

**Сравнение токсичности противоопухолевых веществ:
полисахаридов гриба *Hericium erinaceus* BP 16,
диальдерона и метотрексата**

© 2019. М. А. Азямов¹, к. в. н., в. н. с., А. А. Широких^{1,2}, д. б. н., в. н. с.,
Т. Я. Ашихмина^{2,3}, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,

¹Федеральный аграрный научный центр
Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а,

²Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

³Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,
e-mail: lazermikl@yandex.ru

Поиск безвредных и эффективных биологических субстанций, обладающих противоопухолевым действием, актуален в связи с тем, что все синтетические противораковые препараты, наряду с лечебным эффектом, вызывают системные осложнения, ограничивающие их использование. Среди противоопухолевых средств особое внимание привлекают вещества природного происхождения, в частности полисахариды высших базидиальных грибов и композитные препараты из животного и растительного сырья. Проводили сравнение безвредности и противоопухолевого действия диальдерона (декагидроксипролина-2-деценогидроизохинолина диметиламиноэтанола альбуминат) – композитного препарата, синтезированного из природных соединений на альбуминовом носителе в лаборатории иммунологии ФАНЦ Северо-Востока, и полисахаридной фракции *Hericium erinaceus* BP 16 (ПФНЕ), полученной экстракцией горячей водой из плодовых тел культивированного гриба и содержащей в моносахаридном составе галактозу, глюкозу, арабинозу, маннозу, фукозу, рамнозу, ксилозу в соотношении 27 : 26 : 19 : 14 : 8 : 7 : 1 соответственно. В качестве препарата сравнения использовали инъекционный раствор метотрексата (синтетический противоопухолевый препарат).

Исследование противоопухолевой активности препаратов проводили на белых мышах –опухоленосителях саркомы S-180, определение острой и хронической токсичности – на здоровых белых мышах и крысах. ПФНЕ и диальдерон активировали у мышей выработку альфа-фактора некроза опухолей (α -ФНО) и гамма-интерферона (γ -ИФН), тогда как метотрексат, напротив, снижал уровень этих цитокинов. По сравнению с метотрексатом, диальдерон увеличивал среднюю продолжительность жизни мышей-опухоленосителей на 31,40%, ПФНЕ – на 23,40%. Наибольшее торможение роста опухоли показал ПФНЕ (82,00±0,08%), а диальдерон и метотрексат – 78,50±0,06% и 75,20±0,04% соответственно. Диальдерон и ПФНЕ не оказывали побочного действия на организм животных, а именно: не обладали острой токсичностью в тесте на белых мышах, не вызывали изменений их физиологического состояния и не влияли на гематологические и биохимические показатели крови животных. Тест на хроническую токсичность на крысах показал безвредность ПФНЕ и диальдерона, в то время как метотрексат повышал уровень аминотрансфераз, снижал количество лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов в крови, что проявилось в виде аллергических и токсических симптомов у животных.

Ключевые слова: продолжительность жизни, саркома S-180, торможение роста опухоли, биохимические и гематологические показатели, острая и хроническая токсичность.

**The toxicity comparison of antitumor substances:
the mushroom *Hericium erinaceus* BP 16 polysaccharides,
dialderon and methotrexate**

© 2019. M. A. Azyamov¹ ORCID: 0000-0001-5718-9463^{*}

A. A. Shirokikh^{1,2} ORCID: 0000-0002-7808-0376^{*}

T. Ya. Ashikhmina^{2,3} ORCID: 0000-0003-4919-0047^{*}

¹Federal Agricultural Research Center of North-East named N. V. Rudnitskiy,
166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

²Vyatka State University,
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

³Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Komi Republic, Russia, 167982,
e-mail: lazermikl@yandex.ru

The harmless and effective antitumor biological substances search is relevant because all synthetic anticancer drugs, as well as the therapeutic effect, are causing systemic complications that limit their use. The polysaccharides of higher basidiomycetes and animal and plant raw materials composite preparations are attracted attention among antitumor natural substances. We are conducted harmless and antitumor action comparison of dialderon (decahydroxyproline-2-decenohydroisoquinoline dimethylaminoethanol albuminate) as a composite from natural compounds on albumin carrier synthesized in the Immunology laboratory of Federal Agricultural Research Center of North-East and the polysaccharide fraction (PFNE) in the monosaccharide composition of which galactose, glucose, arabinose, mannose, fucose, rhamnose, xylose were detected in a ration of 27 : 26 : 19 : 14 : 8 : 7 : 1 respectively from the fruit bodies of the comb grasshopper *Hericium erinaceus* BP 16 was obtained by extraction with hot water. The methotrexate solution (a synthetic anticancer drug) was used as a reference drug.

