

**ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ:
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ И АКТИВНОСТЬ (ОБЗОР)**

Тимофеев Н.П.
КХ БИО (Научно-производственное предприятие), Россия

СОДЕРЖАНИЕ

Введение

- 1. Физиологические действия экдистероидов**
- 2. Фармакологическое использование**
 - 2.1. Сведения из этномедицины**
 - 2.2. Использование в современной медицине**
- 3. Молекулярные механизмы проявления активности**
 - 3.1. Особенности лиганд-рецепторного взаимодействия**
 - 3.2. Кофакторы активности**
 - 3.3. Взаимодействия со стрессовыми белками**
 - 3.4. Эффекты с трансмембранными рецепторами**
- 4. Активность экдистероид содержащих составов**
 - 4.1. Сравнительная активность различных видов растений**
 - 4.2. Неочищенные составы *Rhaponticum carthamoides***
 - 4.3. Составляющие биологической активности**
 - 4.4. Новые препараты из *Rhaponticum carthamoides***

Заключение

Литература

РЕФЕРАТ

В обзоре рассмотрены физиологические действия, фармакологическое использование, молекулярные механизмы проявления активности экдистероидов. Проанализирована база данных по эдистероидам, биологическая активность которых различается на 6 порядков (от 10^{-10} до 10^{-4} М). Показано, что сравнительная фармакологическая активность эдистероид содержащих растений обусловлена сложным комплексом фитоэдистероидов с продуктами основного и вторичного обмена веществ. Предполагается, что большое различие в дозах и направленности действий индивидуальных эдистероидов из различных источников происходит путем суммирования действия, блокирования и инактивации через минорные составы, вторичные посредники и экзогенные метаболиты. Виды-сверпродуценты могут содержать растительные рецепторы эдистероидов, а также являться источником множества других нестероидных составов, в частности трансактивационных стрессовых элементов для промоторных участков генов, лигандов для ретиноидных и трансмембранных рецепторов.

Исходная активность лекарственного сырья в процессе множественных процедур по изоляции индивидуальных фитоэдистероидов в значительной степени теряется. В ходе технологических работ по изоляции 1-3 мажорных компонентов весь комплекс биологически активных веществ удаляется как балластные вещества, хотя соединения, которые содержится в следовых количествах, могут внести более существенный вклад в результирующую активность, чем вещества со значительно высокой концентрацией.

В настоящее время ведется конструирование нового класса эдистероид содержащих препаратов из цельного лекарственного сырья левзеи сафлоровидной – *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) P-jin. Разработан новый класс фармпрепаратов и биологически активных добавок к пище – *Биоинфузин*, *БЦЛ-Фито*, *Lipolite*, *RapontikTM*, с использованием элементов надземной фитомассы растений, выращиваемых с использованием технологии, способствующей биосинтезу высокоактивных эдистероидов и их сохранность во времени.

Ключевые слова: эдистероиды, эдистерон, 20-hydroxycdysone, *Rhaponticum carthamoides*, левзея сафлоровидная, лекарственное сырье, биологическая активность эдистерона

ВВЕДЕНИЕ

Экдистероиды составляют самое распространенное и самое многочисленное семейство стероидных соединений в животном и растительном мире; они участвуют в жизнедеятельности практически всех классов организмов, выполняя множественные функции. Кроме гормональных функций, осуществляемых у насекомых, физиологическая их роль в других классах беспозвоночных, растениях и млекопитающих остается неясным. Предполагается, что у человека она могла бы заключаться в общерегулирующих воздействиях на организм, подобно витаминам и витаминоподобным веществам. Широкое распространение экдистероидов в биосфере закономерно приводит к вопросу относительно механизмов проявления ими биологической активности: как у членистоногих при эндогенном синтезе, так и у млекопитающих при поступлении извне с пищей.

Известно, что эмбриональное развитие, периодические линьки и метаморфозы насекомых в онтогенезе вызваны пиками экдистероидов (экдизонов), высвобождаемых из запасных фондов или синтезируемых в проторакальных железах под воздействием мозговых нейропептидов. Присутствие экдистероидов не ограничено членистоногими (насекомыми и ракообразными), имеется отчетная документация об их обнаружении в одноклеточных простейших, древних группах кишечнополостных (медузы, полипы, кораллы), а также в моллюсках, кольчатых и плоских червях (цестодах и трематодах), нематодах (Rees, 1995; Lafont, 2003). Ни в одном из видов млекопитающих экдистероиды не обнаружены.

Познание теоретических основ проявления биологической активности экдистероидов в живых системах важно для понимания прикладного использования этих соединений в качестве фармацевтических, инсектицидных или противопаразитарных средств. Современный уровень научных изысканий по экдистероидам включает как фундаментальные исследования в области генетики, клеточной и молекулярной биологии, биомедицинской химии, физиологии человека, животных и растений, так и прикладные направления, направленные на решение реальных проблем в области химии синтеза и технологии природного сырья, биотехнологии, фармакологии, медицины, энтомологии и ряда областей сельского хозяйства. За последнее десятилетие началось широкое коммерческое использование трех важнейших экдистероидов (рис. 1) – *ponasterone* (*ponA*), *muristerone* (*murA*) и *ecdysterone* (*20E*). В патентной базе США (*US Patent & Trademark Office*; режим поиска по ключевым словам) наибольшее число патентов по состоянию на начало 2005 года зарегистрировано по *muristerone* – 82 (рис. 2А).

Стремительно растет число заявок на патенты (*pregrant*), особенно с использованием высокоактивных составов. Число поданных заявок за период 2001-2004 гг., где упоминаются высокоактивные составы *ponasterone* и *muristerone*, в 1.6 раза выше, чем число патентов за 1976-2004 гг. с этими же экдистероидами (201 заявка против 124-х патентов). Среднегодовое число поданных за последние 4 года заявок с использованием *muristerone* составляет 33, *ponasterone* – 18, *ecdysterone* – 8, по всем другим экдистероидам – 7. В предыдущие 20 лет в среднем за год патентовались 1-3 работы. За 2003 год темпы прироста зарегистрированных патентов по отношению к предыдущему периоду времени за 1995-2002 гг. составили 253 % (рис. 2В). По *ponasterone* этот показатель за 2003 год был равен 333 %, по *ecdysterone* – 205 %.

Учитывая биологическую и экономическую важность данного класса соединений в улучшении качества жизни человека, в настоящее время ведущими лабораториями разных стран проводится скрининг мировой флоры с целью идентификации видов-сверхпродуцентов, биотестирование и молекулярное моделирование активности всех известных и вновь открываемых экдистероидов с целью выявления наиболее важных составов (Harmata и Dinan, 1997; Dinan и др., 2001; Балтаев, 2000; Voigt и др., 2001; Volodin и др., 2002; Harmata и др., 2002; Dinan, 2003; Lafont, 2003; Bathori и Pongracz, 2005).

Первичный химический синтез экдистероидов в искусственных условиях не осуществляется, как правило, из более активных соединений методом химической трансформации могут быть получены только малоактивные продукты вторичного значения (Dinan, 2003). Аналогичные проблемы возникают при использовании методов биотехнологии

– биосинтез в условиях культуры тканей, клеток или модифицированных корней сопровождается накоплением неидентифицированных или неактивных соединений (Тимофеев, 2004).

