

\*Marcin Szymański<sup>1</sup>, Marta Kolendowicz<sup>1</sup>, Arkadiusz Szymański<sup>2</sup>

## Skład chemiczny i aktywność biologiczna *Laetiporus sulphureus* (Bull.)

### Chemical composition and biological activity of *Laetiporus sulphureus* (Bull.)

<sup>1</sup>Centrum Zaawansowanych Technologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu  
Dyrektor Centrum: prof. dr hab. n. chem. Bronisław Marciniak

<sup>2</sup>Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu  
Dziekan Wydziału: prof. dr hab. n. chem. Maciej Kubicki

---

#### SUMMARY

*Laetiporus sulphureus* is a species of fungus commonly found all over the world. Its fruiting bodies are most often found on deciduous trees and very rarely on conifers. It is a dangerous pathogenic fungus that causes the death of infected trees. The fruiting bodies of the fungus contain, among others: polysaccharides, lectins, polysaccharide-protein complexes, lipids, triterpenes and phenolic compounds that exhibit antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, anti-tumor, immunomodulating and hypoglycemic properties.

**Keywords:** *Laetiporus sulphureus*, chemical composition, biological activity

---

#### STRESZCZENIE

*Laetiporus sulphureus* jest gatunkiem grzyba powszechnie obecnym na całym świecie. Jego owocniki występują najczęściej na drzewach liściastych, a bardzo rzadko na drzewach iglastych. Jest groźnym grzybem chorobotwórczym, powodującym obumieranie zarażonych drzew. W owocnikach grzyba występują m.in.: polisacharydy, lektyny, kompleksy polisacharydowo-białkowe, lipidy, triterpeny oraz związki fenolowe, które wykazują działanie: przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, immunomodulujące i hipoglikemizujące.

**Słowa kluczowe:** *Laetiporus sulphureus*, skład chemiczny, aktywność biologiczna

---

### Wstęp

Grzyby są organizmami wszędobylskimi. Ich owocniki można znaleźć głównie na łąkach, ale spotyka się je również w wodach słodkich i stonych. Najpopularniejsze są grzyby leśne rosnące w glebie i spróchniałym drewnie. Grzyby nadrzewne oraz nadrewnowe (poliporoidalne) często są oceniane jako szkodliwe ze względu na straty, jakie wywołują w leśnictwie, sadownictwie i budownictwie. Coraz częściej jednak docenia się ich rolę w regulacji ekosystemu – pełnią funkcję saprofitów rozkładających martwą materię i uwalniających pierwiastki do obiegu w przyrodzie. Należy również zaznaczyć, że grzyby były bardzo ważne w różnych kulturach – człowiek podpatrując przyrodę, uczył się, jak je rozpoznawać i użytkować. Huby włączono w system wierzeń oraz obrzędów religijnych (np. *Fomitopsis*

*officinalis* – pniarek lekarski wykorzystywany był przez północnoamerykańskich Indian do produkcji świętych figurek), ponadto wykorzystywano owocniki do rozniecania ognia (poprzez łapanie iskry w łatwopalny miąższ owocników) czy produkcji ubrań (miąższ hubiaka pospolitego *Fomes fomentarius* służył do otrzymywania materiału przypominającego zamsz – amadou). Mimo iż te zastosowania zostały w dzisiejszych czasach zastąpione nowoczesnymi technologiami, to owocniki dziko rosnących gatunków grzybów nadal są wykorzystywane jako źródło pożywienia, a prowadzone przez ostatnie dekady badania wykazały, że są one bogate w liczne związki biologicznie aktywne. Zidentyfikowane w nich substancje o zróżnicowanej budowie chemicznej, takie jak: węglowodany, lektyny, kwasy tłuszczowe, lipidy, triterpeny, seskwiterpeny, fenolokwasy

oraz flawonoidy, posiadają właściwości lecznicze (1). Wiele gatunków grzybów ma udowodnione działania farmakologiczne: przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwcukrzycowe, immunomodulujące i inne.

Młode owocniki żółciaka siarkowego (*Laetiporus sulphureus*) są jadalne i stanowią dodatek do zdrowej i zbilansowanej diety.

### Systematyka i polskie nazwy synonimiczne

Żółciak siarkowy należy do gromady podstawczaków (*Basidiomycota*), podgromady *Agaricomycotina*, rzędu żagwiowców (*Polyporales*) i rodziny pniarkowatych (*Fomitopsidaceae*) (2). W polskim piśmiennictwie mykologicznym można znaleźć nazwy synonimiczne, takie jak: huba żółta, żagiew Rostafińskiego, żagiew topolowa, grzyb siarkowy, huba siarkowa i żółciak siarkowy.

## Skład chemiczny

### Polisacharydy

Owocniki *Laetiporus sulphureus* są bogatym źródłem  $\alpha$ -(1,3)-D-glukanów, które stanowią 88% ich ściany komórkowej, gdy w innych grzybach zawartość ta waha się od 9 do 46% (3).

