związków, takich jak spektroskopia masowa, HPLC, elektroforeza, jednakże nie są one precyzyjne i szybkie. N-glikany uwolnione z glikoprotein zawierają izomery, a więc wymagają wcześniejszego rozfrakcjonowania przed masową analizą spektralną. Aby uniknąć tych problemów wykorzystuje się technikę mobilności jonowej. Metoda ta opiera się na kształcie oddzielanych cząsteczek i umożliwia wytworzenie pewnego odstępu pomiędzy izomerami w milisekundowym przedziale czasowym zamiast dziesiątek minut, które są typowe dla rozdzielania w fazie ciekłej. Technika mobilnych jonów została wykorzystana do zbadania ekstraktów *P. betulinus* trawionych endoglikozydazą H. W otrzymanym widmie dominowały oligomery heksozy, prawdopodobnie  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glukany. Uwolnione N-glikany wytworzyły jony o niskiej liczebności. Oligomery heksozy oraz jony N-glikanów powstałe z ekstrakcji mają różne linie trendu – większe związki są stosunkowo dobrze rozdzielone, chociaż pewne nakładanie odbywa się



Ryc. 1. Budowa chemiczna kwasu tumulozowego.



Ryc. 2. Budowa chemiczna (S)-(-)-daucenu (A), izobazzanenu (B) i (-)- $\beta$ -barbatenu (C).



Ryc. 3. Budowa chemiczna 1-okten-3-olu (A) i limonenu (B).

w dolnej części mas. Analiza składu wykazała, że główne piki N-glikanów składają się z serii Hex5-10HexNAc2 (9).

W ekstrakcie metanolowym z owocników *P. betulinus* wyodrębniono sześć kwasów triterpenowych typu lanostanu, m.in. kwasy poliporenowe A i C (ryc. 4), a także dwie pochodne kwasu poliporenowego A (10). Podczas poszukiwań związków odpowiedzialnych za działanie przeciwzapalne i hamujące aktywność hialuronidazy w ekstrakcie etylooctanowym zidentyfikowano kolejne triterpeny pochodne lanostanu: kwas 3 $\alpha$ -acetylo-poliporenowy A oraz kwas (25S)-(+)-12 $\alpha$ -hydroksy-3 $\alpha$ -metylokarboksyacetylo-24-metylolanosta-8,24(31)-dien-26-owy (11).

Innym związkiem o udowodnionym działaniu biologicznym zidentyfikowanym w ekstrakcie z *P. betulinus* jest (E)-2-(4-hydroksy-3-metylo-2-butenylo)-hydrochinon (ryc. 5) (12).

Wynikiem badań przesiewowych, mających na celu poszukiwanie nowych metabolitów wśród gatunków z gromady *Basidiomycota* o potencjalnym działaniu antybiotycznym, było oznaczenie w 2000 roku piptaminy (N-benzyl-N-metylopentadecano-1-amina). Wyizolowana ona została z hodowli głębinowej *P. betulinus* Lu 9-1 (13). Przegląd związków chemicznych występujących w owocnikach *P. betulinus* zestawiono w tabeli 1.

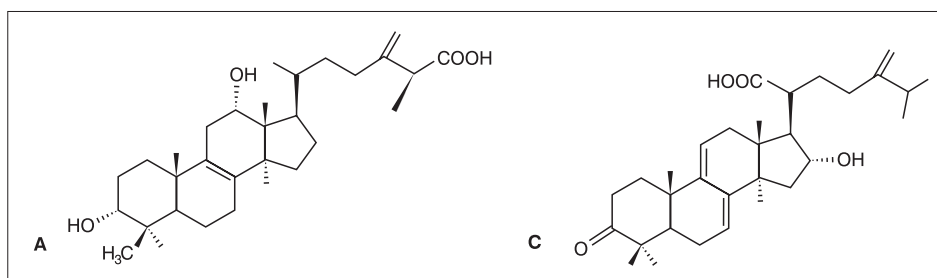
### Działanie biologiczne wyciągów i związków wyizolowanych z owocników *Piptoporus betulinus*

Najstarszym dowodem wykorzystania działania biologicznego białoporka przez człowieka jest odnalezienie owocników przy szczątkach człowieka lodu – Ötzi, żyjącego 5300 lat temu. Jak można przypuszczać, były używane w celach leczniczych (14, 15).