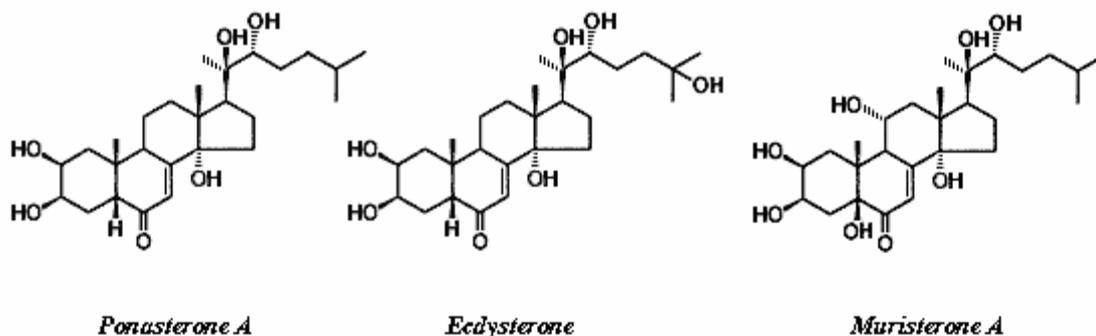


Рис. 1. Экдистероиды, нашедшие широкое практическое применение

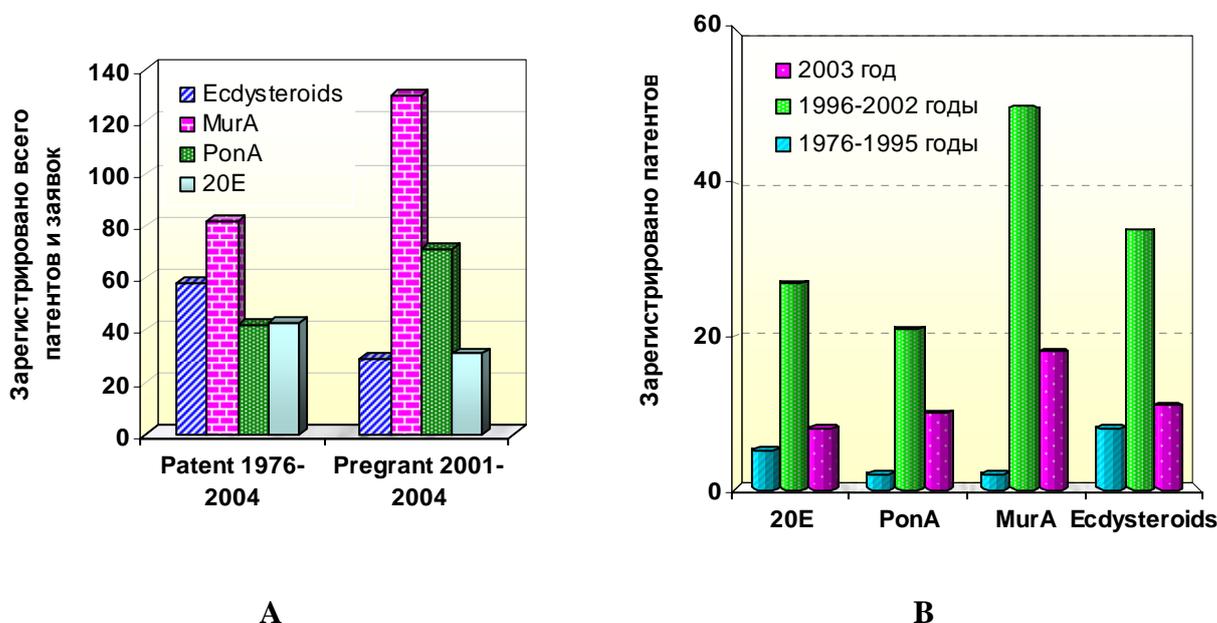


Рис. 2. Динамика прироста патентной базы США по экдистероидам

Экдистероиды содержатся практически во всех растительных объектах, но различия в уровнях концентрации достигают огромных величин – 8-9 порядков (Тимофеев, 2003). Присутствие повышенных их количеств характерно, наряду с цветковыми растениями, для таких древних организмов, как папоротники, грибы, мхи, водоросли, голосеменные растения (Балтаев, 2000). Фитоэкдистероиды обнаружены в таксонах растений, как близко, так и далеко отстоящих в филогенетическом плане друг от друга. В отделе *Magnoliophyta* экдистероиды обнаружены во всех 10 подклассах, 40 порядках и более 80 семействах разного уровня эволюционной продвинутости (Володин и Чадин, 2003). Обычное содержание составляет очень малую величину – менее 0.00001 %; примерно у 4-5 % растений – сотые и тысячные доли от сухого веса; лишь у незначительного числа видов мировой флоры концентрация достигает 0.5-1.5 % в расчете на сухую биомассу (Bandara и др., 1989; Лафон, 1998; Dinan и др., 2001; Volodin и др., 2002).

Историческая длительность научно-исследовательских работ в этой области насчитывает

около 50 лет. Несмотря на столь значительный промежуток времени и огромное число публикаций – более 3 тысяч статей по ключевому слову *ecdysteroids* в научных журналах; около 4.5 тысяч статей в Интернете (www.scirus.com), эти вещества во многих отношениях еще остаются до конца непознанными и окутанными множеством легенд.

Проблема здесь подразделяется на несколько моментов:

1. Существует откровенная спекуляция темой, вызванная стремлением заработать на наукообразии, дефиците общедоступной информации. Если проследить за рекламными публикациями в Интернете и массовых изданиях, складывается впечатление, что любые экдистероиды и препараты на их основе, независимо от источников получения, способны творить чудеса – вернуть молодость 70-и летнему старцу, вылечить раковую болезнь, нарастить 7 кг “железных” мускулов в месяц и т.п. Где правда и где ложь, а где заблуждения? А если такие слухи возникают, наверное, имеются единичные случаи реальных фактов под легендами.

Если даже исходить из результатов положительных экспериментов с участием некоторых фитозекдистероидов из отдельных источников, данный факт никак не может быть рассмотрен в качестве всеобщей закономерности. Следует иметь в виду, что коммерческий продукт 95 % чистоты еще не характеризует активность конкретного соединения, так как имеются еще другие составы, в сотни и десятки тысяч раз более активные при следовых концентрациях, или же неактивные, блокирующие действие основного экдистероида. Поэтому, активность даже 98 % химически очищенных экдистероидов не всегда одинакова от разных источников.

2. По экдистероидам много неизвестного, особенно по молекулярным механизмам их действия. Известная науке отдельная информация накладывается на добросовестные заблуждения и предубеждения отдельных исследователей, что выражается в экстраполяции отдельных фактов проявления активности этих соединений во всеобщую закономерность. Поступление экдистероидов в организм с рационом питания еще не означает автоматического проявления их активности; примерно из 20 тысяч потенциальных растительных источников (5 % растений с повышенным содержанием фитозекдистероидов из мировой флоры) реально используются не более двух десятков видов.

Имеются многочисленные примеры, когда высокая концентрация экдистероидов в пище не оказывает никакого воздействия на человека. Например, можно употреблять сколь угодно много салата из листьев шпината огородного (*Spinacia oleracea*), молодых побегов серпухи венценосной (*Serratula coronata*) или съедобных видов папоротников (*Polypodium*), не испытав при этом влияния экдистероидов. И наоборот, достаточно употребить 10 мг побегов другого продуцента экдистероидов – левзеи сафлоровидной (*Leuzea carthamoides*), чтобы испытать на себе весь спектр физиологических действий, описанных в литературе.

3. Нужно признать, что сами по себе экдистероиды инертны в организме человека и млекопитающих. Считается, что это особенность эволюционно обусловленного, взаимно-сопряженного развития лигандов-экдистероидов и их рецепторов. Необходим ряд условий, чтобы активизировать их функции. Ключевыми моментами транскрипции в случае с ядерными рецепторами является взаимодействие с шоковыми белками, образование гетеродимерного комплекса с рецептором 9-цис-ретиноевой кислоты (RXR-retinoids), участие в процессе мультибелковых комплексов. Взаимодействие с мембранными рецепторами – еще менее изученная область, где наиболее интересным является взаимодействие с группой трансмембранных 7ТМ-рецепторов, насчитывающей до 2000 участников в организме человека.

Последние научные исследования показывают, что главную роль в проявлении биологической активности играют белковые вещества, являющиеся кофакторами (активаторы и репрессоры транскрипции), или же вступающие в прямые белок-белковые взаимодействия с различными рецепторами. Также, вторичные минорные экдистероиды – агонисты и антагонисты, фенольные и жиросодержащие соединения, макро- и микроэлементы способны оказывать как синергическое, так и ингибирующее влияние на результирующую активность.

Познание механизмов активности экдистероидов – одно из главных направлений биомедицинской науки, которое в сочетании с современными методами биотестирования и компьютерного объемного моделирования пытается объяснить ключевые взаимодействия лиганда и

рецептора в связке “структура-активность”, предсказать оптимальную конфигурацию и конформационное состояние идеального соединения – с целью осуществить искусственный синтез первых высокоактивных составов.

1. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ДЕЙСТВИЯ ЭКДИСТЕРОИДОВ

Около полувека прошло с тех пор, как экдистероиды были впервые изолированы (Vutenandt и Karlson, 1954), а затем идентифицированы из куколок тутового шелкопряда *Bombyx mori* (Hocks и Wiechert, 1966). В растениях эти вещества впервые обнаружены примерно сорок лет назад (Nakanishi и др., 1966). Хотя значительный прогресс был достигнут в понимании того, как экдистероиды регулируют развитие членистоногих, их роль в мире животных и растений все еще непонятна. Несмотря на значительные усилия по исследованию, множество открытых вопросов по зоо- и фитоэкдистероидам остаются – особенно относительно механизмов проявления биологической активности и их роли в природных взаимоотношениях между растениями и фитофагами, млекопитающими и паразитическими организмами.

Экдистероиды могут влиять на функции жизнедеятельности практически всех классов организмов (рис. 3) но вопрос о роли их в живой природе до сих пор остается открытым. Достоверно известно лишь то, что один из главных представителей экдистероидов, физиологически активный *20-hydroxyecdysone*, и некоторые другие (*makisterone C*, *25-deoxyecdysone*) являются истинными гормонами линьки для членистоногих (насекомых и ракообразных) в концентрациях $10^{-7} \dots 10^{-9}$ М и инициируют превращения, происходящих в эмбриогенезе и ходе развития личинки с метаморфозом до взрослого насекомого (Ахрем и Ковганко, 1989; Kozlova и Thummel, 2000). Периодические линьки вызваны пиками экдистероидов, синтезируемых в проторакальных железах под воздействием нейропептидов, вырабатываемых в мозге насекомых (Smith, 1998). Аналогичные физиологические действия экдистероидов предполагаются в отношении моллюсков, гельминтов и кольчатых червей (Rees, 1995).

Некоторые морские организмы (например, пикногониды и кораллы) также секретируют весьма высокие уровни экдистероидов (10^{-3} М), которое интерпретируется исследователями как средство защиты от нападения хищников. Например, выброс экдистероидов *Pucnogonum litorale* против десятиногого ракообразного *Carcinus maenas* вызывает нарушение гормонального равновесия и отпугивание последнего (Томашко и Гуклер, 1996).