The study of the antitumor activity of the preparations was carried in white mice – tumor carriers of S-180 sarcoma, the definition of acute and chronic toxicity was measured in healthy white mice and rats. PFNE and dialderon activated the production of alpha tumor necrosis factor (α -TNF) and gamma-interferon (γ -IFN) in mice, while methotrexate, reduced the level of these cytokines, in contrast. Dialderon increased the average lifespan of tumor-bearing mice by 31.40%, PFNE – by 23.40% in comparison with methotrexate. PFNE showed the greatest inhibition of tumor growth ($82.00 \pm 0.08\%$), and dialderon and methotrexate showed $78.50 \pm 0.06\%$ and $75.20 \pm 0.04\%$, respectively. Dialderon and PFNE did not have side effects on the animals, namely: did not have acute toxicity on white mice in the test, did not cause changes in their physiological state and did not affect the hematological and biochemical blood parameters of animals. The test for chronic toxicity in rats showed the safety of PFNE and dialderon, while methotrexate increased the level of aminotransferases, reduced the number of lymphocytes, monocytes, and platelets in the blood, which manifested in the form of allergic and toxic symptoms in animals.

Keywords: life expectancy, sarcoma S-180, tumor growth inhibition, biochemical and hematological indicators, acute and chronic toxicity.

Практически все синтетические противоопухолевые препараты вызывают серьёзные системные осложнения с проявлением острой и кумулятивной токсичности, что значительно ограничивает их использование для химиотерапии [1, 2]. Поэтому актуальной задачей является поиск эффективных, нетоксичных биологически активных субстанций, изучение их безопасности и эффективности на биологических моделях и при клинических исследованиях.

Значительную группу современных противоопухолевых препаратов – полисахаридных иммуномодуляторов – производят на основе полисахаридов (ПС) высших базидиальных грибов и используют как вспомогательные средства в терапии рака в странах Юго-Восточной Азии [3–5]. Механизм противоопухолевого действия грибов до сих пор полностью не изучен [5, 6]. Большинство исследователей рассматривают ПС грибов как мультицитокиновые индукторы, способные влиять на экспрессию генов и ряд цитокиновых рецепторов [7, 8]. Особое внимание в этом контексте привлекает ксилотрофный базидиальный гриб – ежевик гребенчатый (*Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers.) [9]. В результате ряда экспериментальных и клинических исследований выявлено противоопухолевое и иммуномодулирующее действие веществ и препаратов, выделенных из плодовых тел и

культивируемого мицелия этого гриба. Так, сообщалось о способности ПС *H. erinaceus* связывать ядерный фактор каппа В (NF- κ B) с ДНК раковых клеток, увеличивать экспрессию каспазы 3 и каспазы 9, активируя апоптомы и вызывая, тем самым, гибель раковых клеток [10]. В другой работе ПС *H. erinaceus* подавляли рост клеток злокачественной опухоли молочной железы, снижая секрецию урокиназы плазминогена, вызывая апоптоз эндотелиальных клеток рака *in vitro*. При введении водного экстракта полисахаридов *H. erinaceus* белым мышам после перевивки злокачественной Т-лимфомы EL-4 и Т-клеточного лимфолейкоза P388 выживаемость животных, по сравнению с контрольной группой, повышалась на 40%. Водно-спиртовой экстракт ПС *H. erinaceus* может ингибировать рост клеток рака желудка, вызывая экспрессию белков 1433S и MTUS2 и активируя перитонеальные макрофаги [11]. Установлено повышение резистентности белых мышей к перевивке асцитной карциномы Эрлиха в результате применения водных экстрактов ежевика гребенчатого. Показано положительное влияние профилактического приёма водного экстракта гриба в экспериментальных моделях спонтанных и индуцированных аденом лёгких у мышей [12]. Авторы приведённых работ связывают противоопухолевое и иммуномодулиру-

ющее действие с различными по структуре ПС гриба. Всего из плодовых тел, мицелия и культуральной жидкости *H. erinaceus* к настоящему времени выделено 35 различных ПС [9].

Известно, что разные штаммы одного вида могут сильно различаться по своему полисахаридному составу. Кроме того, на этот состав может оказывать влияние характер субстрата, на котором растёт гриб в природе или при искусственном культивировании.

Целью нашей работы являлось изучение на лабораторных животных противоопухолевой активности и определение острой и хронической токсичности ПС из плодовых тел *H. erinaceus* (ПФНЕ) в сравнении с композитным препаратом из природных компонентов – диальдероном и метотрексатом.

