

*Marcin Szymański¹, Justyna Staniszevska²

Inonotus obliquus – chemizm i działanie farmakologiczne

Inonotus obliquus – chemistry and pharmacological effects

¹Centrum Zaawansowanych Technologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Dyrektor Centrum: prof. dr hab. n. chem. Artur Stefankiewicz

²Katedra i Zakład Farmakognozji i Biomateriałów,

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. farm. Judyta Cielecka-Piontek

SUMMARY

The subcortical spinneret (Latin: *Inonotus obliquus*) is an arboreal species of fungus otherwise known as chaga (chaga). It is found in areas of the northern hemisphere, in forests, and in parks in North America, Asia, and Europe. In Poland, it can be found most often on birches and less frequently on poplars, beeches, maples, oaks, and other deciduous trees. It has been a partially protected species in Poland since 2014.

The subcortical glossophore is a valuable source of active compounds, containing polysaccharides (e.g. β -glucans), phytosterols (mainly lanosterols, inotodiol, and ergosterol), phenolic acids, flavonoids, tannins, triterpenes (betulin, betulinic acid), amino acids, melanin, vitamins and mineral compounds (calcium, potassium, copper, zinc, iron). The compounds present in the fruiting bodies of the spinneret contribute to immunomodulatory, anticancer, hypoglycaemic, hepatoprotective, antiviral, antimicrobial, and antioxidant activities.

Keywords: *Inonotus obliquus*, chaga, active compounds, pharmacological effects

STRESZCZENIE

Błyskoporek podkorowy (łac. *Inonotus obliquus*) jest nadrzewnym gatunkiem grzyba, inaczej nazywanym czagą (chaga). Występuje na terenach półkuli północnej, w lasach i parkach Ameryki Północnej, Azji oraz Europy. W Polsce można go spotkać najczęściej na brzozech, rzadziej występuje na: topolach, bukach, klonach, dębach czy innych drzewach liściastych. W Polsce od 2014 roku jest gatunkiem częściowo chronionym.

Błyskoporek podkorowy stanowi cenne źródło związków czynnych, zawiera polisacharydy (m.in. β -glukany), fitosterole (głównie lanosterole, inotodiol oraz ergosterol), kwasy fenolowe, flawonoidy, garbniki, triterpeny (betulina, kwas betulinowy), aminokwasy, melaninę, witaminy oraz związki mineralne (wapń, potas, miedź, cynk, żelazo). Związki obecne w owocnikach błyskoporka przyczyniają się do działania immunomodulującego, przeciwnowotworowego, hipoglikemizującego, hepatoprotekcyjnego, przeciwwirusowego, przeciwbakteryjnego i antyoksydacyjnego.

Słowa kluczowe: *Inonotus obliquus*, czaga, związki czynne, działanie farmakologiczne

Wstęp

Inonotus obliquus (Ach. ex Pers) Pilát – błyskoporek podkorowy należy do rodziny *Hymenochaetaceae* (Szczeciniakowate), rodzaju *Hymenochaetales* (Szczeciniakowce), podklasy *Incertae sedis* (o niepewnej pozycji), klasy *Agaricomycetes* (Pieczarniaki), podgromady *Agaricomycotina*, gromady *Basidiomycota* (Podstawczaki), królestwa *Fungi* (Grzyb) (1). Występuje pod polskimi nazwami: huba ukośna, huba skośnorurkowa, czaga, czyr brzozowy, włóknouszek ukośny, błyskoporek ukośny, huba brzozowa, czarna

huba, czerniak brzozy, czyreń, czernidło, czarcie oko czy czanga (2, 3).

W Polsce gatunek ten jest objęty ochroną częściową na podstawie Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 roku w sprawie ochrony gatunkowej grzybów (Dz.U. 2014 poz. 1408).

Inonotus obliquus występuje najczęściej na różnych odmianach brzoź, należy do grzybów pasożytniczych. Atakuje osłabioną lub zranioną część drzewa (2).

W medycynie ludowej był stosowany w leczeniu różnych chorób przewodu pokarmowego. Wyciągi z chaga stosowane były w Chinach, Korei, Rosji

i krajach bałtyckich jako lek przeciwbakteryjny, hepatoprotekcyjny, przeciwzapalny, przeciwnowotworowy i przeciwutleniający (4, 5). W badaniach *in vitro* stwierdzono, że wyciągi są nietoksyczne i działają głównie przeciwwirusowo (6), przeciwutleniająco (7) i przeciwzapalnie (8).

Wieloletnie badania ekstraktów z owocników *I. obliquus* wykazywały ponadto działania: przeciwwirusowe, przeciw pasożytnicze, hipoglikemiczne, immunostymulujące, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe (3).

Substancje aktywne pozyskuje się z różnych części grzyba, najczęściej wykorzystuje się owocniki, ale także i sklerotę (czyli grubą, twardą część grzyba, która tworzy struktury przechowujące substancje odżywcze w trudnych warunkach) i mycelium (sieć strzępek grzybów, z których można izolować endopolisacharydy, rośnie pod ziemią lub w materiale organicznym, jest to wegetatywna część grzyba odpowiedzialna za pobieranie składników odżywczych i rozprzestrzenianie się).

Związki biologicznie czynne występujące w owocnikach *I. obliquus*

Związki fenolowe

W różnych ekstraktach z błyskoporka podkorowego wykazano obecność takich związków fenolowych, jak: syringol, rezorcynol, gwajakol oraz kwasy fenolowe (szczawiowy, galusowy, protokatechowy, p-hydroksybenzoesowy, syringowy, kawowy) (5, 9), analogi hispidyny: inonoblina A, B, C, ester metylowy kwasu inonotowego, dawallialaktony, felligrindy: D, E, G. Do ich syntezy dochodzi podczas działania stresu oksydacyjnego (10, 11).

Oznaczono zawartość sumy polifenoli w wyciągu wodnym na poziomie $1,85 \pm 0,11\%$ w przeliczeniu na kwas kawowy, a w wyciągu metanolowym $1,01 \pm 0,03\%$, ponadto wyciąg metanolowy charakteryzował się najwyższą zawartością sumy kwasów fenolowych ($0,127 \pm 0,008\%$ w przeliczeniu na kwas kawowy). W wyciągu metanolowym oznaczono ponadto sumę flawonoidów $0,193 \pm 0,019\%$ w przeliczeniu na hiperozyd oraz sumę flawonoli $0,351 \pm 0,012\%$ w przeliczeniu na rutozyd (12).