Wyizolowano i scharakteryzowano przy wykorzystaniu:  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$  oraz  $^{13}\text{HSQC}$  NMR, analizy metylacji oraz degradacji Smitha, dwa główne polisacharydy: laminarynę, po trzygodzinnej ekstrakcji wodą owocników w temp.  $100^\circ\text{C}$ , i fukomannogalakтан, poprzez wytrącenie z wykorzystaniem roztworu Fehlinga. Główny łańcuch fukomannogalakтанu składał się z połączonych wiązaniami (1 $\rightarrow$ 6) reszt  $\alpha$ -D-galaktopyranozyli, z których część była podstawiona przy O-2 przez 3-O-D-mannopyranozyl-L-fukopyranozyl,  $\alpha$ -D-mannopyranozyl oraz w mniejszym stopniu przez  $\alpha$ -L-fukopyranozyl. Mimo iż ten heteropolisacharyd jest zbliżony do występujących u podstawczaków heterogalakтанów, to różni się on strukturą łańcuchów bocznych. Podczas gdy pojedyncze jednostki L-fukopyranozyli czy reszty 3-O- $\alpha$ -mannopyranozyl-L-fukopyranozyli można spotkać również w łańcuchach bocznych innych heterogalakтанów, to  $\alpha$ -D-mannopyranozyl jest obecny tylko w fukomannogalakтанie wyizolowanym z żółciaka siarkowego (4).

### Lektyny

Hemaglutynująca i hemolityczna lektyna została wyizolowana z owocników za pomocą chromatografii powinowactwa na żelu Sepharose 4B. Kolumnę zrównoważono przy użyciu soli fizjologicznej zbuforowanej fosforanem (PBS), następnie załadowano

próbkę i przemywano PBS, aż absorbancja UV przy 280 nm spadła poniżej 0,01. Związaną lektynę eluowano z buforu za pomocą 4% roztworu laktozy. Masę cząsteczkową (około 190 tys.) określono, korzystając z filtracji żelowej oraz elektroforezy w warunkach niedenaturujących. Okazało się, że lektyna ma strukturę tetrametryczną i składa się z dwóch różnych typów podjednostek o masie około 60 tys. oraz 36 tys. Test inhibicji haptenu wykazał, że wyizolowana z *Laetiporus sulphureus* lektyna jest specyficzna dla reszt N-acetylolaktozaminowych (5).

Badacze kontynuujący pracę nad tą lektyną nazwali ją LSL – *Laetiporus sulphureus* lectin i potwierdzili, że jest ona tetramerem, zbudowanym z jednostek o masie około 35 kDa połączonych wiązaniami niekowalencyjnymi. Zarówno natywne, jak i rekombinowane formy LSL wykazywały aktywność hemolityczną oraz zdolność do hemaglutynacji i obie te właściwości zostały zahamowane przez N-acetylolaktozaminę. Dodatkowo, delecja w obrębie C-końca spowodowała zachowanie zdolności lektyny do hemaglutynacji, ale nie do hemolizy, co sugeruje, że N-końcowa domena jest odpowiedzialna za rozpoznawanie węglowodanów, a C-końcowa funkcjonuje jako domena oligomeryzująca (6).

### Kompleksy polisacharydowo-białkowe

Kompleks polisacharydowo-proteinowy (PPF) obecny w *Laetiporus sulphureus* składał się w 84% z polisacharydów i w zaledwie 5% z protein. Przeprowadzono również analizę składu aminokwasowego PPF, a z wykrycia amoniaku wnioskowano, że asparagina oraz glutamina występowały częściowo w postaci kwasu asparaginowego oraz kwasu glutaminowego. Analiza monosacharydów wykazała, iż największy udział kompleksu stanowiła fukoza (94,5%), zawartość pozostałych cukrów: glukozy i galaktozy wyniosła odpowiednio 3,2 i 2,3% (7).

### Lipidy i kwasy tłuszczowe

Sinanoglou i wsp. zbadali zawartość lipidów oraz kwasów tłuszczowych owocników *Laetiporus sulphureus*, korzystając z różnych rozpuszczalników (chloroformu i n-heksanu) oraz metod ekstrakcji (ultradźwiękowej i wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym). Rozdział lipidów neutralnych (NL) oraz polarnych (PL) przeprowadzono za pomocą TLC-FID. NL dominowały we wszystkich ekstraktach i składały się głównie z triglicerydów oraz steroli, wśród PL przeważały fosfatydylocholino i fosfatydyloetanoloaminy.

W owocnikach *Laetiporus sulphureus* wykazano obecność 31 kwasów tłuszczowych: nasyconych (SFA) –

dominował kwas palmitynowy (C16:0); jednonienasyconych (MUFA) – kwas oleinowy (C18:1 $\omega$ -9) oraz wielonienasyconych (PUFA) – kwas linolowy (C18:2 $\omega$ -6). Biorąc pod uwagę sumę wszystkich kwasów tłuszczowych, PUFA stanowiły większość, a najmniej było MUFA. Łączna zawartość kwasów nienasyconych stanowiła od 77,74 do 79,36% w zależności od rozpuszczalnika oraz metody ekstrakcji, a stosunek kwasów nienasyconych do nasyconych wyniósł od 3,74 do 3,84. Badania wskazują, że zamiana SFA na MUFA oraz PUFA w diecie może zmniejszyć ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, przez co wysoka wartość wskaźników MUFA: SFA ( $\geq 0,78$ ) oraz PUFA: SFA ( $\geq 2,70$ ) czyni *Laetiporus sulphureus* wartościowym składnikiem zdrowej diety (8).

