

РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН
Министерство инвестиций и развития
Министерство здравоохранения и социального развития
Министерство образования и науки

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ БЮЛЛЕТЕНЬ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

2015
№ 3-4



**ISSN 2224-0225
№ 3-4 (172)
2015 г.
Издается с 1996 г.**

**Фармацевтический бюллетень
НАУЧНО – ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ**

Главный редактор:
С.М. Адекенов
(г. Караганда)

Зам. главного редактора:
Г.А. Атажанова
(г. Караганда)

Редакционный совет:

В.Л. Багирова
(г. Москва),
В.С. Чучалин
(г. Томск),
А.У. Тулегенова
(г. Алматы),
А.К. Сариев
(г. Москва),
Ю.В. Подпружников
(г. Киев),
M. Iqbal Choudhary
(Пакистан),
K.H.C. Baser
(Турция),
G. Appendino
(Италия),
Г.П. Павелковская
(г. Алматы),
К.Б. Мурзагулова
(г. Павлодар),
Е.Г. Толоконников
(г. Караганда),
Г.М. Мухаметжанова
(г. Караганда)

Издание зарегистрировано Комитетом информации и архивов Министерства связи и информации Республики Казахстан. Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания №11473-Ж, выдано 24 февраля 2011 года.

Рекламодатели предупреждены об ответственности за рекламу не зарегистрированных, не разрешенных к применению Министерством здравоохранения РК лекарственных препаратов, за достоверность сведений в рекламе и объявлений.

Оставляем за собой право редакторской правки статей.

Технический секретарь:
Сафонова М.В.
(г. Караганда)

Адрес редакции:
100009, г. Караганда,
ул. М. Газалиева, 4
тел.: 8 (7212) 43-39-10
e-mail: phyto_pio@mail.ru

Отпечатано в типографии
ТОО «Гласир»,
Номер подписан в печать
18.11.2015
Тираж: 1000 экз.

При перепечатке ссылка на журнал «Фармацевтический бюллетень» обязательна

Уважаемые читатели!

Очередной номер издания «Фармацевтический бюллетень» посвящается лекарственным препаратам и пищевым добавкам лечебно-профилактического назначения на основе фитоэкдистероидов (перспективные источники экдистероидов с практически ценными свойствами, схемы их синтеза, технология выделения и очистки, стандартизация и т.д.). При этом большое внимание уделяется опыту работы известных зарубежных исследователей в данной области.

Химия стероидов как особая часть органической химии начала развиваться с конца 20-х годов двадцатого столетия, когда Виланд и Виндаус впервые предложили формулу для важнейших стероидных соединений – холестерина и холевой кислоты. За этот сравнительно короткий срок химия стероидов дала замечательные результаты, ценные для всей органической химии в целом.

Стероиды играют выдающуюся роль в жизнедеятельности живых (преимущественно) и растительных организмов, регулируя их важнейшие, жизненные функции и служат прекрасным подтверждением факта единства животного и растительного мира. Часто близость строения различных стероидов сочетается с существенным различием выполняемой ими биологической роли.

Распространенность стероидных соединений, как в животном, так и в растительном мире и исключительно важная роль стероидных гормонов в регулировании жизненных процессов, обусловили широкий размах научных исследований, в ходе которых были получены важные практические результаты.

Сейчас во многих странах налажено промышленное производство стероидных гормонов, предлагаемых на мировом коммерческом рынке фирмами Gero Vita, Natural Elixir, Life Science Technologies, Cytodyne Technologies, Mirra, Борисовский завод медицинских препаратов РУП, Российская фармацевтическая компания - ЗАО «Пенткрофт Фарма» и т.д. Благодаря стероидным гормонам и, прежде всего, кортизону, стало возможным излечивать такие тяжелые болезни как ревматоидные артриты, а замены стероидным гликозидам (сердечные гликозиды, кардиотонические стероиды) пока не найдено.

Растительные стероиды (фитоэкдистероиды) будучи гормонами для членистоногих, но не являясь ими для теплокровных и в том числе для человека, имеют более слабый анаболический эффект, чем синтетические препараты, но повышать общую работоспособность организма могут больше чем последние. Растительные стероиды практически не имеют побочных эффектов и противопоказаний. Применяются отдельно или в комплексе с другими анаболическими препаратами для усиления их совместного действия. Растительные препараты повышают действие анаболических процессов организма.

Современные исследования растительных стероидов неразрывно связаны с широким спектром биологической активности представителей природных соединений, многие из которых, в частности, экдистероиды, являются незаменимыми при производстве ряда лекарственных препаратов.

В области фармакологии растительных стероидов в последние годы большая часть работ также посвящена лишь одной группе данных соединений — экдистероидам, как растительным анаболическим веществам.

Во многих научных центрах мира проводятся активные исследования в области экдистероидов: в доступной нам литературе наибольшее число работ в области химии растительных стероидов посвящено исследованию экдистероидов растений в плане выявления перспективных производителей для использования в медицине, косметологии, пищевой промышленности и сельском хозяйстве (В.В. Володин - Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; Б.И. Тулеев - МНПХ «Фитохимия»), по синтезам на основе экдистероидов (В.Н. Одноков и др. - Институт нефтехимии и катализа РАН, г. Уфа), в том числе с получением новых субстанций для препаратов пролонгированного действия.

Известно, что фитоэкдистероиды являются довольно широко распространенными вторичными метаболитами растений и установлено более 300 различных их структурных соединений.

В настоящее время известно более 335 эндистероидсодержащих препаратов и субстанции различных лекарственных форм (твердых, жидких, мягких) таких, как «Леветон», «Адаптон», «Русс-Олимпик», «Prime 1», «Prime Plus», «Triboxin», «Cytodin ZM», «Firm Ease», «Ecdybol», «Power Health», «Z-mass», «Аюстан», «Жистенин», «Эксумид» и др.). На основе высокоочищенных эндистероидов из корней и корневищ *Rhaponticum carthamoides* (левзея сафлоровидная) освоен выпуск препарата «Эндистен» на фармацевтических производствах в Баку, Мантурово и Ташкенте; действуют экстрактырабатывающие предприятия промышленной отрасли в Бийске, Томске и Красногорске. Аналогично, разработаны биохимические технологии по выделению и очистке действующих веществ из фитомассы *Serratula coronata* (серпуха венценосная) - препарат под названием «Эндистен - S». Также известны такие препараты на основе эндистероидов, как «Эндифит», «Серпистен», «Туркистерон», «Ратибол» и пр. В настоящее время фармацевтическими фирмами Genesis Group, Fitostar, И Mitra ведутся разработки нового класса эндистероидсодержащих фитопрепаратов из цельного лекарственного сырья *Rhaponticum carthamoides*, характеризующихся высокой биологической активностью при малых дозах.

В данном номере журнала представлены обзорные статьи отечественных и зарубежных ученых по поиску новых растительных источников с высоким содержанием эндистероидов, по разработке научно-обоснованных технологий выделения эндистероидов из растительного сырья, направленной модификации их молекул с последующим биоскринингом молекул полученных соединений, для направленного поиска и создания новых высокоеффективных фитопрепаратов широкого спектра фармакологического действия.

В обзорной статье *Laurence Dinan and René Lafont* обобщены материалы, опубликованные в период между 2005-2015 годы, посвященные эндистероидсодержащим видам растений. Обсуждается биосинтез фитоэндистероидов. Приводятся последние достижения в метаболизме эндистероидов у млекопитающих и возможные способы действия эндистероидов у грызунов и человека. Показаны перспективы дальнейших разработок новых препаратов на основе эндистероидов. Описано, что насчитывается 487 известных аналогов эндистероидов. Среди известных 300000 видов растений было оценено 6000 видов растений, которые содержат эндистероиды. В статье приводятся данные об изучении 77 видов растений, в частях которых содержатся эндистероиды. Было оценены виды определенных семейств (например, *Chenopodiaceae* и *Caryophyllaceae*) для таксономической классификации фитоэндистероидов. Было изучено влияние экзогенных эндистероидов на микробы, растения, млекопитающих и их обмен веществ.

В статье Л.Н.Зибаревой «Фитоэндистероиды: распространение в мировой флоре, биологическая активность» приведены данные по эндистероидсодержащим растениям, поиск среди них биологически активных веществ, являющихся основой для комплексного препарата, обладающего анаболическим, противогрибковым, радиопротекторным, гемореологическим, противоязвенным и противоопухолевым действием. В статье описаны экспериментальные данные, полученные скринингом растений семейства *Asteraceae*, *Caryophyllaceae* на присутствие эндистероидов, основанных на хроматографическом анализе экстрактов семян растений для прогнозирования искомых соединений в растениях.

В обзорной статье И.В. Заварзина с соавторами рассмотрены структуры основных фитоэндистероидов, их распространение в растениях, схемы синтеза ряда важных эндистероидов и их биологические функции. Описано, что из растительных источников выделено более 300 различных структур фитоэндистероидов и благодаря современным возможностям даже минорные эндистероиды могут быть выделены из относительно малых количеств растительного материала и в количествах, достаточных для идентификации и биологических экспериментов. В статье обсуждается стратегия синтеза эндистероидов и новых производных на основе наиболее известных и распространенных представителей фитоэндистероидов - эндистерона, туркестерона и пр.

Авторами В.В.Володиным и С.О.Володиной в статье приведены данные о фармакологических исследованиях новой эндистероидсодержащей субстанции «Серпистен». По результатам проведенных исследований Федеральной службой Роспотребнадзора (г. Москва) зарегистрирована субстанция биологически активной добавки «Серпистен», сырье для получения БАД Серпистен «Серпухи венценосной листья» и три капсулированных форм БАД на

основе субстанции «Серпистен»: «Кардистен» - противоишемического, «Диастен» - противодиабетического и «Адастен» - адаптогенного и иммуностимулирующего действия.

В обзоре А.Л.Савчук, В.А.Хрипач и соавторов представлены данные по медицинским аспектам действия брассиностероидов в отношении теплокровных. Показаны токсикология, антихолестеринимическое действие, противораковый, анаболический, адаптогенный, антивирусный и другие эффекты брассиностероидов. В экспериментах на крысах проведена оценка основных фармакологических параметров 24- эпибрассинолида при внутрижелудочном введении в дозе 30 мкг/кг.

В статье «Что такое экдистероиды: гормоны насекомых, основные витамины –Д млекопитающих или полярные стерины, используемые для роста в растениях?» профессор Карел Слама описывает возможность получения и использования гормонов насекомых для получения экдистероидов и приведено объяснение действия гормона насекомых. Автором отмечается, что экдизон и экдистероиды не являются подлинными гормонами насекомых, а также сесквитерпеноид JH-I оказался всего лишь одним из 4000 ювенильных биоаналогов, имитирующий действие JH – подлинного ювенильного гормона.

Статья В.Н.Сырова «Экспериментально-клинические результаты оценки эффективности Экдистена как препарата метаболического типа действия» посвящана препарату на основе фитоэкдистероида экдистерона, выделяемого из *Rhaponticum carthamoides*, *Rhaponticum integrifolium*, *Silene brauniaca*, *Ajuga turkestanica* и др. Использование экдистена в клинической практике при целом ряде заболеваний центральной нервной системы и внутренних органов с нарушениями в обменных процессах, а также в практике спортивной медицины у лиц с явлениями дезадаптации, повышенной утомляемости (как в составе моно-, так и комплексной терапии) показало высокую эффективность, безопасность и перспективность его применения.

Итоги собственных экспериментальных работ представлены в статье Б.С.Темиргазиева с соавторами, где приведены результаты комплексного химического исследования серпухи венценосной (*Serratula coronata L.*) – растительного источника нового казахстанского анаболического и адаптогенного средства «Экдифит». Показан оптимальный выход экдистерона и комплексное извлечение флавоноидов и экдистероидов. Выделенные практически ценные флавоноиды и экдистероиды могут быть использованы в качестве новых субстанций и рабочих стандартных образцов.

В представленной статье О.У.Куатбаева с коллегами обобщены данные комплексного химического изучения надземной части *Silene fruticulosa* (смолевка кустарничковая). Исследован стероидный состав смолевки кустарничковой и приведены структуры выделенных экдистероидов. Авторы впервые изучили *Silene fruticulosa* на содержание брассиностероидов – нового класса гормонов растений.

**С уважением
редакционная коллегия журнала
«Фармацевтический бюллетень»**

Информация

**по посещению директора Международного центра по химическим и биологическим наукам Университета Карачи, профессора Мухаммада Икбал Чоудхари (Пакистан)
Международного научно-производственного холдинга «Фитохимия»**

13-14 декабря 2015г. директор Международного центра по химическим и биологическим наукам Университета Карачи, профессор Мухаммад Икбал Чоудхари (Пакистан) посетил Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» и Карагандинский фармацевтический завод.

14 декабря 2015 г. на базе холдинга «Фитохимия» состоялся научный семинар с участием профессора Мухаммада Икбал Чоудхари, посвященный совместным научным исследованиям биологически активных веществ из растительного сырья, вступлению холдинга «Фитохимия» в COMSATS - Фонд по развитию науки в Исламских государствах.

Профессор Мухаммад Икбал Чоудхари является членом правления COMSATS, Постоянного Комитета по наукам и технологиям Исламских государств. Председателем COMSATS является президент Пакистана. Основная цель COMSATS - укрепление сотрудничества между исламскими государствами в области науки и техники. COMSATS выделяет гранты для развития науки и инновационных технологий.

Членство в COMSATS дает возможность участвовать в международных научных и образовательных проектах и программах в области химии, биологии и медицины.

В работе семинара приняли участие доктора химических наук, профессора Карагандинского государственного университета им. Е.А.Букетова Кадирберлина Г.М., Гафуров Н.М., доктор химических наук, профессор Института органического синтеза и углехимии Фазылов С.Д., доктор медицинских наук, профессор Карагандинского государственного медицинского университета Жаугашева С.К., директор Карагандинского фармацевтического завода, доктор фармацевтических наук Толоконников Е.Г., ведущие ученые холдинга «Фитохимия» – член-корреспондент НАН РК, доктор химических наук, профессор Г.А.Атажанова, член-корреспондент НАН РК, доктор фармацевтических наук Итжанова Х.И., доктора химических наук, профессора Турмухамбетов А.Ж., Тулеуов Б.И., кандидаты химических наук Нурмаганбетов Ж.С., Мукушева Г.К., кандидаты фармацевтических наук Тулеуова Г.Х., Жабаева А.Н., кандидаты медицинских наук Сейдахметова Р.Б., Арыстан Л.И., докторанты и магистранты. Всего более 50 сотрудников.



Выступление профессора Адекенова С.М.

Семинар проводился под председательством академика НАН РК, доктора химических наук, профессора Адекенова С.М.

Доклад профессора Мухаммада Икбал Чоудхари посвящен основным научным направлениям Международного центра по химическим и биологическим наукам Университета Карачи (Пакистан).



**Выступление профессора
Мухаммада Икбал Чоудхари**

Сотрудники холдинга «Фитохимия» проходили стажировку в Международном центре по химическим и биологическим наукам Университета Карачи, где ими проведены исследования в области изучения строения молекул новых лекарственных веществ из растений и их фармакологических свойств.

Участники семинара обсудили с профессором Мухаммадом Икбалом Чоудхари перспективные направления по исследованию химического состава растений Казахстана, установлению строения молекул химических структур выделенных природных соединений, изучению их биологической и фармакологической активности, разработке новых лекарственных препаратов для медицины, а также по участию в совместных научно-исследовательских грантах, обмену специалистами, совместным стажировкам и обучению сотрудников холдинга «Фитохимия» в Международном центре по химическим и биологическим наукам Университета Карачи, подготовке и повышению квалификации научных кадров через магистратуру и PhD докторантуру.

Профессор Мухаммад Икбал Чоудхари по результатам своего визита представит оценку научно-инновационного потенциала холдинга «Фитохимия», чтобы сподействовать вступлению известного казахстанского научно-производственного центра в COMSATS.



Участники семинара



Подписание соглашения
о научно-техническом сотрудничестве

В период работы семинара состоялось подписание соглашения о научно-техническом сотрудничестве между Международным центром по химическим и биологическим наукам Университета Карачи и Международным научно-производственным холдингом «Фитохимия».

UDK577.175.1:577.117.2

**PHYTOECDYSTEROID OCCURRENCE, DISTRIBUTION, BIOSYNTHESIS,
METABOLISM, MODE OF ACTION AND APPLICATIONS: DEVELOPMENTS FROM
2005 TO 2015**

Laurence DINAN and René LAFONT*

e-mail:rene.lafont@upmc.fr

Sorbonne Universités – UPMC, IBPS-BIOSIPE, Paris, France

Phytoecdysteroids are analogues of invertebrate steroid hormones, which occur in some species of plants, sometimes in very high concentrations, and where they are believed to contribute to deterring invertebrate predation. This review summarises the literature published between 2005 and 2015 on the ecdysteroid-containing plant species and the analogues they contain. Progress in our understanding of the biosynthesis of phytoecdysteroids is also reviewed. Ecdysteroids possess interesting pharmacological properties in mammals and birds; they are non-toxic and a considerable body of evidence is accumulating that they have many beneficial effects, which could lead to the development of medicinal, pharmaceutical, nutraceutical and commercial products. In this context, recent progress on the metabolism of ecdysteroids in mammals and the possible mode(s) of action of ecdysteroids in rodents and humans are summarised. Lastly, prospects for future developments in this area are indicated.

Introduction

Phytoecdysteroids are analogues of the insect steroid hormone 20-hydroxyecdysone (20E) occurring in plants. They occur in significant amounts in 5-6% of plant species, but there is circumstantial evidence that most, if not all, plant species have the genetic capacity to produce ecdysteroids [1]. Where they do occur in plants, they sometimes occur in very high concentrations (ranging from 0.01 to 7% of the dry weight, depending on species, plant part, growth stage etc.). The most commonly accepted view on the role of phytoecdysteroids is that they contribute to the deterrence of invertebrate predators by being toxic or having an anti-feedant activity either in their own right or in synergistic combination with other secondary compounds [2]. The first ecdysteroid isolated from insects was ecdysone (see Fig. 1, which also gives the numbering system common to ecdysteroid molecules).

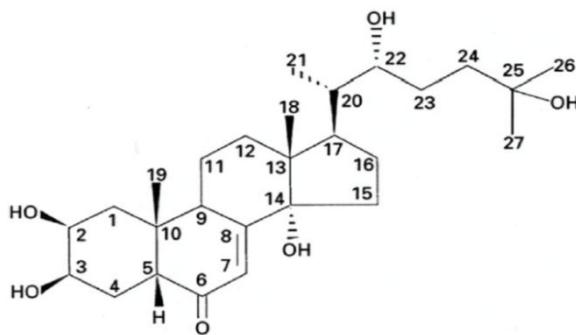


Figure 1

The structure of ecdysone, showing the numbering system for the carbon atoms.

The most commonly encountered phytoecdysteroid across plant species is 20E (Figure 2). Structures of the common major phytoecdysteroids; 20E (with numbering), PolB, turkesterone, cyasterone, Post, rubrosterone, makisterone A, integristerone A, pterosterone.

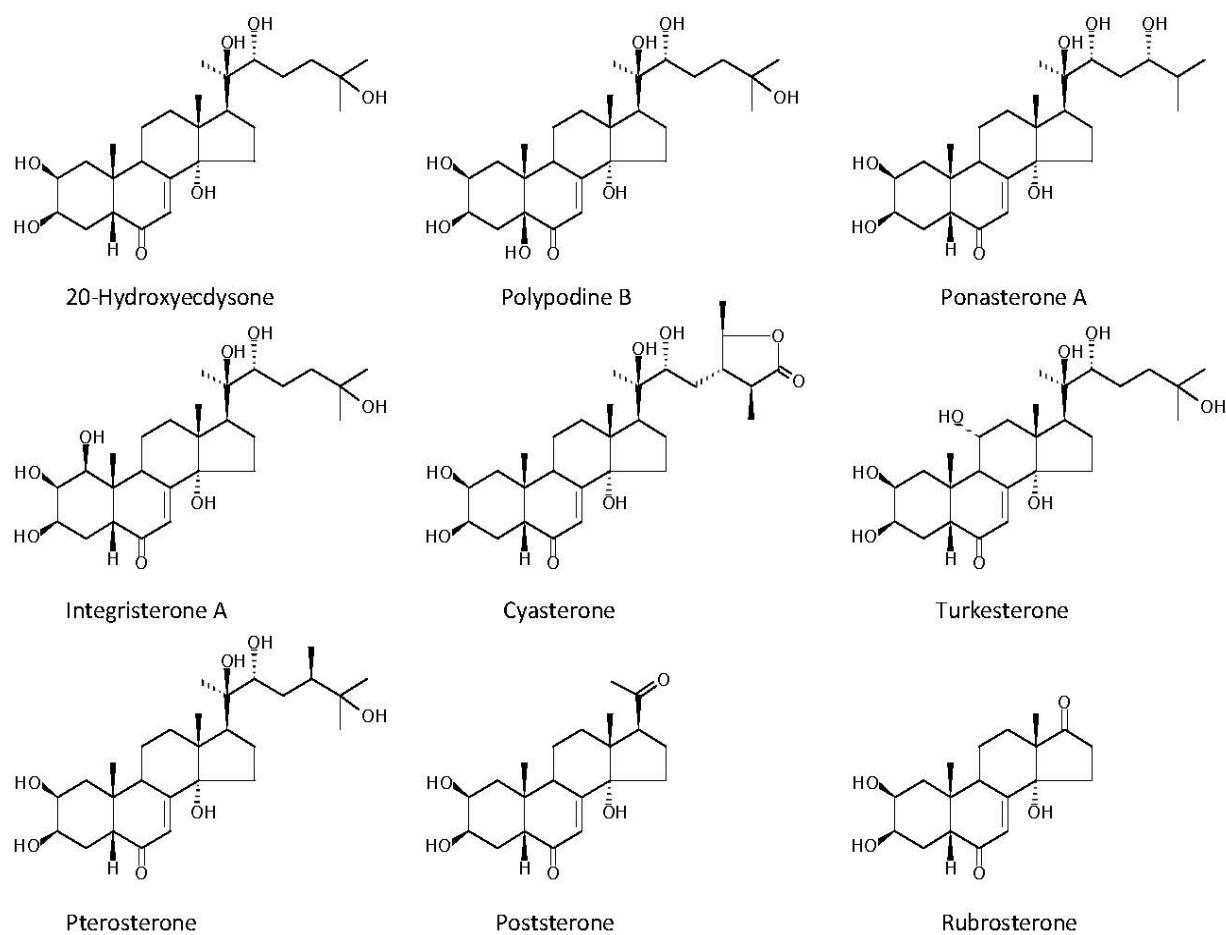


Figure 2

A large diversity of phytoecdysteroid analogues has been isolated from plant sources. It is difficult to give a precise chemical definition of what constitutes an ecdysteroid, but most are based on the tetracyclic sterol ring structure (cyclopentanoperhydrophenanthrene) possessing an A/B-*cis*-ring junction (5β -H or -OH), a 14α -hydroxy-7-en-6-one chromophoric group (although a few lack the 14-hydroxyl or the 7,8-ene), a side-chain of variable length (C_0 , C_2 , C_8 [cholesterol-like], C_9 [campesterol-like] or C_{10} [sitosterol-like]) or modified to give ring structures (e.g. lactone or furan rings) and one or more hydroxyl groups in the 1, 2, 3, 4, 5, 9, 11, 16, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26/27, 28 or 29 positions. The hydroxyl groups may also form ester, ether or acetal linkages to generate polar (glycoside, sulphate) or apolar (acetate, acetonide, benzoate, cinnamate, coumarate, crotonate, ethylidene, ferulate, *p*-hydroxybenzylidene, 2-hydroxybutanoate, 5-hydroxymethylfurfural acetal, isovaleriate) conjugates [2,3]. Other structural features are also possible (e.g. desaturation, oxidation of hydroxyls to keto groups, epimerizations, epoxy group). Thus, the range of possible permutations for ecdysteroid structures is enormous, and the 400-500 identified to date do not represent the full catalogue by a long way. The structures of some of the most commonly encountered phytoecdysteroids are shown in Figure 2, by way of example. In view of the very wide of chemical structures found among phytoecdysteroids and the difficult chemistry of this class of compounds, plant sources are used to provide large amounts of the major ecdysteroids (e.g. 20E) for experimental, chemical or commercial purposes or smaller amounts of other analogues for comparative and structure-activity studies. Plants contain a ‘cocktail’ of phytoecdysteroids; they may contain one or two major ecdysteroids together with a collection of minor ecdysteroids, or contain several ecdysteroids in almost equal amounts [3]. The characteristics of the biosynthetic pathway and its regulation which result in this diversity is currently unknown. In fact, there are

many questions which remain concerningecdysteroid biosynthesis in plants. In light of the exciting developments in potential medical, pharmaceutical and agricultural applications of phytoecdysteroids, understanding of the biosynthetic pathway remains a major challenge in the basic research required to underpin the applications of these compounds [4].

This review will concentrate on the literature from the decade 2005-2015. The reader is referred to previous reviews [2,5,6] for summaries of earlier progress and the development of concepts in this area. Compilations of phytoecdysteroid structures, their physico-chemical data and biological activities exist [7,8]. Ecdybase currently records 487 known ecdysteroid analogues, the majority of which have been identified from plant sources. In view of improvements in the methods for the isolation of natural products and complete structural identification from sub-milligram amounts of pure compound and the probable structural diversity described above, this number can be expected to continue to rise steadily in the future.

PLANT SPECIES AND THEIR ECDYSTEROIDS

Table 1 summarises the reports appearing in the literature of ecdysteroid-containing plant species and the analogues they contain. It identifies the plant species which were shown to be ecdysteroid-positive for the first time and which phytoecdysteroids (123 of them) have been described for the first time during the period of review (for the structures of the ecdysteroids see [7,8]). Also, where it has been possible to deduce the information from the publications, it summarises the amounts of the purified compounds isolated in relation to the dry weight of plant material.

Summary of the literature reports for the analysis of plant species for phytoecdysteroids. Structures for the ecdysteroids named are given in [7] and [8].

TABLE 1
Summary of the literature reports for phytoecdysteroids appearing 2005 to 2015

SPECIES*	FAMILY [†]	PLANT PART	ECDYSTEROIDS PRESENT	AMOUNT (mg/kg d.w.)	REFERENCES
1	2	3	4	5	6
<i>Acanthophyllum gypsophylloides</i> *		Plants with flower buds	acanthosterone 20-hydroxyecdysone 2-deoxyecdysone	1900 20	[9]
<i>Achyranthes bidentata</i>	Amaranthaceae (D)	roots	achyranthesterone A stachystetrone D 20-hydroxyecdysone polypodine B	1.2 3.2 8 3.2	[10]
		roots	2 β ,3 β ,20R,22R,26-pentahydroxy-14-methyl-18-norcholesta-7,12-dien-6-one		[11]
		roots	niuxixinsterone A niuxixinsterone B niuxixinsterone C	1.3 1.4 2.1	[12]
		roots	(25S)-20,22-O-(<i>R</i> -ethylidene)inokosterone 20,22-O-(<i>R</i> -3-methoxycarbonyl)propylidene-20-hydroxyecdysone (25S)-inokosterone-20,22-acetonide	0.98 1.16g 1.18 1.33 1.82 3.92 5.69	[13]
		roots	20,22-O-(<i>R</i> -ethylidene)-20-hydroxyecdysone 20-hydroxyecdysone 20-hydroxyecdysone (25R)-inokosterone (25S)-inokosterone	7.45 20,22-acetonide 0.43 0.65	[14]
			polypodine B shidasterone		

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6
<i>Aerva japonica</i>	Amaranthaceae (D)	flowers	aervecdysteroid A aervecdysteroid B aervecdysteroid C aervecdysteroid D 20-hydroxyecdysone 5β -2-deoxyintegristerone A 24- <i>epi</i> -makisterone A	5.25 4.25 4.75 5.5 3 2.38 4.5	[15]
<i>Ajuga iva</i>	Lamiaceae (D)	whole plants	cystosterone 20-hydroxyecdysone makisterone A 24,25-didehydroprecyasterone 24-hydroxycystosterone ajugasterone B		[16]
		aerial parts	ponasterone A 22-dehydrocystosterone sidisterone cyasterone 24-hydroxycystosterone makisterone A 20-hydroxyecdysone abutasterone		[17]
<i>Ajuga macrosperma</i> var. <i>breviflora</i>	Lamiaceae (D)	roots	ajugacetalsterone C ajugacetalsterone D breviflorasterone 20-hydroxyecdysone cyasterone makisterone A 20-hydroxyecdysone 3-acetate 20-hydroxyecdysone 2-acetate	1 3.25 2	[18]
<i>Ajuga nippensis</i>	Lamiaceae (D)	aerial parts	22-dehydrocystosterone glucoside ajugacetalsterone A ajugacetalsterone B cyasterone ajugasterone C cyasterone 22-acetate 22-dehydrocystosterone	2- 52 38	[19]
<i>Ajuga reptans</i> var. <i>reptans</i>	Lamiaceae (D)	whole plants	reptanslactone A reptanslactone B sendreisterone 24-dehydroprecyasterone breviflorasterone	1.05 1.21 1.29 0.57 2.18	[20]
<i>Ajuga remota</i>	Lamiaceae (D)	roots	ponasterone A cyasterone 22-acetate cyasterone ajugasterone C makisterone A 20-hydroxyecdysone		[17]
<i>Ajuga taiwanensis</i>	Lamiaceae (D)	whole plants	ajugalide E 22-acetylcasterone ajugalactone cyasterone isocyasterone ajugamacrin B ajugapantin ajugamarin C1 ajugalide-A ajugalide-B ajugalide-C ajugalide-D	29.4 29.4 14.7 14.7 14.7 824 118 162 29.4 73.5 14.7 11.8	[21]

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6
<i>Ajuga turkestanica</i>	Lamiaceae (D)	extract of roots	25-hydroxyatrosterone A 11 α -hydroxycyasterone 11 α -hydroxysidisterone turkesterone 22-acetate 22-oxo-turkesterone 11 α -hydroxy- Δ^{24} -capitasterone turkesterone 20,22-acetonide turkesterone atrotosterone C abutasterone 20-hydroxyecdysone 25-hydroxydacyrhainansterone 22-oxo-turkesterone cyasterone ajugasterone C		[22]
<i>Asparagus filicinus</i>	Liliaceae (M)	plants	20-hydroxyecdysone 25-hydroxydacyrhainansterone stachysterone B 5-deoxykaladasterone calonysteron		[23]
		roots	20-hydroxyecdysone ecdysone ajugasterone C	27.9 25.7	[24]
		roots	stachysterone A 20,22-acetonide	3.5	[25]
		tubers	20-hydroxyecdysone calonysteron 5-deoxykaladasterone 25-hydroxydacyrhainansterone stachysterone C stachysterone B	1200 to 2200 2.1 0.7 0.22 0.9 2.0	[26] [27]
<i>Atriplex portulacoides</i> (Syn. <i>Obione portulacoides</i>)	Chenopodiaceae (D)	aerial parts	20-hydroxyecdysone septanoecdysone	9.38 18.1	[28]
<i>Brainea insignis*</i>	Blechnaceae (F)	rhizomes	brainesteroside A brainesteroside B brainesteroside C brainesteroside D brainesteroside E ponasteroside A ponasterone A 20-hydroxyecdysone	3.85 8.08 7.69 4.62 3.08 5.58 9.62 5	[29]
<i>Callisia fragrans</i>	Commelinaceae (M)	stems	callecdysterol A callecdysterol B callecdysterol C 11 α -hydroxyrubrosterone 5 β -dihydrorubrosterone	2 1.6 1.6 1.4 1.6	[30]
<i>Chenopodium album</i>	Chenopodiaceae (D)	leaves	poststerone 3 β ,14 α -dihydroxy-5 β -pregn-7-ene-2,6,20-trione 20-hydroxyecdysone 20-hydroxyecdysone 20,22-acetonide 20,-hydroxyecdysone 2,3-acetonide	4.17 2.92 6.25 4.17 1.25	[31]

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6
<i>Chenopodium quinoa</i>	Chenopodiaceae (D)	seeds seeds	20-hydroxyecdysone Kancollosterone 20-hydroxyecdysone makisterone A 24- <i>epi</i> -makisterone A 24(28)-dehydromakisterone A polypodine B makisterone C 2-deoxy-20-hydroxyecdysone 2-deoxy-20,26-dihydroxyecdysone dacrysterone 3- <i>epi</i> -2-deoxy-20-hydroxyecdysone 5-hydroxy-24(28)-dehydromakisterone A 24,25-dehydroinokosterone 25,27-dehydroinokosterone	18.3 6.06 15.8 0.48 0.44 0.44 0.34 0.12 0.08 0.08 0.013 0.005 0.03 0.013 0.005	[32] [33]
<i>Coscinium fenesstratum*</i>	Menispermaceae (D)	stem leaves	20-hydroxyecdysone 20-hydroxyecdysone	2200 1200	[34]
<i>Cyanotis arachnoidea</i>	Commelinaceae (M)	whole plant	3 β ,4 α ,14 α ,20R,22R,25-hexahydroxy-5 α -cholest-7-en-6-one		[35]
<i>Cyanotis longifolia</i>	Commelinaceae (M)	roots	20-hydroxyecdysone 20-hydroxyecdysone 3-acetate ajugasterone C polypodine B 2-deoxy-20,26-dihydroxyecdysone isovitexirone poststerone ajugasterone C 3-acetate 5 β -hydroxypoststerone poststerone 2-acetate 14(15)-dehydropoststerone 2-acetate 24- <i>epi</i> -atrotosterone A	311 264 198 28.3	[36]
<i>Cyathula officinalis</i>	Amaranthaceae (D)	roots and stems roots	cyasterone 28- <i>epi</i> -cyasterone 25- <i>epi</i> -28- <i>epi</i> -cysterone cyasterone 2,3-acetonide 24-hydroxycyasterone isocyasterone 2,3-acetonide cyasterone sengosterone amarasterone A precyasterone isocyasterone makisterone B	240 18.7 1.8 1.5 1.75 0.75 0.4 8.13 2.25 3.5 0.14 0.75	[37] [38]
<i>Dichorisandra hexandra*</i>	Commelinaceae (M)	aerial parts	20-hydroxyecdysone muristerone A	29.2 4.46	[39]
<i>Digitalis ciliata*</i>	Plantaginaceae (D)	leaves	polypodine B polypodine B 22-acetate polypodine B 22-benzoate 20-hydroxyecdysone 20-hydroxyecdysone 22-acetate 20-hydroxyecdysone 22-benzoate		[40]
<i>Digitalis purpurea*</i>	Plantaginaceae (D)	leaves	20-hydroxyecdysone 20-hydroxyecdysone acetate viticosterone E	22-	[40]

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6
<i>Dioscorea dumetorum*</i>	Dioscoreaceae (M)	rhizome	(20R)-5β,11a,20-trihydroxyecdysone ajugasterone C herkesterone	22 266 32	[41]
<i>Diplopterygium rufo pilosum*</i>	Gleicheniaceae (F)	fronds	2β,3β,14α,20R-tetrahydroxy-26α-methoxy-6-oxo-stigmast-7-ene-22,26-lactone 2β,3β,14α,20R,26S-pentahydroxy-6-oxo-stigmast-7-ene-22,26-lactone 2β,3β,14α,20R,24S-pentahydroxy-6,26-dioxo-stigmast-7-ene-22,26-lactone 2β,3β,14α,20R,24S,26S-hexahydroxy-6-oxo-stigmast-7-ene-22,26-lactone capitasterone	4.99 5.06 5.74 5.49 5.26	[42]
<i>Eriophyton wallchii*</i>	Labiatae (D)	whole plant	28- <i>epi</i> -cyasterone cyasterone 20-hydroxyecdysone polypodine B ajugalactone	10.9-13.0 10.9-13.0 20.4 13.0 23.5	[43]
<i>Fibraurea tinctoria</i>	Menispermaceae (D)	whole plants	fibiaurecdyside A makisterone A	3.03 2.03	[44]
<i>Froehlichia floridana</i>	Amaranthaceae (D)	whole plant	2,22-dideoxy-20-hydroxyecdysone 25-O-β-D-glucopyranoside 2,22-dideoxyecdysone 25-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside 2,22-dideoxyecdysone 25-O-β-D-glucopyranoside (5α)-2,22dideoxyecdysone 25-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside 2,22-dideoxy-5β-hydroxyecdysone 25-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranoside 20-hydroxyecdysone blechnoside A achyrantheserone A	7mg 70mg 2.6mg 2.3mg 1.2mg 400mg 8.9mg 22mg	[45]
<i>Helleborus caucasicus</i>	Ranunculaceae (D)	seeds/flowers	20-hydroxyecdysone 3-O-β-D-glucoside		[46]
<i>Helleborus thibetanus*</i>	Ranunculaceae (D)	rhizomes	polypodine B 20-hydroxyecdysone	14.4 111.8	[47]
<i>Klaseopsis chinensis</i> (Syn. <i>Serratula chinensis</i>)	Compositae (D)	roots	25,26-didehydroponasterone A stachysterone C 2-O-acetyl-20-hydroxyecdysone	3.5 2.5 1.25	[48]
<i>Lepidogrammitis drymoglossoides</i>	Polypodiaceae (F)	whole plant	20-hydroxyecdysone ponasteroside B	2.92 2.69	[49]
<i>Leuzea carthamoides</i>	Compositae (D)	roots	ecdysone 20-hydroxyecdysone 20-hydroxyecdysone 2-acetate 20-hydroxyecdysone 3-acetate turkesterone inokosterone inokosterone 20,22-acetonide	0.0012 1000 0.014 0.017 0.007 0.318 0.020	[50]

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6
<i>Leuzea carthamoides</i>	Compositae (D)	roots	inokosterone A 20,22-acetonide 15-hydroxyponasterone A 14- <i>epi</i> -ponasterone A 22-O- β -D-glucoside carthamoleusterone 24- <i>epi</i> -makisterone A 22-deoxy-28-hydroxymakisterone C 26-hydroxymakisterone C 1 β -hydroxymakisterone C amarasterone A	0.007 0.013 0.028 0.0006 0.031 0.005 0.016 0.005 0.030	
<i>Lychnis cognata</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	integristerone A 20-hydroxyecdysone ecdysone	11 750 120	[51]
<i>Lychnis fulgens</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	integristerone A 20-hydroxyecdysone ecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone	11 1150 120 100	[51]
<i>Lychnis sibirica</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	20-hydroxyecdysone	300	[51]
<i>Lychnis wilfordii</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	integristerone A 20-hydroxyecdysone	120 1520	[51]
<i>Lygodium japonicum*</i>	Lygodiaceae (F)	roots	lygodiumsteroside A ponasteroside A	2.25 0.63	[52]
<i>Melandrium firmum*</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	20-hydroxyecdysone	110	[51]
<i>Melandrium sachalinense*</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	integristerone A 20-hydroxyecdysone	670 2300	[51]
<i>Microsorum commutatum*</i>	Polypodiaceae (F)	fronds	ecdysone	240	[53]
<i>Microsorum maximum*</i>	Polypodiaceae (F)	fronds	20-hydroxyecdysone inokosterone makisterone A ecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone	710 40 110 20 30	[53]
<i>Microsorum membranifolium*</i>	Polypodiaceae (F)	fronds	20-hydroxyecdysone inokosterone makisterone A ecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone makisterone C 2-deoxyecdysone	2130 200 120 4910 7070 480 1720	[53]
		rhizomes	20-hydroxyecdysone inokosterone ecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone makisterone C	640 20 870 400 90	
		fronds	<i>E</i> -2-deoxyecdysone 3-[4-(1 β -D-glucopyranosyl)]-ferulate <i>E</i> -2-deoxy-20-hydroxyecdysone 3-[4-(1 β -D-glucopyranosyl)]-ferulate		[54]
		fronds	2-deoxyecdysone 25- α -L-rhamnopyranoside	1.30	[55]
			<i>E</i> -2-deoxy-20-hydroxyecdysone 3-[4-(1 β -D-glucopyranosyl)]-caffeoate	2.61 3.48	

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6
<i>Microsorum membranifolium</i> *			<i>E</i> -2-deoxyecdysone 3-[4-(1 β -D-glucopyranosyl)]-ferulate <i>E</i> -2-deoxy-20-hydroxyecdysone 3-[4-(1 β -D-glucopyranosyl)]-ferulate <i>Z</i> -2-deoxyecdysone 3-[4-(1 β -D-glucopyranosyl)]-ferulate <i>Z</i> -2-deoxy-20-hydroxyecdysone 3-[4-(1 β -D-glucopyranosyl)]-ferulate <i>Z</i> -2-deoxy-20-hydroxyecdysone 3-[4-(1 β -D-glucopyranosyl)]-caffeoate	1.74 2.61 1.04	
<i>Microsorum punctatum</i> *	Polypodiaceae (F)	fronds	20-hydroxyecdysone makisterone A ecdysone	190 30 25	[53]
<i>Microsorum scolopendria</i> *	Polypodiaceae (F)	fronds rhizomes fronds	20-hydroxyecdysone inokosterone makisterone A ecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone 2-deoxyecdysone 20-hydroxyecdysone inokosterone makisterone A ecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone makisterone C ecdysone 20-hydroxyecdysone amarasterone A (25-R/S epimers) 25-deoxyecdysone 22-glucoside inokosterone 24,28-diepi-cyasterone makisterone A makisterone C 20-deoxymakisterone A poststerone	2230 360 120 1450 500 30 6760 420 240 3410 90 250 1600 2000	[53] [56]
<i>Paris quadrifolia</i>	Trilliaceae (M)		polypodine B 20-hydroxyecdysone		[57]
<i>Pfaffia glomerata</i>	Amaranthaceae (D)	roots	pfaffiaglycoside C pfaffiaglycoside D pfaffiaglycoside E 20-hydroxyecdysone taxisterone pterosterone 22-oxo-20-hydroxyecdysone 2 β ,3 β ,14 α ,17 β -tetrahydroxy-5 β -androst-7-en-6-one (dihydrorubrosterone)	4600 23 18 8 5.3	[58]
<i>Pfaffia tuberosa</i> *	Amaranthaceae (D)	roots	20-hydroxyecdysone	442	[59]
<i>Polypodium vulgare</i>	Polypodiaceae (F)	rhizomes	5 β -hydroxyrubrostrone rubrosterone 5 β -hydroxyecdysone poststerone 5 β -hydroxypoststerone 5 β -hydroxyshidasterone 20-deoxyshidasterone shidasterone polypodosaponin 26-methoxypolypodosaponin polypodine B 2- β -D-glucoside	1.29 1.57 1.07 1.29 0.86 0.86 1.14 5.93 2.43 1.57 0.64	[60]

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6
<i>Portulaca oleracea</i>	Portulacaceae (D)	whole plants	20-hydroxyecdysone	5.32	[61]
<i>Pulsatilla cernua</i>	Ranunculaceae (D)	roots	ajugasterone C 20-hydroxyecdysone	0-13 0-4.1	[62]
<i>Rhaponticum carthamoides</i>	Compositae (D)	various	20-hydroxyecdysone ecdysone rhapisterone C rapisterone rapisterone B rapisterone D 20-hydroxyecdysone 20,22-monoacetonide polypodine B 22-O-benzoate inokosterone carthamosterone A carthamosterone B		[63]
<i>Sagina japonica</i>	Caryophyllaceae (D)	whole plants	japonicone shidasterone 20-hydroxyecdysone	76.2 4.76 3.81	[64]
<i>Sagina maxima</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	20-hydroxyecdysone	1030	[51]
<i>Serratula chicoracea</i>	Compositae (D)	flowers	ajugasterone C 22- <i>epi</i> -ajugasterone C		[65]
<i>Serratula coronata</i>	Compositae (D)	juice	ecdysone 22-acetate (25S)-inokosterone 26-acetate 20,22-O-(R-ethylidene)-20-hydroxyecdysone 20,22-O-(R-ethylidene)-ajugasterone C makisterone C 20-hydroxyecdysone 20,22-acetonide ajugasterone C 20,22-acetonide 20-hydroxyecdysone 2-acetate/3-acetate viticosterone E polypodine B 22-acetate 20-hydroxyecdysone	0.21 mg/L 2.6 mg/L 0.21 mg/L 0.03 mg/L 0.04 mg/L 0.146 mg/L 0.03 mg/L 162 mg/L 4.63 mg/L 0.02 mg/L 2971 mg/L	[66]
<i>Serratula quinquefolia</i>	Compositae (D)	leaves	25 <i>S</i> -inokosterone		[67]
<i>Serratula wolffii</i>	Compositae (D)	herb	11 α -hydroxypoststerone herkesterone	1.1 0.35	[68]
		herb	25-hydroxydacyrhainansterone 14- <i>epi</i> -20-hydroxyecdysone	0.8 0.9	[69]
		roots	24-methylene-shidasterone stachysterone B stachysterone B 14,15- α -epoxide	0.11 0.85 0.64	[70]
		roots	20,22-dihydrotaxisterone 1-hydroxy-20,22-dihydrotaxisterone	0.11 0.53 0.11 0.11	[71]
		roots	serfurosterone A serfurosterone B	0.11 0.17	[72]
		roots	11 α -hydroxyshidasterone 2 β ,3 α ,20,22 <i>R</i> ,25-pentahydroxy-5 β ,14 β -cholest-7-en-6-one	0.21 0.21	[73]

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6
<i>Serratula wolffii</i>		roots roots	ponasterone A 22-dehydro-20-deoxyajugasterone C 1-hydroxy-22-deoxy-20,21-didehydroecdysone 22-deoxy-20,21-didehydroecdysone ponasterone A 22-apioside 3- <i>epi</i> -shidasterone 3- <i>epi</i> -22-deoxy-20-hydroxyecdysone	0.57 0.21 [76]	[74,75]
<i>Sida glutinosa</i>	Malvaceae (D)	aerial parts	glutinosterone	9.09	[77]
<i>Sida rhombifolia</i>	Malvaceae (D)	whole plant	25-acetoxy-20-hydroxyecdysone pterosterone ecdysone 3-O-β-D-glucoside ecdysone 20-hydroxyecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone 3-O-β-D-glucoside 20-hydroxyecdysone 3-O-β-D-glucoside	150 8.3 20.8 75 233 6.7 117	[78]
<i>Sida tuberculata*</i>	Malvaceae (D)	roots and leaves	20-hydroxyecdysone 3-O-β-D-glucoside 20-hydroxyecdysone 20-hydroxyecdysone 3-O-β-D-xyloside		[79]
<i>Silene colpophylla*</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	integristerone A 20-hydroxyecdysone polypodine B ecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone 2-deoxyecdysone		[80]
<i>Silene cretaceae*</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	20-hydroxyecdysone 2-deoxyecdysone	1510 564	[81]
<i>Silene foliosa</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	integristerone A 20-hydroxyecdysone	80 3850	[51]
<i>Silene frivaldszkyana</i>	Caryophyllaceae (D)	plants	20-hydroxyecdysone 2-deoxyecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone polypodine B integristerone A 26-hydroxypolypodine B 20,26-dihydroxyecdysone 26-hydroxyintegristerone A		[82]
<i>Silene gigantea</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	20-hydroxyecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone 2-deoxyecdysone integristerone A 2-deoxy-20-hydroxyecdysone 25-glucoside		[82]
<i>Silene guntensis*</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	2,3-diacetoxy-20-hydroxyecdysone 22-benzoate 2-deoxy-20-hydroxyecdysone 20-hydroxyecdysone	2.13 379 821	[83]
<i>Silene italica</i> ssp. <i>nemoralis</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	9β,20-dihydroxyecdysone 5α-20-hydroxyecdysone 5α-2-deoxyintegristerone A integristerone A 22-deoxyintegristerone A	0.44 2.22 9.2 40 3.56	[84]

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6
<i>Silene jenisseensis</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	integristerone A 20-hydroxyecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone	12 1600 170	[51]
<i>Silene praemixta</i>	Caryophyllaceae (D)	whole plants	20-hydroxyecdysone 2-deoxyecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone 2-deoxyecdysone 22-O- β -D-glucoside		[85]
<i>Silene repens</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	integristerone A 20-hydroxyecdysone	240 840	[51]
<i>Silene stenophylla</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	integristerone A 20-hydroxyecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone	500 4760 500	[51]
<i>Silene viridiflora</i>	Caryophyllaceae (D)	aerial parts	2-deoxypolypodine B 22 β -D-glucoside 2-deoxypolypodine B 25 β -D-glucoside integristerone A 20,22-acetonide 2-deoxy-26-hydroxypolypodine B 26-hydroxypolypodine B 20,22-acetonide 20,22-acetonide 2-deoxy-26-hydroxypolypodine B 20,22-acetonide 20,26-dihydroxyecdysone 20,22-acetonide 5 α -2-deoxy-20-hydroxyecdysone 20,22-acetonide makisterone C 2,3;20,22-diacetonide 20-hydroxyecdysone polypodine B 2-deoxy-20-hydroxyecdysone 3-glucoside 2-deoxypolypodine B 3-glucoside 2-deoxyecdysone 20,26-dihydroxyecdysone 5 β -2-deoxy-20-hydroxyecdysone 20,22-acetonide integristerone A 26-hydroxypolypodine B 20,26-dihydroxyecdysone 2-deoxy-20-hydroxyecdysone 2-deoxyintegristerone A 2-deoxy-5,20,26-trihydroxyecdysone 5,20,26-trihydroxyecdysone 20,22-acetonide 2-deoxy-5,20,26-trihydroxyecdysone 20,22-acetonide 20,26-dihydroxyecdysone 20,22-acetonide 25-acetoxy-20-hydroxyecdysone 20,22-acetonide 2-deoxypolypodine B 3-O- β -D-glucoside	3.36 2.52 2.86 1.01 1.26 0.84 1.68 2.87 2.98 823 52.9 1.68 2.52 ? 11.2 5.88 1.68 1.51 6.72 6mg 5.04 1.34 10.9 14.3	[86-88]
		plants			[89]

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6
<i>Silene viscidula*</i>	Caryophyllaceae (D)	root	20-hydroxyecdysone 1- <i>epi</i> -integristerone A abutasterone stachysterone A 15-hydroxystachysterone A		[90]
<i>Taxus canadensis*</i>	Taxaceae (P)	needles	ponasterone A 20,22-hydroxybenylidene acid ponasterone A 20,22-acetonide	0.75 0.63	[91]
<i>Taxus cuspidata</i>	Taxaceae (G)	needles	7,8β-dihydroponasterone A ponasterone A	1.17 2.33	[92]
<i>Vitex doniana</i>	Verbenaceae (D)	stem bark	21-hydroxyshidasterone 11β-hydroxy-20-hydroxyshidasterone 24-hydroxyecdysone acetonide shidasterone ajugasterone C 24-hydroxyecdysone 11β,24-dihydroxyecdysone	20.3 10.7 41.7 2,3- 23.3 51 34 28.7	[93]

*: denotes new phytoecdysteroid-containing species

+: F = fern/fern ally; G = Gymnosperm; M = monocotyledonous; D = dicotyledonous

§: new phytoecdysteroid

MYCOECDYSTEROIDS

In addition to ecdysteroids occurring in plants, they have also been found in fungi. Biosynthesis of these compounds by fungi has not been demonstrated, so it remains possible that they could be sequestered from the environment or the plant on which the fungus is growing, but the fact that the structures are based on fungal sterols and the configuration at C-24 speak for an endogenous origin. Some of the analogues found in fungi are also found in plants, while others are currently unique to fungi. The widespread occurrence of endophytic fungi raises the potential question of which analogues found in plants are of plant origin and which derive from the fungi. Earlier studies in this area have been reviewed [94]. During the past decade, there have been several further reports of mycoecdysteroids, which have been isolated from underground sclerotia or aerial fruiting bodies of two species in the Polyporaceae (*Polyporus umbellatus* [95,96] and *Fomes fomentarius* [97]. The analogues are significant because they are based on an ergostane-type skeleton and possess unusual structural features which make them interesting for structure-activity studies. They also possess biological activities in their own right (e.g. anti-inflammatory activity [96]). The phytochemistry and pharmacological uses of *P. umbellatus* have recently been reviewed [98].

DISTRIBUTION OF ECDYSTEROID – CONTAINING PLANTS IN THE WORLD FLORA

In the years after the first detection of ecdysteroids in plants, it was considered that there was a high probability of finding ecdysteroids in species of fern, but that the distribution within flowering plants was essentially random. However, as large numbers of species in certain Families (notably the Chenopodiaceae and Caryophyllaceae) were assessed for the taxonomic distribution of phytoecdysteroids started to become clearer, and the chemotoaxonomic value of individual phytoecdysteroids and their profiles could start to be assessed (summarized in [1,2,3,5]). Over the past decade, published studies have focused on either certain genera or Families (e.g. *Rhaponticum* [99], Commelinaceae [36] Caryophyllaceae [51,100-102], where it was known from previous studies that there was a high probability of finding phytoecdysteroids, or on the analysis of all species of plants from a particular geographical region (e.g. European North-east Russia [103] Kazakhstan [104]). The distribution of phytoecdysteroids in species of ferns has recently been reviewed [105].

PHYTOECDYSTEROID BIOSYNTHESIS & REGULATION OF PHYTOECDYSTEROID LEVELS

Biosynthetic Pathway

Our understanding of the biosynthetic pathway for ecdysteroids remains partial (for earlier reviews see: [5,6], but some progress has been made over the last decade. Ultimately, it should be possible to explain the very wide diversity of ecdysteroid analogues which are generated in plants and the aspects of regulation which determine the wide variations in the levels of total ecdysteroids and diverse ecdysteroid profiles which are found in whole plants and their organs. Understanding of the biosynthetic pathway and its regulation are important goals for the potential exploitation phytoecdysteroids as a non-toxic (to mammals) means of enhancing resistance to invertebrate attack in crop plants (see below). Ecdysteroid biosynthesis in plants appears to proceed by a different pathway to that operating in insects, and there is some evidence that two or more pathways operate in different species of plants [106]. The precursors of the phytoecdysteroids are the C₂₇, C₂₈ and C₂₉ sterols, which are generated by the Mevalonate Pathway, using acetyl CoA as a precursor. This is in contrast to insects which require a dietary source of sterols, where in some insects, the C₂₈ and C₂₉ sterols can be dealkylated to give C₂₇ sterols.

The most extensive study on phytoecdysteroid biosynthesis has been performed on *Ajuga reptans*, where the availability of an ecdysteroid-producing hairy-root system developed from *A. reptans* var. *atropurpurea* has facilitated the search for intermediates using various deuterated cholesterol, labelled in specific positions to follow the fate of those hydrogens. These hairy roots accumulate 20E at a level several times higher than the original *Ajuga* roots. On the basis of the accumulated findings, the authors have put forward an outline pathway for the biosynthesis of 20-hydroxyecdysone from cholesterol; cholesterol → 5β-ketone → ketodiol → 20E. In a recent contribution to this research, Fujimoto et al. [106] presented evidence consistent with the conversion of cholesterol to a 5βH-6-oxo intermediate as an early step in the formation of 20E, by demonstrating that this compound is an endogenous component of the hairy root system, that it is formed from cholesterol involving the migration of the hydrogen from C-6 in cholesterol to 5β-H in the intermediate, and that the intermediate is converted to 20E.

Studies on spinach (*Spinacia oleracea*) [107] using radiolabelled MVA and putative late-pathway intermediates (2,22dE, 2dE, E and 2d20E) have shown that ecdysteroid synthesis from MVA occurs in older leaves, but the ecdysteroids are transported to and accumulate in young, apical leaves, which do, however, have the capacity to carry out the later stage hydroxylations necessary for 20E-formation, with a preferred sequence of 2dE → 2d20E → 20E and with 22-hydroxylation occurring earlier in the pathway. The 20E formed is metabolically stable (i.e. it has a very low turnover rate), which is consistent with a role in plant defence.

In *Achyranthes japonica* [108], experiments incorporating radiolabelled MVA into 20E support the major role of transport within the plant in contributing to the concentration of 20E in a particular organ, but also seem to suggest that all aerial parts are capable of 20E biosynthesis during development in this species.

20-hydroxylase activity (i.e. the ability to convert E → 20E) has been studied in *Ajuga reptans* [109] during development, showing that activity is present throughout development and in all parts of the plant, with the highest activity being present in leaves and during rosette formation.

In *Polypodium vulgare* prothalli [110], the conversion of E to 20E is induced by treating the prothalli with E. The activity is associated with microsomal P450 and is inhibited by P450 inhibitors. The enzyme has been purified, but its kinetic properties have not been reported. The C-2 hydroxylase from spinach leaves is also microsomal and has properties consistent with it being a cytochrome P450 enzyme. Its Km for 2d20E is 3.72 μM, which makes this a better substrate than 2dE. This finding is consistent with the preferred pathway for the later hydroxylations mentioned above. The 2-hydroxylase activity is inhibited by 20E [111].

Substances affecting phytoecdysteroid levels in plants plant cell cultures

Hairy root cultures offer the advantage over callus and cell suspension cultures of more stable long-term production of secondary metabolites such as phytoecdysteroids. Cheng et al. [112] have investigated some of the factors enhancing PE levels in *Ajuga turkestanica* hairy root and cell suspension cultures. Cell suspension cultures accumulated mainly 20E and the amount of this could be enhanced 2-3-fold by methyl jasmonate, but not by cholesterol, MVA or sodium acetate. The hairy root cultures accumulated 20E, Cyast and cyasterone 22-acetate, and levels of these were enhanced by application of methyl jasmonate, sodium acetate and MVA, but not by cholesterol.

With cell suspension cultures of *Vitex glabrata*, 20E levels were enhanced by the provision of sucrose as a carbon-source [113].

Kamlar et al. [114] investigated the effect of foliar application of 24-*epi*-brassinolide and found that it induces rapid changes in the content of natural PEs, with the nature of the change depending on the age of the leaves and the concentration of the exogenous brassinosteroid. The link between the two steroid systems needs further investigation.

Effect of growth conditions on phytoecdysteroid levels in whole plants

It has often been suggested that environmental factors could affect ecdysteroid levels in plants, but very few systematic studies have been performed to assess this. Timofeev [115] has examined the effects climatic factors (light, temperature, humidity, frost stress etc.) and soil type in *Rhaponticum (Leuzea) carthamoides* growing in the Archangel Region of Russia and in Central Poland on the ability of plants to accumulate ecdysteroids and concluded that these do not have a significant impact.

Micropaginated plants of *Pfaffia glomerata* and *P. tuberosa* contain similar levels of 20E to wild plants [116]. This finding is significant because wild populations of these species are being depleted by their collection as ‘Brazilian ginseng’.

DISTRIBUTION OF ECDYSTEROIDS WITHIN PLANTS DURING DEVELOPMENT

***Achyranthes japonica* (Amaranthaceae)**

Boo et al [108] determined the levels of 20E and PolB during development of plants of *Achyranthes japonica* from germinating seeds to late vegetative growth. They found that the ecdysteroid level/plant stayed constant until the 2nd leaf pair are formed and then increases significantly, but because the mass of the plant is increasing during development the concentration of 20E, expressed in terms of µg/g d.w., falls until the 2nd leaf pair are formed and then levels out. Within the plant a gradient of ecdysteroid concentration is observed, with the youngest leaves and the top of the stem containing the highest concentrations. High ecdysteroid concentrations are also associated with the roots and flowers.

***Ajuga bracteosa* (Labiatae)**

Kayani et al. [117] have determined 20E levels in plant parts of *A. bracteosa*, which is a rare plant used in Ayurvedic medicine, in relation to ecotype, season of the year, habitat and climate, focusing on 6 ecotypes collected from sites in northern Pakistan. Overall, they found that 20E levels varied according to plant part: flowers (0.16% of d.w.) > leaves (0.14%) > stem (0.11%) > root (0.07%). Aerial parts always possessed higher 20E levels than roots, but flowers had the highest levels in the high-20E ecotypes, while the level in the leaves exceeded the flowers in the lower-20E ecotypes. There was a clear relationship to growing temperature, since higher levels were found in plants during winter than in summer, and, for plants grown at constant temperature, the levels found in plants grown at 15°C were 3-fold higher than those grown at 10 or 25°C.

***Chenopodium quinoa* (Chenopodiaceae)**

Quinoa is an Andean crop grown in Peru, Bolivia, Chile and Ecuador, and has recently become the subject of much commercial and scientific interest, owing to the nutritional and pharmacological properties of its seeds, which are the part of the plant which are harvested, processed and consumed. Along with spinach, quinoa is one of the few crop plants to contain ecdysteroids, and these may contribute to its beneficial properties, so there is interest to determine the genotypic and environmental factors which affect the nutritional properties, including

ecdysteroid levels [33,118]. Both these studies have shown that ecdysteroid levels vary considerably depending on variety (geographical or commercial) from 138 to 570 µg/g, although 20E is always the major component, making up 70-90% of the total phytoecdysteroids. The seed possess a saponin-rich pericarp which must be removed by gentle milling before consumption, but this does not affect the ecdysteroid content. Both studies also show that the ecdysteroid is concentrated in the oil-rich embryo/endosperm (618 µg/g), with much lower levels in the seed coat (284 µg/g) or perisperm (86 µg/g). Across varieties, phytoecdysteroid content strongly correlates with oil content and it is suggested [118] that this is because the level of cholesterol, a precursor of 20E, also strongly correlates to lipid content.

***Pfaffia glomerata* (Amaranthaceae)**

Brazilian ginseng is a medicinal plant, which is used as an alternative to Asian ginseng (*Panax* spp.) and has received phytochemical interest because of its pharmacological and medicinal properties. More recently, it has also been a source of 20E for many commercial preparations containing this ecdysteroid. This has prompted research to identify the best age to harvest the plant, which organs to use, and the optimal growth conditions to maximize the yield of 20E [119,120]. Festucci-Buselli et al. [119] analysed 71 accessions to identify the one which produced the highest level of 20E per root system and then determined 20E levels in plant parts of this accession during development. All plant parts contained 20E at all stages of development and the levels varied during development, but only by a factor of 2-3 at most (flowers 0.47-0.82% of d.w.; roots 0.42-0.66%; leaves 0.21-0.60% and stems 0.13-0.24%). Owing to the mass of the root system in mature plants, the amount of 20E reached 0.824 g/root system. Guerreiro et al. [120] examined 20E levels in roots during development when the plants were exposed to different levels of fertilizer. Although the fertilizer did not significantly affect the root 20E levels, the same pattern of a steady increase in amount of 20E with increasing root mass was observed as in the previous study, however it is worth noting that the concentration of 20E in these plants was 10-fold lower than in the accession used by Festucci-Buselli et al. [119], underlining the importance of identifying the best variety before initiating commercial production.