Материалы и методы

Для выделения полисахаридов использовали плодовые тела гриба *H. erinaceus* ВР 16, выращенные в описанных ранее условиях [13]. Таксономическое положение штамма ВР 16 установлено на основе секвенирования последовательностей ITS1-5S-ITS2 участка nrDNA. Полученный сиквенс депонирован в международной информационной базе NCBI GenBank ((<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), учётный номер – MK809367). Плодовые тела измельчали, заливали горячей (70 °С) дистиллированной водой и оставляли на 8 ч для экстракции, после чего полисахариды осаждали добавлением 96% этанола (1:4, V/V). Полученный осадок отделяли центрифугированием, растворяли в дистиллированной воде, раствор лиофилизировали, получали суммарную фракцию растворимых в воде полисахаридов – ПФНЕ. В составе ПФНЕ, после гидролиза полисахаридов, в виде ацетатов полиолов, методом ГЖХ выявлены галактоза, глюкоза, арабиноза, манноза, фукоза, рамноза, ксилоза в соотношении 27 : 26 : 19 : 14 : 8 : 7 : 1 соответственно [14].

Биологическую активность ПФНЕ изучали в сравнении с ранее описанным [15] композитным препаратом природного происхождения – диальдероном и синтетическим противоопухолевым препаратом метотрексатом («Эбеве», Австрия). Эксперименты выполняли на беспородных белых мышах и крысах в соответствии с международными рекомендациями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях от 18 марта 1986 г.

Исследование противоопухолевой активности исследуемых веществ и препаратов проводили на модели перевиваемой саркомы S-180 в соответствии с методикой [16]. Было сформировано 4 группы животных, в каждой группе – 20 мышей-самцов с массой тела $22,0 \pm 1,0$ г. Животных содержали при естественном режиме освещения и свободном доступе к воде и пище. Мышей-опухоленосителей контрольной группы лечению не подвергали. Животным первой подопытной группы вводили цитостатик метотрексат внутривентриально в дозе 20 мкг один раз в сутки с интервалом в 48 ч, т. е. делали 5 инъекций в течение 10 сут. Животным второй и третьей подопытных групп вводили соответственно диальдерон и ПФНЕ внутривентриально по 20 мг (0,2 мл раствора) по аналогичной схеме, начиная инъекции через двое суток после перевивки опухоли. За экспериментальными животными вели наблюдения до естественной смерти в течение 100 сут. У всех мышей, в том числе контрольной группы, определяли концентрацию альфа-фактора некроза опухолей (α -ФНО) и гамма-интерферона (γ -ИФН) в культуре спленоцитов селезёнки методом иммуноферментного анализа (ИФА) диагностикумами «Cusabio Biotech Co» (Китай) на иммуноферментном анализаторе Zenyth 340 (Anthos).

Терапевтический эффект противоопухолевого действия препаратов оценивали по торможению роста опухоли (Т) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ) в процентах, которые вычисляли по формулам 1 и 2 соответственно:

$$T = \frac{M_{\text{опыт}} - M_{\text{контроль}}}{M_{\text{опыт}}} \cdot 100\% , \quad (1)$$

где М – масса опухолевой ткани;

$$\text{УПЖ} = \frac{\text{СПЖ}_{\text{опыт}} - \text{СПЖ}_{\text{контроль}}}{\text{СПЖ}_{\text{опыт}}} \cdot 100\% , \quad (2)$$

где СПЖ – средняя продолжительность жизни мышей (в сут) в группе.

Острую токсичность препаратов определяли на здоровых беспородных белых мышах-самцах массой 20–21 г. Из животных были сформированы четыре группы по 20 особей в каждой. В контрольной группе мышей не подвергали манипуляциям (интактные животные). В первой подопытной группе мышам производили внутривентриальные инъекции метотрексата в дозе 20 мкг один раз в сутки в течение семи дней. Животным второй и третьей подопытных групп соответственно

вводили диальдерон и ПФНЕ внутривенно в дозах 20 мг по аналогичной схеме.

В ходе экспериментов оценивали общее состояние и поведение животных, внешний вид кожного покрова, потребление корма и воды. Через день после завершения курса инъекций определяли гематологические и биохимические показатели крови испытуемых животных, согласно методикам [17] с использованием анализатора Hitachi 912 (Германия, Япония).