Związki triterpenowe

Triterpeny obecne w *I. obliquus* to: 3 β -hydroksylanosta-8,24-dien-21-ol, 3 β ,22,25-trihydroksylanosta-8-en, lanosta-24-en-3 β ,21-diol, lanosta-79(11)-23E-trien-3 β ,22R,25-triol, lanosta-8,23E-dien-3 β ,22R,25-triol, 3 β ,22-dihydroksylanosta-7,9(11),24-trien (13), inonotusany A-C, kwas 3 β -hydroksy-25,26,27-trinorlanosta-8,22E-dien-24-owy, kwas 3 β -hydroksylanosta-7,9(11),24-trien-21-owy,

kwas betulinowy, kwas oleanolowy, kwas trametenolowy, inonotsutrioie A, B, D, E, inonotlenek A i B, lanosterol, betulina, 3 β -hydroksylanosta-8,24-dien-21-ol, fuscoporianol C, 3 β ,22-dihydroksylanosta-7,9(11),24-trien i 3 β ,22 α -dihydroksylanosta-8,25-dien-24-on (14). (22R)-Lanosta-8,24-diene-3 β ,22-diol (Inotodiol) został wyizolowany przez Ludwiczak i Wrzeciono w 1962 roku. Związki takie, jak inotodiol, podstawione przy węglu C-22 lanosterolu zwiększają działanie przeciwnowotworowe, natomiast kwas trametenolowy podstawiony przy węglu C-21 lanosterolu obniża tę aktywność (14, 15).

Ergosterol i nadtlenek ergosterolu

Ergosterol jest biologicznym prekursorem (prowitaminą) witaminy D₂. Jest składnikiem ściany komórkowej grzybów. Pełni tę samą funkcję, co cholesterol w komórkach zwierzęcych. Obecność ergosterolu w komórkach ściany komórkowej grzybów i jego brak w komórkach zwierzęcych może okazać się punktem odniesienia podczas projektowania nowych leków przeciwgrzybiczych (16).

Alkohol benzylowy

Wodny wyciąg z owocników błyskoporka poddano hydrolizie rozcieńczonym kwasem solnym, a następnie ekstrahowano octanem etylu, po czym poddano analizie GC-MS. Stwierdzono obecność węglowodorów, alkoholi, fenoli i różnych związków karbonylowych. W związku z obecnością benzaldehydu stwierdzono obecność alkoholu benzylowego, który jest metabolitem.

Polisacharydy

Mizuno i wsp. dowodzą, że rozpuszczalne w wodzie polisacharydy ze skleroty to ksylogalakto-glukany składające się z: glukozy, galaktozy, ksylozy, mannozy, arabinozy i fukozy. Wysokocząsteczkowe β -glukany są cząsteczkami bardziej aktywnymi niż ich niskomolekularne odpowiedniki. Poziom ich aktywności jest ściśle skorelowany z ich masą cząsteczkową, wiązaniami występującymi w cząsteczce i rozpuszczalnością w wodzie. Wyższa aktywność przeciwnowotworowa jest skorelowana z wyższą masą molekularną, mniejszą ilością wiązań między molekułami i lepszą rozpuszczalnością w wodzie (17, 18).

Kompleks fenolowych pigmentów (melaniny)

Inonotus obliquus syntetyzuje wysokocząsteczkowe pigmenty fenolowe, które zgodnie z ich właściwościami fizykochemicznymi przypisane zostały do melanin. Podczas badań wykazano, że jony miedzi (0,008%), pirokatechol (1,0 mM) i tyrozyna (20,0 mM) stymulowały melanogenezę. Produkcja melaniny skorelowana

była z syntezą o- i p-difenolooksydaz. Melanina grzybowa miała silne działanie przeciwtleniające i genoprotekcyjne (19, 20).

Wyciąg chloroformowy – analiza GC-MS

Analiza GC-MS pozwoliła zidentyfikować m.in.: izowanilinę (związek o silnym aromacie), santalen (sekwiterpen wykazujący działanie antyseptyczne (21)), α -selinen (związek o udowodnionym działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwrzybiczym (22)), aldehyd syringowy (wykazujący właściwości przeciwzapalne (23)), kwas linolowy (działanie przeciwmiażdżycowe, przeciwnowotworowe (24)), tymol (działanie antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne (25)), α -bergamoten (działanie uspokajające) i lanosterol (działanie przeciwnowotworowe (26)) (12).

Hodowla *I. obliquus* w reaktorze

Komórki grzyba próbowano hodować w reaktorze; skutkowało to zwiększeniem poziomu aglikonów flawonoidów i melanin (analogów hispidyny), które były w mniejszości. Efekt immunostymulujący, który udało się osiągnąć poprzez stosowanie komórek grzyba wyhodowanego sztucznie, wynosił zaledwie 50% w porównaniu z komórkami wyrosłymi naturalnie (27).

Działanie farmakologiczne *I. obliquus*

Znaczenie w terapii przeciwnowotworowej

Szacuje się, że do końca 2030 roku zostanie zarejestrowanych ponad 21 mln nowych zachorowań na raka. Jak podaje WHO, aż 13 mln osób najprawdopodobniej umrze z tego powodu. Stosowanie chemioterapii wiąże się z występowaniem licznych działań niepożądanych. Odkryto, że skuteczne w leczeniu choroby nowotworowej może być stosowanie leczniczych grzybów. Wykazują one działanie wspomagające, a jednocześnie nie udowodniono ich działania toksycznego. Są środkami oficjalnie używanymi w Japonii jako medyczne środki lecznicze w terapii przeciwnowotworowej. Główną przyczyną wystąpienia choroby nowotworowej jest nieprawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego. Polisacharydy będące głównymi składnikami grzybów leczniczych odpowiadają za pobudzenie układu odpornościowego do walki z nowotworem. Udowodniono także, że stosowanie ekstraktów etanolowych okazało się bardziej skuteczne w działaniu przeciwnowotworowym niż stosowanie ekstraktów wodnych (28, 29).

Różni autorzy próbowali określić molekularny mechanizm działania ekstraktów z *I. obliquus*. Obecnie pojawiają się dwa mechanizmy działania ekstraktów z *I. obliquus*. Pierwszy jest związany z szerokim

wpływem na enzymy antyoksydacyjne i poziom reaktywnych form tlenu (ROS). Drugi jest związany z efektami peroksy – receptora aktywowanego przez proliferator gamma (PPAR γ). Ten receptor może być kluczowym czynnikiem w przeciwzapalnym, przeciwtleniającym i przeciwnowotworowym działaniu ekstraktów z *I. obliquus*. Można wnioskować, że *I. obliquus* pasuje do definicji żywności funkcjonalnej i ma potencjalnie pozytywny wpływ na zdrowie, wykraczający poza podstawowe odżywianie, jednak potrzebne są badania spełniające kryteria medycyny opartej na dowodach (EBM) (3).