***Rhaponticum integrifolium* (Compositae)**

R. integrifolium is a large, perennial plant which forms rosettes of leaves in the first year and then stems and flowers in the second year. Alieva et al. [121] have quantified 20E levels in roots and aerial parts at the various stages of development. Significant levels of 20E are always found (0.21-0.98% of d.w.), but the data reveal a flux from root to aerial parts and then to seeds associated with flower formation and then a reduction in stems and a renewed increase in the roots post-flowering. The level of 20E in the seeds is 1.42%.

***Spinacia oleracea* (Chenopodiaceae)**

Spinach is the other crop species which contains phytoecdysteroids, but levels are only moderate (ca. 0.1% of d.w. in young leaves and 10-fold lower in older leaves). However, because of its widespread consumption and ‘healthy’ image there is interest in producing cultivars which accumulate high(er) levels of ecdysteroids. Cheng et al. [122] analysed 15 accessions of *S. oleracea*, selected on the basis of their insect resistance, seed size and flowering and bolting times, to assess variation in ecdysteroid levels in seeds and to see if these could be used as a predictor of levels in shoots and leaves (i.e. the edible parts of the plant). There was variation in ecdysteroid levels in the seed (0.5-1.1 mg/g), giving hope for exploitable genetic variation to generate high (and low) ecdysteroid-accumulating lines for nutritional and insect-resistance studies. Unfortunately, the ecdysteroid level in the seed was not a good predictor of levels in the shoots, nor did high ecdysteroid level correlate with the leafminer-resistant cultivars, but this insect may not be deterred by ecdysteroids at the concentrations found in spinach.

EFFECTS OF EXOGENOUS ECDYSTEROIDS

Effects on Microbes

20-Hydroxyecdysone has been shown to have antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in its own right (MIC = 250-500 µg/mL), but much more

significantly it demonstrates a synergistic effect in conjunction with ampicillin or gentamycin, which may help to control this dangerous and medically important microbial infection [123].

Effects on Plants

Recently, three examples of the effects of exogenous ecdysteroids on plants have been described.

Bakrim et al. [124] examined the effect of 20E (10^{-5} and 10^{-4} M), compared to various phytohormones, on germination and seedling growth in tomato (*Lycopersicon esculentum*) over 5 days. 20E treatment resulted in a slight initial stimulation of shoot growth, a weak inhibition of root growth and a dramatic decrease in protein content.

Lamhamdi et al. [125] have shown that pre-treatment with 20E (at 3 or 5 μ M) for 2 days is able to protect wheat (*Triticum sativum*) seedlings from lead toxicity (3 mM Pb(NO₃)₂), which impairs germination and growth and induces oxidative stress. The authors suggest that 20E brings about reduced Pb-uptake, enhanced Pb-excretion and enhances the plant's anti-oxidative systems, especially the ascorbate-glutathione system.

Holá et al. [126] claim that exogenously-applied 20E enhances the photosynthetic rate in New Zealand spinach (*Tetragonia tetragonoides*). It is perhaps worth noting that *T. tetragonoides*, unlike *S. oleracea*, does not accumulate endogenous phytoecdysteroids. 20E enhanced the photosynthetic rate to a statistically significant extent during a 'window' 4-6 h after application only.

It is not clear at the moment if these findings have any biological significance.

Effects on Insects and other invertebrates

Depending on analogue and concentration, exogenous ecdysteroids can have beneficial or detrimental effects on insects. Thus, low concentrations can be used to enhance synchronization of development and increase cocoon mass in silkworms (*Bombyx mori*). If ecdysteroid-containing water extracts of local, readily available ecdysteroid-containing plants could be prepared by simple, robust procedures to provide aqueous extracts of consistent ecdysteroid concentration, mulberry leaves can be sprayed with this solution and fed to the insects to at appropriate times in development. Once developed, such straightforward protocols could be implemented by the silk farmer in such a way that the extra work involved in preparing and applying the extract should be more than compensated by the time saved through greater synchronization and the greater amount of silk produced. Initial studies in this direction involving aqueous extracts of *Achyranthes aspersa* have identified preliminary conditions for enhancing duration of spinning behaviour and the weight of the cocoon shell (i.e. silk yield) [127,128], however the ecdysteroid composition has yet to be defined and reproducibility and quality control needs to be evaluated.

In a study highly relevant to the function of phytoecdysteroids in plants, Calas et al. [129] examined the deterrent effect of 20E on larvae and adults of the European grapevine moth (*Lobesia botrana*). In two-choice feeding experiments, larvae perceive (i.e. have taste receptors for 20E) and avoid feeding on food containing 20E with a taste threshold of 10^{-6} M. When given a choice, adult females avoid laying eggs on 20E-treated surfaces with a detection threshold of 10^{-7} M, the receptors being located on the last tarsus of the prothoracic legs. This study demonstrates the anti-feedant and deterrent effect of phytoecdysteroids.

In a preliminary study, Aly et al. [130] have assessed phytoecdysteroids (20E and Cyast) from *Ajuga iva* for the control of the perseae mite (*Oligonychus perseae*), a pest of avocados, and the sweetpotato whitefly (*Bemisia tabaci*), which is a pest of many Mediterranean crops and shown that more particularly 20E reduces fertility, fecundity and survival of the pests.

Effects on Mammals

The toxicity of ecdysteroids is very low and the development of ecdysteroids as pharmaceutical agents should be viewed in this context. Studies extending over 45 years have indicated almost entirely beneficial effects in mammals and birds. The following activities have been ascribed to ingested and/or injected ecdysteroids in mammals: adaptogenic activity, anabolic effects, anti-diabetic activity, positive effects on metabolic syndrome, promoting wound healing,

anti-ulcer activity, antioxidant activity, neuroprotective activity, hepato- and nephroprotective activity, anti-osteoporosis agents and anti-tumour activity. The literature concerning these activities has been extensively and regularly reviewed over the past decade [131-138], so will not be considered here further. It is however perhaps worth mentioning that many of the activities observed with ecdysteroids are also observed with brassinosteroids [139-142], steroid hormones of plants which possess a similar molecular size and certain structural features in common with ecdysteroids, but which differ in the location of some of the hydroxyl groups, the structure of the B-ring and stereochemical aspects of the molecule in biochemically significant ways. If these two classes of steroid act by the same mechanism, which has not currently been assessed, it may be that such broad-spectrum activities might be a more general property of polyhydroxylated steroids.

Metabolism in Mammals

A decade ago, it was known that injected or ingested ecdysteroids (E or 20E) are rapidly cleared from the blood of mice and can undergo a series of metabolic reactions; 14-dehydroxylation, reduction of the ketone at C-6, epimerisation at C-3 and, if a 20,22-diol is present, side-chain cleavage between C-20 and C-22, resulting in a complex array of metabolites in the faeces in addition to unmodified ecdysteroid. 14-Dehydroxylation also occurs in humans (see [132] for a summary). Since that time, two significant studies have advanced our knowledge. Destrez et al. [143] considered how ecdysteroids used as doping agents in cattle could be detected and looked at the metabolites of 20E in urine of calves and found 14-deoxy-20-hydroxyecdysone, 20,26-dihydroxyecdysone and 14-deoxy-20, 26-dihydroxyecdysone, which were longer-lived in the urine than any rapidly-excreted unchanged 20E, and hence more suitable as markers for doping. Kumpun et al. [144] found that after injection of [$1\alpha,2\alpha$ - 3 H]20E into mice four major compounds were present in the faeces (co-chromatographing with, and identified as, 20E, 14d20E, poststerone and 14-deoxypoststerone). After repeated daily injections of radiolabelled 20E mixed with unlabelled 20E (1mg/mouse/day), a much more complex set of metabolites was found in the faeces, some of which could be fully identified by NMR and MS: the four ecdysteroids identified after injection of undiluted [3 H]20E and 2 β , 3 β , 6 α , 22R, 25-pentahydroxy-5 β -cholest-8, 14-ene. It is becoming clear that the complexity of the metabolites ultimately found in the faeces is, in large part, a consequence of metabolism by the gut bacteria.

Mode of Action in Mammalian Systems

The mechanism of action of ecdysteroids on mammals/humans is now receiving attention, more than 40 years after the realisation that ecdysteroids have significant, and largely positive, effects on mammalian systems. Two, not mutually exclusive, modes of action are being proposed at the moment. Certain data favour an action on membranes through a GPCR receptor [145], whereas the other one proposes the involvement of a nuclear receptor, oestrogen receptor ER β [146,147]. There is currently no direct evidence for the binding of 20E to oestrogen receptors, and the published data concerning the ability of ecdysteroids to displace radiolabelled oestrogen from receptor preparations are negative in this respect [133,148]. The evidence for ER β involvement in 20E effect is based on the use of specific inhibitors of ER α and ER β , the latter being able to inhibit the effect of 20E on target cells (osteoblasts [Gao et al., 2008]; myoblasts [150,151]). However, this is not proof of direct binding, as ER receptor can be activated by phosphorylation in the absence of ligand [152]. Supporting evidence for direct binding was provided by *in silico* modelling [147], but this is rather circumstantial, as the result may strongly depend on the model used and the parameters selected. Further, other authors, using docking models, concluded that there was no binding of 20E to the ligand-binding site of ER receptors [153].

Evidence for membrane effects is based on early studies showing the rapid modulation of several second messengers (cAMP, cGMP, IP3, DAG, Ca $^{++}$) in target cells and on the fact that 20E bound to metallic nanoparticles preventing its entrance into target cells was still active (literature cited in [2]). More recently, Gorelick-Feldman et al. [145] used a pharmacological approach with various inhibitors (e.g. pertussis toxin). They concluded that the membrane receptor belonged to the GPCR family, and proposed a rather complex mechanism of transduction (Figure 3).

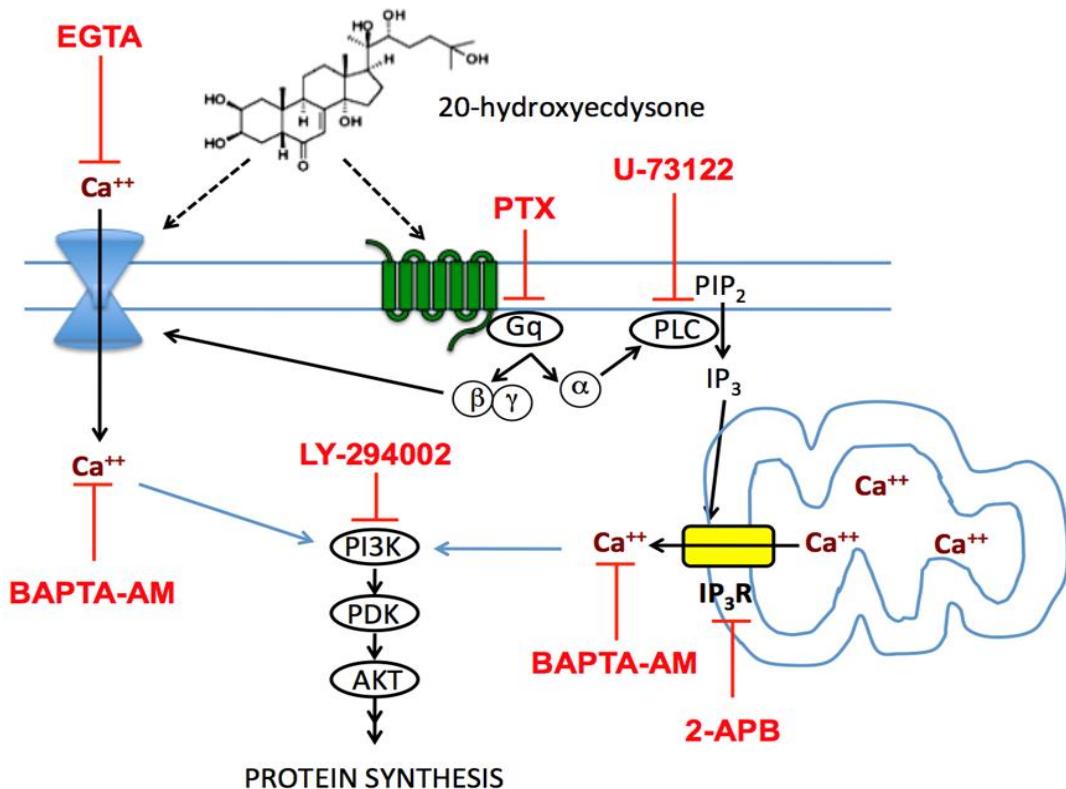


Figure 3

Proposed mechanism of 20E action (after Gorelick-Feldman et al. [145], modified by Lafont [164]). Ca⁺⁺: calcium; Gq: a subtype of G protein; PLC: Phospholipase C; PIP₂: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate; IP₃: Inositol triphosphate; IP₃R: Inositol triphosphate receptor; PI3K: phosphoinositide 3-kinase, PDK: Pyruvate dehydrogenase kinase; AKT: Protein kinase B; EGTA: ethylene glycol tetraacetic acid, a calcium chelator; PTX: Pertussis toxin, an inhibitor of G-protein coupled receptors; U-73122: inhibitor of agonist-induced PLC activation; LY-294002: morpholine-containing chemical compound that is a potent inhibitor of phosphoinositide 3-kinases; BAPTA-AM: 1,2-bis(o-aminophenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid is a membrane permeable calcium chelator; 2APB: 2-Aminoethoxydiphenylborate is an inhibitor of IP₃R and Transient Receptor Potential channel.

We consider that their arguments are strong enough to believe that the primary site (but possibly not the only one) of action of 20E in mammals is probably at the cell membrane. In insects, 20E can bind to a GPCR as well as the nuclear EcR/USP receptor complex [154]. This, however, is not the complete story, as there are ca. 1000 genes encoding GPCRs in the human genome, so identification of the target still remains an open question.

Phytoecdysteroids in SAR and receptor-ligand studies

The very wide range of phytoecdysteroid analogues with their combinatorial permutations of structural features provides an ideal resource for structure-activity studies in many aspects of ecdysteroid research, ranging from behavioural to physiological, biochemical and pharmaceutical. Mamadalieva et al. [155] compared the ability of 10 purified ecdysteroids and Siverinol (a semi-purified ecdysteroid mixture) given *per os* (5 mg/kg body weight) to mice 1 h before being subjected to a swimming endurance test to determine how long they could swim for before reaching exhaustion. All the pure ecdysteroids prolonged the swimming duration over the control by 9 to 43%, and Siverinol prolonged it by 49%.

With insect ecdysteroid receptors, high-affinity phytoecdysteroids (e.g. ponasterone A) have been used for X-ray crystallographic and/or modelling studies to examine the conformation of the hormone-receptor complex and to identify amino-acid residues involved in hormone binding (see [156], for an example involving the *Anthonomus grandis* EcR). In some SAR studies,

phytoecdysteroids are complemented by chemically-synthesised analogues to provide the full range of structural features required, where some of the analogues have not yet been isolated from a natural source or not available in sufficient amounts. Such an approach is demonstrated by a study to determine how many hydrogen bonds various ecdysteroid analogues are capable of forming with the *Drosophila melanogaster* ecdysteroid receptor (DmEcR) ligand-binding domain. In conjunction with the phytoecdysteroids E, 20E and PonA, other hydroxylated analogues were synthesised [157] and used for the study [158] which compared the activity of the analogues in the *Drosophila* Kc cell assay with *in silico* modelling of the ligand binding site of the receptor with each of the analogues. This provided an explanation for the considerably higher affinity of PonA over E (>1000-fold), even though they possess the same number of hydroxyl groups, as PonA can form 10 H-bonds, while E only forms 6. 20E has one more hydroxyl than PonA, but can form only 7 H-bonds, accounting for its 50-100-fold lower activity than PonA.

In mammalian systems, the potential of phytoecdysteroids for SAR studies in elucidating the pharmaceutical effects of this class of compounds is only just starting to be realised. For example, Gorelick-Feldman et al. [159] have compared the ability of 4 phytoecdysteroids to stimulate protein synthesis in a mouse skeletal muscle cell line (C2C12) in a dose dependent manner and shown that 20E and turkesterone are similarly effective with an EC₅₀ of 40 nM, while polB and PonA are about 10-fold less potent. In order to determine if ecdysteroids have their effects in mammals via nuclear steroid receptors, Bathori et al. [133] assessed the ability of 11 phytoecdysteroids at 10⁻⁶M to compete with the appropriate radiolabelled ligand for the oestrogen, glucocorticoid and androgen receptors. Generally, there was no competition for the specific binding, but a low level of competition (30%) was achieved by 20E22Ac for the oestrogen receptor and 5 analogues (20E, PolB, 20E22Ac, turkesterone and 9,11-didehydropostrasterone) gave partial competition (30 - 60%) for the specific binding sites on the androgen receptor, but the predicted Ki values are too high (>10⁻⁶M) to have any real biological significance.

CONCLUSIONS AND FUTURE DIRECTIONS

Probably no more than 6000 of the world's 300,000 known species of plants have been assessed for the presence of ecdysteroids. Initially, such assessment was performed using an appropriate insect or crustacean *in vivo* bioassay to detect the presence of ecdysteroids in a plant extract [160,161], but this was a very time-consuming process. Then, the next approach was to use immunoassays and high-throughput *in vitro* bioassays [162], which allowed the extraction of plant material to be scaled down and much larger numbers of samples to be assessed, but provided information on total immunoassay- or bioassay-positive material, and coupling (off-line) the immunoassay or bioassay to HPLC-separation of extracts to provide preliminary information about which ecdysteroid analogues were present was, while effective, again tedious. We are now entering a third phase where extracts of small plant samples can be screened by HPLC-MS [163]. The instruments have become so reliable, the separations on temperature-controlled micro-columns so rapid and reproducible, and the on-line detection by photo-diode array detector and mass-spectrometry is so specific and sensitive that it is now perfectly feasible to analyse hundreds of samples over a short period of time, not only to identify those samples which contain ecdysteroids, but also to provide a full ecdysteroid profile (with quantification) of the positive samples, with extensive identification of components based on the chromatographic Rt, the UV/vis spectrum and the MS-fragmentation pattern (see Figure 4, using an extract of *Ajuga iva* as an example).

An example of HPLC-MS of a plant extract (from aerial parts of *Ajuga iva* separated by RP-HPLC). The various panels show the total ion current (TIC), the chromatogram monitored at 242 nm, the chromatogram monitored as the sum of all uv wavelengths and the mass spectra for peaks 1 (20-hydroxyecdysone), 2 (makisterone A) and 3 (cyasterone).

Thus, we can expect, prompted by this advanced methodology, there to be a significant increase in the prospecting for further ecdysteroid-containing species and new analogues. However, as has always been the case, it will remain essential, and difficult to obtain accurately identified

plant samples, although access to the increasing number of seed-banks may help to relieve this bottle-neck to some extent.

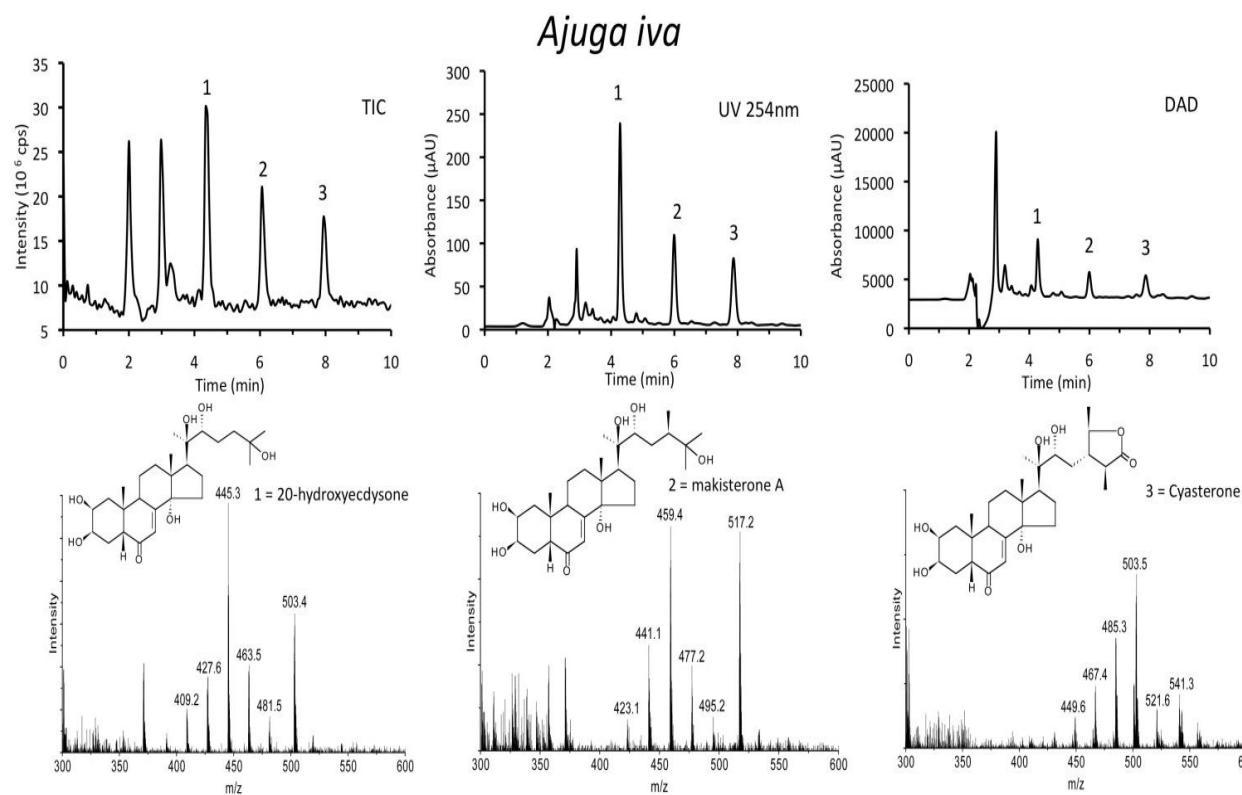


Figure 4

Such methodology will have a clear impact on the phylogenetic analysis of the distribution of ecdysteroids in the plant world and the assessment of phytoecdysteroids as chemotaxonomic markers, as more species will be more rapidly and thoroughly assessed.

Since the chemical synthesis of ecdysteroids *ab initio* will remain possible only in low yield, the isolation of large amounts of ecdysteroids from plant sources in faster and more cost-efficient procedures will continue to be an important goal. Particular analogues (especially 20E and turkesterone) are in demand for the growing market in commercial ecdysteroid-containing preparations aimed at the fitness and sporting market. Further, the increasing interest in the medical and pharmaceutical properties of ecdysteroids in mammals will necessitate the availability of large amounts of quality-controlled, pure preparations. Investigations of the modes of action of ecdysteroids in mammalian and invertebrate systems require the availability of a wide range of ecdysteroid analogues in pure form suitable for SAR studies to develop pharmacophore models for traditional steroid receptor and novel binding sites for the development of novel invertebrate pest control agents and medically and pharmaceutically active agents for humans and other mammals. The range of disease states to which ecdysteroids might be able to contribute is growing all the time (wound healing, anti-ulcer activity, neuro-, hepato- and nephroprotective activities etc), but two are worthy of particular mention because of the potential contributions ecdysteroids might make to major medical issues: diabetes and sarcopenia. Diabetes (or rather Metabolic Syndrome) is a worldwide epidemic of enormous (and rapidly growing) proportions for which new medical approaches in a context of dietary and fitness education are urgently needed. The anabolic effects of ecdysteroids, in addition to being of interest to bodybuilders and sportsmen, may find much more significant application in slowing down or reversing muscle loss associated with old age (sarcopenia) which results in weight loss, physical weakness and frailty.

Thus, all these aspects will drive the continued search for new plant sources of ecdysteroids, which are readily available and which contain the desired analogue(s) in high concentration.

Sources containing ever moreecdysteroid are still being found; for a long time, the stem bark of *Diploclisia glaucescens* seemed to be the richest source (3.2% of the dry wt.), but recently the flowers of *Silene frivaldszkyana* have been found to contain a remarkable 7% of the dry wt. as ecdysteroid [100]. Of course, high PE concentration is not the only criterion, as rarity of the plant and ease with which the plant part can be collected and extracted are also significant factors. The hope that cell, callus or hairy root cultures might be a commercially viable source of ecdysteroids still seems to be a long way off.

Progress remains slow in the elucidation of the biosynthetic pathway(s) for ecdysteroids in plants, yet this, together with knowledge of its regulation, would enable significant advances in our ability to enhance endogenous phytoecdysteroid levels in crop species for perhaps the dual purpose of enhanced protection against invertebrate pests and improved nutraceutical value, since circumstantial evidence indicates that most, if not all, plants have the genetic capacity to produce ecdysteroids, but very few of the current crop cultivars contain them, yet we know from the few that do (spinach, quinoa) that they are nutritionally beneficial.

Literature

1. Dinan L., Savchenko T. and Whiting P. (2001) On the distribution of phytoecdysteroids in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 58 1121-1132
2. Dinan L., Harmatha J., Volodin V. and Lafont R. (2009) Phytoecdysteroids: diversity, biosynthesis and distribution. In: Smagghe G. (Ed.) *Ecdysone: Structures and Functions*, Springer, pp. 3-45
3. Lafont R. (1998) Phytoecdysteroids in the world flora: diversity, distribution, biosynthesis and evolution. *Russian Journal of Plant Physiology* 45 276-295
4. Lafont R. and Dinan L. (2009) Innovative and future applications for ecdysteroids. In: Smagghe G. (Ed.) *Ecdysone: Structure and Functions*. Springer, pp. 551-578
5. Lafont R., Bouthier A. and Wilson I.D. (1991) Phytoecdysteroids: structures, occurrence, biosynthesis and possible ecological significance. In: Hrdý I. (Ed.) *Insect Chemical Ecology*, Academia, Prague, pp. 197-214
6. Dinan L. (2001) Phytoecdysteroids: biological aspects. *Phytochemistry* 57 325-339
7. Lafont R., Harmatha J., Marion-Poll F., Dinan L. and Wilson I.D. (2002, but continuously updated) Ecdybase: The Ecdysone Handbook On-line <http://ecdybase.org/>
8. Mamadalieva N.Z. (2013) In: Azimova S.S. (Ed.) *Natural compounds: phytoecdysteroids*. Springer, New York, pp. 286
9. Almagambetov A.M., Almagambetova L.A., Glashkin A.V., Tuleuov B.I. and Adekenov S.M. (2015) The chemical research of *Acanthophyllum* species. International Scientific and Practical Conference' Achievents and Prospects for the Development of Phytochemistry' Karganda, Kazakhstan, abstracts, p. 126
10. Meng D-L., Li X., Wang J-H. and Li W. (2005) A new phytoecdysone from *Achyranthes bidentata* Bl. *Journal of Asian Natural Products Research* 7(2) 181-184
11. Li X., Zhao W., Meng D. and Qiao A. (2007) A new phytosterone from the roots of *Achyranthes bidentata*. *Fitoterapia* 78 607-608
12. Wang Q-H., Yang L., Jiang H., Wang Z-B., Yang B-Y. and Kuang H-X. (2011) Three new phytoecdysteroids containing a furan ring from the roots of *Achyranthes bidentata* Bl. *Molecules* 16 5989-5997 (doi:10.3390/molecules16075989)
13. Zhang M., Zhou Z-Y., Wang J., Cao Y., Chen X-Y., Zhang W-M., Lin L-D. and Tan J-W. (2012) Phytoecdysteroids from the roots of *Achyranthes bidentata* Blume. *Molecules* 17 3324-3332 (doi:10.3390/molecules17033324)
14. Tang X., Pei G., Zhou Z-y. and Tan J-w. (2013) Chemical Constituents from Roots of *Achyranthes bidentata*. *Journal of Tropical and Subtropical Botany* 21(1)57-62
15. Saleem M., Musaddiq S., Riaz N., Zubair M.; Ashraf M., Nasar R. and Jabbar A. (2013) Ecdysteroids from the flowers of *Aerva javanica*. *Steroids* 78 1098–1102
16. Coll J. (2007) New minor ecdysteroids from *Ajuga iva* (Labiatae) and complete ¹H-NMR assignment of cyasterone. *Affinidad* 64 242-250
17. Bakrim A., Ngunjiri J., Crouzet S., Guibout L., Balducci C., Girault J.-P. and Lafont R. (2014) Ecdysteroid profiles of two *Ajuga* species, *A. iva* and *A. remota*. *Natural Product Communications* 9(8) 1069-1074

18. Castro A., Coll J., Tandrón Y.A., Pant A.K. and Mathela C.S. (2008) Phytoecdysteroids from *Ajuga macrosperma* var. *breviflora* roots. *Journal of Natural Products* 71 1294-1296
19. Coll J., Tandrón Y.A. and Zeng X. (2007) New phytoecdysteroids from cultured plants of *Ajuga nippensis* Makino. *Steroids* 72 270-277
20. Ványolós A., Simon A., Tóth G., Polgár L., Kele Z., Ilku A., Mátyus P., and Báthori M. (2009) C-29 Ecdysteroids from *Ajuga reptans* var. *reptans*. *Journal of Natural Products* 72 929-932
21. Chan Y-Y., Wu T-S., Kuoh C.S. and Damu A.G. (2005) A new phytoecdysteroid from *Ajuga taiwanensis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 53(7) 836-838
22. Guibout L., Mamadalieva N., Balducci C., Girault J.-P. and Lafont R. (2015) The minor ecdysteroids from *Ajuga turkestanica*. *Phytochemical Analysis* 26 293-300
23. Wu J-j., Wang H., Ye W-c., Zuo X-f. and Zhao S-x. (2006) Chemical constituents from *Asparagus filicinus*. *Journal of China Pharmaceutical University* 37(6) 487-490
24. Wu J-J., Cheng K-W., Wang H., Ye W-C., Li E.T.S. and Wang M. (2009) Simultaneous determination of three phytoecdysteroids in the roots of four medicinal plants from the genus *Asparagus* by HPLC. *Phytochemical Analysis* 20 58-63
25. Wu J-J., Cheng K-W., Zuo X-F., Wang M-F., Li P., Zhang L-Y., Wang H. and Ye W-C. (2010) Steroidal saponins and ecdysterone from *Asparagus filicinus* and their cytotoxic activities. *Steroids* 75 734-739
26. Zhou L., Cheng Z. and Chen D. (2012) Simultaneous determination of six steroidal saponins and one ecdysone in *Asparagus filicinus* using high performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2(3) 267-273
27. Tao H-m., Wang L-s., Zhao D-q., Zhu Q-h., Yin Y-g. and Liu Y-h. (2012) Steroids from tubers of *Asparagus filicinus*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* 43(9) 1716-1720
28. Nejma A.B., Nguir A., Jannet H.B., Hamza M.A., Daich A., Othman M. and Lawson A.M. (2015) New sepanoside and 20-hydroxyecdysone sepanoside derivative from *Atriplex portulacoides* roots with preliminary biological activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 25 1665-1670
29. Wu P., Xie H., Tao W., Miao S. and Wei X. (2010) Phytoecdysteroids from the rhizomes of *Brainea insignis*. *Phytochemistry* 71 975-981
30. Hang D.T.T., Hang N.T.M., Anh H.L.T., Nham N.X., Hue C.T., Binh P.T., Dat N.T., Nam N.H., Yen P.H., Minh C.V., Hung N.V. and Kiem P.V. (2015) ^1H and ^{13}C NMR assignments of new ecdysteroids from *Callisia fragrans*. *Magnetic Resonance in Chemistry* 53(5) 379-382 (doi: 10.1002/mrc.4214)
31. DellaGreca M., D'Abrosca B., Florentino A., Previtera L. and Zarrelli A. (2005) Structure elucidation and phytotoxicity of ecdysteroids from *Chenopodium album*. *Chemistry & Biodiversity* 2 457-462
32. Dini I., Tenore G.C. and Dini A. (2005) Nutritional and antinutritional composition of Kancolla seeds: an interesting and underexploited andine food plant. *Food Chemistry* 92 125-132
33. Kumpun S., Maria A., Crouzet S., Evrard-Todeschi N., Girault J.-P. and Lafont R. (2011) Ecdysteroids from *Chenopodium quinoa* Willd., an ancient Andean crop of high nutritional value. *Food Chemistry* 125 1226-1234
34. Madhavan S.C., Bose C., Perakathusseril T.M. and Banerji A. (2014) Indian medicinal plant, *Coscinium fenestratum*, a new bio source for the multifunctional bio active molecule ecdysterone. *International Journal of Herbal Medicine* 2(5) 5-9
35. Tan C., Kong L., Li X., Li W. and Li N. (2011) Isolation and analysis of a new phytoecdysteroid from *Cyanotis arachnoidea* C.B. Clarke. *Chinese Journal of Chromatography* 29(9) 937-941 [in Chinese, with an English abstract]
36. Crouzet S., Maria M., Dinan L., Lafont R. and Girault J.-P. (2009) Ecdysteroids from *Cyanotis longifolia* Benth. (Commelinaceae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 72(4) 194-209
37. Okuzumi K., Hara N., Uekusa H. and Fujimoto Y. (2005) Structure elucidation of cyasterone stereoisomers isolated from *Cyathula officinalis*. *Organic and Biomolecular Chemistry* 3 1227-1232
38. Zhou R., Li B-G. and Zhang G-L. (2005) Chemical study on *Cyathula officinalis* Kuan. *Journal of Asian Natural Products Research* 7(3) 245-252
39. Calderón A.I., Chung K.S. and Gupta M.P. (2009) Ecdysteroids from *Dichorisandra hexandra* (Commelinaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 37 693-695
40. Gvazava L.N. and Kukoladze V.S. (2010) Phytoecdysteroids from *Digitalis ciliata* and *D. purpurea* leaves. *Chemistry of Natural Compounds* 46(1) 146-147
41. Sautour M., Canon F., Miyamoto T., Dongmo A. and Lacaille-Dubois M.-A. (2008) A new ecdysteroid and other constituents from two *Dioscorea* species. *Biochemical Systematics and Ecology* 36 559-563

42. Hu J., Shi X., Mao X., Li H., Chen J. and Shi J. (2014) Ecdysteroids from the ethanol extract of *Diplopterygium rufopilosum*. *Phytochemistry Letters* 8 73–76
43. Yi J., Luo Y., Li B. and Zhang G. (2004) Phytoecdysteroids and glyceroceramides from *Eriophyton wallchii*. *Steroids* 69 809–815
44. Su C-R., Ueng Y-F., Dung N.X., Reddy M.V.B. and Wu T-S. (2007) Cytochrome P3A4 inhibitors and other constituents of *Fibraurea tinctoria*. *Journal of Natural Products* 70 1930–1933
45. Wang P., Li S., Ownby S., Zhang Z., Yuan W., Zhang W. and Beasley R.S. (2009) Ecdysteroids and a sucrose phenylpropanoid ester from *Froelichia floridana*. *Phytochemistry* 70(3) 430–436
46. Muzushvili T.C. and Kemertelidze E.P. (2015) Phytochemical investigation of *Helleborus caucasicus* seeds and flowers. Abstract for International Scientific and Practical Conference: ‘Achievements and Prospects in the Development of Phytochemistry’, Karganda, April 10-11th, 2015, p. 111
47. Yang F-Y., Su Y-F., Wang Y., Chai X., Han X., Wu Z-H. and Gao X-M. (2010) Bufadienolides and phytoecdysones from the rhizomes of *Helleborus thibetanus* (Ranunculaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 38(4) 759–763
48. Ling T., Zhang Z., Xia T., Ling W. and Wan X. (2009) Phytoecdysteroids and other constituents from the roots of *Klaseopsis chinensis*. *Biochemical Systematics and Ecology* 37 49–51
49. Yao J-N., Li Z-F., Lou H-Y., Huang L., Liang G-Y., Cao P-X. and Pan W-D. (2014) A new ecdysteroidal glycoside from *Lepidogrammitis drymoglossoides* (Bak.) Ching. *Journal of Carbohydrate Chemistry* 33 206–211
50. Budešinsky M., Vokac K., Harmatha J. and Cvacka J. (2008) Additional minor ecdysteroid components of *Leuzea carthamoides*. *Steroids* 73 502–514
51. Novozhilova E., Rybin V., Gorovoy P., Gavrilenko I., Doudkin R. (2015) Phytoecdysteroids of the East Asian *Caryophyllaceae*. *Pharmacognosy Magazine* 11(42, Supplement 1) S225–S230
52. Zhu L., Zhang G., Chen L., Wang S., Li P. and Li L. (2009) A new ecdysteroside from *Lygodium japonicum* (Thunb.) Sw. *Journal of Natural Medicine* 63 215–219
53. Ho R., Teai T., Loquet D., Bianchini J.-P., Girault J.-P., Lafont R. and Raharivelomanana (2007) Phytoecdysteroids in the genus *Microsorum* (Polypodiaceae) of French Polynesia. *Natural Product Communications* 2 1–4
54. Ho R., Girault J.-P., Cousteau P.-Y., Bianchini J.-P., Raharivelomanana P. and Lafont R. (2008) Isolation of a new class of ecdysteroid conjugates (glucosyl-ferulates) using a combination of liquid chromatographic methods. *Journal of Chromatographic Science* 46 102–110
55. Ho R., Girault J.-P., Raharivelomanana P. and Lafont R. (2012) E- and Z-Isomers of new phytoecdysteroid conjugates from French Polynesian *Microsorum membranifolium* (Polypodiaceae) fronds. *Molecules* 17 11598–11606
56. Snogan E., Vahirua-Lechat I., Ho R., Bertho G., Girault J.-P., Ortiga S., Maria A. and Lafont R. (2007) Ecdysteroids from the medicinal fern *Microsorum scolopendria* (Burm. f.). *Phytochemical Analysis* 18 441–450
57. Jenett-Siems K., Krause N., Siems K., Jakupovic S., Wallukat G. and Melzig M.F. (2012) Chemical composition and biological activity of *Paris quadrifolia* L. *Zeitschrift für Naturforschung* 67c 565–570
58. Nakamura S., Chen G., Nakashima S., Matsuda H., Pei Y., and Yoshikawa M. (2010) Brazilian Natural Medicines. IV. New noroleanane-type triterpene and ecdysterone-type sterol glycosides and melanogenesis inhibitors from the roots of *Pfaffia glomerata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 58(5) 690–695
59. Nishimoto N., Shiobara I. Y., Inoue I. S-s., Fujino I. M., Takemoto T., Yeoh C.L. and Hashimoto G. (1986) Ecdysterone from *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken. *Revista Brasileira Farmacognosia* 1(2) 188–191
60. Simon A., Ványolós A., Béni Z., Dékány M., Tóth G. and Báthori M. (2011) Ecdysteroids from *Polypodium vulgare* L. *Steroids* 76 1419–1424
61. Daniel M. and Mammen D. (2014) Ecdysterone and antioxidants in purslane (*Portulaca oleracea* Linn.). *Asian Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2(2) 137–139
62. Xu H., Shi X., Ji X., Du Y., Zhu H. and Zhang L. (2011) Qualitative and quantitative determination of nine main active constituents in *Pulsatilla cernua* by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science* 34 308–316
63. Huang M-f., Li N. and Jia X-g. (2008) Progress in studies of *Rhaponticum carthamoides*. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University* 7 17pp
64. Jia A., Li Y., Zhou J. and Gao J. (2010) Three phytoecdysteroids from *Sagina japonica* and potential biotransforming pathways of japonicone. *Chemistry of Natural Compounds* 46(5) 738–741

65. Larguet H. (2011) Les molécules térrpeniques (ecdystéroides) des fleurs de *Serratula cichoracea*: recherche d'activités antimicrobienne et antioxydante. Ph.D. Thesis, Université Mentouri Constantine, Algeria, pp. 75
66. Odnikov V.N., Kumpun S., Galyautdinov I.V., Evrard-Todeschi N., Veskina N.A., Khalilov L.M., Girault J.-P., Dinan L., Maria A. and Lafont R. (2005) Low-polarity phytoecdysteroids from the juice of *Serratula coronata* (Asteraceae). Collection of Czechoslovak Chemical Communications 70 2038- 2052
67. Pylina Y.I., Volodina S.O., Bacharov D.S. and Volodin V.V. (2010) Ecdysteroids of *Serratula quinquefolia* Bieb. ex Willd. 2nd Annual Russian-Korean Conference “Current issues of natural products chemistry and biotechnology”, March 15-18, 2010, Novosibirsk, Russia, Poster Presentation, p. 116
68. Hunyadi A., Tóth G., Simon A., Mák M., Kele Z., Máthé I. and Báthori M. (2004) Two new ecdysteroids from *Serratula wolffii*. Journal of Natural Products 67 1070-1072
69. Hunyadi A., Gergely A., Simon A., Tóth G., Veress G. and Báthori M. (2007) Preparative-scale chromatography of ecdysteroids of *Serratula wolffii* Andrae. Journal of Chromatographic Science 45 76-86
70. Simon A., Tóth G., Liktor-Busa E., Kele Z., Takács M., Gergely A. and Báthori M. (2007) Three new steroids from the roots of *Serratula wolffii*. Steroids 72 751-755
71. Liktor-Busa E., Simon A., Tóth G., Fekete G., Kele Z. and Báthori M. (2007) Ecdysteroids from *Serratula wolffii* roots. Journal of Natural Products 70 884- 886
72. Liktor-Busa E., Simon A., Toth G. and Bathori M. (2008) The first two ecdysteroids containing a furan ring from *Serratula wolffii*. Tetrahedron Letters 49 1738-1740
73. Simon A., Liktor-Busa E., Tóth G., Kele Z., Groska J. and Báthori M. (2008) Additional minor phytoecdysteroids of *Serratula wolffii*. Helvetica Chimica Acta 91 1640-1645
74. Liktor-Busa E. (2008) Analysis of the ecdysteroid profile of *Serratula wolffii* roots. Ph.D. Thesis, University of Szeged, Hungary, pp. 13
75. Takács M., Simon A., Liktor-Busa E., Báthori M., Zsila F., Bikádi Z., Horváth P., Veress G., Gergely A. and Tóth G. (2010) Structure and stereochemistry of novel ecdysteroids from the roots of *Serratula wolffii*. Magnetic Resonance in Chemistry 48 386-391
76. Ványolós A., Béni Z., Dékány M., Simon A. and Báthori M. (2012) Novel ecdysteroids from *Serratula wolffii*. The Scientific World Journal 2012 Article ID 651275, 5 pages
77. Das N., Saha T. and Bhattacharjee S. (2014) A new biologically active ecdysteroid from the aerial parts of *Sida glutinosa*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 3(5) 73-78
78. Jadhav A.N., Pawar R.S., Avula B. and Khan I.A. (2007) Ecdysteroid glycosides from *Sida rhombifolia* L. Chemistry & Biodiversity 4 2225-2230
79. Silva da Rosa H., Brum de Camargo V., Camargo G., Garcia C.V., Fuentefria A.M. and Mendez A.S.L. (2015) Ecdysteroids in *Sida tuberculata* R.E. Fries (Malvaceae): chemical composition by LC-ESI-MS and selective anti-*Candida krusei* activity. Food Chemistry 182 193-199
80. Zibareva L.N., Seliverstova A.A., Suksamrarn A., Morozov S.V. and Chernyak E.I. (2014) Phytoecdysteroids from the aerial part of *Silene colpophylla*. Chemistry of Natural Compounds 50(3) 571-572
81. Tuleuov B.I., Turdybekov K.M., Khabdolda G., Adekenov S.M., Nurkenov O.A., Tuleuova B.K., Kozhanova A.M., and Almagambetov A.M. (2014) Structure and stereochemistry of phytoecdysone from *Silene cretacea Fisch.* Russian Journal of General Chemistry 84(4) 704-707
82. Zibareva L.N., Yeriomina V.I., Munkhjargal N., Girault J.-P., Dinan L. and Lafont R. (2009) The phytoecdysteroid profiles of 7 species of *Silene* (Caryophyllaceae). Archives of Insect Biochemistry and Physiology 72(4) 234-248
83. Mamadalieva N.Z., El-Readi M.Z., Janibekov A.A., Tahranı A. and Wink M. (2011) Phytoecdysteroids of *Silene guntensis* and their *in vitro* cytotoxic and antioxidant activity. Zeitschrift für Naturforschung 66c 215-224
84. Simon A., Pongrácz Z., Tóth G., Mák M., Máthé I. and Báthori M. (2004) A new ecdysteroid with unique 9β-OH and four other ecdysteroids from *Silene italica* ssp. *nemoralis*. Steroids 69 389-394
85. Agzamova M.A., Isaev I.M.O., Mamatkhanov A.U., Isaev M.I.O. and Ibragimov T.F. (2014) Phytoecdysteroids from *Silene praemixta*. Advances in Biological Chemistry 4 1-4
86. Tóth N., Simon A., Tóth G., Kele Z., Hunyadi A. and Báthori M. (2008) 26-Hydroxylated ecdysteroids from *Silene viridiflora*. Journal of Natural Products 71 1461-1463
87. Simon A., Tóth N., Tóth G., Kele Z., Groska J. and Báthori M. (2009) Ecdysteroids from *Silene viridiflora*. Helvetica Chimica Acta 92 753-761
88. Tóth N. (2010) Ecdysteroid profile of *Silene viridiflora* and the effect of 20-hydroxyecdysone on rat muscle fibres *in vivo*. Ph.D. Thesis, University of Szeged, Hungary, pp. 66, 2010

89. Mamadalieva N.Z., Janibekov A.A., Girault J.-P. and Lafont R. (2010) Two minor phytoecdysteroids of the plant *Silene viridiflora*. Natural Product Communications 5 1-4
90. Jin Y-s., Xu W. and Li Y-s. (2011) Isolation and identification of ecdysterones from root of *Silene viscidula* Franch. Journal of Shenyang Pharmaceutical University 28(4) 269-271
91. Fang Y., Zhang S-X., Huo C-H., Sauriol F., Shi Q-W. and Kiyota H. (2010) Two new phytoecdysteroids from the needles of *Taxus canadensis*. Zeitschrift für Naturforschung 65b1-5
92. Shi Q-W., Dong M., Huo C-H., Su X-H., Li X., Yamada T. and Kiyota H. (2007) 7,8 β -Dihydroponasterone A, a new phytoecdysteroid from the needles of the Japanese yew, *Taxus cuspidata*. Journal of the Brazilian Chemical Society 18(5) 1081-1084
93. Ochieng C.O., Ishola I.O., Opiyo S.A., Manguro L.A.O., Owuor P.O. and Wong K-C. (2013) Phytoecdysteroids from the stem bark of *Vitex doniana* and their anti-inflammatory effects. Planta Medica 79 52-59
94. Kovganko N.V. (1999) Ecdysteroids and related compounds in fungi. Chemistry of Natural Compounds 35(6) 597-611
95. Zhou W-W., Lin W-H. and Guo S-X. (2007) Two new polyporusterones isolated from the sclerotia of *Polyporus umbellatus*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 55(8) 1148-1150
96. Sun Y. and Yasukawa K. (2008) New anti-inflammatory ergostane-type ecdysteroids from the sclerotium of *Polyporus umbellatus*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 18(11) 3417-3420
97. Zang Y., Xiong J., Zhai W-Z., Cao L., Zhang S-P., Tang Y., Wang J., Su J-J., Yang G-X., Zhao Y., Fan H., Xia G., Wang C-G. and Hu J-F. (2013) Fomentarols A-D, sterols from the polypore macrofungus *Fomes fomentarius*. Phytochemistry 92 137-145
98. Zhao Y-Y. (2013) Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and quality control of *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries: a review. Journal of Ethnopharmacology 149 35-48.
99. Zhang X-P., Zhang J., Dong M., Zhang M-L., Huo C-H., Shi Q.-W. and Gu Y-C. (2010) Chemical constituents of plants of the genus *Rhaponticum*. Chemistry & Biodiversity 7 594-609
100. Zibareva L.N. (2009) Phytoecdysteroids of Caryophyllaceae Juss. Contemporary Problems of Ecology 2(5) 476-488
101. Volodin V.V., Shadrin M.D., Pylina Y.I., Druz Y.I., Volodina S.O., Chadin I.F. and Dinan L. (2013) Molecular phylogeny and chemotaxy of ecdysteroid-containing plants of the families Caryophyllaceae Juss. And Asteraceae Dumort. Bulletin of Biotechnology and Physical and Chemical Biology 9(1) 21-27
102. Novozhilova E.V., Rybin V.G., Gorovoy P.G. and Gavrilenko I.G. (2014) Plant ecdysteroids in aerial part of the Far Eastern species of Caryophyllaceae. Turczaninowia 17(2) 42-48
103. Volodin V.V. and Volodina S.O. (2015) Floristic and molecular phylogenetic analysis of the distribution of phytoecdysteroids among plants of North-East Russia (Asteraceae and Caryophyllaceae). Biology and Medicine 7(1) Article ID: BM-064-15, 23 pages
104. Bespayeva A.M., Tuleuov B.I., Habdolda G., Turmuhkambetov A.A., Tuleuova B.K., Isaiynova L.A., Kuatbayev O.U. and Adekenov S.M. (2012) The spread of 20-hydroxyecdysone and its analogues in plants. Chemistry 66(2) 13-17
105. Lafont R., Ho R., Raharivelomanana P. and Dinan L. (2011) Ecdysteroids in ferns: distribution, diversity, biosynthesis and functions. In: Fernandez H., Kumar A. and Revilla M.A. (Eds.) Working with Ferns: Issues and Applications, Springer, pp. 305-311
106. Fujimoto Y., Maeda I., Ohyama K., Hikiba J. and Kataoka H. (2015) Biosynthesis of 20-hydroxyecdysone in plants: 3 β -Hydroxy-5 β -cholestane-6-one as an intermediate immediately after cholesterol in *Ajuga* hairy roots. Phytochemistry 111 210-217
107. Bakrim A., Maria A., Sayah F., Lafont R. and Takvorian N. (2008) Ecdysteroids in spinach (*Spinacia oleracea* L.): biosynthesis, transport and regulation of levels. Plant Physiology and Biochemistry 46(10) 844-854
108. Boo K.H., Lee D., Jeon G.L., Ko S.H., Cho S.K., Kim J.H., Park S.P., Hong Q., Lee S-H, Lee D-S. and Riu K.Z. (2010) Distribution and biosynthesis of 20-hydroxyecdysone in plants of *Achyranthes japonica* Nakai. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 74(11) 2226-2231
109. Alekseeva L.I. (2004) Ecdysone 20-monooxygenase activity of cytochrome P450 in *Ajuga reptans* L. plants and cell culture. Applied Biochemistry and Microbiology 40(2) 159-164
110. Canals D., Irurre-Santilari J. and Casas J. (2005) The first cytochrome P450 in ferns: evidence for its involvement in phytoecdysteroid biosynthesis in *Polypodium vulgare*. FEBS Journal 272 4817-4825
111. Bakrim A., Guittard E., Maria A., De Virville J.D., Lafont R. and Takvorian N. (2009) Phytoecdysteroid C2-Hydroxylase is microsomal in spinach, *Spinacia oleracea* L. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 72(4) 210-219

112. Cheng D.M., Yousef G.G., Grace M.H., Rogers R.B., Gorelick-Feldman J., Raskin I. and Lila M.A. (2008) In vitro production of metabolism-enhancing phytoecdysteroids from *Ajuga turkestanica*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 93 73–83
113. Thanonkeo S., Chamnipa N. and Thanonkeo P. (2011) Induced accumulation of 20-hydroxyecdysone in cell suspension cultures of *Vitex glabrata* R.Br. African Journal of Biotechnology 10(52) 10612-10617
114. Kamlar M., Rothova O., Salajkova S., Tarkowska D., Drasar P., Kocova M., Harmatha J., Hola D., Kohout L. and Macek T. (2015) The effect of exogenous 24-epibrassinolide on the ecdysteroid content in the leaves of *Spinacia oleracea* L. Steroids 97 107–112
115. Timofeev N.P. (2010) Growth and biosynthesis of ecdysteroids in *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin under the influence of edaphic factors. Agricultural Biology (5) 98-105
116. Flores R., Brondani D., Cezarotto V., Giacomelli S.R. and Nicoloso F.T. (2010) Micropropagation and β -ecdysone content of the Brazilian ginsengs *Pfaffia glomerata* and *Pfaffia tuberosa*. In Vitro Cellular Development and Biology-Plant 46(2) 210-217 (doi: 10.1007/s11627-010-9286-7)
117. Kayani W.K., Rani R., Ihsan-ul-Haq and Mirza B. (2014) Seasonal and geographical impact on the morphology and 20-hydroxyecdyonse content in different tissue types of wild *Ajuga bracteosa* Wall. ex Benth. Steroids 87 12-20
118. Graf B.L., Rojo L.E., Delatorre-Herrera J., Poulev A., Calfio C. and Raskin I. (2015) Phytoecdysteroids and flavonoid glycosides among Chilean and commercial sources of *Chenopodium quinoa*: variation and correlation to physico-chemical characteristics. Journal of the Science of Food and Agriculture (doi: 10.1002/jsfa.7134)
119. Festucci-Buselli R.A., Contim L.A.S., Barbosa L.C.A., Stuart J.J., Vieira R.F. and Otoni W.C. (2008) Level and distribution of 20-hydroxyecdysone during *Pfaffia glomerata* development. Brazilian Journal of Plant Physiology 20(4) 305-311
120. Guerreiro C.P.V., Marques M.O.M., Ferrancini V.L., Quieroz S.C.N. and Ming L.C. (2009) b-Ecdysone production by *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen under organic fertilization in 6 growth periods. Revista Brasiliense de Plantas Medicinais 11(4) 392-398
121. Alieva N.K., Nigmatullaev A.M., Ramazanov N.S. and Bobaev I.D. (2009) Ecdysterone accumulation dynamics. Chemistry of Natural Compounds 45(1) 135-136
122. Cheng D.M., Yousef G.G. and Lila M.A. (2010) Variation in phytoecdysteroid accumulation in seeds and shoots of *Spinacia oleracea* L. accessions. HortScience 45(11) 1634-1638
123. Sook K.E., Jeong S-I., Kim J-H., Park C., Kim S-M., Kim J-K., Lee K-M., Lee S-H., So H. And Park R. (2009) Synergistic effects of the combination of 20-hydroxyecdyonse with ampicillin and gentamycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Microbiology and Biotechnology 19(12) 1576-1581
124. Bakrim A., Lamhamdi M., Sayah F. and Chibi F. (2007) Effect of plant hormones and 20-hydroxyecdysone on tomato (*Lycopersicon esculentum*) seed germination and seedlings growth. African Journal of Biotechnology 6 2792-2802
125. Lamhamdi M., Lafont R., Rharabe K., Sayah F., Aarab A. and Bakrim A. (2015) 20-Hydroxyecdysone protects wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) against lead. Plant Physiology and Biochemistry (doi: 10.1016/j.plaphy.2015.11.006)
126. Holá D., Kočová M., Rothová O., Tůmová L., Kamlar M. and Macek T. (2013) Exogenously applied 20-hydroxyecdysone increases the net photosynthetic rate but does not affect the photosynthetic electron transport or the content of photosynthetic pigments in *Tetragonia tetragonoides* L. Acta Physiologia Plantarum 35(12) 3489-3495 (doi: 10.1007/s11738-013-1396-6)
127. Srivastava K. and Upadhyay V.B. (2013) Effect of phytoecdysteroids on silk producing potential of multivoltine mulberry silkworm *Bombyx mori* Linn. The Bioscan 8(1) 43-47
128. Pandey P. and Upadhyay V.B. (2014) Influence of phytoecdysteroid treatment on the spinning duration of multivoltine mulberry silkworm *Bombyx mori* Linn. Biolife 2(1) 370-376
129. Calas D., Thiery D. and Marion-Poll F. (2006) 20-Hydroxyecdysone deters oviposition and larval feeding in the European Grapevine Moth, *Lobesia botrana*. Journal of Chemical Ecology 32 2443-2454
130. Aly R., Ravid U., Abu-Nassar J., Botnick I., Lebedev G., Gal S., Ziadna H., Achdari G., Smirov E., Meir A. and Ghanim M. (2011) Biological activity of natural phytoecdysteroids from *Ajuga iva* against the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* and the perseae mite *Oligonychus perseae*. Pest Management Science 67 1493-1498
131. Báthori M. and Pongrácz Z. (2005) Phytoecdysteroids – from isolation to their effects on humans. Current Medicinal Chemistry 12 153-172

132. Dinan L. and Lafont R. (2006) Effects and applications of arthropod steroid hormones (ecdysteroids) in mammals. *Journal of Endocrinology* 191 1-8
133. Bathori M., Toth N., Hunyadi A., Marki A. and Zador E. (2008) Phytoecdysteroids and anabolic steroids – structure and effects on humans. *Current Medicinal Chemistry* 15 75-91
134. Cahliková L., Macáková K., Chlebek J., Host'álková A., Kuhlánková A. and Opletal L. (2011) Ecdysterone and its activity on some degenerative diseases. *Natural Product Communications* 6(5) 707-718
135. Dinan L. (2009) The Karlson Lecture. Phytoecdysteroids: what use are they? *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 72 126-141 (doi: 10.1002/arch.20334)
136. Laekeman G. and Vlietinck A. (2013) Phytoecdysteroids: phytochemistry and pharmacological activity. In: Ramawat K.G. and Mérillon J.M. (Eds.) *Natural Products* pp. 3827-3849 DOI 10.1007/978-3-642-22144-6173
137. Zwetsloot K.A., Shanely A.R., Merritt E.K. and McBride J.M. (2014) Phytoecdysteroids: a novel non-androgenic alternative for muscle health and performance. *Journal of Steroids & Hormonal Science S* 12 p. 2 (doi: 10.4172/2157-7536.S12e001)
138. Bajguz A., Bakala I. and Talarek M. (2015) Ecdysteroids in plants and their pharmacological effects in vertebrates and humans. In: *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 45, p. 121-145
139. Zhabinskii V.N., Khripach N.B. and Khripach V.A. (2014) Steroid plant hormones: effects outside plant kingdom. *Steroids* 97 87-97 (doi 10.1016/j.steroids.2014.08.025)
140. Esposito D., Komarnytsky S., Shapses S. And Raskin I. (2011) Anabolic effect of plant brassinosteroid. *The FASEB Journal* 25(10) 3708-3719 (doi: fj.11-181271)
141. Esposito D., Kizelstein P., Komarnytsky S. And Raskin I. (2012) Hypoglycemic effects of brassinosteroid in diet-induced obese mice. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism* 303 E652-E658
142. Esposito D., Rathinasabapathy T., Schmidt B., Shakarjian M.P., Komarnytsky S. And Rashkin I. (2013) Acceleration of cutaneous wound healing by brassinosteroids. *Wound Repair and Regeneration* 21 688-696
143. Destrez B., Pinel G., Monteau F., Lafont R. and Le Bizec B. (2009) Detection and identification of 20-hydroxyecdysone metabolites in calf urine by liquid chromatography-high resolution or tandem mass spectrometry measurements and establishment of their kinetics of elimination after 20-hydroxyecdysone administration. *Analytica Chimica Acta* 637 178-184
144. Kumpun S., Girault J.-P., Dinan L., Blais C., Maria A., Dauphin-Villemant C., Yingyongnarongkul B., Suksamrarn A. and Lafont R. (2011) The metabolism of 20-hydroxyecdysone in mice: relevance to pharmacological effects and gene switch applications of ecdysteroids. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 126(1-2) 1-9
145. Gorelick-Feldman J., Cohick W. and Raskin I. (2010) Ecdysteroids elicit a rapid Ca^{2+} flux leading to Akt activation and increased protein synthesis in skeletal muscle cells. *Steroids* 70 632-637
146. Parr M.K., Zhao P., Haupt O., Tchoukouegno Ngueu S., Hengevoss J., Fritzemeier K.H., Piechotta M., Schlörer N., Muhn P., Zheng W.Y., Xie M.Y. and Diel P. (2014) Estrogen receptor beta is involved in skeletal muscle hypertrophy induced by the phytoecdysteroid ecdysterone. *Molecular and Nutritional Food Research* 58 1861-1872
147. Parr M.K., Botré F., Naß A., Hengevoss J., Diel P. and Wolber G. (2015) Ecdysteroids: a novel class of anabolic agents? *Biology of Sport* 32 169-173.
148. Seidlová-Wuttke D., Christel D., Kapur P., Nguyen B.T., Jarry H. and Wuttke W. (2010) β -Ecdysone has bone protective but no estrogenic effects in ovariectomized rats. *Phytomedicine* 17 884-899
149. Gao L., Cai G. and Shi X. (2008) β -Ecdysterone induces osteogenic differentiation in mouse mesenchymal stem cells and relieves osteoporosis. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 31(12) 2245-2249
150. Tchoukouegno Ngueu S. (2013) Bioactivity of plant secondary metabolites. Estrogenic, cytotoxic and anabolic effects on estrogen target organs of an extract of *Erythrina excelsa* and ecdysterone. PhD Thesis, University of Cologne, pp. 143
151. Parr M.K., Haupt O., Ngueu S.T., Fritzemeier K.-H., Muhn P. and Diel P.R. (2013) Estrogen receptor beta mediated anabolic effects – insights from mechanistic studies on the phytoecdysteroid ecdysterone and selective ligands. *Endocrine Reviews* 34 SAT-340
152. Sanchez M., Picard N., Sauvé K. and Tremblay A. (2010) Challenging estrogen receptor with phosphorylation. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 21(2) 104-110
153. Lapenna S., Gemen R. and Wollgast J. (2015). Assessing herbal products with health claims. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55(13) 1918-1928 (doi: 10.1080/10408398.2012.726661)

154. Srivastava D.P., Yu E.J., Kennedy K., Chatwin H., Reale V., Hamon M., Smith T. and Evans P.D. (2005) Rapid, nongenomic responses to ecdysteroids and catecholamines mediated by a novel *Drosophila* G-protein-coupled receptor. *Journal of Neuroscience* 25 6145–6155
155. Mamadalieva N.Z., Egamberdiyeva D., Lafont R., Syrov V.N. and Girault J.-P. (2008) Polar ecdysteroids and biological activity of the total ecdysteroids from the plant *Silene viridiflora*. Poster Presentation at The XVIth Ecdysone Workshop, Ulm, Germany, 21st-24th July, 2008
156. Soin T., Iga M., Swevers L., Rougé P., Janssen C.R. and Smagghe G. (2009) Towards Coleoptera-specific high-throughput screening systems for compounds with ecdysone activity: development of EcR reporter assays using weevil (*Anthonomus grandis*)-derived cell lines and *in silico* analysis of ligand binding to *A. grandis* EcR ligand-binding pocket. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 39 523-534
157. Arai H., Watanabe B., Nakagawa Y. and Miyagawa H. (2008) Synthesis of ponasterone A derivatives with various steroid skeleton moieties and evaluation of their binding to the ecdysone receptor of Kc cells. *Steroids* 73 1452-1464
158. Harada T., Nakagawa Y., Akamatsu M. and Miyagawa H. (2009) Evaluation of hydrogen bonds of ecdysteroids in the ligand-receptor interactions using a protein modeling system. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 17 5868-5873
159. Gorelick-Feldman J., MacLean D., Ilic N., Poulev A., Lila M.A., Cheng D. and Raskin I. (2008) Phytoecdysteroids increase protein synthesis in skeletal muscle cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 3532-3537
160. Cymborowski B. (1989) Bioassays for ecdysteroids. In: Koolman J. (Ed.) *Ecdysone: from chemistry to mode of action*. Thieme Verlag, Stuttgart, pp. 144-149
161. Dinan L. (1989) Ecdysteroid structure and hormonal activity. In: Kooman J. (Ed.) *Ecdysone: from chemistry to mode of action*. Thieme Verlag, Stuttgart, pp. 345-354
162. Dinan L. (1995) A strategy for the identification of ecdysteroid receptor agonists and antagonists from plants. *European Journal of Entomology* 92 271-283
163. Wu H., Guo J., Chen S., Liu X., Zhou Y., Zhang X. and Xu X. (2013) Recent developments in qualitative and quantitative analysis of phytochemical constituents and their metabolites using liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 72 267-291
164. Lafont R. (2012) Recent progress in ecdysteroid pharmacology. *Theoretical and Applied Ecology* (1) 6-12

ФИТОЭКДИСТЕРОИДАРДЫҢ ПАЙДА БОЛУЫ, ТАРАЛУЫ, БИОСИНТЕЗИ, МЕТАБОЛИЗМІ, ӘРЕКЕТ ЕТУ ЖӘНЕ ҚОЛДАНУ МЕХАНИЗМІ: 2005 – 2015 ЖЫЛДАР АРАЛЫГЫНДАҒЫ ЗЕРТТЕУЛЕР

Laurence DINAN and René LAFONT*

e-mail:rene.lafont@upmc.fr

Sorbonne Universités – UPMC, IBPS-BIOSIPE, Paris, France

Фитоэкдистероидтар омыртқасыздардың стероидты гормондарының аналогтары болып табылады, бұлар өсімдіктердің кейбір түрлерінде, кейде аса жоғары концентрацияларда кездеседі, осы орайда, омыртқасыз жыртқыштарды үркітуге ықпал етеді деп есептеледі. Шолуда 2005 және 2015 жылдар аралығында өсімдіктердің экдистероидты түрлері және олардың аналогтары бойынша жарияланған баспа материалы келтіріледі. Сондай-ақ, біздін түсінігіміздегі фитоэкдистероидтардың биосинтезінің жетістіктеріне шолу келтірілген. Экдистероидтар сүткоректілер мен құстарда қызықты фармакологиялық қасиеттерге ие; олар улы емес және олардың дәрілік, фармацевтикалық, нутрицевтикалық және комерциялық өнімдердің пайда болуына ықпал етү мүмкін пайдалы қасиеттерінің көп екендігіне дәлелдер жеткілікті. Осыған байланысты, сүткоректілердің экдистероидтарының метаболизміндегі кейінгі жетістіктер және кеміргіштер мен адамға экдистероидтардың әсер ету мүмкіндіктері келтіріледі. Корытындыда атальмыш саладағы әрі карайғы зерттеулер келешегі көрсетіледі.