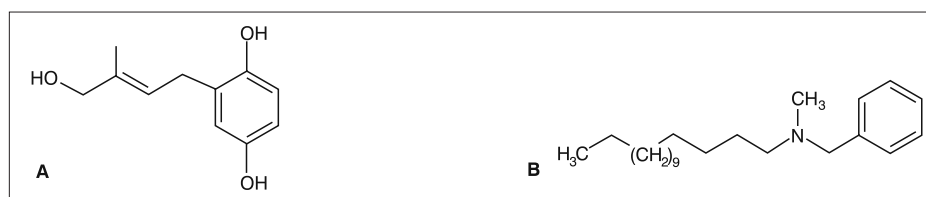
W medycynie ludowej od dawna wykorzystywano właściwości lecznicze tego gatunku. Powszechnie znano napary z owocników, które miały działać wzmacniająco czy kojąco. Stosowany był też (m.in. w Czechach) jako środek przeciwbakteryjny, przeciw pasożytniczy, przeczyszczający, przyspieszający gojenie ran, a także wspomagający leczenie raka odbytnicy i chorób żołądka.

Znane są przypadki spalania fragmentów owocników na ciele chorego, w miejscu dolegliwości, aby w ten sposób usmierzać ból zębów i głowy, leczyć złamania, reumatyzm czy zapalenie płuc (5). Większość opisanych powyżej potencjalnych aktywności biologicznych została potwierdzona naukowo.

W 2009 roku zespół polskich naukowców podjął się oceny aktywności przeciwnowotworowej frakcji (m.in. heksanowej, metanolowej i innych) izo-



Ryc. 4. Budowa chemiczna kwasu poliporenowego A i kwasu poliporenowego C.



Ryc. 5. Budowa chemiczna pochodnej hydrochinonu (A) i piptaminy (B) wyizolowanych z *P. betulinus*.