### Triterpeny

Wśród metabolitów wtórnych syntetyzowanych w żółciaku siarkowym większość (ok. 75%) stanowią triterpenoidy, głównie typu lanostanu (zawierają zazwyczaj 30 atomów węgla oraz posiadają charakterystyczny tetracykliczny szkielet) o charakterze kwasów, estrów, laktonów, alkoholi, eterów, nadtlenków, aldehydów, ketonów czy glukozydów (3).

W wyniku rozdziału etanolowego ekstraktu z wykorzystaniem chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym i eluowania heksanem, mieszaniną heksanu i octanu etylu (8:2, 7:3, 6:4, 1:1; v/v), samym octanem etylu oraz mieszaniną octanu etylu i metanolu (8:2, v/v) otrzymano szereg frakcji. Frakcje oczyszczano na kolumnie ze złożem Sephadex LH-20 (2,570 cm, 150 g) oraz za pomocą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej. Wyizolowano pięć wcześniej znanych triterpenów: kwas eburikowy, sulfurenowy, acetyloburikowy, acetylotrametenolowy oraz 15 $\alpha$ -hydroksytriametenolowy, a także nowy triterpen typu lanostanu: kwas 3-oksylsulfurenowy (9).

### Związki fenolowe

Oznaczono sumę związków polifenolowych w wyciągach: wodnym, metanolo-wodnym i metanolo-wym w trzech owocnikach zebranych w puszczy Zielonce oraz lasach okolic Witnicy. Najwyższą zawartość stwierdzono w wyciągach wodnych (0,49-0,88% w przeliczeniu na kwas kawowy), następnie metanolo-wodnych (0,46-0,63%), a najniższą w metanolo-wych (0,07-0,22%) (10).

Oleńnik i wsp. jako pierwsi wyizolowali z różnych frakcji 70% etanolowego wyciągu z owocników *Laetiporus sulphureus* związki fenolowe. W trakcie badań otrzymali frakcję: heksanową (LF-1), chloroformową (LF-2), octanu etylu (LF-3),

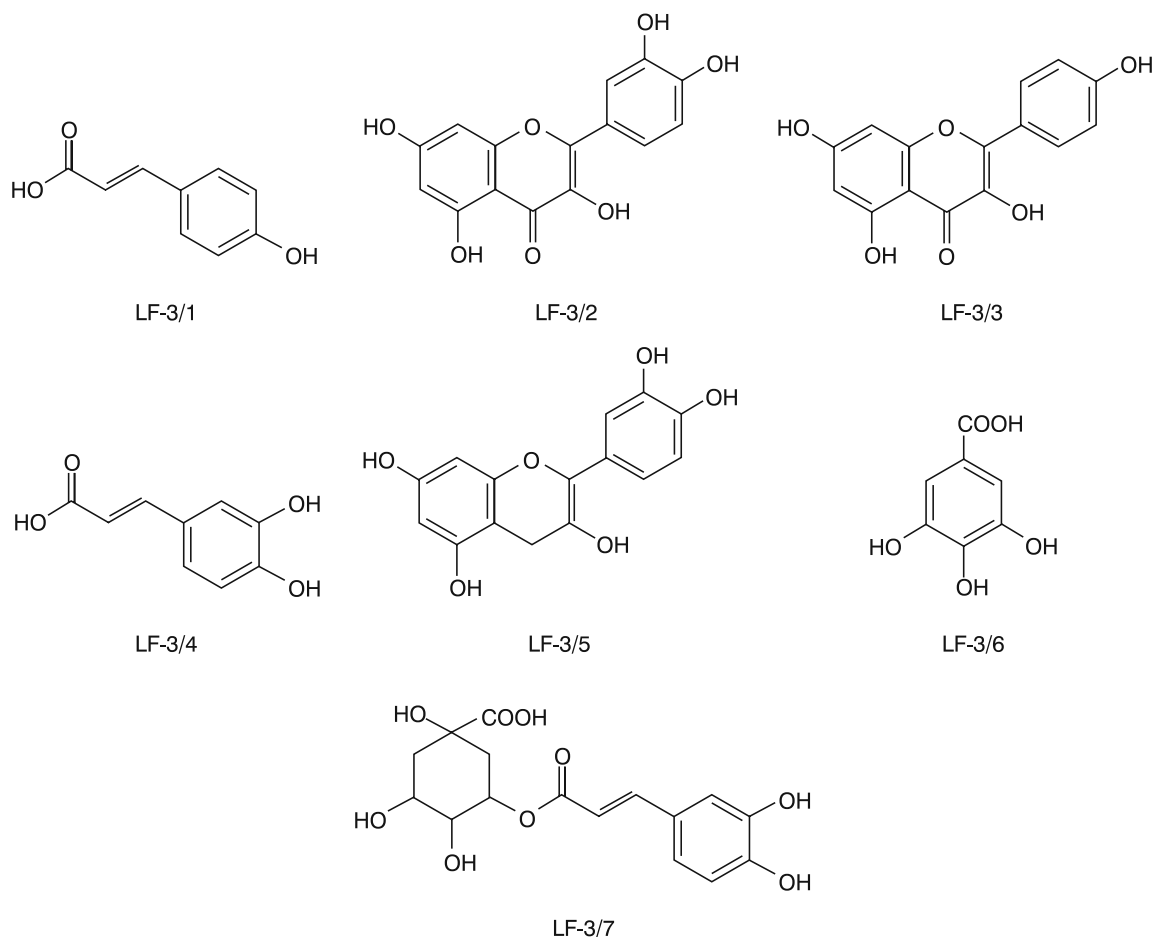
butanolową (LF-4), polisacharydową (LF-6) oraz wodną (LF-5 i LF-7). Badania składu chemicznego poszczególnych frakcji wykazały, że LF-3 zawiera największe stężenie związków fenolowych oraz flawonoidów (odpowiednio 174,73 i 90,77 mg/g), korzystając z chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym oraz żelu Sephadex LH-20, a następnie z chromatografii preparatywnej, wyizolowano z niej i zidentyfikowano 7 związków fenolowych: kwas *p*-kumarowy (LF-3/1), kwercetynę (LF-3/2), kemferol (LF-3/3), kwas kawowy (LF-3/4), (+)-katechinę (LF-3/5), kwas galusowy (LF-3/6) oraz kwas 5-kawoilochinowy (LF-3/7). Identyfikacja opierała się na oznaczeniu temperatury topnienia, wartości masy do ładunku jonu molekularnego (m/z), spektroskopii UV, IR oraz <sup>13</sup>C-NMR (ryc. 1) (11).