**ВОЗНИКОВЕНИЕ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ, БИОСИНТЕЗ, МЕТАБОЛИЗМ,
МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ФИТОЭКДИСТЕРОИДОВ:
РАЗРАБОТКИ С 2005 ПО 2015**

*Laurence DINAN and René LAFONT**

e-mail:rene.lafont@upmc.fr

Sorbonne Universités – UPMC, IBPS-BIOSIPE, Paris, France

Фитоэкстериоиды являются аналогами стероидных гормонов беспозвоночных, которые встречаются у некоторых видов растений, иногда в очень высоких концентрациях, при этом считается, что они способствуют отпугиванию беспозвоночных хищников. В обзоре приводится печатный материал, опубликованный в период между 2005 и 2015 гг. по экстериоидсодержащим видам растений и аналогам, которые они содержат. Также представлен обзор достижений в нашем понимании биосинтеза фитоэкстериоидов. Экстериоиды обладают интересными фармакологическими свойствами у млекопитающих и птиц; они нетоксичны и имеется достаточно доказательств того, что они имеют много полезных свойств, которые могут привести к разработке лекарственных, фармацевтических, нутрицевтических и коммерческих продуктов. В связи с этим приводятся недавние достижения в метаболизме экстериоидов у млекопитающих и возможные способы действия экстериоидов у грызунов и человека. В заключение указываются перспективы дальнейших разработок в данной области.

DIABOLICA

специальный комплекс анаболического действия
на основе ГМБ-Са, эндистерона, аминокислот и растительных
экстрактов

Состав

Специальный комплекс из 7 популярных продуктов, в том числе:

Витамин В6 0,21мг, L-лейцин 400мг, ГМБ-Са (Кальций бета-гидрокси метилбутират) 1200мг, L-изолейцин 200мг, экстракт пажитника (*Trigonella foenum-graecum* L. - стандартизован 4-гидрокси изолейцином) 80 мг, экстракт шпината огородного (*Spinacia oleracea* L. - стандартизован эндистероном) 1000 мг, биотерин (экстракт черного перца *Piper Nigrum* L.) 5мг.

Фармакологическое действие

ГМБ (бета-гидрокси-бета-метилбутират) – биоактивный метаболит лейцина, обладает антикатаболическим эффектом, восстанавливает и повышает силу и выносливость мышечных волокон;

Бета-эндизон (эндистерон) и пажитник – растительные стеролы, создающие анаболическую среду для синтеза протеина и роста мышечной массы;

Лейцин – самая анаболическая ВСАА, также повышающая синтез протеина и рост мышц;

Источник витамина В6 – регулирует гормональную активность, снижает усталость, улучшает работу нервной и иммунной систем.

Показание к применению

- рост сухой мышечной массы;
- повышение мышечной силы и выносливости;
- увеличение энергии и снижение усталости, в том числе в мышцах;
- уменьшение жировых объемов;
- улучшение настроения и жизненного тонуса;
- улучшение работы иммунной и нервной систем.

Способ применения и дозы

Принимать по 2 капсулы утром и вечером во время еды. Не превышайте рекомендованную дозу

Противопоказания к применению

Не принимать лицам до 16 лет, а также беременным и кормящим грудью женщинам. Не принимать лицам с заболеваниями почек и печени. Хранить в недоступном для детей месте. Прежде, как принимать обязательно проконсультируйтесь со своим лечащим врачом. Начинать прием новой добавки следует постепенно увеличивая порцию до рекомендованной. В случае индивидуальной непереносимости какого-то компонента добавки уменьшите порцию или прекратите прием.

Форма выпуска

120 капсул (30 порции)

Производитель

Компания «Scitec Nutrition», Будапешт, Венгрия



ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ: РАСПРОСТРАНЕНИЕ В МИРОВОЙ ФЛОРЕ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Л.Н.Зибарева

e-mail: zibareval@inbox.ru

Томский государственный университет, г. Томск, Российская Федерация

Биологически активные вещества являются основой для комплексного препарата анаболического, противогрибкового, радиопротекторного, гемореологического, противоизвленного и противоопухолевого действий.

В настоящее время значительно увеличился перечень новых эндистероидсодержащих растительных источников для получения фармакологических средств за счет видов семейства *Caryophyllaceae*.

Растения синтезируют множество стероидных соединений, присущих как животному миру (холевые кислоты, кортикоиды, эндистероиды, половые гормоны), так и свойственные только растительному (сердечные гликозиды, витанолиды, сапонины, брашиностероиды). Наиболее широко распространены в мировой флоре – эндистероиды, которые являются аналогами гормонов линьки и метаморфоза насекомых. Эндистероиды по химической природе принадлежат к полиоксистероидам с гидроксильными группами в стероидном ядре и боковой цепи, цис-сочленением между циклами A и B, содержащими 7-ен-6-он хромофорную и 14 – OH группу (рис. 1).



Рисунок 1. Структуры эндистероидов

Прошло более 60 лет с момента обнаружения эндистероидов в насекомых в качестве гормонов линьки [1] и более 50 лет в растениях [2]. Что же стало известно ученым об эндистероидах за этот период?

Все насекомые нуждаются в эндистероидах, но они не способны синтезировать стероидную структуру из простых соединений, поэтому в их биосинтезе используются различные растительные предшественники гормонов линьки (холестерин, скоттенол, ситостерол и др.) либо их готовые аналоги - фитоэндистероиды.

К настоящему времени известно, что эндистероиды широко распространены в растительном мире. Встречаются они как в низших растениях: водорослях, грибах, что свидетельствует в пользу очень древнего происхождения молекул эндистероидов [3], так и в высших - папоротникообразных, голосемянных и покрытосемянных. Одно из первых обширных исследований по скринингу флоры на присутствие эндистероидов было предпринято японскими учеными [4]. Проанализировано 1056 видов, принадлежащих к 186 семействам, 738 родам и лишь в 54 видах (что составляет примерно 5.1 % от общего числа) обнаружена активность «гормона линьки». В произвольно выбранных английскими учеными 2200 видах встречааемость эндистероидсодержащих составила 6 % [5]. Сосредоточение поиска на уровне порядка *Pteridophyta* привело к увеличению вероятности нахождения эндистероидсодержащих видов

до 55 % [6]. На ранних этапах изучения фитоэкдистероидов сложилось мнение о большей распространенности их в папоротникообразных (*Pteridophyta*) и голосемянных (*Pinophyta*), что обусловлено большей изученностью указанных порядков в тот период времени. В процессе дальнейшего изучения распространенности этих соединений в мировой флоре выяснилось, что они особенно часто встречаются в покрытосемянных (*Magnoliophyta*). На основании опубликованной информации о возможности биосинтеза их «отрицательным» видом *Zea mays* [7] при введении 14C-холестерина Лафон сделал предположение о том, что, возможно, все растения обладают генетически обусловленной способностью синтезировать экдистероиды [8], и уровень их зависит от экспрессии генов или регуляции активности ферментов, участвующих в биосинтезе этих соединений. По всей вероятности, фитоэкдистероиды выполняют ряд функций и пока трудно отдать предпочтение какой-то одной, т.к. в существующем информационном поле пока известно, что они не универсальны ни как детерренты, ни как растительные гормоны.

Наиболее богатыми семействами по составу и содержанию экдистероидов являются *Asteraceae*, *Caryophyllaceae*. К настоящему времени известно, что экдистероиды синтезируют виды 31 рода *Asteraceae*. Наиболее богатыми источниками являются роды *Serratula* L. и *Rhaponticum* Ludw. В роде *Serratula* выявлен 21 экдистероидсодержащий вид. В последнее время обнаружены новые источники этого рода - в *Serratula marginata* Tausch. [9], *S. Cupuliformis* Wrigley[10], установлены структуры выделенных соединений: 20-гидроксиэкдизон, полиподин B, 2-дезокси-20-гидроксиэкдизон, экдизон и макистерон А и др. Характерными экдистероидами для растений этого рода являются 20-гидроксиэкдизон, инокостерон, макистерон А и экдизон, которые предложены в качестве хемотаксономических маркеров рода[12]. Наиболее детально изучен состав экдистероидов вида *S. coronata*, который используется в качестве фармакологического сырья для получения средств анаболического, адаптогенного, тонизирующего, гепатопротекторного действия, таких как «Экдифит» [12] и «Серпистен» [13].

В роде *Rhaponticum* выявлено 11 видов, синтезирующих экдистероиды. Наиболее полно изучен состав экдистероидов *Rhaponticum carthamoides*(Willd.) Iljin(*Leuzea*, *Stemmacantha*), из различных его органов выделено 50 стероидных соединений, включая свободные и их производные: моно-, диацетониды, бензоаты, ацетаты, гликозиды [14-16], в том числе новые рапонтистерон R1, картамостерон, картамостерон A, B, картамолеустерон, рапистерон, рапистерон B, C, D, и др., обнаруженные только в этом виде. Особенно большой вклад в изучение этих родов *Asteraceae* внес коллектив сотрудников лаборатории химии гликозидов Института химии растительных веществ под руководством член-корреспондента АН Узбекистана Наиля Кадыровича Абубакирова. Ими было установлено, что действующими веществами фармакопейного препарата Левзея сафлоровидная настойка, который стандартизовался до того времени по уровню золы корней, являются экдистероиды. Заслуга этого коллектива и в создании первого препарата на основе комплекса экдистероидов экдистена, выделенного из корней *Rhaponticum carthamoides*[17].

Семейство *Caryophyllaceae* Juss. - гвоздичные вызывает повышенный интерес ученых в плане изучения физиологически активных соединений. Внимание к видам семейства Гвоздичных возросло многократно в последние годы в связи с обнаружением в них гормонов линьки насекомых. Первые сообщения об обнаружении экдистероидов в растениях этого семейства (*Gypsophyla perfoliata* L., *Lychnis chalcedonica* L., *L.miqueliania* Rohrb.) и отсутствии в родах *Cucubalus* L., *Dianthus* L., *Saponaria* L., *Silene* L. были опубликованы японскими учеными в 1969 году [4]. Известно, что большая часть видов, синтезирующих искомые соединения, встречается в трибе *Lychnideae* подсемейства *Caryophylloideae* - родах *Silene* L., *Lychnis* L., *Petrocoptis* A. Braun, *Sagina* L., *Saponaria* L. Растения Гвоздичных характеризуются разнообразным составом экдистероидов (более 80), наличием множества новых соединений, обнаруженных пока только в них и высоким содержанием мажорных компонентов экдистероидной суммы.

Впервые фитоэкдистероиды в роде *Silene* - Смолевка были обнаружены в *Silene praemixta* M. Pop., затем *Silene brachycarpa* и др. [18-21] учеными научной школы Н.К.Абубакирова – З.Саатовым, У.А.Балтаевым и др. Ими предложен ряд новых источников из рода *Silene*, *Dianthus*, из которых выделено множество экдистероидов, в том числе новых: силеностерон, премиксистерон, 2-дезокси-20-гидроксиэкдизон-3-ацетат, силенеозиды A, B, C, D, E, нусилстерон, 22-сульфат- α -экдизон и многие другие.

В настоящее время по литературным и нашим экспериментальным данным экдистероиды обнаружены более чем в 126 видах *Silene* и в 12 видах *Lychnis* [22-24]. Ни в одном из других семейств не выявлено такое множество экдистероидсодержащих видов. Проведение крупномасштабного скрининга видов семейства *Caryophyllaceae* на присутствие экдистероидов, основанного на предварительном хроматографическом анализе экстрактов семян [25], позволило прогнозировать синтез искомых соединений в растениях и проанализировать семена более 700 видов растений, в том числе 158 видов рода *Silene*. Благодаря экспрессности способа удалось выявить 120 экдистероидсодержащих видов семейства *Caryophyllaceae* в том числе 95 новых: *Silene* - 100, из них впервые в 78, *Lychnis* - 12 и 8 (соответственно), в родах *Petrocoptis* и *Saponaria* по 2 новых, *Sagina* - 4 новых и впервые два рода, виды которых способны также синтезировать экдистероиды – *Melandrium*, *Petrocoptis*. В процессе скрининга установлена наибольшая встречаемость экдистероидов в родах *Lychnis* и *Silene* (67 и 59 % от произвольно выбранных для анализа видов). Дальнейшие исследования 58 видов (80 образцов), выращенных из семян в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета и проанализированных в Эксетерском университете (Великобритания), биотестированием и радиоиммунным методом, разработанным Дайненом [26], присутствие экдистероидов в которых было предварительно обнаружено хроматоспектрофотометрическим методом, подтвердили правильность предложенной стратегии. Из новых растительных источников выделено более 30 экдистероидов, в том числе 7 новых: 2-дезоксиэкдизон 22 β -D-гликозид, 2-дезоксиполиподин B 3 β -D-гликозид и 2-дезокси-20,26-дигидроксиэкдизон, 2-дезокси-20-гидроксиэкдизон-25-глюкозид [27], 26-гидроксиинтегристерон A [28] и др. Ряд новых экдистероидов выделен из видов *Silene otites*, *S.viridiflora* [29, 30].

Показано, что для представителей родов *Silene* и *Lychnis* свойственен биосинтез характерных соединений: 20-гидроксиэкдизон, полиподин B, экдизон, понастерон A, 2-дезокси-20-гидроксиэкдизон, 2-дезоксиэкдизон, а также таких редких экдистероидов, как сидистерон, стахистерон D, туркестерон, 24(28)-дегидромакистерон A и витикостерон E и др. [22-28, 31].

Виды рода *Silene* отличаются высоким содержанием экдистероидов: 1-3 %, репродуктивные органы видов *S.frivaldszkyana* Намре до 7 % 20-гидроксиэкдизона [22, 28].

На всех этапах установления строения органических соединений, выделенных из природных комплексов, применяются современные методы исследования. Наиболее информативны и широко используемы при идентификации экдистероидов высокоэффективная жидкостная хроматография и спектральные методы - масс-, УФ-, ЯМР-спектрометрия и др. Информация об алгоритме идентификации экдистероидов достаточно подробно представлена в литературе [32, 33].

Биологическая активность растений обусловлена вторичными метаболитами. Широта физиологического спектра действия фитоэкдистероидов кроется в самой их природе: будучи гормонами для членистоногих, они сохраняют свое влияние на общие стороны энергетического и пластического обмена в клетках более высокоорганизованных животных (млекопитающих), утрачивая у последних свойства гормонов [11].

Весьма интересно взаимодействие растений и животных на биохимическом уровне. Казалось бы, зачем гормоны ляньки и метаморфоза насекомых человеку? В настоящее время установлено, что они обладают широким спектром биологических активностей. Согласно данным международной базы Ecdybase.org [33] создано более 335 фармакологических субстанций на основе экдистероидов (Cytodyne, Ecdybol, Power Health, Muscle Drive HP, Methoxy HG-Chrysin, Z-mass, Activator 1 и другие, большей частью являющиеся биологически активными добавками. В основе созданных фармакологических субстанций применяется

ограниченное число видов растений: *Pffafia iresinoides*, *Cyathula capitata*, *Cyanotis somaliensis*, *Polipodium vulgare*, *Achyranthes bidentata*, *Ajuga reptans*, *Rhaponticum carthamoides (Leuzea)*, *Serratula coronata* [33] (таблица 1). При создании субстанций используют как один вид, так и комплекс: *Leuzea* в сочетании с *Cyathula*, *Cyanotis*, *Pffafia*, *Ajuga*.

Таблица 1
Растения, используемые для создания некоторых БАДов [33]

№ №	Source	Продукт	Производитель
1	<i>Pffafia iresinoides</i>	Bio-Pro Plus	Body Ammo
		Creabolicfizz	Maximum Human Performance
		Ecdy-Force	PEAK Nutrition
2	<i>Cyathula capitata</i>	Medicinal Cyathula Root	Sinoking
3	<i>Cyanotis somaliensis</i>	Beast Super Test	Ultra Lab
		Beta-X capsules/liquid	Flex star Sports Nutrition
		Beta-Mass	7th Millenium Nutrition
		Bio Bone Calcium Powder	Country Life
4	<i>Polipodium vulgare</i>	Desire-X	MasoN natural
		Excite	Dynamitize Nutrition
		Horny Goat Weed	Bodyonics Pinnacle
5	<i>Achyranthes bidentata</i>	Rite Joint	Rite Herbs
6	<i>Ajuga reptans</i>	Super Pump 250	Gaspari Nutrition
7	<i>Rhaponticum carthamoides (Leuzea)</i>	Kargo Lei	Ambrös Plants
		Leuzea drops	Slovakofarma
		Maralan Super	Firma Krýen

В связи с ограниченным набором растительных источников эндистероидов, используемых при создании фармакологических субстанций, актуальной задачей является поиск новых сверхконцентратов этих стероидов, проявляющих различные биологические активности, например, среди видов семейства *Caryophyllaceae*. В настоящее время незначительное число средств на основе эндистероидов имеют статус препаратов: Эндистен и Эндифит.

Препарат Эндистен, созданный на основе эндистероидов, выделенных из корней *Rhaponticum carthamoides* [17], рекомендован в качестве тонизирующего средства при астенических и астенодепрессивных состояниях, сопровождающихся ослаблением процессов белкового синтеза, при длительных инфекциях и интоксикациях, при неврастении, неврозах и гипотонии, у спортсменов во время интенсивных тренировок при дисфункции сердечно-сосудистой системы, особенно с выраженным признаками перенапряжения миокарда и усилением белкового катаболизма в период подготовки к соревнованиям. Эндистен отличается от анаболических стероидных препаратов тем, что не имеет андрогенного и антигонадотропного эффектов, не оказывает влияние на функции коры надпочечников и вилочковой железы, что предопределило перспективу применения эндистероидов в медицине и профессиональном спорте, поскольку они не запрещены олимпийским комитетом. Кроме того, установлено, что эндистероиды не токсичны в отношении млекопитающих. Доза 5000 mg/kg 20-гидроксиэндизона – мажорного компонента практических всех растений не вызывает гибель мышей [34].

В настоящее время после изучения на спортсменах сделан следующий шаг от Эндистена к созданию новых препаратов – Эндистерон, Эндистерон ACE, Эндистерон B, Эндистерон МЕГА. Отличаются они от исходной матрицы добавками различных компонентов, в том числе витаминов, что позволяет добиваться различных эффектов, например, при добавлении

витаминов группы В - Экдистерон В рекомендуется для силовых видов спорта, а Экдистерон ACE – в легкой атлетике, хоккее и т.д. [35].

Препарат «Экдифит», разработанный в АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» (Казахстан), представляет собой сумму экстрактивных веществ *Serratula coronata*, содержащий в качестве основного действующего компонента - 20-гидроксиэкдизон и сумму флавоноидов. Этот препарат достаточно подробно изучен соавторами. При этом определено, что он обладает анаболическим, адаптогенным и тонизирующим действием, исследованы биохимические показатели и клеточный состав крови при регрессии экспериментального гипертиреоза [12]. «Экдифит» рекомендуется применять после тяжелых травм, операций, ожогов, при хронических заболеваниях, сопровождающихся потерей белка, он повышает эффективность комплексного лечения больных туберкулезом легких и лиц с хронической производственной интоксикацией, он способствует улучшению клинической картины общего состояния, снижению симптоматики, нормализации лабораторных показателей [36]. Показано, что «Экдифит» оказывает умеренный стимулирующий эффект на индукцию апоптоза клеток, обладает энерговосстановляющим и мембраностабилизирующим эффектом [37].

Средство «Серпистен», созданное в Институте биологии Коми НЦ УрО РАН В.В.Володиным с соавторами [13], представляет собой смесь экдистероидов: 20-гидроксиэкдизона (80 %), 25S-инокостерона (11 %), экдизона (5 %) и некоторых других мицорных компонентов, выделенных из надземной части *Serratula coronata*. Серпистен проявляет высокое эрготропное, ЦНС-тонизирующее, стресс-протекторное, гематопротекторное, действие на фоне незначительного анаболического эффекта.

Весьма активно по созданию новых активных комплексов на основе растений семейства Гвоздичные и проведению доклинических и клинических испытаний работает коллектив Рязанского государственного медицинского университета под руководством Дармограя В.Н. [38-43], а также сотрудники Томского государственного университета совместно с НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Гольдберга Е.Д. Результаты исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты исследований некоторых субстанций на основе растений сем. Caryophyllaceae

№	Фармакологические средства	Состав	Действие	Ссылка
1	Мазь «Витадерм»	0,01% суммарного препарата экдистероидов	для лечения ожогов кожи и слизистых оболочек	38
2	<i>Silene tatarica</i> , <i>S.nutans</i>	экдистероиды	обезболивающее и противоотечное	39
3	40% спиртовая настойка (<i>Silene tatarica</i> и др.)	экдистероиды, другие БАВ	противовоспалительное	40
4	Средство	0.005-0.01% раствор Экдистерона в оливковом или миндалевом масле	спазмолитическое, капилляроукрепляющее, обезболивающее	41
5	Мазь (<i>Silene</i> или <i>Cicubalus baccifer</i>)	70% спиртовая настойка цветков <i>Calendula</i> и 40% спиртовой настойки травы зверобоя продырявленного, 0,01 г экдистерона	ранозаживляющее (лечение гнойных ран)	42
6	мазь «Виспосил»	вазелин, 40% настойка из <i>Silene tatarica</i> или <i>S.nutans</i> , смолки обыкновенной, цветков календулы и почек тополя обыкновенного)	для лечения заболеваний пародонта и травматических повреждений слизистой оболочки полости рта	43

Продолжение таблицы 2

7	<i>Lychnis chalcedonica</i>	водный экстракт	противогрибковое	44
		полиподин В	противогрибковое	45
		70 % этанольный экстракт (экдистероиды, флавоноиды)	радиопротекторное	45
		20-гидроксиэкдизон	радиопротекторное	45
		40 % этанольный экстракт (экдистероиды, флавоноиды)	противоопухолевое	45
		40 % этанольный экстракт (экдистероиды, флавоноиды)	противоязвенное	46
		20-гидроксиэкдизон	гемореологическое, снижает синдром повышенной вязкости крови, при лечении инфаркта миокарда	47
8	<i>Lychnis chalcedonica, Silene tatarica, Silene dioica, Silene linicola, Silene cretica, Silene viridiflora</i>	40 % этанольные экстракты (экдистероиды, флавоноиды)	гемореологическое	48
9	<i>Silene viridiflora</i>	40 % этанольный экстракт (экдистероиды, флавоноиды)	противоязвенное на моделях нейрогенного и аспиринового ульцерогенеза	46
		40 % этанольный экстракт (экдистероиды, флавоноиды)	противоопухолевое	45
10	<i>Silene colpophylla</i>	40 % этанольный экстракт (экдистероиды, флавоноиды)	противоопухолевое	49

Изложенные выше результаты положены в основу ряда патентов, касающихся использования экдистероидов в медицине и косметике [50]. Создана дерматологическая композиция на основе экдистерона (20-гидроксиэкдизона) либо экстрактов растений для восстановления водного барьера эпидермиса, для лечения пораженных псориазом кож, для массового культивирования кератиноцитов. Действие таких субстанций как мазь «Витадерм» противоожогового действия на кожу и слизистые оболочки, а также спазмолитическое, капилляроукрепляющее, обезболивающее, радиопротекторное обусловлено присутствием 20-гидроксиэкдизона, в то время как противогрибковое полиподином В. Показано, что наиболее эффективно в сравнении с пентоксифилином снижают вязкость крови и агрегацию эритроцитов экстракты *Lychnis chalcedonica, Silene tatarica, Silene dioica* и не уступают танакану. 20-Гидроксиэкдизон, выделенный из *Lychnis chalcedonica*, оказывает существенное влияние на реологические свойства крови при ишемии мозга и инфаркте миокарда. Установлено, что

экстракты *Lychnis chalcedonica* и *Silene viridiflora* проявили противоопухолевое и антиметастатическое действие.

Биологически активные вещества, в том числе и эcdистероиды *Lychnis chalcedonica* являются основой для комплексного препарата анаболического, противогрибкового, радиопротекторного, гемореологического, противоизвезненное и противоопухолевого действий.

Таким образом, в настоящее время значительно увеличился перечень новых эcdистероидсодержащих растительных источников для получения фармакологических средств за счет видов семейства *Caryophyllaceae*. Помимо известных ранее активностей: анаболической, тонизирующей, адаптогенной, иммуностимулирующей, гипогликемической и др. [34], значительно расширился спектр биологических активностей эcdистероидов.

Литература

1. Butenandt A., Karlson P. Crystallization of insectmoultинг hormone // Naturforsch. – 1954. – Bd 9B.–P. 389 – 391.
2. Nakanishi K., Koreeda M., Sasaki S. et. al. Insect hormones. The structure of ponasterone A, an insect-moultинг hormone from the leaves of *Podocarpus nakaii* Hay. // J. Chem. Soc. Chem. Commun. – 1996. – V. 24. – P. 915 – 917.
3. Лафон Р. Фитоэcdистероиды и мировая флора: разнообразие, распределение, биосинтез и эволюция // Физиология растений. — 1998. — Т. 45. — № 3. — С. 326 — 346.
4. Imai S., Toyosato T., Sakai M. et. al. Screening results of plants for phytoecdysones // Chem. Pharm. Bull. – 1969. – V. 17. – P. 335 – 339.
5. Дайнен Л. Стратегия оценки роли фитоэcdистероидов как детеррентов по отношению к беспозвоночным-фитофагам // Физиология растений. – 1998. – Т. 45. – № 3. – С. 347 – 359.
6. Yen K.-Y., Yang L.-L., Okuyama T. et. al. Screening of Formosan Ferns for Phytoecdysones // Chem. Pharm. Bull. – 1974. – V. 22. – P. 805 – 808.
7. Devarenne T.P., Sen-Michael B., Adler J.H. Biosynthesis of ecdysteroids in *Zea mays* // Phytochemistry. – 1990. – V. 40. – P. 1125 – 1131.
8. Лафон Р. Фитоэcdистероиды и мировая флора: разнообразие, распределение, биосинтез и эволюция // Физиология растений. – 1998. – Т. 45. – № 3. – С. 326 – 346.
9. Мунхжаргал Н., Зибарева Л. Н. Флора Монголии – источник перспективных лекарственных растений. // Культуры и народы Северной Азии и сопредельных территорий в контексте междисциплинарного изучения: Сборник Музея археологии и этнографии Сибири им. В. М. Флоринского. Томск: ТГУ. – 2008. –С. 309 – 310.
10. Zibareva L.N., Seliverstova A.A., Suksamrarn A., Morozov S.V., Chernjak E.I. Phytoecdysteroids from the aerial part of *Silene colpophylla*. //Chemistry of Natural Compounds.–2014.–V.50.–№3.–P.571-572 <http://www.springerlink.com/openurl.asp?genre=article&id=doi:10.1007/s10600-014-1021-x>
11. Алексеева Л. И. Ануфриева Э.Н., Володин В.В., Володина С.О., и др. Фитоэcdистероиды. Спб.: Наука, (2003). 293 с.
12. Инновационный патент РК № 23093 С.М.Адекенов «Способ получения анаболического и адаптогенного средства «Экдифит» из серпухи венценосной *Serratula coronata L.*»
13. Володин В. В. и др. Фармакологическая оценка новой эcdистероидсодержащей субстанции «Серпистен» // Растительные ресурсы. (Russia). – 2006. – 42. – № 3. – С. 113 – 129.
14. Abubakirov N.K. Ecdysteroids of flowering plants (Angiospermae).// Proceedings of the Indian National Science Academy 48A (supplement 1). – 1982. – P. 122 – 138.
15. Baltaev U.A. Rapisterone D, a phytoecdysteroid from *Rhaponticum carthamoides*. // Phytochemistry. – 1995. – V. 38. – P. 799 – 800.
16. Kokoska L., Janovska D. Chemistry and pharmacology of *Rhaponticum carthamoides*: A review. // Phytochemistry. – 2009. – V. 70. – P. 842 – 855.
17. Куркина И.О., Булаев В.Н. Экдистен – тонизирующее средство в таблетках по 0.005 г // Новые лекарственные препараты. – М. 1990. – Вып. 6. – С. 16 – 18.
18. Abubakirov N.K. Insect moultинг hormones in plants from Central Asia. Uzbekistan Academy of Sciences .Series: Chemistry. – 1984. - № 4. –С. 49– 53.
19. Саатов З., Усманов Б.З., Абубакиров Н.К. Фитоэcdизоны *Silene praemixta* 1. Силеностерон // Химия природ. соедин. – 1979. - № 6. –С. 793 – 797.

20. Саатов З., Горовиц М.Б., Абдуллаев Н.Д., Усманов Б.З., Абубакиров Н.К. Фитоэкдистероиды растений рода *Silene*. III. Силенеозид А – новый гликозидный экдистероид *Silene brachycarpa* // Химия природ. соедин. 1981. – № 6. – С. 738 – 744.
21. Балтаев У.А., Рашкес Я.В., Абубакиров Н.К. Фитоэкдистероиды *Silene nutans*. III. Нусилстерон // Химия природ. соедин. – 1985. – № 4. – С. 522 – 525.
22. Zibareva L. Distribution and levels of phytoecdysteroids in plants of genus *Silene* during development // Archives of insect biochemistry and physiology. – 2000. – V. 43. – P. 1 – 8.
23. Zibareva L., Volodin V., Saatov Z., Savchenko T., Whiting P., Lafont R., Dinan L. Distribution of phytoecdysteroids in the *Caryophyllaceae* // Phytochemistry. – 2004. – V. 64. – N. 2 – P. 499 – 517.
24. Zibareva L. Phytoecdysteroids of *Caryophyllaceae* Juss. // Contemporary Problems of Ecology. Springer Link. – 2009. – V.2. – № 5. – P.476–488.
25. Патент № 2082168. РФ. Способ обнаружения и количественного определения экдистероидов в растительных объектах. / Л.Н. Зибарева, В.И. Еремина, П.В.Зибарев. № 94002629/13; Заявлено 26.01.1994, опубл. 20.06.97, Бюл. № 17.
26. Dinan L. A strategy for the identification of ecdysteroids receptor agonists and antagonists from plant // Eur. J. Entomol. – 1995. – V. 92. – P. 271 – 283.
27. Meng J., Whiting P., Zibareva L., Bertho G., Girault J.-P., Lafont R., Dinan L. Identification and quantitative analysis of the phytoecdysteroids in *Silene* species (*Caryophyllaceae*) by high performance liquid chromatography. Novel ecdysteroids from *Silene pseudotites* // J. Chromatography. – 2001. – V. 935. – P. 309–319.
28. Zibareva L., Yeriomina V.I., Munkhjargal N., Girault J.-P., Dinan L., Lafont R. The Phytoecdysteroid Profiles of 7 Species of *Silene* (*Caryophyllaceae*) // Archives of insect biochemistry and physiology. – 2009. – V. 72. – № 4. – P. 234 – 248.
29. Bathori M., Girault J.-P., Kalasz H., Mathe I., Dinan L.N., Lafont R. Complex phytoecdysteroid cocktail of *Silene otites* (*Caryophyllaceae*) // Archives of Insect Biochemistry and Physiology. – 1999. – V. 41. – P. 1 – 8.
30. Toth N., Simon A., Toth G. et. al. 26-hydroxylated ecdysteroids from *Silene viridiflora* // J. natural products. – 2008. – V. 71. – P. 1461–1463.
31. Зибарева Л.Н., Балтаев У.А., Свиридова Т.П., Саатов З., Абубакиров Н.К. Виды рода *Lychnis*L. – перспективные источники экдистероидов // Раст. ресурсы. – 1995. – Т. 31, вып. 4. – С. 1 – 9.
32. Ахрем А.А., Ковганко Н.В. Экдистероиды. Химия и биологическая активность. – Минск: Наука и техника, 1989. – 327с.
33. www.Ecdybase.org
34. Сыров В.Н. Фитоэкдистероиды: биологические эффекты в организме высших животных и перспективы использования в медицине // Эксперим. и клинич. фармакология. – 1994. – № 5. – С. 61 – 66.
35. <http://buditrop.ru/tovar/sportivnoe-pitanie/nst.html>
36. Тулеуов Б.И. Стероидные соединения растений и лекарственные препараты на их основе. Поиск, химическая модификация и практические аспекты применения. – Караганда. – Гласир. – 2009. – 208 с.
37. Кусаинова Д.Д., Карилхан И. Актопротектор «Экдифит» и его фармакологические показатели //Фармация Казахстана, специальный выпуск. –2005. – С. 41 – 42.
38. Патент № 2119331. РФ. Средство для лечения ожоговых ран «Витадерм» / В.Н. Дармограй и др. № 96104062/14. Заявлено 29.02.96, опубл. 27.09.98, Бюл. 27.
39. Патент №2138277 РФ. Средство для комплексного лечения ожоговых и посттравматических ран. / В.Н. Дармограй и др. № 97107625/14. Заявлено 07.05.97, опубл. 27.09.99, Бюл. 27.
40. Патент №2150953. РФ. Средство для лечения больных с длительно не рубцующейся язвой желудка, осложненной сопутствующей патологией пищеварительного тракта. /В.Н. Дармограй и др. №98105496/14. Заявлено 16.03.98, опубл. 20.06.2000, Бюл. 17.
41. Патент № 2192254. РФ. Средство для местного лечения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / В.Н. Дармограй и др. №2000121193/14. Заявлено 07.08.2000, опубл. 10.11.2002. Бюл. 31.
42. Патент № 2299064. РФ. Способ лечения гнойных ран. /В.Н. Дармограй и др. № 2005114799/14. Заявлено 14.05.2005, опубл. 20.05.2007. Бюл. 14.
43. Патент № 2141816. РФ. Средство для лечения пародонта и травматических повреждений слизистой оболочки полости рта «Виспосил» / В.Н. Дармограй и др. № 9810617/14. Заявлено 13.01.98, опубл. 27.11.99. Бюл. 33.

44. Патент №2435602. РФ. Способ получения противогрибкового средства из растительного сырья / Л.Н. Зибарева. № 2010130630. Заявлено от 21.07.2010 г., опубл., 10.12.2011.
45. Зибарева Л.Н. Фитоэкстериоиды растений семейства *Caryophyllaceae*. 2012. Saarbrücken, Germany – LAP Lambert Academic Publishing Gmb H&Co. 195 с.
46. Плотников М.Б., Алиев О.И., Васильев А.С., Маслов М.Ю., Суслов Н.И., Зибарева Л.Н. Гемореологическая и церебропротекторная активность экстракта *Lychnis halcedonica* L. при ишемии мозга у крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2005. – № 1. – С. 68 – 71.
47. Патент № 2160592. РФ. Гемореологическое средство / Л.Н.Зибарева, О.И. Алиев, А.А. Колтунов, М.Б.Плотников. Заявлено 11.09.1996, опубл. 20.12.2000, Бюл. №. 35.
48. Krylova S.G., Zueva E.P., Zibareva L.N., Amosova E.N., Razina T.G. Antiulcer activity of extracts of ecdysteroid containing plant of genera *Lychnis* and *Silene Caryophyllaceae* family. // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2014. –V. 158. – № 8. – P. 190 – 194.
49. Галиулина А. В., Рыбалкина О. Ю., Лопатина К. А. Исследование влияния экстрактов *Silene colropophylla* Wrigley и *Silene viridiflora* L. SP. PL. на развитие карциномы легких Льюис и эффективность лечения циклофосфаном // XII международная конференция студентов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук». – 2015. – С. 778 – 780.
50. Патент № 2143884. РФ. Агент регулирования дифференциации клеток кожи, культуральная среда для клеток или тканей и способ регулирования дифференциации клеток кожи / А.Мейбекк, Ф. Бонте, Ж. Редзиниак. Заявлено 20.08.1993, опубл. 10.01.2000. Заявитель: ЛВМХ Решерш (FR). Патентообладатель: ЛВМХ Решерш (FR).

ФИТОЭКДИСТЕРОИДТАР: ДУНИЕЖҮЗІ ФЛОРАСЫНА ТАРАТУ, БИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІК

L.N.Zibareva

e-mail: zibareval@inbox.ru

Томск мемлекеттік университеті, Томск қ., Ресей Федерациясы

Биологиялық белсенді заттар анаболикалық, грибокқа қарсы, радиопротекторлық, гемореологиялық, жарага қарсы және ісікке қарсы әсерге ие кешенді препарат үшін негіз болып табылады.

Қазіргі уақытта *Caryophyllaceae* тұқымдастына жататын өсімдік түрлерінің есебінен фармакологиялық құралдарды алу үшін жаңа экстериоидты өсімдік көздерінің тізімі айтарлықтай артты.

PHYTOECDYSTEROIDS: DISTRIBUTION ARE A IN WORLD FLORA, BIOLOGICAL ACTIVITY

L.N. Zibareva

e-mail: zibareval@inbox.ru

Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

Biologically active substances are the basis for an integrated drug with anabolic, anti-fungal, radio protective, hemoreologic, anti-ulcer and antitumor effects.

At present, the list of new ecdysteroid-containing plantsources for obtaining pharmacological agents at the expense of species of *Caryophyllaceae* family has significantly increased.

**Лекарственный препарат на основе эндистероидов
серпухи венценосной (*Serratula coronata L.*)**

ЭКДИФИТ
анаболическое и адаптогенное средство

Состав

Препарат растительного происхождения, на основе суммы эндистероидов (до 1,5 %) и флавоноидов (до 5,0%). Активное вещество - экстракт серпухи венценосной - 0,24г, вспомогательные вещества: аэросил - 0,005г, стеарат Ca - 0,005г, крахмал картофельный - 0,05г, сахар молочный - 0,15г, микрокристаллическая целлюлоза - 0,05г.

Фармакологические свойства

Стимулирует белоксинтетические процессы в организме.

Показания к применению

- препарат показан после тяжелых травм, операций, ожогов
- нарушение белкового обмена при кахексиях различного генеза
- хронические заболевания, сопровождающиеся потерей белка.

Способ применения и дозы

Таблетки Экдифит принимают внутрь за 30 мин до еды, запивая водой, по 1 капсуле 2 раза в день. Курс лечения составляет 3-4 недели. При необходимости курс лечения повторяют после 2-х недельного перерыва.

Побочные действия

Побочных эффектов не выявлено

Противопоказания

- индивидуальная непереносимость препарата
- беременность и период лактации

Лекарственное взаимодействие

Неблагоприятное взаимодействие с другими лекарственными средствами не зарегистрировано

Форма выпуска

В виде таблеток покрытых оболочкой,
25 таблеток по 0,24 г



Производитель

ТОО «Карагандинский фармацевтический завод»
г. Караганда, Республика Казахстан

ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ: ВЫДЕЛЕНИЕ, СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

И. С. Левина*, И. В. Заварзин

e-mail: li@ioc.ac.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук, г. Москва, Российская Федерация

В обзоре рассмотрены структуры фитоэкдистероидов, их нахождение в растениях, схемы синтеза ряда важных экдистероидов и их биологические функции.

Ключевые слова: экдистерон, экдизон, туркестерон, лекарственные растения, методы синтеза, связь структуры стероида с активностью.

Экдистероиды представляют собой группу полигидроксилированных стероидов, обладающих структурой, подобной гормону линьки и метаморфоза насекомых – экдизону.

Фитоэкдистероиды, являющиеся аналогами экдистероидов, впервые были обнаружены в растениях в середине 60-х гг. Они оказались довольно распространенными вторичными метаболитами растений. Фитоэкдистероиды – полигидрокси-C₂₇-C₂₉-молекулы, производные фитостеринов, имеющие цис-сочленение колец A и B и α,β-ненасыщенную кетогруппировку в кольце B; при этом также возможны и другие заместители в молекуле.

Наиболее известным и распространенным представителем фитоэкдистероидов является экдистерон (20-гидроксиэкдизон, 20E) 1 (Рис. 1).

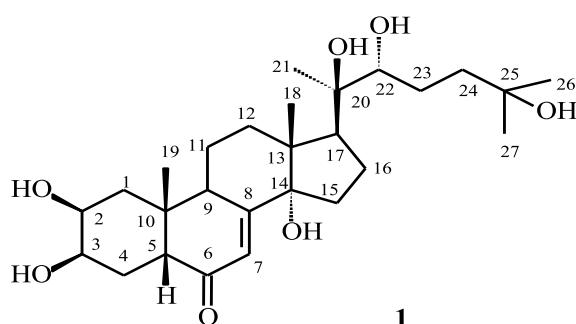


Рисунок 1. Экдистерон (20-гидроксиэкдизон).

Настоящий обзор представляет имеющиеся в литературе данные по фитоэкдистероидам за последние 10-15 лет.

За последние 40 лет из растительных источников было выделено более 300 различных структур фитоэкдистероидов [1]. Виды растений, содержащих фитоэкдистероиды, обычно содержат 0.01 - 0.1 % от сухого веса вещества [1, 2], но целый ряд видов может содержать 1 и даже 2 % от сухого веса [1]. Концентрации фитостероидов в растениях, по крайней мере, в 1000 раз выше, чем найденные почти во всех зоисточниках. Фитостероид-положительные растения обычно содержат несколько основных экдистероидов и массу минорных аналогов. Благодаря относительно высоким концентрациям и имеющимся на сегодняшний день возможностям выделения и идентификации малых количеств соединения даже минорные экдистероиды могут быть выделены из относительно малых количеств растительного материала (10 - 100 г сухого веса) и в количествах, достаточных для идентификации и биологических экспериментов [1, 3].

У экдистероидов обнаружен целый ряд полезных фармакологических свойств для млекопитающих и человека (см. обзоры и монографии [1, 3-9]). К примеру, экдистерон 1 обладает анаболическим эффектом у теплокровных животных и человека. Фитоэкдистероиды доступны из некоторых растений в больших количествах (> 1% от сухого веса), некоторые из

которых (шпинат, лебеда) используют в пище. Экдистероиды стали использоваться спортсменами как незапрещенные дополнения якобы для улучшения результатов. В последние годы стало популярно их применение среди культуристов (бодибилдеров), которые используют их как часть более или менее сложных коктейлей анаболических веществ для увеличения мышечной массы [5, 6].

На рисунке 2 представлены формулы некоторых фитоэкдистероидов, выделенных из различных растений.

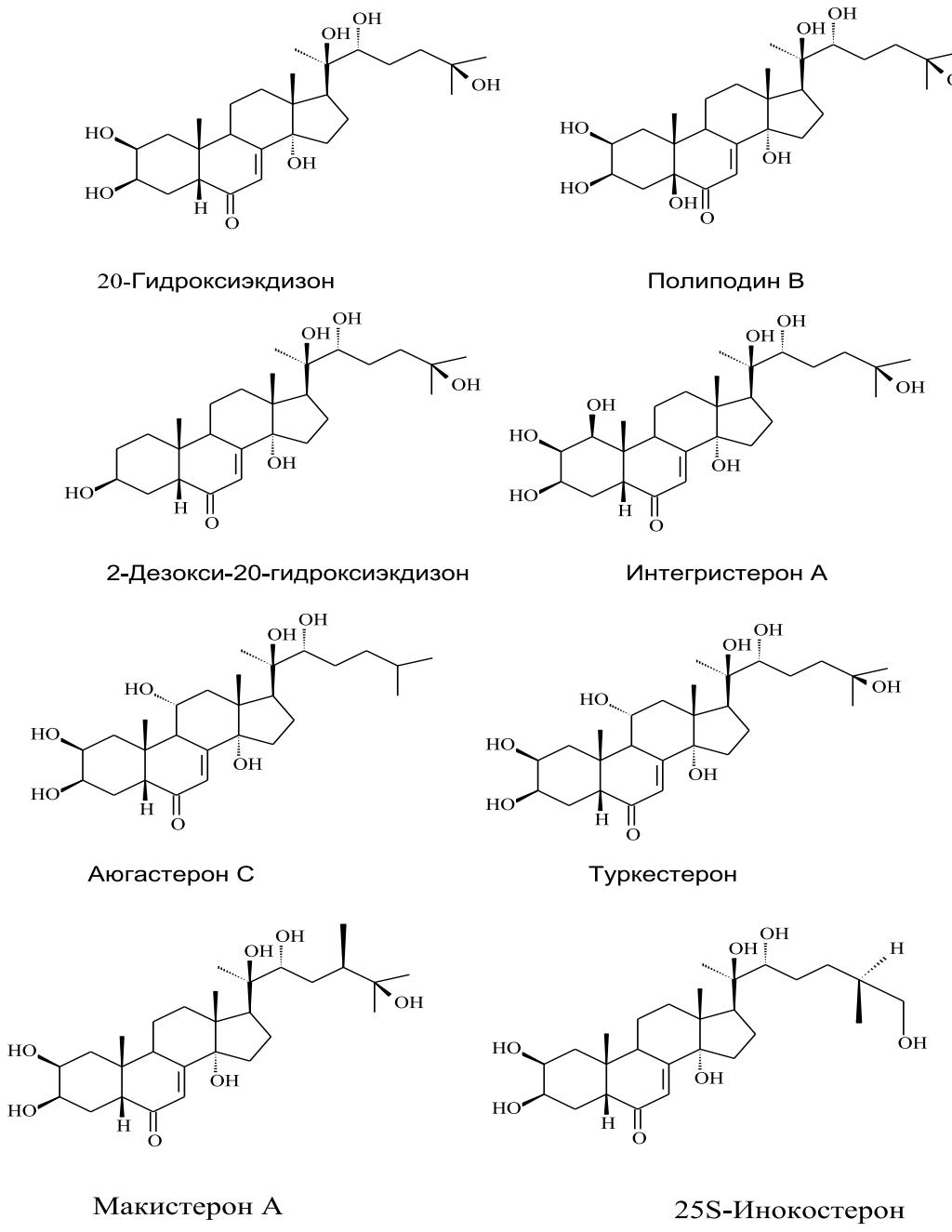


Рисунок 2

К настоящему времени разнообразные экдистероиды обнаружены в растениях, принадлежащих более чем к 100 семействам, из которых за последние 30-40 лет были выделены и охарактеризованы фитоэкдистероиды различного строения. Например, рапонтикум сафлоровидный (*Raponticum carthamoides*), серпуха венценосная (*Serratula coronata L.*), живучка ползучая (*Ajugareptans*), смолевка татарская (*Silene tatarica L.*) [2, 3, 10, 11].

В последние годы появились многочисленные публикации, посвященные выделению из растений и установлению строения новых, зачастую минорных, фитоэкдистероидов и их

производных. Так, чешскими исследователями [12] из корней *Leuzea carthamoides* выделены и идентифицированы семнадцать новых фитостероидов, среди которых оказались новые: 20,22-ацетониды инокостерона **2** и интегристерона А **3**, 15-гидроксипонастерон **4**, картамолеустерон **5**, содержащий в боковой цепи циклоэфир с пятичленным кольцом, 22-дезокси-28-гидроксимакистерон **6** 26-гидроксимакистерон **7** и 1-гидроксимакистерон **8** (см. рис. 3.)

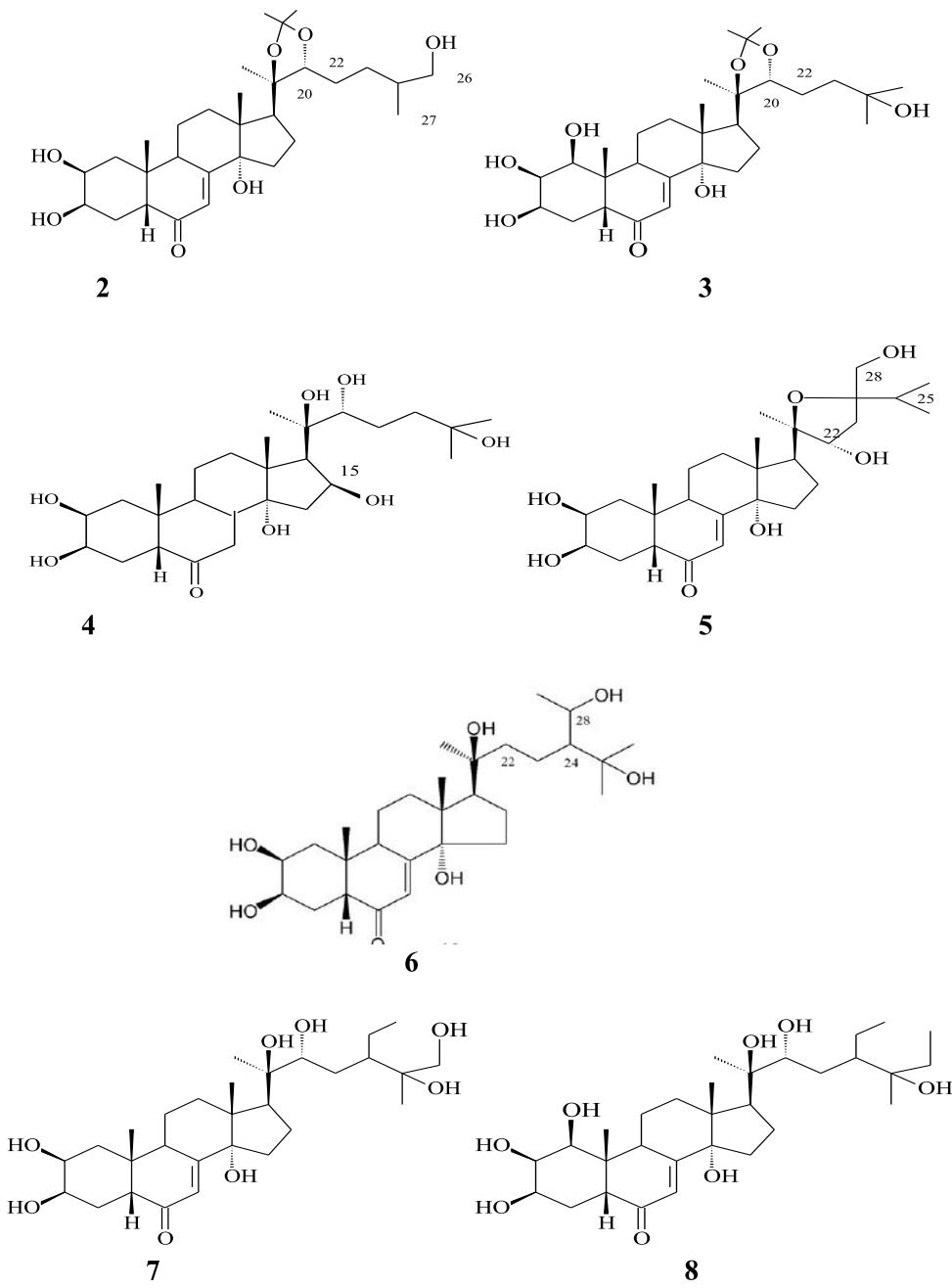


Рисунок 3

Из сока *Serratula coronata* L. выделены 22-ацетат экдистерона и 20,22- этилиденэкдистерон [13]. Из корней *Serratula wolffii* выделены и охарактеризованы два новых экдистероида, с ацетальной функцией в боковой цепи и содержащих в качестве заместиеля фурановое кольцо, серфуростерон А **9** и серфуростерон серфуростерон В **10** [14] (рис. 4).

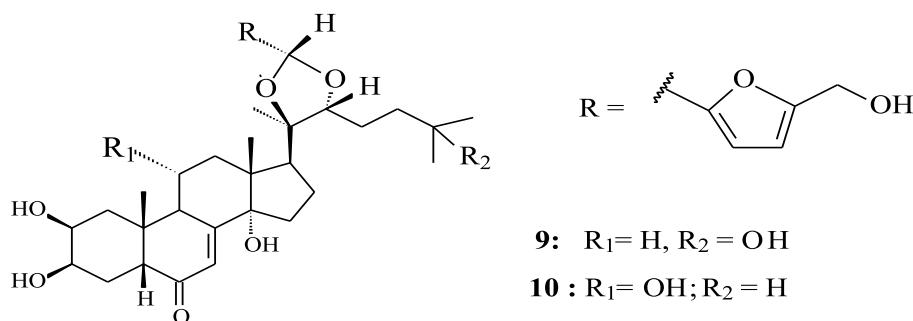


Рисунок 4 [14]. Серферостероны А и В

Из пяти видов растений рода *Silene* выделен, среди прочих соединений, экдистерон, 22-*O*-бензоат экдистерона и 2-дезокси 22-*O*-бензоат экдистерона [15]. 2-Дезокси-экдистерон найден в растениях рода *Serratula coronata L.* и *Silene Longicalycina* [16]. Экдистерон и понастерон А выделены из корневищ *Brainea insignis* [17]. Из листьев *Digitalis ciliata* и *D. purpurea* получена сумма экдистероидов (0.6% и 0.5 % от сухого веса, соответственно), в которой содержались, в частности, полиподин В, его 22-*O*-ацетат и 22-*O*-бензоат, витикостерон Е, экдистерон и его 22-*O*-ацетат и бензоат [18]. В 2003 г. опубликованы данные о первом выделенном из природного источника (*Silene italicasssp. Nemoralis*) 9 α -гидроксилированном экдистероиде с цис-сочленением колец А и В [19]. 3-Ацетат 2-дезоксиэкдизона выделен из растения *Silene scabrifolia* [11]. Из растения *Polypodium vulgara L.* наряду с 8 известными экдистероидами выделены 2-глюкопиранозид полиподина В и 20-дезоксиэкдистерон [20].

В 2011 г. описано выделение из корней растения *Achyranthes bidentata* трех новых фитоэкдистероидов **11-13**, содержащих ацетальные функции, и установлены их структуры [21] (Рис.5).

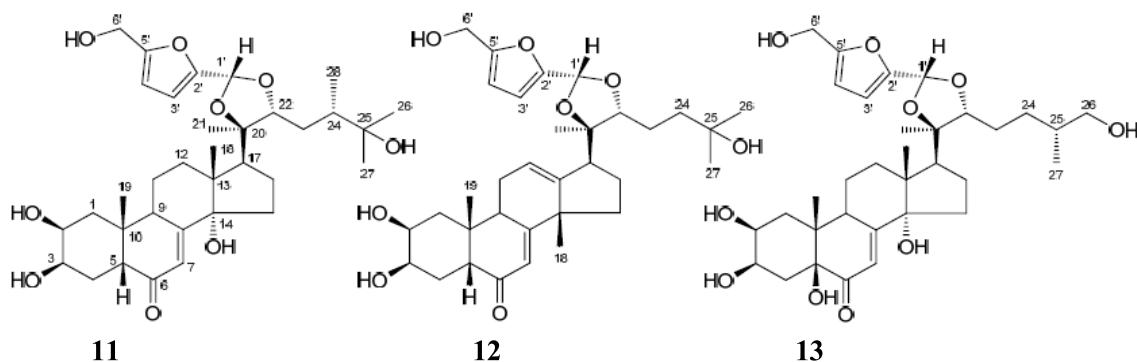


Рисунок 5

Целью химических трансформаций фитоэкдистероидов является получение новых аналогов для изучения взаимосвязей их структуры и физиологических свойств, для связывания с рецептором экдизонов и исследования механизма действия, получение ацильных и других производных для использования последних как предполагаемых лекарственных препаратов.

Химические трансформации фитоэкдистероидов можно представить в виде нескольких разделов. Во-первых, это получение производных этих полигидроксилированных стероидов (исчерпывающее и селективное ацилирование гидроксильных групп); во-вторых, введение заместителей и вообще модификация стероидного скелета (гидрирование, дегидрирование, окисление, эпимеризация центров, элиминирование или, наоборот, введение заместителей); в-третьих, модификация боковых цепей фитоэкдистероидов, часто связанная и с изменениями в стероидном скелете (см. также обзор по трансформациям экдистероидов [22]).

Характерной особенностью экдистерона (20-гидроксиэкдизона) 20E1 (рис. 1) является наличие шести гидроксильных групп, реакционная способность которых уменьшается в сле-

дующем ряду: 2, 3, 22 >25>20>>14 [3, 23, 24]. Отсюда продуктами ацилирования являются моно-, ди-, три- и тетрапроизводные и их смеси. Некоторые из таких производных являются минорными природными эндистероидами, например, 2-ацетат, 3-ацетат, 25-ацетат (витикостерон E), 2,22-диацетат эндистерона [23]. При эквимольном соотношении 20E и ацилирующего агента образуются смеси разнообразных продуктов, из которых выделяют монопроизводные 20E¹. Так, при обработке 20E¹ уксусным ангидридом в соотношении 1:1 в абсолютном пиридине при 40 °C в течение 5 часов получена смесь продуктов, из которой после хроматографического разделения был получен 2-ацетат 20E с выходом 15% [3, 23].

Синтез монопроизводных 20E¹ в боковой цепи проводят с высокими выходами при использовании эффективных методов защиты диольных групп. Это образование изопропилиденовых производных, ацетатов и боратов. Для синтеза 22-ацетата 20E была осуществлена следующая последовательность реакций [3, 23]: 20 E→20, 22-фенилборат→2, 3-изопропилиден-20, 22-фенилборат→2, 3-изопропилиден-22-ацетат→22-ацетат 20 E (Схема 1). Так были получены с высокими выходами 22-моноацетат эндистерона и 25-моноацетат эндистерона [24]. Несколько видоизмененная схема получения этих производных эндистерона описана через 2,3- и 20,22-моно- и диацетониды [23, 25]. Предложенная схема позволяет избирательно синтезировать 22-эфираты как низших, так и высших жирных кислот, что открывает перспективы создания на их основе лекарственных препаратов [24]. Также описан 2,3,22-трипальмитат 20E [3]. 22-Бензоат 20E синтезирован обработкой его 2,3-моноацетонида хлористым бензоилом в абс.пиридине с последующим гидролизом 2,3-моноацетонида 22-бензоата разбавленной уксусной кислотой [26].