Хроническую токсичность препаратов изучали на белых крысах-самцах с массой тела 200–250 г, в сформированных по методу аналогов четырёх группах – контрольной и трёх подопытных, по 10 животных в каждой. Животным контрольной группы вводили физиологический раствор в дозе 0,2 мл один раз в сутки подкожно. Животным первой подопытной группы вводили метотрексат внутримышечно в дозе 2 мг/кг массы тела один раз в сутки. Поскольку данный препарат угнетает метаболизм фолиевой кислоты, всем животным этой группы ежедневно давали фолиевую кислоту орально по 0,2 мг. Крысам второй и третьей подопытных групп соответственно вводили диальдерон и ПФНЕ в дозах 20 мг на животное подкожно по аналогичной схеме. В период введения препаратов (60 сут) за животными вели наблюдение, оценивали их физиологическое состояние, активность, потребление корма и воды. По окончании опыта определяли биохимические и гематологические показатели крови исследуемых животных.

Статистическая обработка данных вы-

полнена стандартными методами в программе «Statistica 5,0».

Результаты и обсуждение

Изучение противоопухолевой активности препаратов выявило значительное удлинение средней продолжительности жизни (СПЖ) мышей-опухоленосителей саркомы S-180 во всех подопытных группах по сравнению с контролем, в котором нелеченные мыши выжили не более 14,80±0,08 сут, и масса опухоли за это время уже достигала 2,10±0,03 г (табл. 1).

Наиболее высокий показатель СПЖ (90,20±0,02 дней) наблюдали после курса инъекций диальдерона, существенно более низкий (58,80±0,74 дня) – после терапии метотрексатом. Увеличение продолжительности жизни (УПЖ) мышей после десятидневного применения диальдерона и ПФНЕ было практически идентичным, составив 83,60±0,06% и 82,00±0,04% соответственно. Курс терапии ПФНЕ в третьей подопытной группе наиболее эффективно (82,00±0,08%) вызывал торможение роста опухоли (Т), что согласуется с данными о повышении экспрессии генов каспаз, металлопротеиназ и высоком апоптотическом эффекте полисахаридных фракций ежевика гребенчатого [10].

Десятидневное введение диальдерона тормозило рост опухоли на 78,50±0,06% по сравнению с контролем. Диальдерон активировал ТН-1 клеточный иммунитет, на что указывало значительное повышение уровня α-ФНО и γ-ИФН. Причём, максимально вы-

Таблица 1 / Table 1

Изучение противоопухолевой активности препаратов
The study of the antitumor activity of drugs

Показатели Markers	Контрольная группа ¹ Control group ¹	Подопытные группы Experimental groups		
		1-я группа ² 1st group ²	2-я группа ³ 2nd group ³	3-я группа ⁴ 3rd group ⁴
Масса опухоли, г / Tumor mass, g	2,10±0,03	0,520±0,020	0,45±0,01	0,38±0,04
Средняя продолжительность жизни в группе, дни Average life expectancy in the group, days	14,80±0,08	58,80±0,74	90,20±0,02	82,20±0,03
Увеличение продолжительности жизни, % Increase in life expectancy, %	–	74,80±0,02	83,60±0,06	82,00±0,04
Торможение роста опухоли, % Tumor growth inhibition, %	–	75,20±0,04	78,50±0,06	82,00±0,07
Уровень α-ФНО, пг/мл The level of α-TNF, pg/mL	180,40±1,17	167,50±0,85	840,50±0,76	510,40±0,81
Уровень γ-ИФН, пг/мл The level of γ-IFN, pg/mL	210,20±1,15	192,50±0,24	1245,70±0,89	670,20±0,45

Примечание: 1 – нелеченные мыши, 2 – метотрексат, 3 – диальдерон, 4 – ПФНЕ.

Note: 1 – intact mice, 2 – methotrexate, 3 – dialderon, 4 – PSHE.

сокий уровень этих цитокинов сохранялся у животных второй подопытной группы в течение всего срока наблюдения. Аналогичные, но количественно менее выраженные изменения показателей α -ФНО и γ -ИФН наблюдали в культуре спленоцитов мышей после терапии ПФНЕ. По сравнению с контрольной группой, уровень α -ФНО после лечения диальдероном во второй подопытной группе повышался в 4,7 раза, в третьей (ПФНЕ) – в 2,8 раза, что свидетельствует об усилении активации перитонеальных макрофагов и спленоцитов грибным ПС.