Mechanizmy aktywności przeciwnowotworowej wyciągów z owocników *I. obliquus* przebiegające na różnych poziomach

Wpływ na aktywność enzymów

Związki czynne obecne w *I. obliquus* wpływają na ekspresję informacji genetycznej w postaci syntetyzowanych białek. Enzymy będące białkami są strukturami regulującymi funkcjonowanie komórki (30).

Redukcja indeksu mitotycznego

Jednym z czynników charakteryzujących komórki nowotworowe są nieograniczone podziały mitotyczne. Wymknęły się one spod kontroli białek regulujących i sygnałów międzykomórkowych. Stosowanie wyciągów skutkuje u zwierząt doświadczalnych, u których indukowano nowotwór, zmniejszeniem masy guza (31).

Ochrona jądrowego DNA ludzkich limfocytów przed stresem oksydacyjnym

Reaktywne formy tlenu odgrywają znaczącą rolę w procesach degeneracyjnych i patologicznych, takich jak: starzenie, nowotwory, choroby mięśnia sercowego, choroba Alzheimera, procesy neurodegeneracyjne, zaćma czy miażdżyca. Nadmierna produkcja reaktywnych form tlenu może prowadzić do uszkodzenia białek, struktur DNA, ogólnej niestabilności genomu, których akumulacja jest czynnikiem prosperującym do wystąpienia mutacji, a w dalszych skutkach rozpoczęciem procesu karcynogenezy. Stosowanie ekstraktu z *I. obliquus* wykazało efekt protekcyjny przeciwko oksydacyjnemu zniszczeniu DNA w ludzkich limfocytach (32).

Ochrona przed nieprawidłową komunikacją międzykomórkową

Park dowiódł, że przyjmowanie ekstraktów z чага może wykazywać działanie przeciwnowotworowe

i ochronne przed nieprawidłową komunikacją międzykomórkową przez interakcję z czynnikami ERK1/2, p38 i kinazami MAP (33).

Indukcja programowanej śmierci komórek

Suplementacja ekstraktem z *I. obliquus* skutkowała znaczącym wzrostem w uwalnianiu czynnika martwicy nowotworu α (TNF- α) przez makrofagi. Czynn timer martwicy nowotworu jest uwalniany także przez komórki NK i limfocyty T. Adekwatna d oza TNF- α może indukować mediowaną przez receptory programowaną śmierć komórki (34).

Wpływ na aktywność enzymów

Stosowanie ekstraktu z *I. obliquus* może mieć wpływ na metabolizm komórek nowotworowych poprzez obniżenie aktywności dehydrogenazy m leczanowej, dehydrogenazy hydroksybutylowej, dehydrogenazy jabłczanowej, transpeptydazy γ -glutamylowej. Podwyższa natomiast aktywność katalazy (34).

Oddziaływanie ekstraktu z *I. obliquus* na makrofagi

Jednymi ze struktur przebadanymi pod kątem aktywności wobec ekstraktów z *I. obliquus* były makrofagi. Okazało się, że wykazują one aktywność cytotoksyczną przez udział w fagocytozie:

- bezpośrednią komórkową cytotoksyczność – oddziaływanie komórki z komórką,

- sekrecję cytotoksycznych cytokin: (IL-1, TNF- α) i tlenu azotu.

Aktywowane makrofagi zdają się być ważnymi czynnikami układu odpornościowego gospodarza, które biorą czynny udział w zwalczaniu wzrostu guza nowotworowego. Efektem działania makrofagów jest tlenek azotu. Uczestniczy nie tylko w zabijaniu komórek nowotworowych, ale również w obronie przed bakteriami, grzybami i pasożytami. Polisacharydy są molekułami, które stymulują makrofagi do sekrecji tlenu azotu (35).

Aktywność przeciwnowotworowa związków, grup związków i wyciągów z chaga

Związki czynne pochodzące z chaga wykazują wielokierunkowe działanie przeciwnowotworowe i immunomodulujące. Mają znaczący wpływ na funkcjonowanie układu odpornościowego. Są tzw. modulantami odpowiedzi immunologicznej. Toksyczność związków czynnych jest znikoma, co może się okazać dobrą alternatywą dla obecnie stosowanej chemioterapii.

Grzyb jest stosowany w rosyjskiej medycynie ludowej w leczeniu nowotworów, takich jak: nieoperowalny rak piersi, nowotwory ust, nowotwory gastryczne, nowotwory przytarczyc, nowotwory płuc, nowotwory żołądka, nowotwory skóry, nowotwory odbytu, choro ba Hodgkina (11).

Tab. 1. Wpływ określonych związków czynnych/form owocników na rodzaje nowotworów

Działanie farmakologiczne związków	Odnosnik literat.
Polisacharydy	
Polisacharydy pochodzące ze skleroty, które składają się z heteropolisacharydów i homoglukanów, wykazują silny efekt hamujący wzrost guza, podczas gdy polisacharydy pochodzące z mycelium nie mają takiego działania. Polisacharydy charakteryzują się aktywnością modulatorów odpowiedzi biologicznej. Polisacharydy pochodzące z grzyba nie wykazują bezpośredniego działania niszczącego komórki nowotworowe, oddziałują raczej na zasadzie immunostymulacji układu odpornościowego. Pozwala to organizmowi przystosować się do nowych warunków, komórki lepiej radzą sobie z zaistniałym stresem. Jest to oddziaływanie niespecyficzne. Wpływają one znacząco na aktywację makrofagów. Endopolisacharydy hamują <i>in vivo</i> wzrost komórek melanomy u myszy po doustnym i dootrzewnowym podaniu ekstraktu, z zaznaczeniem, że podanie dootrzewnowe jest bardziej skuteczne.	(17)
Endopolisacharydy mogą wpływać na indukowaną przez makrofagi ekspresję mRNA takich zapalnych cytokin, jak: IL-1 β (Interleukina 1) czy IL-6 oraz aktywność inhibitora syntazy tlenu azotu czy TNF- β (ang. <i>tumor necrosis factor</i> β). Aktywność polisacharydów pochodzących z <i>I. obliquus</i> powoduje zmniejszenie stopnia ufosforylowania zewnątrzkomórkowego regulatora sygnałów: c-Jun, N-terminalnej kinazy (ang. <i>c-Jun N-terminal kinase</i> – JNK), mitogenu p39 (ang. <i>mitogen-activated protein kinases</i> – MAPK).	(36)
Badania wykazały że ekstrakty octanowe i eterowe znacząco zmniejszyły generację NO i aktywność lucyferazy NF- κ B (ang. <i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>) w komórkach makrofagów RAW 264.7 (linia komórkowa mysich makrofagów pochodząca z wodobrzusza samca myszy z guzem indukowanym przez wirus białaczki mysiej Abelsona) i wywołały cytotoksyczność <i>in vitro</i> w ludzkich komórkach raka prostaty PC3 i raka piersi MDA-MB-231.	(37)
Badano wpływ polisacharydu z <i>I. obliquus</i> (IOP) na proliferację, inwazję, migrację i apoptozę komórek kostniakomięsaka MG-63. Przeprowadzono testy CCK-8 (ang. <i>cell counting kit-8</i>), testy zarysowania komórek, testy transwell i cytometrię przepływową. Western blot zastosowano do wykrycia ekspresji pokrewnych białek w szlakach sygnałowych Akt/mTOR i NF- κ B. W porównaniu z grupą kontrolną komórki MG-63 leczone IOP 80 μ g/ml, 160 μ g/ml i 320 μ g/ml w grupie eksperymentalnej miały istotnie niższą aktywność proliferacyjną, zmniejszoną zdolność migracji i inwazji oraz zwiększoną szybkość apoptozy ($P < 0,05$). Ponadto IOP może istotnie hamować aktywację szlaku sygnałowego Akt/mTOR i NF- κ B ($P < 0,05$). Stwierdzono, że IOP może regulować proliferację, migrację, inwazję i apoptozę komórek kostniakomięsaka poprzez hamowanie aktywacji szlaku sygnałowego Akt/mTOR. Wykazano działanie przeciwnowotworowe na komórki kostniakomięsaka i potencjał zastosowania klinicznego w ich leczeniu.	(38)