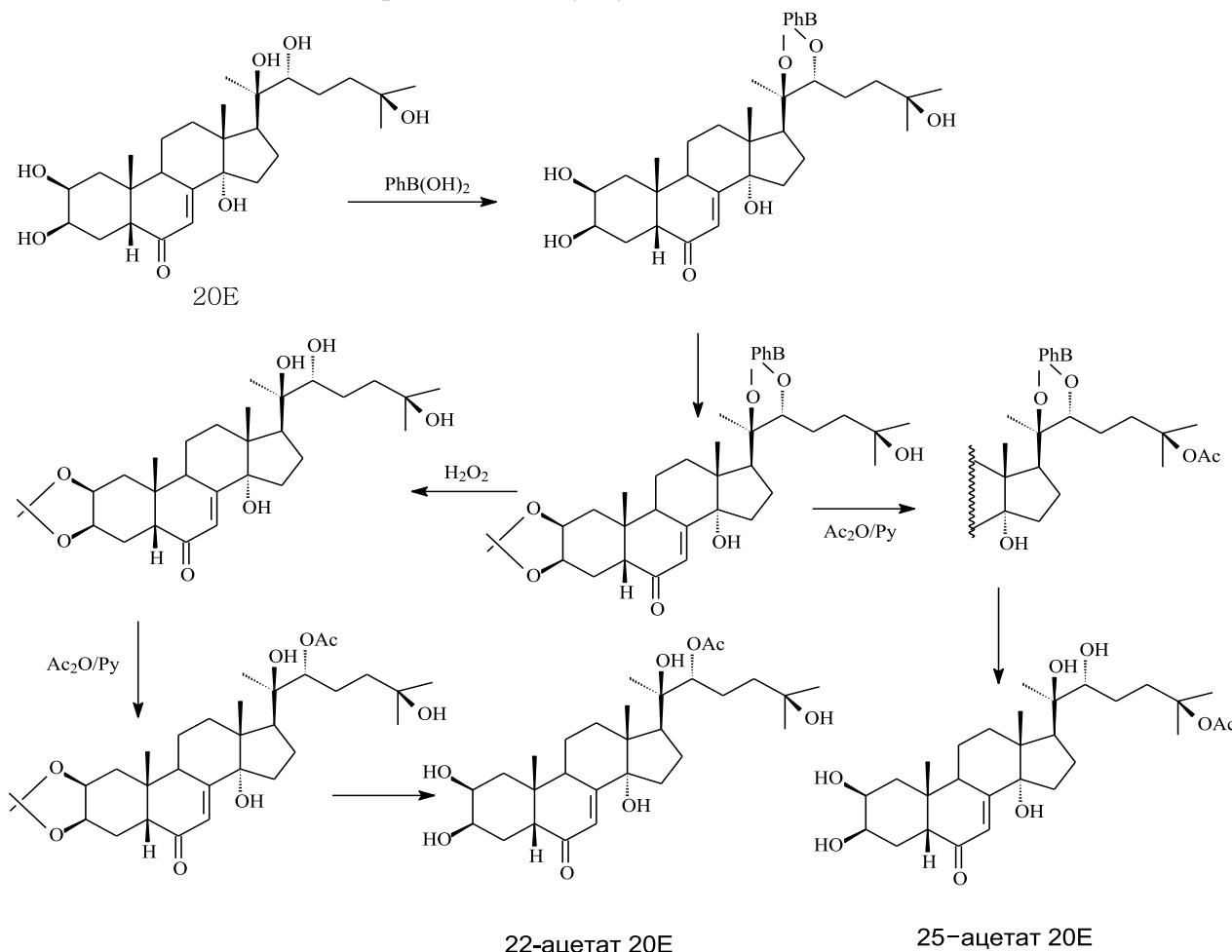
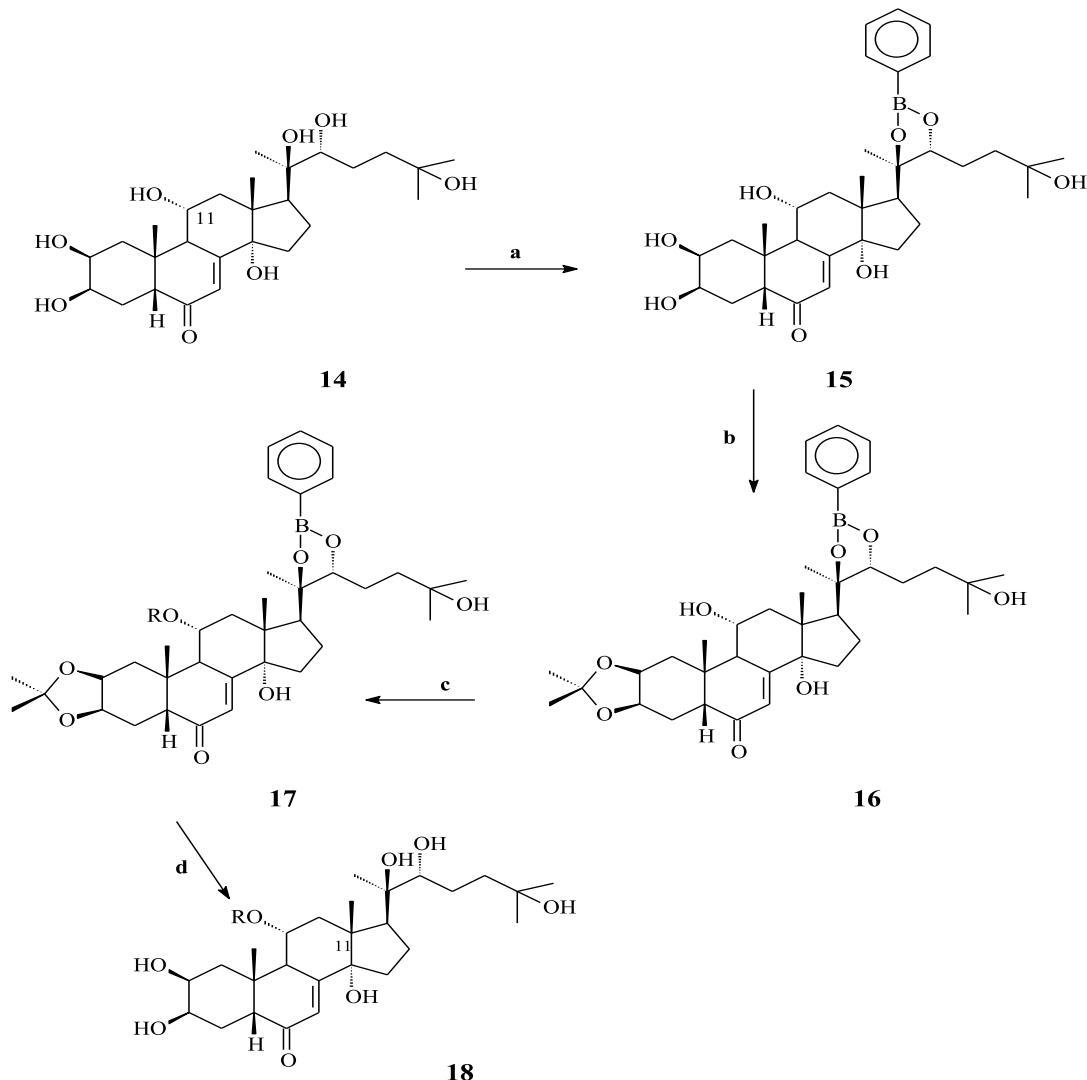


Схема 1

Эта же стратегия была успешно применена для получения серии 11 α -ацильных производных туркестерона **14**, фитоэндистероида с 11 α -гидроксильной группой, выделенного

впервые из *Ajuga turkestanica* в 1975 г. [27]. Эксперименты показали, что по реакционной способности гидроксильные группы в туркостероне располагаются следующим образом: 2 > 11 > 22 > 3 >> 25. На схеме 2 представлен путь синтеза производных туркестерона, исходя из туркестерона **14** [28]. Сначала получают 20,22-фенилборонат **15**, затем его 2,3-ацетонид **16** и далее после снятия 2,3- и 20,22-защитных групп в **17** различные 11 α -ацильные производные **18** (см. также схему в [28]). Авторы отмечают тенденцию 11 α -гидроксиэксистероидов к дегидратации с образованием 7,9(11)-диен-6-онов [28]. Следует также упомянуть, что 11 β -гидрокси-эксистероиды неизвестны [1].

Недавно появилась публикация по синтезу 9 α -гидрокси-5 α -эксистероидов [29].



- a) фенилбороновая кислота, DMF, r.t., 2 ч; b) добавление сух.DMP, ацетона и p-TsOH r.t., 3 ч;
c) R-COO-OR, Py, r.t. (или 50 °C), 2 – 20 ч; d) 0.1M HCl-диоксан (1:1) r.t., 4 ч.

Схема 2

Использование в качестве исходного соединения доступного в приемлемых количествах 20E1 дало возможность получить целый ряд его аналогов. 14 α -Гидрокси- Δ^7 -6-кетогруппировка является важным структурным фрагментом фитоэксистероидов, и ее модификация может приводить к существенным изменениям свойств эксистероидов [30]. Было изучено гидрирование Δ^7 -6-кетогруппировки в молекуле 20E1 в различных условиях. Катализическое гидрирование с помощью 10%-ного Pd-C в этаноле в присутствии нитрита натрия оказалось простым, удобным стереоспецифическим восстановлением олефиновой

функции Δ^7 -6-кетостероидов в соответствующие дигидроаналоги с выходами более 90% [31] (Схема 3). По этой же методике получены также соответствующие дигидропроизводные понастерона и постстерона [28,31]. Синтез 7,8-дигидроаналогов экдистероидов описан в работе [32].

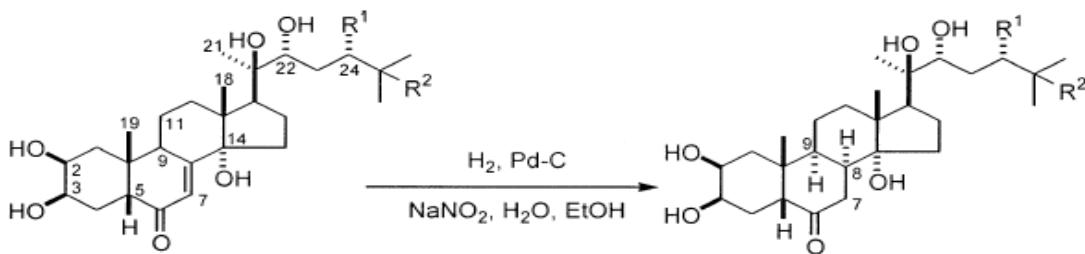


Схема 3. Каталитическое гидрирование экдистероидов [31]

В работе [33] описано каталитическое гидрирование 7,14-диен-6-оксоэкдистероидов палладием на угле в метаноле в присутствии метилата натрия в соответствующие 7,8- α -дигидро-14 α -дезоксистероиды. 14 α -Дезокси-20-гидроксиэкдизон получен, наряду с другими соединениями, фотохимической трансформацией 20E1 [34]. 14 α -Дезоксиэкдистероиды были получены в одну стадию с выходом 50% восстановлением 20E1 Zn-пылью в абр.уксусной кислоте при 65-70 °C. При этом также выделен также 14 β -изомер с 24%-ным выходом [35].

Из 2-мезилатов экдистероидов были получены 3-дезоксианалоги 20-гидроксиэкдизона [36, 37], активность последних оказалась ниже, чем у 20E. Полученные [38] 3-эпи-2-дезоксианалоги 20E также были малоактивными.

Недавно описана регио- и стереонаправленная трансформация 20-гидроксиэкдизона **1** в 2-дегидро-3-эпи-20-гидроксиэкдизон **19** озонированием в пиридине с выходом 43% [39] (Схема 4). Авторы полагают, что наблюдаемое при озонировании селективное окисление 20-гидроксиэкдизона зависит от атаки молекулы озона на стерически менее затрудненную аксиальную H-C²-связь с образованием α -гидроксигидротриоксида. Последний трансформируется в 2-оксопроизводное, которое в основных (пиридин) условиях эпимеризуется по соседнему с кетогруппой центру C³ с образованием целевого продукта.

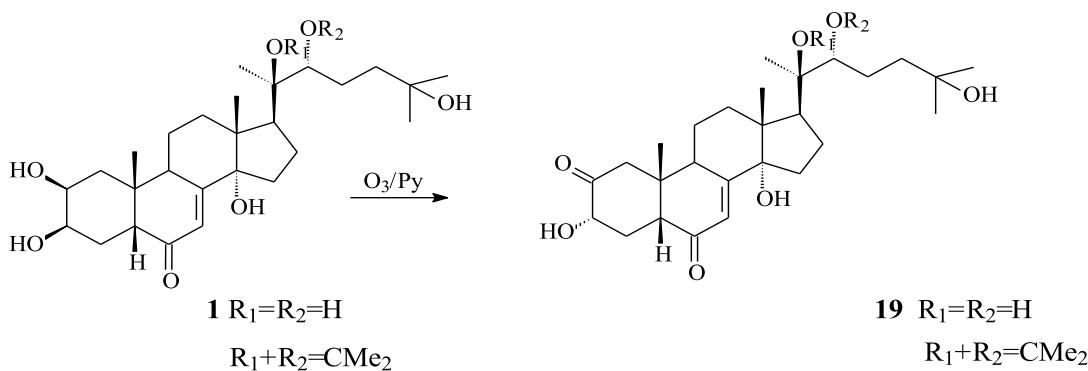


Схема 4 [39]

Микробиологическая трансформация фитоэкдистероидов **1**, **20-22** с 3-гидрокси-2-мезилоксифункциональной группой с помощью *Curvularia lunata* привела к 3-дегидро-2-дезоксианалогам **28-31** [40]. Исходные стероиды селективно мезилировали по более доступной экваториальной 2-гидроксильной группе и полученные с выходом 60% 2-мезилаты **23-27** далее биотрансформировали с высокими выходами в целевые соединения (Схема 5). В работе обсуждается возможный механизм этого процесса.

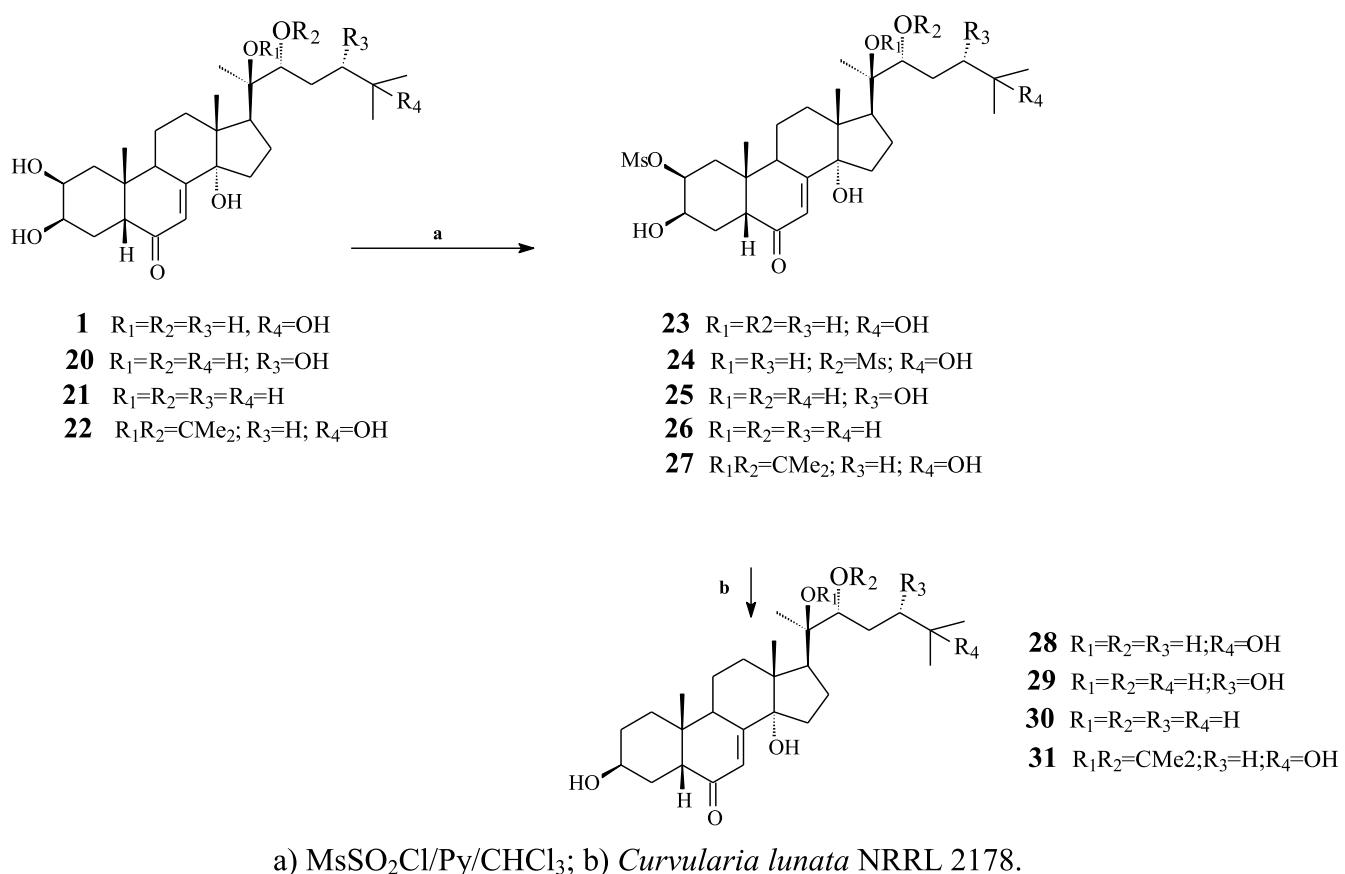
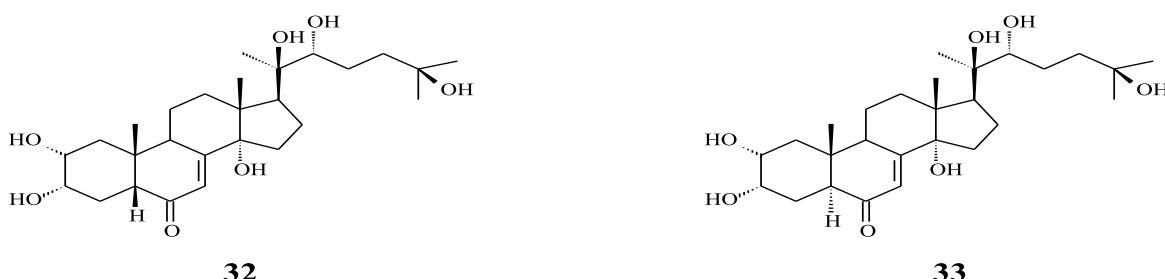
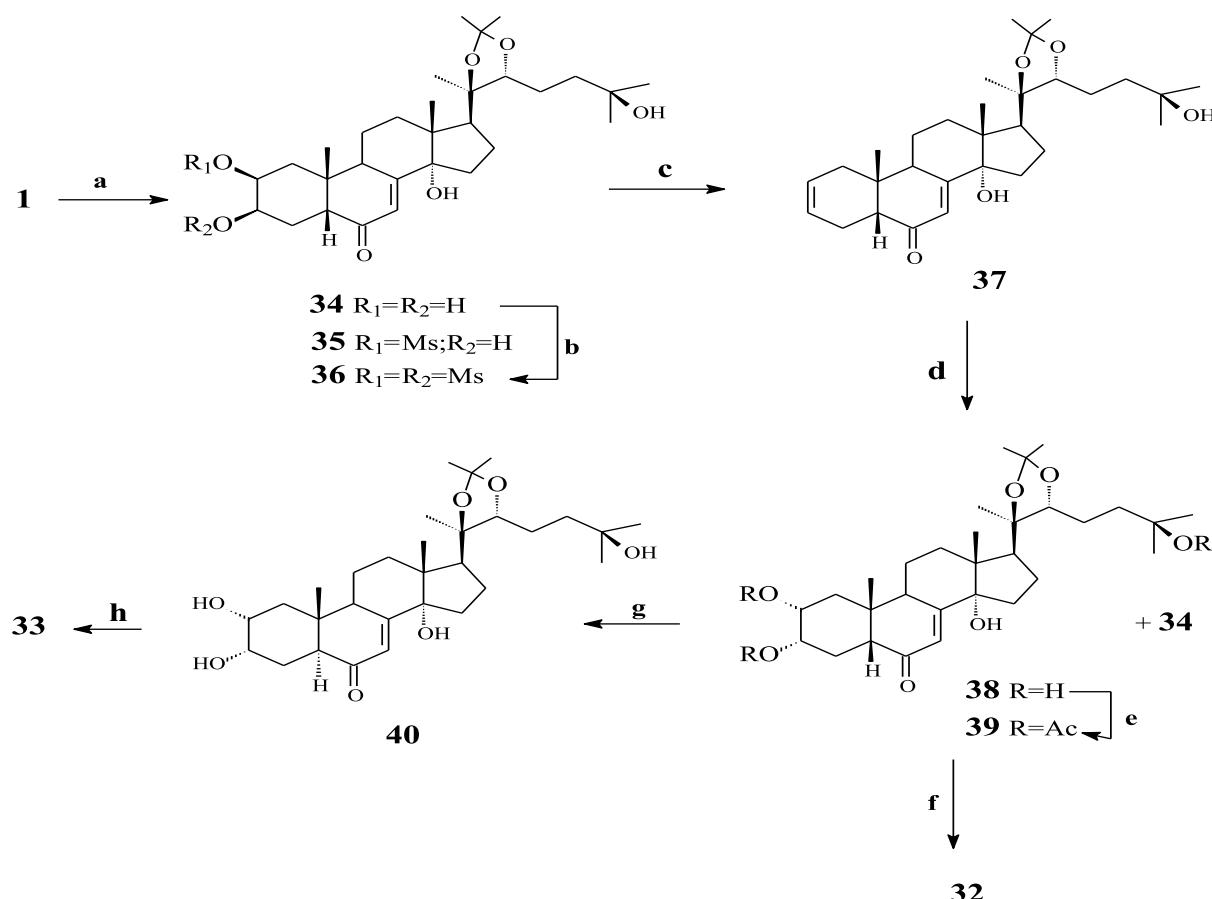


Схема 5 [40]

Был осуществлен стереоспецифический синтез 2,3-диэпи-20-гидроксиэкдизона **32** и 2,3-диэпи-5 α -20-гидроксиэкдизона **33** из 20E1 и изучена их активность как гормонов линьки [41] (Схема 6). Мезилирование 20,22-ацетонида **34** дало смесь моно- и димезилатов **35** и **36**, соответственно. Пролонгированная реакция приводит исключительно к димезилату **36**. Реакция последнего с NaJ и Zn в DMF дает олефин **37** с выходом 75%. Далее дигидроксилирование этого олефина OsO₄ в пиридине дает два продукта: ацетонид **34** (58%) и изомерный **38** (32%). С5-Эпимеризация стероида **38** 2%-ной содой в метаноле дала соответствующий 5 α -аналог с выходом 80%. 2,3-Диэпианалог **32** оказался менее активным в тесте линьки; в то же время 2,3-диэпи-5 α -аналог **33** все же сохранял активность, хотя гораздо менее выраженную, чем у стероида **32**.

Из других модификаций стероидного скелета фитоэкдистероидов можно упомянуть синтез 6-хлорникотината 20-гидроксиэкдизона [42] и образование 9,14-оксетанового цикла при взаимодействии лития в аммиаке с 2,3;20,22-диацетонидом 20E и последующей обработке хлористым аммонием и атмосферным кислородом [43].

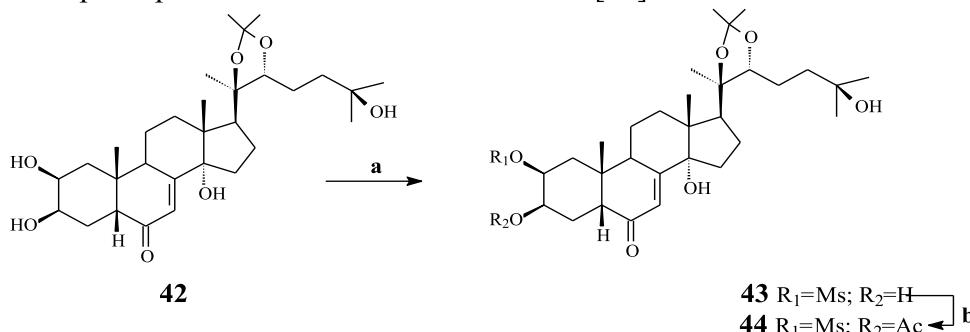


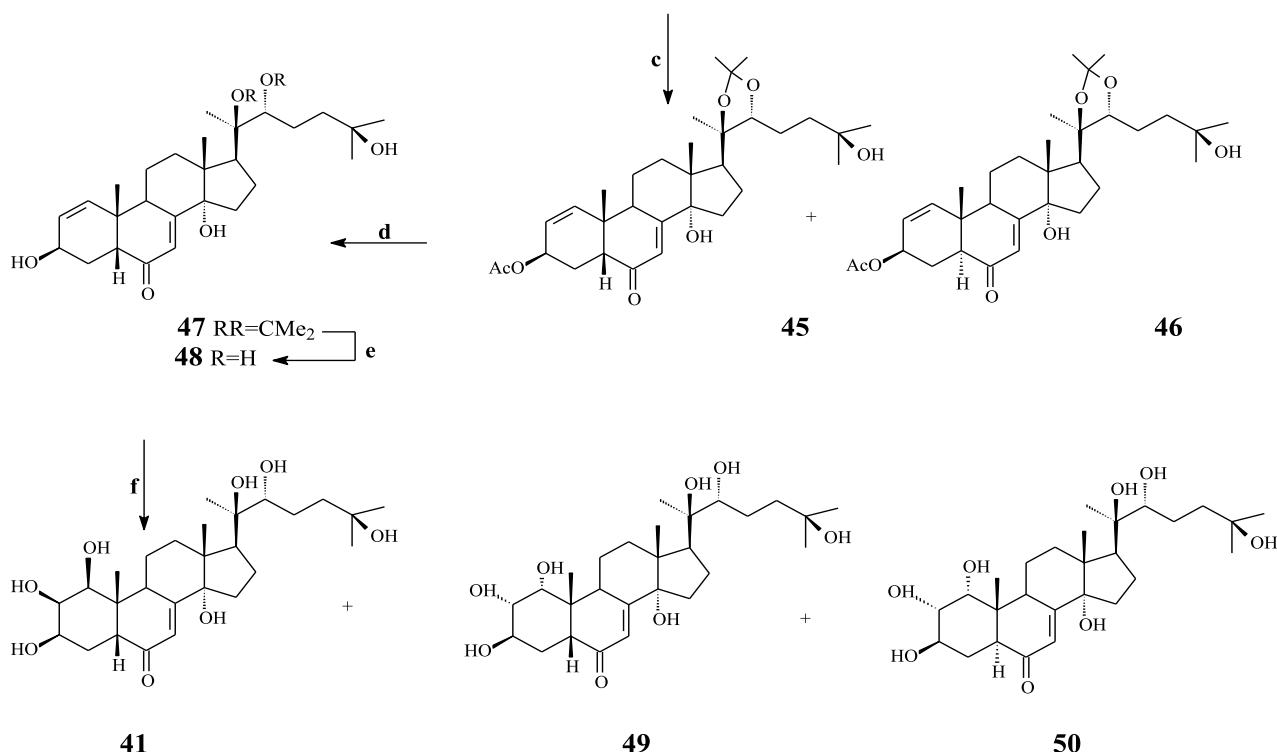


а) ацетон, p -TsOH; б) $MsCl$, Py; в) NaI , Zn , DMF , $80\text{ }^{\circ}\text{C}$; г) OsO_4 ; д) Ac_2O/Py ; е) 70%
 $AcOH, PhCH_2NMe_3^+Cl^-$; ж) 2% Na_2CO_3 , $MeOH$; з) 70% $AcOH, PhCH_2NMe_3^+Cl^-$

Схема 6 [41]

В 2007 г. впервые [44] описан синтез представителя 1,2,3-тригидроксистероидов, редкой и относительно малой группы эндистероидов – интегристерона Ас дополнительной гидроксильной группой в положении 1 (**41** на Схеме 7), выделенного ранее из растения *Rhaponticum integrifolium* [45]. Синтез этого соединения представлен на Схеме 7. Исходный 20E был селективно превращен в соответствующий 20,22-ацетонид **42**. Селективное мезилирование дало мезилат **43** с выходом 86%, который ацетилировали в соответствующий ацетат **44** с 95%-ным выходом. Элиминирование $MsOH$ последнего привело к олефинам **45** и **46** (минорный компонент). Соединение **45** дезацетилировали с образованием ацетонида **47**, который после снятия ацетонидной защиты дал олефин **48** с выходом 81%. Дигидроксилирование последнего тетраацетатом осмия привело с выходом 56% к образованию целевого интегристерона **41**, наряду с минорными продуктами **49** (27%) и **50** (7%). Биологическая активность интегристерона в тесте линьки оказалась в 9 раз ниже активности 20E, а 1,2-диэп-5 α -интегристерон в этом тесте был неактивен [44].





Реагенты и условия: а) MsCl , Py, 0–4°C; б) Ac_2O , Py; в) DBU, DMF, 150°C; д) 10% aq K_2CO_3 , MeOH ; е) 70% AcOH , $\text{PhCH}_2\text{N}^+\text{Me}_3\text{Cl}^-$; ф) OsO_4 , лиганд, растворитель.

Схема 7

Из работ по модификациям боковых цепей фитоэкдистероидов упомянем работу по получению инокостерон-26-карбоновой кислоты **51** [46] (Схема 8). Были синтезированы также 6-оксим экдистерона, экдистерон гемисукцинат и метиловый эфир инокостерон-26-карбоновой кислоты. Последний обладал наивысшей активностью в teste линьки [46].

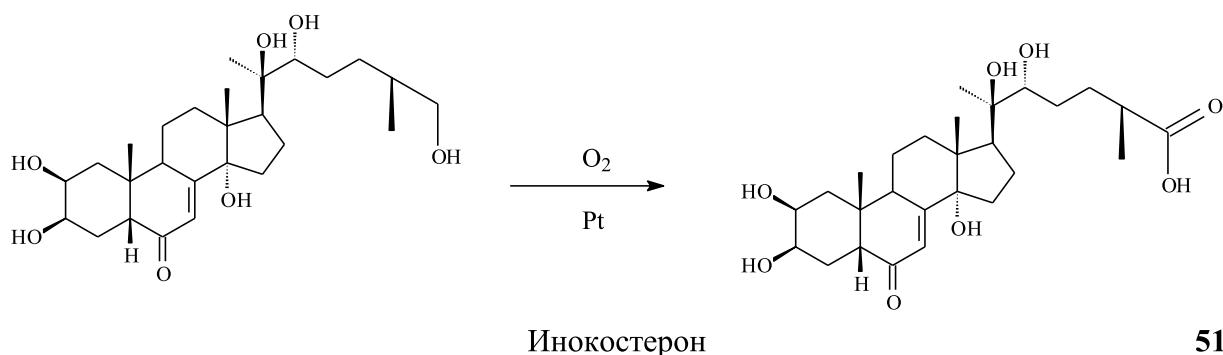
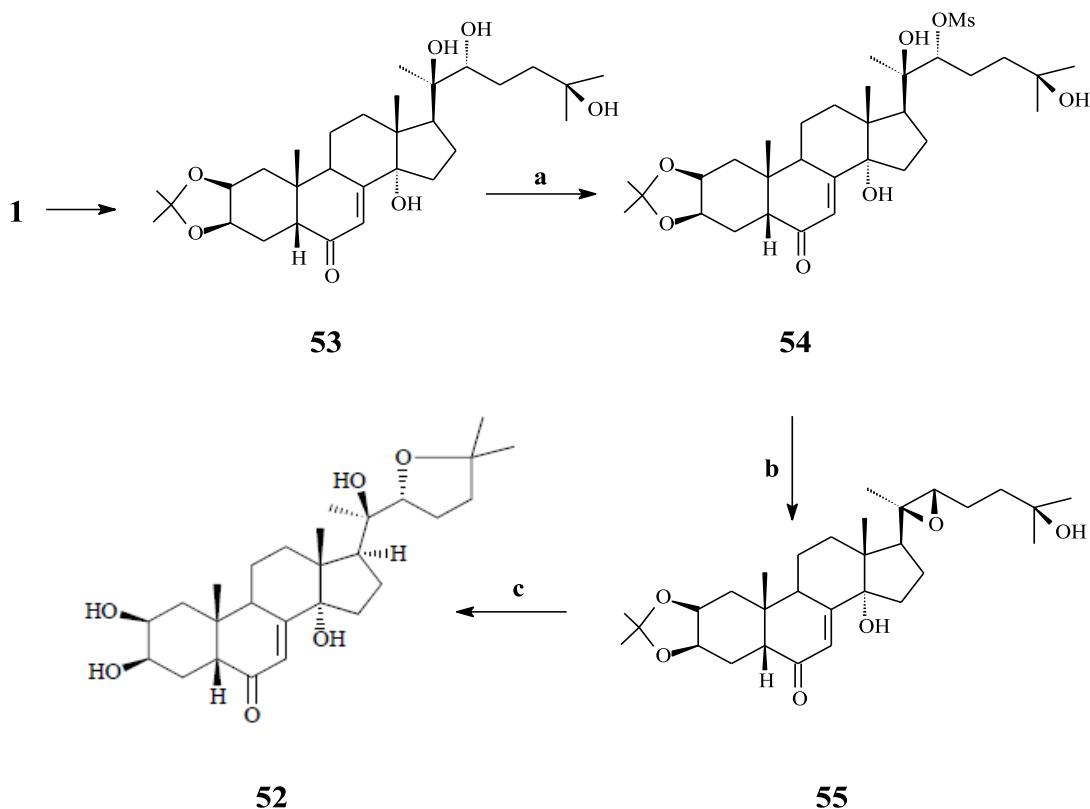


Схема 8

Окисление боковой цепи 20-гидроксиэкдизона реагентом Джонса приводит к ее расщеплению с образованием смеси 2:1 постстерона и его 3-кетопроизводного [47, 48].

Гидроборированием 24(25)-дегидропроизводного 20-гидроксиэкдизона с помощью реагента $\text{NaBH}_4\text{-CuCl}$ был синтезирован инокостерон [49].

С целью выяснения роли экдистероновой боковой цепи в проявлении биологической активности были получены экдистероиды, у которых подвижность боковой цепи ограничена из-за наличия кольцевой системы. Так, авторы [50] синтезировали шидастерон **52**.



Реагенты и условия: а) MeSO₂Cl, (Prⁱ)₂NEt, CH₂Cl₂; б) KF, MeCN, THF; в) Et₃N.3HF, 60 °C; HCl-диоксан

Схема 9 [50] Синтез шидастерона

Синтетическая стратегия получения таких аналогов 20-гидроксиэкдизона с модифицированной боковой цепью, содержащей тетрагидрофурановое кольцо, заключалась в селективной защите 2,3-цис-диольной группировки в 20E с последующей активацией 22-гидроксильной группы до стадии замыкания кольца [50]. Синтез шидастерона представлен на схеме 9. Взаимодействие изопропилиденового производного **53** с мезилхлоридом и диизопропилэтиламином привело к смеси мезилата **54** (50%) с изопропилиденшидастероном (не показан на схеме). Обработка мезилата KF в сух. MeCN или TBAF в THF дало эпоксид **55** с выходами 76 and 57%, соответственно. Обработка этого эпоксида Et₃N.3HF at 60 °C с последующим снятием 2,3-диольной защиты привело к шидастерону **52** с выходом 48%.

Одна из недавних работ по модификации боковой цепи фитоэкдистероидов посвящена синтезу новых фосфатных аналогов 20E**1**, обладающих большей гипогликемической активностью и повышенной растворимостью в воде [51]. Путь синтеза представлен на схеме 10, ключевой стадией которого является селективная защита гидроксильных групп в положениях 2, 3, 20, 22 и 25 с последующим ее снятием. 20,22-гидроксильные группы в 20E**1** селективно защищают фенилборатом **56**, и 2,3-гидроксильные группы образовавшегося боронового эфира далее были защищены через изопропилацетонид. Обработка последнего триэтилсилилхлоридом привела к 25-силиловому эфиру **57**. Окислительное расщепление боронового эфира последнего NaOH и H₂O₂ и фосфорилирование полученного диола хлорокисью фосфора и пиридином с последующим кислотным гидролизом для удаления триэтилсилильной и изопропанильной защитных групп привело с выходом 83% к 20-гидроксиэкдизону-20,22-фосфорной кислоте **58**. При ее обработке бикарбонатом натрия получена соответствующая натриевая соль **59**. Общий выход фосфатного аналога 20-гидроксиэкдизона составил 68%. Растворимость этих аналогов в воде, соответственно в 20 и 50 раз выше растворимости 20E**1**.

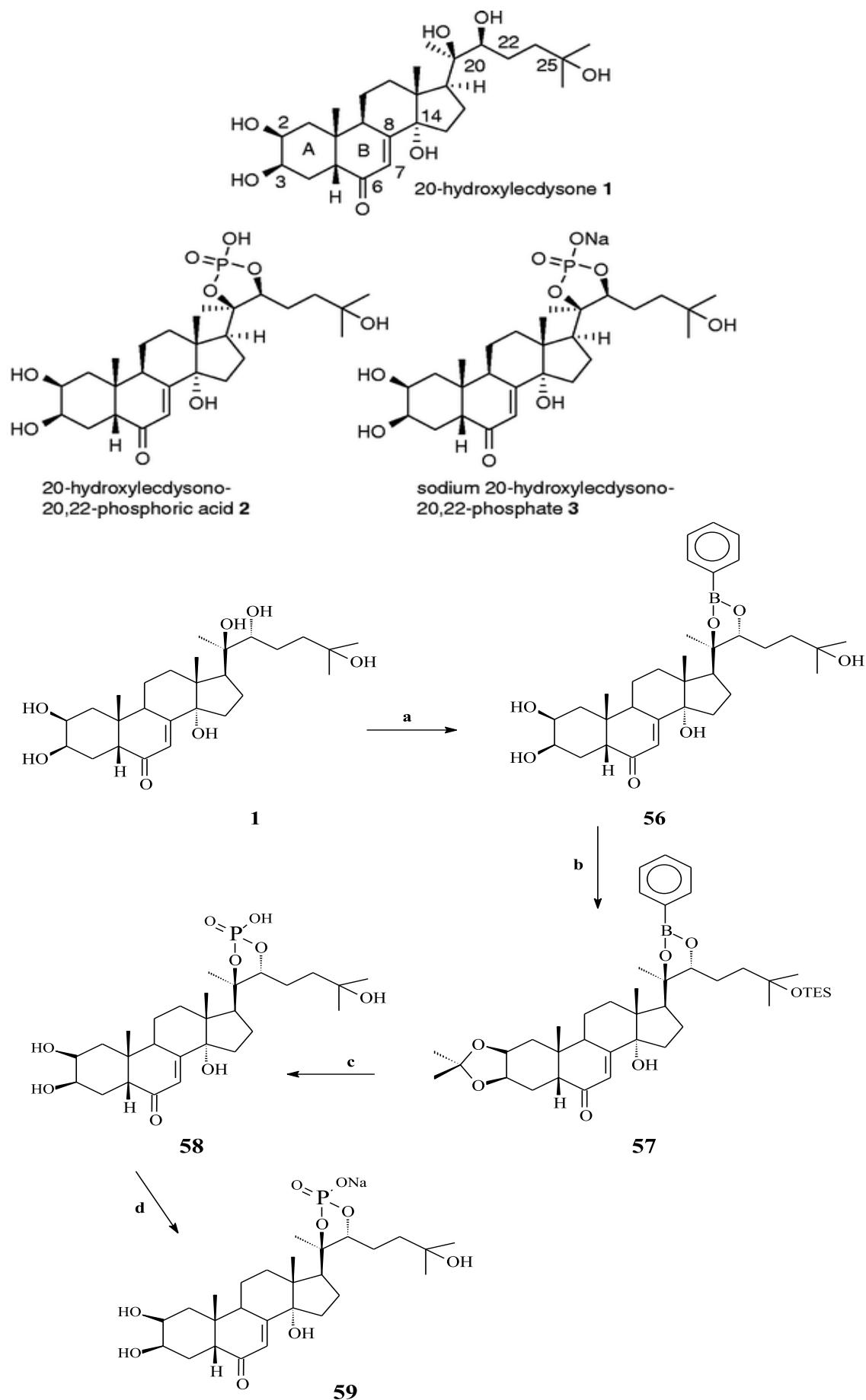


Схема 10 [51]. Синтез фосфатных аналогов экдистерона

Биологические функции фитоэкдистероидов у млекопитающих и человека активно исследуются с начала их обнаружения и по сегодняшний день. Однако многие аспекты их активности, особенно механизм их действия на молекулярном уровне еще не выяснены.

Наиболее интенсивно изучалась анаболическая активность фитоэкдистероидов, главным образом 20-гидроксиэкдизона (или экдистерона или 20E) и его производных, благодаря его относительной доступности из определенного рода растений (1-2% от сухой массы). Фитоэкдистероиды являются также растительными адаптогенами, т.е. препаратами, которые усиливают адаптацию человека к физической нагрузке и другим стрессовым факторам, связанным с напряжением физиологических функций. Обладая анаболическим действием, фитоэкдистероиды существенно восстанавливают и повышают работоспособность организма при умственном и физическом переутомлении. Фармакологические функции фитоадаптогенов полифункциональны и заключаются в усилении физиологических защитных функций организма в норме и патологии. Фитоадаптогены могут использоваться в качестве лечебных и профилактических средств представителями многих профессий, чья трудовая деятельность связана с экстремальными физическими нагрузками и большим психологическим напряжением, а также спортсменами в период интенсивных тренировок [52].

«Экдистен» - препарат, содержащий 20E из подземных органов рапонтикума сафлоровидного и обладающий специфическими адаптогенными тонизирующими свойствами, был разработан в Институте химии растительных веществ АН УзССР и официально зарегистрирован в 1988 г. в качестве лекарственного тонизирующего средства.

Данные по физиологической активности фитоэкдистероидов на млекопитающих обобщены в монографиях и обзорах [3, 5, 8, 10, 53]. Было показано, что у экспериментальных животных не обнаружено токсического действия фитоэкдистероидов даже при введении доз, в 100 раз превышающих физиологически значимые концентрации вещества [54]. Они не обнаруживаются ни эстрогенной, ни андрогенной активности у половозрелых крыс. [3, 55]. При добавлении в пищу овариэктомированных крыс 20E (от 18 до 116 мг/животное/день) в течение 12 недель наблюдалось благоприятное действие на кожу - увеличивалась ее эпидермальная и дермальная толщина [56].

В последние годы механизм действия фитоэкдистероидов на теплокровных животных стал объектом пристального внимания исследователей. Предполагается, что физиологическое действие экдистероидов во многом обусловлено их анаболической активностью, которое интенсивно изучается с конца 60-х гг. [10, 55]. В настоящее время выявлены коренные различия в механизме анаболического действия фитоэкдистероидов и синтетических стероидных анаболиков [5]. Экдистерон повышает физическую выносливость без тренинга, как было продемонстрировано в плавательном тесте на крысах [56]. Этот эффект аналогичен эффектам анаболических стероидов, но без побочных действий, свойственным анаболикам [54]. Показано, что анаболическое действие экдистероидов намного слабее и не сопровождается метаболическими и гормональными нарушениями, присущими действию классических анаболических стероидов. Установлено, что анаболическая активность различных экдистероидов неодинакова. На крысах-самцах различного возраста и гормонального статуса (интактных и кастрированных, получавших 20E, туркестерон и другие экдистероиды (всего 12), выделенные из растений родов *Rhaponticum*, *Silene* и *Ajuga*) с помощью радиоактивной метки исследовали белоксинтетические процессы в скелетных мышцах и внутренних органах. Группой сравнения была группа крыс, получающих в сопоставимых дозах синтетический анаболик «Неробол». Было обнаружено, что фитоэкдистероиды обладают умеренной анаболической активностью [7, 57]. При этом 20E усиливает белоксинтетические процессы только у неполовозрелых животных (до 18% в мышцах и до 20% - в печени) и не вызывает эффекта у взрослых половозрелых животных. А синтетический стероидный анаболик «Неробол» повышает радиоактивность белка преимущественно в мышцах и у неполовозрелых крыс (до 30%), и у половозрелых животных (до 15%). Сравнительный анализ показал, что анаболический эффект фитоэкдистероидов заметно слабее, чем у стероидных анаболиков, полностью отсутствует у животных с измененным гормональным статусом и не имеет половых разли-

чий. В отличие от фитоэкдистероидов у крыс-самок этот эффект проявляется в такой же степени, как и у самцов. Кроме того, 20E проявлял свой анаболический эффект без физической нагрузки на скелетные мышцы.

Проведено исследование зависимости анаболического действия 23-х эндистероидов от структуры молекулы [58]. Анаболическую активность изучали в двух сериях опытов: в первой оценивали прибавку массы тела у неполовозрелых крыс-самцов, во второй определяли интенсивность включения ^{14}C -аминокислот лейцина и валина у мышей. Найдено, что 20E увеличивал прирост массы тела у неполовозрелых крыс на 83% (10 дней перорально в дозе 5 мг/кг ежедневно). У половозрелых мышей через 4 часа после внутрибрюшинного введения этого эндистероида в разовой дозе 5 мг/кг радиоактивность белка в гомогенатах печени повысилась на 67%. 2-Дезоксиэндистерон в тех же условиях приводил к значительно более низкому эффекту (36 и 38%, соответственно). Присутствие гидроксифункции в положении C5 (полиподин B), равно как и наличие дополнительной 1 β -гидроксильной группы у интегристерона приводит к существенному снижению анаболической активности. Наличие же 11 α -гидроксильной группы в молекуле туркестерона резко увеличивает его анаболической действие до уровня, сопоставимого с нероболом. Авторами был сделан вывод, что при сохранении общей стереохимии стероидного скелета величина анаболического эффекта фитоэндистероидов зависит только от количества и расположения гидроксильных групп в молекуле. Этим фитоэндистероиды отличаются от стероидных анаболиков и, следовательно, исключают возможность прямого взаимодействия 20E с стероидными рецепторами. Эти данные, по мнению автора, [58] подтверждают более раннее предположение о неспецифическом влиянии эндистероидов на процессы биосинтеза в организме теплокровных. Полагают, что в целом анаболический эффект эндистероидов имеет комбинированный характер и складывается из доденомного и геномного влияния на белоксинтетические процессы в клетках [3, 55]. Авторами работы [54, 59] показано снижение содержания мочевины и остаточного азота в сыворотке крыс, т.е. влияние фитоэндистероидов на азотистый обмен, который тесно связан с белковым обменом. Оказалось, что их гипоазотемическое действие зависит в основном от количества и расположения гидроксильных групп в молекуле. При этом трансформация изученных фитоэндистероидов в ацильные или изопропилиденовые производные сопровождается снижением выраженности этого биологического действия.

20-Гидроксиэндизон (20E) обладает выраженной антиosteопорозной активностью на экспериментальных животных, не связываясь при этом с рецептором эстрогенов [60]. Показано, что экстракты из *Ajuga turkestanica*, содержащие эндистероиды, обладают антидиабетической активностью [10], а 20,22-fosfatные аналоги эндистерона проявили *in vitro* высокую гипогликемическую (снижающую уровень глюкозы) активность, в 40 раз превышающую таковую у эндистерона [51]. У эндистероидов также выявлена гипохолестеролемическая [61] и антиаритмическая [62] активности. Эндистероиды способствуют заживлению поверхностных ран [6], обладают гепато- и нефропротекторными свойствами [10]. Эндистерон уменьшает многие симптомы метаболического синдрома у овириэктомированных крыс: уменьшает жировую и увеличивает мышечную нагрузку, повышает содержание липопротеинов высокой плотности и снижает содержание липопротеинов низкой плотности [62].

Фитоэндистероиды проявляют antimикробную активность. Была исследована antimикробная активность 20E и его ацильных производных: 2-ацетата, 2,3,22-триацетата и 2,3,22,25-тетраацетата на культурах микроорганизмов различных физиологических групп. Оказалось, что 20E полностью подавлял рост *Micrococcus luteus*, фитопатогенных бактерий *Erwinia alternata* и нитчатых грибов *Alternaria alternata* и проявлял незначительную активность по отношению к ряду других микроорганизмов, использованных в этих экспериментах [3]. Показано, что наличие 2-ацетата в молекуле 20E приводит к резкому возрастанию antimикробной активности; эта тенденция сохраняется и для триацетата и тетраацетата. Недавние исследования показали, что этианольные и хлороформенные экстракты растений, содержащих 20E, 2-дезоксиэндистерон, 20,26-дигидроксиэндизон и полиподин B, проявили antimикробную активность против восьми граммоположительных и четырех граммнегативных

видов бактерий [63]. В работе [64] изучено антимикробное действие корней *Achyranthes japonica*, содержащей 20E, и синергичный эффект смеси ампициллина или гентамицина с 20E против метициллин-устойчивой *Staphylococcus aureus*.

Большинство действий эндоцитероидов у насекомых опосредуется внутриклеточными эндоцитероидными рецепторами, а также мембранными связанными рецепторами. Но эндоцитероиды не являются эндогенными компонентами клеток млекопитающих, и они, по-видимому, не взаимодействуют с ядерными рецепторными системами [5, 10], и их действие в этом случае опосредуется негеномными механизмами [10, 5, 50, 65]. Данные о взаимосвязи структуры и активности эндоцитероидов у млекопитающих очень ограничены как по числу исследований, так и по количеству использованных в каждом случае аналогов [10]. Данные трех опубликованных исследований по анаболической активности эндоцитероидов у крыс или мышей обобщены в работе [5]. В исследовании [66] продемонстрирована 1) эффективность 10 чистых эндоцитероидов и наполовину очищенных смесей эндоцитероидов из *Silene viridiflora* в дозах 5 мг/кг перорально в тесте выносливости мышей: все они плавали дольше (109-143%), чем контрольные; 2) коньюгаты эндоцитероидов (гликозиды) были наиболее эффективны и 3) смесь эндоцитероидов («Сиверинол»; точный состав неизвестен) обладала наибольшей активностью (149%).

Сравнение данных для свободных эндоцитероидов показывает, что 2β -, 20- и 11α -гидроксилирование повышает активность, в то время как 5β - и 1β -гидроксилирование понижает активность [10, 58].

Метаболизм фитоэндоцитероидов в организме изучен недостаточно и данные противоречивы. Так, описаны метаболиты 20E, не имеющие 6-кетогруппы и восстановленной 7-двойной связью (у крыс) [67]. В другой работе выделены 2- и 20-дегидроксилированные метаболиты (человек). С другой стороны, метаболиты эндоцизона у мышей - 14-дезокси- и восстановленные в кольце В производные [48]. Авторы выделили три главных метаболита эндоцистераона у мышей - 14-дезокси-20-E, постстерион, 14-дезоксипостстерион и новый - $2\beta,3\beta,6\alpha,22R,25$ -пентагидрокси- 5β -холест-8(14)-ен (Схема 11).

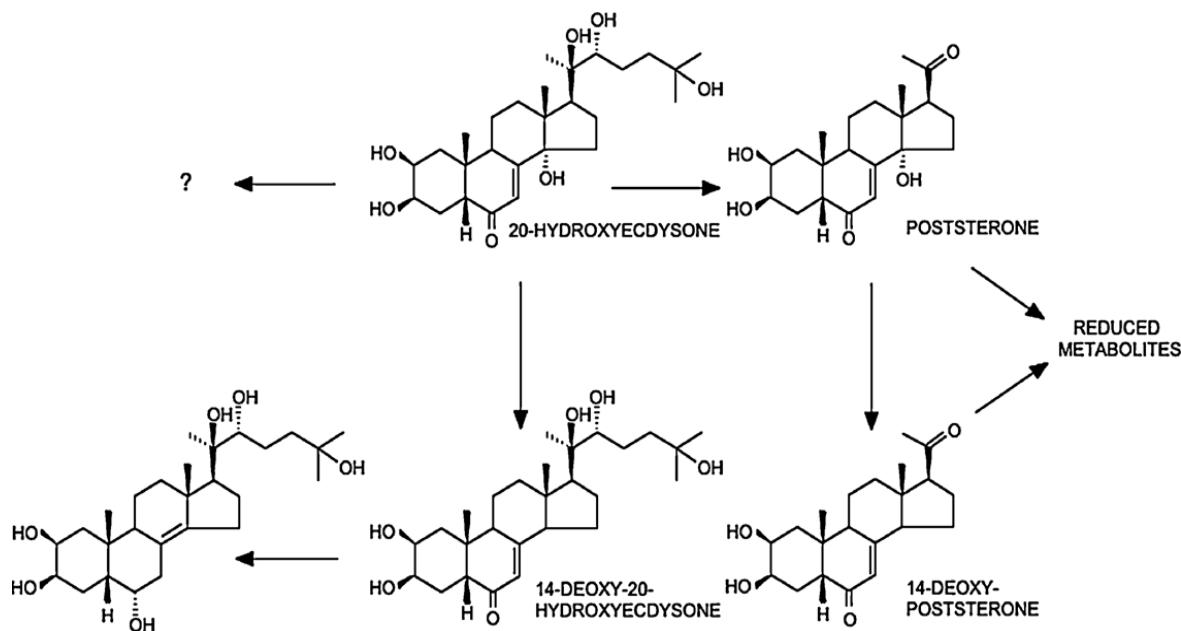


Схема 11 [48]. Метаболические пути 20-гидроксиэндоцизона у мышей.

Литература

1. R. Lafont, J. Harmatha, F. Marion-Poll, L. Dinan, I.D. Wilson. Ecdybase, a free ecdysteroid database.<http://ecdybase.org>.
2. L. Dinan. Phytoecdysteroids: biological aspects. *Phytochemistry*, 57,325-39 (2001).
3. Фитоэкдистероиды, ред. В.В. Володин, С.-Петербург, Наука, 2003. 293 с.
4. L. Dinan, R. Lafont. Effect and application of arthropod steroid hormones (ecdysteroids) in mammals., *J. Endocrinol.* 191,1-8 (2006).
5. M. Bathori, N. Toth, A. Hunyadi, A. Marki, E. Zador. Phytoecdysteroids and anabolic androgenic steroids - structure and effects on humans. *Curr. Med. Chem.*, 15, 75-91 (2008).
6. R. Lafont, L. Dinan. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update. *J. InsectSci.*, 3, (3/7) (2003).
7. В.Н. Сыров. Сравнительное изучение анаболической активности фитоэкдистероидов и стераноболов в эксперименте. *Хим.-фарм. ж.*, 34 (4), 31-4 (2000).
8. А.А. Ахрем, Н.В. Ковганко. Экдистероиды. Химия и биологическая активность. Минск, 1989. 327 с.
9. А.А. Ахрем, И.С. Левина, Ю.А. Титов. Экдизоны - стероидные гормоны насекомых. Минск, 1973. 232 с.
10. L. Dinan. Phytoecdysteroids: what use are they? *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 72(3), 126-42 (2009).
11. З. Саатов, М.Б. Горовиц, Н.К. Абубакиров. Фитоэкдистероиды растений рода *Silene*. XI. 2-Дезокси-α-экдизон-3-ацетатиз *Silenescabrifolia*. *Химия прир. соед.*, 4, 439-41 (1986).
12. M. Budensky, K. Vokac, J. Harmatha, J. Cvacka. Additional minor ecdysteroid compounds of *Leusea carthamoides*. *Steroids*, 73, 502-14 (2008).
13. V.N. Odinokov, S. Kumpun, I.V. Galyautdinov et al. Low-polarity phytoecdysteroids from the juice of *Serratula coronata* L. *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 70(12), 2038-52, (2005).
14. E. Lictor-Busa, A. Simon, G. Toth, M. Bathori. The first two ecdysteroids containing a furan ring from *Serratula woefii*. *T.L.*, 49, 1738-40 (2008).
15. Н.Ш. Рамазанов, Н.З. Мамадалиева, И.Д. Бабаев. Фитоэкдистероиды растений пяти видов рода *Silene*. *Химия прир. соед.*, № 1, 97-8 (2007).
16. Н.Ш. Рамазанов. Фитоэкдистероиды растений *Serratula coronata* и *Silene Longicalycina*. *Химия прир. соед.*, № 3, 289 (2005).
17. P. Wu, H. Xie, W. Tao, Sh. Miao, X. Wei. Phytoecdysteroids from the rhizomes of *Braunia insignis*. *Phytochemistry*, 71, 975-81 (2010).
18. Л.Н.Гвазава, В.С. Киколадзе. Фитоэкдистероиды из листьев *Digitalis ciliata* и *D. purpurea*. *Химия прир. соед.*, № 1, 124-5 (2010).
19. Z. Pongracz, M. Bathori, G. Toth, A. Simon, M. Mak, I. Mathe. 9 α ,20-Hydroxyecdysone, a new natural ecdysteroid from *Silene italicassp. Nemoralis*. *J. Nat. Prod.*, 66 (3), 450-1 (2003).
20. A. Simon, A. Vanyolos, Z. Beni, M. Dekany, G. Toth, M. Bathori. Ecdysteroids from *Polypodium vulgara* L. *Steroids*, 76, 1419-1424 (2011).
21. Q.-H. Wang, L. Yang, H. Jiang et al. Three new phytoecdysteroids, containing a furan ring from the roots *Achyranthes bidentata*. *Molecules*, 16, 5989-5997 (2011).
22. Н.А. Веськина, В.Н. Одиноков. Трансформации экдистероидов в синтезе малораспространенных фитоэкдистероидов и структурных аналогов экдистероидов. *ЖОрХ*, 48, 1141-1165 (2012).
23. A. Suksamrarn, P. Pattanaproteep. Selective acetylation of 20-hydroxyecdysone. Partial synthesis of some minor ecdysteroids and analogues. *Tetr.*, 51, 10633-50 (1995).
24. Н.К. Политова, В.В. Пунегов, В.В. Володин, А.В. Игнатов. Синтез 22-ацетата 20-гидроксиэкдизона. *Химия прир. соед.*, № 1, 74-8 (1997).
25. И.В. Галяутдинов, С.Р. Назмеева, Р.Г. Савченко, Н.А. Веськина, Д.В. Недопекин, А.А. Фатыхов, Л.М. Халилов, В.Н. Одиноков. Новые производные 20-гидроксиэкдизона. Синтез витикостерона Е. *ЖОрХ*, 40, 709-17 (2004).
26. Н.З. Мамадалиева, Н.Ш. Рамазанов, Ж.-Р. Жиро, Р. Лафон, З. Саатов. Получение 20-гидрокси-экдизона-22-бензоата. *Химия прир. соед.*, № 5, 401-3 (2004).
27. Б.З.Усманов, М.Б. Горовиц, Н.К. Абубакиров. Фитоэкдизоны *Ajuga turkestanica*. III. Строение туркестерона. *Химия прир. соед.*, № 4, 466-70 (1975).
28. L. Dinan, P. Bourne, P. Whiting, A. Tsitskli, Z. Saatov, T.S. Dhadialla, R.E. Hormann, R. Lafont, J. Coll. Synthesis and biological activities of turkesterone 11 α -acyl derivatives. *J. Insect Sci.*, 3, 6, (2002).