Лечение метотрексатом приводило к обратному результату. Уровень α -ФНО и γ -ИФН у животных первой подопытной группы был ниже, чем в контроле. Цитотоксический эффект метотрексата обусловлен угнетением фермента дигидрофолатредуктазы, что приводит к уменьшению внутриклеточного содержания тетрагидрофолата – переносчика атомов углерода при синтезе ДНК и торможению митоза раковых клеток в S-фазе [18]. Но при этом также снижается выработка «противовоспалительных» цитокинов, в том числе α -ФНО и γ -ИФН, в связи со стимуляцией дифференцировки моноцитов и их апоптозом в опухолевом очаге [19].

При тестировании препаратов на острую токсичность гибели животных не отмечено ни в одной из подопытных групп. Мыши второй и третьей подопытных групп вели себя спокойно, оставались активными, охотно поедали

корм, нормально реагировали на внешние раздражители. После инъекций диальдерона и ПФНЕ у животных не отмечали нарушения координации движений, тонуса мышц, изменения реакции зрачка, частоты и глубины дыхания. Мыши первой подопытной группы, после инъекций метотрексата, напротив, проявляли беспокойство, переходящее в угнетение, координация животных изменялась, животные тяжело дышали, иногда сидели неподвижно, пили много воды. Такое состояние продолжалось 45–120 мин, затем организм животных возвращался к физиологической норме. После введения метотрексата у мышей наблюдались также аллергические явления в виде зуда, расчёсов, слезотечения и кашля.

При сравнительном исследовании препаратов на острую токсичность отклонений гематологических и биохимических показателей крови от физиологической нормы у мышей второй и третьей групп не отмечали, что подтверждает безвредность инъекционных форм диальдерона и ПФНЕ. В отличие от препаратов природного происхождения, цитостатик метотрексат, по сравнению с контролем, вызывал снижение лейкоцитов и эозинофилов в крови в пределах физиологической нормы, а также повышение аланинаминотрансферазы (АлАт), что указывает на его побочные аллергические и гепатотоксические свойства (табл. 2).

При тестировании препаратов на хроническую токсичность у крыс второй и третьей подопытных групп не отмечено отклонений от

Таблица 2 / Table 2

Показатели крови мышей при исследовании препаратов на острую токсичность
Blood counts of mice in the study of drugs for acute toxicity

Показатели Markers	Контрольная группа ¹ Control group ¹	Подопытные группы Experimental groups		
		1-я группа ² 1st group ²	2-я группа ³ 2nd group ³	3-я группа ⁴ 3rd group ⁴
Эритроциты, 10 ¹² /л / Erythrocytes, 10 ¹² /L	8,81±0,51	8,45±0,26	8,78±0,28	8,82±0,14
Лейкоциты, 10 ⁹ /л / Leukocyte, 10 ⁹ /L	7,98±0,47	5,62±0,12	10,25±0,37	10,42±0,21
Эозинофилы, % / Eosinophils, %	3,60±0,57	1,24±0,44	3,20±0,27	2,60±0,16
Моноциты, % / Monocytes, %	4,50±0,34	2,45±0,16	2,50±0,61	8,40±0,22
Лимфоциты, % / Lymphocytes, %	65,70±1,42	45,85±0,28	67,80±0,21	68,80±0,48
Мочевина, ммоль/л / Urea, mmol/L	3,75±0,18	3,57±0,24	3,81±0,15	3,57±0,25
Креатинин, мг/дл / Creatinine, mg/dL	0,51±0,02	0,62±0,04	0,49±0,01	0,48±0,05
Глюкоза, моль/л / Glucose, mol/L	6,72±0,45	6,44±0,96	6,78±0,21	6,81±0,14
Гемоглобин, г/дл / Hemoglobin, g/dL	12,80±1,12	12,64±0,18	14,10±0,25	13,80±0,54
Холестерин, ммоль/л / Cholesterol, mmol/L	2,57±0,16	2,61±0,13	2,39±0,24	2,44±0,72
АсАт, ед./л / AsAt, unit/L	78,85±1,68	75,22±0,89	76,96±1,11	72,84±0,82
АлАт, ед./л / AlAt, unit/L	62,31±2,11	82,40±0,16	65,81±2,61	64,96±1,12

Примечание: 1 – нелеченные мыши, 2 – метотрексат, 3 – диальдерон, 4 – ПФНЕ.
Note: 1 – intact mice, 2 – methotrexate, 3 – dialderon, 4 – PSHE.