### Barwniki

Jedną z najbardziej charakterystycznych cech *Laetiporus sulphureus* jest intensywna żółta lub pomarańczowa barwa jego owocników. Wyizolowano z nich wielonienasycony kwas tłuszczowy, podstawiony jedną grupą hydroksylową oraz aldehydową, nazwany kwasem laetiporowym A. Stanowi on główny pomarańczowy barwnik zarówno świeżych owocników, jak i grzybni otrzymanej w hodowli płynnej. Związek ten zawiera podwójne wiązanie cis w pozycji C-19 i występuje w postaci mieszaniny izomerów cis-trans w stosunku 6:4. Udało się również stwierdzić obecność innego barwnika, kwasu 2-dehydro-3-deoksylaetiporowego, prawdopodobnie powstającego z kwasu laetiporowego A na skutek eliminacji wody. Ten sprzężony układ polienowy zawiera 10 podwójnych wiązań, co jest nowością wśród niezoprenoidowych pigmentów występujących u grzybów. Autorzy zbadali również substancje odpowiedzialne za barwę płynnych kultur *L. sulphureus* i odkryli dwa dodatkowe, mniej znaczące pigmenty: kwas laetiporowy B oraz C (12).

### Lotne związki

Zapach żółciaka siarkowego opisywano jako mniej lub bardziej przyjemny, od piżmowego po silnie grzybowy i zmienia się wraz z wiekiem grzyba. Obecność lotnych związków badano na 20 młodych oraz starych owocnikach *Laetiporus sulphureus*, wykorzystując ekstrakcję dichlorometanem oraz GC-MS. Zidentyfikowano 26 związków, dominowały: (Z)-3-metylo-cynamoaldehyd (27,5%), 2-feniloetanol (6,4%), benzaldehyd (4,0%) oraz N-feniloetyloformamid (3,8%). Pochodne fenolowe: 2-feniloetanal (kwiatowo-roślinny zapach), 2-feniloetanol (różany zapach), benzaldehyd oraz



Ryc. 1. Struktury wyizolowanych związków fenolowych (11)

kwask benzoesowy (zapach gorzkich migdałów) o przyjemnym zapachu, z kolei składniki zawierające siarkę, jak 3-metylotiopropanal, dają nieprzyjemny zapach, nasilający się wraz ze starzeniem się owocników (13).

Inne badanie miało na celu określenie różnicy pomiędzy zapachem młodych oraz starych owocników. Ekstrakt z młodych owocników zawierał 40 lotnych związków, z czego 5 z nich miało największy wpływ na zapach żółciaka siarkowego: 1-okten-3-on, 1-okten-3-ol, kwas 3-metylobutanowy, fenyletanol oraz kwas fenylloctowy, a w przypadku starszych owocników: kwas 2-metylopropanowy, butanowy, 3-metylobutanowy oraz fenylloctowy (14).

Analiza jakościowa GC-MS chloroformowych wyciągów z owocników zebranych w puszczy Zielonka i lasów okolic Witnicy wykazała obecność 49 związków, z czego zidentyfikowano 42. Wśród związków o udowodnionych właściwościach prozdrowotnych zidentyfikowano: tymol, niacynę, skwalen, nienasycone kwasy tłuszczowe: oleinowy, linolowy (10).

## Właściwości lecznicze

### *Działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybiczne*

Wodne ekstrakty z żółciaka siarkowego badano w warunkach *in vitro* za pomocą testu mikrorozcieńczeń przeciwko 4 gatunkom bakterii Gram-ujemnych (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*), 4 gatunkom bakterii Gram-dodatnich (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus flavus*, *Staphylococcus aureus*) oraz 7 gatunkom grzybów (*Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium ochrochloron*, *Trichoderma viride*), a kontrolę pozytywną stanowiła streptomycyna; wykazano silniejsze działanie przeciwgrzybiczne niż przeciwbakteryjne. Wśród testowanych bakterii wyciąg z żółciaka siarkowego (0,15-1,50 mg/ml) silnie hamował *M. flavus* oraz *L. monocytogenes* (MIC 1,50 mg/ml), w przypadku pozostałych bakterii ekstrakt wykazywał działanie zbyt niskie, żeby mogło być określane

jako hamujące. Najbardziej podatna na działanie wyciągu z żółciaka siarkowego była *L. monocytogenes*, jednocześnie wykazująca najsilniejszą oporność na streptomycynę.