**Tabela 1.** Przegląd związków chemicznych występujących w owocnikach *Piptoporus betulinus*.

Grupa związków	Zidentyfikowane związki	Piśmiennictwo
Związki terpenowe	<ul style="list-style-type: none"> <li>- kwas poliporenowy A, B, C</li> <li>- kwas (25S)-(+)-12<math>\alpha</math>-hydroksy-3<math>\alpha</math>-malonyloksy-24-metylostanosta-8,24(31)-dien-26-owy</li> <li>- kwas (25S,3'S)-(+)-12<math>\alpha</math>-hydroksy-3<math>\alpha</math>-(3'-hydroksy-3'-metyloglutaryloksy)-24-metylostanosta-8,24(31)-dien-26-owy</li> <li>- kwas 3<math>\alpha</math>-acetylopoliporenowy A</li> <li>- kwas (25S)-(+)-12<math>\alpha</math>-hydroksy-3<math>\alpha</math>-metylokarboksyacetylo-24-metylostanosta-8,24(31)-dien-26-owy</li> <li>- kwas tumulozowy</li> <li>- linalol</li> <li>- <math>\alpha</math>-terpineol</li> <li>- <math>\alpha</math>-pinen</li> <li>- <math>\Delta</math>-3-karen</li> <li>- pentalenen</li> <li>- <math>\alpha</math>-kubeben</li> <li>- (S)-(-)-daucen</li> <li>- <math>\beta</math>-kubeben</li> <li>- <math>\beta</math>-elemen</li> <li>- tujopsen</li> <li>- (+)-<math>\alpha</math>-barbaten</li> <li>- izobazzanen</li> <li>- (-)-<math>\beta</math>-barbaten</li> <li>- kadina-1(6),4-dien</li> <li>- <math>\beta</math>-chamigren</li> <li>- selina-4,11-dien</li> <li>- <math>\alpha</math>-kuprenen</li> <li>- <math>\alpha</math>-chamigren</li> <li>- <math>\delta</math>-kadinen</li> <li>- <math>\beta</math>-bazzanen</li> <li>- cyklobazzanen</li> <li>- (R)-trans-nerolidol</li> <li>- t-kadinol</li> <li>- 1-epi-kubenol</li> <li>- limonen</li> </ul>	(6, 8, 10, 11, 15, 17)
Sterole	<ul style="list-style-type: none"> <li>- neosterol</li> <li>- fitosterol</li> <li>- ergosta-7,22-dien-3-<math>\beta</math>-ol</li> <li>- fungisterol</li> <li>- ergosterol</li> </ul>	(15, 17)
Kwasy tłuszczowe	<ul style="list-style-type: none"> <li>- kwas palmitynowy</li> <li>- kwas stearynowy</li> <li>- kwas oleinowy</li> <li>- kwas linolowy</li> </ul>	(4, 17)
Alkohole, ketony i aldehydy alifatyczne	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1-okten-3-ol</li> <li>- 1-oktanol</li> <li>- 3 heptanon</li> <li>- 3-oktanol</li> <li>- (Z)-1,5-oktadien-3-ol</li> <li>- 3-oktanon</li> <li>- (Z)-2-okten-1-ol</li> </ul>	(6, 7)
Węglowodany	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <math>\alpha</math>-(1<math>\rightarrow</math>3)-D-glukany</li> <li>- mannitol</li> <li>- trehaloza</li> <li>- piptoporan I</li> </ul>	(3, 4, 9)
Witaminy, karotenoidy	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <math>\alpha</math>- tokoferol</li> <li>- <math>\beta</math>- tokoferol</li> <li>- <math>\gamma</math>- tokoferol</li> <li>- <math>\delta</math>- tokoferol</li> <li>- kwas askorbinowy</li> <li>- <math>\beta</math>-karoten</li> <li>- likopen</li> </ul>	(4)
Inne	<ul style="list-style-type: none"> <li>- (E)-2-(4-hydroksy-3-metylo-2-butenylo)-hydrochinon</li> <li>- piptamina</li> <li>- związki fenolowe</li> <li>- flawonoidy</li> </ul>	(4, 12, 13, 24)

lowanych z wysuszonych owocników w testach *in vitro*, m.in. wobec ludzkich komórek raka płuc (A549) i gruczolakoraka okrężnicy (HT-29). Co niezwykle istotne, w przypadku potencjalnych substancji przeciwnowotworowych, nie wykazano toksycznego działania frakcji w stosunku do zdrowych komórek (16).

Inne badania miały na celu określenie aktywności cytotoksycznej eterowego ekstraktu z *P. betulinus* wobec hodowli ludzkich komórek nowotworowych. Ekstrakt eterowy charakteryzował się silną aktywnością cytotoksyczną w stosunku do wszystkich badanych rodzajów ludzkich komórek nowotworowych (w tym komórek raka tarczycy FTC238, neuroblastomy SK-N-AS, komórek raka piersi T47D, komórek raka krtani Hep-2 oraz komórek raka szyjki macicy HeLa) i nawet najmniejsza z zastosowanych dawek (1 mg/ml) powodowała istotny statystycznie, w stosunku do kontroli, spadek żywotności komórek, proporcjonalny do zastosowanej dawki. Wynikiem powyższego badania *in vitro* było potwierdzenie antyproliferacyjnego działania ekstraktu na ludzkie komórki nowotworowe, związanego z blokowaniem cyklu komórkowego w fazie S (17). Również wyciągi wodne z owocników *P. betulinus* wykazują działanie immunomodulujące i przeciwnowotworowe, co potwierdzono w testach *in vitro* i *in vivo*. Jednakże ekstrakt zasadowy miał większą aktywność przeciwnowotworową wobec mięsaka 180 myszy, niż ekstrakt wodny (18).

Cykliczne triterpeny wyizolowane z *P. betulinus* hamowały z kolei wzrost złośliwych komórek nowotworowych. Wyizolowane z owocników polisacharydy o strukturze  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glukanu poddane zostały testom MTT i NR, które miały na celu ocenę ich aktywności cytotoksycznej. Do badania zostały użyte karboksymetylowe pochodne  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glukanów. Wykazano, że nie hamowały one w istotny sposób metabolizmu prawidłowych komórek, miały zaś znaczną aktywność hamowania metabolizmu nowotworowych linii komórkowych HeLa (3).