Таблица 3 / Table 3

Показатели крови крыс при исследовании препаратов на хроническую токсичность
Blood rats in the study of drugs for chronic toxicity

Показатели Markers	Контрольная группа ¹ Control group ¹	Подопытные группы Experimental groups		
		1-я группа ² 1st group ²	2-я группа ³ 2nd group ³	3-я группа ⁴ 3rd group ⁴
Эритроциты, 10 ¹² /л / Erythrocytes, 10 ¹² /L	7,54±0,06	6,80±0,02	7,61±0,04	7,58±0,08
Лейкоциты, 10 ⁹ /л / Leukocyte, 10 ⁹ /L	8,80±0,24	7,80±0,34	9,68±0,15	10,71±0,35
Эозинофилы, % / Eosinophils, %	1,80±0,42	0,20±0,01	1,60±0,07	1,60±0,65
Моноциты, % / Monocytes, %	2,50±0,54	1,10±0,04	6,70±0,25	5,80±0,45
Лимфоциты, % / Lymphocytes, %	71,70±2,02	64,80±0,08	74,20±1,04	84,60±1,04
Тромбоциты, 10 ⁹ /л / Platelets, 10 ⁹ /L	376,00±2,18	238,80±4,25	365,20±2,04	374,80±2,11
Гемоглобин, г/дл / Hemoglobin, g/dL	142,70±2,52	128,60±3,18	147,10±1,16	150,80±0,24
Глюкоза, ммоль/л / Glucose, mmol/L	13,20±0,14	10,20±0,81	12,80±0,45	13,40±0,21
Биллирубин, мкмоль/л / Bilirubin, mol/L	1,57±0,41	2,19±0,38	1,62±0,35	1,58±0,15
АсАт, ед./л / AsAt, unit/L	138,20±0,43	214,50±0,65	126,20±0,85	156,80±1,28
АлАт, ед./л / AlAt, unit/L	78,40±1,64	192,60±0,82	80,20±2,46	76,90±2,61

Примечание: 1 – физраствор, 2 – метотрексат, 3 – диальдерон, 4 – ПФНЕ.

Note: 1 – saline, 2 – methotrexate, 3 – dialderon, 4 – PSHE.

физиологической нормы. Крысы обеих групп в течение опыта вели себя естественно, адекватно реагировали на внешние раздражители, у них не наблюдали нарушения аппетита и снижения активности. Не отмечали болевого беспокойства, нарушения тонуса мышц, координации движений, частоты дыхания у животных и после инъекций диальдерона и ПФНЕ. Гематологические и биохимические показатели крови крыс из второй и третьей подопытных групп достоверно не изменялись по сравнению с показателями крови контрольных животных (табл. 3).

Было отмечено незначительное повышение моноцитов в пределах физиологической нормы, что, вероятно, связано с частичной индукцией цитокинов и стимуляцией дифференцировки моноцитов.

У животных первой подопытной группы, при введении метотрексата (с фолиевой кислотой), отмечали частые случаи аллергии (чихание, зуд, расчёсы), частичный отказ от корма, нарушение координации движений, артралгии, судороги, снижение активности и учащение дыхания. В показателях крови имело место увеличение АсАт (аспартатаминотрансферазы) и, особенно, АлАт (аланинтрансферазы), что отражает гепатотоксичность метотрексата. Также наблюдали снижение содержания лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов и эозинофилов, что характерно для картины, складывающейся после курса цитостатиков, к группе которых относят метотрексат.

Заключение

В результате выполненных исследований установлено противоопухолевое действие ПФНЕ, сопоставимое по увеличению СПЖ мышечной-опухоленосителей саркомы S-180 и торможению роста опухоли с комбинированным препаратом из природных компонентов диальдероном, и достоверно превосходящее по этим показателям синтетический цитостатик метотрексат.

Изучение острой и хронической токсичности препаратов на лабораторных животных продемонстрировало безвредность ПФНЕ и диальдерона, что подтвердилось отсутствием побочного действия после их применения и сохранением гематологических и биохимических показателей у животных в пределах физиологической нормы.

Литература

1. Переводчикова Н.И. Клинико-фармакологическая характеристика противоопухолевых средств // Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Под ред. Н.И. Переводчиковой, В.А. Горбуновой. М.: Практическая медицина, 2015. С. 49–57.
2. Nikolova T., Roos W.P., Krämer O.H. Chloroethylating nitrosoureas in cancer therapy: DNA damage, repair and cell death signaling // Biochim. Biophys. Acta. 2017. V. 1868 (1). P. 29–39.
3. Вассер С.П. Наука о лекарственных шляпочных грибах: современные перспективы, достижения, до-

казательства и вызовы // Биосфера. 2015. Т. 7. № 2. С. 238–248.

4. Liu J.J., Gunn L., Hansen R., Yan J. Combined yeast-derived beta glucan with anti-tumor monoclonal antibody for cancer immunotherapy // *Exper. Mol. Pathol.* 2009. No. 86. P. 208–214.