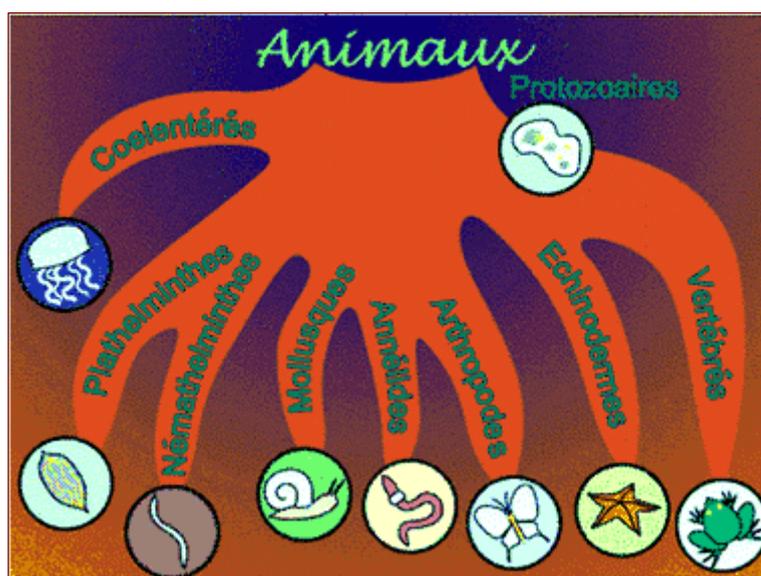


Рис. 3. Экдистероиды в царстве животных (по www.quasimodo.versailles.inra.fr/ecdyzone)

Что же касается человека и других млекопитающих, при сочетании определенных условий экистероиды могут обладать гормоно- или витаминоподобными действиями, но не являются при этом истинными эндогенными гормональными сущностями (Ахмед, 1993; Slama и Lafont, 1995). В большинстве случаев они передаются от растений, где осуществляется их биосинтез, нижеследующим звеньям пищевой цепочки.

Будучи введенным в организм человека и теплокровных животных, экистероиды распространяются в потоке крови по внутренним органам и вызывают быстродействующие, наступающие в течение нескольких минут, а также длительные, продолжающиеся множество суток, эффекты. При внутримышечной инъекции элиминация начинается через 4-10 мин, через 2 часа радиоактивная метка экистероидов в крови не обнаруживается. При пероральном введении процесс всасывания из кишечника в сравнении с внутривенным является более длительным (Nikino и др., 1972; Lafont и др., 1988).

Экистероиды относятся к низкотоксичным веществам, ЛД₅₀ для *20-hydroxyecdysone* составляет 6.4 г/кг при внутривенном и 9.0 г/кг при пероральном введении (Lafont и Dinan, 2003). Полупериод их распада в организме сравнительно невелик, различия в длительности связаны с дозами используемых соединений, способами их введения, интенсивностью абсорбции в кровь, видами подопытных животных и т.д. Например, для овец полупериод распада *20-hydroxyecdysone* равен 0.2 ч при внутривенном введении, 0.4 ч – при пероральном и 2.0 ч – при внутримышечном введении. У крыс полувывод был равен 0.13 ч (8 мин) при внутривенном введении. У мужчин этот показатель в крови при дозе 0.2 мг/кг в ходе перорального введения составил 9 ч для *20-hydroxyecdysone* и 4 часа для *α-ecdysone*. Для *ponasterone A* длительность полураспада при внутрибрюшной инъекции составила 0.8 ч (Albanese и др., 2000).

Показано, что *20-hydroxyecdysone* не разрушается под воздействием кислотно-щелочного содержимого пищеварительного тракта и не оказывает отрицательного воздействия на ассоциации микроорганизмов, обитающих в нем (Selersova, 1993; Иванов, 1997). Выделительный путь – через печень и желчь в кишечник (кал) и мочу. Через сутки после приема *20-hydroxyecdysone* почти полностью элиминируется из организма (Lafont и др., 1988). В лаборатории допингового контроля (Олимпийский Атлетический Центр, Греция) методами газовой хроматографии было обнаружено, что при приеме 20 мг препарата *ecdysten* орально остаточное количество *20-hydroxyecdysone* через 21 час было равно 0.19 % от исходного (Tsit-sipiriko и др., 2001). Одновременно, наряду с основным, использованным в эксперименте экистероидом, в моче спортсменов идентифицировано появление новых метаболитов, в частности, менее активных *2-deoxyecdysterone* и *deoxyecdysone*. Данный факт может быть объяснен микробиальной трансформацией *20-hydroxyecdysone* под действием анаэробных бактерий, заселяющих кишечник человека (Lafont и Dinan, 2003).

Физиологические эффекты экистероидов на организм человека и теплокровных животных весьма разнообразны. Они регулируют минеральный, углеводный, липидный и белковый обмен (Uchiyama и Voshida, 1974; Сыров и др., 1975; Catalan и др., 1985; Kosovskii и др., 1989; Kholodova и др., 1997). Способность их к нормализации уровня сахара в крови может быть полезной при лечении сахарного диабета (Молоковский и др., 1989; Takahashi и Nishimoto, 1992). Экистероиды нормализуют также уровни холестерина (Uchiyama и Yoshida, 1974; Миронова и др., 1982); снимают воспаление печени, вызванное токсическим гепатитом (Сыров и др., 1986); обладают способностью дублировать действие витамина D₃, проявляя антирахитический эффект (Ахмед, 1993).

Известно проявление ими антиоксидантных (Осинская и др., 1992; Кузьменко и др., 1999), противомикробных (Володин и др., 1999; Osipova и др., 2002), противовоспалительных (Курмуков и Сыров, 1988) и ранозаживляющих свойств (Дармограй и др., 1996b; 1999). Кроме того, они оказывают иммуномодуляторное (Сахибов и др., 1989; Кузьмицкий и др., 1990), адаптивное, стрессопротективное и ноотропное действие (Саратиков и др., 1970; Дармограй и др., 2001b; Пчеленко и др., 2002; Лекарства и БАД в спорте..., 2003), а также противосудорожный эффект при спонтанной эпилепсии (Hanaya и др., 1997).

Установлено стимулирование кроветворной функции (эритропоэз), усиление регенерации и возрастание концентрации эритроцитов и гемоглобина в крови при использовании *20-hydroxyecdysone* (Сыров и др., 1997). Наблюдается повышение активности элементов защитной системы крови – лимфоцитов и нейтрофилов (Trenin и Volodin, 1999), усиление функций фагоцитоза (Сахибов и др., 1989; Кузьмицкий и др., 1990). Ацетаты и производные *20-hydroxyecdysone* также стимулировали биосинтез ДНК в лимфоцитах человека и животных, активированных поликлональными митогенами (Фомовская и др., 1992). Показано превентивное и терапевтическое действие фитоэкдистероидов при индуцируемой анемии и лейкопении (Дармограй и др., 2001а), в лечении угрожающего прерывания беременности (Дармограй и др., 2003), нарушений в деятельности половой функции (Mirzaev и др., 2000), а также климактерического синдрома, вызванного возрастными изменениями в регуляции репродуктивного цикла (Гусак и др., 2002).

Экдистероиды являются причиной анаболического эффекта, стимулируя биосинтез белка в печени, почках и мускульных мышцах (Otake и др., 1969; Сыров и др., 1975; Сыров и Курмуков, 1976; Айзиков и др., 1978; Slama и др., 1996; Тодоров и др., 2000а). Это свойство широко используется для коррекции массы тела во время тренировочного процесса и достижения высоких показателей в профессиональном спорте (Гайджиева и др., 1995; Португалов и др., 1996; Сейфулла, 1998, 1999). В отличие от синтетических стероидов, высокая расположенность к синтезу протеина при приеме некоторых экдистероид содержащих составов не сопровождается опасными для жизни побочными эффектами. Поэтому они, кажется, являются желательными и достойными заменителями для таких популярных, но запрещенных из-за своей токсичности средств тестостеронового ряда, как *methandrostenolon* (*dianabol*, *anabol*, *reforfit*, *nerobol*, *pronabol* и т.д.), используемых в скоростных и силовых видах спорта (Чермник и др., 1988; Португалов и др., 1997; Лекарства и БАД в спорте..., 2003).

Подробный обзор физиологических эффектов действия экдистероидов приведен в работе Lafont и Dinan (2003). Авторы отмечают, что наряду с большим количеством опубликованной за последние три десятилетия информации имеются результаты экспериментальных исследований, не подтверждающих в ряде случаев общеизвестные факты. Так, например, данные по противоопухолевой активности неоднозначны, отмечен случай, когда *20-hydroxyecdysone* стимулировал рост опухоли молочной железы при подкожной инъекции в течение 5 дней, а *α-ecdysone* вызывал опухолевое поражение в жабах и мышах. Японские исследователи не выявили противовоспалительного эффекта *20-hydroxyecdysone* в дозе 5 мг/кг, изолированного из корней бразильского растения *Pfaffia irsinoides*, применяемого в течение 7 дней (Takei, 1991; Taniguchi и др., 1997).