Wyciągi metanolowe i chloroformowe otrzymane z *P. betulinus* charakteryzowały się najwyższą aktywnością spośród badanych 10 gatunków grzybów nadrzewnych wobec zastosowanych w badaniu 18 szczepów bakterii, m.in. *Bacillus* sp., *Rhodococcus equi* i *Staphylococcus aureus*, które wykazują coraz większą oporność na większość stosowanych dziś antybiotyków (19). W innym badaniu stwierdzono, że wyciągi z *P. betulinus* hamują wzrost następujących drobnoustrojów chorobotwórczych: *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Mycobacterium smegmatis* i *Aspergillus fumigatus* (20). Dowiedzono również, że metanolowe i dichlorometanowe wyciągi z owocników

wykazują działanie przeciwbakteryjne wobec *Bacillus subtilis* i *Escherichia coli*. Ekstrakt dichlorometanowy dodatkowo wykazywał działanie mięczakobójcze wobec *Biomphalaria glabrata*, który jest nosicielem i żywicielem pośrednim dla pasożyticznej przywry *Schistosoma mansoni* wywołującej u ludzi schistosomatozę, która jest, obok malarii, najpoważniejszym w skali światowej parazytologicznym problemem zdrowotnym (21).

W badaniach na zwierzętach dowiedziono przeciwbakteryjnego i przeciwzapalnego działania kwasu polipirenowego A. Charakteryzuje się on wysoką aktywnością przeciwbakteryjną wobec szczepów *Mycobacterium* sp., a także hamuje wzrost *Bacterium racemosum*, *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* (15). Wyizolowana w 2000 roku z hodowli głębinowej *P. betulinus* Lu 9-1 piptamina wykazuje aktywność przeciwbakteryjną wobec bakterii Gram-dodatnich, a także wywołuje działanie przeciwdrobnoustrojowe wobec *Candida albicans* i innych grzybów. Najwyższą skuteczność wykazuje wobec *Staphylococcus aureus* (MIC = 0,78  $\mu$ g/ml) i *Enterococcus faecalis* (MIC = 1,56  $\mu$ g/ml). Ponadto hamuje wzrost *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Kluyveromyces marxianus* i *Sporobolomyces salmonicolor* (13).

W 2002 roku zbadano ekstrakty otrzymane z 22 gatunków grzybów podstawkowych w kierunku ich działania przeciwzapalnego. Ekstrakt z *P. betulinus* hamował *in vitro* wiązanie lipopolisacharydu (LPS) z receptorem CD14. Może on być dobrym źródłem pozyskiwania struktur wiodących dla leków przeciwko wstrząsowi septycznemu wywołwanemu przez tę endotoksynę, a także leków przeciwzapalnych (22).

Ekstrakt etanolowo-octanowy z owocników *P. betulinus* wykazywał w badaniach przesiewowych silne właściwości przeciwzapalne, nieco mniej nasilone właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Wyizolowane z owocników pochodne triterpenowe silnie hamowały aktywność 3 $\alpha$ -dehydrogenazy hydroksysteroidowej, nieco słabiej zaś aktywność cyklooksygenazy-1. Pochodne triterpenowe są obiecującymi środkami przeciwzapalnymi. Dwa związki wykazywały aktywność silniejszą (odpowiednio IC<sub>50</sub> = 4,0  $\mu$ g/ml; IC<sub>50</sub> = 5,5  $\mu$ g/ml) od indometacyny (IC<sub>50</sub> = 6,5  $\mu$ g/ml). Okazały się one także silnymi inhibitorami hialuronidazy. Wykazywały selektywne działanie na bakteryjne hialuronidazy, nie były zaś aktywne w stosunku do hialuronidaz ssaków (11). Badano również wyizolowane związki terpenowe pod kątem ich aktywności przeciwzapalnej. Wszystkie wyizolowane pochodne lanostanu miały działanie przeciwzapalne, hamowały obrzęk w 49-86% (10).