5. Lindequist U. The merit of medicinal mushrooms from a pharmaceutical point of view // *Int. J. Med. Mushrooms.* 2013. V. 15 (6). P. 17–23.

6. De Silva D.D., Rapior S., Sudarman E., Stadler M., Xu J., Alias S.A., Hyde K.D. Bioactive metabolites from macrofungi: ethnopharmacology, biological activities and chemistry // *Fungal Diversity.* 2013. No. 62. P. 1–40.

7. Zhang M., Cui S.W., Cheung P.K., Wang Q. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation, structural characteristics and antitumor activity // *Trends Food Sci. Technol.* 2007. No. 18. P. 4–19.

8. Zan X., Cui F., Li Y., Yang Y., Wu D., Sun W., Ping L. *Hericium erinaceus* polysaccharide – protein HEG-5 inhibits SGC-7901 cell growth via cell cycle arrest apoptosis // *Int. J. Biol. Macromol.* 2015. No. 76. P. 242–253.

9. He X., Wang X., Fang J., Chang Y., Ning N., Guo H., Zhao Z. Structures, biological activities, and industrial applications of the polysaccharides from *Hericium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom: A review // *Int. J. Biol. Macromol.* 2017. V. 97. P. 228–237.

10. Ren S., Qin T., Song Y., Lin D., Li J., Huang Y. Immunomodulatory effects of hydroxyethylated *Hericium erinaceus* polysaccharide on macrophages RAW 264.7 // *Int. J. Biol. Macromol.* 2017. No. 5 (Pt. 1). P. 879–885.

11. Chang H.C., Yang H.L., Pan J.H., Korivi M., Pan J.Y., Hsieh M.C., Chao P.M., Huang P.J., Tsai C.T., Hseu Y.C. *Hericium erinaceus* inhibits TNF- α -induced angiogenesis and ROS generation through suppression of MMP-9/NF- κ B signaling and activation of Nrf2-mediated antioxidant genes in human EA // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. No. 8. P. 238–257.

12. Тимохина Н.И., Сушко С.Н., Веялкина Н.Н., Гончаров С.В., Трухоновец В.В. Биологически-активные свойства водных экстрактов культивированных грибов *Hericium erinaceus* // Проблемы здоровья и экологии. 2017. № 2 (52). С. 71–74.

13. Широких А.А., Злобина Ю. А., Широких И.Г. Биодegradация растительных отходов и получение плодовых тел при культивировании ежевика гребенчатого (*Hericium erinaceus*) // Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 3. С. 86–92.

14. Назарова Я.И., Широких И.Г., Широких А.А., Головченко В.В. Выделение и исследование моносахаридного состава полисахаридных фракций гриба *Hericium erinaceus* // Фундаментальная гликология: Сб. материалов IV Всерос. конф. 23–28 сентября 2018. Киров: Науч. изд-во ФГБОУ ВО «ВятГУ», 2018. С. 71–78.

15. Аязмов М.А. Возможность частичной замены антибиотиков биологически активными веществами при

лечении клинических маститов у коров // Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 4. С. 127–134.

16. Киреев Г.В., Ассесорова Ю.Ю., Юсупова А.Ф., Ибрагимов Ф.А., Голубенко З.А. Изучение влияния циклофосфана и соевых белков на рост перевиваемых опухолей мыши // Сибирский онкологический журнал. 2006. № 2 (18). С. 42–46.

17. Березовская И.В., Гуськова Т.А., Дуриев А.Д. Методические рекомендации по изучению безопасности воспроизведенных лекарственных препаратов // Биомедицина. 2011. № 3. С. 78–80.

18. Насонов Е.Л. Метотрексат: перспективы применения в ревматологии. М.: Филоматис, 2005. 200 с.

19. Braun J. Comparison of the clinical efficacy and safety of subcutaneous versus oral administration of methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis: results of a six-month, multicenter, randomized, double-blind, controlled, phase IV trial // *Arthr Rheum.* 2008. No. 58 (1). P. 73–81.

References

1. Perevodchikova N.I. Clinical and pharmacological characteristics of antitumor agents // Guidelines for the chemotherapy of tumor diseases / Eds. N.I. Perevodchikova, V.A. Gorbunova. Moskva: Prakticheskaya meditsina, 2015. P. 37–41, 49–57 (in Russian).

2. Nikolova T., Roos W.P., Krämer O.H. Chloroethylating nitrosoureas in cancer therapy: DNA damage, repair and cell death signaling // *Biochim. Biophys. Acta.* 2017. V. 1868 (1). P. 29–39.