29. R. G .Savchenko, S. A.Kostyleva, V.V .Kachala, L.M. Khalilov, V. N. Odinokov. Hydroxylationandepimerization ofecdysteroids in alkaline media: stereoselective synthesis of 9 α -hydroxy-5 α -ecdysteroids. *Steroids*, (2014).
30. J. Harmatha, L. Dinan, R. Lafont. Biological activities of a special ecdysteroid dimer and selected monomeric structural analogues in the B_{II} bioassay. *Insect Biochem. Mol.*, 32, 181-2, (2002).
31. A. Suksamrarn, T. Tanachatchairatana, Ch. Sirigarn. Stereoselective catalytic hydrogenation of Δ^7 -6-ketosteroids in the presence of sodium nitrite. *Tetr.*, 58, 6033-37 (2002).
32. В.Н. Одиноков, С.Р. Афонькина, Р.В. Шафиков, Р.Г. Савченко, И.В. Галяутдинов, Л.М. Халилов, А.С. Шашков. 7,8-Дигидроаналогиэкдистероидов. *ЖОрХ*, 43, 830-7 (2007).
33. R.G. Savchenko, Y.R. Urasaeva, I.V. Galyautdinov, S.R. Afonkina, L.M. Khalilov, F.M. Dolgushin, V.N. Odinokov. Synthesis of 7,8 α -dihydro-14 α -deoxyecdysteroids. *Steroids*, 76, 603-6 (2011).
34. J. Harmatha, M/ Budesinsky, K. Vokac. Photochemical transformation of 20-hydroxyecdysone: production of monomeric and dimeric ecdysteroid analogues. *Steroids*, 67, 127-35 (2002).
35. W. M. Zhu, H.J. Zhu, W.S. Tian, X.J. Hao, C.u. Pittman Jr. The selective dehydroxylation of 20-hydroxyecdysone by Zn powder and anhydrous acetic acid. *Synthetic Commun.*, 32, 1385-91 (2002).
36. A. Suksamrarn, B. Yinguognarongkul. Synthesis and biological activity of 2-deoxy-20-hydroxyecdysone and derivatives. *Tetr.*, 52, 12623-30 (1996).
37. A. Suksamrarn, S. Sharoensuk B. Yinguognarongkul. Synthesis and biological activity of 3-deoxyecdysteroid analogues. *Tetr.*, 52, 12673-84 (1996).
38. A. Suksamrarn. Synthesis and moulting activity of 3-epi-2-deoxy-20-hydroxyecdysone and analogues. *Tetr.*, 53, 3145-54 (1997).
39. R.G. Savchenko, Y.R. Urmanova, R.V. Shafikov, S.R. Afonkina, L.M. Khalilov, V.N. Odinokov. Regio- and stereodirected transformation of 20-hydroxyecdysone to 2-dehydro-3-epi-20-hydroxyecdysone under ozonization in pyridine. *Mendeleev Commun.*, 18, 191-2 (2008).
40. Ch. Changtam, O. Sukcharoen, B. Yinguognarongkul, N. Chimnoi, A. Suksamrarn. Functional group-mediated biotransformation by *Curvularia lunata* NRRL 2178: Synthesis of 3-dehydro-2-deoxyecdysteroids from the 3-hydroxy-2-mesyloxy analogues. *Tetr.*, 64, 2626-33 (2008).
41. S. Homvisasevongsa, A. Chuaynugul, N. Chimnoi, A. Suksamrarn. Stereoselective synthesis and moulting activity of 2,3-diepi-20-hydroxyecdysone and 2,3-diepi-5 α -20-hydroxyecdysone. *Tetr.*, 60, 3433-38 (2004).
42. И.Д. Бабаев. Синтез 6-хлорникотината 20-гидроксиэкдизона. *Химия прир. соед.*, 45, 385-88 (2009).
43. V.N. Odinokov, I.V. Galyautdinov, A.Sh. Ibragimova, N.A. Veskina, L.M. Khalilov, F.M. Dolgushin, Z.A. Starikova. Unexpectes formation of an oxetane cycle by oxidation of 20-hydroxyecdysone with oxygen in an alkaline medium. *Mendeleev Commun.*, 18, 291-4 (2008).
44. S. Kumpun, B. Yinguognarongkul, R. Lafont, J.-P.Girault, A. Suksamrarn. Stereoselective synthesis and moulting activity of integristerone A and analogs. *Tetr.*, 63, 1093-9 (2007).
45. У. Балтаев, М.Б. Горовиц, У.В. Рашкес, Н.К. Абубакиров. *Химия прир. соед.*, 13 (4), 813-19 (1977).
46. K.-D. Spindler, A. Hamann, M. Spindler-Barth, A. Inne, Ch. Beckers, H. Emmerich. Derivatives of the insrct moulting hormone for affinity chromatography, and their biological activities. *Steroids*, 27, 553-65 (1976).
47. Q.R. Peterson, R.C. Cambie, G.B. Russel. Jones oxidation of 20-hydroxyecdysone. *Austr. J. Chem.*, 46, 1961-4 (1993).
48. S. Kumpun, J.-P. Girault, L. Dinan, C.B. Blais, A. Maria,C.Dauphin-Villemant, A. Suksamrarn, B. Yinguognarongkul, R. Lafont. The metabolism of 20-hydroxyecdysone in mice: relevance to pharmacological effects and gene switch application of ecdysteroids. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 126, 1-9 (2011).
49. R.G. Savchenko, R.V. Shafikov, S.R. Afonkina, V.N. Odinokov. Transformation 20-hydroxyecdysone to inokosterone. *Mendeleev Commun.*, 16, 90-2 (2006).
50. P.G. Russel, V. Sik, N.J. Turner, L.N. Dinan. Synthesis and biological activity of side-chain analjgues of ecdysone and 20-hydroxyecdysone. *J.Chem.Soc.P.T.I*, 2237-46 (1997).
51. D. Zhang, M. Zhang, B. Ding, X.-L. Wang, Z.-Y. Qiu, Y. Qin. Synthesis of a novel phosphate analog of 20-hydroxyecdysone with potent hypoglycemic activity. *J.Asian Nat. Prod.Res.*, 13, 297-303 (2011).
52. В.В. Володин, Ю.С. Сидорова, В.К. Мазо. 20-гидроксиэкдизон - растительный адаптоген: анаболическое действие, возможное использование в спортивном питании. *Вопросы питания*. Т. 82(6), С.24-30 (2013).
53. M.A. Mansury, N, Manocha, V. Deshmukh. A review of the metabolism enhancing phytoecdysteroids with optimization of its extraction and purification process. *Journal Global Pharma Technology*, 2(12), 1-7 (2010).

54. K. Slama, R. Lafont. Insect hormones: ecdysteroids: their presence and actions in vertebrates. *Eur. J. Entomol.*, 92, 355-77 (1995).
55. J. Gorelick-Feldman, N. Ilic, A. Poulev, I. Raskin, D. MacLean, M. Lila, D. Cheng. Phytoecdysteroids increase protein synthesis in skeletal muscle cell. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 3532-37 (2008).
56. М. Чермных, Н.Л. Шимановский, Г.В. Шутко, В.Н. Сыров. Эффекты метиландростенолона и эcdистерона на физическую выносливость животных и белковый метаболизм в скелетных мышцах. *Фармакол. Токсикол.* 6, 57-62 (1988).
57. В.Н. Сыров, А.Г. Куркумов. Об анаболических свойствах туркестерона и тетраацетата туркестерона в опытах на самках крыс. *Проблемы эндокринол.*, № 3, 107-12 (1976),
58. В.Н. Сыров, З. Саатов, Ш.Ш. Сагдуллаев, А.У. Маматханов. Зависимость строение - анаболическое действие фитоэcdистероидов, выделенных из растений Центрально-азиатского региона. *Хим.-фарм. ж.*, 35(12), 23-7 (2001).
59. З. Саатов, Д.А. Агзамходжаева, В.Н. Сыров. Распространенность фитоэcdистероидов в растениях Узбекистана и возможность использования созданных на их основе препаратов в нефрологической практике. *Химия прир. соед.*, (2), 209-15 (1999).
60. D. Seidlova-Wuttke, D. Christel, P. Kapur, B.T. Nguyen, H. Jarry, W. Wuttke. β -Ecdysone has bone protective but no estrogenic effects in ovariectomized rats. *Phytomedicine*, 17, 884-9 (2010).
61. В.Н. Миронова, Т. Холодова, Т.Ф. Скачкова, И. Бондарь. *Вопр. мед.химии*, 28, 101 (1982).
62. А.Г. Куркумов, О.А. Ермишина. *Фармакол. Токсикол.*, 54, 27 (1991).
63. Н.З. Мамедалиева, Д. Эгамбердиева, R. Lafont, J.P. Girault. Фитоэcdистероиды и антибактериальная активность растения *Coronaria Flo-Cuculi*. *Химия прир. соед.*, № 3, 323-4 (2008).
64. E.S. Kim, S. Jeong, J.-H.Kim, Ch. Park, Sh.-M.Kim, J.-K.Kim, K.-M.Lee, S.-H.Lee, H.So, R. Park. Synergistic effects of the combination of 20-hydroxyecdysone with ampicillin and gentamicin against methicillin-resistant *Staphilococcus aureus*. *J.Microbiol. Biotechnol.*, 19, 1576-81 (2009).
65. W.Liu, M.-J.Cai, J.-X. Wang, X.-F.Zhao. In a nongenomic action, steroid hormone 20-hydroxyecdysone induces phosphorylation of cyclin-dependant kinase 10 to promote gene transcription. *Endocrinology*, 155, 1738-1750 (2014).
66. N. Mamadalieva, D. Egamberdieva, R. Lafont, V.N. Syrov, J.-P.Girault. Polar ecdysteroids and biological activity of the total ecdysteroids from the plant *Silene viridiflora*. Poster presentation at the 17th Ecdysone-Workshop, Ylm, Germany, 2008, 20-24 July.
67. Н. Рамазанов, З. Саатов, В.Н. Сыров. Изучение метаболитов эcdистерона, выделенных из мочи. *Химия прир. соед.*, № 4, 556-64 (1996).

ФИТОЭКДИСТЕРОИДТАР: БӨЛІП АЛУ, СИНТЕЗДЕУ ЖӘНЕ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРИ

I. С. Левина*, И. В. Заварзин

e-mail: li@ioc.ac.ru

Ресей Ғылым Академиясы Н. Д. Зелинский атындағы органикалық химия Институты Федералды мемлекеттік бюджеттік ғылым мекемесі, Мәскеу қ., Ресей Федерациясы

Шолуда фитоэcdистероидтардың құрылымы, оларды өсімдіктерден іздең табу, бірқатар маңызды эcdистероидтардың синтезінің схемалары және олардың биологиялық функциялары қарастырылған.

Кілт сөздер: эcdистерон, эcdизон, туркестерон, дәрілік өсімдіктер, синтездеу әдістері, стероид құрылымының белсенділікпен байланысы.

PHYTOECDYSTEROIDS: ISOLATION, SYNTHESIS AND BIOLOGICAL PROPERTIES

I.S. Levina*, I.V. Zavarzin

e-mail: li@ioc.ac.ru

N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

This review covers the structures of phytoecdysteroids, their presence in plants, schemes of synthesis of a number of important ecdysteroids and their biological functions.

Keywords: ecdysterone, ecdyson, turkesterone, medicinal plants, synthesis methods, structure activity relationship of steroids.

ФИТОНОЛ

Биологическая активная добавка восстановительного,

общеукрепляющего и адаптогенного действия

(Первый продукт для спорта на основе брассиностероидов)

Состав

одной капсулы: эпивессинолид 25 мкг, глюкоза (декстроза), желатин.

Фармакологические свойства

- повышение общей физической работоспособности, скоростно-силовых качеств и выносливости;
- анаболическое действие при отсутствии андрогенного эффекта;
- повышение синтеза белка и снижение распада белка в клетках, сравнимое с действием IGF-1 и инсулина;
- восстановительное и адаптогенное действие;
- высокая антиоксидантная активность;
- антивирусное действие, повышение устойчивости организма - спортсмена на «пике формы»;
- влияние на липидный обмен с выраженным холестерин снижающим действием.



Показания к применению

Применяется в качестве восстановительного, общеукрепляющего и адаптогенного средства при занятиях спортом

Способ применения и дозы

Рекомендуется применять до 3 капсул в день в условиях интенсивных тренировочных и соревновательных нагрузок курсами до 30 дней с последующим перерывом не менее 30 дней.

Рекомендация по применению «ФИТОНОЛА»

Наряду с общей инструкцией по применению «Фитонола» на основании данных испытаний можно дать следующие рекомендации:

- «Фитонол» может эффективно применяться в разных видах спорта (циклических, игровых, единоборствах) с целью улучшения адаптации к нагрузке, повышения работоспособности и спортивного результата.
- «Фитонол» может применяться на всех этапах тренировочного процесса, включая предсоревновательный и соревновательный периоды. В зависимости от самочувствия курсовой прием «Фитонола» может быть закончен за 2-3 дня до основного старта. В игровых видах спорта в дни игр применять «Фитонол» рекомендуется после них с целью повышения скорости восстановительных процессов в организме.
- Суточная доза «Фитонола» применяется разово или в несколько приемов в любое, но желательно в одно и то же время суток вне зависимости от приема пищи или других специализированных продуктов. 3 капсулы БАД «Фитонол» содержат 75 мкг эпивессинолида и рассчитаны для применения спортсменами весом 60-80 кг. У спортсменов с большей массой тела повышение суточной дозы возможно после консультации со спортивным врачом.
- Целесообразным является применение «Фитонола» в качестве общеукрепляющего средства на «пике спортивной формы» с целью повышения неспецифической резистентности организма и профилактики заболеваемости.
- В ходе испытаний на добровольцах отмечено также влияние «Фитонола» на липидный обмен со снижением и нормализацией уровня общего холестерина и триглицеридов.

Форма выпуска

100 капсул по 400 мг

Производитель:

Производитель действующего вещества - Институт биоорганической химии НАН Беларусь.

Производителем БАД «Фитонол» является СООО «Миконик Технолоджис» (Mikonik Technologies Ltd.).

УДК 577.175.1

**ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ И АДАПТОГЕНЫ.
НОВАЯ ЭКДИСТЕРОИДСОДЕРЖАЩАЯ СУБСТАНЦИЯ СЕРПИСТЕН**

B.B. Володин, С.О. Володина

e-mail: volodin@presidium.komisc.ru

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар, Россия

В статье обобщены сведения об адаптогенных препаратах для современной восстановительной медицины. Описаны растительные источники фитоэкдистероидов – новых растительных адаптогенов. Представлены экспериментальные данные фармакологических исследований новой экдистероидсодержащей субстанции Серпистен для получения БАД «Серпистен» и трех капсулированных форм БАД на его основе: «Кардистен» - противоишемического, «Диастен» - противодиабетического и «Адастен» - адаптогенного и иммуностимулирующего действия.

1.1 Сложившиеся тенденции и современный уровень решения проблемы в отечественной науке и за рубежом

В настоящее время важным направлением современной восстановительной медицины является разработка новых фармакологических средств, биологически активных добавок к пище и специализированных продуктов питания, содержащих миорные компоненты лекарственных и пищевых растений, для коррекции адаптивных реакций организма в условиях стресса, при действии неблагоприятных техногенных и природных факторов, высокой физической и эмоциональной нагрузки [1]. Традиционная медицина многих народов мира также свидетельствует об использовании средств растительного происхождения для защиты человека от неблагоприятных природных факторов, что было важно для выживания этносов [2]. Несмотря на английское звучание, термин «адаптоген» не слишком знаком ученым и медикам за пределами России и СНГ. Этот термин был предложен советским ученым Н.В. Лазаревым и в дальнейшем развит И.И. Брехманом применительно к некоторым растениям Российского Дальнего Востока и Сибири и содержащимся в них веществам, которые увеличивают физическую работоспособность и устойчивость организма по отношению к неблагоприятным факторам среды. В научной медицине наиболее известны растения-адаптогены группы женьшеня (женьшень – *Panaxginseng* C.A. Mey., аралия высокая – *Araliaelata* (Miq.) Seem., элеутерококк колючий – *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim., заманиха высокая – *Oplopanaxe latus* Nakai, лимонник китайский – *Shisan drachenensis* (Turcz.) Baill., а также родиола розовая – *Rodiola rosea* L. и левзея сафлоровидная (рапонтикум сафлоровидный) – *Leuseacar thamoides* (Willd.) DC. (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin). Благодаря современным исследованиям установлено, что механизм действия адаптогенов связан с их способностью регулировать реакцию стрессового ответа [3, 4]. Становится очевидным, что по своей природе и механизму действия адаптогены нельзя строго отнести ни к фармакологическим средствам, ни к обычной пище. Таким образом, они оказываются весьма многообещающими агентами не только для создания новых лекарственных препаратов адаптогенного, стресс- и геропротекторного действия, но и для получения биологически активных добавок к пище и функциональных продуктов питания для здоровых людей, работающих в различных экстремальных условиях, для спортсменов, а также для пожилых людей.

Вещества-адаптогены разделяют на три группы: фенольные соединения, тетрациклические тритерпеноиды (тритерпеновые гликозиды) и оксилипины [3]. Первые две группы соединений структурно подобны эндогенным стрессовым медиаторам симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем. Фенольные соединения, такие как фенилпропаноиды, фенилэтановые производные и лигнаны, структурно подобны катехоламинам, которые являются важными медиаторами симпато-адреналовой системы и активируют систему стресса на ранних стадиях стрессового ответа. Тритерпеновые

гликозиды, например, кукурубитацин R (диглюкозид из корней переступня белого (*Bryonia alba* L.) и выделенный из корневищ женьшена (*Panaxginseng*) гинзенозид Rb структурно подобны кортизолу – гормону стресса, защищающему организм от перенапряжения в ответ на действие стрессовых факторов или агентов. Оксилипины, будучи окисленными жирными кислотами, проявляют действие, свойственное простагландинам. Например, таким действием обладают ненасыщенные полигидроксилированные высшие жирные кислоты переступня белого. Благодаря успехам в изучении химического состава растений-адаптогенов экстракты корневищ родиолы розовой, содержащей салидрозид и гликозиды коричного спирта, корневищ элеутерококка колючего и плодов лимонника китайского, содержащих производные лигнанов (соответственно элеутерозиды и схизандрины), отнесены к первой группе адаптогенов. В то же время экстракты женьшена и витании снотворной (*Withania somnifera* (L.) Dunal) являются представителями второй группы. Из сказанного становится понятной определенная специфика фармакологического действия препаратов на основе различных растений-адаптогенов, поскольку содержащиеся в них вещества из-за структурной близости к эндогенным медиаторам той или иной природы оказывают воздействие на различные звенья реакции стрессового ответа.

Способность адаптогенов регулировать уровень катехоламинов и кортизола и, что, пожалуй, еще более важно, оптимизировать соотношение инсулин/контринсулярные гормоны, позволяет использовать адаптогены для коррекции как углеводного, так и липидного обмена, а также в качестве неспецифических стресс- и геропротекторных средств. В основе этого направления лежит теория интегральной медицины В.М. Дильмана, связывающая гомеостатические нарушения при естественном старении с возрастным изменением функций адаптационных систем (изменение порога чувствительности гипоталамуса, гиперкортицизм и т.п.) и метаболической иммунодепрессией [5]. Поскольку основными показателями, характеризующими развитие болезней старения, а также стрессорные реакции, являются изменения углеводного и липидного обмена, то не случайно, что при изучении антистрессовых свойств адаптогенов сразу же была обнаружена и их противодиабетическая и гиполипидемическая активность. Например, сахароснижающее действие женьшена давно известно в народной медицине Востока, а затем оно было экспериментально доказано при гликемиях различной этиологии [6]. Было также показано на модели аллоксанового диабета, что использование экстракта элеутерококка приводит к значительному снижению уровня глюкозы в крови и моче и увеличению выживаемости животных. Особенно эффективным оказалось профилактическое введение данного экстракта [7–10]. Положительные результаты были получены и при использовании экстрактов левзеи сафлоровидной и родиолы розовой при лечении больных сахарным диабетом в условиях клиники [11]. Нормализация уровня глюкозы и липидов в крови [12] была отмечена и при сравнительном изучении антистрессорного действия экстрактов растений-адаптогенов, в том числе элеутерококка, бадана тихоокеанского (*Bergenia pacifica*), родиолы розовой и шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*), на модели иммобилизационного стресса, а также на беспородных белых мышах с опухолью Эрлиха.

1.2 Фитоэкдистероиды – новые растительные адаптогены. В конце 70-х годов XX в. в Советском Союзе было установлено, что в сибирском адаптогенном растении рапонтикуме сафлоровидном (*Raponticum carthamoides*) содержится 20-гидроксиксэкдизон (20E), который по своей структуре оказался идентичным истинному гормону линьки насекомых и ракообразных. К настоящему времени получено достаточное количество экспериментальных данных, отвечает ли 20E всем критериям адаптогенов, и к адаптогенам какой группы его можно отнести? Особенность фармакологического изучения фитоэкдистероидов была связана с самой историей их открытия, в частности, с их структурной близостью гормонам линьки насекомых [13]. Впервые фитоэкдистероиды были обнаружены японским исследователем К. Наканиси в растении *Podocarpus nakai* во время его этно-ботанической экспедиции на Тайвань в 1966 г. Местные жители использовали листья этого дерева в качестве противоопухолевого средства, называя его «Пай-ю-чин». Хотя экстракт листьев дал

отрицательный ответ в teste на цитотоксичность, К. Наканиси выделил из этого экстракта новое соединение, названное понастероном А, обладающее активностью гормона линьки насекомых и отличающееся от экдизона только положением одной гидроксильной группы в боковой цепи. Из другого австралийского вида *Podocarpus elatus* был выделен 20E, который оказался полностью идентичен гормону линьки, чуть позже выделенному из ракообразных. Вскоре 20E был выделен и из корневищ папоротника *Polypodium vulgare* в Чехословакии. В конце 60-х – начале 70-х годов был проведен детальный скрининг флоры Японии на содержание экдистероидов. Согласно данным, полученным в следующее десятилетие XX в., считалось, что эдистероиды присущи только папоротникам и голосеменным растениям. Например, из 64 исследованных видов папоротников, произрастающих в Новой Зеландии, экдистероиды были обнаружены в 24 видах. В настоящее время уже доказано, что экдистероиды также широко распространены и среди покрытосеменных растений. Наибольшее число экдистероидсодержащих видов было найдено в сем. Amaranthaceae (23 вида из 9 родов), Asteraceae (23 вида в основном в родах *Rhaponticum* и *Serratula*), Caryophyllaceae (125 видов из родов *Silene* и *Lychnis*), Chenopodiaceae (13 видов из 8 родов), Lamiaceae (14 видов, из которых 13 из рода *Ajuga*), Ranunculaceae (30 видов, 11 из которых принадлежат роду *Helleborus*). В целом, экдистероиды обнаружены в растениях из более чем 100 семейств папоротникообразных, голосеменных и покрытосеменных растений. Не смотря на то, уже найдено большое число экдистероидсодержащих видов, следует продолжить скрининг мировой флоры на содержание экдистероидов.

После обнаружения гормонов линьки в растениях исследователей прежде всего интересовал вопрос, обладают ли эти соединения физиологической активностью на организмы, не способные к их эндогенному продуцированию. Так что на начальной стадии при изучении физиологической активности экдистероидов ставились чисто научные цели: сравнительное изучение действия экдистероидов на различные типы животных с позиций филогенеза. Поскольку для членистоногих экдистероиды являются гормонами, стимулирующими синтез определенных белков, представляло интерес выяснить, будут ли они стимулировать синтез белка при введении экдистероидов млекопитающим. Еще в 60-х годах японские исследователи показали, что экдистероиды действительно обладают этим свойством. Анаболическая активность понастерона А оказалась практически такой же, как и у известного анаболического соединения 4-хлор-тестостерона. За исключением экдизона, многие из структурно модифицированных экдистероидов проявили анаболическое действие. Другим значительным фактом, предопределившим использование экдистероидов в медицине, оказалось отсутствие у них гормонального (андrogenного, эстрогенного/антиэстрогенного) эффекта у млекопитающих. В 80-х годах в Институте химии растительных веществ АН УзССР (г. Ташкент) были проведены основательные фармакологические исследования фитоэкдистероидов, завершившиеся созданием тонизирующего лекарственного препарата Экдистен из корневищ рапонтикума сафлоровидного [14, 15]. Экдистен, содержащий индивидуальный 20E, был рекомендован как стимулирующее средство при астенических и астено-депрессивных состояниях, сопровождающихся ослаблением синтеза белка после длительных инфекционных заболеваний, при интоксикации, неврастении, неврозах и гиптонии. Экдистен был также рекомендован для спортсменов во время интенсивных тренировок при дисфункции сердечно-сосудистой системы, при выраженных признаках перенапряжения миокарда и усиления катаболизма белков в предсоревновательный период [16]. Препарат оказался настолько эффективным и безопасным при использовании высококвалифицированными спортсменами, что в настоящее время, основываясь на «российском опыте», на международном рынке появилось около ста различных экдистероидсодержащих пищевых добавок на основе экстрактов рапонтикума сафлоровидного и других экдистероидсодержащих растений, таких как *Pfaffia iresinoides* («сума» или «бразильский женщень»), *Cyanotisvaga* и *Cyathula capitata* из китайской флоры и др. [17].

Следует отметить, что растения, в которых обнаружены эндистероиды, имеют свою историю использования в традиционных медицинах многих народов мира в качестве средств, поддерживающих жизненную силу. Среди этих растений можно назвать *Achyranthes fauriei* и *Cyatula capitata* («го-шитсу») в древнем Китае, *Cyatula prostrata*, *Sida indica* и *Vitex trifolia* – народностью мынг во Вьетнаме, *Ajuga iva* («ченджоура») в Северной Африке, *Praffia iresinoides* («сума») в Латинской Америке, *Rhaponticum carthamoides* («маралий корень») и *Serratula coronata* («серпия») в Сибири, *Silene tatarica* и *Oberna behen* («шлачкан турун») у коми на европейском северо-востоке России. Эндистероиды попадают человеку в пищу с таким известным растением как шпинат. Высокое содержание эндистероидов было обнаружено в давно забытом пищевом растении мари доброго Генриха (*Chenopodium bonus-henricus*), которое широко использовалось в пищу во многих европейских странах в средние века. Близко родственное ему растение квиноа (или рисовая лебеда – *Chenopodium quinoa*) культивируется в горах Южной Америки с древних времен и до наших дней. В Китае нежные листья папоротника *Callipteris sculenta* используют в пищу как салат [13, 17, 18].

К настоящему времени обнаружен широкий спектр фармакологических эффектов фитоэндистероидов. Установлено, что 20E стимулирует рост мышц и увеличивает физическую работоспособность. 20E также увеличивает содержание АТФ в мышцах крыс с дефицитом витамина D. Экспериментально доказано ранозаживляющее действие эндистероидов. 20E стимулирует дифференциацию кератиноцитов в условиях *iv vitro*. Изложенные выше данные положены в основу патентов по использованию эндистероидов в косметике. Показаны противодиабетические свойства эндистероидсодержащих препаратов, при этом установлено, что эндистероиды усиливают чувствительность тканей к инсулину. Одним из важнейших установленных фактов является влияние фитоэндистероидов на липидный обмен. Например, эндистероиды ингибируют синтез холестерина *de novo* и усиливают его катаболизм. Недавно было показано, что эндистероиды обладают нейропротекторным действием и что они могут быть использованы в лечении психических и поведенческих расстройств. Они могут предотвращать амнезию, вызванную диазепамом или алкоголем. Показаны различные иммуно-модулирующие эффекты фитоэндистероидов [17].

Следует заметить, что широкий спектр физиологической активности связан природой этих соединений: будучи гормонами у членистоногих, они теряют свойства гормонов у теплокровных животных, но, как это было показано нашими многолетними исследованиями, эндистероиды выполняют роль медиаторов реакции стрессового ответа и оказывают влияние на некоторые общие стороны пластического и энергетического обмена в клетках млекопитающих. Нами продолжаются исследования механизма адаптогенного действия фитоэндистероидов у теплокровных на молекулярном и клеточном уровне как медиаторов реакции стрессового ответа [19]. Актуальными направлениями исследований остается скрининг мировой флоры на содержание фитоэндистероидов, выявление перспективных видов-продуцентов этих соединений и изучение состояния ценопопуляций растений с высоким содержанием эндистероидов, определение продуктивности и биологического и эксплуатационного запаса, оценка целесообразности заготовки растений в природных популяциях или их интродукции в полевую культуру. Следует также оценить возможности использования современных биотехнологических подходов для массового получения исходного посадочного материала микроклональным размножением и биотехнологического получения эндистероидов в клеточных культурах [20]. Обнаружение видов с высоким содержанием эндистероидов и создание сырьевой базы откроет возможность разработки новых эндистероидсодержащих лекарственных препаратов адаптогенного действия, биологически активных добавок и специализированных продуктов питания.

1.3 Новая эндистероидсодержащая субстанция Серпистен

Исследования фитоэндистероидов в Институте биологии (ИБ) Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар, Республика Коми, Россия) начались в начале 90-х годов с растения эндемика Горного Алтая – рапонтикума сафлоровидного (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin): его ценность как лекарственного растения не нуждалась в дополнительном обосновании, а

возможность выращивания этого вида в условиях Республики Коми как кормовой культуры была показана еще в 60-х годах XX века. Учитывая актуальность разработки новых эндистероидсодержащих лекарственных препаратов и тонизирующих пищевых добавок, на протяжении последних двадцати лет лабораторией биохимии и биотехнологии растений (заведующий – доктор биологических наук, профессор В.В. Володин) был проведен широкий скрининг растений географически удаленных флор России и сопредельных территорий, основанный на принципах хемосистематики и молекулярной филогенетики, с учетом данных использования растений в народной медицине [13]. Необходимость поиска новых растительных источников фитоэндистероидов связана с тем, что содержание 20-гидроксиэндизона (20E) в корневищах фармакопейного вида рапонтикума сафлоровидного относительно невелико (не более 0.2%), а использование в качестве сырья подземных органов растений не является оптимальным с точки зрения истощения запасов этого вида в природных популяциях и необходимости возобновления плантаций каждые три года при его выращивании в культуре. С технологической точки зрения переработка корневищ более трудоемка, чем переработка надземной части растений (листьев). Перечисленные выше проблемы, на наш взгляд, являются причиной высокой себестоимости субстанции препарата Эндистен на основе подземных органов рапонтикума сафлоровидного и сдерживают его производство и использование в России в условиях рыночной экономики. Результаты многолетнего скрининга растений на содержание эндистероидов, проведенные в лаборатории биохимии и биотехнологии ИБ Коми НЦ УрО РАН, послужили основой для более глубоких биохимических, биотехнологических и фармакологических исследований растений рода *Serratula* L. (сем. Asteraceae), в частности серпухи венценосной *Serratula coronata* L. Ранее было установлено, что в надземной части растений, находящихся в фазе бутонизации и начала цветения, содержание 20E составляет около 2% в расчете на сухую массу, что на порядок выше, чем в корневищах рапонтикума сафлоровидного. Было также показано, что, кроме 20E, являющегося основой препарата Эндистен из корневищ рапонтикума, в серпухе венценосной содержится другой мажорный эндистероид – 25S-инокостерон (11% от суммы эндистероидов), отличающийся от 20E положением одной гидроксильной группы в боковой цепи. Несмотря на то, что существует принципиальная возможность разделения этих двух соединений хроматографическими методами, представлялось целесообразным стандартизировать в качестве субстанции (товарный знак Серпистен) смесь эндистероидов 20E и инокостерона в соотношении 8:1, характерном для нативных растений. Использование альтернативного растительного сырья надземной части серпухи венценосной вместо подземных органов рапонтикума сафлоровидного, новая технология выделения фитоэндистероидов и наличие в листьях серпухи венценосной дополнительного компонента инокостерона потребовали дополнительных фармакологических исследований.

Согласно данным литературы [21], эндистероиды обладают очень низкой токсичностью: при внутрибрюшинном и пероральном введении 20E в опытах на мышах LD₅₀ составляла 6.4 и 9.0 г/кг соответственно, а при введении инокостерона – соответственно 7.8 и 9.0 г/кг. Совместно с ООО «Биоконсалтинг» нами изучена токсичность лиофилизата серпухи венценосной при месячной субхронической пероральной затравке крыс с проведением лабораторных, функциональных, биохимических методов исследований и патоморфологических исследований внутренних органов. Максимально введенная доза составила 6 г/кг. Была показана низкая токсичность экстракта, отсутствие воспалительных и аллергических реакций на вводимое вещество, улучшение метаболических процессов у исследуемых животных. На основе проведенных исследований был сделан вывод, что лиофилизат водного экстракта серпухи венценосной по параметрам острой токсичности согласно ГОСТ 7.32-2001 является малотоксичным веществом и может быть отнесен к четвёртому классу опасности [22].

Оценка острой и хронической токсичности субстанции Серпистен проведена в отделе радиоэкологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Оценка мутагенного действия

проведена совместно с Институтом генетики и цитологии СО РАН (г. Новосибирск). Оценку генотоксического действия Серпистена производили путем подсчета хромосомных аберраций в клетках костного мозга мышей, получивших внутрижелудочно однократную дозу, превышающую терапевтическую дозу в 100 раз (1000 мг/кг), в качестве препарата сравнения использовали цитостатик – циклофосфан в дозе 50 мг/кг. Установлено, что препарат в дозе 1000 мг/кг не вызывает увеличения частоты образования хромосомных аберраций в клетках костного мозга линейных мышей, что свидетельствует об отсутствии генотоксических свойств Серпистена. Эти результаты хорошо согласуются с данными литературы о генопротекторном эффекте препаратов на основе фитоэcdистероидов при отравлении лабораторных животных тетрахлорметаном и хлорофосом. Таким образом, по полученным данным в изученном диапазоне доз, которые на порядки превышают рекомендуемые терапевтические дозы, Серпистен на основе суммы эcdистероидов растений серпухи венценосной не обладает острой и хронической токсичностью и мутагенными свойствами [13].

Дальнейшее фармакологическое изучение Серпистена позволили сделать заключение о соответствии фитоэcdистероидов критериям адаптогенов как веществ, повышающих сопротивляемость организма к высокой физической и умственной нагрузке, к действию неблагоприятных факторов внешней среды (вредных природных и техногенных факторов). На этот счет было получено большое число экспериментальных данных.

Считается, что адаптогены не только не токсичны, но и не изменяют биохимических показателей организма в норме. Совместно с Научно-исследовательским институтом питания РАМН (г. Москва) (д.б.н. В.К. Мазо, к.б.н. Сидорова Ю.С.) был проведен эксперимент *in vivo* на растущих крысах самцах Вистар, которым ежедневно через зонд вводили водные растворы сухого экстракта из листьев *Serratula coronata*, содержащие соответственно 2, 20 и 50 мг фитоэcdистероидов на кг массы тела животного. Было установлено, что на 15-е сутки содержание кортикостерона в плазме крови снизилось с возрастанием дозы вводимого животным экстракта, достигая достоверных различий по отношению к контрольной группе. Хотя концентрации в крови бета-эндорфина и простогландин Е₂ в опытных группах по сравнению с контрольной достоверно не различались, наблюдается монотонное снижение соотношения кортикостерон/бета-эндорфин и кортикостерон/простогландин Е₂ с возрастанием потребляемой дозы экстракта, что свидетельствуют о дозозависимом стресс-протекторном действии экстракта *Serratula coronata* [23].

Для получения экспериментальных доказательств соответствия фитоэcdистероидов критериям адаптогенов особое внимание было удалено дальнейшему изучению стресс-протекторного действия субстанции Серпистен.

Совместно с кафедрой физиологии человека и животных Сыктывкарского государственного университета (доцент Н.Б. Петрова) показано уменьшение вклада в общий адаптационный синдром катоксических механизмов, в частности, чрезмерной активации ведущей системы стресс-реакции – симпато-адреналовой системы при действии Серпистена в тесте на адренореактивность эритроцитов крыс в стрессовых условиях (введение физиологического раствора) [24].

Одним из важных признаков формирования в организме состояния неспецифической повышенной сопротивляемости является повышение мышечной и психической работоспособности при использовании различных функциональных нагрузок. В работах лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН, выполненных с.н.с. Л.Д. Пчеленко, адаптогенное действие субстанции Серпистен оценивали по трем критериям: актопротекторному, ЦНС-тонизирующему и анаболическому действию. Выносливость лабораторных мышей к динамической нагрузке у животных оценивали по времени плавания в стандартном teste (плавание до отказа). Статическую нагрузку измеряли по величине максимального веса, которое животное может поднять, и по времени удерживания на шесте. Исследования показали высокий уровень актопротекторного действия изучаемой субстанции, причем эффект зависел от дозы и возраста животных.

Показана индивидуальная чувствительность животных к препарату. Так, под действием Серпистена индивидуальный индекс прироста при плавании у нелинейных мышей колебался от 14 до 290 %, у линейных – в отдельных случаях до 400 % к уровню контроля. Анаболический эффект наблюдали только в группе неполовозрелых животных. У взрослых животных при отсутствии выраженного анаболического эффекта отмечали высокий и устойчивый актопротекторный эффект, причем развитие и сохранение этого эффекта не сопровождалось нарушением системы терморегуляции и не давало пирогенного осложнения. Важно отметить минимизацию тепловыделения при выполнении тестовой стандартной нагрузки, что, по-видимому, отражает адаптивный приспособительный результат. Анализ полученных результатов показывает, что при минимальной суммарной дозе 10 мг/г энергетика и выносливость к экстремальным нагрузкам достоверно усиливаются, а конечная доза 50 мг/г может расцениваться как уровень достижения устойчивого адаптогенного эффекта. При этом актопротекторное действие Серпистена сохраняется и спустя семь дней после прекращения приема препарата – эффект после действия. Эти данные очень показательны в плане сравнения адаптогенов и препаратов стимулирующего действия (например, фенамина, при приеме которого, напротив, наблюдается фаза истощения после периода повышенной работоспособности). Серпистен обладает ЦНС-тонизирующими свойствами. Обнаружены ускорение ориентировочно-исследовательской реакции и стимуляция памяти у животных, получавших Серпистен, что выражалось в активации поиска, запоминания маршрута и ускорения нахождения выхода из двойного Т-образного лабиринта. Таким образом, повышение физической и психической работоспособности и минимизация тепловыделения свидетельствуют о системных управляющих эффектах Серпистена, которые реализуются через ЦНС и эндокринную систему [13].

Совместно с Институтом химии растительных веществ АН РУз (г. Ташкент) стресс-протекторное действие эндоцистериоидсодержащего препарата Серпистен изучалось на различных экспериментальных моделях. На модели иммобилизационного стресса у крыс Серпистен препятствовал гипертрофии надпочечников, а также уменьшению в них запасов аскорбиновой кислоты и холестерина, достоверно защищал тимус и селезенку от инволюции, препятствовал резкому уменьшению массы печени и оказывал выраженную тенденцию к нормализации в ней содержания гликогена и малонового диальдегида, значительно ослаблял трофические нарушения в слизистой желудка. В экспериментах по плаванию животных Серпистен препятствовал изменениям в массе надпочечников, проявляя при этом четкую тенденцию к нормализации в них содержания аскорбиновой кислоты и холестерина, сдерживал уменьшение массы вилочковой железы и массы селезенки. Серпистен уменьшает последствия стрессирующего воздействия на организм животных за счет его способности нормализовывать обмен веществ, носящий в условиях стресса катаболический характер. По своей возможности адаптирует организм к неблагоприятным воздействиям Серпистен выглядит предпочтительнее экстракта элеутерококка [25].

Совместно с НИИ питания РАМН (г. Москва) изучено влияние 30-дневного потребления фитоэндоцистериоидсодержащего экстракта *Serratula coronata* L. на некоторые показатели гормонального статуса и активность апоптоза в различных органах растущих крыс-самцов линии Вистар после стрессорного воздействия. Достоверных различий средних значений определяемых биохимических показателей для обеих групп животных не выявлено. Средние значения относительной массы тимуса животных контрольной и опытной групп по окончании эксперимента отличались статистически достоверно и составляли $0.163 \pm 0.012\%$ и $0.193 \pm 0.010\%$ соответственно. Ингибирование снижения массы тимуса у стрессированных крыс опытной группы, получавших экстракт, сочеталось с достоверным по сравнению с животными контрольной группы снижением в этом органе активности апоптоза, характеризуемой уровнем ДНК-повреждений ($7.61 \pm 0.14\%$ и $8.14 \pm 0.16\%$ соответственно). Определение активности апоптоза клеток тимуса методом ДНК-комет позволило выявить ингибиторное действие эндоцистериоидсодержащего экстракта на интенсивность протекания общего адаптационного синдрома [26].

Совместно с НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН (г. Москва) и НИИ питания РАМН (г. Москва) исследованы процессы обучения крыс пищедобывательному навыку, двигательная активность, потребление кислорода, содержание в сыворотке крови кортикостерона, β-эндорфина и простогландина Е при введении в их рацион экстракта фитоэcdистероидов. У животных, получавших экстракт фитоэcdистероидов, ускорялся процесс обучения, увеличивались потребление кислорода и двигательная активность. Показано, что двигательная активность и потребление кислорода у крыс контрольной группы в большей степени взаимосвязаны с общей поведенческой активностью, а у крыс, получавших экстракт фитоэcdистероидов, – с целенаправленной оперантной деятельностью. Достоверных различий содержания исследованных гормонов в сыворотке крови животных контрольной и опытной групп не обнаружено.

В лаборатории молекулярной радиобиологии и геронтологии ИБ Коми НЦ УрО РАН (зав. лаб. д.б.н. А.А. Москалев) проведено сравнительное влияние Серпистена и экстракта пажитника (*Trigonella foenum-graecum*), содержащего стероидные гликозиды диосцин и протодиосцин, на экспрессию генов стрессоустойчивости клетки, устойчивость к повреждающим факторам и продолжительность жизни на модели *Drosophila melanogaster*. Показано, что обработка дрозофил Серпистеном (в концентрациях 0.2 и 1 мкМ/л) и экстрактом пажитника (концентрация протодиосцина – 0.9172 и 4.5863 мкг/мл, диосцина – 0.5223 и 2.6119 мкг/мл) привела к увеличению уровня экспрессии гена детоксикации свободных радикалов Sod1 (в 1.2–2.5 раза) и снижению уровня экспрессии генов апоптоза Hid (в 1.4–8.7), эксцизионной репарации ДНК XPF и гомологичной рекомбинации Rad51 (в 1.4–7.5) у самцов и самок, соответственно. Активность гена PARP-1 у самцов и самок изменилась в разных направлениях – у самцов происходила активация данного гена, а у самок – снижение экспрессии в 1.5–14.5 раза. Активность генов Hsp70 и D-GADD45 существенно не изменилась. Таким образом, исследуемые фитопрепараты активируют механизмы антиоксидантной защиты, что может вести к уменьшению частоты возникновения повреждений ДНК и снижению уровня индукции систем репарации ДНК и клеточной гибели. Показано, что Серпистен (в концентрациях 0.2 и 1 мкМ/л) приводит к статистически значимому ($p<0.05$) увеличению возраста смертности 90 % популяции у самок и самцов на 4 и 6 %, соответственно. Однако геропротекторный эффект Серпистена наблюдается только в одной из двух повторностей эксперимента.

Экстракт пажитника в первой повторности эксперимента, в обеих исследованных концентрациях (концентрация протодиосцина – 0.9172 и 4.5863 мкг/мл, диосцина – 0.5223 и 2.6119 мкг/мл), вызывает увеличение средней и медианной продолжительности жизни (на 5–6 %), а также возраста смертности 90 % популяции (на 4–6 %) у самцов и самок, соответственно ($p<0.05$). Во второй повторности эксперимента у самок наблюдается увеличение средней (на 5–8 %) и медианной (на 7–12 %) ($p<0.001$) при обработке в высокой (протодиосцина – 4.5863 мкг/мл, диосцина – 2.6119 мкг/мл) и низкой (протодиосцина – 0.9172 мкг/мл, диосцина – 0.5223 мкг/мл) концентрациях, соответственно. Таким образом, настойка пажитника обладает большим геропротекторным потенциалом в сравнении с Серпистеном, при этом геропротекторный эффект пажитника более выражен при низких концентрациях у самок. Установлено, что Серпистен снижает устойчивость самцов и самок дрозофил к тепловому шоку ($p<0.01$), однако повышает устойчивость особей обоего пола к окислительному стрессу ($p<0.01$) и устойчивость самцов к голоданию ($p<0.01$). Экстракт пажитника повышает устойчивость самцов дрозофил к тепловому шоку ($p<0.01$), самок и самцов к голоданию ($p<0.01$), но снижает устойчивость самцов к окислительному стрессу ($p<0.01$) [27].

Исследование противоишемического и противодиабетического действия Серпистена проведено совместно с межрегиональным центром «Адаптоген» (г. Санкт-Петербург). Установлено, что по сравнению с известным гиполипидемическим препаратом Аторвастатин (Pfizer, Германия) Серпистен обладает более выраженным противоишемическим действием: на фоне экспериментальной дислипопротеидемии у крыс она улучшает коронарный кровоток в три раза, снижает частоту возникновения экспериментального инфаркта миокарда

в пять раз, способствует уменьшению площади очага некроза миокарда в 2.6 раза, улучшает коронарный кровоток в 1.5 раза в постинфарктный период по сравнению с контролем. Серпистен способствует повышению сократительной активности миокарда в постинфарктный период и нормализации внутрижелудочковой проводимости, обладает выраженным гиполипидемическим действием, значительно снижая содержание общих липидов и холестерина, β -ЛП и триглицеридов, при этом достоверно увеличивая содержание антиатерогенного α -холестерина (практически до уровня интактных животных) и фосфолипидов. Препарат уменьшал выраженнуюность процессов перекисного окисления липидов в миокарде [28].

Серпистен проявил противодиабетическую активность, увеличивая выживаемость лабораторных животных (крысы-самцы) с экспериментально вызванным аллоксановым диабетом и уменьшая полидиссию. При экспериментальном сахарном диабете данный препарат снижал уровень гипергликемии и концентрацию гликозилированного гемоглобина в крови экспериментальных животных, оказывая тем самым профилактическое действие в отношении развития основных осложнений сахарного диабета. На фоне лечения Серпистеном содержание общих липидов, холестерина и β -липопротеинов нормализовалось практически до уровня данных показателей интактных животных, а триглицеридов – достоверно снижалось [29].

Заслуживают интереса данные об адаптогенном действии Серпистена при действии на организм повреждающих факторов физической и химической природы (гамма-излучение и фенилгидразин как гемолитик). Противолучевое действие Серпистена показано д.б.н. А.Г. Кудяшевой и сотрудниками Отдела радиоэкологии Института биологии. Были изучены эффекты по раздельному и сочетанному действию Серпистена в дозе 15 мг/кг (7 сут.) и хронического действия γ -излучения в дозе 7.5 сГр (мощность дозы 40 мР/ч, 10 сут.) на организм половозрелых самцов мышей линий СВА/Lac с использованием гематологических, биохимических, цитогенетических показателей. Введение Серпистена как до, так и после облучения стабилизирует отдельные показатели лейкоцитов крови мышей, свидетельствующее об адаптогенном действии фитоэкдистероидного препарата. Профилактическое действие препарата ослабило повреждающие эффекты ионизирующей радиации на показатели красной крови, интенсивность процессов переписного окисления липидов в селезенке и печени. Как при терапевтическом, так и при профилактическом действии препарата отмечено достоверное уменьшение количества клеток костного мозга с микроядрами до контрольных значений, что свидетельствует об отсутствии генотоксического эффекта. Серпистен в малой дозе способен модифицировать клеточные эффекты низкоинтенсивного γ -излучения, направленность которых зависит от дозы и схемы воздействия исследуемых факторов. Установлено адаптогенное, гематопротекторное, мемброностабилизирующее, генопротекторное действие препарата [30].

Совместно с кафедрой физиологии Сыктывкарского государственного университета (доцент Н.А. Мойсеенко) исследовано влияние экдистероидсодержащего препарата Серпистен на показатели крови лабораторных животных (крысы, кролики) в норме и при вызванных гемолитической (фенилгидразин) и постгеморрагической (кровопускание) анемиях. Установлено, что на фоне гемолитической анемии у крыс введение Серпистена снижает уровень ретикулоцитоза по сравнению с животными, которым вводился гемолитик, сдвигая его к уровню интактных животных. В крови при этом было уменьшено число эритроцитов с тельцами Гейнца, а также количество ауторозеток. Показано, что в условиях гемолитической анемии введение Серпистена улучшает показатели фагоцитарной активности и суммы поглощенных клеток. Аналогичные эффекты Серпистена наблюдали и в экспериментах на кроликах с кровопусканием. Серпистен может рассматриваться как потенциальное адаптогенное гематопротекторное средство [31].

Как отмечалось выше, экдистероиды являются гормонами линьки и метаморфоза насекомых. Экзогенные экдистероиды при введении в состав питательных сред личинкам насекомых или нанесении на наружные покровы насекомых вызывают различные

патофизиологические эффекты или гибель личинок. Действительно, погружение личинок мельничной огневки на 5 секунд в водные растворы приводит к патологическим нарушениям их развития и гибели на седьмые сутки. Парадоксально, но метанольные растворы эндистероидов в концентрации 0.05 % оказали меньшее токсическое действие, при этом на 10 день наблюдений осталось 60 % живых гусениц, которые прошли стадию оккулирования, хотя выхода имаго все же не наблюдалось. Полученные данные свидетельствуют об адаптогенном действии эндистероидов на фоне повреждающих химических агентов (в частности Метанола) и на членистоногих, у которых эти соединения выполняют роль гормонов [13].

Совместно с Институтом экологии и генетики микроорганизмов ПНЦ УрО РАН (д.б.н. О.Н. Октябрьский) с использованием микробных тест-систем на основе генно-инженерных штаммов кишечных бактерий *Escherichia coli* и биохимических методов исследовано антиоксидантное и стресс-протекторное действие экстрактов растений *Serratula coronata* L. и *Trigonella foenum-graecum* L., а также выделенная из растения *S. coronata* эндистероидная субстанция Серпистен. Суммарные экстракти и Серпистен снижали ингибицию роста *E. coli* в условиях пероксидного стресса и модифицировали действие антибиотиков, относящихся к различным классам. Серпистен предотвращал лизис бактерий, вызванный β-лактамом цефотаксимом. Показан вклад полифенольного комплекса в составе экстрактов растений в их общее антиоксидантное действие за счет способности полифенолов повышать экспрессию гена *katG* и, соответственно, каталазную активность клеток, так и с их способностью хелатировать внутриклеточное железо, уменьшая продукцию токсичных гидроксильных радикалов. Антиоксидантный эффект Серпистена максимально проявлялся в штамме, мутантном по гену *sodA*, а значит, опосредован антирадикальной активностью эндистероидов. Защитные в отношении компонентов микрофлоры кишечника эффекты полифенолов и эндистероидов должны учитываться при терапии с использованием антибиотиков [32].

Совместно с Институтом физиологии Коми НЦ УрО РАН (д.б.н. М.Ф. Борисенков) проводится изучение влияния субстанции Серпистен на характеристики суточного ритма общей антиоксидантной активности (ОАА) слюны человека. Установлено, что в первые сутки приема препарата наблюдается снижение показателей суточного ритма ОАА слюны, которое сменяется значительным подъемом показателей, в первую очередь, амплитуды ритма на восьмой день. В отличие от мелатонина, Серпистен избирательно увеличивает амплитуду суточного ритма ОАА слюны – наиболее важного показателя хроноструктуры организма, отражающего степень синхронизации биоритмов организма с суточными колебаниями показателей окружающей среды, в первую очередь светового режима. Полученные данные свидетельствуют о перспективах дальнейшего изучения Серпистена в качестве онко- и геропротекторов, а также адаптогенного средства на Севере в условиях «полярного дня» [33].

Совместно с Санкт-Петербургским государственным медицинским университетом (д.б.н. Вислобоков А.И.) и Институтом физиологии Коми НЦ УрО РАН (д.б.н. В.И. Прошева) исследованы изменения трансмембранных калиевых, кальциевых и натриевых ионных токов изолированных нейронов моллюска *Lymnaea stagnalis* под влиянием субстанции Серпистен в широком интервале концентраций 0.01–1000 мкг/мл. Использован метод фиксации мембранныго потенциала. Впервые установлено, что Серпистен неизбирательно активирует все ионные токи, увеличивая их амплитуду на 2–15 %, а также снижает неспецифические токи утечки мембранны. Натриевые токи при действии исследуемого препарата в концентрациях 100 и 1000 мкг/мл по сравнению с контролем снижались на 5–10 %. Эффекты были обратимы. Кинетика развития ионных токов под влиянием субстанции Серпистен не изменялась. Данные свидетельствуют о выраженному нейротропном действии изучаемой субстанции [34].

В развитие уже известных разнообразных иммуномоделирующих эффектов эндистероидов совместно с Центром лабораторной диагностики (г. Екатеринбург) было

показано, что за счет увеличения внутриклеточного уровня сАМФ Серпистен активирует презентацию рецепторов CD2 в Т-клетках *in vitro*, которые находятся в состоянии супрессии у лиц со вторичным или вызванным фармакологически иммунодефицитом. Было обнаружено, что Серпистен действует подобно синтетическому психо-иммуномодулятору 1-окси-4-оксоадамантану и превосходит по своему эффекту тимомиметический препарат левомизол. Кроме того, оказалось, что Серпистен модулирует фторид-индукционный респираторный взрыв нейтрофилов человека подобно водорастворимым антиоксидантам [35].

Совместно с Военно-медицинской академией им. С.М. Кирова (г. Санкт-Петербург) (д.б.н. Андреева Л.И.) исследовано влияние субстанции Серпистен на поведение крыс Вистар и содержание в тканях печени, сердца и мозга двух белков стресса (белков теплового шока) семейства 70. Курсовое введение Серпистена в суммарной дозе 12 мг/кг активировало двигательную и исследовательскую активность крыс. Сочетание введения Серпистена и теплового стресса привело к увеличению массы надпочечников. Серпистен участвует в стресс-реакции организма, увеличивает содержание в тканях индуцильного защитного белка Hsp70, свидетельствующего о срочной адаптации клетки. В печени отмечено увеличение содержания конститутивного белка Hsc70, что, по нашему мнению, отражает процессы долговременной структурно-функциональной адаптации.

Таким образом, были показаны два чрезвычайно важных эффекта, проливающих свет на системный и клеточный механизм действия эндистероидов у теплокровных животных:

1) У крыс в дексаметазоновом teste на фоне Серпистена происходит более выраженное снижение кортикостерона по сравнению с контрольной группой животных. В плане понимания центрального механизма действия Серпистена можно предположить, что Серпистен понижает порог чувствительности гипоталамуса к действию тестовой дозы дексаметазона, способствуя реализации механизма отрицательной обратной связи. Повышение чувствительности гипоталамуса к гормональному вызову и последующее снижение содержания кортикостерона в крови характеризует позитивное геропротекторное («противовозрастное») действие Серпистена, что согласуется с теорией интегральной медицины В.М. Дильмана.

2) Адаптогенное действие эндистероидов реализуется путем индукции биосинтеза белков теплового шока в различных тканях крыс таким образом, что курсовое введение Серпистена запускает механизмы срочной адаптации, наилучшим образом проявляющиеся в печени и сердце крыс, что свидетельствует об активации защитных механизмов клетки [36].

По результатам проведенных исследований Федеральной службой Роспотребнадзора (г. Москва) зарегистрирована субстанция биологически активной добавки Серпистен, сырье для получения биологически активной добавки Серпистен «Серпухи венценосной листья» и три капсулированных форм БАД на основе субстанции Серпистен: Кардистен – противоишемического; Диастен–противодиабетического и Адастен – адаптогенного и иммуностимулирующего действия.

С использованием БАД Кардистен была обследована группа добровольцев пожилого возраста, проживающих в условиях Севера, с органическими нарушениями сосудов головного мозга и повышенным уровнем кортизола, свидетельствующем о состоянии хронического стресса. Курсы Кардистена привели к выраженному снижению и нормализации уровня кортизола в крови и снижению тревожности у пациентов, нормализации артериального давления, увеличению работоспособности и продуктивности кратковременной памяти, улучшению качества сна. Ультразвуковое исследование показало исчезновение ангиоспазма у всех обследуемых, у 27 % пациентов наблюдалось уменьшение комплекса интима-медиа и размывов бляшек в сонных и вертебральных артериях, у 9 % – увеличился просвет правой позвоночной артерии, у 5 % – уменьшился венозный застой. БАД Кардистен рекомендована для активации защитных механизмов при длительно действующем стрессе у лиц зрелого и пожилого возраста с органическими изменениями сосудов. Кроме того, установлено, что 20-дневный прием Кардистена приводит к значимому улучшению продуктивности кратковре-

менной памяти, что можно объяснить общим улучшением мозговой деятельности, снятием ангиоспазма и соответственно лучшим кровоснабжением мозговой ткани, что было отмечено функциональным диагнозом при доплерографическом обследовании сосудов головного мозга.

В клинике Научно-исследовательского института питания (г. Москва) была показана эффективность использования Кардистена в диетотерапии пациентов с хронической сердечной недостаточностью и ожирением III степени.

БАД «Адастен», содержащая субстанцию Серпистен, в сочетании с минерально-витаминным комплексом Витабаланс-Мультивит, разработанным в Институте физиологии Коми НЦ УрО РАН д.м.н. Бойко Е.Р., была использована в качестве адаптогенного средства экспедицией Федора Конюхова при длительном арктическом переходе с Северного полюса в Гренландию в 2013 г. и при его одиночном плавании из Чили в Австралию в 2014 г. Была показана эффективность Адастена для повышения силы, выносливости и ускорения восстановления после физических нагрузок.

На наш взгляд, открывается большая перспектива использования фитоэкстрактов в восстановительной медицине. Особенno остро проблема улучшения качества жизни пожилых людей обозначена в регионах, где их проживание отягощено целым рядом экологически неблагоприятных природных и техногенных факторов (повышенный естественный и искусственный фон радиоактивного излучения, загрязнение ксенобиотиками и т.д.). Применение экстрактов содержащих препаратов может быть эффективно у лиц пожилого возраста, страдающих возрастными нейродегенеративными заболеваниями, гипотонией и вегето-сосудистой дистонией, у пожилых пациентов, подверженных возрастной депрессии и при старческих расстройствах мозговой деятельности. Экстракты содержащие препараты могут оказаться перспективными для снятия синдрома хронической усталости, повышения общего жизненного тонуса, снижения нервной и мышечной утомляемости, улучшения процессов памяти и внимания, снижения уровня сахара, в реабилитации постинфарктных и постинфарктных состояний. Препараты, содержащие фитоэкстракты, могут оказаться весьма эффективными для профилактики и поддерживающей терапии репарационных процессов, в том числе при лечении воспалительных, сосудистых, иммунологических процессов, ускорении заживления ран, ожогов и переломов.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Программ президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» по теме: «Ресурсы экстрактов содержащих растений флоры Вьетнама и изучение адаптогенного действия биологически активных добавок, содержащих фитоэкстракты, на работоспособность лиц, испытывающих высокую физическую и психическую нагрузку» (15-12-4-59) и гранта Программы УрО РАН «Оценка стресс-реактивности и коррекция адаптивных реакций высокопродуктивных жвачных животных растительными адаптогенами и в условиях Севера».

Литература

1. Гичев Ю.Ю., Гичев Ю.П. Новое руководство по микронутриентологии (Биологически активные добавки к пище и здоровье человека). – М.: «Триада-Х», 2009. – 304 С.
2. Ильина, И.В. Народная медицина Коми. – Сыктывкар, 1997. – 118 с.
3. Panossian, A. Plant adaptogens III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action / Panossian A., Wikman G., Wagner H. // Phytomed. – 1999. – Vol. 6 (4). – P. 287-300.
4. Яременко, К.В. Оптимальное состояние организма и адаптогены. – СПб., 2007. – 129 с.
5. Дильтман, В.М. Большие биологические часы (введение в интегральную медицину). – М.: Знание, 1981. – 208 с.
6. Брехман, И.И. Женьшень. – Л., 1957. – 180 с.
7. Бездетко, Г.Н. Влияние профилактического и лечебного действия элеутерококка на течение аллоксанового диабета // Материалы к изучению женьшеня и других лекарственных средств Дальнего Востока. Элеутерококк и другие адаптогены из дальневосточных растений. – Владивосток, 1966. – Вып. 7. – С. 81–84.

8. Бездетко, Г.Н. Влияние гликозидов элеутерококка на ядерную активность РНК-полимеразы скелетных мышц и печени после физической работы / Г.Н. Бездетко, И.И. Брехман, И.В. Дардымов и др. // Вопросы медицинской химии. – 1973. – Т. 19. – Вып. 3. – С. 245–248.
9. Дардымов, И.В. Женьшень, элеутерококк (к механизму биологического действия). – М., 1976. – 184 с.
10. Мещерская, К.А. Влияние препаратов корня элеутерококка на аппетит и углеводный обмен у нормальных животных и у крыс с аллоксановым диабетом // Симпозиумы по элеутерококку и женщению: XX сессия Комитета по изучению женщения и других лекарственных растений Дальнего Востока. – Владивосток. – 1962. – С. 54.
11. Колмакова, Л.Ф. Клинические наблюдения над действием экстрактов левзеи, элеутерококка и золотого корня у больных сахарным диабетом и другими заболеваниями / Колмакова Л.Ф., Кутолина Н.И. // Стимуляторы центральной нервной системы. – Томск. – 1966. – С. 130–132.
12. Янькова, В.И. Возрастные аспекты состояния пероксидации липидов и антиоксидантной защиты при действии аллоксана / Янькова В.И., Гвозденко Т.А. // Бюл. экспер. биолог. и медицины. – 2005. – Т. 139. – № 3. – С. 283.
13. Фитоэcdистероиды / Под ред. В.В. Володина. – СПб.: Наука. – 2003. – 293 с.
14. Сыров, В.Н. К механизму анаболического действия фитоэcdистероидов в организме млекопитающих // Биол. науки. – 1984. – № 11. – С. 16–19.
15. Сыров, В.Н. Сравнительное изучение анаболической активности фитоэcdистероидов и стераноболов в эксперименте // Хим.-фармацевт. журн. – 2000. – Т. 34. – № 4. – С. 31–34.
16. Куракина, И.О. Эcdистен тонизирующее средство в таблетках по 0,005г // Новые лекарственные препараты / Куракина И.О., Булаев В.М. – М.: Союзмединформ, 1990. – Вып. 6. – С. 16–18.
17. Lafont, R. et al. Practical uses for ecdysteroids in mammals and human: an update / Lafont R., Dinan L. // Insect. Sci. – 2003. – Vol. 3. – № 7. – 30 p.
18. Xuan, Le Thi Selected medicinal plants of the Muong Community at Cucphuong / Xuan Le Thi, Sejarto D.D. – Hanoi, 2008. – 332 p.
19. Володин, В. В. Эcdистероидсодержащие растения – источники новых адаптогенов / В.В. Володин, С.И. Матаев // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2011. – Т. 7. – № 2. – С. 52–59.
20. Phytoecdysteroids: diversity, biosynthesis and distribution / Dinan L., Harmatha Ju., Volodin V., Lafont R. // in Ecdysone: structure and functions / Ed. G. Smagghe. – Springer, 2009. P. 3–45.
21. Ogawa, S. et al. Pharmacology of ecdysones in vertebrates / Ogawa S., Nishimoto N., Matsuda H. // Invertebrate endocrinology and hormonal heterophylly Ed. W.J. Burdette. – Berlin: Springer. – 1974. – P. 341–344.
22. Evaluation of *Serratula coronata* L. extract toxicity for laboratory animals / V.V. Volodin, A.S. Chagin, E.N. Bespamyatnykh, S.O. Volodina, O.V. Freydina, A.G. Kudryasheva // Biology and Medicine. – 2014. – Т. 6(1).– № 1. – С. 1–8.
23. Влияние внутрижелудочного введения фитоэcdистероидов на некоторые показатели гормонального статуса крыс / Ю.С. Сидорова, С.Н. Зорин, Л.С. Василевская, М.Н. Богачук, В.К. Мазо, В.В. Володин, С.О. Володина // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82. – № 4. – С. 22–25.
24. Антиагрегационное и стресс-лимитирующее средство: пат. 2375071 Российская Федерация: / В.В. Володин, Н.Б. Петрова, Н.А. Мойсеенко, С.О. Володина; Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; – № 2008144160/15 заявл. 6.11.2008, опубл. 10.12.2009. – Бюл. № 34.
25. Стрес-протекторное действие эcdистероидсодержащей субстанции Серпистен / В.В. Володин, В.Н. Сыров, З.А. Хушбактова, С.О. Володина // Теоретическая и прикладная экология. – 2012. – № 1. – С. 18–23.
26. Изучение влияния *in vitro* экстракта серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.) на биомаркеры общего адаптационного синдрома / Ю.С. Сидорова, К.Е. Селяскин, С.Н. Зорин, Л.С. Василевская, В.В. Володин, В.К. Мазо // Традиционная медицина: научно-практический журнал. – 2014. – № 1(36). – С. 57–61.
27. Влияние препаратов, содержащих фитоэcdистероиды и стероидные гликозиды растений, на продолжительность жизни и стрессоустойчивость *Drosophila melanogaster* / М.В. Шапошников, Л.А. Шилова, Е.Н. Плюснина, С.О. Володина, В.В. Володин, А.А. Москалев // Экологическая генетика. – 2014. – Т. 12. – № 4. – С. 3–14.
28. Володин, В.В. Гиполипидемическое и противоишемическое средство: пат. 2337701, Россия, МПК A61K 36/28 // Володин В.В., Володина С.О.; ООО «Комибиофарм»; – № 2007104250/15 заявл. 06.02.2007, опубл. 10.11.2008. – Бюл. № 31.