Также, данные по анаболической активности экдистероидов неоднозначны. Анаболический эффект выявлен лишь для некоторых индивидуальных соединений, в частности *20-hydroxyecdysone*, *viticosterone E*, *turkesterone*, выделенных из растений рода *Rhaponticum*. При этом дозы *20-hydroxyecdysone*, вызывающие положительный эффект, могут различаться на несколько порядков – от сверхмалых доз, равных 0.02 мкг/кг/день (Purser и Baker, 1999) и 0.035 мг/кг (Тимофеев и Ивановский, 1996а) – до больших концентраций, равных 5-20 мг/кг (Сыров и Курмуков, 1976, Тодоров и др., 2000а), или же проявляться с незначительным эффектом, составляющим 112-116 % относительно контроля (Slama и др., 1996). Анаболический эффект сопоставимых доз экдистероидов из многих других источников, в частности, изолированных из *Serratula coronata*, не зафиксирован (Пчеленко и др., 2002; Зайнуллин и др., 2003).

2. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

2.1. Сведения из этномедицины

Использование экдистероид содержащих растений уходит корнями в глубины племенных культовых обрядов аборигенов, населяющих древнюю Русь, Сибирь, Китай и Монголию, Северную Америку, Южную Америку, Индию. Важнейшие их представители, установ-

ленные современными методами исследований как сверхконцентраты фитостероидов (Тимофеев, 2004), были известны еще в глубокой древности. В представлении многих народов они были связаны с суевериями и легендами

1. *Polypodium* – папоротники; содержат экдистероиды *ponasterone*, *ecdysterone*, *pterosterone*, *makisterone* и т.д. Использовались в древней Руси в качестве магических растений, озаряющих интуицию, прогоняющих кошмары и злую силу. Система корневищ папоротника *P. lepidoptera*, произрастающих в лесах Южной Америки, использовалась аналогично перуанскими племенами в ритуальных обрядах.

2. *Pfaffia* – сума, содержит *ecdysterone*; известен у народностей Южной Америки как “*para todo*”, или как “лекарство от всех вещей”; знаменит своими адаптогенными и тонизирующими свойствами. Впервые описан европейцами в 1656 году и был назван как “бразильский женьшень”, из-за подобия его действия американскому и азиатскому женьшеню (*Panax* spp.).

3. *Ipomoea* – вьюнок пурпурный; используются редкие виды, произрастающие на южных склонах Гималайских гор и синтезирующие редкие фитостероиды *muristerone*, *kaladasterone*, *calonysterone*, *makisterone*. Существует культ регионального использования семян аборигенами Северной Америки в качестве психозомиметических средств, физиологический эффект которых обусловлен совместным действием экдистероидов и галлюциногенных алкалоидов.

4. *Achyranthes bidentata* – соломоцвет двузубый; содержит *ecdysterone*, *cyasterone*, *isocyasterone*, *sengosterone*. Китайское название растения означает “превосходное лекарственное средство”. Присутствует во многих сохранившихся формулах врачей различных императорских династий Китая, Японии, Вьетнама – как тонизирующее, усиливающее биологическое начало других врачебных компонентов.

A. aspera – соломоцвет шершавый; у аборигенов Индии означало растение, приносящее удачу и отпугивающее ядовитых насекомых, змей. Использовался в народе как отхаркивающее, жаропонижающее, бактерицидное, диуретическое, от камней в почках, от зубной боли и бессонницы, водобоязни, от кишечных расстройств, для снятия раздражительности.

5. *Taxus baccata* – тис европейский; синтезирует *ponasterone*, *ecdysterone*, *makisterone*, *dachryhainansterone*, *taxisterone*. Один из главных источников противораковых средств в современной медицине. Наиболее известны как священные деревья древних кельтов дохристианской эры. Символизировали вечную жизнь из-за их вечнозелености, исключительной жизнеспособности и долговечности (продолжительность жизни отдельных особей достигает более 2000 лет). Многие тисовые заповедники связаны с христианскими святынями на Британских островах, Польше, Венгрии, Украине, Кавказе. Растения использовались многими религиями как источник духовной потенции.

7. *Polyporus umbellatus* (Eichhase) – китайский гриб-трутовик; содержит микоэкдистероиды *polyporusterone* A...G. Известны древние китайские источники об использовании его как “лекарство из крестьян” еще за 2000 лет до нашей эры. Многочисленные современные исследования китайских ученых подтвердили значительную противораковую активность, эффективность торможения развития опухолей достигает 70 %.

6. *Rhaponticum carthamoides* – “легенда древней восточной медицины,” источник духовной, физической и половой силы. Основными направлениями использования в являются: приобретение физической выносливости, афродизическое для стимулирования сексуальной активности, тонизирующее, общеукрепляющее, ранозаживляющее, противоопухолевое, анаболическое и т.д. Синтезирует более 50 индивидуальных экдистероидов, в т.ч. такие высокоактивные соединения, как: *rapisterone D*, *dachryhainansterone*, *24(28)-dehydro-makisterone A*, *22-benzoate-ecdysterone*, *5-deoxy-kaladasterone*, *ecdysterone (20-hydroxyecdysone)*, *polypodine B*, *ajugasterone C*, *makisterone A* и *C*, *integristerone*, *leuzeasterone*, *carthamosterone*, *coronatasterone* и т.д. (рис. 4).

Этноботаническое начало растений рода *Rhaponticum* уходит корнями в глубины древней восточной медицины, где они использовались под названием *Lou lu* и *Lou cao* (Guo и Lu, 1992). Фармакологическое использование препаратов на основе *R. carthamoides* не прерывалось со времен древней китайской, тибетской и монгольской медицины до наших дней. Из-

вестно, что в 9-м веке арабские купцы вывозили корневища из Китая в страны Ближнего Востока. Выращивание растения в практических целях практиковалось в аптекарских садах интродукторов X-го века (Ганиев, 1980). У русских переселенцев в 16-17 веке на Алтае ходило поверье о чудодейственной силе этого растения, который лечит от 14 недугов и возвращает молодость (Шаин и Терехин, 2002).

По легенде у местных народностей Забайкалья, сила травы такова, что после ее употребления воин одним лишь прикосновением руки может вырвать дерево с корнями. Если отвар травы примет 90-летний старец, у него восстанавливается половая сила и он может жениться на девушке 16 лет. По легенде, траву можно найти в гнезде птицы “харатан-шол”, приносящую ее с гор, или же нужно добыть изо рта убитого охотниками оленя-марала (Постников, 1995). Народная мудрость гласила, что сила растения копится в неокостенелых рогах-пантах маралов. Поэтому у аборигенов существовал обычай, по которому молодой юноша, перед тем как жениться, должен вначале добыть панты (рога) горного марала (*Cervus elaphus sibiricus*).