Ekstrakt z owocników *P. betulinus* wykazuje także działanie hamujące w stosunku do metaloproteinaz. Związkami odpowiedzialnymi za tę aktywność jest

(E)-2-(4-hydroksy-3-metylo-2-butenylo)-hydrochinon, a także kwas poliporenowy C, którego aktywność hamująca w stosunku do MPP-1 została potwierdzona przez Kawagishi i wsp. (12). Wyzolowana pochodna hydrochinonu wykazywała większą aktywność w porównaniu z kwasem poliporenowym C. Badania na zwierzętach wykazały, że inhibitory MMP stosowane we wczesnych stadiach zaawansowania choroby nowotworowej, łącznie z konwencjonalnymi metodami leczenia lub jako uzupełniające leczenie pooperacyjne, zapobiegają powstawaniu mikroprzerzutów, prowadzących do rozsiewu i nawrotu choroby (12).

Wyciągi z owocników omawianego grzyba wykazują aktywność przeciwutleniającą, co potwierdzono w teście DPPH ( $EC_{50} = 8,97 \pm 0,09$  mg/ml), a także metodą hamowania autoutleniania  $\beta$ -karotenu w układzie  $\beta$ -karoten–kwas linolowy ( $EC_{50} = 1,97$  mg/ml). Ponadto stosunkowo wysoka zawartość przeciwutleniaczy, tj. polifenoli, flawonoidów, tokoferoli, kwasu askorbinowego i karotenoidów, świadczy o możliwości potencjalnego wykorzystywania owocników grzyba w profilaktyce chorób wywołanych stresem oksydacyjnym (4, 23).

Wyciągi etanolowe z owocników *P. betulinus* wykazują zdolność hamowania aktywności acetylocholinesterazy – enzymu mającego znaczenie w terapii choroby Alzheimera. Ta właściwość wyciągu, a także silna aktywność przeciwutleniająca potwierdzona w teście DPPH wskazują na możliwość potencjalnego wykorzystania właściwości *P. betulinus* w terapii tej choroby neurodegeneracyjnej (24).

Przeprowadzone zostały również badania, w których stwierdzono, że *P. betulinus* wykazuje istotną aktywność w zapobieganiu wystąpienia poliomielitis u myszy i małp. Ponadto RNA wyizolowane z owocników ma działanie przeciwvirusowe i może stanowić źródło induktora interferonu, co zaobserwowali polscy naukowcy w badaniach prowadzonych na myszach (25-27).

Właściwości przeciwnowotworowe ekstraktów z *P. betulinus* zależą również od użytego rozpuszczalnika, co potwierdzono w badaniu eterowych i etanolowych ekstraktów hodowli *in vitro* tego gatunku. Oba wyciągi hamują (w zależności od dawki) wzrost komórek gruczolakoraka jelita grubego i znacząco obniżają żywotność tych komórek. Ekstrakt etanolowy powoduje spadek liczby komórek nowotworowych o 50% w stężeniu 50  $\mu$ g/ml i o 52% w stężeniu 100  $\mu$ g/ml. Natomiast wyciąg eterowy powoduje spadek żywotności komórek nowotworowych o około 60% (stężenie 50  $\mu$ g/ml) i o 84% (stężenie 100  $\mu$ g/ml). Zaobserwowano również zmniejszenie adhezji komórek nowotworowych pod wpływem działania tych

ekstraktów. Wykorzystując fiolet krystaliczny, po 24 godz. zauważono spadek liczby komórek nowotworowych o 35-40%, zarówno w ekstrakcie etanolowym, jak i eterowym (oba w stężeniu 100  $\mu$ g/ml). Analiza MTT wykazała natomiast, w tych samych warunkach, spadek żywotności komórek nowotworowych o 55-65%. Można wywnioskować, iż oba ekstrakty w wysokim stopniu zmieniają metabolizm komórki, hamują adhezję komórek do podłoża i tym samym zmniejszają ich liczbę. Wyciągi te jednakże nie wpływają znacząco na proliferację komórek nowotworowych – ekstrakt etanolowy hamuje nieznacznie syntezę DNA przy stężeniu 50-100  $\mu$ g/ml, a eterowy przy 10-100  $\mu$ g/ml. Etanolowe i eterowe ekstrakty przygotowane z hodowli *in vitro* grzybnia *P. betulinus* skutecznie zmniejszają liczbę komórek nowotworowych okrężnicy, jednakże powodują też cytelizę zdrowych komórek nabłonka jelita grubego – ekstrakt etanolowy w stężeniu 50  $\mu$ g/ml, a eterowy w stężeniu 100  $\mu$ g/ml (28).