29. Володин, В. В. Противодиабетическое средство для лечения сахарного диабета II типа: пат. 2337698, Российская Федерация: / В.В. Володин, С.О. Володина; ООО «Комибиофарм»; – № 2007104249/15 заявл. 06.02.2007, опубл. 10.11.2008. – Бюл. № 31.
30. Противолучевое средство: пат. 2326672, Российская Федерация: / А.Г. Кудяшева, В.В. Володин, О.Г. Шевченко, Н.Г. Загорская, С.О. Володина, Л.А. Башлыкова, О.В. Ермакова; Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; – № 2006108965/15 заявл. 21.03.06, опубл. 20.06.08. – Бюл. № 17.
31. Гематопротекторное действие эcdистероидсодержащей субстанции Серпистен / Н.А. Мойсеенко, Ж.Е. Иванкова, Е.Н. Репина, В.В. Володин // Теоретическая и прикладная экология. – 2012. – № 1. – С. 43–48.
32. Влияние полифенол- и эcdистероидсодержащих экстрактов растений на устойчивость *Escherichia coli* к пероксидазному стрессу и антибиотикам / К.В. Безматерных, Г.В. Смирнова, С.О. Володина, В.В. Володин, О.Н. Октябрьский // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т. 9(18). – № 2(1). – С. 632–634.
33. Борисенков, М.Ф. Влияние светового и электромагнитного излучений Солнца на суточный ритм общей антиоксидантной активности слюны человека на Севера / Борисенков М.Ф., Перминов Е.В., Косова А.Л. // Успехи геронтологии. – 2008. – Т. 21. – № 3. – С. 474–476.
34. Игнатов, Ю.Д. Влияние эcdистероидсодержащей субстанции из серпухи венценосной *Serratula coronata* L. на трансмембранные токи нейронов моллюска / Ю.Д. Игнатов, В.В. Володин, В.И. Пропшева и др. // Экспериментальная клиническая фармакология. – 2006. – № 6. – С. 9–12.
35. Trenin, D. 20-Hydroxyecdysone as a human lymphocyte and neutrophil modulator: in vitro evaluation / Trenin D., Volodin V. // Arch. Insect Biochem. Physiol. – 1999. – Vol. 41. – № 3. – P. 156–161.
36. Andreeva, L.I. Physiological and cellular effects of phytoecdysteroid preparation Serpisten under heat stress in rats / L.I. Andreeva, A.A. Boykova., A.A. Bykova, V.V. Volodin// Proceedings of the 14th International Congress «Phytopharm 2010». St.-Petersburg (Russia). – 2010. – P. 13.

ФИТОЭКДИСТЕРОИДТЕР МЕН АДАПТОГЕНДЕР. ЖАҢА ЭКДИСТЕРОИДІ БАР СЕРПИСТЕН ШИКІЗАТЫ

B.B. Володин, С.О. Володина

e-mai: volodin@presidium.komisc.ru

РГА Кomi FO УрБ биология институты, Сыктывкар қ., Ресей

Мақалада заманауи қалпына келтіру медицинасына арналған адаптогендік препараттар жайлы мәліметтер жинақталған. Жаңа өсімдік адаптогендер, яғни фитоэкдистероидтердің өсімдік шикізат көздері сипатталған. «Серпистен» ББҚ және соның негізінде үш капсулатланған түрдегі: «Кардистен» - ишемияға қарсы, «Диастен» - диабетке қарсы және «Адастен» - адаптогендік һәм иммунокүшайтуші әсердегі ББҚ алу үшін жана эcdистероиді бар Серпистен шикізатын фармакологиялық зерттеуінің эксперименттік деректері көрсетілген.

PHYTOECDYSTEROIDS AND ADAPTOGENS. NEW ECDYSTEROID CONTAINING SUBSTANCE SERPISTENE

V. V. Volodin, S. O. Volodina

e-mai: volodin@presidium.komisc.ru

Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Division RAS, Syktyvkar, Russia

The article generalizes data about adaptogenic preparations for contemporary regenerative medicine. Herbal sources of phytoecdysteroids – new herbal adaptogens are described. There are given experimental data on pharmacological study of new ecdysteroid containing substance Serpistene for the production of dietary supplement «Serpistene» and three capsulated dietary supplements forms on its basis: «Cardistene» – anti-ischemic, «Diastene» - antidiabetic and «Adastene» having adaptogenic and immunostimulating action.

Экдистероидсодержащая субстанция из надземной части растений серпухи венценосной (*Serratula coronata L.*)

Тонизирующее и актопротекторное средство «Серпистен»

Состав:

сухой экстракт из листьев Серпухи венценосной

Биологически активные компоненты:

фитостерины

- не менее 90%.



Serratula coronata L

Фармакологические свойства

- Способствует повышению функциональных резервов организма человека в неблагоприятных условиях природной и производственной среды;
- Способствует повышению функциональных резервов организма человека при высоких физических и психоэмоциональных нагрузках;
- Способствует повышению функциональных резервов организма человека при действии других стрессовых факторов;
- Способствует повышению функциональных резервов организма человека при сердечно-сосудистых и нервных заболеваниях, сахарном диабете, гормональных нарушениях, одной из причин которых является состояние хронического стресса и дисадаптации.

Показания к применению

При длительных инфекциях и интоксикациях, при неврастении, неврозах и гипотонии, а также спортсменам во время интенсивных тренировок при дисфункции сердечно-сосудистой системы, особенно с выраженнымми признаками перенапряжения миокарда и усилением белкового катаболизма в период подготовки к соревнованиям.

Срок годности: 36 месяцев.

Форма выпуска: капсулы



Разработчик:

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН

Производитель:

продукция изготовлена ООО "Комибиофарм", г. Сыктывкар, Республика Коми

СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ РАСТЕНИЙ: МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ И ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

**А.Л.Савчук, Р.П.Литвиновская, В.М.Насек, Е.В.Санько-Счисленок, В.Н.Жабинский,
В.А.Хрипач***

е-mai:khripach@iboch.bas-net.by

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

В обзоре представлены данные по медицинским аспектам действия брассиностероидов в отношении теплокровных. Среди них токсикология, антихолестериническое действие, противораковый, анаболический, адаптогенный, антивирусный и другие эффекты. В экспериментах на крысах проведена оценка основных фармакологических параметров 24-эпибрассинолида при однократном внутрижелудочном введении в дозе 30 мкг/кг. Использовали иммуноферментный метод определения 24-эпибрассинолида в плазме. Показано, что фармакокинетические параметры линейны в диапазоне 100-1000 мкг/кг.

Стероидные гормоны человека и высших животных известны с начала 30-х годов прошлого века [1]. В середине 60-х было показано, что стероиды также выполняют роль гормонов у беспозвоночных, в частности они отвечают за линьку и метаморфоз у насекомых и других членистоногих [2]. Примерно в это же время были обнаружены стероидные гормоны грибов [3]. Выделение брассинолида и ряда родственных соединений (получивших название брассиностероидов), выполняющих функцию гормонов в растениях [4], показало, что стероиды являются многофункциональными гормональными регуляторами, характерными для большинства обитателей Земли.

Стремительный прогресс в изучении стероидных гормонов растений позволил оценить их важное место среди других стимуляторов роста и развития растений, а также перспективность их применения в растениеводстве в качестве основы для агропрепаратов, повышающих урожай и качество продукции [5]. Разработка таких препаратов предполагает детальное токсикологическое исследование брассиностероидов (БС), которое включает в себя изучение их влияния на пчел, водные организмы и животных. В ходе проведенных исследований БС не обнаружили токсических свойств, и каких бы то ни было негативных эффектов в отношении теплокровных [6-9]. В то же время было замечено, что БС могут проявлять антистрессовое, анаболическое, токсико-протекторное и некоторые другие виды защитно-стимулирующего воздействия на нерастительные организмы. Это подтолкнуло к более тщательному изучению эффектов БС у живых организмов за пределами растительного царства.

Открытие защитного, и иммуностимулирующего воздействия БС на рыб [10-18] послужило причиной систематического поиска отклика у других позвоночных и в особенности теплокровных животных на действие БС. Первые результаты были получены для грызунов в ходе токсикологических испытаний [19]. Они показали способность БС влиять на репродуктивность [20], баланс стероидных гормонов [21, 22], на некоторые биохимические [23] и физиологические [24, 25] параметры, которые четко отражают стимулирующие и адаптивные изменения в организме испытуемых животных. Сходство действия БС в растениях и нерастительных организмах увеличивает осознание потенциальной ценности этих соединений для медицинского применения и инициирует их интенсивное изучение в этом направлении.

В экспериментах на белых мышах было продемонстрировано, что прием 24-эпибрассинолида (ЭБ) с пищей или питьем в течение 25-35 дней позволяет значительно повысить статическую и динамическую работоспособность организма [26]. Тестирование статической работоспособности белых мышей проводилось с помощью «пробы с подвисанием» на вертикальном стержне. Так, через неделю приема препарата в дозе 2 и 20 мг/кг средняя длительность удерживания на стержне для экспериментальных групп была равна соответственно 186 и 235 с, что составляет 132 и 167% от соответствующего показателя контрольной групп-

пы. Через две недели получения препарата статическая работоспособность в экспериментальных группах составляла соответственно 423 и 288% от контроля, а через четыре недели – 401 и 208%. Тестирование динамической работоспособности в стандартном тесте плавания до полного утомления показало при сравнении показателей белых мышей, получавших ЭБ, с соответствующими показателями контрольной группы, статистически значимое увеличение продолжительности плавания в экспериментальных группах. Так, через неделю получения ЭБ средняя длительность плавания для экспериментальных групп равна соответственно 234 и 210 с, что составляет 156 и 140% от соответствующего показателя контрольной группы. Через четыре недели получения препарата данный показатель равен соответственно 276 и 268 с, т.е. составляет 204 и 199% от значения контрольной группы.

Изучение поведенческих реакций белых мышей с помощью теста «открытое поле» через 14 суток после внутрижелудочного введения ЭБ с пищей [27] свидетельствует о снижении уровня стресса у животных, принимавших препарат, и стимуляции их способности к исследовательским действиям в незнакомой обстановке. Так, из всех животных контрольных групп количество вышедших из переносной камеры животных было равно количеству животных, не покидавших пределы переносной камеры, в то время как в опытных группах количество животных, вышедших из переносной камеры, более чем вдвое превышало количество животных, не покидавших пределы переносной камеры. Эти данные свидетельствуют о формировании повышенной стрессоустойчивости животных, получавших исследуемый препарат. Также было замечено, что в проведенных исследованиях на животных прослеживается дозозависимый эффект ЭБ на работоспособность и кислородтранспортную функцию крови.

Проведенные работы по исследованию токсических эффектов ЭБ у лабораторных животных (мыши и белые крысы) привели к следующим результатам [28-30]. Летальные исходы в остром эксперименте на мышах при пероральном способе введения ЭБ в дозе 5100 мг/кг и показатель токсичности ЛД₅₀ не представилось возможным определить [29]. Данное вещество может быть отнесен к V-VI классам опасности (практически нетоксично – относительно безвредно) в соответствии с модифицированной классификацией Организации экономического сотрудничествия и развития (OECD).

При исследовании хронического воздействия ЭБ на организм животных при многократном длительном внутрижелудочном введении установлено, что вещество не вызывает летальных исходов у крыс и мышей в дозах 0,078, 0,388 и 0,775 мг/кг и у мышей в дозах 0,154, 0,769 и 1,538 мг/кг в течение всего срока наблюдения [30]. Внешний вид, состояние шерстного покрова, кожи и видимых слизистых оболочек подопытных животных в течение всего периода наблюдения не были изменены.

При микроскопическом исследовании органов и тканей экспериментальных животных наиболее выраженные изменения отмечены со стороны почек: распространенная зернистая и очаговая гидропическая дистрофия, нефротелия проксимимальных и в меньшей степени дистальных канальцев и собирательных трубочек. Наблюдаемые изменения сохранялись и не значительно усиливались по мере увеличения дозы препарата. Однако важно, что указанные изменения являются обратимыми.

При исследовании хронического воздействия ЭБ на организм животных при многократном внутрижелудочном введении в течение 8 месяцев установлено, что ЭБ не вызывает летальных исходов у крыс в дозах 0,0002, 0,002, 0,02 и 0,2 мг/кг, исследуемое вещество в указанных дозах не влияет на основные физиологические и поведенческие параметры, внешний вид животных. При использовании высоких доз (0,2 мг/кг) ЭБ влияет на белковый обмен, вызывая достоверное увеличение содержания креатинина и мочевины в сыворотке крови, снижает активность ферментов сыворотки крови – ЩФ, АлТ, увеличивает активность ЛДГ. Доза 0,02 мг/кг снижает содержание общего холестерина и активность АлТ, однако указанные изменения биохимических и гистологических показателей носили, в основном, компенсаторно-приспособительный характер. Введение ЭБ в течение 20 дней в дозе 0,002 мг/кг и однократное введение в дозе 2 мг/кг в разные сроки беременности не вызывало у беременных самок клинических проявлений. Введение ЭБ в 1, 4 и 9 дни беременности в дозе 2 мг/кг, а также

при ежедневном введении препарата в дозе 0,002 мг/кг на протяжении всей беременности никаких видимых изменений плодов не выявлено. Тератогенные эффекты при действии ЭБ также не выявлены.

Природные фитогормональные стероиды были предложены в качестве основы биологически активных добавок к пище, повышающих адаптивность организма к физическим нагрузкам. ЭБ является одним из наиболее активных известных стероидных стимуляторов растений, который наиболее изучен и доступен с точки зрения химического синтеза по сравнению с бассинолидом и 28-гомобассинолидом. Он может быть синтезирован из сравнительно распространенного сырья – эргостерина (основного стерина пекарских дрожжей – полупродукта в промышленном синтезе витаминов группы D)[31] и бассикастерина – компонента стерольной фракции рапсового масла, где его содержится 10-20 %. Имеются данные, указывающие на то, что БС влияют на белково-нуклеиновый обмен, свойства мембран и активность ферментов подобно тому, как это имеет место в растениях. Исследование влияния ЭБ на спортсменов в игровых видах спорта показало положительное влияние этого фитогормона на координационные способности [32, 33]. Было обнаружено, что добровольцы, применяющие препарат в условиях высоких физических нагрузок, при сопоставлении с контрольной группой характеризуются отсутствием отрицательной динамики ряда биохимических и антропометрических параметров, отражающих физиологический статус организма, таких как активность креатинкиназы, уровень гемоглобина, состояние мышечного компонента, соотношение тестостерон-кортизол и др. В частности, показано достоверное снижение изначально повышенной (или предупреждение повышения) активности фермента креатинкиназы и возвращение ее в пределы референтных значений, а также повышение уровня гемоглобина, что свидетельствует об улучшении переносимости физических нагрузок [27]. Полученные результаты послужили предпосылкой для углубленного изучения свойств ЭБ и способствовали разработке биологически активной добавки Фитонол на его основе. Применение данной биодобавки повышает работоспособность, оказывает адаптогенное, иммуномодулирующее, стресс-протекторное и другие виды защитного действия, а также положительно влияет на липидный обмен [27]. Фитонол действует в существенно более низких дозах (на 2-3 порядка), чем известные стимулирующие препараты близкого профиля действия.

Известно, что растительные стерины и их производные являются ингибиторами всасывания холестерина кишечником и средствами для снижения общего уровня холестерина и липопротеинов низкой плотности в плазме крови [34-36]. Поскольку БС представляют собой окисленные формы растительных стероидов, можно было ожидать наличие у них похожей активности.

Многообещающие результаты были получены при изучении влияния БС на уровень холестерина [37]. Применение ЭБ на крысах с нормальным уровнем холестерина в крови, которые получали ежедневно 2-200 мкг/кг ЭБ на протяжении 36 недель, привело к снижению холестерина на 9-25% в зависимости от дозы (более высокая доза соответствует более высокому антихолестеримическому действию).

У крыс, потребляющих пищу с высоким содержанием холестерина и ЭБ (2 мкг/кг) ежедневно в течение 4 недель, концентрация общего холестерина в плазме снизилась на 34% и концентрация триглицеридов на 58% по сравнению с контрольными животными, которые получали такое же питание, но без ЭБ. У животных получавших ЭБ, концентрации витамина А и витамина Е в плазме увеличились на 16% и 53%, соответственно, по сравнению с контрольными животными. При увеличении дозы ЭБ до 20 мкг/кг в аналогичном эксперименте наблюдалось снижение концентрации общего холестерина в крови на 44%, триглицеридов – 68% и липопротеинов низкой плотности на 11% по сравнению с контрольными животными, которые не получали ЭБ. У группы крыс, получавших ЭБ, концентрация липопротеинов высокой плотности, витамина А и витамина Е была выше чем у контрольной группы на 47%, 30% и 51%, соответственно.

Схожая тенденция к уменьшению уровня холестерина при применении БС наблюдается и у людей [32, 38]. Группе из 10 добровольцев с гиперхолестеринемией был назначен при-

ем 15 мкг ЭБ ежедневно [38]. Участники испытали снижение общего сывороточного холестерина от первоначального завышенного значения до 5,70-4,73 ммоль/л, которое находится в пределах нормы. Анализ липидного профиля показал, что наблюдаемые изменения были достигнуты в большей степени за счет снижения содержания фракции липопротеинов низкой плотности от 4,03 до 2,97 ммоль/л.

Холестерин-снижающее действие ЭБ может быть также частью адаптогенного эффекта, который обнаружен для животных и растений и реализуется у последних, по крайней мере, частично, посредством регулирования текучести и проницаемости мембран, а также активности мембран-связанных белков. Существование такого механизма имеет место в растениях [39, 40].

Одна из возможностей уменьшения интенсивности биосинтеза холестерина состоит в понижении активности ГМГ-КоА-редуктазы, ключевого скорость-лимитирующего фермента биосинтетического пути. Важную роль в ее регуляции и поддержании оптимального уровня холестерина играют специфические ядерные рецепторы, которые по принципу обратной связи через контроль содержания окисленных форм холестерина (оксистеринов) влияют на активность фермента и интенсивность биосинтеза. ЭБ, являясь высокоокисленным стерином (оксистерином), обладает способностью выступать в роли конкурирующего лиганда по отношению к физиологическим регуляторам биосинтеза холестерина (эндогенным оксистеринам) за связывание с ядерными рецепторами LXR/FXR. Ядерный рецептор LXR активирует ABCA1 регуляторный белок, участвующий в обратном транспорте холестерина, его удалении из клетки и поддержании липидного гомеостаза, в то время как рецептор FXR активирует цитохром Р450 гидроксилазу CYP7A1, которая ответственна за трансформацию и выведение избытка холестерина в виде желчных кислот. Связываясь с рецептором подобно эндогенным оксистеринам, ЭБ действует как сигнальная молекула и инициирует транскрипцию соответствующих генов. Одновременно, ЭБ действует как ингибитор 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А редуктазы – фермента, катализирующего скорость-определяющую стадию биосинтеза холестерина, и этим путем также осуществляет контроль уровня холестерина в организме.

Недостаточно изученным, однако еще одним весьма вероятным путем непрямого воздействия ЭБ на липидный обмен, является механизм, опосредуемый участием кальциевых ионных каналов клеточных мембран, чья активность существенным образом зависит от влияния названного оксистерина [41, 42].

Таким образом, накопленные к настоящему времени данные позволяют заключить, что стероидный гормон растений ЭБ, относящийся к изопренOIDНЫМ лактонам природного строения, является одним из перспективных кандидатов для разработки холестерин-контролирующих средств и средств, предотвращающих атеросклероз [37, 43].

Наряду с этим большое внимание в настоящее время привлекают антитромиферативные и противоопухолевые свойства БС. В одной из первых работ изучены эффекты ЭБ в культуре клеток млекопитающих [44]. Клетки гибридомы мышей культивировались в стандартной бессывороточной питательной среде или в разбавленной на 30% среде, когда клетки подвергались питательному стрессу. Типичными эффектами ЭБ в концентрациях 10^{-16} – 10^{-9} М были увеличение митохондриального мембранныго потенциала, уменьшение интрацеллюлярного уровня антител, увеличение фракции клеток в фазах G(0) /G(1), уменьшение фракции клеток в S фазе.

Природные БС оказывали влияние на пролиферацию, дифференциацию и стимулировали апоптоз в клетках раковых линий СЕМ, MCF7, T98, HeLa и RPMI 8226 [45]. ЭБ ингибировал рост опухолевых клеток во всех изученных в работе [46] линиях. ПроточноЮцитометрический анализ показал, что ЭБ приостанавливал рост MCF-7, MDA-MB-468 и LNCaP клеток в G₁ фазе клеточного цикла и индуцировал апоптоз в клетках MDA-MB-468 и LNCaP. Начаты исследования по изучению механизма антитромиферативного действия БС [47, 48]. Один из возможных вариантов включает влияние на активность белка p53, являющегося негативным регулятором клеточного деления. В норме уровень p53 возрастает в от-

вет на повреждение ДНК, стресс или активацию онкогенов, следствием чего является индукция апоптоза или торможение входжению в S фазу клеточного цикла. Предполагается, что индуцированный БС апоптоз опухолевых клеток MCF-7 связан с понижением ингибиторной активности ER- α на активность p53 [48]. Выраженная цитотоксичность БС отмечена на опухолевых клетках PC-3 простаты [47]. Как следовало из проточно-цитометрического анализа, эффект был вызван, главным образом, индукцией апоптоза. Обработка БС вызвала увеличение активности фермента каспаза-3, индуцирующего процессы апоптоза и уменьшение экспрессии анти-апоптического протеина Bcl-2. Следует отметить, что заметной цитотоксичностью обладают не только природные БС, но также и их аналоги [49-51]. Полученные к настоящему времени экспериментальные данные инициировали исследования по разработке противоопухолевых препаратов на основе БС [52-54].

Более того, кроме вышеописанных, БС обладают рядом других положительных свойств в отношении млекопитающих, включая противовирусное [65-71], нейропротекторное [72-74], антидиабетическое действие [75-79]. Также имеются данные, что БС могут использоваться при лечении доброкачественной гиперплазии простаты и андрогенной алопеции [80].

Фармакокинетические исследования ЭБ

Фармакокинетические исследования ЭБ были начаты нами с использованием меченого тритием 24-эпибрасинолида (^3H -ЭБ) при внутрижелудочном введении крысам. После введения стероид хорошо всасывается в желудочно-кишечном тракте и быстро распределяются в крови, печени, кишечнике, легких и почках. Максимальная радиоактивность сыворотки достигается через 30 мин после введения. Время полувыведения составило примерно 3 час после введения. Подобным образом, максимальная активность в печени также имела место спустя 30 минут и затем постепенно уменьшалась. Аккумулирование ^3H -ЭБ (и/или его метаболитов) медленнее всего происходит в почках, где максимальная радиоактивность наблюдается спустя 6 час. В тонком кишечнике максимальная концентрация наблюдается уже через 15 мин. Поскольку значительное количество ^3H -ЭБ и (или) продуктов его биотрансформации было найдено в почках, моче и фекалиях испытуемых животных, можно сделать вывод о том, что это – главные пути вывода ^3H -ЭБ (и его метаболитов) из организма.

Дальнейшие фармакокинетические исследования проводили на крысах при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении ЭБ с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) для количественного определения ЭБ в плазме и тканях органов. В экспериментах использовали половозрелых аутбредных крыс-самцов Wistar. Клетки с подопытными животными помещались в отдельные комнаты с соответственно стабильным световым циклом день/ночь по 12 ч. Температура воздуха поддерживалась в пределах 21-23°C, относительная влажность – 60-70%, режим проветривания – около 15 объемов/час. Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены на группы с помощью метода рандомизации. Животные, не соответствующие критериям, были исключены из исследования в течение карантина. В эксперименты включали здоровых особей мужского пола с чистым и гладким шерстным покровом, с нормальной двигательной активностью, прошедшие 2-х недельный карантин. Возраст крыс, отобранных для экспериментальной работы, 2-2,5 месяца, масса крыс 250,0 - 280,0 г. Разброс по исходной массе в группах не превышал $\pm 10\%$. Для исследования распределения ЭБ в органах и тканях, животных рандомизировали и формировали в группы, при этом каждая группа состояла из 6 особей. Для каждой из 8-ми фармакокинетических точек (5, 10, 20 мин, 1, 6, 24, 48, 120 час от момента введения образца) использовали по 1 группе экспериментальных животных. Введение исследуемого образца для всех (восемь) фармакокинетических точек выполнялось в один день. Биораспределение ЭБ в органах и тканях экспериментальных животных изучали после однократного внутрижелудочного введения 0,1 мг/мл водно-спиртового (10:1) раствора изучаемого образца в объеме 1,5 мл/200 г массы тела крысы.

Для забора проб мочи и каловых масс, в указанные ранее временные рамки эксперимента, животных помещали в индивидуальные метаболические камеры (ООО «НПК «Открытая наука», Россия), где и осуществлялся отбор экскрементов. До проведения анализа по

количественному определению содержания ЭБ, весь забранный материал хранился в морозильной камере при температуре – 20°C.

Для получения плазмы, кровь забирали из яремной вены у наркотизированных крыс (1% раствор тиопентала натрия) шприцом, содержащим свежеприготовленный 3,8 % раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Кровь помещали в пластиковые пробирки, которые инкубировали для коагуляции при комнатной температуре 1 час, после чего центрифугировали при 3000 об/мин 20 мин и отбирали плазму в пластиковые пробирки с пробками.

Сразу после забора крови, у экспериментальных животных проводили экстирпацию органов (печень, почки, селезенка, большой сальник, желудок, тонкий кишечник, бедренная мышца, легкие и сердце), которые быстро взвешивали, отдельно помещали каждый орган в заранее подготовленную и маркованную в соответствии с идентификационным кодом алюминиевую фольгу и замораживали в жидким азоте. До проведения анализа по количественному определению содержания ЭБ все замороженные органы и ткани, включая плазму крови, хранились в морозильной камере при температуре -70°C.

Навески органов и тканей гомогенизировали в метаноле (на 1 грамм ткани 2-3 мл метанола), выдерживали при 4°C в течение 24 ч. Далее гомогенат центрифугировали при 3000 об./с в течение 15 мин, отбирали аликвоту метанольного экстракта, переносили во флакон, упаривали, остаток растворяли в буферном растворе (рН 7,4) при перемешивании в течение 18 ч. Полученный образец анализировали методом ИФА.

К каждому образцу мочи (0,5 мл) добавляли 20 мкл β-глюкоронидазы, выдерживали в термостате при 42°C в течение часа, затем добавляли 3-х кратный избыток этилацетата, перемешивали и выдерживали в термостате 18 ч при 38°C. Органическую фазу отделяли, переносили во флакон, упаривали и остаток растворяли в буферном растворе (рН 7,4) при перемешивании в течение 18 ч. Полученный образец анализировали методом ИФА.

Навески экскрементов гомогенизировали в метаноле (на 1 грамм 4 мл метанола), выдерживали при 4°C в течение 24 ч. Далее гомогенат центрифугировали при 3000 об./с в течение 15 мин, отбирали аликвоту метанольного экстракта, переносили во флакон, упаривали, остаток растворяли в буферном растворе (рН 7,4) при перемешивании в течение 18 ч. Для определения содержания БС использовали иммуноферментную тест-систему по определению 24-эпибрассиностероидов [81-83].

ИФА органов, мочи и экскрементов. Калибровочные пробы готовили методом серийных разведений исходного спиртового раствора с известной концентрацией ЭБ на буферном растворе (0.05 М трикс, 0.05% CaCl₂, 1% БСА, 1% NaCl и 0.02 % Tween 20, рН 7.4) с добавлением 0.01% эуксила K100 в качестве консерванта. Концентрация стероида в калибровочных пробах составила 0, 1, 3, 10, 30 и 100 нмоль/л. Раствор ферментативного конъюгата 24-эпикастастерон-пероксидаза хрена готовили также на буферном растворе.

В полистирольные лунки планшета с иммобилизованными антителами к ЭБ вносили по 50 мкл калибровочных проб или анализируемых образцов в дубликатах. Во все лунки вносили по 100 мкл раствора конъюгата 24-эпикастастерона с пероксидазой хрена в трисовом буферном растворе. Планшеты инкубировали в течение 1 ч при 37°C в термостате, затем удаляли жидкость из лунок и промывали их промывочным раствором (1% NaCl, 0.02% TweenTM20). Во все промытые лунки добавляли по 100 мкл хромоген-субстратной смеси (раствор 3,3',5,5'-тетраметилбензидина в субстратном буферном растворе) и инкубировали при 37°C в течение 15 минут. Останавливали реакцию добавлением во все лунки по 50 мкл раствора стоп-реагента (5% раствор H₂SO₄).

Оптическую плотность раствора во всех лунках измеряли при длине волны 450 нм. Результаты анализа рассчитали методом интерполяции по калибровочному графику. В координатах “logit-log” строили график зависимости В/В₀·100% от концентрации брассиностероида в калибровочных пробах (нмоль/л). По калибровочному графику определяли содержание ЭБ в исследуемых образцах.

ИФА плазмы крови. Калибровочные пробы готовили методом серийных разведений исходного спиртового раствора с известной концентрацией ЭБ на интактной плазме. Кон-

центрация стероида в калибровочных пробах составляла 0, 1, 3, 10, 30 и 100 нмоль/л. Раствор ферментативного конъюгата 24-эпикастастерон-пероксидаза хрена готовили на трисовом буферном растворе. Для анализа использовали образцы плазмы без предварительной обработки. В полистирольные лунки планшета с иммобилизованными антителами к ЭБ вносили по 50 мкл калибровочных проб, приготовленных на плазме, или анализируемых образцов плазмы. Вносили во все лунки по 100 мкл раствора конъюгата 24-эпикастастерона с пероксидазой хрена в трисовом буферном растворе. Далее анализ и расчет результатов проводили обычным образом. Полученные результаты представлены в таблицах.

Таблица 1
Концентрация 24-ЭБ в плазме крови при внутрижелудочном введении

Образец	Время, мин	Концентрация 24-ЭБ, нг/мл			
		10	15	60	180
1		0,87	5,77	2,07	0,53
2		0,91	5,29	1,87	0,48
3		0,82	4,81	2,36	0,58
4		0,87	6,25	2,31	0,48
5		0,96	5,77	2,21	0,62
6		0,77	6,73	2,45	0,48
Среднее, нг/мл		0,87	5,77	2,21	0,53
Стандартное отклонение		0,07	0,68	0,21	0,06
Коэффициент вариации, %		7,68	11,79	9,53	11,50

Таблица 2
Концентрация 24-ЭБ в плазме крови при внутрибрюшинном введении

Образец	Время, мин	Концентрация 24-ЭБ, нг/мл				
		5	10	15	60	180
1		9,61	10,58	3,94	2,60	0,48
2		13,46	9,61	4,90	2,69	0,58
3		12,02	8,65	4,61	3,17	0,62
4		11,54	9,61	4,23	2,98	0,48
5		10,58	11,06	4,61	2,88	0,67
6		12,02	8,17	4,52	2,40	0,58
Среднее, нг/мл		11,54	9,61	4,47	2,79	0,57
Стандартное отклонение		1,33	1,10	0,34	0,28	0,08
Коэффициент вариации, %		11,49	11,40	7,54	9,99	13,54

Из таблиц 1,2 видно, что способ введения препарата оказывает незначительное влияние на скорость всасывания. В ходе изучения фармакокинетики показано, что ЭБ при внутрижелудочном введении всасывается быстро, а максимальная концентрация в плазме крови отмечается через 5-10 мин. Попадая в кровоток, ЭБ обратимо связывается с белками плазмы крови.

Данные, приведенные в таблицах 3-7, демонстрируют распределение препарата в органах крысы.

Таблица 3

Содержание 24-ЭБ в тканях желудка при внутрижелудочном введении

Образец	Время, мин	Содержание 24-ЭБ, нг/г				
		5	10	20	60	360
1	1461,4	3245,3	1580,7	807,5	43,8	
2	830,9	4509,4	1386,2	780,8	59,6	
3	1301,2	3147,9	1569,0	514,7	39,8	
4	1015,5	2790,5	950,8	680,9	55,8	
5	1170,8	3150,8	1159,6	849,2	40,6	
6	910,2	2680,3	1289,1	709,5	49,5	
Среднее, нг/г	1115,0	3254,0	1322,6	723,8	48,2	
Стандартное отклонение	240,95	654,51	243,84	119,79	8,21	
Коэффициент вариации, %	21,61	20,11	18,44	16,55	17,04	

Таблица 4

Содержание 24-ЭБ в тканях тонкого кишечника при внутрижелудочном введении

Образец	Время, мин	Содержание 24-ЭБ, нг/г				
		5	10	20	60	360
1	98,6	175,9	257,3	167,6	65,8	
2	67,5	107,0	290,6	94,4	98,8	
3	82,3	186,3	230,4	140,7	55,9	
4	59,3	167,8	310,2	154,2	70,9	
5	79,8	158,4	262,3	137,8	67,3	
6	89,8	195,6	338,5	171,6	88,5	
Среднее, нг/г	79,6	165,2	281,6	144,4	74,5	
Стандартное отклонение	14,36	31,39	39,30	28,04	15,95	
Коэф. вариации, %	18,05	19,00	13,96	19,42	21,40	

Продолжение таблицы 4

Образец	Время, мин	Содержание 24-ЭБ, нг/г				
		5	10	20	60	360
1	25,0	106,4	180,4	215,4	45,4	
2	38,1	95,4	212,3	190,5	66,4	
3	41,5	81,1	195,6	175,5	38,6	
4	52,9	83,8	150,6	230,9	59,5	
5	41,2	113,9	173,2	166,8	40,8	
6	35,4	73,9	155,7	148,2	60,3	
Среднее, нг/г	39,0	92,4	178,0	187,9	51,8	
Стандартное отклонение	9,10	15,56	23,50	30,94	11,67	
Коэф. вариации, %	23,31	16,84	13,21	16,47	22,52	

Таблица 6

Содержание 24-ЭБ в почках при внутрижелудочном введении

Образец	Время, мин	Содержание 24-ЭБ, нг/г			
		5	10	20	60
1	15,5	21,9	40,9	23,6	
2	17,9	35,7	45,5	26,3	
3	18,6	34,7	27,8	17,2	
4	14,8	23,3	50,6	20,5	
5	13,9	31,8	35,8	16,8	
6	11,1	25,6	32,3	25,8	
Среднее, нг/г	15,3	28,8	38,8	21,7	
Стандартное отклонение	2,74	6,00	8,49	4,17	
Коэффициент вариации, %	17,91	20,80	21,88	19,26	

Таблица 7

Содержание 24-ЭБ в легких при внутрижелудочном введении

Образец	Время, мин	Содержание 24-ЭБ, нг/г			
		5	10	20	60
1	105,4	145,6	29,2	16,8	
2	76,3	162,8	28,4	20,9	
3	85,8	171,5	37,8	15,8	
4	75,6	117,3	25,9	17,7	
5	80,9	159,7	30,4	23,6	
6	104,7	195,7	21,9	14,9	
Среднее, нг/г	88,1	158,8	28,9	18,3	
Стандартное отклонение	13,62	26,22	5,29	3,32	
Коэффициент вариации, %	15,46	16,51	18,28	18,18	

Изучение динамики содержания ЭБ в органах и тканях (печени, почках, селезенке, сальнике, желудке, тонком кишечнике, мышцах, сердце и легких) привело к следующим результатам. Содержание ЭБ в желудке достигает максимума через 10 минут, а через 6 час оно сопоставимо с таковым в других органах. Наибольшее накопление брацисиостероида происходит в печени и тонком кишечнике. Его содержание достигает ~130 нг/г через 1 час после введения в печени и ~300 нг/г – в тонком кишечнике, затем постепенно уменьшается и через 2 суток составляет 1-4 нг/г. Заметное содержание ЭБ отмечено в почках (около 20 нг/г в течение первого часа). Остальные органы незначительно накапливают ЭБ (от 15 нг/г в селезенке до 1-3 нг/г в сальнике).

Анализ экспериментальных фармакокинетических кривых и оценка параметров однокамерной модели [84] с учетом всасывания позволили получить модельные и системные фармакокинетические параметры ЭБ (таблица 8).

Таблица 8

Фармакокинетические показатели ЭБ

Показатели	Обозначение	Внутрижелудочное введение	Внутрибрюшинное введение
Доза	D (мкг/г)		1 мкг/г
Константа абсорбции	$k_a(\text{ч}^{-1})$	11,2	–
Период полуабсорбции	$t_{1/2a}(\text{ч})$	0,062	–
Максимальная концентрация	$C_{\max}(\text{нг}/\text{мл})$	5,77	–
Время, соответствующее C_{\max}	$T_{\max}(\text{ч})$	0,250	–
Ожидаемая начальная концентрация	$C_0 (\text{нг}/\text{мл})$ $V_d=D/C_0$	5,95	13,84
Каждый объем распределения	$V_d(\text{мл}/\text{г})$ $V_d=D/C_0$	168,1	–
Площадь под кривой $C(t)$ в плазме	AUC ($\text{нг}\cdot\text{ч}/\text{мл}$)	5,19	14,7
Константа элиминации	$k_e(\text{ч}^{-1})$	0,836	0,943
Период полувыведения	$t_{1/2e}(\text{ч})$	0,829	0,735
Общий клиренс	$Cl (\text{л}/\text{ч}/\text{кг})$ $Cl=D/AUC_{B6}$	–	68,0
Среднее время удерживания	MRT (ч) MRT=AUM C/AUC	1,29	1,06
Среднее время всасывания	MAT (ч) MAT=MRT _B -MRT _{B6}		0,23
Биодоступность	F (%) $F=AUC_{B6}/AUC_{B0}\cdot 100\%$		35,3

Проверка гипотезы линейности представлена кинетическими кривыми зависимости концентрации ЭБ в плазме крови от времени при различных дозах (рис. 1) и зависимостью значений AUC от величин вводимых доз препарата (рис.2).

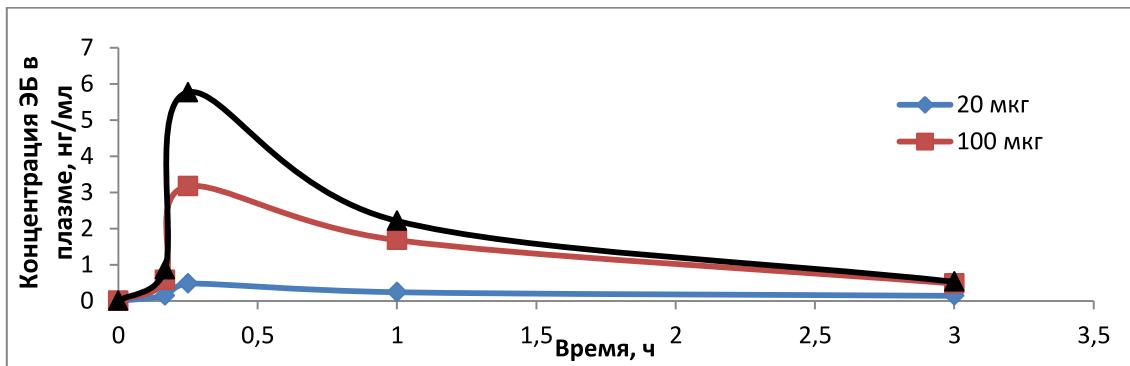


Рисунок 1. Кинетические кривые ЭБ в плазме крови крыс после однократного введения в различных дозировках

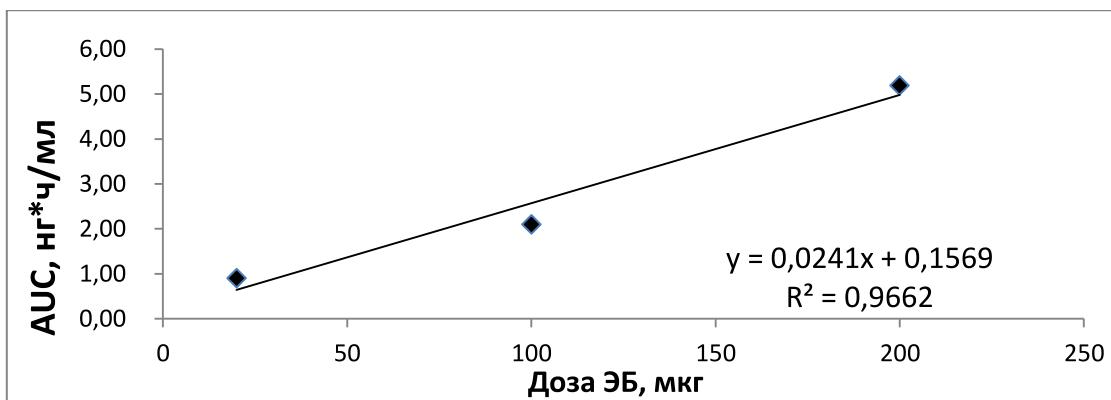


Рисунок 2. Зависимость значений AUC от величин вводимых доз ЭБ

Уравнение линейной регрессии площади под фармакологической кривой имеет вид:

$$Y = 0,024x + 0,156$$

Таким образом, величина свободного члена уравнения не превышала в нашем случае 0,156, что позволяет принять гипотезу линейности изученных доз ЭБ.

По результатам проведенных исследований можно сделать вывод о том, что при приеме внутрь ЭБ всасывается быстро. Максимальная концентрация в плазме крови отмечается через 5-10 мин и составляет порядка 4-6 нг/мл. Попадая в кровоток, ЭБ связывается с белками плазмы крови. Последующее снижение концентрации характеризуется временем полувинного убывания, которое равно порядка 50 мин.

Общее среднее время присутствия препарата в организме (показатель МРТ) составляет порядка 77 мин. Величина кажущегося стационарного объема распределения – показатель V_{ss} – составляет порядка 168 л/кг. Абсолютная биодоступность – 35%. В ферментативных реакциях, протекающих в печени и почках, гидроксильные группы ЭБ взаимодействуют с глюкуроновой кислотой или сульфатирующими агентами. Образующиеся водорастворимые конъюгаты (глюкурониды и сульфаты) — основные формы препарата, экскретируемые с мочой.

Фармакокинетические параметры ЭБ линейны в диапазоне доз 100-1000 мкг/кг.

Литература

1. Fieser L.F., Fieser M. Steroids, Reinhold Publ //Corp., New York. – 1959. – С. 114.
2. Ахрем А.А., Левина И.С., Титов Ю.А. Экдизоны-стериоидные гормоны насекомых // Минск: Наука и техника. – 1973.
3. McMorris T. C., Klambt D., Gooday G. W. Antheridiol and the Oogoniols, Steroid Hormones Which Control Sexual Reproduction in Achlya //Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 1978. – Vol. 284, №1002. – С. 459-470.
4. Khripach V.A., Zhabinskii V.N., de Groot A.E. Brassinosteroids: a new class of plant hormones // Academic Press. – 1998.
5. Khripach V., Zhabinskii V., de Groot A. Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century //Annals of Botany. – 2000. – Vol. 86, №3. – С. 441-447.
6. Ikekawa N., Zhao Y. Application of 24-epibrassinolide in agriculture //ACS Symposium series-American Chemical Society (USA). – 1991.
7. Отчет «Изучение острой токсичности эпибрассинолида и его препаративных форм». Минск: Институт Биоорганической химии НАН Беларуси. – 1991.
8. Отчет «Токсиколого-гигиеническая оценка Эпина». Минск: Санитарно-гигиенический институт Беларуси. – 1995.
9. Отчет «Оценка мутагенной активности эпибрассинолида (активного компонента Эпина) в teste Эймса, хромосомных aberrациях и в микроядерных испытаниях». Серпухов: Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов России. – 1997.

10. Витвицкая Л.В., Никоноров С.И., Тихомиров А.М., Загрийчук В.П. и др. Влияние некоторых токсикантов на поведение молоди русского осетра и токсикопротекторные эффекты биологически активных веществ //Докл. РАН. – 1997. – Т. 352. – С. 842-844.
11. Kolman H. The humoral effects of epin in Siberian Sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) //Archives of Polish Fisheries. – 2001. – Т. 9, №1. – С. 61-69.
12. Дударенко Л.С., Таразевич Е.В., Алексеева А.А. Влияние фитогормона эпибрассинолид на химический состав тела, основные гематологические показатели и ихтиопатологическое состояние растительноядных рыб //Вопросы рыбного хозяйства Беларуси: сборник научных трудов, РУП Институт рыбного хозяйства НАН Беларуси, Минск. – 2006. – №22. – С. 45-52.
13. Егоров М.А. Морфофизиологические эффекты фитогормона эпибрассинолида на позвоночных животных в раннем онтогенезе //Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2003. – Т. 5, №2. – С. 355-362.
14. Шабанова Е.В. Токсикопротекторное воздействие эпибрассинолида на проницаемость гистогематических барьеров некоторых органов неполовозрелых позвоночных //Успехи современного естествознания. – 2003. – №11. – С.137-138.
15. Егоров М.А. Каталазная активность эритроцитов крови животных подверженных действию фитогормона эпибрассинолида и токсикантов в раннем постнатальном онтогенезе //Вестник Оренбургского государственного университета. – 2003. – №5. – С. 125-126.
16. Егоров М.А., Витвицкая Л.В., Тихомиров А.М., Никоноров С.И. и др. Влияние эпина на выживаемость русского осетра //Журнал Рыбное хозяйство. – 1998. – №3-4. – С.37-38.
17. Патент РБ №13037 (2006). Способ повышения жизнестойкости икры рыб.
18. Патент РБ №16646 (2006). Способ повышения жизнеспособности рыб на ранних этапах развития при искусственном рыбоводении.
19. Наджарян Л.А. Биологическое действие 24-эпибрассинолида и токсиколого-гигиеническая оценка регулятора роста растений на его основе (Кандидатская диссертация). Минск: Республиканский научно-практический центр гигиены. 2007.
20. Nadjaran L.A., Afonin V.Y., Voitovich A.M., Kotelenets A.I. et al. The effect of epibrassinolide on the reproductive function of animals. News Biomed Sci. – 2005. – Р. 96-100.
21. Котеленец А.И., Наджарян Л.А., Войтович А.М. Нарушение баланса стероидных гормонов под действием эпибрассинолида. Здоровье и окружающая среда. Минск: Министерство здравоохранения РБ. – 2005. С. 134-138.
22. Наджарян Л.А., Войтович А.М., Афонин В.Ю., Котеленец А.И. и др. Показатели гемопоэза и стероидного обмена у животных при воздействии эпибрассинолида. Современные проблемы токсикологии: науч.-практ. журн. – 2006. – №2. – С. 43-47.
23. Давидовский А.Г., Котеленец А.И., Семенея И.Н., Хрипач В.А. и др. Изучение влияния эпибрассинолида на аперекисное окисление липидов в цитоплазматических мембранах клеток печени и головного мозга. Барановичи: Здоровье и окружающая среда. – 2004. – С. 89-94.
24. Наджарян Л.А. Влияние эпибрассинолида на резистентность эритроцитов. Барановичи: Здоровье и окружающая среда. – 2006. – С. 264-266.
25. Войтович А.М., Котеленец А.И., Шевляков В.В., Афонин В.Ю. и др. Влияние эпибрассинолида на показатели иммунной системы //Современные проблемы токсикологии. – 2006. – №3. – С.33-37.
26. Патент ЕА № 017344 (2008). Способ повышения адаптивности организма к физическим нагрузкам.
27. Патент РБ № 15826 (2009). Способ повышения устойчивости организма млекопитающего к стресс-воздействию.
28. Отчет по теме НИР «Токсиколого-гигиенические исследования 24-эпибрассинолида, его аналога и препаративных форм в соответствии с требованиями госрегистрации». Минск: ГУ Республиканский научно-практический центр гигиены. – 2005.
29. Коваленко Ю.Д., Литвиновская Р.П., Веялкина Н.Н., Адамович А.В. и др. Изучение токсикологических свойств 24-эпибрассинолида в остром эксперименте //Проблемы здоровья и экологии: науч.-практ. журн. – 2010. – №2. – С. 98-102.
30. Коваленко Ю.Д., Завадская М.И., Адамович А.В., Веялкина Н.Н. и др. Токсикологическая оценка 24-эпибрассинолида в хроническом эксперименте //Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – №1. – С. 81-88.
31. Хрипач В.А., Лахович Ф.А., Жабинский В.Н. Брассиностероиды. – Навука і тэхніка, 1993.
32. Стаценко Е.А., Королевич М.П., Сережкина Т.В., Паррамонова Н.А. и др. Способы коррекции показателей липидного обмена у спортсменов // Военная медицина. – 2008. – Т. 9, №4. – С. 102-104.

33. Отчет НИР «Разработать технологию и организовать производство биологически активных добавок к пище на основе растительных стероидов, повышающих адаптивность организма к физическим нагрузкам». Минск: ИБОХНАНБ. – 2007. – №ГР 20073792. – 37с.
34. Moghadasian M. H. Pharmacological properties of plant sterols: in vivo and in vitro observations //Life sciences. – 2000. – Vol. 67, №6. – С. 605-615.
35. Jones P. J. H. et al. Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans //Canadian journal of physiology and pharmacology. – 1997. – Vol. 75, №3. – С. 217-227.
36. Heinemann T., Kullak-Ublick G.A., Pietruck B., von Bergmann K. Mechanisms of action of plant sterols on inhibition of cholesterol absorption //European journal of clinical pharmacology. – 1991. – Т. 40. – №1. – С. S59-S63.
37. Pat. US 6,998,397 (2004). Method for decreasing cholesterol level in blood.
38. Стаценко Е.А. Профилактика и коррекция функционального состояния спортсменов высокой квалификационной категории во время тренировочного процесса (Кандидатская диссертация). Москва: Федеральный научный центр физической культуры и спорта. 2013.
39. Schaller H. The role of sterols in plant growth and development //Progress in lipid research. – 2003. – Т. 42, №3. – С. 163-175.
40. Лукаткин А.С., Каштанова Н.Н., Духовски П. Изменение роста и проницаемости мембран у проростков кукурузы под влиянием эпибрассинолида и тяжелых металлов //Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2013. – №3. – С. 16-18.
41. Ильковец И.М., Соколовский С.Г., Найт М.Р., Волотовский И.Д. Фитогормоны контролируют концентрацию Ca^{2+} в протопластах клеток растений //Вести НАН Беларусь, сер.биол. наук. – 1999. – №3. – С. 58-62.
42. Straltsova D., Chykun P., Subramaniam S., Sosan A. et al. Cation channels are involved in brassinosteroid signalling in higher plants //Steroids. – 2015. – Vol. 97. – P. 98-106.
43. Ogawa K., Nakano Y., Seto H., Asami T. et al. Arteriosclerosis preventing agent containing brassinosteroid derivative. Pat. 2009046443.
44. Franek F., Eckschlager T., Kohout L. 24-Epibrassinolide at subnanomolar concentrations modulates growth and production characteristics of a mouse hybridoma //Collect Czech Chem Commun. – 2003. –Vol. 68. – P. 2190-200.
45. Swaczynová J., Šíša M., Hniličková J., Kohout L. et al. Synthesis, biological, immunological and anticancer properties of a new brassinosteroid ligand //Polish J Chem. – 2006. –Vol. 80. – P. 629-35.
46. Malíková J., Swaczynová J., Kolář Z., Strnad M. Anticancer and antiproliferative activity of natural brassinosteroids //Phytochemistry. – 2008. – Vol. 69. – P.418-26.
47. Wu Y.D., Lou Y.J. Brassinolide, a plant sterol from pollen of *Brassica napus* L., induces apoptosis in human prostate cancer PC-3 cells //Pharmazie. – 2007. – Vol. 62. – P. 392-5.
48. Steigerová J., Okleštiková J., Levková M., Rárová L. et al.. Brassinosteroids cause cell cycle arrest and apoptosis of human breast cancer cells //Chem Biol Interact. – 2010. –Vol. 188. – P. 487-96.
49. Misharin A.Y., Mehtiev A.R., Morozovich G.E., Tkachev Y.V. et al. Synthesis and cytotoxicity evaluation of 22,23-oxygenated stigmastane derivatives //Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2008. – Vol. 16. – P. 1460-73.
50. Хрипач В.А., Жабинский В.Н., Гулякевич О.В., Константинова О.В. и др. Синтез секастерина и 24-эписекастерина и их токсичность в клетках MCF-7 //Журнал биоорганической химии. – 2010. – Т. 36, №6. – С. 815–824.
51. MisharinA.Y., MehtievA.R., ZhabinskiiV.N., KhripachV.A. et al. Toxicity of (22R,23R)-22,23-dihydroxystigmastane derivatives to cultured cancer cells //Steroids. – 2010. – Vol. 75. – P. 287-94.
52. Bhardwaj R., Arora N., Uppal P., Sharma I., Kanwar M.K. Prospects of brassinosteroids in medicinal applications. In: Hayat S., Ahmad A., editors. *Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone*. Dordrecht: Springer. – 2011. – P. 439-58.
53. Okleštiková J., Hoffmannová L., Steigerová J., Kohout L. et al. Natural brassinosteroids for use for treating hyperproliferation, treating proliferative diseases and reducing adverse effects of steroid dysfunction in mammals, pharmaceutical composition and its use. Pat. WO2009/024103.
54. Ogawa K., Nakano Y., Seto H., Asami T. et al. Brassinosteroids as antitumor agents and health foods. Pat. JP2008273866.
55. Lijian X., Qiyuan C. New use of brassinolide in reversing multiple medicine resistance of tumour cell. Pat. CN1491653.
56. Swaczynová J., Malíková J., Hoffmannová L., Kohout L. et al. Anticancer properties of brassinosteroids //Planta Med. – 2006. – Vol. 72. – P. 066.

57. Сыса А.Г., Киселев П.А., Жабинский В.Н., Хрипач В.А. Брацциностероиды – как новые эффекторы монооксигеназ клеток печени млекопитающих //Доклады НАН Беларуси. – 2007. – Т.51, №6. – С. 59-62.
58. Eignerova B., Slavikova B., Budesinsky M., Dracinsky M. et al. Synthesis of fluorinated brassinosteroids based on alkene cross-metathesis and preliminary biological assessment //J Med Chem. – 2009. – Vol. 52. –P. 5753-7.
59. Ramirez J.A., Michelini F.M., Galagovsky L.R., Berra A. et al. Antiangiogenic brassinosteroid compounds. Pat. WO 2013088400.
60. Gan C., Cui J., Huang Y., Jia L., et al. Synthesis and antiproliferative activity of some steroid lactone compounds //Steroids. – 2012. – Vol. 77. – P. 255-9.
61. Hoffmannová L., Steigerová J., Strnad M. Anticancer Activities of Brassinosteroids. In: Pereira-Netto A.B., editor. Brassinosteroids: Practical Applications in Agriculture and Human Health. Bentham Science Publishers. – 2012. – P. 84-93.
62. Rárová L., Zahler S., Liebl J., Kryštof V. et al. Brassinosteroids inhibit in vitro angiogenesis in human endothelial cells //Steroids. – 2012. – Vol. 77. – P. 1502-9.
63. Steigerová J., Rárová L., Oklešťková J., Křížová K. et al. Mechanisms of natural brassinosteroid-induced apoptosis of prostate cancer cells //Food Chem Toxicol. – 2012. – Vol. 50. – P. 4068-76.
64. Obakan P., Arisan E.D., Calcabrini A., Agostinelli E. et al. Activation of polyamine catabolic enzymes involved in diverse responses against epibrassinolide-induced apoptosis in LNCaP and DU145 prostate cancer cell lines //Amino Acids. – 2014. – Vol. 46, №3. – P. 553-64.
65. Romanutti C., Castilla V., Cotoa C.E., Wachs M.B. Antiviral effect of a synthetic brassinosteroid on the replication of vesicular stomatitis virus in Vero cells //Int J Antimicrob Agents. – 2007. – Vol. – 29. – P. 311-6.
66. Castilla V., Larzabal M., Sgalippa N.A., Wachsman M.B. et al. Antiviral mode of action of a synthetic brassinosteroid against Junin virus replication //Antiviral Res. 2005. – Vol.68, №2. – P. 88-95.
67. Wachsman M.B., Ramirez J.A., Talarico L.B., Galagovsky L.R. et al. Antiviral Activity of Natural and Synthetic Brassinosteroids //Current Medicinal Chemistry - Anti-Infective Agents. – 2004. – Vol.3, №2. – P. 163-79.
68. Wachsman M.B., Castilla V., Talarico L.B., Ramirez J.A. et al. Antiherpetic mode of action of (22S,23S)-3b-bromo-5a,22,23-trihydroxystigmasteran-6-one in vitro //Int J Antimicrob Agents. – 2004. – Vol. 23. – P. 524-6.
69. Wachsman M.B., Ramirez J.A., Galagovsky L.R., Coto C.E. Antiviral activity of brassinosteroids derivatives against measles virus in cell cultures //Antivir Chem Chemother. – 2002. – Vol. 13. – P. 61-6.
70. Talarico L.B., Ramirez J.A., Galagovsky L.R., Wachsman M.B. Structure-activity relationship studies in a set of new brassinosteroid derivatives assayed against herpes simplex virus type 1 and 2 in cell cultures //Medicinal Chemistry Research. – 2002. – Vol. 11. – P. 434-44.
71. Wachsman M.B., Lopez E.M.F., Ramirez J.A., Galagovsky L.R. et al. Antiviral effect of brassinosteroids against herpes virus and arenaviruses //Antiviral Chemistry & Chemotherapy. – 2000. – Vol.11. – P. 71-7.
72. Pat. WO № 023073 (2006). Medical uses of 24-epibrassinolide.
73. Ismaili J., Boisvert M., Longpré F., Carange J. et al. Brassinosteroids and analogs as neuroprotectors: synthesis and structure-activity relationships //Steroids. – 2012. – Vol. 77. – P. 91-9.
74. Carange J., Longpré F., Daoust B., Martinoli M.G. 24-Epibrassinolide, a phytosterol from the brassinosteroid family, protects dopaminergic cells against MPP⁺-induced oxidative stress and apoptosis //Journal of Toxicology. – 2011. – Vol. 2011. – P. 392859.
75. Esposito D., Kizelsztein P., Komarnytsky S., Raskin I. Hypoglycemic effects of brassinosteroid in diet-induced obese mice //Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2012. – Vol. 303. – P. E652-8.
76. Muthuraman P., Ravikumar S., Srikumar K. Enhanced expression of hexokinase I mRNA in male rat tissues by homobrassinolide //Prep Biochem Biotechnol. – 2010. – Vol. 40. – P. 256-62.
77. Muthuraman P., Ravikumar S., Vikramathithan J., Nirmalkumar G. et al. Effect of phytohormones on tissue hexokinase and on some blood components in wistar rats //Int J Drug Delivery. – 2010. – Vol. 2. – P. 168-72.
78. Muthuraman P., Srikumar K. Induction of hexokinase I expression in normal and diabetic rats by a brassinosteroid isoform //Eur J Pharm Sci. – 2010. – Vol. 41. –P. 1-9.
79. Muthuraman P., Srikumar K. A plant oxysterol as a regulator of glucose homeostasis //Int J Phytomed. – 2010. – Vol. 2. –P. 139-46.
80. Pat. US 8,530,435 (2008). Brassinosteroids in treating prostatic hyperplasia and androgenic alopecia.

81. Хрипач В.А., Свиридов О.В., Прядко А.Г., Литвиновская Р.П. и др. Иммуноферментный анализ (24R)-брассиностероидов //Биоорганическая химия. – 2007. – Т. 33, №3. – С. 371-378.
82. Патент РБ № 11833. Способ количественного определения 28-гомобрассиностероидов и состав для его осуществления.
83. ТУ BY 100185129.098-2008, изм. №1 «Набор реагентов для определения 24-эпибрассинолида в медицинских препаратах, биологически активных добавках и физиологических жидкостях методом иммуноферментного анализа».
84. Каркищенко Н.Н. и др. Фармакокинетика //Ростов-на-Дону: Феникс. – 2001. – 384с.