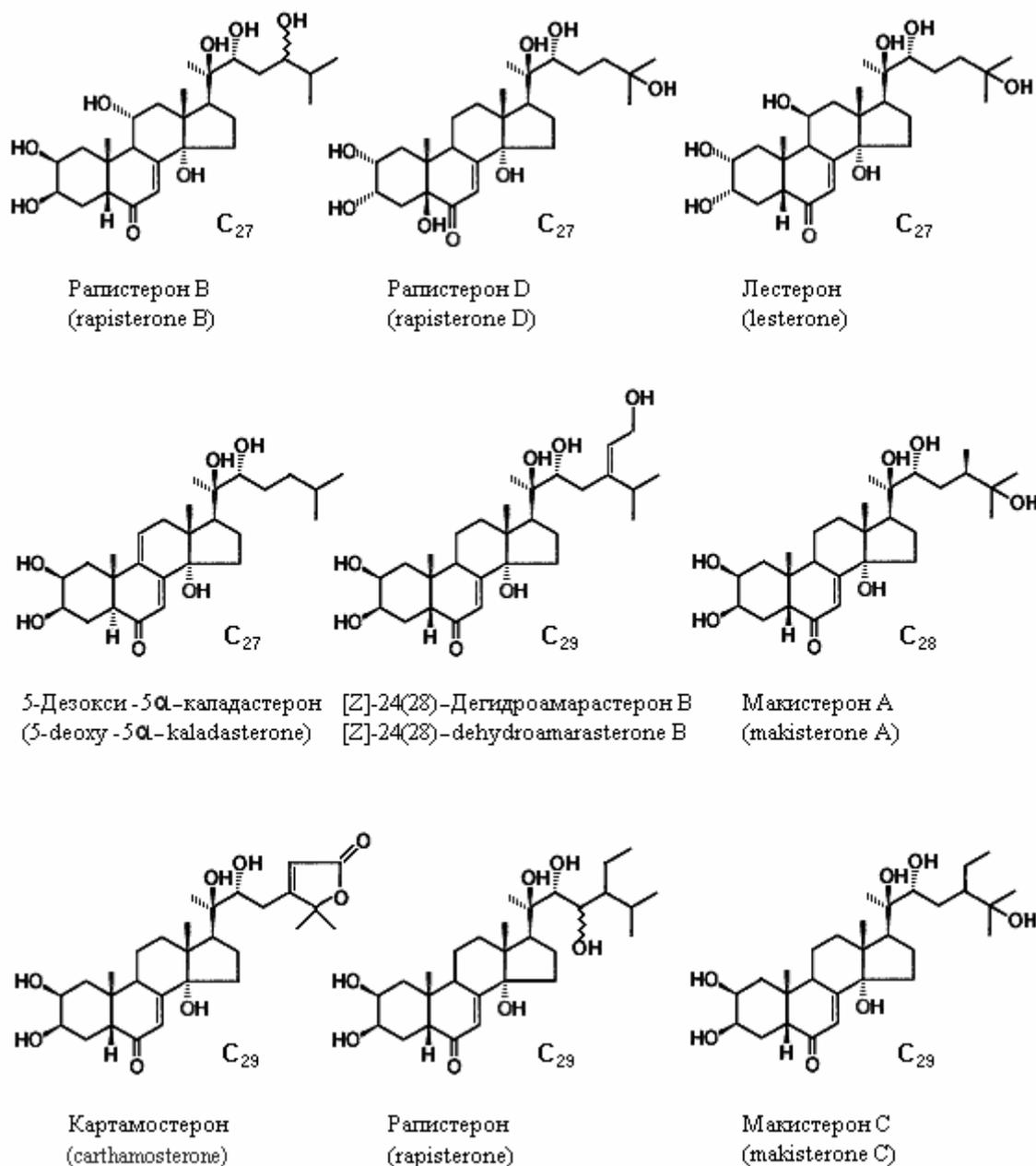


Рис. 4. Экдистероиды *Rhaponticum carthamoides*

8. *Vitex* – витекс или священные деревья; содержат экдистероиды *20-hydroxyecdysone*, *canescensterone*, *calonysterone*, *scabrasterone*, *calonysterone*, *24-epi-abutasterone* и т.д. Некоторые виды из этого рода использовались в древних храмах Западной Индии более чем 2000 лет назад. Обладают тонизирующим, успокаивающим, нормализующим половое поведение действием. Известны способностью восстанавливать баланс женских половых гормонов, регулировать менструальный цикл, снимать тяжесть предменструального синдрома и течения климакса.

Наиболее известная система использования лекарственных средств разработана в китайской и тибетской медицине. Среди 2270 видов китайских лекарственных средств, включающих минералы, растения, грибы и животные ткани, представлены все главнейшие экдистероид содержащие виды (<http://ccat.sas.upenn.edu/~nsivin/index.html>). Современный поставщик китайских лекарственных трав и экстрактов (около 500 видов) Hunan kinglong Bio-resource, Ltd. (<http://www.aerospace.com>), включает в основном те же самые виды (табл. 1).

Таблица 1

Экдистероид содержащие виды, экспортируемые в страны Запада из Китая

Ботаническое наименование	Фармакологическое название	Китайское название	Используемые части
<i>Achyranthes aspera</i> L.	Herba Achyranthes	倒扣草	части растений
<i>Achyranthes bidentata</i> Bl.	Radix Achyranthis	牛膝	корни растений
<i>Bombyx mori</i> L.	Bombyx Batryticatus	僵蚕	личинки насекомых 4-5-го возраста
<i>Cyathula officinalis</i> Kuan	Radix Cyathulae	川牛膝	корни растений
<i>Rhaponticum uniflorum</i> (L.) DC. <i>Rhaponticum carthamoides</i> (Willd.) Iljin	Radix Rhapontici	漏蘆	корни растений
<i>Polyporus umbellatus</i> (Pers.) Fries	Polyporus	猪苓	склероции грибов-трутовиков
<i>Osmunda japonica</i> Thunb, <i>Dryopteris crassirhizoma</i> Nakal	Rhizoma Dryopteris	綿馬貫眾	корневища папоротников
<i>Paris polyphylla</i> Smith var. <i>chinensis</i> (Franch.) Hara, <i>P. var. yunnanensis</i>	Mazz Rhizoma Paridis	重樓	корневища растений
<i>Diploclisia glaucescens</i> Bl.	Diploclisia	防己	кора, плоды и корни лиан
<i>Menispermum dauricum</i> DC.	Rhizoma Menispermis	北豆根	плоды и корни лиан
<i>Typha orientalis</i> , <i>T. angustifolia</i> L.	Pollen Typhae	蒲黃	пыльца водных растений

2.2. Использование в современной медицине

В современной фарминдустрии число привлеченных видов, используемых для получения экдистероид содержащих препаратов, не превышает полторы-двух десятков видов. Это крайне ничтожная величина, если исходить из количества систематизированных родов покрытосемянных растений, равных 13 479 (Brummitt и др., 1992), включающих в себя до 421 200 идентифицированных видов (Govaerts, 2001). Причины такого положения кроются в крайне малой степени изученности перспективных видов, их недоступности из дикорастущих источников, разной степени токсичности надземных органов, а также в неактивности извлечений у широко распространенных видов. Несмотря на обилие потенциальных источников, фактически для получения *ecdysterone* и препаратов на их основе нашли применение весьма ограниченное число видов из мировой флоры – это папоротники (*Polypodium*) и высшие семенные растения, главным образом из семейств *Asteraceae* (*Rhaponticum* или *Leuzea*), *Amaranthaceae* (*Pfaffia*, *Achyranthes*), *Commelinaceae* (*Cyanotis*) и *Labiatae* (*Ajuga*).

В настоящее время различные государства в качестве источников для получения экдистероид содержащих видов предлагают такие дикорастущие сырьевые ресурсы (Тимофеев, 2003; Lafont и Dinan, 2003), как корневища папоротникообразных из тенистых лесов Европы и Южной Америки (*Polypodium vulgare*, *P. lepidopters*); корни растений сем. амарантовых из тропи-

ческих лесов Бразилии и бассейна р. Амазонки (*Pfaffia paniculata*, *P. glomerata*); хвою подокарповых и тисовых из высокогорных областей Китая и Японии (*Podocarpus nakaii*, *P. macrophyllus*, *P. reichei*; *Taxus canadensis*, *T. chinensis*, *T. cuspidata*); семена эндемичных растений из рода *Ipomoea*, произрастающих на южных склонах Гималайских гор; надземную биомассу многолетних растений сем. коммелиновых, обитающих в Китае, Тайване и Индии на переувлажненных горных почвах (*Cyanotis arachnoidea*; *C. vaga*); грибы из семейства свинушковых (*Tapinella panuoides*) и трутовиков (*Polyporus umbellatus*).

Некоторые из экдистероид содержащих растительных источников являются экономически важными объектами в масштабах мирового коммерческого рынка. Например, среди 25 пользующихся наибольшим спросом фармацевтических препаратов значение финансового сбыта противоракового препарата Taxol, производимого из экдистероид содержащего растения *Taxus baccata*, было оценено 2.3 миллиардов долларов (Laird & ten Kate, 2002; Hamilton, 2003). Другими важными источниками для производства новых противораковых средств признаны: тисс коротколистный – *Taxus brevifolia*; китайский гриб-трутовик – *Polyporus umbellatus*; рапонтикум или левзея сафлоровидная – *Rhaponticum carthamoides*.

Легендарным растением, дошедшим из глубины веков древней восточной медицины до наших дней и включенным из средств народной медицины в официальную фармакопею, является *Rhaponticum carthamoides* (Растительные ресурсы, 1994, Т. 8, с. 163). В настоящее время среди 172 экдистероид содержащих препаратов различных форм, предлагаемых на мировом коммерческом рынке, около 36 % долевого участия занимают препараты из *R. carthamoides* (Тимофеев, 2001; Lafont и Dinan, 2003). Относительная доля других видов в структуре источников составляет: *Pfaffia* – 28 %, *Cyanotis* – 14 %, *Polypodium* – 4 %, *Achyranthes* и *Ajuga* – по 1 % (рис. 5). Препараты без указания видов-источников выпускаются из химически изолированных экдистероидов (22 %, в т.ч. 6 % в виде смеси разных источников), полученных главным образом, по методам биотехнологии из *Polypodium*, *Serratula* и *Ajuga* (культуры клеток, тканей и генетически модифицированных корней).

В официальной научной медицине экдистероид содержащие натуральные составы используются при нарушениях работы сердечно-сосудистой, центральной нервной и репродуктивной системы, в качестве тонизирующих и стимулирующих средств при умственном и физическом утомлении, пониженной работоспособности, импотенции, ослаблении функций разных органов (Кушке и Алешкина, 1955; Саратиков и др., 1970; Растительные ресурсы, 1993; Соколов, 2000; Лекарства и БАД в спорте..., 2003). Могут применяться для заживления ран и язв, лечения ожогов (Meubeck и др., 1997; Дармограй и др., 1996а, 2002); улучшения половой функции, стимулирования либидо и устранения дискомфорта в сексуальной жизни (Мирзаев и Сыров, 1992; Kibrik и Reshetnyak, 1996).

В спортивной и военной медицине препараты на их основе служат для адаптации и повышения работоспособности здорового человека в условиях лимитирующих факторов, в т.ч. преодоления чрезвычайных физических и психических нагрузок (Яковлев и др., 1990; Сейфулла, 1999). Вне официальной медицины в наибольшей степени распространено профилактическое использование в качестве адаптогенных, анаболических, антидепрессивных, гемореологических, ноотропных и противоопухолевых средств (Растения в медицине, 1983; Шайн и Терехин, 2002; Пчеленко и др., 2002; Плотников и др., 2001).

В основе фармакодинамики адаптогенного действия экдистероид содержащих растений лежат эффекты стимуляции специфического и неспецифического иммунитета, усиления резистентности и повышения границ адаптации организма к различного рода инфекциям, физической нагрузке, интоксикации; улучшения переносимости жары, холода, кислорода, недостатка света. Общетонизирующий эффект развивается постепенно и выражается в усилении стрессоустойчивости организма, активации метаболизма, эндокринной и вегетативной регуляции и сопровождается усилением аппетита и секреции желез желудочно-кишечного тракта, повышением тонуса полых органов. Помимо этих эффектов отмечается восстановление сниженного сосудистого тонуса, незначительное повышение артериального давления и улучшение ритмичности работы сердца, не ярко выраженный психостимулирующий эффект.