Działanie przeciugrzybiczne ekstraktu wykazano przeciwko wszystkim testowanym grzybom (MIC 0,30 mg/ml), niższą w porównaniu z ketokonazolem, ale na tyle wysoką, żeby badany ekstrakt mógł być brany pod uwagę jako środek grzybobójczy (15).

W innym badaniu analizowano przeciwbakteryjne i przeciugrzybiczne działanie etanolowego ekstraktu z żółciaka siarkowego przeciwko 6 gatunkom bakterii Gram-dodatnich, 7 gatunkom bakterii Gram-ujemnych i 1 gatunkowi drożdży. Wyciąg wykazał słabe działanie przeciwbakteryjne wobec bakterii Gram-ujemnych, jednak silnie hamował wzrost bakterii Gram-dodatnich: *B. subtilis*, *B. cereus*, *M. luteus* i *M. flavus*, a także działał silnie przeciugrzybiczo wobec *C. albicans* (16). Chociaż właściwości antybakteryjne i przeciugrzybicze wyciągów z *L. sulphureus* nie były równie skuteczne jak aktualnie stosowane leki, jednak przy rosnącej lekooporności mikroorganizmów zasługują one na uwagę.

#### **Działanie przeciwzapalne**

W Korei przeprowadzono badania, których celem było ustalenie, czy egzopolisacharydy (EPS) wyizolowane z *Laetiporus sulphureus* var. *miniatur* wykazują działanie hamujące wobec prozapalnych mediatorów w mysich komórkach mikrogleju BV2, stymulowanych lipopolisacharydami (LPS).

Otrzymane wyniki wskazują, że EPS znacząco hamuje indukowane przez LPS mediatory prozapalne, takie jak tlenek azotu (NO), prostaglandyny E2 (PGE2), a także czynnik TNF- $\alpha$ , nie wykazując przy tym znaczącej cytotoksyczności. Leczenie egzopolisacharydami stymulowanych LPS mysich komórek glejaka w sposób znaczący zmniejszyło translokację podjednostki p65 jądrowego czynnika  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) oraz jej zdolność do wiązania DNA. W dalszym etapie badania, korzystając z inhibitora proteasomów N-acetylo-L-cysteiny (NAC), udało się ustalić, że zahamowanie aktywności NF- $\kappa$ B wpłynęło na ekspresję prozapalnych genów w badanych komórkach. Jak się spodziewano, NAC obniżył ekspresję iNOS, COX-2 oraz TNF- $\alpha$ . EPS hamuje ekspresję mediatorów stanu zapalnego przez zahamowanie aktywności NF- $\kappa$ B. Efekt przeciwzapalny uzyskany dzięki EPS wyizolowanym z *L. sulphureus* sugeruje ich wysoki potencjał jako środka terapeutycznego do leczenia stanów zapalnych wywołanych przez LPS (17).

#### **Źródło inhibitorów HIV-1 transkryptazy**

Zespół Mlinarica zbadał ekstrakty uzyskane przy użyciu metanolu i dichlorometanu z 57 szkodliwych dla drewna grzybów w kierunku działania hamującego odwrotną transkryptazę HIV-1 w warunkach *in vitro*. Jednym z badanych grzybów z typu *Basidiomycota* był żółciak siarkowy, który wyróżnił się wybitną aktywnością hamującą transkryptazę HIV-1 na poziomie 90,1%. Działanie to, jak sugerują bardziej szczegółowe badania *L. sulphureus*, wynika prawdopodobnie z obecności związku kwasowego z grupą aminową w najbardziej aktywnej frakcji ekstraktu metanolowego, jednak niezbędne są dalsze badania w celu poznania struktury tego inhibitora transkryptazy HIV-1 (18).

#### **Działanie przeciwnowotworowe**

Z żółciaka siarkowego wyodrębniono 6 triterpenów o budowie zbliżonej do lanosterolu: kwas eburikowy (1), kwas sulfurenowy, 15 $\alpha$ -hydroksytramentenolowy, 3-O-acetyloburikowy, (3 $\beta$ )-3-(acetyloksy)-lanosterol-8,24-dien-21-owy i fomeffikinowy D. Zostały one poddane testowi na cytotoksyczność (MTT) w celu zbadania ich apoptotycznego potencjału przeciwko komórkom HL-60 (ludzkie komórki białaczki szpikowej). Najbardziej obiecującą i zależną od dawki inhibicję proliferacji tych komórek rakowych zaobserwowano dla kwasu sulfurenowego, 3-O-acetyloburikowego oraz 15 $\alpha$ -hydroksytramentenolowego (IC<sub>50</sub> odpowiednio 14, 15 i 12  $\mu$ M). Pozostałe związki: kwas eburikowy, (3 $\beta$ )-3-(acetyloksy)-lanosterol-8,24-dien-21-owy oraz wersisponikowy C wykazały umiarkowaną aktywność (IC<sub>50</sub> od 25 do 31  $\mu$ M). Kwas fomeffikinowy D posiada najsłabsze właściwości hamowania proliferacji komórek nowotworowych (IC<sub>50</sub> 407  $\mu$ M). Kwas 3-O-acetyloburikowy okazał się najbardziej obiecującym induktorem fragmentacji polimerazy (ADP-rybozy) 1 (PARP-1), przy czym kwas ten oraz kwas wersisponikowy C również wykazały pozytywny wpływ na uwalnianie do cytozolu cytochromu C z mitochondriów. Odnosząc te wyniki do cech strukturalnych badanych związków, można stwierdzić, że acetylowane triterpeny wykazują silniejsze działanie indukujące powyższe mechanizmy apoptozy niż nieacetylowane pochodne.