ӨСІМДІКТЕРДІҢ СТЕРОИДТЫҚ ГОРМОНДАРЫ: МЕДИЦИНАЛЫҚ АСПЕКТІЛЕР ЖӘНЕ ФАРМАКОКИНЕТИКАЛЫҚ ЗЕРТТЕУЛЕР

A.L. Савчук, R.P. Литвиновская, V.M. Насек, E.V. Санько-Счисленок,

*В.Н. Жабинский, В.А. Хрипач**

e-mail: khripach@iboch.bas-net.by

Беларусь Республикасы ҮФА Биоорганикалық химия институты, Минск қ.,

Беларусь Республикасы

Шолуда жылы қандыларға қатысты брассиностероидтардың әсерінің медициналық аспекттілері бойынша мәліметтер келтірілген. Олардың ішінде токсикология, антихолестеринемиялық әсері, жегіге карсы қолданылатын, анаболикалық, адаптогендік, антивирустық және басқа да әсерлер бар. Егуқүйірқұтарға жасалған тәжірибелерде 30 мкг/кг мөлшермен асқазан ішіне бір рет енгізгенде 24-эпибрассинолидтің негізгі фармакологиялық параметрлері бағаланды. Плазмада 24-эпибрассинолидті анықтаудың иммундық-ферменттік әдісі пайдаланылды. Фармакокинетикалық параметрлердің 100-1000 мкг/кг диапазонда сзығыстық болып табылатындығы көрсетілді.

PLANTS STEROID HORMONES: MEDICAL ASPECTS AND PHARMACOKINETIC STUDIES

A.L. Savchuk, R.P. Litvinovskaya, V.M. Nasek, E.V. Sanko-Schislenok, V.N. Zhabinsky,

*V.A. Chripach**

e-mail: khripach@iboch.bas-net.by

Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus

The review presents data on medical aspects of brassinosteroids action in point of homioiothermal. Among them are toxicology, anticholesterolic effect, antitumor, anabolic, adaptogenic, antiviral and other effects. In the experiments in rats the evaluation of the basic pharmacological parameters of 24-epibrassinolide after a single intragastric administration at a dose of 30 µg/kg was made. Immunoenzyme method of determining 24-epibrassinolide in plasm was used. It showed that pharmacokinetic parameters were linear in the range of 100-1000 µg/kg.

Лекарственные препараты на основе экдистероидов
живучки туркестанской
(Ajuga turkestanica Regel. Brig.)

ЭКСУМИД

**биологическая активная добавка
адаптогенного действия**

Состав

Активные вещества - сумма экдистерона 2,5 мг, туркестерон (не менее 2,5%) и 12 мг придоиды.

Фармакологические свойства

Проявляет тонизирующее действие, стимулирует работоспособность, предохраняет от негативного воздействия различных стрессорных факторов. Под действием эксумида усиливается биосинтез протеина в организме, особенно в мышечной ткани, стимулируется эритропоэз и иммуногенез. Вызывает благоприятные сдвиги в углеводном, липидном и электролизном обменах, улучшает физическое и психическое состояние, повышает функциональные возможности организма. Также корректирует нарушенный метаболизм в органах и в тканях при различных патологических состояниях и способствует восстановлению их функций, задерживает преждевременное старение организма.

Показания к применению

У взрослых в качестве тонизирующего средства: астенодепрессивный синдром (связанный с ослаблением белоксинтезирующих процессов: при длительных интоксикациях, инфекциях), неврастения. В составе комбинированной терапии - артериальная гипотензия, интенсивные тренировки (дисфункция ССС, особенно с выраженным признаками перенапряжения миокарда и усилением белкового катаболизма), в качестве ЛС, повышающего скоростно-силовые качества в период подготовки к соревнованиям.

Способ применения и дозы

Внутрь, до еды, по 5-10 мг 3 раза в день. Курс лечения - 15-20 дней. При необходимости он может быть повторен после 1-2 нед перерыва. В спортивной медицине - по 0,01-0,02 г 3 раза в день в течение 2-3 нед. Высшие дозы для взрослых внутрь: разовая - 0,025 г, суточная - 0,1 г. Для достижения оптимального анаболического эффекта одновременно с применением экдистерона больной должен получать с пищей адекватные количества белков, жиров, углеводов, витаминов и минеральных веществ.

Побочные действия

У больных с лабильной нервной системой возможны бессонница, повышение АД. В этих случаях уменьшают дозу или прекращают вечерний прием препарата.

Противопоказания к применению

Гиперчувствительность, психическое возбуждение, бессонница, артериальная гипертензия, эпилепсия, гиперкинез.

Форма выпуска
таблетки 0,2 г.

Производитель

ОПП Института химии растительных веществ им. Юнусова С.Ю. АН РУз., г. Ташикент, Республика Узбекистан.



WHAT ARE ECDYSTEROIDS: INSECT HORMONES, ESSENTIAL MAMMALIAN D-VITAMINS OR POLAR STEROLS USED FOR GROWTH IN PLANTS?

Karel Sláma

e-mail: slama@entu.cas.cz

Czech Academy of Sciences Institute of Entomology, Ceske Budejovice, Czech Republic

The theories of insect hormone action were created some 50-years ago by professional insect endocrinologists. Unfortunately, the scientists slowly passed out and their original results are almost inaccessible. I am one of a few old-fashioned endocrinologists who has survived. The modern topics and priorities are mostly concerned with the isolation of receptors, enzymes (e.g. esterase) and genes (e.g. Met) in the peripheral target tissues. By contrast, the most important hormones of the central neuroendocrine system (i.e. neuropeptides of the neurosecretory cells of the brain, corpora cardiaca, corpora allata) are usually neglected. I found, for example, that ecdysone and ecdysteroids, which were accidentally discovered in the search for an insect moulting hormone, are not true insect hormones. Moreover, the sesquiterpenoid JH-I, which is still believed to be the true juvenile hormone (JH), is also not an insect hormone. Indeed, JH-I turns out to be just one of 4000 juvenoid bioanalogues, mimicking the JH action. The JH-I is a trivial excretory product of exocrine, not endocrine, colleterial glands of the male *Cecropia*, *Hyalophora cecropia* (Linnaeus, 1758) silk-worms. This paper describes briefly some neglected physiological problems of insect hormone action with the aim to encourage discussions about their interpretations.

The history of insect hormones begins by the discovery of insect brain hormone by Stefan Kopeć in 1917. The next important milestone in the history of insect hormones was the elucidation of the inhibitory role of juvenile hormone (JH) in insect metamorphosis by Sir Vincent B. Wigglesworth in 1936. Another important step was the discovery of JH activity in the lipid extracts of adult male *Cecropia*, *Hyalophora cecropia* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Saturniidae) silkworms by Carroll M. Williams in 1957, followed by the isolation of the first chemical compound with JH activity from the excrements of the beetle *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) by Peter Schmialek in 1961. The active compound appeared to be a trivial sesquiterpenoid alcohol farnesol, which attracted the attention of JH research to isoprenoid chemistry. In 1965, C. M. Williams and Karel Sláma unexpectedly uncovered a «paper factor» with JH activity, which was later identified as an alicyclic isoprenoid compound, juvabione from the wood of the Canadian balsam fir, *Abies balsamea* (L.) Mill. At the same time, Herbert Röller and his co-workers identified the JH-active principle from the *Cecropia* extracts as an ester of a sesquiterpenoid acid, 10,11-epoxy-7-ethyl, 3,11-di methyltrideca-2,6,-dienoic (homofarnesoic) acid, which became generally known as JH-I, believed to be the true JH of insects (for a review and references, see Sláma 2013).

The physiological role of JH in insect development, metamorphosis and reproduction was first elucidated by Sir V. B. Wigglesworth in 1940, using his favourite insect *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 (Exopterygota: Heteroptera: Reduviidae). Among endopterygote insects, the ground stone of insect hormone action was laid down in 1938 by Jacques J. Bounhiol, who investigated larvae and pupae of the commercial silkworm, *Bombyx mori* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Bombycidae). Perhaps the most important theoretical analysis of insect hormones was made by C. M. Williams, after 1947. He performed excellent surgical experiments based on induction of development in diapausing pupae by transplantations of the active brains from developing pupae, using the giant American *Cecropia* silkworm, *H. cecropia* (Lepidoptera: Saturniidae). In 1952, Williams proposed the first consolidated theory of insect hormone action (review by Williams 1952). According to the indicated hormonal concept, which is generally known as the brain-prothoracic gland (PG) theory of Williams, the developmental cycles are stimulated by the moulting hormone (growth and differentiation hormone), produced by the PG in response to the hormone released from the brain. The possible involvement of PG in developmental regulations came from the previous work of Soichi Fukuda (1944) in silkworm larvae. However, the attempts of Williams to induce development of diapausing pupae by implantations of PG alone failed. Later, Williams (1987) honestly un-

founded his brain-PG theory after finding a large depot of ecdysteroid in the pupal intestine of *Manduca*, with the disintegrated PG.

In 1951, Hans Piepho proposed a simplified model of insect hormone action. He transplanted small pieces of larval epidermis into pupae and, conversely, pieces of pupal epidermis into the larvae of the wax moth, *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae). The implants made cyst-like regenerates in the course of the moulting cycles of the host. The cuticle was deposited on the inner side of the implants. Observations on the fate of the implanted epidermis led Piepho to conclude that the polymorphic larval, pupal and adult structures were determined simply by the respectively high, medium or zero concentrations of JH in the haemolymph. According to this theory, for example, cells of the pupal epidermal implants developed backwards into the larval patterns under the high JH concentration in the young larval instars. The theory of Piepho was very attractive, but practically unaccountable. The results have never been repeated and verified. Unfortunately, the theory received large credibility after being approved by the authority of Sir Vincent B. Wigglesworth (1954). After 1959, endocrinologists Howard A. Schneiderman and Lawrence I Gilbert created and advertised a combination of the brain hormone-PG theory of Williams (1952) and the large-medium-zero JH theory of Piepho (1951). Their model of insect hormone action, which can be observed in Figure 1, became the widely disseminated theoretical model of insect hormone action (Schneiderman and Gilbert 1965; Novak 1966; Sláma 2013, 2015; Sláma et al. 1974).

Figure 1. The widely accepted and long time used model of insect hormone action (modified by Sláma 2013). The essential axioms are: 1. The developmental cycles are stimulated by a moulting hormone released from the prothoracic glands in response to a hormone released from the brain (Williams 1948, 1952; unfounded by Williams 1987); 2. Larval, pupal and adult epidermal structures are determined by the respectively large, medium or zero concentrations of juvenile hormone (Piepho 1951; Wigglesworth 1954; Schneiderman and Gilbert 1961, 1964; Gilbert 2012; Riddiford 2012; Jindra et al. 2013).

The mysterious moulting hormone

Since the beginning of insect hormone research, endocrinologists thought that, in addition to the brain hormone, there was a special hormone for stimulation of the moulting cycles (Wigglesworth 1935 in *Rhodnius*; Bounhiol 1938 and Fukuda, 1944 in *Bombyx*; Novák 1949 in *Oncopeltus* (Hemiptera: Lygaeidae); and various German authors in *Ephestia* (Pyralidae), *Galleria* and other species; reviewed by Pflugfelder 1958). The existence of special moulting hormone produced by the PG in response to a prothoracotropic hormone (PTTH) of the brain (Figure 1) became the crucial theoretical axiom for two generations of insect physiologists, biochemists, and molecular biologists (reviewed by Nijhout 1994, Nation 2002, Riddiford 2012, Gilbert 2012). Anatomically, due to their branched structure perhaps the PG of insects are most difficult insect organ to remove. Nevertheless, the gland was removed from the living insect body by several authors (Sláma 1998). In 1983, I removed the PG from several hundred penultimate and last instar larvae of *Galleria* (Sláma 1983). The PG-ectomised larvae performed successfully a regular sequence of the moulting cycles (larval-larval, larval-pupal and pupal-adult moults), which provided experimental evidence that these glands were used for physiological functions other than stimulation of the moults. The final evidence that the theory of Piepho did not correspond to reality was provided by Sláma (1975), who demonstrated for the first time that insect epidermal cells have only two developmental options, not three. Two decades later, it was determined by the scanning electron microscopy (SEM), that the insect epidermal cells could either repeat the extant structures under influence of JH or develop structures of the next developmental stage in the absence of JH (the «all or none» rule in responses of individual cells to JH; Sláma and Weyda 1997).

Recent investigations reveal that the PG of insects are exclusive targets of JH, not PTTH of the brain as it is currently anticipated (Riddiford et al. 2003, Gilbert 2012). The true physiological function of PG depends on the production of special, hitherto unknown, adipokinetic superhormone, which enables the juvenile, young larval instars to grow and survive on dry food. The hormone stimulates the augmented supply of metabolic water by the total combustion of the dietary lipid (Sláma and Lukáš 2013). This relatively prosaic hormonal role of the PG has been overshadowed

by 50 years of persistent belief in the falsified hypothesis that the PG produced the moulting hormone.

Ecdysone and ecdysteroids

The polyhydroxylated derivatives of 7-dehydrocholesterol, generally known as ecdysone or ecdysteroids, were accidentally discovered by the German chemist, Peter Karlson, in the search for the insect moulting hormone. In 1965, I used to work with the late C. M. Williams at Harvard University. I remember that he received a sample of ecdysone from P. Karlson for his assays on *Cecropia* silkworms. The sample stimulated development of the diapausing pupae of *Cecropia*, which was considered at that time as a positive response of the moulting hormone from the PG. Based on this information and the Williams's brain-PG theory, Karlson defined the biological status of ecdysone as the moulting hormone of the PG (Karlson 1966). Ironically, this categorical definition of ecdysone survived unchanged until this time, in spite of the fact that C. M. Williams unfounded his original, brain-PG theory in 1987. The term ecdysone is also misleading. It was proposed in good faith of a chemist that the act of ecdysis, which means shedding off the old cuticle, was the same as the moult. Ecdysis is a neuromuscular physiological phenomenon triggered by special feed-back from the peripheral organs and stimulated exclusively by the myotropic peptides from the brain and the corpus cardiacum. Actually, ecdysone and ecdysteroids strongly inhibit, not stimulate, the act of insect ecdysis (Sláma 1980; for review and references see Sláma 2015b). In mammals, ecdysteroids exhibit a plethora of important pharmacological effects that are similar to the structurally related, 7-dehydrocholesterol derivatives of the sterolic D-vitamins (review by Sláma and Lafont 1995). Unfortunately, persistent belief in the arthropod moulting hormone hindered clinical investigations of the beneficial, vitamin-like effects of ecdysteroids in human medicine.

In 1966, almost immediately after disclosure of the crystallographic structure of ecdysone, phytochemists reported a widespread occurrence of ecdysone derivatives in a number of species of lower and higher plants (review by Sláma 1979, Sláma et al. 1974). Certain plants contained incredible amounts of these «insect moulting hormones». For example, just a gram of rhizomes of the fern *Polypodium* contained as much ecdysteroid as did 500 kilograms of silkworm pupae used for the extraction of ecdysone by Karlson. Recent phytochemists and information that can be retrieved from Internet still declare that «ecdysteroids are the arthropod moulting hormones». The chemists differentiate between the phytosterols and zoosterols (phyto- and zoo-ecdysteroids), without being aware of the fact that the typical zoosterol, 7-dehydrocholesterol, is preferentially hydroxylated by plant tissues and thus disappears from the pool of the free plant sterols. This statement is documented by a Siberian plant *Leuzea carthamoides* (Asteraceae) which contains 700-fold more of the polyhydroxylated, 7-dehydrocholesterol (20-hydroxyecdysone) in comparison with the true phytosterols, ergosterol and β-sitosterol (Stránský et al. 1998).

According to Sláma (1980, 1999, 2015a, b), ecdysteroids are not insect hormones. Instead, they are homeostatic tissue factors synchronizing growth of epidermal tissues with the secretion of new cuticle. The endogenous peaks of ecdysteroid in the haemolymph are not a cause but a consequence of determined stages of the inherited morphogenetic process. Insects do not synthesize the sterol nucleus. They take it from food or symbiotic bacteria. According to a sterol utilization hypothesis (Sláma 1988), the nonfeeding metamorphosis stages of endopterygote insects reutilize the structurally bound 7-dehydrocholesterol derived from the outlived, disintegrated larval tissues, by its conversion into partly water soluble ecdysteroid, which is needed for the construction of membranes in the newly proliferating imaginal tissues (Figure 2).

Figure 2. Schematic outline of sterol reutilisation during insect metamorphosis (from Sláma 1998, modified).

Due to predominating chemical and molecular interests, the exact determination of the biological status of ecdysteroids as well as juvenoids is less important than the determination of their receptors (Jindra et al. 2015). A textbook definition of an animal hormone states that it is a chemical compound produced by specialized cells of the endocrine glands, which is released into circulatory system for the regulation of growth and metabolism in distant target tissues. Ecdysone and ecdysteroids are evidently breaching this definition, because they are liberated from multiple disintegrat-

ing peripheral tissues, not only from the deteriorated PG (Sláma 2015a). During the past five decades, the academic and industrial complex has developed circa 4,000 of mostly synthetic bioanalogues of insect JH (juvenoids, Sláma 1999). However, only one of them, the sesquiterpenoid epoxyhomofarnesoate ester, known as the JH-I, found in the male abdomens of *Cecropia* silkworms, was advertised as the true JH. Yet, well before 1965, JH-activity was encountered in a number of lipid extracts prepared from microorganisms and plants, from ordinary milk cream, human placenta, adrenal cortex of vertebrates and some, but not all, insects. Many scientific papers have described the properties and the mode of action of JH-I (Gilbert 2012). However, I never considered that epoxyhomofarnesoate ester could be the true JH, because it was more than a million-fold less active in comparison with certain, synthetically prepared peptidic juvenoids (Sláma et al. 1974).

Recent investigations (Paroulek and Sláma 2014) provide clear experimental evidence that the isoprenoid JH-I cannot represent the true corpus allatum hormone. It constitutes, together with the isoprenoid vitamin E, an excretory product of the exocrine, not endocrine, colleterial gland of the male *Cecropia* silkworm. Its function is to stabilise sperm survival within the male ejaculate. In addition, the isoprenoid JH-I does not play any other physiological role in the non-feeding, adult stage of the silkworms, which have completely inactive corpora allata. The production of JH-I in purely exocrine, not endocrine, colleterial gland evidently breaches the general definition of an animal hormone (Sláma 2015a).

What are the true insect hormones?

Provided that the low-molecular compounds, ecdysone and JH-I are not the true insect hormones, a question arises what are then the real metamorphosis hormones of insects, where they originate and what are their physiological functions? During the past 100 years, insect endocrinologists accumulated a lot of data concerning the structure and function of the central neuroendocrine system (Raabe, 1982). This system is composed of neurosecretory cells in the insect brain, the neurohaemal organ, known as corpora cardiaca, and the glandular organ, known as corpora allata (Hanstrom 1939, Scharrer and Scharrer 1944, Pflugfelder 1958, Novák 1966, Sláma et al. 1974). The central neuroendocrine system underwent specific modifications during millions of years of animal phylogenesis. The hormones of the central neuroendocrine system are mostly peptides or proteins. In contrast to the low molecular regulatory substances, their action needs to be prolonged over many minutes, hours or even days. This is achieved by extremely high biological activity of the proteinic hormones (10-9M conc.), which is practically out of the reach of the inactivating aminopeptidase enzymes (First order kinetic close to 10-6M). Earlier experiments based on removal or transplantation of the main endocrine centers revealed the presence of basically two categories of endocrine developmental regulations.

Figure 3. Schematic outline of the hormonal control of insect metamorphosis by a simple interaction of two hormones released from the central neuroendocrine system: a) Neuropeptides (AH) produced in the neurosecretory cells of the brain and released into haemolymph from the corpora cardiaca; b) The morphogenesis inhibiting hormone (JH) secreted by the corpora allata. According to hormonal theory of Novák-Sláma, AH stimulates the cycles of cell proliferation (moult cycles) between the genetically predetermined start-stop positions. The presence of JH (upward direction) temporarily «freezes» the attained ontogenetic stage («the status quo» effect) by the induction of isometric cycles of larval somatic growth. (From Sláma 1995, 2013 with modifications).

The first category included the peptidic neurohormones of the neurosecretory cells, which were known in the old times as the Gomori-positive materials. The active material was produced in neurosecretory cells, transported along their axons into the neurohaemal glands, corpora cardiaca, from where it was released into the haemolymph. The complex of hormones produced by the central or lateral groups of the neurosecretory cells (Raabe 1982) was named by pioneers of insect endocrinology as the activation hormone (AH) (Novák 1966).

Today, we know more than a dozen of immunoreactive neuropeptides synthesized in the neurosecretory cells of the brain and ganglia of the ventral nerve cord (Nässel 2002). Unfortunately, it is not known whether some of the known neuropeptides are the brain hormone of Kopeć and Williams. The neuropeptides (AH) of the brain stimulate growth, cell proliferation, and coordination of

moultling cycles with the favourable environmental conditions (long day, increased temperature, availability of food).

The second category of insect hormones is the metamorphosis-inhibiting juvenile hormone (JH) secreted by the corpora allata. This hormone never acts alone. Instead, it always only modifies the action of the AH by installing stationary somatic growth in the feeding larvae or ovarian growth in the adults. The starved larvae or starved females do not initiate the cycles of growth, there is no AH, no growth so that the functions of JH alone cannot be executed. A unique feature of JH among the animal hormones is the occurrence of several thousands of the human made, synthetic bioanalogues (Henrick 1995; Sláma 1985, 1999, 2013; Sláma et al. 1974), which mimic exactly all effects of the hormone produced in insect corpora allata.

Recent topics of insect hormone research have been modernized and transferred from physiology into biochemistry and molecular biology. However, the old physiological problems remained unresolved. The new generations of scientists tend not to test 50-years-old hypotheses and their methods are different. There are new theories which propose that, instead of being regulated by the centrally produced hormones (AH, JH), insect development is regulated from the periphery, by enzymes (e.g. esterase) or genes (Met, broad spectrum genes) of the subordinated, peripheral target tissues (Devillers 2013, Jindra et al. 2013, 2015). The central neuroendocrine system (AH, JH) acquired during evolution the dominant, epigenetic control over the genes displaced on chromosomes of their peripheral tissue targets. In other words, the centrally produced hormones evolved the ability to tell the peripheral genes when comes the right time for execution of their inherited developmental instructions coded on the genome. The hormonal instructions are synchronised with the favourable environmental conditions (Sláma 2015a). A simplified developmental scheme illustrating regulation of insect development and metamorphosis by interplay of the two centrally produced hormones, AH and JH, is illustrated in

Figure 3.

Evolutionary pathways in animal endocrinology

Anatomical and morphological structures of the neuroendocrine system show distinctive evolutionary changes during the animal phylogeny. There are simple neurosecretory neurons occurring already around prostomium of coelenterates (Cnidaria). There are also distinctive secretory neurons in the cephalic ganglia of flatworms (Platyhelminthes) and segmented worms (Annelida), and the associated endocrine glands in cephalopods (Mollusca) and arthropods (Sláma 1982). The principal hormonal systems of invertebrates and vertebrates show striking structural and functional analogies.

According to Devillers (2013), 37% genes found in the genome of *Drosophila* have their counterparts in the human genome. Moreover, the primordial formation and function of insect heart are orchestrated by similar sets of the genes that are used for the human heart. The contractions of the myocardium are both present in the human and insect hearts based on absolutely similar, involuntary, purely myogenic principles (Sláma 2012). During the 1940s, physicians studying the action of human hormones noticed the striking similarities between anatomical structures of the neuroendocrine systems of insects and humans (Hanstrom 1939, Scharrer and Scharrer 1944). A schematic outline of these similarities is presented in Figure 4. It shows apparent homology between anatomical and morphological structures of the neurosecretory cells located in the human hypothalamus and in the central and lateral pars of insect brains. There are further structural and functional homologies between the human neurohypophysis and the corpora cardiaca of insects and also between the glandular adenohypophysis and the corpora allata of insects.

The scheme in Figure 4 contains one serious disproportion related to chemical structure of the corpus allatum hormone. Namely, the glandular adenohypophysis, which is apparently homologous with the c. allatum, produces exclusively proteinaceous hormones while the corpus allatum of insects is thought to synthesize a low-molecular, sesquiterpenoid JH-I. Theoretically, a possible evolutionary switchover between the proteinic and isoprenoid hormone of the identical biological function can hardly be imagined. It is highly demanding, therefore, to take into account the previous conclusions of Novák (1966) and Sláma et al. (1974) about possible proteinic nature of the corpus allatum hormone (Sláma 2015a).

Figure 4. Evolutionary links between the neuroendocrine systems of insects and humans. The homologous endocrine structures are: a) neurosecretory cells (NSC) of insect brain and the NSC of mammalian hypothalamus; b) neurohaemal organs represented by corpora cardiaca in insects and neurohypophysis of the mammals, and; c) endocrine glands represented by corpora allata of insects and adenohypophysis of the mammals (adapted from Sláma 2015a).

Modern biological sciences that use insects as study organisms, such as molecular biology, genetics of *Drosophila*, biochemistry and peptide chemistry, made a great leap forward during the past decades, leaving insect morphology and physiology of insect development far behind. The scope of insect science has been moved into new, previously unknown fields. There are many recent papers on insect juvenile hormone, with 4000 of its bioanalogues, although I believe that we still do not know chemical structure of the true corpus allatum hormone. I wonder how we can arrive to meaningful results, if we still follow pathways that I consider misleading. The above described, physiological interpretations of insect hormone action may hopefully help to find better experimental approaches.

Contrasting perspectives on insect endocrinology: a summary

According to Sláma (2013), there are two explanations for the action of insect hormones. The commonly recognized theory of Gilbert and Riddiford, which proposes that insect development is stimulated by a moulting hormone released from the prothoracic glands (PG) in response to the prothoracotropic hormone (PTTH) of the brain. The larval, pupal or adult epidermal structures of insects are formed in response to the respectively high, medium or zero concentrations of JH (Figure 1). Alternatively, the theory of Novák and Sláma proposes that the PG do not secrete a moulting hormone. Instead, the PG are the exclusive target of JH, not PTTH, functioning and releasing their hormone only during the feeding period of the young larval stages. Novák and Sláma consider the concentration of JH to be unimportant, as long as there is, at least, a minimum physiologically effective JH concentration. The hormones produced by the central neuroendocrine system play a superimposed, or epigenetic, role on subordinated genes present on the chromosomes of the peripheral tissue or cells. In contrast, the Gilbert-Riddiford interpretation of JH action, which can be found in most recent publications, proposes that genes of the peripheral somatic cells are responsible for the action of the centrally produced hormones (Riddiford 2012, Jindra et al. 2013, 2014, reviewed by Gilbert 2012).

A recent monograph on insect JH (Devillers 2013a, b) infers that juvenile hormones are all isoprenoids (Jindra et al. 2013). Moreover, the most recent report on JH signaling states that the mechanisms underlying the action of JH were until recently unknown (Jindra 2014, Jindra et al. 2015). A breakthrough has been the presented demonstration that the bHLH-PAS protein Met is an intracellular receptor for JH. Binding of JH to Met triggers dimerization of Met with its partner protein Tai, and the resulting complex induces transcription of target genes. This simple, JH-activated pathway is responsible for maintaining the juvenile status during the early postembryonic development when larvae/nymphs lack competence to metamorphose (Jindra et al. 2015).

In the light of the above described, straight-forward molecular pathways, the 50-year-old sophistications about interactions between PTTH, PG, ecdysteroids, JH-I, peripheral enzymes and genes could be easily reconciled. In contrast to this, however, the most recent papers of Sláma (2013, 2015a) deny the regulatory role of the peripheral enzymes and genes in the control of insect hormone action which is, however, a common interpretation of hormonal action found in the most recent publications (Smith and Rybczynski 2012; Hui et al. 2013; Yamanaka et al. 2013; Smýkal et al. 2014a, b). In addition to the resolved role of JH signaling (Jindra et al. 2015) and the contradictory, epigenetic role of insect hormones (Sláma 2013, 2015a), there are also other interpretations of the hormonal action, based on biochemical, not physiological, considerations (Schooley et al. 2012; De Loof et al. 2013, 2014).

Acknowledgements

I am indebted to all anonymous reviewers who understand alternative interpretations of insect hormone action.

Literature

Generally, the amount of literature data pertaining to the hormonal theory of Gilbert-Riddiford is enormous (review by Gilbert 2012). Since the alternative, endocrinological interpretations of Novák-Sláma are almost unknown, I am presenting here a more extensive list of the related references.

1. De Loof, A., B. Boerjan, U. R. Ernst, and L. Schoofs. 2013. The mode of action of juvenile hormone and ecdysone: Towards an epi-endocrinological paradigm? General and Comparative Endocrinology 188:35–45. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.02.004>
2. De Loof, A., W. De Haes, T. Janssen, and L. Schoofs. 2014. The essence of insect metamorphosis and aging: Electrical rewiring of cells driven by the principles of juvenile hormone-dependent Ca²⁺-homeostasis. General and Comparative Endocrinology 199:70–85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.01.009>
3. Devillers, J. 2013a. Juvenile hormones and juvenoids. Modeling biological effects and environmental fate. CRC Press, Taylor and Francis Group. Boca Raton, Florida, USA. 387 pp. <http://dx.doi.org/10.1201/b14899>
4. Devillers, J. 2013b. Juvenile hormones and juvenoids: A historical survey. In, Devillers J. (Editor): Juvenile Hormones and Juvenoids. Modeling Biological Effects and Environmental Fate. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA, pp. 1-14. <http://dx.doi.org/10.1201/b14899-2>
5. Fukuda, S., 1944. The hormonal mechanism of larval moulting and metamorphosis in the silkworm. Journal of Faculty of Science, Tokyo University. Section IV 6:477–532.
6. Gilbert, L. I. 2012. Insect Endocrinology. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands. 577 pp.
7. Hanström, B. 1939: Hormones in Invertebrates. Oxford University Press. London, England; Edinburgh, Scotland, UK. 198 pp.
8. Henrick, C. A. 1995. Juvenoids. pp. 147–213. In, Godfrey C. R. A. (Editor). Agrochemicals from natural products. Marcel Dekker. New York, NY, USA. 418 pp.
9. Hui, J. H. L., W. G. Bendena, and S. S. Tobe. 2013. Future perspectives for research on the biosynthesis of juvenile hormones and related sesquiterpenoids in Arthropod endocrinology and ecotoxicology. In, Devillers, J. (Editor) Juvenile Hormones and Juvenoids. Modeling Biological Effects and Environmental Fate. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA, pp. 15-30. <http://dx.doi.org/10.1201/b14899-3>
- 10.Jindra, M. 2014. Met/Gce is a bona fide JH receptor. Plenary Lecture. In, Proceedingsv of 10th International Conference on Juvenile Hormones. National Institute of Agrobiological Sciences. Tsukuba, Japan, P. 5.
- 11.Jindra, M., S. R. Palli, and L. M. Riddiford. 2013. The juvenile hormone signaling pathway in insect development. Annual Review of Entomology 58, 181–204. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153700>
- 12.Jindra, M., X. Bellés, and T. Shinoda. 2015. Molecular basis of juvenile hormone signaling. Current Opinion in Insect Science 11:39–46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2015.08.004>
- 13.Kopeč, S. 1922. Studies on the necessity of the brain for the inception of insect metamorphosis. Biological Bulletin 42:223–242. <http://dx.doi.org/10.2307/1536759>
- 14.Nation, J. L. 2002. Insect Physiology and Biochemistry. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 485 pp.
- 15.Nässel D. R. 2002. Neuropeptides in the nervous system of *Drosophila* and other insects: multiple roles as neuromodulators and neurohormones. Progress in Neurobiology 68:1–84. [http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0082\(02\)00057-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0082(02)00057-6)
- 16.Nijhout, H. F. 1994. Insect Hormones. Princeton University Press. Princeton, New Jersey, USA. 267 pp.
- 17.Novak, V. J. A. 1966. Insect Hormones. Methuen. London, UK. 478 pp.
- 18.Paroulek, M. and K. Slama. 2014. Production of the sesquiterpenoid, Juvenile Hormone-1 (JH-I), and of Vitamin E in the accessory sexual (colleterial) glands of adult male moths, *Hyalophora cecropia* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Saturniidae). Life: The Excitement of Biology 2(1):102-124. [http://dx.doi.org/10.9784/LEB2\(2\)Paroulek.01](http://dx.doi.org/10.9784/LEB2(2)Paroulek.01)
- 19.Pflugfelder O. 1958. Entwicklungsphysiologie der Insekten. Akademische Verlagsgesellschaft Geest und Portig. Leipzig, Germany. 490 pp.
- 20.Piepho, H. 1951. Über die Lenkung der Insektenmetamorphose durch Hormone. Verhandlungen Deutschen Zoologischer Gesellschaft (Wilhelmshaven) 1951:62–75.
- 21.Raabe, M. 1982. Insect Neurohormones. Plenum Press. New York, NY, USA. 352 pp. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4684-4013-3>

22. Riddiford, L. M. 2012. How does juvenile hormone control metamorphosis and reproduction? General and Comparative Endocrinology 179:477–484. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygeen.2012.06.001>
23. Riddiford, L. M., K. Hiruma, X. Zhou and Ch. A. Nelson. 2003. Insights into the molecular basis of the hormonal control of molting and metamorphosis from *Manduca sexta* and *Drosophila melanogaster*. Insect Biochemistry and Molecular Biology 33:1327–1336. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibmb.2003.06.001>
24. Röller, H. and J. S. Bjerke. 1965. Purification and isolation of juvenile hormone and its action in Lepidopteran larvae. Life Sciences 4:1617–1624. [http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205\(65\)90141-4](http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205(65)90141-4)
25. Röller, H., J. S. Bjerke, L. M. Holthaus, D. W. Norgard, and W. H. McShan. 1969. Isolation and biological properties of the juvenile hormone. Journal of Insect Physiology 15:379–389. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1910\(69\)90285-6](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1910(69)90285-6)
26. Scharrer, B. and E. Scharrer. 1944. Neurosecretion. VI. A comparison between the intercerebralis-cardiacum-allatum system of insects and the hypothalamo-hypophysial system of vertebrates. Biological Bulletin 87:242–251. <http://dx.doi.org/10.2307/1537959>
27. Schooley, D. A., M. Horodyski, and G. M. Coast. 2012. Hormones controlling homeostasis in insects. In, Gilbert L. I. (Editor). Insect Endocrinology. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands, p. 366–429. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384749-2.10009-3>
28. Schmialek, P. 1961. Die Identifizierung zweier in Tenebriokot und in Hefe vorkommender Substanzen mit Juvenilhormonwirkung. Zeitschrift für Naturforschung 16b:461–464.
29. Schmialek, P. 1963a. Über die Bildung von Juvenilhormonen in Wildseidenspinnern. Zeitschrift für Naturforschung 18b:462–465.
30. Sláma, K. 1975. Some old concepts and new findings on hormonal control of insect morphogenesis. Journal of Insect Physiology 21:921–955. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1910\(75\)90019-0](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1910(75)90019-0)
31. Sláma, K. 1979. Insect hormones and antihormones in plants. In, Rosenthal G.A. and D. H. Jansen (Editors). Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolites. Academic Press. New York, NY, USA and London, England, UK, pp. 683–700.
32. Sláma, K. 1980. Homeostatic function of ecdysteroids in ecdysis and ovi position. Acta Entomologica Bohemoslovaca 77:145–168.
33. Sláma, K. 1982. Hormonal control of morphogenesis in Invertebrates, evolutionary aspects. Journal of General Biology (Moscow) 43:805–822.
34. Sláma, K. 1983. Illusive functions of the prothoracic gland in *Galleria*. Acta Entomologica Bohemoslovaca 80:160–176.
35. Sláma, K. 1998. The prothoracic gland revisited. Annals of the Entomological Society of America 91:168–174. <http://dx.doi.org/10.1093/aesa/91.2.168>
36. Sláma, K. 1999. The history and current status of juvenoids. In Robinson, W. M., F. Rettich, and G. W. Rambo (Editors). Proceedings of 3rd International Conference on Urban Pests. July 19–22, 1999. Hronov, Czech Republic, p. 9–25.
37. Sláma, K. 2012. A new look at the comparative physiology of insect and human hearts. Journal of Insect Physiology 58 (2012):1072–1081. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.04.014>
38. Sláma, K. 2013. Insect hormones: more than 50-years after the discovery of insect juvenile hormone analogues (JHA, juvenoids). Terrestrial Arthropod Reviews 6(4):257–333. <http://dx.doi.org/10.1163/18749836-06041073>
39. Sláma, K. 2015a. A new look at the nature of insect juvenile hormone with particular reference to studies carried out in the Czech Republic. European Journal of Entomology 112 (4):567–590. doi: 10.14411/eje.2015.073.
40. Sláma, K. 2015b. Comprehensive physiology of ecdysogens – the metabolically activated porphyrin-ecdysteroid complexes in insects. Comparative Biochemistry and Physiology C (accepted).
41. Sláma, K. and R. Lafont. 1995. Insect hormones – ecdysteroids: their presence and actions in vertebrates. European Journal of Entomology 92:355–377.
42. Sláma, K. and J. Lukáš. 2013. Role of juvenile hormone in the hypermetabolic production of water revealed by the O₂ consumption and thermovision images of larvae of insects fed a diet of dry food. European Journal of Entomology 110:221–230. <http://dx.doi.org/10.14411/eje.2013.032>
43. Sláma, K. and F. Weyda. 1997. The all-or-none rule in morphogenetic action of juvenile hormone on insect epidermal cells. Proceedings of the Royal Society of London B 264:1463–1470. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.1997.0203>
44. Sláma, K., M. Romaňuk, and F. Šorm. 1974. Insect Hormones and Bioanalogues. Springer. Wien, Austria. New York, NY, USA. 477 pp. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-7091-8331-1>

45. Smith, W. and R. Rybczynski, 2012. Prothoracicotropic hormone. pp. 1-62. In Gilbert L. I. (Editor). Insect Endocrinology. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 1-62. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384749-2.10001-9>
46. Smýkal, V., T. Daimon, T. Kuyakawa, K. Takashi, T. Shinoda and M. Jindra, 2014a. Importance of juvenile hormone signaling arises with competence of insect larvae to metamorphose. Developmental Biology 390:221–230. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.03.006>
47. Smýkal, V., A. Bajgar, J. Provazník, S. Fexová, H. Buřičová, K. Takaki, M. Hodková, M. Jindra and D. Doležel, 2014b. Juvenile hormone signaling during reproduction and development of the linden bug Pyrrhocoris apterus. — Insect Biochemistry and Molecular Biology 45:69–76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibmb.2013.12.003>
48. Stránský, K., V. Němec, and K. Sláma, 1998. Lipid composition of the seeds of an ecdysteroid-containing plant, *Leuzea cathamoides* (Willd.) DC (Asteraceae). Russian Journal of Plant Physiology 45:390-396.
49. Wigglesworth, V. B. 1936. The function of the corpus allatum in the growth and reproduction of *Rhodnius prolixus*. Quarterly Journal of Microscopic Science 79:91–119.
50. Wigglesworth, V. B. 1940. The determination of characters at metamorphosis in *Rhodnius prolixus*. Journal of Experimental Biology 17:201-222.
51. Wigglesworth, V. B. 1954. The Physiology of Insect Metamorphosis. Cambridge University Press. Cambridge, England, UK. 152 pp.
52. Williams, C. M. 1947. Physiology of insect diapause II. Interaction between the pupal brain and prothoracic glands in the metamorphosis of the giant silkworm, *Platysamia cecropia*. Biological Bulletin 93:89-98. <http://dx.doi.org/10.2307/1538279>
53. Williams, C. M. 1952. Physiology of insect diapause. IV. The brain and prothoracic glands as an endocrine system in the *Cecropia* silkworm. Biological Bulletin 103:120–138. <http://dx.doi.org/10.2307/1538411>
54. Williams, C. M. 1956. The juvenile hormone of insects. Nature 178:212–213. <http://dx.doi.org/10.1038/178212b0>
55. Williams, C. M. 1987. Midgut of lepidopteran pupae is a major depot of sequestered, mobilizable ecdysteroids. Memórias do Institute Oswaldo Cruz 82:47–49. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761987000700010>
56. Yamanaka, N., K. F. Rewitz, and M. B. O'Connor, 2013. Ecdysone control of developmental transitions: lessons from *Drosophila* research. Annual Reviews of Entomology 58:497–516. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153608>

ЭКДИСТЕРОИДТАР ДЕГЕН НЕ: ЖӘНДІКТЕР ГОРМОНЫ, СҮТҚОРЕКТІЛЕРДЕГІ НЕГІЗГІ Д-ДӘРУМЕНДЕРІ НЕМЕСЕ ӨСІМДІКТЕРДІ ӨСІРУГЕ ПАЙДАЛАНЫЛАТЫН ПОЛЯРЛЫ СТЕРИНДЕР МЕ?

Karel Sláma

e-mail: slama@entu.cas.cz

Czech Academy of Sciences Institute of Entomology, Ceske Budejovice, Czech Republic

Жәндіктер гормонының әсер ету теориясын жәндіктер жөніндегі кәсіби эндокринология 50 жыл бүрүн жасап шығарды. Өкінішке қарай, ғалымдар біртінде өмірден озды және олардың бастанық нәтижелері іс жүзінде колжетімсіз. Мен есік мектеп эндокринологтарының ішіндегі тірі қалғандардың бірімін. Қазіргі сұрақтар мен басымдықтар көп жағдайда перифериялықтін-нысаналарда рецепторлардың, ферменттердің (мәселен, эстеразалар) және гендердің (мәселен, Met) болінуімен байланысты. Ал, әдетте, орталық нейроэндокриндік жүйенің анағұрлым маңызды гормондарын (*яғни, мидың нейросекреторлы жасушаларының нейропептидтері, corpora cardiaca, corpora allata*) менсінбайды.

Мәселен, мен жәндік түктерінің гормонын зерттегендеге кездейсок анықталған эндизон мен эндистероидтардың жәндіктердің шынайы гормондары еместігін байқадым. Сонымен қатар, әлі күнге дейін шынайы ювенильді гормон (JH) болып есептелетін JH-I сесквитерпеноиды да жәндіктер гормоны болып табылмайды. Шындығында, JH-I - JH әсерін көлтіретін 4000 ювенильді биоаналогтардың бірі ғана болып шыкты. JH-I қырықбуын аталағының *Cecropia, Hyalophora cecropia* (Linnaeus, 1758) коллетериалды безінің эндокринді емес, кәдімгі экзокринді боліну өнімі болып табылады. Аталмыш жұмыс жәндіктер гормондарының интерпретациясына катысты пікірталасты мадактау мақсатында, олардың әсер етуінің кейір көрі физиологиялық мәселелерін қысқаша сипаттайды.

ЧТО ТАКОЕ ЭКДИСТЕРОИДЫ: ГОРМОНЫ НАСЕКОМЫХ, ОСНОВНЫЕ ВИТАМИНЫ-Д МЛЕКОПИТАЮЩИХ ИЛИ ПОЛЯРНЫЕ СТЕРИНЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ РОСТА В РАСТЕНИЯХ?

Karel Slama

e-mail: slama@entu.cas.cz

Czech Academy of Sciences Institute of Entomology, Ceske Budejovice, Czech Republic

Теории действия гормона насекомых были созданы около 50 лет назад профессиональными эндокринологами по насекомым. К сожалению, ученые постепенно умерли и их исходные результаты практически недоступны. Я один из немногих эндокринологов старой школы, кто выжил. Современные вопросы и приоритеты, во многом связаны с выделением рецепторов, ферментов (например, эстеразы) и генов (например, Met) в периферических тканях-мишениях. А наиболее важными гормонами центральной нейроэндокринной системы (т.е. нейропептидами нейросекреторных клеток мозга, *corpora cardiaca*, *corpora allata*) обычно пренебрегают. Я обнаружил, например, что экдизон и экдистероиды, которые были случайно обнаружены при исследовании гормона линьки насекомых, не являются подлинными гормонами насекомых. Более того, сесквитерпеноид JH-I, который до сих пор считается подлинным ювенильным гормоном (JH), также не является гормоном насекомых. Действительно, JH-I оказался всего лишь одним из 4000 ювенильных биоаналогов, имитирующий действие JH. JH-I является обычным экзокринным, а не эндокринным выделительным продуктом коллетериальной железы самца шелкопряда *Cecropia*, *Hyalophora cecropia* (Linnaeus, 1758), colleterial желез самца Цекропия, *Hyalophora cecropia* (Линней, 1758). Этот документ кратко описывает некоторые отрицаемые физиологические проблемы действия гормона насекомых с целью поощрения дискуссии по поводу их интерпретации.



Живучка туркестанская
(*Ajuga turkestanica Regel. Brig.*)

Лекарственные препараты на основе
живучки туркестанской
(*Ajuga turkestanica Regel. Brig.*)

Многолетнее растение живучка туркестанская, произрастающее в Республике Узбекистан – богатый источник биологически активных веществ (БАВ). Содержание эндистерона в живучке туркестанской составляет 0,22-0,35% и придоидных гликозидов - 5% и др. Эндистероиды живучки обладают ценными фармакологическими свойствами. Некоторые из них, особенно эндистерон и туркестерон обладают выраженным анаболическим действием.

Лекарственные средства на основе этих БАВ разработаны препараты «Эндистен» (таблетки), «Аюстан» (таблетки), биологически активные добавки «Эксумид», «Жистенин» и биореактив «Туркестерон»

АЮСТАН

адаптогенное и лактостимулирующее средство

Состав

Смесь растительных эндистероидов (эндистерон, туркестерон, 22-ацетилциастерон) и придоидов (гарпагид и 8-О-ацетилгарпагид).

Фармакологические свойства

Активирует синтез белка в различных органах и тканях организма, нормализуя одновременно углеводно-фосфорный и липидный обмены, стимулирует иммуногенез и интерфероногенез. Оказывает общеукрепляющее, тонизирующее действие, улучшает работоспособность, усиливает функциональную активность скелетной мускулатуры, увеличивает сократительную способность миокарда, положительно влияет на метаболизм печени при желчно-печеночной патологии различной этиологии.

Показания к применению

Применяется при неврастениях, неврозах, гипотонии, повышенной утомляемости; для увеличения лактации у рожениц, страдающих гопогалактией; в гериатрии - как препарат, тонизирующий и нормализующий метаболические процессы.

Способ применения и дозы

Принимают внутрь до еды по 1 таблетке 3 раза в день. Суточная доза составляет 0,3г. Курс лечения 10-15 дней. При необходимости повторный курс лечения возможен после недельного перерыва

Побочные действия

По фармакологическим данным, побочные действия не выявлены.

Противопоказания

По фармакологическим данным, отсутствуют.

Форма выпуска

Таблетки по 0,1г в упаковке -10 штук.

Условия хранения

Хранить в защищенном от света месте. Список Б.

Срок годности 2 года.

Производитель

ОПП Института химии растительных веществ АН Руз., Республика Узбекистан.

УДК 615.322: 616 – 008.9

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКДИСТЕНА КАК ПРЕПАРАТА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ

В.Н.Сыров

e-mail: zainab@icps.org.uz

Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз, г. Ташкент,
Республика Узбекистан

Препарат «Экдистен» разработан на основе фитоэкдистероида экдистерона, выделяемого из *Rhaponticum carthamoides*, *Rhaponticum integrifolium*, *Silene brahuica*, *Ajuga turkestanica* и др. Экдистен показал себя эффективным средством с метаболической направленностью действия и прежде всего в качестве стимулятора белок-синтезирующих процессов в организме, напоминающим действие стеранаболов, но без их специфической гормональной активности. Под влиянием препарата также оптимизируются показатели углеводного, липидного, энергетического и электролитного обменов. Экдистен проявляет общетонизирующее действие, повышает адаптационные возможности организма по отношению к стрессирующим факторам внешней среды, стимулирует иммуногенез, улучшает умственную и физическую работоспособность. Использование экдистена в клинической практике при целом ряде заболеваний ЦНС и внутренних органов с нарушениями в обменных процессах, а также в практике спортивной медицины у лиц с явлениями дезадаптации, повышенной утомляемости (как в составеmono- так и комплексной терапии) показало высокую эффективность, безопасность и перспективность его применения.

В последние годы заметно повысился интерес к препаратам метаболического типа действия, обладающих способностью активировать пластические процессы в различных органах и тканях, улучшать энергетический статус их клеточных систем и тем самым повышать резистентность организма к воздействию различных неблагоприятных факторов. По результатам экспериментально-клинического изучения одним из эффективных препаратов в этом отношении может стать экдистен, разработанный в Институте химии растительных веществ АН РУз на основе природного соединения экдистерона, содержащегося в различных растительных источниках: *Rhaponticum carthamoides*, *Rhaponticum integrifolium*, *Silene brahuica*, *Ajuga turkestanica* и др. [1]. «Экдистен», как и другие препараты и биологически активные добавки, созданные в Институте на основе фитоэкдистероидов (аюстан, экдистен плюс, эксумид, жистенин) [2] обладает широким спектром биологической активности и прежде всего стимулирующим влиянием на белоксинтезирующие процессы. Так, во всех экспериментах, касающихся изучения этой проблемы, его белково-анаболическое действие проявляется увеличением массы тела, внутренних органов и скелетных мышц (с увеличение в них содержания белка), повышение общего содержания белка в сыворотке крови, стимуляцией эритропоэза [3]. Имея определенное сходство в этом отношении со стероидными анаболическими препаратами, экдистен, тем не мене, принципиально отличается от них по целому ряду параметров. Анаболический эффект экдистена проявляется в более слабой степени (особенно у гонадэктомированных и гипофизэктомированных животных), не сопровождается избирательным анаболически-органотропным действием, не зависит от половой принадлежности организма, не вызывает специфических гормональных эффектов: андрогенного, тимолитического, антигонадотропного, утеротропного [3]. Связано это с существенными различиями в механизме регуляции экдистеном и стеранаболами процесса биосинтеза белка у высших животных и человека [4]. Помимо белкового, установлено также благоприятное действие экдистена на углеводный, липидный, энергетический, электролитный и другие виды обмена. Под его влиянием понижается уровень глюкозы, холестерина и триглицеридов в сыворотке крови, в органах и тканях происходит смещение окислительно-восстановительного потенциала системы молочная – пировиноградная кислота в сторону аэробиоза, повышается содержание макроэргических фосфорных соединений, гликогена, уменьшаются соотношения холестерин/фосфолипиды, триглицериды/фосфолипиды, отмечается калий-фикссирующее действие.

ствие. Во многих случаях выявляется иммуностимулирующее и антиоксидантное действие экдистена. Никаких токсических эффектов препарата, как при кратковременном, так и при длительном введении в организм выявлено не было [3,5]. Естественно, что многогранное позитивное влияние экдистена на метаболические процессы дало основание аprobировать этот препарат (в виде монотерапии или в составе комплексного лечения) при самых различных патологических состояниях, в основе которых лежат процессы дезадаптации, ослабления или полного дисбаланса нормального течения реакций обмена веществ в различных структуральных элементах организма, что ожидаемо должно было привести к позитивным сдвигам в их функциональном состоянии [2]. Все клинические исследования экдистена проводились согласно решения Фармакологического Комитета Министерства Здравоохранения Республики Узбекистан.

Прежде всего, нужно отметить, что достаточно эффективным средством экдистен за рекомендовал себя у больных с патофизиологическими проявлениями стресс-синдрома благодаря оптимизирующему влиянию на метаболизм и функции центральной нервной системы и в первую очередь высшей нервной деятельности. Это довольно четко проявлялось общетонизирующим эффектом при астенических состояниях и явлениях слабости в периоде реконвалесценции после тяжелых соматических и инфекционных заболеваний, хирургических вмешательств, длительного пребывания в экологически неблагоприятных условиях. Под влиянием экдистена улучшалась умственная и физическая работоспособность, повышалась концентрация внимания, происходила нормализация реактивной и личностной тревожности [3,6,7,8].

Не менее значимые результаты были получены и при использовании экдистена в кардиологической практике. В работе [9] показано, что у больных миокардитом под действием экдистена наблюдалось улучшение показателей, характеризующих состояние обменных процессов в сердечной мышце (по данным биохимического анализа и результатам ЭКГ).

Отмечается рост толерантности к физической нагрузке, улучшаются процессы гемодинамики. При лечении экдистеном инфаркта миокарда выявлено уменьшение степени выраженности постинфарктной стенокардии, увеличение показателей статической выносливости и физической работоспособности, улучшения гемодинамического обеспечения статических и динамических нагрузок. Определенный интерес, по-видимому, будет представлять также применение экдистена (как анаболически активного средства) при терапии больных хронической сердечно-сосудистой недостаточностью совместно с сердечными гликозидами: целанидом, эризимозидом (выделен из культивируемого в Узбекистане желтушника – *Erysimum diffusum* Ehrh. и бисрамнозидом строфантидина (получен путем частичного синтеза на основе агликона строфантидина). В серии экспериментов показано, что в этом случае значительно в большей степени улучшаются параметры гемодинамики и функционального состояние сердца, увеличивается сердечный выброс и скорость сокращения циркулярных волокон левого желудочка миокарда. Наряду с этим отмечаются благоприятные сдвиги в сторону нормализации нарушенного липидного, энергетического и, что особенно важно, электролитного обменов миокарда. Последнее в значительной степени нивелирует негативное действие карденолидов (особенно при их длительном применении) [10, 11].

Заслуживают внимания также результаты исследования, показавшие выраженную гепатозащитную активность экдистена, поскольку Узбекистан относится к регионам высокоэндемичным по вирусным гепатитам. В экспериментальных условиях на модели гелиотринового поражения печени у крыс экдистен способствовал нормализации ферментативной активности сыворотки крови, стимуляции белок- и гликогенсинтезирующей функции печени, ингибированию процессов перекисного окисления липидов и индукции всех звеньев микросомального окисления в гепатоцитах.

Использование экдистена в комплексной терапии больных хронически вирусным гепатитом В значительно раньше, чем у больных, в комплексное лечение которых этот препарат не был включен, приводило к уменьшению интоксикации, исчезновению гиперферметемии, гипербилирубинемии, повышению содержания белка в сыворотке крови. Отмечено также

положительное влияние на гуморальные (IgA , IgM , IgG) и клеточные ($CD 3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$) факторы иммунитета, факторы неспецифической резистентности (увеличивалась фагоцитарная активность нейтрофилов), а также корригирующее воздействие на аутоиммунные процессы [12]. Оказал экдистен и фармакотерапевтическое действие при лечении больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Его эффект в этом случае проявлялся положительной динамикой биохимических показателей крови, тенденцией к нормализации желудочной секреции, высоким процентом более быстрого рубцевания язв и увеличением продолжительности ремиссии заболевания [13]. При добавлении экдистена к базисному лечению некоторых нефрологических больных выявлено наряду с улучшением самочувствия, уменьшение анемии, протеинурии, понижение содержания мочевины и креатинина в сыворотке крови, восстановление ее белкового состава. Назначение экдистена больным хроническим гломерулонефритом приводило также к нормализации морфометрических показателей микроциркуляции бульбоконъюнктивы, уменьшению в ней частоты сосудистых, внутрисосудистых и периваскулярных изменений [14].

Описан благоприятный результат при лечении экдистеном сахарного диабета. Было установлено, что сахароснижающее действие экдистена является отражением его активирующего влияния на синтез ферментных систем углеводного метаболизма, способствующих более интенсивному потреблению глюкозы кровью органами и тканями организма для энергетического обеспечения стимулируемых им белково-анаболических процессов [15].

Общеукрепляющее действие экдистена при назначении пациентам медицинских учреждений различного профиля, помимо описанных эффектов, самым благоприятным образом сказалось и на других жизненно-важных функциях организма. Применение экдистена у мужчин, страдающих бесплодием, связанным с нарушением сперматогенеза, как осложнением урологических заболеваний, вызывает улучшение показателей качества спермы. При этом также за счет общетонизирующего действия отмечается восстановление копулятивной функции. Аналогичный эффект наблюдали и при назначении экдистена в восстановительном периоде после перенесенного инфаркта миокарда [16].

Экдистен оказывает терапевтический эффект у беременных женщин с железодефицитной анемией, страдающих эутиреоидным зобом. По мере лечения большинство женщин отмечали улучшение общего состояния, уменьшение слабости, явлений гипотонии, повышение аппетита. У них наблюдался динамический прирост показателей красной крови, увеличение общего белка в сыворотке крови преимущественно за счет альбуминов, повышалась усвояемость организмом эссенциальных микроэлементов (за счет увеличение синтеза транспортных белков, задействованных в этих процессах) [17].

Интересен опыт применения экдистена у лиц с лямблиозной инфекцией. Под его влиянием наблюдалось устранение астено-вегетативных проявлений, происходила нормализация иммунного статуса, улучшалось состояние желудочно-кишечного тракта, гепатобилиарной системы и в большинстве случаев выявлялась полная элиминация паразитов. Как и при других болезненных состояниях, фармако-терапевтический эффект при лямблиозе, по-видимому, прежде всего во многом определяется повышением адаптационно-защитных возможностей самого макроорганизма [18].

Экдистен способствует быстрой регенерации поврежденных клеток эпидермиса, поэтому он может применяться как вспомогательное средство для ускорения процессов заживления ран и ожогов [19]. Важное значение с практической точки зрения также имеет факт регулирующего влияния экдистена, выявленного в организме старых животных, на компенсаторно-адаптивные процессы, включающие стимуляцию протекающего в норме апоптоза, направленное, по-видимому, в данном случае на элиминацию поврежденных клеточных элементов, несущих геномные нарушения, частота которых с возрастом заметно возрастает, что может представлять интерес в гериатрической практике [20].

Экдистен в качестве метаболически активного средства с преимущественным влиянием на процессы белкового синтеза (в отличие от стеранаболов, имеющих специфические гормональные эффекты) также хорошо проявил себя в спортивно-медицинской практике [3].

Именно в этом случае более четко, чем где-либо, выявлялось и его общеукрепляющее и белковоанаболическое действие на организм в целом. Было показано, что применение экдистена спортсменами ускоряло восстановление и адаптацию к физическим нагрузкам в учебно-тренировочном и соревновательном периодах. По данным самооценки (метод анкетирования) установлено, что значительное большинство спортсменов из состава экспериментальных групп отмечало меньшую утомляемость во время тренировок, лучшую переносимость нагрузок, уменьшение апатии и раздражения при выполнении работы до предела, довольно быстрое купирование явлений утомления. Эффект, как правило, обнаруживался на 4-5 день с начала приема препарата.

Объективно на фоне курсового применения экдистена наблюдалась положительная динамика весовых показателей; при антропометрических исследованиях лиц, применяющих многократно экдистен, было выявлено увеличение мышечной массы при значительном снижении жира. Биохимически анаболический эффект экдистена подтверждался задержкой азота в организме, более быстрой нормализацией после физических нагрузок в крови содержания мочевины и лактата, повышением гемоглобина и общего содержания белка в сыворотке крови. При этом, несмотря на выраженную анаболическую активность, не обнаружено таких опасных побочных эффектов препарата, характерных для анаболических стероидов, как сдвигов в содержании эндогенных гормонов, отрицательного влияния на функцию коры надпочечников. Использование экдистена в спортивной практике не противоречило правилам антидопингового контроля [3, 21, 22]. Накоплен опыт комбинации экдистена с некоторыми цитаминами, в частности, показано, что его введение вместе с гептамином дает более существенный эффект в плане коррекции работоспособности, чем прием одного экдистена или гептамина [23]. Также показано, что применение экдистена в циклических видах спорта во время интенсивных физических нагрузок большого объема в комплексе с белковыми препаратами способствует более выраженному поддержанию мышечной массы и не препятствует использованию липидных энергетических депо организма [3].

Говоря об экдистене, нельзя обойти еще одну сторону наметившегося его использования как препарата анаболического типа действия без побочных гормональных эффектов – это педиатрическая практика. В экспериментальных условиях обоснованием такого подхода к использованию экдистена послужили работы, показавшие преимущества этого препарата у детей перед синтетическими стероидными анаболическими средствами [24], а также его способность задерживать развитие гипоксической и травматической гипотрофии и восстанавливать массу и размер плода [25]. В клинике эффект экдистена у новорожденных с внутриутробной гипотрофией реализуется в более коротких сроках восстановления массы тела, нормализации тургора ткани и эластичности кожи, нормализации ее окраски, стабилизации мышечного тонуса [26]. Применение экдистена способствует более быстрому купированию клинических симптомов задержки внутриутробного развития не зависимо от ее стадии [27]. Также было показано, что использование экдистена (особенно вместе с иммунномодулином) при лечении перинатального сепсиса смешанной (бактериально-грибковой) этиологии у недоношенных детей приводит к более быстрому улучшению общего состояния больных, уменьшению интоксикации, повышению двигательной активности, улучшению рефлекторной деятельности, нормализации иммунологических показателей [28]. Отмечена высокая эффективность экдистена (в составе комплексной терапии) при лечении хронического вирусного гепатита дельта [29].

Таким образом, анализ представленного материала по использованию экдистена в клинической и спортивно-медицинской практике открывает перспективу широкого применения этого препарата, как эффективного фармакокорректора того или иного предпатологического и патологического состояния, а также как адаптогенного средства, благодаря его способности существенно расширять границы резистентности организма к воздействию различных экстремальных факторов.