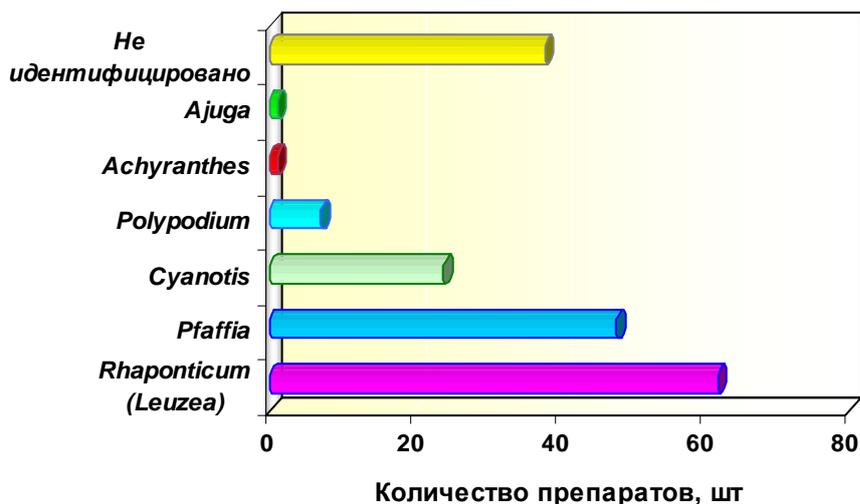


Рис. 5. Мировой рынок экистероид содержащих препаратов на основе фитостероида 20-hydroxyecdysone (по Тимофееву, 2001; Lafont и Dinan, 2003)

Механизмы общетонизирующего и адаптогенного действия неочищенных экистероид содержащих составов сложны и многогранны, здесь можно выделить такие их интегральные части, как иммунный, эндокринный, нервно-рефлекторный и психический эффекты (Лекарства и БАД в спорте..., 2003). В их реализации играет роль усиление синтеза РНК и стрессовых белков, активизации ферментов энергетического обмена и процессов регенерации. Попытка теоретического обоснования концептуальной модели механизма действия экистероидов в клинических условиях, опирающееся на комплексные исследования Ярославской государственной медицинской академии, приведено в работе В.А. Дармограй и др. (2002). В ходе многолетних работ, проведенных с привлечением врачей-специалистов и использованием как индивидуальных фитостероидов, так и их суммарных препаратов в виде 0.01-0.001 % мазей и эмульсий, водных и спиртовых растворов, а также различных фитокомпозиций (преимущественно из растений сем. *Caryophyllaceae*), выявлены следующие закономерности:

- экистероиды взаимодействуют с фосфолипидами, легко включаются в липосомы и высодисперсные эмульсии;
- обладают антиоксидантным действием, ингибируют перекисное окисление липидов;
- увеличивают активность и поверхностный заряд, микровязкость мембран эритроцитов и их резистентность к осмотическому, температурному и кислотному гидролизу;
- обладают протекторным действием в отношении УФ-индуцируемого и перекисного гемолиза эритроцитов;
- повышают фагоцитарную активность нейтрофилов в крови, увеличивают концентрацию белка и гамма-глобулинов, уменьшают исходно повышенное количество холестерина;
- увеличивают содержание гликогена в печени, активизируют белоксинтезирующие процессы, обладают гепатопротекторным действием;
- оказывают мощное ранозаживляющее действие при химических, термических, криогенных, механических повреждениях тканей, являясь стимулятором регенерации;
- способны стимулировать различные формы иммунитета – естественную, антимикробную и антиоксидантную резистентность;
- повышают работоспособность и обеспечивают профилактику утомления в отягощенных условиях;
- обладают антистрессовой, адаптогенной и актопротекторной активностью;

- оказывают ноотропное, в частности психоэнергизирующее действие;
- не угнетают жизнедеятельность микроорганизмов *in vitro*;
- не изменяют формулу периферической крови и СОЭ;
- во всех исследованиях отмечается нелинейная, как правило, параболическая зависимость графиков “концентрация-эффект”.

В данной концептуальной модели предполагается, что уникальность характера фармакологического действия экидистероидов растительного происхождения определяется их специфическим взаимодействием с системой мононуклеарных фагоцитов. Фитоэкидистероиды вызывают как рост численной плотности, так и активацию органоспецифических пулов резидентных субпопуляций макрофагов, которое проявляется в усложнении их цитоструктуры, увеличении металлофильности, складчатости плазматических мембран. Макрофагальные факторы, в свою очередь, ведут к формированию феномена “эфемерного паракринного органа”, обеспечивающего межклеточные взаимодействия и регуляцию последовательности стадий очистки межклеточного пространства от токсичных или избыточных молекул (субстанций), участвующих в снабжении пластическим материалом и энергообеспечением метаболических реакций.

Японские исследователи (Nishimoto и др., 1988; Shibuya, 2001) обращают внимание на такие эффекты экидистероид содержащих растений рода *Pfaffia*, как:

- тонизирующее;
- антидепрессивное при психологической неустойчивости, различных фобиях и возбужденных состояниях;
- иммунорезистентное при профилактике болезней, индуцированных агрессией бактерий, вирусов и грибов;
- снятие различных форм аллергических реакций, дерматитов, астматических состояний;
- облегчение аутоиммунных состояний (гемолитическая анемия; ревматоидный артрит, раковые опухоли);
- лечение язв и колитов;
- увеличение физической силы;
- возрастание сексуальной мощи, улучшение репродуктивного потенциала;
- облегчение течения процесса синдрома менопаузы.

Сейфулла Р.Д. (1999), основываясь на 20-летнем опыте использования препаратов *R. carthamoides* в спортивной фармакологии, приводит следующие закономерности адаптогенного их действия:

- тонизируют центральную нервную систему, улучшают процессы обучения, памяти, условнорефлекторную деятельность, синаптическую передачу импульсов в симпатических и парасимпатических волокнах периферической нервной системы;
- улучшают реологические свойства и микроциркуляцию крови в сосудах головного мозга и работающих мышц;
- нормализуют деятельность эндокринной системы организма;
- контролируют процесс образования и расхода энергии в исполнительных клетках (мышц, печени, почек, мозга и других органов);
- восстанавливают гуморальный и клеточный иммунитет, нарушенный в ходе тренировочного и соревновательного процесса;
- проявляют антиоксидантное действие, предотвращают гипоксию и токсические эффекты свободнорадикального окисления ненасыщенных жирных кислот, активируемых при истощающей физической нагрузке;
- обладают анаболизирующими эффектами, необходимость в которых возникает при интенсивной физической работе (тренировке) во избежание падения массы тела и деструкции белков у спортсменов;
- не обладают токсичностью и не являются допинговыми соединениями.

3. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОЯВЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ

3.1. Особенности лиганд-рецепторного взаимодействия

Являясь лигандами для внутриклеточных и мембранных рецепторов, их управляющими элементами, экистероиды обладают способностью изменять гомеостаз организма, воздействуя на рост, дифференциацию и запрограммированную смерть клеток (Kucharova и Farkas, 2002), выработку специфических продуктов их метаболизма. Роль экистероидов как лигандов состоит в переключении между двумя состояниями транскрипционного механизма генов по принципу включено-выключено, и/или в трансмембранной передаче сигналов внутриклеточным мишеням через каскад вторичных мессенджеров.

Молекулярные механизмы проявления активности экистероидов сложны. Для проявления активности необходимо прохождение ими ряда последовательных стадий в качестве лигандов для внутриклеточных или мембранных рецепторов (рис. 6). Также возможны прямые, без участия лигандов, белок-белковые взаимодействия экзогенных или эндогенных пептидов с различными классами рецепторов. Все три механизма способны смодулировать определенный сигнал, работая обособленно или совместно друг с другом (Giguere, 1999).

Наиболее изучены молекулярные механизмы активации ядерных рецепторов, биологическая деятельность которых запущена через непосредственное взаимодействие с экистероидными лигандами. Проникая через плазматическую мембрану внутрь клетки, экистероиды образуют с соответствующими белками-рецепторами сложные комплексы, способные достигать регуляторных участков хроматина в ядре и инициировать транскрипцию чувствительных генов. В этом процессе важно, что на первом этапе для пространственной стабилизации стероидного рецептора после присоединения лиганда-экистероида необходимы белки-помощники (шапероны), а также некоторые ионы металлов-микроэлементов; на втором – образование гетерокомплекса с рецепторами производных витамина А, а на заключительном – наличие мультибелковых комплексов, кофакторов транскрипции.

Рецепторы экистероидов (EcR) относятся к большой группе суперсемейства ядерных стероид-, тиреоид-, ретиноидных рецепторов (EcR, RAR, VDR, TR, PPAR), происходящих эволюционно, как предполагают, от одного общего предка (Evans, 1988). Например, для каждого из рецепторов насекомых имеются свои ближайшие аналоги у человека и других млекопитающих (табл. 2). В качестве их лигандов, регуляторов транскрипции, выступают экистероиды, ретиноиды (производные витамина А), витамин Д₃, тиреоидные гормоны, ненасыщенные жирные кислоты (эйкозаноиды) и т.д.