Rozpuszczalny w wodzie polisacharyd (ISP2a) został pomyślnie oczyszczony metodą chromatografii kolumnowej DEAE-Sephadex CL-6B i Sephadex CL-6B. <i>In vivo</i> ISP2a nie tylko wykazał działanie przeciwnowotworowe, ale także mógł znacząco wzmocnić odpowiedź immunologiczną myszy z guzami. Ponadto ISP2a znacząco wzmocnił proliferację limfocytów i zwiększył produkcję TNF-α. Wyniki tych badań wykazały, że ISP2a ma potencjalne zastosowanie jako naturalny środek przeciwnowotworowy o działaniu immunomodulacyjnym.	(39)
Triterpenoidy	
Spośród badanych triterpenoidów tylko inotodiol wykazywał antyproliferacyjny efekt na badane komórki przy stężeniu 30 μM. Triterpenoidy typu lanostanu, takie jak inotodiol i kwas trametenolowy, są głównymi składnikami ekstraktu chloroformowego. Wykazują znaczący efekt antyproliferacyjny przeciwko komórkom nowotworowym typu Walker 256. Kiedy inotodiol został dostarczony <i>in vivo</i> w dawce 10 mg/kg m.c., okres przeżywalności myszy z wszczepionym wcześniej nowotworem znacznie się wydłużył, bez zaznaczających się efektów ubocznych, takich jak: spadek masy ciała, biegunka. Inotodiol wpływa na podziały komórki poprzez: – efekt antyproliferacyjny przy stężeniu 30 μg/ml, indukuje fragmentację DNA i aktywację kaspazy 3/7. Kaspaza 3 jest aktywowana przez każdą z inicjujących kaspaz: kaspazy 8, 9 czy 10 i jest uważana za jedną z najważniejszych egzekutorowych kaspaz – bezpośrednio aktywuje enzymy, które są odpowiedzialne za fragmentację DNA na drodze apoptozy – oddziaływanie na komórki nowotworowe w fazie S, co skutkuje inhibicją syntezy białek i redukcją podziałów mitotycznych, czyli zahamowaniem podziałów komórkowych – znaczące zmniejszenie ekspresji Ki-67, zależnie od dawki i czasu trwania eksperymentu. Ki-67 jest czynnikiem związanym z cyklem komórkowym i podziałami komórkowymi.	(40)
Alkohol benzylowy	
Ustalono, że efekt antyproliferacyjny jest spowodowany przez metabolity alkoholu benzylowego. Alkohol benzylowy jest „upłynnikiem” błony komórkowej. Wykryto także, że drugi główny składnik wyciągu (benzaldehyd) wykazuje udokumentowane działanie cytotoksyczne. Benzaldehyd może powstawać <i>in situ</i> z alkoholu benzylowego podczas metabolizmu lub autooksydacji tlenowej, która może być przyspieszana przez obecność reaktywnych form tlenu powstałych podczas warunków stresu oksydacyjnego.	(41)
Ergosterol	
Badania wykazały, że ergosterol wykazuje również działanie przeciwnowotworowe. Nadtlenek ergosterolu jest odpowiedzialny za zakłócenie transdukcji sygnału przez β-kateninę, co skutkuje aktywnością antyproliferacyjną i proapoptotyczną. Aktywność nadtlenku ergosterolu wiąże się także ze wzrostem ekspresji c-Myc i cykliny D1.	(42)
Kompleks melanin	
Kompleks melanin pochodzący ze skleroty wykazuje silne działanie antyoksydacyjne i cytoprotekcyjne.	(43)
Wyciąg wodny	
Wykonano doświadczenie mające na celu zbadanie działania antyproliferacyjnego i proapoptotycznego ekstraktu wodnego z grzyba chaga na komórki ludzkiego nowotworu wątroby. Wykorzystano dwie linie komórkowe: Hep G2 i Hep 3B. Przejście z fazy G0 do fazy G1 w cyklu komórkowym było skorelowane z obniżeniem ekspresji takich molekuł, jak: – białko p53 (ang. <i>p53 protein</i>) – białko pRb (ang. <i>retinoblastoma protein</i>, białko kodowane przez gen supresorowy RB1) – białko p27 (p27^{Kip1}, inhibitor kinaz zależnych od cyklin (CDK) i należy do rodziny Kip/Cip) – cykliny D1, D2, E – cykliny zależne od kinazy: Cdk2 (ang. <i>cyclin-dependent kinase 2</i>), Cdk4 (ang. <i>cyclin-dependent kinase 4</i>), Cdk6 (ang. <i>cyclin-dependent kinase 4</i>). Zauważono zwiększoną ekspresję wszystkich zależnych od cyklin kinaz i cyklin towarzyszących kinazom. Jest to aktywność typowa dla komórek nowotworowych, które charakteryzują się niekontrolowaną proliferacją. Aktywność białek p53 i pRb była zmniejszona po zastosowaniu ekstraktu z chaga w zależności od stosowanej dawki w komórkach Hep G2, podobnie było w przypadku białka p27. Dane te wykazują, że stosowanie ekstraktu z chaga skutkuje selektywną aktywnością cytotoksyczną w stosunku do ludzkich komórek nowotworu wątroby. Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków: – Cykliny są pozytywnymi regulatorami progresji cyklu komórkowego i pełnią funkcję jako struktura formująca kompleks z zależnymi od cyklin kinazami. – Inhibitory kinaz zależnych od cyklin są negatywnymi regulatorami cyklu komórkowego. Wiążą się do kompleksu cyklin z kinazami zależnymi od cyklin i hamują aktywność tego kompleksu. – Kiedy białko Rb pozostaje w formie niefosforylowanej, czynnik transkrypcyjny E2F nie może być aktywowany i cykl komórkowy nie może wejść w fazę S. – Cyklina D1 i cykliny zależne od kinazy: Cdk2 i Cdk6 są odpowiedzialne za większość zmian spowodowanych w cyklu komórkowym po zastosowaniu wyciągu z chaga. Wszystkie te czynniki regulujące są obniżone przy najniższej stosowanej dawce ekstraktu równej 250 μg/ml.	(44)
Badanie wpływu wyciągu z <i>I. obliquus</i> na ekspresję genów <i>Bax</i> (ang. <i>Bcl-2-associated X protein</i>, Bax odgrywa kluczową rolę w regulacji apoptozy) i <i>Bcl-2</i> (ang. <i>B-cell lymphoma 2</i>, protoonkogen kodujący białko antyapoptotyczne) w komórkach Sarcoma 180 u myszy pozwoliło na sformułowanie następujących wniosków: – antyapoptotyczne geny <i>Bcl-2</i> wykazywały nadekspresję – ekspresja proapoptotycznych genów <i>Bax</i> była wyciszona. Masa Sarcoma 180 osiągnęła 2,19 g po 14 dniach od transplantacji. Przyjmowanie przez myszy ekstraktu z <i>I. obliquus</i> w dawce 20 mg/kg m.c. skutkowało znaczącym wyhamowaniem ekspresji genu <i>Bcl-2</i> i stymulacją ekspresji genu <i>Bax</i>, co miało potwierdzenie w redukcji masy guza o 27,71%. Cykl komórkowy komórek Sarcoma 180 potraktowanych wcześniej ekstraktem z <i>I. obliquus</i> został zbadany przy pomocy cytometrii przepływowej. Otrzymano następujące wyniki: w komórkach Sarcoma 180 nieoddziałujących z ekstraktem więcej niż 60% komórek było w fazie G2-M, 35% w fazie S, tylko 2,02% w fazie G0-G1, natomiast 2,06% w fazie programowanej śmierci komórki. Dla porównania w komórkach Sarcoma 180 potraktowanych ekstraktem z <i>I. obliquus</i> w stężeniu 20 μg/ml: liczba komórek w fazie G0-G1 znacząco wzrosła, co skutkowało redukcją faz G2-M i fazy S. W komórkach apoptotycznych synteza DNA została zablokowana w fazie G0-G1.	(45)