Kolejnym związkiem wyizolowanym z żółciaka siarkowego o działaniu cytostatycznym jest ( $\pm$ )-laetirobina. Korzystając z połączenia chromatografii cieczowej oraz spektrometrii mas, otrzymano miligramową ilość ( $\pm$ )-laetirobiny, a następnie zbadano jej strukturę za pomocą krystalografii rentgenowskiej i spektroskopii NMR. Wstępne badania na komórkach

wykazały, że związek ten szybko wnika do komórek nowotworowych, blokuje ich podział w późnym etapie mitozy i wywołuje apoptozę. Należy jednak zaznaczyć, że badany grzyb rósł jako pasożyt na robinii akacjowej (*Robinia pseudoacacia*), co sugeruje, że związek ten może być produkowany przez drzewo będące gospodarzem, a nie przez żółciaka siarkowego, z którego go wyizolowano.

Nadtlenek ergosterolu, który również wyizolowano z *Laetiporus sulphureus*, wykazuje silne działanie cytotoksyczne przeciwko ludzkim komórkom nowotworu żołądka (linia SNU-1,  $IC_{50}$  18,7  $\mu$ M), ludzkim komórkom wątrobiaka (linia SNU-354,  $IC_{50}$  158,2  $\mu$ M), słabsze w przypadku ludzkich komórek nowotworu jelita grubego (linia SNU-C4,  $IC_{50}$  84,6  $\mu$ M) oraz mysiego mięsaka180 ( $IC_{50}$  74,1  $\mu$ M) (3).

### Działanie hipoglikemizujące

Zbadano hipoglikemiczne działanie surowych egzopolisacharydów (EPS) wytworzonych w płynnej hodowli grzyba *Laetiporus sulphureus* var. *miniatur* na szczurach z cukrzycą indukowaną streptozotocyną. Możliwy mechanizm tego działania oceniono za pomocą analizy western blot oraz barwienia immunohistochemicznego.

Zaobserwowano efekt hipoglikemiczny po podaniu doustnym EPS u szczurów, którym 48 godz. wcześniej zaaplikowano streptozotocynę – średni poziom glukozy w osoczu u szczurów leczonych EPS obniżył się o 43,5%. Przeprowadzono również kontrolę tolerancji na glukozę na trzech grupach eksperymentalnych, korzystając z testu OGTT (test doustnego obciążenia glukozą). Mimo iż we wszystkich badanych grupach wykazano znaczny wzrost poziomu glukozy po 30 min, to w grupie leczonej EPS powrót do wartości zbliżonej do wyjściowej nastąpił już po 120 minutach. Porównano również całkowity poziom cholesterolu i triglicerydów w osoczu u grupy szczurów z indukowaną STZ cukrzycą. Po aplikacji streptozotocyny poziom obu z nich uległ znacznemu wzrostowi, aby następnie ulec redukcji niemal do wartości normalnych po podaniu doustnym EPS. Dodatkowo przeprowadzone badania wykazały, że podawanie EPS może prowadzić do regeneracji lub proliferacji komórek beta trzustki, a także zmniejsza stres oksydacyjny wywołany przez terapię streptozotocyną. Egzopolisacharydy wyizolowane z płynnej hodowli grzyba *Laetiporus sulphureus* var. *miniatur* wykazujące działanie hipoglikemiczne, mogą być użyteczne w leczeniu cukrzycy (19).

### Zdolność aktywacji mutanazy

Mutanaza:  $\alpha$ -(1→3)-glukanaza, jest enzymem produkowanym przez *Trichoderma harzianum*,

katalizującym hydrolizę wiązań  $\alpha$ -(1→3)-glukozydowych w nierozpuszczalnych w wodzie, silnie rozgałęzionych glikanach, obecnych w biofilmie jamy ustnej, który jest tworzony przez patogeny i próchnicogenny mikroorganizm *Streptococcus mutans*. Enzym ten posiada więc wysoki potencjał jako środek zapobiegawczy próchnicy i może być użytecznym składnikiem środków do czyszczenia zębów oraz gum do żucia.