Сами по себе, в качестве моно- и гетеродимеров, члены рассматриваемой группы суперсемейства ядерных рецепторов (EcR, RAR, VDR, TR, PPAR, NURR-1, FAR, LXR и др.) неактивны или малоактивны. После закрепления лиганда на втором этапе для активизации любого из них требуется гетеродимеризация с рецептором 9-цис-ретиноевой кислоты (RXR). В этом они отличны от андроген-, прогестерон-, эстроген-, глюкокортикоидных рецепторов (AR, PR, ER, GR), способных активизироваться в форме гомодимеров, т.е. без участия рецептора-партнера и их лигандов.

У насекомых гомологом RXR является белковая молекула USP (ultraspiracle protein), лигандом которого, как предполагают, служат фосфолипиды или ювенильный гормон. Соответствие последовательности между USP и RXR на 80 % в ДНК-обязательной (DBD) области и на 49 % в лиганд-обязательной (LBD) области (Billas и др., 2001; Jepson и др., 2002); конформационное расхождение состоит для двух петель пространстве. Поэтому USP и RXR способны взаимно заменять друг-друга при формировании гетеродимера с рецепторами производных витамина А и Д, ненасыщенных жирных кислот, гормона щитовидной железы, а также иными рецепторами и стимулировать закрепление этих рецепторов к целевым отзывчивым элементам ответа на машинах транскрипции генов.

RXR-рецепторы выделяются среди членов семейства ядерных рецепторов уникальной способностью ассоциироваться с другими рецепторами-партнерами, активируя транскрипцию генов как в паре со вторым типом ретиноид-кислотных рецепторов RXR/RAR, так и с

EsR, VDR, TR, PPAR, NURR-1, NGFI-B, FAR, LXR и т.д. Гетеродимерный их комплекс осуществляет множественные функции, влияя на рост, развитие и воспроизводство; регулируя внутренние механизмы гомеостаза и участвуя в гормональных системах реакции организма в ответ на внешние воздействия.

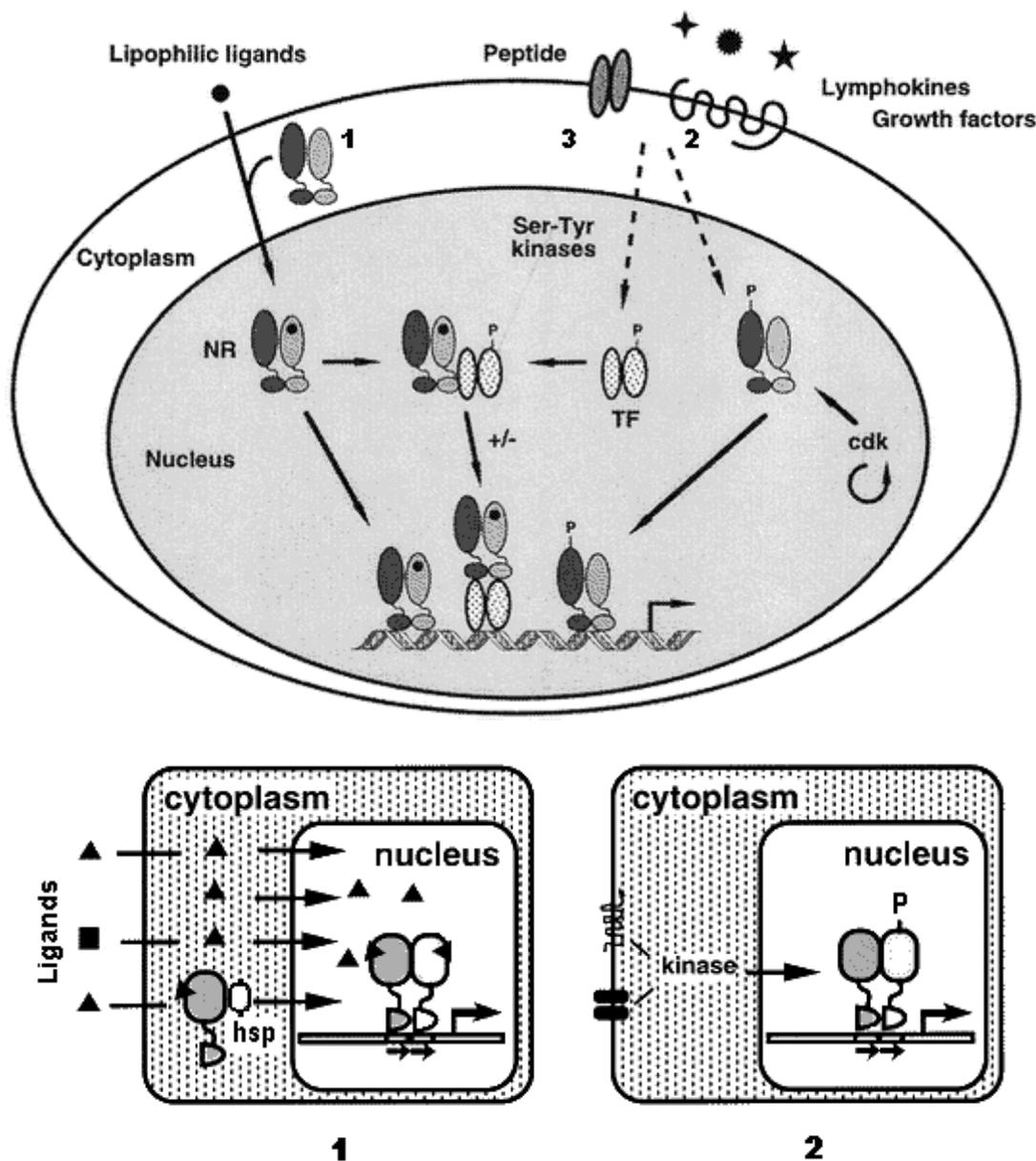


Рис. 6. Активация ядерных и мембранных рецепторов через липофильные лиганды (1), вторичные метаболиты (2) или белок-белковые взаимодействия (3); (по Giguere, 1999; Aranda и Pascual, 2001; с изменениями)

Лиганды RXR являются производными биохимической трансформации ретинола, который при участии соответствующих ферментов окисляется до 9-цис и 11-цис изомеров (рис. 7), и далее до ретиналей – альдегидных форм витамина А. В обоих случаях ферментной изомеризации используется эволюционно сохраненный аналогичный механизм (Romert и др., 1998). Основным природным источником ретиноидов является каротин растений (рис. 8): при распаде β-каротина в кишечнике и печени образуются 2 молекулы витамина А (ретинола, полного *транс*-изомера). 11-цис-ретиноаль входит в состав зрительного пигмента родопсина и принимает участие в физиологических процессах, связанных со светоощущением. 9-

цис-ретиальдегид при участии цинк-содержащих ферментных белков необратимо трансформируется в лиганд RXR – 9-цис-ретиновую кислоту (9-cis RA), кислотную форму витамина А (Ross и др., 2000). Кроме главного лиганда – 9-цис-ретиновой кислоты, активизировать RXR-рецептор в некоторой степени способны также некоторые производные хлорофилла, в частности фитановая кислота (Giguere, 1999).

Таблица 2

Аналоги ядерных рецепторов насекомых (*Drosophila*) в млекопитающих (по Giguere, 1999; с изменениями)

Класс	Обозначение		Подтипы	Наименование	Лиганд
	насекомые	позвоночные			
I	ECR	LXR	α, β	liver X receptor	оксистеролы
	DHR3	RZR/ROR	α, β, γ	retinoid Z receptor/retinoic acid-related orphan receptor	неизвестен
	E75, E78	Rev-Erb	α, β	reverse ErbA	неизвестен
	DHR96	VDR		vitamin D receptor	1,25(OH) ₂ -витамин D ₃
II	DHNF4	HNF-4	α, β, γ	hepatocyte nuclear factor 4	fatty acyl-CoA thioesters
	USP	RXR	α, β, γ	retinoid X receptor	9-cis-ретиновая кислота
	DHR78	TR2	α, β	testis receptor	неизвестен
	TLL, DSF	TLX		tailles-related receptor	неизвестен
	SVP	COUP-TF	α, β, γ	chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor	неизвестен
III	DERR	ERR	α, β, γ	estrogen-related receptor	неизвестен
IV	DHR38	NGFI-B	α, β, γ	NGF(nerve growth factor)-induced clone B	неизвестен
V	DHR39, FTZ-F1	SF-1/FTZ-F1	α, β	steroidogenic factor 1/Fushi Tarazu factor 1	оксистеролы

Физиологически бездействующая форма эрдистероидного рецептора EcR существует как олигомерный комплекс с белками теплового шока в цитоплазме (рис. 6.1). В таком состоянии полипептидная цепь рецептора свернута, деятельность его репрессирована. После закрепления родственного лиганда рецептор диссоциирует от ингибирующего комплекса. Корепрессоры высвобождаются и лиганд-обязательная область принимает конформацию, способную к взаимодействию со вторым партнером. Второй рецептор необходим для стабилизации пространственной структуры гетеродимера.