W badaniach wykazano, że stosowanie wyciągu z <i>I. obliquus</i> skutkowało blokowaniem mitozy komórek HeLa (komórki nieśmiertelne ze względu na zdolność niekończących się podziałów mitotycznych. Wywodzi się z komórek raka szyjki macicy, które uległy transformacji nowotworowej na skutek zakażenia wirusem brodawczaka HPV 18), przez wzrost liczby mitotycznych komórek w fazie G0-G1 <i>in vitro</i> .	(46)
Frakcja eteru naftowego i octanu etylu	
Fracje te mają znaczący wpływ hamujący na produkcję NO i aktywność lucyferazy NF- κ B w komórkach mysich makrofagów RAW 264.7 pochodzących z wodobrzusza samca myszy z guzem indukowanym przez wirus białaczki mysiej Abelsona oraz cytotoksyczność wobec ludzkich komórek raka prostaty PC3 (wywodzą się z przerzutów do kości, charakteryzują się dużą inwazyjnością (stadium IV)) i komórek raka piersi MDA-MB-231 (pochodzą z ludzkiego gruczolakoraka piersi, charakteryzują się dużą agresją i inwazyjnością). Z tych dwóch frakcji wyizolowano sześć głównych składników i zidentyfikowano je jako lanosterol (1), 3 β -hydroksy-8,24-dien-21-al (2), ergosterol (3), inotodiol (4), nadtlenek ergosterolu (5) i kwas trametenolowy (6). Związek ergosterolu, nadtlenku ergosterolu i kwasu trametenolowego wykazał działanie przeciwzapalne, a nadtlenek ergosterolu i kwas trametenolowy wykazały wyraźną cytotoksyczność na komórki ludzkiego raka prostaty PC3 i komórki raka piersi MDA-MB-231.	(26)

Inonotus obliquus jest leczniczym grzybem bogatym w liczne związki wykazujące aktywność przeciwnowotworową. W tabeli 1 przedstawiono, jak określone grupy związków czynnych wpływają na różne postacie nowotworów.

Efekt immunomodulujący a działanie przeciwnowotworowe

Wodny ekstrakt z *I. obliquus* został zaordynowany doustnie, po immunizacji u myszy przez owalbuminę; poziom IgE i IgG2a został znacząco obniżony. Przyjmowanie wodnego ciepłego ekstraktu z *I. obliquus* skutkowało obniżeniem poziomu IL-4 i podniesieniem poziomu interferonu γ w porównaniu z grupą kontrolną. Wyniki te potwierdzają hipotezę, że ekstrakt z *I. obliquus* wspiera odpowiedź typu Th1 (komórkową) *in vivo* i wstrzymuje odpowiedź typu Th2 (humoralną).

Makrofagi są ważnymi czynnikami w układzie immunologicznym, uczestniczą w odpowiedzi immunologicznej poprzez uwalnianie czynników zapalnych, takich jak: tlenek azotu, prostaglandyna E2 (ang. *prostaglandin E2* – PGE2) i cyklooksygenaza indukowana (ang. *cyclooxygenase 2* – COX2), również prozapalnych cytokin TNF- α , IL-6, IL-1 β .

Działanie immunomodulacyjne wodnego ekstraktu z *Inonotus obliquus* zostało przetestowane na komórkach szpiku kostnego myszy, z chemicznie obniżoną odpornością. Wyciąg podawano codziennie przez 24 dni myszom leczonym cyklofosfamidem (400 mg/kg m.c.), immunosupresyjnym środkiem alkilującym. Doustne podanie wyciągu znacznie zwiększyło poziom IL-6 w surowicy. Ponadto poziom TNF- α został podwyższony przez leczenie chemiczne u myszy kontrolnych, podczas gdy u myszy leczonych ekstraktem utrzymywał się na poziomie tła, co wskazuje, że wyciąg może skutecznie tłumić stany patologiczne związane z TNF- α (47, 48). Badania pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Liczba jednostek tworzących kolonię granulocytów i makrofagów wzrosła prawie do poziomu obser-

wowanego w próbie kontrolnej do czasu 8 dni po leczeniu.