Wykazano, że preparat ściany komórkowej (CWP) otrzymany z owocnika lub części vegetatywnej grzyba *Laetiporus sulphureus* jest bogatym źródłem  $\alpha$ -(1→3)-glukanu, który z powodzeniem może być stosowany do indukcji mutanazy, produkowanej przez *Trichoderma harzianum*. Zawartość tego biopolimeru w CWP zależała od wieku owocnika i wzrastała wraz z ich dojrzewaniem. W przypadku CWP, przygotowanego z grzybni vegetatywnej, ilość  $\alpha$ -(1→3)-glukanu zależała nie tylko od wieku grzybni, ale także od rodzaju środka użytego do jej uprawy. Wszystkie CWP przygotowane z owocników wykazały wysoką zdolność indukcji mutanazy (0,53-0,82 U/ml) w *T. harzianum* po 3 dniach hodowli. Jeśli chodzi o CWP uzyskane ze strzępek grzybni *L. sulphureus*, maksymalną zdolność indukcji enzymu (0,34 U/ml po 3 dniach inkubacji) odnotowano dla trzydniowych grzybni hodowanych na pożywce Sabourauda.

Wyniki te świadczą, że wysoka zawartość  $\alpha$ -(1→3)-glukanu zarówno w owocnikach, jak i grzybni *L. sulphureus* czyni je wydajnymi i ekonomicznymi induktorami mutanazy, co może być wykorzystane do jej produkcji na dużą skalę. Ponadto badania wykazały, że grzybnia użyta jako induktor była równie efektywna, dzięki czemu możliwa jest ciągła produkcja bez konieczności korzystania z sezonowo rosnących owocników (20).

### Działanie immunomodulujące

Zespół badaczy z Korei zbadał biochemiczne właściwości egzopolisacharydów wyizolowanych z grzybni *Laetiporus sulphureus*, a następnie oczyszczonych za pomocą DEAE-celulozy oraz chromatografii kolumnowej Sephadex G-50. W celu określenia wpływu mediatorów na proces immunomodulacji, przeprowadzono analizę RT-PCR na cDNA pochodzącej z ludzkich komórek białaczki U937. Analiza ta wykazała, że leczenie 4 mg/ml EPS nie wpłynęło w sposób znaczący na zmianę ekspresji czynników proliferacji Bcl-2 oraz Bcl-XL, podczas gdy poziom ekspresji genu *Bax* uległ zwiększeniu o około 12 razy w porównaniu z komórkami nieleczonymi EPS. Za pomocą metody western blot stwierdzono, że poziomy białek Bax oraz Bcl-2 rosną w sposób zależny od stężenia i przy 4 mg/ml

EPS wzrosły one odpowiednio 23- i 18-krotnie. Oczyszczone EPS z grzybni *L. sulphureus* mają znaczący wpływ na mediatory apoptozy Bax oraz Bad, a tym samym przyczyniają się do immunomodulacji białek z grupy Bcl-2 (21).

### Działanie antyoksydacyjne

W badaniu działania antyoksydacyjnego etanolowego ekstraktu z żółciaka siarkowego wykorzystano następujące testy: zdolność wygaszania wolnego rodnika DPPH oraz oznaczenie potencjału redukcyjnego w układzie  $\beta$ -karoten/kwas linolowy. Stwierdzono, że wraz ze wzrostem ilości użytego ekstraktu etanolowego, rosła jego zdolność do wygaszania wolnego rodnika DPPH. Eliminacja wolnego rodnika przy stężeniach 100, 200, 400 oraz 800  $\mu\text{g/ml}$  wynosiła odpowiednio 14, 26, 55 oraz 86%. Porównano też właściwości antyoksydacyjne ekstraktu etanolowego z żółciaka siarkowego z BHA oraz  $\alpha$ -tokoferolem, korzystając z oznaczenia potencjału redukcyjnego w układzie  $\beta$ -karoten/kwas linolowy. Zaobserwowano, że zdolność antyoksydacyjna etanolowego wyciągu z *L. sulphureus*, a także BHA i  $\alpha$ -tokoferolu rośnie wraz ze wzrostem ich stężenia. Przy stężeniu 80  $\mu\text{g/ml}$  ekstrakt z żółciaka siarkowego, BHA i  $\alpha$ -tokoferol hamowały utlenianie w 57,4; 88,2 i 93,3%, gdzie przy stężeniu 160  $\mu\text{g/ml}$  właściwości antyoksydacyjne wyniosły odpowiednio

82,2; 96,4 i 98,6%. Udowodniono również, że 320  $\mu\text{g}$  wyciągu etanolowego z *L. sulphureus* odpowiada aktywnością 40  $\mu\text{g}$   $\alpha$ -tokoferolu (22).

Badanie aktywności antyoksydacyjnej wodnych, metanolowo-wodnych i metanolowych wyciągów z owocników zebranych w puszczy Zielonka i lasach okolic Witnicy udowodniło, że wszystkie badane wyciągi wykazywały działanie antyoksydacyjne. Najsilniej działały wyciągi metanolowo-wodne, gdzie współczynnik  $\text{IC}_{50}$  wyniósł 69,1-116  $\text{mg/ml}$  – metoda z rodnikiem DPPH, a współczynnik  $\text{IC}_{0,5}$  25,3-32,2  $\text{mg/ml}$  – metoda FRAP (10).

### Podsumowanie

Owocniki *Laetiporus sulphureus* są bogate w różne związki chemiczne. Dotychczas zidentyfikowano m.in.: polisacharydy (głównie  $\alpha$ -(1,3)-D-glukany), lektyny, kompleksy polisacharydowo-białkowe, lipidy, kwasy tłuszczowe, triterpeny, związki fenolowe, barwniki oraz około 50 związków lotnych, takich jak: (Z)-3-metylo-cynamoaldehyd, 2-feniloetanol, benzaldehyd, N-feniloetyloformamid, 1-okten-3-on, 1-okten-3-ol, kwas 3-metylobutanowy, feniloetanol i tymol.