3. Vasser C.P. The science of medicinal mushrooms: modern perspectives, achievements, evidence, and challenges // *Biosfera.* 2015. V. 7. No. 2. P. 238–248 (in Ukraine).

4. Liu J.J., Gunn L., Hansen R., Yan J. Combined yeast-derived beta glucan with anti-tumor monoclonal antibody for cancer immunotherapy // *Exper. Mol. Pathol.* 2009. No. 86. P. 208–214.

5. Lindequist U. The merit of medicinal mushrooms from a pharmaceutical point of view // *Int. J. Med. Mushrooms.* 2013. V. 15 (6). P. 17–23.

6. De Silva D.D., Rapior S., Sudarman E., Stadler M., Xu J., Alias S.A., Hyde K.D. Bioactive metabolites from macrofungi: ethnopharmacology, biological activities and chemistry // *Fungal Diversity.* 2013. No. 62. P. 1–40.

7. Zhang M., Cui S.W., Cheung P.K., Wang Q. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation, structural characteristics and antitumor activity // *Trends Food Sci. Technol.* 2007. No. 18. P. 4–19.

8. Zan X., Cui F., Li Y., Yang Y., Wu D., Sun W., Ping L. *Hericium erinaceus* polysaccharide – protein HEG-5 inhibits SGC-7901 cell growth via cell cycle arrest apoptosis // *Int. J. Biol. Macromol.* 2015. No. 76. P. 242–253.

9. He X., Wang X., Fang J., Chang Y., Ning N., Guo H., Zhao Z. Structures, biological activities, and industrial ap-

plications of the polysaccharides from *Hericiium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom: A review // Int. J. Biol. Macromol. 2017. V. 97. P. 228–237.

10. Ren S., Qin T., Song Y., Lin D., Li J., Huang Y. Immunomodulatory effects of hidroxyethylated *Hericiium erinaceus* polysaccharide on macrophages RAW 264.7 // Int. J. Biol. Macromol. 2017. No. 5 (Pt. 1). P. 879–885.

11. Chang H.C., Yang H.L., Pan J.H., Korivi M., Pan J.Y., Hsieh M.C., Chao P.M., Huang P.J., Tsai C.T., Hseu Y.C. *Hericiium erinaceus* inhibits TNF- α -induced angiogenesis and ROS generation through suppression of MMP-9/NF- κ B signaling and activation of Nrf2-mediated antioxidant genes in human EA // Oxid. Med. Cell. Longev. 2016. No. 8. P. 238–257.

12. Тимохина Н.И., Сушко С.Н., Веялкина Н.Н., Гончаров С.В., Трухоновец В.В. Биологически-активные свойства водных экстрактов культивированных грибов *Hericiium erinaceus* // Проблемы здоровья и экологии. 2017. № 2 (52). С. 71–74.

13. Shirokikh A.A., Zlobina Yu.A., Shirokikh I.G. Biodegradation of plant waste and the production of fruit bodies during the cultivation of the fungus *Hericiium erinaceus* // Theoretical and Applied Ecology. 2018. No. 3. P. 86–92 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-3-086-092

14. Nazarova Ya.I., Shirokih I.G., Shirokih A.A., Golovchenko V.V. Isolation and study of monosaccharide

composition of polysaccharide fractions of the fungus *Hericiium erinaceus* // Fundamental glycobiology. Kirov: Nauch. izd-vo FGBOU VO VyatGU, 2018. P. 71–78 (in Russian).

15. Azyamov M.A. The partial replacement of antibiotics with biologically active substances at treatment of cows' mastitis // Theoretical and Applied Ecology. 2018. No. 4. P. 127–134 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-4-127-134

16. Kireyev G.V., Assessorova Yu.Yu., Yusupova A.F., Ibragimov F.A., Golubenko Z.A. Study of the effect of cyclophosphane and soy proteins on the growth of transplantable mouse tumor // Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal. 2006. No. 2 (18). P. 42–46 (in Russian).

17. Berezovskaya I.V., Gus'kova T.A., Duriyev A.D. Guidelines for the study of the safety of reproduced drugs // Biomeditsina. 2011. No. 3. P. 78–80 (in Russian).

18. Nasonov E.L. Methotrexate: prospects for use in heumatology. Moskva: Filomatis, 2005. 200 p. (in Russian).

19. Braun J. Comparison of the clinical efficacy and safety of subcutaneous versus oral administration of methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis: results of a six-month, multicenter, randomized, double-blind, controlled, phase IV trial // Arthr Rheum. 2008. No. 58 (1) P. 73–81.