2. Doustne podawanie ekstraktu skutkowało znacznym wzrostem w surowicy poziomów IL-6.
3. Przyjmowanie ekstraktu skutkowało indukcją proliferacji splenocytów.
4. W surowicy chemicznie immunosupresowanych myszy leczonych wodnym ekstraktem z grzyba zaobserwowano wzrost poziomu cytokin: IL-6 i TNF- α , które stymulowały naprawę komórek macierzystych i regenerację hematopoetyczną po destrukcji szpiku kostnego.
5. Wyniki badań sugerują, że wyciąg z grzyba chaga może podwyższać w surowicy poziom chemoprotekcyjnych cytokin, a obniżać poziom chemicznie indukowanego TNF- α .
6. Ekstrakt z *I. obliquus* jest w stanie modulować rozregulowaną produkcję cytokin spowodowaną zniszczeniami przez chemioterapię (11).

Działanie hipoglikemiczne i hipolipemiczne

Polisacharydy z micelium i skleroty pochodzące z *I. obliquus* wykazują działanie hipoglikemiczne u myszy z wywołaną cukrzycą. Aktywne składniki odpowiedzialne głównie za działanie przeciwcukrzycowe to: β -glukan, heteroglukany, kompleksy białkowe.

Efekt hipoglikemiczny był utrzymywany przez 3 do 48 godzin po czasie, gdy mysz otrzymała zastrzyk z polisacharydów oczyszczonych z ekstraktu z micelium i skleroty z *I. obliquus*. Leczenie przy pomocy *I. obliquus* doprowadziło do znaczącego spadku poziomu glukozy we krwi u myszy, z indukowaną alloksonem, cukrzycą. Stosowanie chaga znacząco obniżyło całkowity poziom cholesterolu w surowicy krwi, zwiększając aktywność peroksydazy glutationowej. Frakcja octanu etylu z metanolowego ekstraktu z *I. obliquus*, podawana myszom, doprowadziła do obniżenia poziomu trójglicerydów i malonolodialdehydu, a także do zwiększonego poziomu lipoprotein o zwiększonej gęstości i zwiększonego poziomu glikogenu w wątrobie myszy, obciążonej cukrzycą.

Spośród wielu związków wyizolowanych z roślin leczniczych o aktywności hipoglikemicznej, terpenoidy i sterole mają największy potencjał w wykazywaniu działania przeciwcukrzycowego. Rozpuszczalny w wodzie kompleks melanin ekstrahowany z *I. obliquus* poprawia odpowiedź na insulinę i redukuje zawartość tłuszczów w adipocytach. Zaobserwowano to u badanych myszy, u których wywołano otyłość. W zależności od dawki odnotowano wzrost w fosforylacji kinazy Akt i transportera glukozy 4 (ang. *glucose transporter* – GT4) u myszy potraktowanych kompleksem melanin pozyskanym z grzyba *I. obliquus*. Stosowanie kompleksu melanin skutkuje zmianą w ekspresji kilku lipogenicznych genów (18, 49).

Działanie antywirusowe

Ichimura i wsp. dowodzą, że przyjmowanie wodnego ekstraktu z *I. obliquus* skutkowało inhibicją aktywności proteazy HIV-1. Jako czynnik aktywny odpowiedzialny za to działanie został oznaczony związek ligninowy o wysokiej masie cząsteczkowej. Polifenole o niskiej masie molowej i monomeryczne związki ligniny nie wykazywały aktywności inhibicji proteazy. Lignina absorbuje się na proteazie i unieczynnia odwrotną transkryptazę i tym samym progresję wirusa HIV-1 (50). Kukulianska i wsp. stwierdzili, że grzyb chaga zawiera dużą ilość związków fenolowych, włączając w to hispidynę i jej analogi oraz melaniny. Związki te zdają się być związkami aktywnymi w stosunku do inhibicji replikacji wirusa HIV-1, wirusów grypy H1N1 i H3N2 (51).

Brandt i Piraino dowodzą, że związki wykazujące aktywność przeciwwirusową z grzybów można podzielić na dwie klasy:

- działające niebezpośrednio, ale jako modulatory odpowiedzi biologicznej (zazwyczaj z frakcji polisacharydowej)
- działające bezpośrednio jako inhibitory wirerii.

Inonotus obliquus wykazuje także inhibicyjną aktywność wobec wirusa grypy typu A i B i końskiej grypy typu A (52).

Działanie immunostymulujące

Kim i wsp. dowodzą, że endopolisacharydy pochodzące od kultur *I. obliquus* silnie stymulowały limfocyty B i makrofagi odpowiadające za wzmocnienie humoralnej odpowiedzi immunologicznej. Wzmocniona proliferacja limfocytów B i poliklonalnych immunoglobulin M została zaobserwowana po podaniu rozpuszczalnych w wodzie endopolisacharydów. Zawartość arabinozy, galaktozy i mannozy jest podwyższona w polisacharydach z wysoką aktywnością immunomodulującą. Grzyb traktowany jako idealny modulator

odpowiedzi biologicznej ma wpływ na komórkową i humoralną odpowiedź immunologiczną (36).

Działanie antyagregacyjne

Za działanie antyagregacyjne najprawdopodobniej odpowiada nowy tripeptyd składający się z tryptofanu, glicyny i cysteiny. Otrzymano go po oczyszczeniu etanologicznego ekstraktu z *I. obliquus* (z części mycelium) (53).

Działanie przeciwwuczuleniewe

U uczulonych myszy badano, jak ekstrakt z chaga wpłynie na poziom IgE. Okazało się, że przyjmowanie profilaktyczne ekstraktu zmniejszyło skutki szoku anafilaktycznego wywołanego u myszy. Zaobserwowano znaczące zmniejszenie przeciwciał IgE i nieznaczne zmniejszenie IgG. Ponadto zaobserwowano wzrost odpowiedzi przez komórki T pomocnicze typu 1, poprzez wzrost stężenia IFN- α (z ang. *interferon alpha*) (54).

Działanie przeciwzapalne

Przyjmowanie wodnego ciepłego ekstraktu z *I. obliquus* skutkowało obniżeniem poziomu IL-4 i podniosło poziom interferonu γ w porównaniu z grupą kontrolną. Wyniki te potwierdzają hipotezę, że ekstrakt z *I. obliquus* wspiera odpowiedź typu Th1 *in vivo* i wstrzymuje odpowiedź typu Th2. Makrofagi są ważnymi czynnikami w układzie immunologicznym; uczestniczą w odpowiedzi immunologicznej poprzez uwalnianie czynników zapalnych, takich jak: tlenek azotu, PGE2 i COX2. Również prozapalnych cytokin TNF- α , IL-6, IL-1 β . Spożycie wodnego wyciągu z grzyba powodowało zahamowanie sekrecji NO, ale nie czynnika martwicy nowotworu α w stymulowanych lipopolisacharydach (ang. *lipopolisaccharides* – LPS) makrofagach *ex vivo* (55).