Działanie biologiczne ekstraktów i związków wyizolowanych z owocników *P. betulinus* zestawiono w tabeli 2.

#### Piśmiennictwo

- Gumińska B, Wojewoda W. Grzyby i ich oznaczanie. PWRiL, Warszawa 1988.
- Needham W. Fungus Notebook. Potomac Sporophore 2010; 25:6.
- Wiater A, Paduch R, Pleszczyńska M i wsp. Alpha-(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucans from fruiting bodies of selected macromycetes fungi and the biological activity of their carboxymethylated products. Biotechnol Lett 2011; 33:787-95.
- Reis FS, Pereira E, Barros L i wsp. Biomolecule profiles in inedible wild mushrooms with antioxidant value. Molecules 2011; 16:4328-38.
- Poder R. The Ice Man's fungi: Facts and mysteries. Int J Med Mushrooms 2005; 7:357-9.
- Rosecke J, Pietsch M, König WA. Volatile constituents of wood-rotting basidiomycetes. Phytochem 2000; 54:747-50.
- Rapier S, Cavalieri S, Andary, C i wsp. Investigation of some volatile components of seven fresh wild mushrooms (*Basidiomycetes*). J Essent Oil Res 1996; 8:199-201.
- Breheret S, Talou T, Rapier S i wsp. Monoterpenes in the aromas of fresh wild mushrooms (*Basidiomycetes*). J Agric Food Chem 1997; 45:831-6.
- Olenikov DN, Agafonova SV, Rokhin AV i wsp. Branched glucan from the bodies of *Piptoporus betulinus* (Bull.:Fr.) Karst. Prikl Biokhim Mikrobiol 2012; 48:74-80.
- Kamo T, Asanoma M, Shibata H i wsp. Anti-inflammatory lanostane-type triterpene acids from *Piptoporus betulinus*. J Nat Prod 2003; 66:1104-6.
- Wangun HV, Berg A, Hertel W i wsp. Anti-inflammatory and anti-hyaluronate lyase activities of lanostanoids from *Piptoporus betulinus*. J Antibiot 2004; 57:755-8.
- Kawagishi H, Hamajima K, Inoue Y i wsp. Novel hydroquinone as a matrix metallo-proteinase inhibitor from the mushroom, *Piptoporus betulinus*. Biosci Biotechnol Biochem 2002; 66:2748-50.
- Schlegel B, Luhmann U, Hartl A i wsp. Piptamine, a new antibiotic produced by *Piptoporus betulinus* Lu 9-1. J Antib 2000; 53:973-4.
- Capasso L. 5300 years ago, The Ice Man used natural laxatives and antibiotics. Lancet 1998; 352:1864.
- Peintner U, Pöder R, Pümpel T. The ice-man's fungi. Mycol Res 1998; 102:1153-62.
- Lemieszek MK, Langer E, Kaczor J i wsp. Anticancer effect of fraction isolated from medicinal birch polypore mushroom, *Piptoporus betulinus* (Bull.: Fr.) P. Karst. (*Aphyllphoromycetidae*): *In vitro* studies. Int