Dzięki zawartości tych substancji, młode owocniki żółciaka siarkowego wykazują szereg właściwości bioaktywnych: antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwzapalne, immunomodulujące, przeciwnowotworowe i przeciwcukrzycowe.

### Piśmiennictwo

1. Szczepkowski A. Grzyby nadrzewne w innym świetle – użytkowanie owocników. Studia i Materiały CEPL w Rogowie 2012; 32/3:172-89.
2. <http://indexfungorum.org> (data dostępu: 28.02.2021 r.).
3. Grienke U, Zöll M, Peintner U i wsp. European medicinal polypores – A modern view on traditional uses. J Ethnopharmacol 2014; 154(3):564-83.
4. Alquini G, Carbonero ER, Rosado FR i wsp. Polysaccharides from the fruit bodies of the basidiomycete *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. FEMS Microbiol Lett 2004; 230:47-52.
5. Kanska G, Guillot J, Dusser M i wsp. Isolation and characterization of an N-acetyllactosaminebinding lectin from the mushroom *Laetiporus sulphureus*. J Biochem 1994; 116:519-23.
6. Tateno H, Goldstein IJ. Molecular cloning, expression and characterization of novel hemolytic lectins from the mushroom *Laetiporus sulphureus*, which show homology to bacterial toxins. J Biol Chem 2003; 278(42):40455-63.
7. Kang CY, Lee CO, Chung KS i wsp. An antitumor component of *Laetiporus sulphureus* and its immunostimulating activity. Arch Pharm Res 1982; 5(2):39-43.
8. Sinanoglou VJ, Zoumpoulakis P, Heropoulos G i wsp. Lipid and fatty acid profile of the edible fungus *Laetiporus sulphureus*. Antifungal and antibacterial properties. J Food Sci Technol 2015; 52(6):3264-72.
9. Leon F, Quintana J, Rivera A i wsp. Lanostanoid triterpenes from *Laetiporus sulphureus* and apoptosis induction on HL-60 human myeloid leukemia cells. J Nat Prod 2004; 67:2008-11.
10. Szymański M, Kolendowicz M, Szymański A. Badania wyciągów z owocników grzyba *Laetiporus sulphureus* (Bull.). Post Fitoter 2021; (1):14-22.
11. Olennikov DN, Tankhaeva LM, Agafonova SV. Antioxidant components of *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. fruit bodies. Appl Biochem Microbiol 2011; 47:419-25.
12. Weber RWS, Mucci A, Davoli P. Laetiporic acid, a new polyene pigment from the wood-rotting basidiomycete *Laetiporus sulphureus* (Polyporales, Fungi). Tetrahedron Lett 2004; 45(5):1075-8.
13. Rapior S, Kanska G, Guillot J i wsp. Volatile composition of *Laetiporus sulphureus*. Cryptog Mycol 2000; 21(1):67-72.
14. Wu S, Zorn H, Krings U i wsp. Characteristic volatiles from young and aged fruiting bodies of wild *Polyporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Fr. J Agric Food Chem 2005; 53:4524-8.
15. Siljegovic JD, Stojkovic DS, Nikolic MM i wsp. Antimicrobial activity of aqueous extract of *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. Matica Srpska Novi Sad 2011; 120:297-303.
16. Turkoglu A, Duru ME, Mercan N i wsp. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. Food Chem 2007; 101:267-73.

17. Jayasooriya RG, Kang CH, Seo MJ i wsp. Exopolysaccharide of *Laetiporus sulphureus* var. *miniatus* down-regulates LPS-induced production of NO, PGE2, and TNF-alpha in BV2 microglial cells via suppression of the NF-kB pathway. *Food Chem Toxicol* 2011; 49(11):2758-64.
18. Mlinaric A, Kac J, Pohleven F. Screening of selected wood-damaging fungi for the HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Acta Pharm* 2005; 55:69-79.
19. Hwang HS, Yun JW. Hypoglycemic effect of polysaccharides produced by submerged mycelial culture of *Laetiporus sulphureus* on streptozotocin – induced diabetic rats. *Biotechnol Bioprocess Eng* 2010; 15:173-81.
20. Wiater A, Szczodrak J, Pleszczyńska M. Mutanase induction in *Trichoderma harzianum* by cell wall of *Laetiporus sulphureus* and its application for mutant removal from oral biofilms. *J Microbiol Biotechnol* 2008; 18(7):1335-41.
21. Seo MJ, Kang BW, Park JU i wsp. Biochemical characterization of the exopolysaccharide purified from *Laetiporus sulphureus* mycelia. *J Microbiol Biotechnol* 2011; 21:1287-93.
22. Turkoglu A, Duru ME, Mercan N i wsp. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chem* 2007; 101:267-73.

**Konflikt interesów**

**Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 26.04.2021

zaakceptowano/accepted: 05.05.2021

Adres/address:

\*dr n. rol. Marcin Szymański

Centrum Zaawansowanych Technologii

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

ul. Uniwersytetu Poznańskiego 10

61-614 Poznań

e-mail: marcin.szymanski@amu.edu.pl