Podsumowanie

Błyskoporek podkorowy jest grzybem dobrze poznanym, o szerokim zastosowaniu leczniczym. Dotychczas oznaczono w nim m.in.: związki fenolowe, kwasy fenolowe, analogi hispidyny, ester metylowy kwasu inonotowego, dawallialaktony, felligridyny: D, E, G, triterpeny, inonotusany A-C, kwas 3 β -hydroksy-25,26,27-trinorlanosta-8,22E-dien-24-owy, kwas 3 β -hydroksylanosta-7,9(11),24-trien-21-owy, kwas betuliny, kwas oleanolowy, kwas trametenolowy, inonotsutriele A, B, D, E, inonotlenek A i B, lanosteol, betulina, 3 β -hydroksylanosta-8,24-dien-21-al, fuscoporianol C, 3 β ,22-dihydroksylanosta-7,9(11),24-trien i 3 β ,22 α -dihydroksylanosta-8,25-dien-24-on, inotodiol, ergosterol i nadtlenek ergosterolu, alkohol benzyłowy, polisacharydy (ksylogalaktozylukany) i kompleks fenolowych pigmentów (melaniny). Związki te

gwarantują wysoką aktywność antyoksydacyjną oraz wiele potencjalnych zastosowań farmakologicznych przez udowodnione działanie: przeciwnowotworowe,

hipoglikemiczne i hipolipemiczne, przeciwwirusowe, antyagregacyjne, przeciwzapalne, przeciwuczeniowe czy immunomodulujące.

Piśmiennictwo

1. <http://www.indexfungorum.org>.
2. Łakomy P, Kwaśna H. Atlas hub. Multico, Warszawa 2008.
3. Szychowski KA, Skóra B, Pomianek T i wsp. *Inonotus obliquus* – from folk medicine to clinical use. J Tradit Compl Med 2021; 11(4):293-302.
4. Lemieszek MK, Langner E, Kaczor J i wsp. Anticancer effects of fraction isolated from fruiting bodies of Chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (Pers.:Fr.) Pilát (Aphyllophoromycetideae): in vitro studies. Intern J Med Mushr 2011; 13(2):131-43.
5. Glamočlija J, Ćirić A, Nikolić M i wsp. Chemical characterization and biological activity of Chaga (*Inonotus obliquus*), a medicinal “mushroom”. J Ethnopharmacol 2015; 162:323-32.
6. Awadh A, Mothana NA, Lesnau RAA i wsp. Antiviral activity of *Inonotus hispidus*. Fitoter 2003; 74:483-5.
7. Nakajima Y, Sato Y, Konishi T. Antioxidant small phenolic ingredients in *Inonotus obliquus* (persoon) Pilát (Chaga). Chem Pharmaceut Bull 2007; 55(8):1222-6.
8. Kim HG, Yoon DH, Kim CH i wsp. Ethanol extract of *Inonotus obliquus* inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage cells. J Med Food 2007; 10:80-9.
9. Kuriyama I, Nakajima Y, Nishida H i wsp. Inhibitory effects of low molecular weight polyphenolics from *Inonotus obliquus* on human DNA topoisomerase activity and cancer cell proliferation. Mol Med Rep 2013; 8:535-42.
10. Lee IK, Kim YS, Jang YW i wsp. New antioxidant polyphenols from the medicinal mushroom *Inonotus obliquus*. Bioorg & Med Chem Lett 2007; 17:6678-81.
11. Staniszeńska J, Szymański M, Ignatowicz E. Antitumor and immunomodulatory activity of *Inonotus obliquus*. Herba Polonica 2017; 63:2.
12. Szymański M, Staniszeńska J. Badania jakościowe i ilościowe wyciągów z *Inonotus obliquus*. Post Fitoter 2022; 23(1):3-9.
13. Zheng W, Zhao Y, Zheng X i wsp. Production of antioxidant and metabolites by submerged cultures of *Inonotus obliquus* cocultured with *Phellinus punctatus*. Microbial Cell Physiol 2011; 89:157-67.
14. Zhao F, Mai Q, Ma J i wsp. Triterpenoids from *Inonotus obliquus* and their antitumor activities. Fitoter 2015; 101:34-40.
15. Wold CW, Gerwick WH, Wangenstein H i wsp. Bio-active triterpenoids and water-soluble melanin from *Inonotus obliquus* (Chaga) with immunomodulatory activity. J Funct Foods 2020; 71:104025.
16. Kang JH, Jang JE, Mishra SK i wsp. Ergosterol peroxide from Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) exhibits anticancer activity by down-regulation of the β -catenin pathway in colorectal cancer. J Ethnopharmacol 2015; 173:303-12.
17. Mizuno T, Zhuang C, Abe K i wsp. Antitumor and hypoglycemic activities of polysaccharides from the Sclerotia and Mycelia of *Inonotus obliquus* (Pers.: Fr.) Pil. (Aphyllophoromycetideae). Inter J Medicinal Mushr 1999; 1:301-16.
18. Smolibowska J, Szymański M, Szymański A. Medicinal properties of fungi occurring on Betula sp. trees. A review. Herba Polonica 2016; 62(3):63-76.
19. Babitskaia VG, Shcherba VV, Ikonnikova NV. Melaninovyĭ kompleks griba *Inonotus obliquus* (Melanin complex of the fungus *Inonotus obliquus*). Prikl Biokhim Mikrobiol 2000; 36(4):439-44.
20. Lee JH, Hyun CK. Insulin-sensitizing and beneficial lipid-metabolic effects of the water-soluble melanin complex extracted from *Inonotus obliquus*. Phytother Res 2014; 28(9):1320-8.
21. Tippman S, Scalcinati G, Siewers V i wsp. Production of farnesene and santalene by *Saccharomyces cerevisiae* using fed-batch cultivations with RQ- controlled feed. Biotechnol Bioengineering 2016; 113:72-81.
22. Akter K, Barnes EC, Loa Kum Cheung WL i wsp. Antimicrobial and antioxidant activity and chemical characterization of *Erythrina stricta* Roxb. (Fabaceae). J Ethnopharmacol 2016; 185:171-81.
23. Zhong J, Huang CG, Yu YJ i wsp. Chemical constituents from *Perovskia atriplicifolia*. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi 2015; 40,6:1108-13.
24. Ransden CE, Zamora D, Majrzhak-Hong S i wsp. Re-evaluation of the traditional diet-heart hypothesis analysis of recovered data from Minnesota. Coronary Experiment (1968-73) 2016; 353:1246.
25. Coccimiglio J, Alipour M, Jiang HZ i wsp. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of the ethanolic *Origanum vulgare* extract and its major constituents. Oxidative Med Cell Longev 2016; 9:1404505.
26. Lishuai M, Haixia C, Peng D i wsp. Anti-inflammatory and anticancer activities of extracts and compounds from the mushroom *Inonotus obliquus*. Food Chem 2013; 139:503-8.
27. Zheng W, Zhang M, Zhao Y i wsp. NMR-based metabolomic analysis on effect of light on production of antioxidant phenolic compounds in submerged cultures of *Inonotus obliquus*. Bioresource Technol 2009; 100:4481-7.
28. Sun Y, Yin T, Chen XH i wsp. In vitro antitumor activity and structure characterization of ethanol extracts from Wild and cultivated Chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (Pers.:Fr.) Pil t (Aphyllophoromycetideae). International Journal of Medicinal Mushrooms 2011; 13(2):121-30.
29. Venturella G, Ferraro V, Cirlincione F i wsp. Medicinal Mushrooms: Bioactive compounds, use, and clinical trials. Int J Mol Sci 2021; 10:22(2):634.
30. Kim YO, Park HW, Kim JH i wsp. Anticancer effect and structural characterization of endo-polysaccharide from cultivated mycelia of *Inonotus obliquus*. Life Sci 2006; 79:72-80.
31. Youn MJ, Kim JK, Park SY i wsp. Potential anticancer properties of the water extract of *Inonotus obliquus* by induction of apoptosis in melanoma B16-F10 cells. J Ethnopharmacol 2009; 121:221-8.
32. Hu H, Zhang Z, Lei Z i wsp. Comparative study of antioxidant activity and antiproliferative effect of hot water and ethanol extracts from the mushroom *Inonotus obliquus*. J Bioscience and Bioengineering 2009; 1:42-8.
33. Park HJ. CARI III Inhibits tumor growth in a melanoma-bearing mouse model through induction of G0/G1 cell cycle arrest. Molecules 2014; 19:14383-95.