**Tabela 2.** Działanie biologiczne ekstraktów i związków wyizolowanych z owocników *Piptoporus betulinus*.

Działanie biologiczne	Związek chemiczny odpowiedzialny za aktywność biologiczną	Piśmiennictwo
Przeciwnowotworowe, cytotoksyczne	– cykliczne triterpeny	(16-18)
Immunomodulujące	– ekstrakty	(18)
Przeciwzapalne	– kwas (25S)-(+)-12 $\alpha$ -hydroksy-3 $\alpha$ -metylokarboksycetylo-24-metylolanosta-8,24(31)-dieno-26-owy – kwas (25S,3'S)-(+)-12 $\alpha$ -hydroksy-3 $\alpha$ -(3'-hydroksy-4'-metoksykarbonylo-3'-metylobutyryloksy)-24-metylolanosta-8,24(31)-dien-26-owy – kwas poliporenowy A	(10, 11, 22)
Przeciwbakteryjne i przeciwgrzybiczne (bakterie Gram-dodatnie, grzyby drożdżoidalne) <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Candida albicans</i> <i>Sporobolomyces salmonicolor</i> <i>Bacterium racemosum</i> <i>Bacillus coli</i> <i>Rhodococcus equi</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>	– piptamina – związki triterpenowe (kwas poliporenowy A i C)	(13, 19-21)
Hamowanie aktywności metaloproteinazy	– kwas poliporenowy C – (E)-2-(4-hydroksy-3-metylo-2-butenylo)-hydrochinon	(12)
Przeciwutleniające	– związki fenolowe – flawonoidy – tokoferole – kwas askorbinowy – $\beta$ -karoten – likopen	(4, 21, 23, 24)

J Med Mushrooms 2009; 11:351-64. **17.** Kaczor J, Klecha IM, Rzeski W i wsp. Extract from *Piptoporus betulinus* Bull. Fr. suppress human tumor cell growth. Post Fitoter 2004; 2:62-6. **18.** Shamtshyan M, Konusova V, Maksimova Y i wsp. Immunomodulating and anti-tumor action of extracts of several mushrooms. J Biotech 2004; 113:77-83. **19.** Karaman M, Mimica-Dukic N, Knezevic P i wsp. Antibacterial properties of selected lignicolous mushrooms and fungi from Northern Serbia. Int J Med Mushrooms 2009; 11:269-79. **20.** Suay I, Arenal F, Asensio FJ i wsp. Screening of *Basidiomycetes* for antimicrobial activities. Antonie Leeuwenhoek 2000; 78:129-39. **21.** Keller C, Maillard M, Keller J i wsp. Screening of European fungi for antibacterial, antifungal, larvicidal, molluscicidal, antioxidant and free-radical scavenging activities and subsequent isolation of bioactive compounds. Pharma Biol 2002; 40:518-25. **22.** Koch K, Witt S, Lindequist U. The influence of selected higher *Basidiomycetes* on the binding of lipopolysaccharide to CD14+ cells and on the release of cytokines. Int J Med Mushrooms 2002; 4:229-35. **23.** Sułkowska-Ziaja K, Mu-

szyńska B, Motyl P i wsp. Phenolic compounds and antioxidant activity in some species of polypore mushrooms from Poland. Int J Med Mushrooms 2012; 14:385-93. **24.** Orhan I, Üstün O. Determination of total phenol content, antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibition in selected mushrooms from Turkey. J Food Comp Anal 2011; 24:386-90. **25.** Kandefer-Szerszen M, Kawecki Z. Ether extracts from the fruiting body of *Piptoporus betulinus* as interference inducers. Acta Microbiol Pol 1974; 6: 197-200. **26.** Kandefer-Szerszen M, Kawecki Z, Guz M. Fungal nucleic acids as interferon inducers. Acta Microbiol Pol 1979; 28:277-91. **27.** Kandefer-Szerszen M, Karpinska T, Kawecki Z. The influence of inhibitors of cellular synthesis and UV irradiation on interferon induction by RNA from *Piptoporus betulinus*. Arch Immunol Ther Exp 1982; 30:25-31. **28.** Cyranka M, Graz M, Kaczor J i wsp. Investigation of antiproliferative effect of ether and ethanol extracts of birch polypore medicinal mushroom, *Piptoporus betulinus* (Bull.: Fr.) P. Karst. (higher *Basidiomycetes*) in vitro grown mycelium. Int J Med Mushrooms 2011; 13:525-33.

otrzymano/received: 20.05.2015  
zaakceptowano/accepted: 01.06.2015

Adres/address:  
\*dr Katarzyna Sułkowska-Ziaja  
Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej,  
Wydział Farmaceutyczny,  
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum  
ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków  
tel. +48 (12) 620-54-33  
e-mail: katarzyna.sulkowska-ziaja@uj.edu.pl