Литература

1. Рамазанов Н.Ш. Экдистероиды растений родов *Silene*, *Rhaponticum* и *Ajuga*: Автореф. дис. докт. хим. наук. – Ташкент, 2007. – 49 с.
2. Сыров В.Н. Медикаментозные средства и биологически активные добавки на основе фитоэкдистероидов (новые подходы к фармакокоррекции нарушенных метаболических процессов в организме) // Химия и медицина, ОРХИМЕД – 2009: Тезисы докладов VII Всероссийской конференции с молодежной научной школой. – Уфа: Гилем, 2009. – С. 24.
3. Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Джахангирова М.А., Шарипов А.К. Экдистероидсодержащие препараты и дозированные физические нагрузки в подготовке спортсменов. – Ташкент: Лидер Пресс, 2011. – 250 с.
4. Сыров В.Н., Шахмуррова Г.А., Хушбактова З.А. и др. Сравнительное изучение регулирующего влияния экдистерона и неробола на белоксинтезирующие процессы в организме высших животных// Теоретическая и прикладная экология. -2012.- №1. – С. 13 – 17.
5. Сыров В.Н., Шахмуррова Г.А., Хушбактова З.А. Влияние фитоэкдистероидов и бемитила на функциональные, метаболические и иммунобиологические показатели работоспособности в эксперименте // Эксперим. и клин.фармакол. – 2008. – Т.71, №5. – С. 40–43.
6. Сыров В.Н., Исламова Ж.И., Хушбактова З.А. и др. Возможность фармакокоррекции экдистероидсодержащими препаратами патологических изменений в неблагоприятных экологических условиях// Вестник «Тинбо» (Ташкент). – 2010. – №2. – С. 77–83.
7. Садыкова Г.А., Аляви А. Л., Абдуллаев А.Х. и др. Изучение препарата «Экдистен» в комплексном лечении больных хронической обструктивной болезнью легких по психологическим тестам// Терапевтический вестник Узбекистана. – 2011. - №2-3. –С. 39.
8. Сыров В.Н., Эгамова Ф.Р., Хушбактова З.А. и др. Фармакологическая оценка фитоэкдистероидов и созданных на их основе препаратов как потенциальных стимуляторов психической и физиологической активности в нормальных и осложненных условиях// Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам: материалы 5-ой международной конференции. - Москва, 2010. - С. 84-85. (Эксперим. и клин.фармакол., приложение, 2010. –С. 84–85).
9. Абдуллаев Т.А., Нагаева Г.А. Применение отечественного препарата «Экдистен» в терапии больных миокардитом// Фармацевтический журнал (Ташкент). – 2007. - № 1. – С. 71 – 74.
10. Сыров В.Н., Хушбактова З.А. Экдистен – новое метаболически активное средство для использования в терапевтической практике// Актуальные проблемы диагностики, лечения и медицинской реабилитации при заболеваниях внутренних органов: Тезисы докладов V Съезда терапевтов Узбекистана.- Ташкент. – 2008. - С. 108.
11. Сыров В.Н., Хушбактова З.А. Экспериментальная оценка комплексного использования целанида и экдистена в условиях сердечно-сосудистой патологии// Вестник «Тинбо»(Ташкент). – 2004. – №1. – С. 56–63.
12. Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Комарин А.С. и др. Экспериментально-клиническая оценка эффективности применения экдистена при лечении гепатита// Эксперим. и клин.фармакол. – 2004. – Т.67, № 5. – С. 56–59.
13. Сыров В.Н., Юсупова Ф.Б., Скосырева О.В., Хушбактова З.А. Экспериментально-клиническая оценка противоязвенной активности Экдистена// Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2008. – № 2–3. – С.112.
14. Саатов З., Агзамходжаева Д.А., Сыров В.Н. Распространенность фитоэкдистероидов в растениях Узбекистана и возможность использования созданных на их основе препаратов в нефрологической практике// Химия природ.соедин. – 1999. – №2. – С. 209–215.
15. Сыров В.Н., Юлдашева Н.Х., Эгамова Ф.С. и др. Оценка гипогликемического действия фитоэкдистероидов// Эксперим. и клин.фармакол. – 2012. – Т.75, № 5. – С. 28–31
16. Сыров В.Н., Мирзаев Ю.Р., Хрущев С.А., Исакандерова С.Д. Влияние экдистена на показатели половой функции в эксперименте и клинических условиях// Эксперим. и клин.фармакол. – 2000. – Т. 63, №4. – С. 35–37.
17. Амонов И.И., Сыров В.Н. Применение экдистена в комплексной терапии железодефицитной анемии беременных, страдающих эутиреоидным зобом// Патология (Ташкент). – 2003. – №1.- С. 32-35.
18. Исламова Ж.И. Экспериментально-клиническое исследование экдистена как эффективного средства в лечении лямблиоза// Сборник статей VII Международной научной конференции «Приоритет-

- ные направления в области науки и технологий в XXI веке». – Ташкент: Изд-во CHINORENK.- 2014.- Т.1.-С.154-158.
19. Цеомашко Н.Е., Цай Е.А., Сыров В.Н., Азимова Ш.С. Получение дермального эквивалента кожи и изучение регенеративных процессов *in vivo*// Мед.журн. Узбекистана. – 2013.- №4.- С. 97 -100.
20. Сыров В.Н., Гильдиева М.С., Хушбактова З.А. Изучение пролиферации и апоптоза в тканях различного генеза при воздействии фитоэкстериоидов, циклоартановых гликозидов, флавоноидов и лактонов в организме старых крыс// Тезисы докладов XIV Российского национального конгресса «Человек и лекарство», Москва. – 2007. – с. 781.
21. Рожкова Е.А., Сейфулла Р.Д., Орджоникидзе Г.З., Панюшкин В.В. Коррекция адаптации к физической нагрузке препаратами природного происхождения, обладающими антиоксидантной активностью// Тезисы докладов XIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство».- Москва. – 2006. – С. 581-582.
22. Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Керимов Ф.А., Шарипов А.К. Использование препарата «Экдистен» в подготовке юных спортсменов//Материалы Республикаской научно-практической конференции «Научно-педагогические и медико-биологические проблемы обеспечения спорта высших достижений».- Ташкент.- 2011. - С. 254-256.
23. Эмирова Л.Р., Рожкова Е.А., Панюшкин В.В. и др. Влияние цитаминов и их комбинации с экдистеном, апилаком, витомаксом и эссенциале на работоспособность спортсменов// Эксперим. и клин.фармакол. – 2004. – Т.67, № 3. – С. 66–68.
24. Утемуратова Д.Ш., Сыров В.Н., Хушбактова З.А. Результаты сравнительного изучения экдистена и неробола в возрастном аспекте// Тезисы докладов XIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». - Москва. – 2006. – С. 598.
25. Курмукова Н.А. Гипоксическая гипотрофия плода и коррекция ее введением экдистена// Патология (Узбекистан).- 2000. - № 2. – С. 24 – 27.
26. Пак Е.А. Обоснование и эффективность препарата экдистена в комплексной терапии новорожденных с внутриутробными гипотрофиями// Новые лекарственные препараты. – 2001.- Вып. 11. – С. 21-25.
27. Алимов А.В., Пак Е.А., Амизян Н.М. и др. Новорожденные с задержкой внутриутробного развития// Методические рекомендации. - Ташкент.- 2009. – 16 с.
28. Мухамеджанова Д.К. Опыт применения иммуномодулина и экдистена при лечении недоношенных детей с сепсисом// Фармацевтический журнал (Ташкент). – 2004. - №3.- С. 62-65.
29. Иноятова Ф.И., Кадыров Б.А., Абдумаджидова Ш.У. и др. Эффективность сочетанной детоксикационной и иммунокорригирующей терапии в комплексном лечении хронического вирусного гепатита дельта у детей// Мед.журн. Узбекистана. – 2003.- №5.- С. 40 -42.

МЕТАБОЛИЗМДІК ТИПТІ ӘСЕРГЕ ИЕ ПРЕПАРАТ РЕТИНДЕ ЭКДИСТЕННІң ТИІМДІЛІГІН БАҒАЛАУДЫҢ ЭКСПЕРИМЕНТТІК-КЛИНИКАЛЫҚ НӘТИЖЕЛЕРІ

B.N.Сыров

е –mail: zainab@icps.org.uz

ӨзР FA акад.С.Ю. Юнусов атындағы Әсімдіктекті заттар химиясы Институты,
Ташкент қ., Өзбекстан Республикасы

Экдистен препараты *Rhaponticum carthamoides*, *Rhaponticum integrifolium*, *Silene brahuica*, *Ajuga turkestanica* және т.б. бөлінетін экдистеронфитоэкдистероидының негізінде жасалған. Экдистен өзін метаболизмдік әсері бар тиімді дәрілік құрал және ең бастысы ағзадағы ақызызды синтездеуші үрдістерді ынталандыруышы құрал ретінде көрсетті, бұлар өзіне тән гормондық белсенделілігі жоқ стеранаболдардың әсерін еске түсіреді. Сондай-ақ, препараттың әсерінен көмірсу, липидтік, энергетикалық және электролиттік алмасу көрсеткіштері онтайландырылады. Экдистен жалпы сергітуші әсер көрсетеді, сыртқы ортаның стреске шалдықтыратын факторларына қатысты ағзаның бейімделу мүмкіндіктерін арттырады, иммуногенезді ынталандырады, ой және дене қабілетін жақсартады. Клиника тәжірибесінде экдистенді қолдану ОЖЖ бірқатар ауруларын және зат алмасу үрдістері бұзылған ішкі ағза ауруларын емдеуде, сондай-ақ, спорт медицинасы тәжірибесінде дезадаптация, аса шаршағыштық белгілері кездесетін тұлғаларда (моно- және кешенді терапия құрамында) жоғары тиімділік, қауіпсіздік және қолдану келелілігін көрсетті.

**EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESULTS OF EVALUATION OF ECDYSTEN DRUG
AS THE METABOLIC ACTION TYPE PREPARATION**

V.N. Syrov

e –mail: zainab@icps.org.uz

S.Yu. Yunusov Institute of chemistry of plant substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

Ecdysten drug was developed on the basis of ecdysterone phytoecdysteroid isolated from *Rhaponticum carthamoides*, *Rhaponticum integrifolium*, *Silene brahuica*, *Ajuga turkestanica*, etc. Ecdysten proved to be an effective preparation with metabolic course of action, primarily as a stimulant of protein-synthesis processes in the body, resembling the action of steranobols, but without their specific hormonal activity. Under drugs the indicators of carbohydrate, lipid, energy and electrolyte metabolism are also optimized. Ecdysten has a general tonic action, increases the adaptive abilities of the organism against stress factors, stimulates the immunogenesis, improves mental and physical efficiency. The treatment with ecdysten in clinical practice for a number of diseases of central nervous system and internal organs with malfunction in metabolic processes, as well as in the practice of sports medicine in persons with the symptoms of maladjustment, fatigue (as mono- or complex therapy) has shown high efficacy, safety and perspectives of its application.

Лекарственные препараты на основе экдистероидов левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pilin)

ЛЕВЕТОН П

биологическая активная добавка общеукрепляющего действия

Состав

Корень левзеи (экдистероиды), витамин С, витамин Е, пчелиная обножка: 20 аминокислот, 28 микроэлементов, провитамин А, витамины групп В, D, Р, РР, К, флавоноиды, фитонциды, ферменты; вспомогательные компоненты: лактоза, стеарат кальция, титана диоксид, твин-80, метилцеллюлоза.

Фармакологические свойства

- Тонизирует центральную нервную систему, улучшает процесс обучения, памяти, условнорефлекторную деятельность, улучшает синаптическую передачу в симпатических и парасимпатических волокнах периферической нервной системы;
- Нормализует функцию эндокринной системы организма (анаболические и катаболические функции);
- Контролирует процесс образования и расхода энергии в исполнительных клетках (мышц, печени, почек, мозга и других органов);
- Восстанавливает иммуносупрессивный эффект в следствии тренировочного и соревновательного процессов, влияя на гуморальный и клеточный иммунитет;
- Способствует антиоксидантному действию в организме, предотвращая токсические эффекты свободнорадикального окисления ненасыщенных жирных кислот, которые активизируются при истощающей физической нагрузке;
- Предотвращает гипоксию, которая почти всегда является спутником интенсивной работы;
- Обладает анаболизирующими эффектами, которые необходимо поддерживать при интенсивной физической работе (тренировке) во избежании падения массы тела и деструкции белков у спортсменов при превалировании катаболических процессов;
- Улучшает микроциркуляцию сосудов головного мозга и работающих мышц за счет улучшения реологических свойств крови (наличие в структуре витаминов Е и С, кумариновых производных, экдистена и других ингредиентов).
- Комбинированный адаптоген "Леветон П" обладает общеукрепляющим действием в послеоперационный период, его целесообразно применять для профилактики простатита.

Показания к применению

спортсменам в силовых видах спорта (тяжёлая атлетика, бодибилдинг),
спортсменам-легкоатлетам в видах спорта, требующих высокой адаптивности и выносливости,
для нормализации уровня тестостерона, участникам физкультурно-оздоровительных групп,
страдающим нейроциркуляторной дистонией, послеоперационным больным, страдающим
простатитом и для его профилактики

Способ применения и дозы

взрослым по 1-й таблетке 2 раза в день во время еды
в первой половине дня.

Побочные эффекты

индивидуальная непереносимость компонентов.

Форма выпуска: пластиковый флакон, 60 таблеток
массой 500 мг, новая экономичная упаковка –
300 таблеток массой 500 мг



Производитель: ООО Парафарм, г. Пенза. Россия

УДК 577.175.1:61.45.36

КОМПЛЕКСНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ *SERRATULA CORONATA L.*

Б.С.Темиргазиев, О.У.Куатбаев, П.К.Кудабаева, Б.И.Тулеуов, С.М.Адекенов

e-mail: phyto_pio@mail.ru

АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», г. Караганда, Республика Казахстан

В данной статье приведены результаты комплексного исследования надземной части серпухи венценосной *Serratula coronata L.* – растительной основы первого казахстанского анаболического и адаптогенного средства «Экдифит», культивируемой на участке лекарственных растений МНПХ «Фитохимия». Приводятся данные об оптимальных выходах эндистерона – основной субстанции многих актопротекторных препаратов из различных видов экстрактов и комплексному извлечению флавоноидов и эндистероидов. Показано, что раздельно выделенные флавоноиды и эндистероиды могут быть использованы в качестве новых субстанций и рабочих стандартных образцов.

Получение биологически активных соединений (БАС) из возобновляемых дикорастущих и культивируемых природных источников является одной из актуальных задач современной биоорганической химии и биотехнологии. В настоящее время большой интерес представляют фитоэндистероиды или фитоэндизоны – полигидроксилированные стерины, структурно идентичные или подобные гормонам линьки и метаморфоза насекомых и обладающие анаболическим и адаптогенным действием на млекопитающих и человека. Большое количество эндистероидсодержащих растений издавна используются в медицинских целях. В частности, серпуха венценосная (*Serratula coronata L.*, семейства *Asteraceae*) – многолетнее травянистое растение до 150 см высотой, широко распространенное на юге Европейской части России, на Кавказе, в Западной Сибири, Дальнем Востоке, Средней Азии и Казахстане, широко используемое в народной медицине как средство при воспалительных и инфекционных заболеваниях (диспепсия, фарингит, тонзиллит и другие), а также при психических заболеваниях [1-3].

В традиционной медицине в Сибири «Серпия» - серпуха венценосная используется в виде отвара, употребляемого при эпилепсии, неврозах, в качестве ранозаживающего, при новообразованиях [1].

Известно, что экстракти травы серпухи венценосной используются при болях и расстройствах желудка [4].

Внимание научной медицины серпуха привлекла с момента обнаружения в этом растении фитоэндистероидов – растительных гормонов [5], обладающих ценными фармакологическими свойствами: анаболическим, гиполипидемическим, противовоспалительным, адаптогенным, гемореологическим и другими [6–8]. Экспериментальное исследование экстрактов из надземной части серпухи венценосной, произрастающей на территории России и стран СНГ показало их эффективность в качестве противоизвезнных средств, а также способность усиливать эффективность цитостатиков в терапии злокачественных опухолей [4,9]. Известно, что в надземной части серпухи венценосной, в достаточном количестве содержатся фенольные соединения: флавоноиды, дубильные вещества, кумарины, а также эфирные масла, терпеноиды и каротиноиды которые представляют не менее важную биологически активную значимость [10].

Комплексная переработка дикорастущего и культивируемого растительного сырья как возобновляемого материала является одним из приоритетных подходов при химическом изучении растений в плане получения практически ценных веществ – субстанций и новых рабочих стандартных образцов (РСО) для быстрорастущей фармацевтической промышленности Республики Казахстан. В МНПХ «Фитохимия» в течение ряда лет разрабатывается и активно внедряется в производство комплексный способ химической переработки лекарственного растительного сырья. Так, например, эндемичное растение Казахстана полынь гладкая (*Artemisia glabella* Kar.et.Kir.) является не только промышленным источником арглабина-

субстанции первого отечественного оригинального противоопухолевого препарата «Арглабин», но и других БАС, таких, как арголид, бонанзин, пектолинарингенин, цирсилинеол, кастицин, лютеолин, 1,8-цинеол, линалоол, терpineол-4, α-терpineол, сабинол, умбеллиферон, глутамин, триптофан, аргинин, тирозин, пролин, лейцин, глутаминовая кислота, глюкоза, дульцит, рамноза, галловая, протокатеховая, кофейная, салициловые кислоты и др.

В этой связи в данной работе нами исследован эндистероидный и флавоноидный состав экстракта надземной части свежесобранных в период вегетации растений вида *Serratula coronata* L., произрастающих на участке лекарственных растений МНПХ «Фитохимия» с целью разработки эффективного метода разделения эндистерона – главного компонента композиции эндистероидов и субстанции, а также других миорных фитоэндистероидов и флавоноидов для использования их в качестве новых РСО.

Например, витикостерон E (4) из *Serratula coronata* L. обладает широким спектром биологической активности (проявляет пестицидную активность, также оказывает анаболический эффект, препятствует развитию экспериментального атеросклероза у кроликов и обладает эстрогенной активностью). С учетом экономической нецелесообразности разделения эндистероидов (1,5%) и полифенолов (5,0%) растения (оба класса веществ предполагают наличие ценных видов биологической активности, а их разделение сопряжено с необходимостью проведения хроматографического разделения) в процессе разработки путей практического использования БАВ серпухи венценосной нами предложен метод, позволяющий получить суммарный экстракт, пригодный для получения твердых лекарственных форм (таблетки и капсулы) препарата «Эндифит» адаптогенного и анаболического действия.

В технологии переработки сырья серпухи венценосной и получения субстанции применена экстракция водным этанолом с последующей жидкость-жидкостной экстракцией, последовательно смесью петролейного эфира (экстракционного бензина) и этилацетата для отделения липофильных компонентов, и изобутанолом – для отделения стероидов и полифенольных соединений (эндистерона, макистерона А, витикостерона Е, 25-инокостерона, α-эндизона, лютеолина, апигенина, 3-метилового эфира кемпферола, 3-О-метилового эфира кверцетина). Но, наряду с достоинствами жидкостная экстракция имеет ряд недостатков, основным из которых является использование токсичных и дорогостоящих растворителей (этилацетат, хлороформ и изобутанол), что не соответствует международным стандартам GMP в условиях фармацевтического производства.

В этой связи в настоящей работе для предварительной обработки условии выделения и препаративной наработки субстанции стероидных препаратов с дальнейшим применением современных инновационных хроматографических методов и CO₂ экстракции, и с целью оптимизации технологических параметров, выявления селективных экстрагентов и выхода эндистерона основного действующего вещества многих адаптогенных препаратов, проведена экстракция надземной части серпухи венценосной культивируемой в участке лекарственных растений МНПХ «Фитохимия» с варьированием ее основных параметров. Для определения оптимальных условий извлечения эндистерона использовали траву, измельченную до 8 мм (см. Валидацию методики количественного определения эндистерона в траве серпухи венценосной). Количество определение содержания эндистерона проведено с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (таблица 1).

Таблица 1

Результаты изучения динамики извлечения эндистерона (20E) из сырья серпухи венценосной в зависимости от технологических факторов

Экстракции	Степень измельчения, мм	Темп-ра экстрагирования, °C	Время экстрагирования, часы	Колич-ное содержание (20E), %
Этанольная(96,2%)	до 8	80	3	2,9
Этанольная (96,2%)	до 8	20	24	2,6
Водно-этанольная (70%)	до 8	80	3	1,8
Хлороформно-этанольная (50:50%)	до 8	80	3	0,8

Продолжение таблицы 1

Изобутанольная	до 8	105	3	2,4
Этанольная (96,2%) на аппарате Сокслета	до 8	80	3	1,25

Как видно из таблицы 1 для оптимизации извлечения эндистерона использованы различные параметры экстракции. Во всех 5 экстрактах (кроме хлороформной) обнаружено высокое содержание эндистерона, что доказывает о высокой эффективности использования серпухи венценосной, как основного промышленно-значимого источника вышеуказанной субстанции.

Относительно низкий выход эндистерона (0,8%) и повышение уровня требований к безопасности процессов фармацевтического производства привело к необходимости исключения хлороформа из технологии получения фармакологической активной субстанции эндистерона.

Этанольные экстракты при разных температурных режимах (80°C и 20°C) примерно одинаково извлекают целевой продукт эндистерон (2,9 % и 2,6 % соответственно) и превосходят по извлекающей способности остальные изученные экстрагенты.

Таким образом, в результате пришли к выводу, что для получения экстракта с высоким содержанием эндистерона (2) в качестве экстрагента необходимо использовать 96% этиловый спирт, несмотря на некоторую энергетическую затратность.

Но, исходя из данных о взаимосвязи структуры и биологической активности эндистероидов и флавоноидов (как синергетиков адаптогенного действия эндистероидов), эти два класса соединений выбраны в качестве основных объектов исследования для их разделения и создания на их основе новых субстанции и РСО с целью удешевления процесса, считаем целесообразным провести водно-этанольную экстракцию с последующим переходом к изобутанольной.

Поскольку флавоноиды и эндистероиды довольно близки по полярности, то для их фракционирования применяют дробную жидкость-жидкостную экстракцию основанную на селективном экстрагировании. Преимуществом такого метода перед хроматографическим разделением является простота аппаратурного исполнения, дешевизна и экспрессность. В технологии переработки сырья надземной части серпухи венценосной применена экстракция водным этанолом с последующей жидкость-жидкостной экстракций, последовательно смесью петролейного эфира и этилацетата для отделения липофильных компонентов, и изобутанолом-для отделения стероидов и полифенольных соединений.

Известно, что полифенольные компоненты с широким диапазоном полярности, переходящие в эндистероидную фракцию безвозвратно, теряются при общепринятых методиках выделения эндистероидов с использованием колоночной хроматографии на Al₂O₃.

В этой связи, разработана методика комплексной переработки сырья надземной части серпухи венценосной, основанная на извлечении полифенольных компонентов из «эндистероид-фенольной» фракции-субстанции препарата «Эндифит» водными щелочными растворами, позволяющая получить эндистероидную фракцию, практически не содержащую полифенолов и сумму полифенольных компонентов (рисунок 1).

Дополнительная очистка эндистероидов проведена хроматографией на окиси алюминия. Следует отметить, что количество адсорбента для осуществления последнего процесса в сравнении с общепринятыми методиками сокращается практически на порядок, что значительно удешевляет процесс получения эндистероидов. Основными эндистероидами, помимо эндистерона, являются известные аюгастерон C(3), 25S-инокостерон (5) и дакрихайнастерон (7) (5-дезоксикаладастерон) (структуры установлены с применением 2D ЯМР ¹H-¹H и ¹H-¹³C COSY).

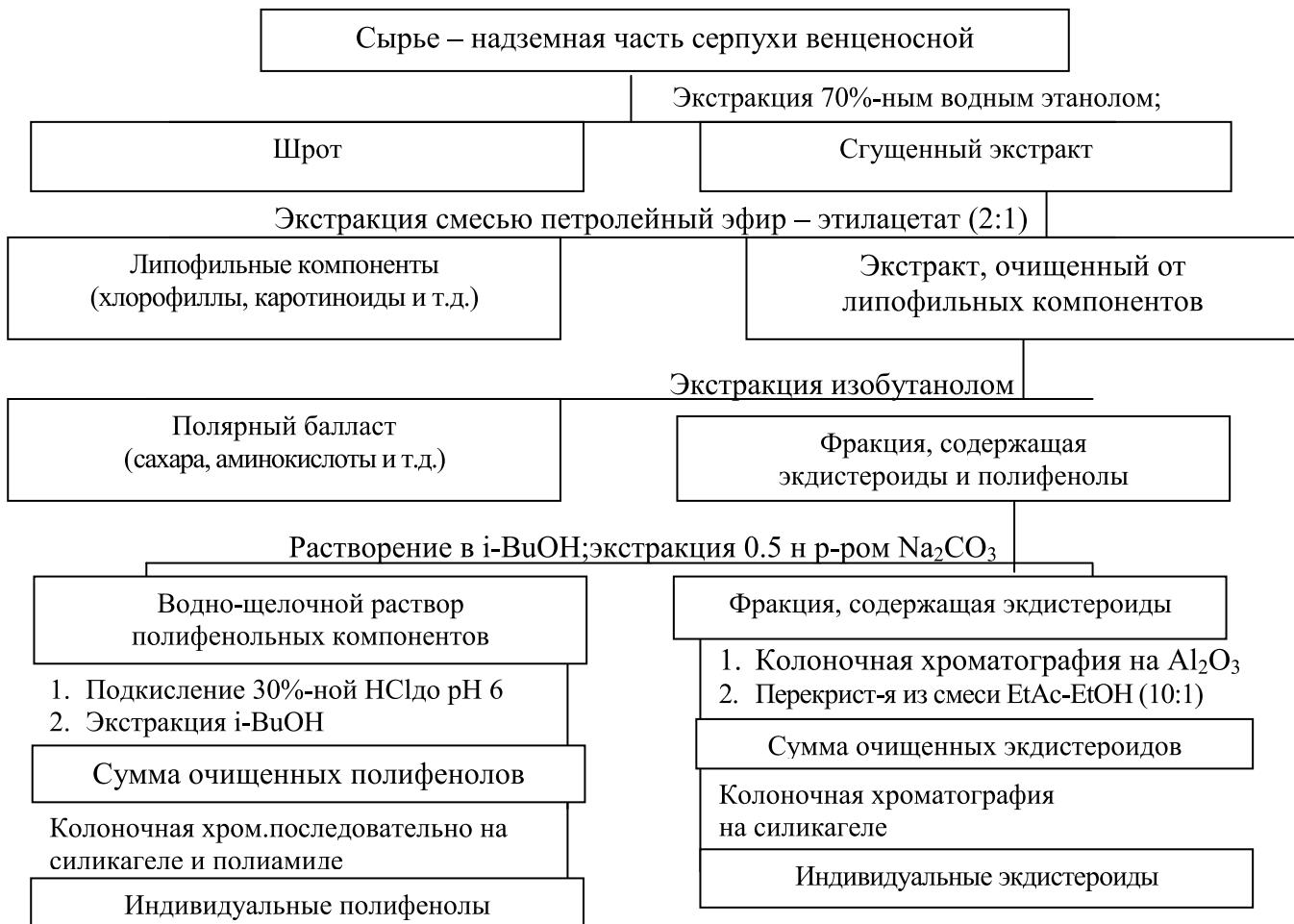
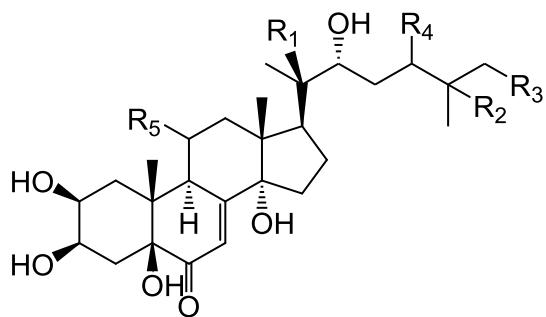


Рисунок1. Принципиальная блок-схема выделения биологически активных веществ (эcdистероидов и флавоноидов) из надземной части серпухи венценосной

Колоночным хроматографированием (хлороформ – 96%-ный этанол) суммы эcdистероидов на силикагеле выделены эcdистерон (2), а также менее полярные витикостерон (4), α-эcdизон (1), 25S-инокостерон (5), макистерон А(6), аугастерон С (3), 5-дезоксикаладастерон (7).



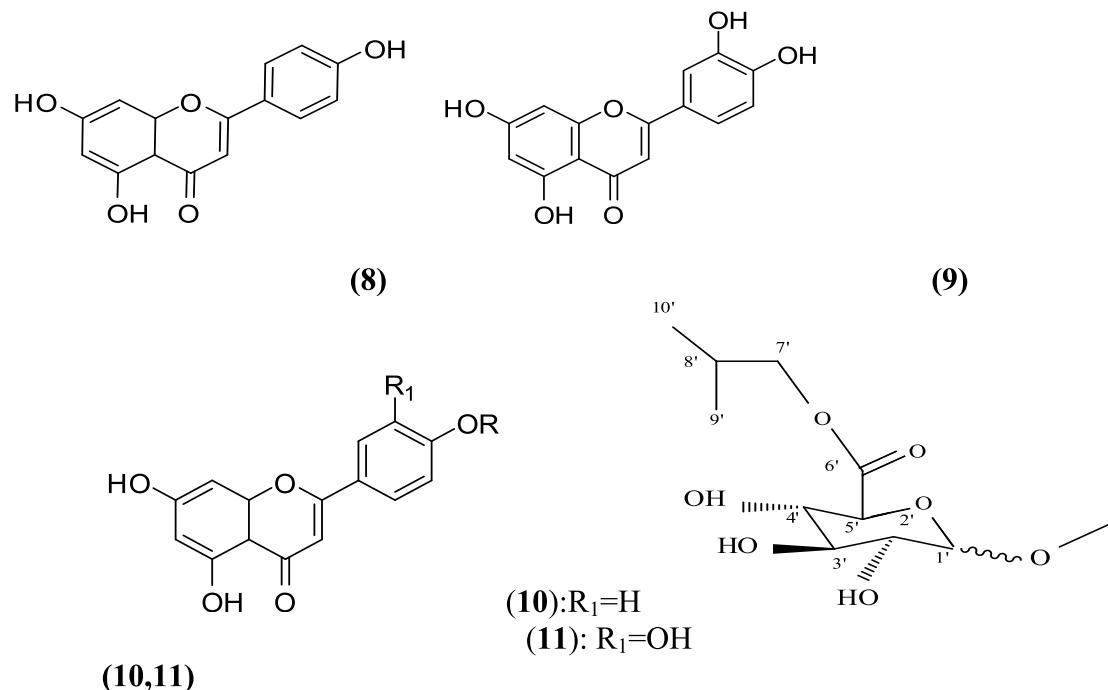
- (1) R₁=R₃₁=R₄₁=R₅₁=H; R₂₁=OH;
- (2) R₁=R₂₁=OH; R₃₁=R₄₁=R₅₁=H;
- (3) R₁=OH; R₂₁=R₃₁=R₄₁=H; R₅₁=α-OH;
- (4) R₁=OH; R₂₁=OAc; R₃₁=R₄₁=R₅₁=H;
- (5) R₁=R₃₁=OH; R₂₁=R₄₁=R₅₁=H;
- (6) R₁=R₂₁=OH; R₃₁=R₅₁=H; R₄₁=Me;
- (7) R₁=OH; R₂₁=R₃₁=R₄₁=H; R₅₁=H, Δ⁹⁽¹¹⁾;

Помимо эcdистероидов, в растении присутствуют в значительном количестве флавоноиды – аналоги рибофлавина: апигенин, лютеолин, кверцетин и их гликозиды.

Установлено их количественное содержание в траве серпухи венценосной: апигенина $1,3 \pm 0,5\%$, кверцетина $2 \pm 0,5\%$, лютеолина $3,5 \pm 0,5\%$.

Сумму полифенольных компонентов, полученную по схеме, приведенной на рисунке 1, разделили методом колоночной хроматографии на силикагеле на 3 фракции в соответствии с их полярностью. Из первой, наименее полярной, рехроматографией на силикагеле выделены флавоноидные агликоны апигенин(8) и лютеолин (9).

В результате многократного хроматографического разделения компонентов второй фракции на силикагеле и полиамиде выделили два индивидуальных компонента (10), (11), оказавшихся глюкуронидами апигенина и лютеолина этерифицированными изобутанолом по карбоксильной группе глюкуроновой кислоты.



Таким образом, в серпухе венценосной, культивируемой на участке лекарственных растений МНПХ «Фитохимия», выход суммы флавоноидов в пересчете на воздушно-сухое сырье составляет порядка 5%, что позволяет рассматривать исследуемое растение в качестве одного из перспективнейших источников флавоноидов и препаратов на их основе.

Комбинация методов жидкость-жидкостной экстракции использованная нами в технологии комплексной переработки исследуемого сырья серпухи венценосной с получением в качестве целевых продуктов эндистерона-субстанции многих актопротекторных препаратов и рабочего стандартного образца, а также макистерона А, витикостерона Е, 25 S-инокостерона, α -экдизона, лютеолина, апигенина, кверцетина, позволило предложить лабораторный регламент комплексного безотходного способа получения вышеуказанных практически ценных эндистероидов и флавоноидов и внедрить в производство на Карагандинском фармацевтическом заводе.

Литература

1. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство Asteraceae (Compositae). – СПб.: Наука, 1993.-352 с.
2. Махов А.А. Зеленая аптека.- Красноярск, 1993.-246 с.
3. Крылов Г.В., Казаков Н.Ф., Лагерь А.А. Растения здоровья. – Новосибирск: 1989-303 с.
4. Амосова Е.Н., Зуева Е.П. Разина Т.Г., Турецкова В.Ф., Азарова О.В., Крылова С.Г., Гольдберг Е.Д. Поиск новых противоязвенных средств из растений Сибири и Дальнего Востока // Экспериментальная и клиническая фармакология.-1998.-Т. 61.-№6.-С. 31–35.

5. Абубакиров Н.К. Экдистероиды цветковых растений (*Angiospermae*) // Химия природных соединений.-1981.-№6.-С. 685–702.
6. Уфимцев К.Г., Ширшова Т.И., Якимчук АП., Володин В.В. Гормональное, токсическое и адаптогенное влияние экдистероидов *Serratula coronata* L. на личинок *Ephestia Kihniella*. Zell. // Растительные ресурсы.-2002.-Т. 38.-№2.-С. 29–39.
7. Плотников М.Б., Зибарева Л.Н., Колтунов А.А., Алиев О.И., Якимова Т.В., Маслов М.Ю. Гемореологические свойства экстрактов из некоторых растений, содержащих экдистероиды // Растительные ресурсы.-1998.-№1.-С. 91–96.
8. Зайнуллин В.Г., Мишурев В.П., Пунегов В.В., Старобор Н.А., Башлыкова Л.А., Бабкина Н.Ю. Биологическая эффективность двух кормовых добавок, содержащих экдистероиды *Serratula coronata* L. // Растительные ресурсы.-2003.-№2.-С. 95–103.
9. Амосова Е. Н., Харина Т. Г. Фармакологическая активность экстракта из *Serratula coronata* L. // Растительные ресурсы.-1989.-№2.-С. 258–262.
10. Дошинская Н. В., Березовская Т. П., Серых Е. А. и др. Лекарственные растения сибирской флоры как источники биологически активных соединений // Тез.докл. первой республиканской конференции по медицинской ботанике. Киев,-1984.-С. 121–122.

***SERRATULA CORONATA* L. ДӘРІЛІК ШИКІЗАТЫН КЕШЕНДІ ҚАЙТА ӨНДЕУ**

B.S.Temirgaziev, O.U.Kuatbaev, P.K.Kudabaeva, B.I.Tuleuov, S.M.Әdekenov

e-mail: phyto_pio@mail.ru

«Фитохимия» халықаралық ғылыми-өндірістік холдингі» АҚ, Қарағанды қ.,
Қазақстан Республикасы

Аталмыш мақалада «Фитохимия» XFХ дәрілік өсімдіктер аймағында өсірілетін *Serratula coronata* L. тәжді түймебас өсімдігінің жер бетіндегі болігі - бірінші қазақстандық «Экдифит» анаболикалық және адаптогендік дәрілік күралының өсімдікті негізін кешенді зерттеу нәтижелері келтірілген. Сығындылардың әр түрінен алынған көптеген актопротекторлық препараттардың негізгі субстанциясы - экдистеронның тиімді шығымдары және flavonoidтар мен экдистероидтарды кешенді боліп алу туралы мәліметтер келтіріледі. Бөлек алынған flavonoidтар мен экдистероидтардың жаңа субстанциялар мен стандартты жұмыс үлгілері ретінде пайдаланылу мүмкіндігі көрсетілген.

COMPLEX PROCESSING OF MEDICINAL RAW MATERIALS OF *SERRATULA CORONATA* L.

B.S. Temirgaziev, O.U. Kuatbaev, P.K. Kudabaeva, B.I. Tuleuov, S.M. Adekenov

e-mail: phyto_pio@mail.ru

JSC International Research and Production Holding «Phytochemistry», Karaganda,
Republic of Kazakhstan

This article presents the results of a comprehensive study of the aerial parts of *Serratula coronata* L., plant basis for the first Kazakhstan anabolic and adaptogenic drug Ecdyphyt, cultivated on the plot of medicinal plants of IRPH «Phytochemistry». The data on the optimal outputs of ecdysterone, the main substance of many acto-protective drugs from different types of extracts, and on complex extraction of flavonoids and ecdysteroids is provided. It shows that flavonoids and ecdysteroids isolated separately can be used as new substances and working standard samples.

Лекарственные препараты на основе эндистероидов левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides* (Willd) Пјин)



Состав:

Корневище с корнями левзеи сафлоровидной

Фармакологические свойства

- обладает стимулирующим и тонизирующим действием на нервную систему, особенно в физическом переутомлении, общей слабости, плохом аппетите и пониженной трудоспособности;
- улучшает работу сердца, регулирует артериальное давление;
- пробуждает спящего человека после принятия снотворных средств;
- помогает при импотенции, хроническом алкоголизме;
- улучшает настроение, снимает головную боль;
- помогает при быстрой утомляемости и депрессивном состоянии в климактерическом периоде.

ФИТОЧАЙ «ЛЕВЗЕЯ»

(Маралий корень)
стимулирующего действия

Показания к применению

Экстракт левзеи назначают в качестве стимулирующего средства, повышающего работоспособность при умственном и физическом переутомлении, импотенции. Рекомендуют левзею при астенических синдромах различного происхождения (посттравматическая церебрастения, постинфекционная астения, астеношпонохондрические состояния у больных неврозами и у психически больных). Назначают при лечении больных депрессией. На центральную нервную систему оказывает стимулирующее действие фитохимический комплекс.

Способ применения и дозы

1 чайную ложку (2 г) фиточая или 1 фильтр-пакет залить 1 стаканом (200 мл) кипятка, настаивать 10 минут, процедить, отжать. Принимать взрослым по 1 стакану (200 мл) в день во время еды. Продолжительность приема - 2-3 недели. При необходимости через 1 месяц прием можно повторить.

Побочные действия

Не рекомендуется при индивидуальной непереносимости. Перед применением советуем проконсультироваться с вашим лечащим врачом.

Противопоказания

Не рекомендуется при индивидуальной непереносимости. Перед применением советуем проконсультироваться с вашим лечащим врачом.

Форма выпуска

Чай пакетированный
масса: 50 г шт. в кор: 60, вес кор: 3,8 кг

Производитель

Компания «Алтай Старовер»,
Алтайский край, г. Барнаул, Россия,



**ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ SILENE
FRUTICULOSA (PALL.) SCHISCHK**

O.У. Куатбаев¹, Б.И. Тулеев¹, В.А. Хрипач², С.М. Адекенов¹

¹phyto_pio@mail.ru

АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия» г. Караганда, Республика Казахстан

²e-mail: alhss@mail.ru

Институт биоорганической химии НАН Республики Беларусь г. Минск, Республика Беларусь

В представленной статье обобщены данные комплексного изучения химического состава надземной части *Silene fruticulosa*. Исследован полный стероидный профиль исследуемого растения и приведены структуры выделенных эндостероидов. Показано, что *Silene fruticulosa* - это первый представитель флоры Казахстана, изученный на содержание брассиностероидов – нового класса гормонов растений.

Основным специфическим признаком большой группы природных стероидов (эндостероиды, брассиностероиды, витанолиды, стероиды морских организмов, карденолиды, метаболиты витамина Д и др.) является наличие нескольких окисленных центров и их определенная стереохимия, которые отвечают за разнообразную биологическую активность. Соединения этой группы полиоксистероидов, в частности эндостероиды и брассиностероиды, являются в настоящее время предметом пристального научного интереса многих мировых исследовательских и фармацевтических центров в связи с большим возможностям их использования в качестве новых физиологически активных веществ. [1].

В этом плане, в последние годы интерес многих научных центров прикован к такому перспективному классу стероидных соединений, как эндостероиды, обладающих анаболической, психостимулирующей и адаптогенной активностью на фоне отсутствия токсических и андрогенных эффектов [2].

В настоящей работе нами предпринято изучение стероидного профиля смолевки кустарничковой *Silene fruticulosa* (Pall.) Schischk, которая встречается на всей территории Казахстана в природных местообитаниях и соответственно является перспективным промышленно – доступным источником вышеуказанного чрезвычайно важного класса вторичных метаболитов [3,4].

В этой связи для комплексного исследования стероидного состава растения смолевки кустарничковой *Silene fruticulosa* (Pall.) Schischk собранной фазу цветения в 2013 году в окрестностях Алгабасского сельского округа Восточно-Казахстанской области первоначально подвергли к изучению надземную часть (рис. 1).



Рисунок 1. Растение *Silene fruticulosa* (Pall.) Schischk

Исследованиями с использованием качественных реакций, методов хроматографии (БХ, ТСХ и газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором) нами было установлено, что химический состав суммарных извлечений из надземной части

смолевки кустарничковой, произрастающей на территории Казахстана, являются многокомпонентными и представлен разными классами биологически активных соединений (БАС).

В исследуемом объекте были обнаружены высокомолекулярные полиненасыщенные и насыщенные жирные кислоты и их сложные эфиры, замещенные пираноны, фенольные соединения и их винил и пропенил производные, флаваноны, витамин Е, а также особо важные растительные интермедиаты – возможные генетические предшественники стероидных соединений – сложные эфиры желчных кислот – стероидные замещенные изо-аллохолаты и др.

С использованием ВЭЖХ проведен анализ экстракта надземной части на содержание фитоэдистероидов.

На первом этапе исследован выход экстрактивных веществ, извлекаемых 70%-ным водным этанолом, а далее методом обращенно-фазовой высокоеффективной жидкостной хроматографии (ОФ•ВЭЖХ) (HEWLETT PACKARD Agilent 1100 Series, аналитическая колонка 4,6•150 мм, ZorbaxSB-C₁₈; ПФ:10% изопропиловый спирт, УФ-детектирование при длине волны 254 нм, температура колонки 20°C, скорость подачи элюента 0,75 мл/мин, объем вводимый пробы 20 мкл). Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание эдистероидов (г/кг сухого веса) в растении смолевки кустарничковой

Образец растения	Содержание (1)эдистерона	Содержание (2) 2-дезоксиэдизона	Содержание (3) 2-дезоксиэдистерона	Содержание Циастерона(4)
<i>Silene fruticulosa</i> (Pall.) Schischk (SiFr-Ex)	2.4	0.45	0.11	0,056

Таким образом, проведенное исследование показало, что надземные части смолевки кустарничковой *Silene fruticulosa* (Pall.) Schischk содержат эдистерон в качестве основного эдистероида (содержание 2.4 г/кг сухого веса), а также 2-дезоксиэдизон (0.45 г/кг) и 2-дезоксиэдистерон (0.11 г/кг) циастерон (0,056 г/кг) в качестве минорных представителей этого класса полиоксистероидов.

Для препаративного выделения вышеуказанных компонентов высушенные на воздухе растения экстрагировали водным этанолом и далее полученный экстракт подвергали очистке от неполярных компонентов путем промывки смесью петролейного эфира с этилацетатом. Очистка от водорастворимых примесей была осуществлена путем экстракции растворенной в воде эдистероидной фракции изобутанолом. Полученную смесь эдистероидов наносили на колонку с силикагелем, элюируя ступенчатым градиентом хлороформа с этанолом. Элюат из колонки объединили в 8 фракций, основываясь на данных ТСХ-анализа. Для всех фракций Ф-1 - Ф-8 были записаны ¹Н ЯМР и масс-спектры, на основании которых фракции Ф-1 - Ф-4, Ф-6 были исключены из дальнейшего рассмотрения как не содержащие стероидов. Фракция Ф-8 содержала индивидуальное соединение, структура которого доказана путем сравнительного анализа его ¹Н- и ¹³С ЯМР-спектров. Они обнаружили полную идентичность с соответствующими спектрами, полученными для аутентичного образца эдистерона (1).

Дальнейшая работа с фракциями Ф-5 и Ф-7 предполагала их дополнительную очистку, однако повторная хроматография на силикагеле с использованием других растворителей не дала желаемых результатов. Решением проблемы стало ацетилирование фракций Ф-5 и Ф-7 с последующим выделением ацетатов и анализом последних методами ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии. Основываясь на совокупности спектральных данных, выделенным соединениям приписана структура 2-дезоксиэдизона (2) и 2-дезоксиэдистерона (3) (рис.2).

Продолжая изыскания в направлении выделения и доказательства структур новых фитоэcdистероидов, нами также из экстракта надземной части данного растения выделен циастерон – умеренно распространенный в растительном мире полиоксистероид (**5**) и истинный гормон линьки и метаморфозы насекомых – α -экдизон ($2\beta,3\beta,14\alpha$, (22R), 25-пентагидрокси- 5 β (H) – холест – 7 – ен – 6 - он), тонкие строения которых установлено с применением спектральных методов (4).

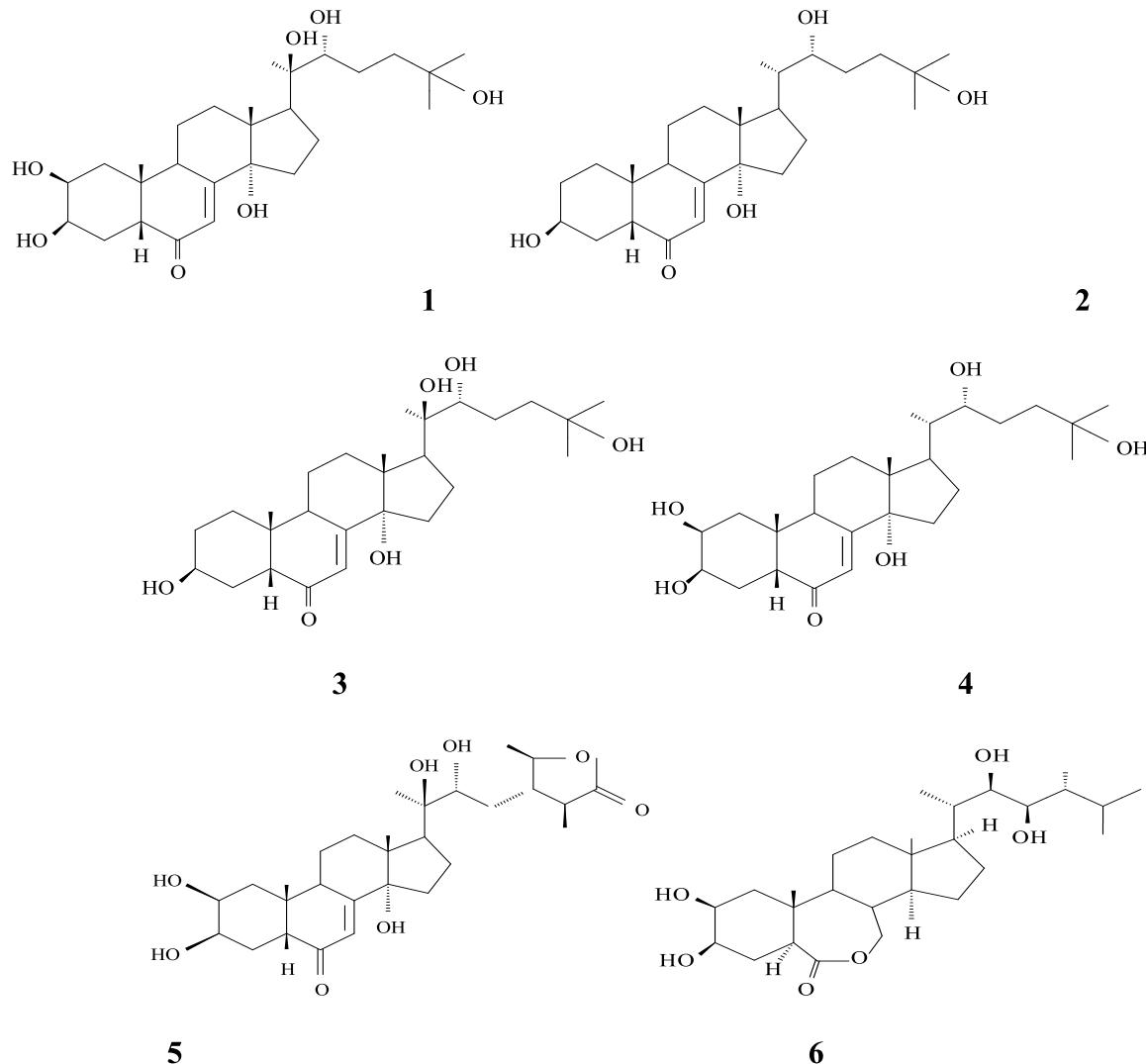


Рисунок 2. Структурные формулы эндистерона и других полиоксистероидов

В настоящее время наряду с успешным развитием исследований низкомолекулярных биорегуляторов и, в первую очередь, стероидных гормонов и их аналогов, в том числе экди- зонов-экдистероидов (гормонов насекомых и растений) получила бурное развитие изучение брассиностероидов-нового класса гормонов растений. Именно комплексный подход к реше-нию проблем этого обширного класса природных соединений, выполняющих важные регу-ляторно-физиологические функции человека, животных, микроорганизмов и растений, включающий поиск и определения содержания указанных вторичных метаболитов в расте-ниях, разработку методов химического синтеза и структурной модификации, установления строения и биологического действия, зависимости «структура-функция», может создать ос-нову для получения не только научно значимых, но и практически важных результатов.

В этой связи в рамках Межгосударственных научно-технических программ и проектов совместно с белорусскими коллегами с Института биоорганической химии (ИБОХ) НАН РБ проведен комплексный химический скрининг растения смолевки кустарничковой по каче-

ственному и количественному определению содержания эндистероидов и родственных полиоксистероидов.

В настоящее время в анализе полиоксистероидов разрабатывают и используют современные эффективные методы их определения и при этом снизив временные и материальные затраты.

Применение разработанных в ИБОХ НАН Беларусь иммуноферментных аналитических систем позволило проанализировать содержание брацциностероидов в исследуемом растений.

Навеску растительного экстракта обработали метанолом (2 мл), перемешивали 24 ч. Далее отобрали аликвоту метанольного экстракта (1 мл), упарили и остаток растворили в 1 мл буферного раствора (рН 7,4). Смесь перемешивали в течение 24 ч, затем центрифугировали (10 мин, 12000 об/с) и проводили иммуноферментный анализ с использованием тест-систем для определения 24R-метилбрацциностероидов (ЭБ) и 28-гомобрацциностероидов (ГБ). Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание брацциностероидов (мг/г экстракта) в растении смолевки кустарничковой

Образец растения	Масса навески, мг	Содержание 24R-метилбрацциностероидов (ЭБ)	Содержание 28-гомобрацциностероидов (ГБ)
<i>Silene fruticulosa</i> (Pall.) Schischk.	29,5	881	678

Таким образом, в результате проведенного комплексного химического скрининга растения смолевки кустарничковой на содержание эндистероидов и родственных полиоксистероидов сформулированы следующие выводы:

1. Проведено качественное определение содержания биологически активных веществ в экстракте *Silene fruticulosa* (Pall.) Schischk. (сем. *Caryophyllaceae* Juss.) и идентифицированы его основные компоненты. В исследуемом объекте были обнаружены высокомолекулярные жирные кислоты и их сложные эфиры, флавоноиды, и возможные генетические предшественники – стероидные замещенные изо-аллохолаты и др.

2. Из изобутанольного экстракта растения смолевки кустарничковой *Silene fruticulosa* (Pall.) Schischk. выделены 4 фитоэндистероиды: эндистерон, 2-дезоксиэндизон, 2-дезоксиэндистерон и α-эндизон и с применением современных спектральных методов установлены их тонкие строения.

3. Впервые в изобутанольном экстракте надземной части смолевки кустарничковой *Silene fruticulosa* (Pall.) Schischk обнаружен циастерон – эндистероид с дополнительным γ – лактонным циклом в боковой цепи.

4. Впервые проведено качественное и количественное определение родственных полиоксистероидов-24R-метилбрацциностероидов и 28-гомобрацциностероидов в экстракте растения смолевки кустарничковой – первого представителя флоры Казахстана, изученного на данный класс вторичных метаболитов и установлены их содержания.

Литература

1. Жилицкая Г.А. Синтез производных полиоксистероидов и их аналогов, модифицированных в боковой цепи и циклах А и В.: Авторефер. дис... канд. хим. наук.: 02.00.03.- Минск, 2013 – 22с.
2. Тулеуов Б.И. Стероидные соединения растений и лекарственные препараты на их основе. Поиск, химическая модификация и практические аспекты применения. Караганда: «Гласир», -2009.-208 с.
3. Адекенов С.М., Гулякевич О.В., Жабинский В.Н., Кожанова А.М., Тулеуова Б.К., Альмагамбетов А.М., Тулеуов Б.И., Хабдолда Г., Хрипач В.А. Состав и содержание эндистероидов в растении *Silene fruticulosa* (Pall.) Schischk. // Материалы международной научной конференции «Биологически активные вещества растений – изучение и использование». – Минск, 2013. – С.234-235.

4. Альмагамбетов А.М., Тулеуова Б.К., Куатбаев О.У., Кудабаева П.К., Хабдолда Г., Тулеуов Б.И., Хрипач В.А., Адекенов С.М. Стероиды *Silene fruticulosa* (Pall.) Schischk. и их биологическая активность // Сборник тезисов VIII Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ». – Калининград, 2013. – С.29.

***SILENE FRUTICULOSA (PALL.) SCHISCHK ЖЕР БЕТІНДЕГІ БӨЛІГІН ХИМИЯЛЫҚ
ТҮРҒЫДАН ЗЕРТТЕУ***

O.U. Kuatbaev¹, B.I. Tuleuov¹, V.A. Chripach², S.M. Adekenov¹

¹phyto_pio@mail.ru

«Фитохимия» халықаралық ғылыми-өндірістік холдингі» АҚ, Қарағанды қ.,

Қазақстан Республикасы

²e-mail: alhss@mail.ru

Беларусь Республикасы УФА Биоорганикалық химия Институты Минск қ.,

Беларусь Республикасы

Мақалада *Silene fruticulosa* жер бетіндегі бөлігінің химиялық құрамын кешенді зерттеу мәліметтері жинақталған. Зерттелетін өсімдіктің толық стероидтық профилі зерттелді және бөліп алынған էкдистероидтардың құрылыштары көлтірілген. *Silene fruticulosa* - өсімдіктердің гормонының жаңа класы - брассиностероидтарға құрамы зерттелген Қазақстан флорасының бірінші өкілі екендігі көрсетілген.

CHEMICAL STUDY OF AERIAL PARTS OF *SILENE FRUTICULOSA (PALL.) SCHISCHK*

O.U. Kuatbaev¹, B.I. Tuleuov¹, V.A. Chripach², S.M. Adekenov¹

¹phyto_pio@mail.ru

JSC International Research and Production Holding «Phytochemistry»,

Karaganda, Republic of Kazakhstan

²e-mail: alhss@mail.ru

Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences,

Minsk, Republic of Belarus

The article summarizes the data on a comprehensive study of the chemical composition of the aerial part of *Silene fruticulosa*. Complete steroid profile of test plant is studied and the structures of ecdysteroids are given. It shows that *Silene fruticulosa* is the first representative of Kazakhstan flora searched for the content of brassinosteroids, a new class of plant hormones.

ЛЕВЗЕИ ЖИДКИЙ ЭКСТРАКТ

адаптогенного и общеукрепляющего действия



Состав

Спиртовой (на 70%-этиловом спирте) экстракт (1:1) из корневищ с корнями левзеи - рапонтикума сафлоровидного 1000 г

Фармакологическое действие

Оказывает общетонизирующее действие, повышает работоспособность

Показания к применению

Физическое и умственное переутомление, астеническое состояние.

Способы применения и дозы

Внутрь, по 20-30 капель 2-3 раза в сутки до еды, разводя в небольшом количестве воды. Курс лечения 30-40 дней. Целесообразность проведения повторного курса определяется врачом.

Противопоказания

Повышенная индивидуальная чувствительность к компонентам препарата, артериальная гипертензия (повышенное артериальное давление), повышенная возбудимость, эпилепсия, судорожный синдром, аритмия, хронический алкоголизм, нарушение сна, острые инфекционные заболевания, хронические заболевания печени и почек; беременность, период лактации, детский возраст до 12 лет.

Побочное действие

Возможны аллергические реакции, головная боль, повышение артериального давления, нарушение сна, раздражительность, диспепсия.

Форма выпуска

Экстракт жидкий для приема внутрь.

По 25, 50 мл во флаконах-капельницах оранжевого стекла. По 25, 30, 50 мл во флаконах оранжевого стекла. Каждый флакон-капельницу или флакон вместе с инструкцией по применению помещают в картонную пачку.



Производитель

ООО "Камелия НПП" Московская обл.,
г. Лобня. Россия

СОДЕРЖАНИЕ

От редакционной коллегии	4
Информация по посещению директора Международного центра по химическим и биологическим наукам Университета Карачи, профессора Мухаммада Икбал Чоудхари (Пакистан) Международного научно-производственного холдинга «Фитохимия».....	7
<i>Laurence Dinan and René Lafont</i> PHYTOECODYSTEROID OCCURRENCE, DISTRIBUTION, BIOSYNTHESIS, METABOLISM, MODE OF ACTION AND APPLICATIONS: DEVELOPMENTS FROM 2005 TO 2015.....	9
<i>Л.Н.Зибарева</i> ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ: РАСПРОСТРАНЕНИЕ В МИРОВОЙ ФЛОРЕ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ.....	40
<i>И. С. Левина, И. В. Заварзин</i> ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ: ВЫДЕЛЕНИЕ, СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА	50
<i>В.В. Володин, С.О. Володина</i> ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ И АДАПТОГЕНЫ. НОВАЯ ЭКДИСТЕРОИДСОДЕРЖАЩАЯ СУБСТАНЦИЯ СЕРПИСТЕН.....	69
<i>А.Л.Савчук, Р.П.Литвиновская, В.М.Насек, Е.В.Санько-Счисленок, В.Н.Жабинский, В.А.Хрипач</i> СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ РАСТЕНИЙ: МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ И ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	84
<i>Karel Slama</i> WHAT ARE ECDYSTEROIDS: INSECT HORMONES, ESSENTIAL MAMMALIAN D-VITAMINS OR POLAR STEROLS USED FOR GROWTH IN PLANTS?.....	100
<i>В.Н.Сыров</i> ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКДИСТЕНА КАК ПРЕПАРАТА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ.....	111
<i>Б.С.Темиргазиев., О.У.Куатбаев., П.К.Кудабаева., Б.И.Тулеуов., С.М.Адекенов</i> КОМПЛЕКСНАЯ ПЕРЕРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ <i>SERRATULA CORONATA L.</i>	119
<i>О.У. Куатбаев, Б.И. Тулеуов, В.А. Хрипач, С.М. Адекенов</i> ХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ <i>SILENE FRUTICULOSA (PALL.) SCHISCHK.</i>	126

ПРАВИЛА
издания журнала
«ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ БЮЛЛЕТЕНЬ»

Журнал публикует статьи фундаментального и прикладного характера. Материалы публикаций должны отражать результаты научных исследований по химии, фармации, медицине.

Издание имеет следующие рубрики:

- Обзорные статьи;
- Оригинальные статьи;
- Реферативные сообщения;
- Сообщения зарубежных ученых.

К оформлению публикаций предъявляются следующие требования:

1. К статье прилагаются сопроводительные документы: акт экспертизы; резюме на русском, казахском, английском языках; 2 отзыва ведущих ученых.

2. Статья должна быть отпечатана в 2-х экземплярах на одной стороне стандартного листа, с одинарным интервалом между строками, размер шрифта 12, поля сверху, снизу и справа 2 см, слева 4 см и иметь разделы: введение, материалы и методы, результаты и обсуждение, выводы, литература. К статье должен прилагаться электронный вариант (USB – накопитель (флеш-карта), CD-, DVD-диск).

3. В начале статьи приводятся УДК, название статьи, инициалы и фамилии авторов, e-mail авторов, название учреждения, в котором выполнена работа, с указанием города, в конце статьи должна быть подпись каждого автора с указанием должности, ученой степени, ученого звания, фамилии, имени, отчества, адреса и телефона.

4. Фотографии, рисунки, схемы должны быть контрастными, четкими, озаглавлены и пронумерованы. Комментарии к таблицам (не более 5) должны носить сравнительный характер и не повторять содержания таблиц.

5. Статья должна быть тщательно выверена автором. Корректура автору не высыпается, сверка проводится по авторскому оригиналу в формате MS Word 6.0-2000 for Windows.

6. Статьи могут представляться на казахском, русском и английском языках.

7. Сокращение слов, имен, названий, кроме общепринятых, не допускается. Единицы измерений даются в Международной системе СИ. Аббревиатуры и латинские названия расшифровываются после первого появления в тексте и остаются неизменными.

8. Список литературы составляется согласно последовательности цитирования по тексту. В тексте дается ссылка на порядковый номер источника в квадратных скобках. Ссылка на неопубликованные работы не допускается. При ссылках на статьи из журналов указываются Ф.И.О. авторов, название статьи, название журнала, место издания, год, том, номер, страницы; на статьи из сборников - Ф.И.О. авторов, название статьи, название сборника, место и год издания, количество страниц; на монографии - Ф.И.О., название монографии, место издания, название издательства, год издания, количество страниц; на главы из монографий - Ф.И.О. автора главы, название главы, Ф.И.О. автора монографии, название монографии, место издания, год издания, страницы. Количество источников в статье не должно превышать 20, в обзоре литературы – 50 за прошедшие 5-10 лет.

9. Направление в редакцию работ, ранее опубликованных или представленных к печати в другие издания, не допускается.

10. Не соответствующие Правилам статьи не публикуются и не возвращаются автору. Редакция оставляет за собой право производить сокращения и редакционные изменения.

Учредитель и издатель:
АО «Международный научно-
производственный холдинг
«Фитохимия»

Тел.: +7 (7212) 43-31-27, 43-31-44.
Факс: +7 (7212) 43-31-27
E-mail: arglabin@phyto.kz,
phyto_pio@mail.ru