34. Song FQ, Liu Y, Kong XS i wsp. Progress on understanding the anticancer mechanisms of medicinal mushroom: *Inonotus obliquus*. Asian Pacific J cancer prevention 2013; 14(3):1571-8.
35. Zhang L, Fan C, Liu S i wsp. Chemical composition and antitumor activity of polysaccharide from *Inonotus obliquus*. J Med Plants Res 2011; 5(7):1251-60.
36. Kim YO, Han SB, Lee HW i wsp. Immuno-stimulating effect of the endo-polysaccharide produced by submerged culture of *Inonotus obliquus* Life Sci 2005; 77:2438-56.
37. Fordjour E, Manful CF, Javed R i wsp. Chaga mushroom: a super-fungus with countless facets and untapped potential, Front. Pharmacol 2023; 14:1273786.
38. Su B, Yan X, Li Y i wsp. Effects of *Inonotus obliquus* polysaccharides on proliferation, invasion, migration, and apoptosis of Osteosarcoma Cells. Anal Cell Pathol (Amst) 2020; 17:4282036.
39. Fan L, Ding S, Ai L i wsp. Antitumor and immunomodulatory activity of water-soluble polysaccharide from *Inonotus obliquus*. Carbohydrate Polymers 2012; 90(2):870-4.
40. Nakata T, Taji S, Yamada T i wsp. New Lanostane Triterpenoids, Inonotsutriols D, and E from *Inonotus Obliquus*. Bull Osaka Univ Pharm Scien 2009.
41. Mazurkiewicz W, Rydel K, Pogocki D i wsp. Separation of an aqueous extract *Inonotus obliquus* (Chaga). a novel look at the efficiency of its influence on proliferation of A549 Human Lung Carcinoma Cells. Acta Pol Pharm – Drug Res 2010; 67:397-406.
42. Kang JH, Jang JE, Mishra SK i wsp. Ergosterol peroxide from Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) exhibits anticancer activity by down-regulation of the β -catenin pathway in colorectal cancer. J Ethnopharmacol 2015; 173:303-12.
43. Lee JH, Hyun CK. Insulin-Sensitizing and beneficial lipid-metabolic effects of the water-soluble melanin complex extracted from *Inonotus obliquus*. Phytother Res 2014; 28:1320-8.
44. Youn MJ, Kim JK, Park SY i wsp. Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) induces G0/G1 arrest and apoptosis in human hepatoma HepG2 cells. World J Gastroenterol 2008; 14(4):511-7.
45. Chen C, Zheng W, Gao X i wsp. Aqueous extract of *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat (Hymenochaetaceae) significantly inhibits the growth of sarcoma 180 by inducing apoptosis. Am J Pharmacol Toxicol 2007; 2(1):10-7.
46. Burczyk J, Gawron A, Slotwinska M i wsp. Antimitotic activity of aqueous extracts of *Inonotus obliquus*. Boll Chim Farm 1996; 135(5):306-9.
47. Kim YR. Immunomodulatory Activity of the water extract from medicinal mushroom *Inonotus obliquus*. Mycobiol 2005; 33(3):158-62.
48. Ko S, Jin M, Pyo M. *Inonotus obliquus* extracts suppress antigen-specific IgE production through the modulation of Th1/Th2 cytokines in ovalbumin-sensitized mice. J Ethnopharmacol 2011; 137:1077-82.
49. Lu X, Chen H, Dong P i wsp. Phytochemical characteristics and hypoglycaemic activity of fraction from mushroom *Inonotus obliquus*. J Sci Food Agr 2010; 90:276-80.
50. Ichimura T, Otake T, Mori H i wsp. HIV-1 protease inhibition and anti-HIV effect of natural and synthetic water-soluble lignin-like substance. Biosci Biotechnol Biochem 1999; 63(12):2202-4.
51. Kukulianskaia TA, Kurchenko NV, Kurchenko VP i wsp. Fiziko-khimicheskie svoistva melaninov, obrazuemykh chagoi v prirodnykh usloviakh i pri kul'tivirovanii [Physicochemical properties of melanins produced by *Inonotus obliquus* („chagi”) in the nature and the cultivated fungus]. Prikl Biokhim Mikrobiol 2002; 38(1):68-72.
52. Brandt CR, Piraino F. Mushroom antivirals. Recent Res Dev Antimicrob Agents Chemother 2000; 4:11-26.
53. Hyun KW, Jeong SC, Lee DH i wsp. Isolation and characterization of a novel platelet aggregation inhibitory peptide from the medicinal mushroom, *Inonotus obliquus*. Peptides 2006; 27:1173-8.
54. Yoon TJ, Lee SJ, Kim EY i wsp. Inhibitory effect of chaga mushroom extract on compound 48/80-induced anaphylactic shock and IgE production in mice. Int Immunopharmacol 2013; 15:666-70.
55. Park YM, Won JH, Kim YH i wsp. In vivo and in vitro anti-inflammatory and anti-nociceptive effects of the methanol extract of *Inonotus obliquus*. J Ethnopharmacol 2005; 101:120-8.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 12.07.2023

zaakceptowano/accepted: 4.08.2023

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