На каждом рецепторе EcR/RXR-димера находятся свои активные центры, потенциально способные связывать индивидуально лиганд-1 и лиганд-2 (рис. 9). Для эффективной трансдукции сигнала необходимо, чтобы в системе присутствовал и лиганд для второго рецептора димера. RXR после закрепления родного лиганда – 9-цис-ретиновой кислоты, вызывает диссоциацию ингибиторов и корепрессоров от его партнера и включает наведенное конформационное изменение. Кооперативное связывание лигандов со своими рецепторами настолько повышает сродство всех субъединиц к принятию наиболее благоприятного пространственного положения, что происходит резкий переход гетерокомплекса от бездействия к активной форме при минимальных концентрациях лиганда.

Чем выше число участвующих в процессе факторов активизации, тем быстрее происходит переход от практически полного отсутствия ответа к максимально возможному его значению. Как результат, возможно снижение требуемой дозы эрдистероида на несколько порядков. В реальных системах с клетками млекопитающих, в отличие от опытов с искусственными пробирочными системами *in vitro*, возникают важные ограничения в проявлении активности эрдистероидов (Suhr и др., 1998; Vogtli и др., 1998):

1. RXR является неохотным партнером димеризации с EcR, и необходимы очень высокие концентрации экдистероидов для возбуждения экдизон-индуцированных систем.

2. Диапазон активных лигандов по существу ограничен исключительно экдистероидом *muristerone A*.

Lafont и Dinan (2003) приводят следующие недостатки регуляторных систем экспрессии генов в системах с клетками млекопитающих: большинство химически очищенных от вторичных метаболитов экдистероиды, за редким исключением, не проявляют активности; используемые дозы очень высоки, а максимальные уровни экспрессии незначительны; скорость катаболизма в организме высокая.

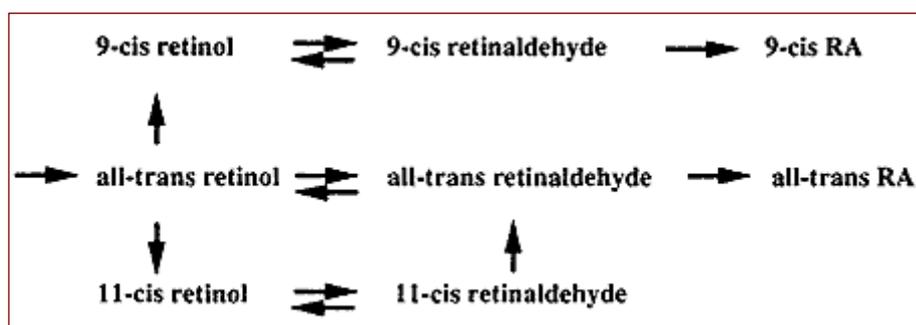


Рис. 7. Схема биохимической трансформация ретинола (по Romert и др., 1998)

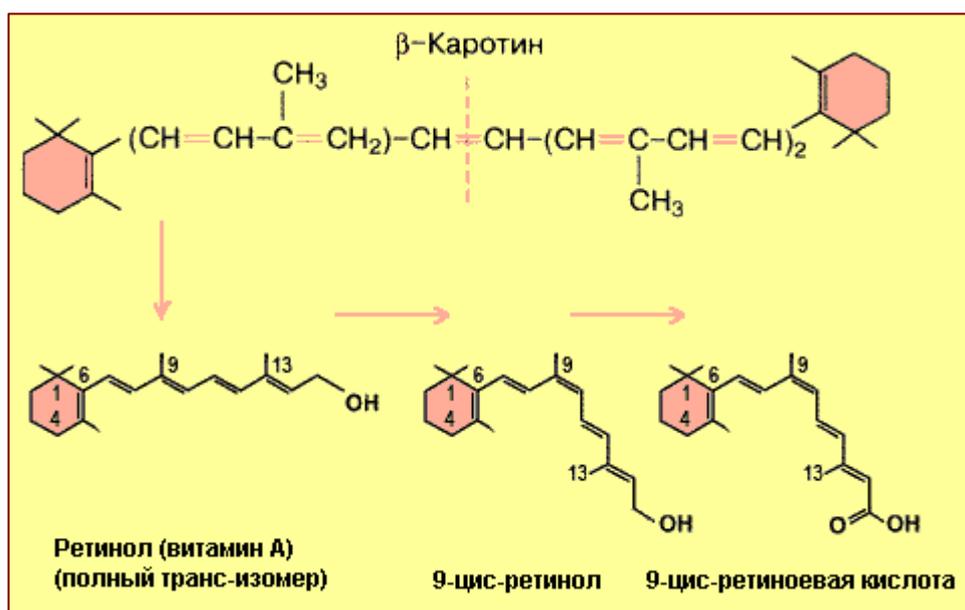


Рис. 8. Каротин – природный источник 9-цис-ретиноевой кислоты

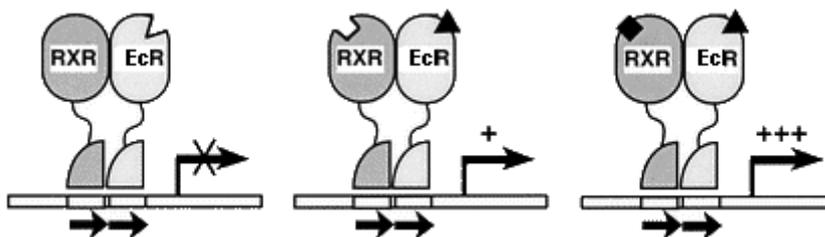


Рис. 9. Гетеродимерный комплекс EcR/RXR

3.2. Кофакторы активности

Наряду с большим количеством экспериментально установленных фактов по биологической и физиологической активности, отмечается большое различие в дозах и направленности действий индивидуальных экидистероидов, очевидно, происходящих путем невыясненных механизмов активации через кофакторы, вторичные посредники и метаболиты. Целый ряд экспериментально полученных в последнее время данных позволяет предполагать, что ключевую роль в способности стимулировать закрепление лиганда и транскрипцию играют дополнительные факторы. Особенную значимость активация функций транскрипционного регулирования через кофакторы приобретает для условий, приближенных к естественным. Для каждого этапа лиганд-рецепторного взаимодействия требуются свои специфические условия и факторы.

1. Деятельность полипептидной цепи ядерного рецептора вне связи его с лигандом свернута в комплексе с белками теплового шока Hsp90, Hsp70, Hsp56, Hsp40 и т.д. (Vegeto и др., 1999). Функция связанных с рецепторами hsp-белков (шаперонов) состоит в стимулировании репрессии экидистероидных рецепторов, запрещая им димеризоваться и взаимодействовать с другими корегуляторными белками в отсутствие закрепления родственного лиганда или другого стимулирующего сигнала. После закрепления узнаваемого лиганда функция шаперонов – помочь нуклеотидной цепи рецептора правильно развернуться в пространстве, а последующая – сопроводить ее из цитоплазмы в клеточное ядро. Для осуществления функциональной деятельности сами шапероны также нуждаются в дополнительных составах-помощниках, в качестве которых выступают иммунокомпетентные белки. Hsp70 и Hsp40 часто могут связывать друг друга и действовать координированным способом, стабилизируя конформационное изменение рецептора через лиганд-обязательную область (Cheung и Smith, 2000).

2. Установлено существование соединений, названных корегуляторами или факторами-посредниками транскрипции (GTF – general transcription factors; TIF – transcription intermediary factors; TAF – transcription associated factors и т.д.), ответственных за активацию транскрипции ядерных рецепторов после закрепления лиганда. Сюда относятся эволюционно интегрированные с определенными рецепторами семейства белков: SRC (steroid receptor coactivator), RIP (receptor interacting protein), CBP (coactivator binding protein), RAP (receptor associated proteins), NCoA (nuclear coactivator), NcoR (nuclear corepressor, гомологичный SMRT) и т.д. (Jenster и др., 1997; Zhu и др., 2000; Aranda и Pascual, 2001). Известно множество различных коактиваторов транскрипции и менее всего исследованы корепрессоры. Совсем недавно удалось выявить новый тип белка-репрессора (alien mediated repression), функционально предрасположенного к взаимодействию с EcR-рецептором. Этот белок широко распространен среди насекомых, растений, человека и других млекопитающих (90-95 % идентичности аминокислотного состава) и является ответственным за инактивацию экидистероидного рецептора (Dressel и др., 1999).

Существуют видоспецифичные варианты интеграции корегуляторов в мультибелковые комплексы (SRC-1/NcoA-1; TIF-2/RIP-1/NcoA-2 и т.д.). Целевое выражение гена в отсутствие лиганда активно подавлено через образование репрессивных конструкций, запрещающих формирование активных центров на ядерных рецепторах (Wang и др., 2000). В присутствии лиганда, когда репрессоры не способны связать сложный рецептор EcR/RXR, корепрессоры высвобождаются и LBD-область принимает уникальную конформацию, делающее доступным поверхность рецептора для взаимодействия с мультибелковыми комплексами активаторов. Структура хроматина становится доступной для машин транскрипции и приводит к экспрессии чувствительных генов. Лиганды же антагониста, хотя и могут вызвать димеризацию рецептора, стимулируют такую трансформацию LBD, которая не позволяет связывать на последующем этапе коактиваторы.

3. Предполагается, что функциональные участки, служащие для присоединения дополнительных активизирующих факторов AF-1 и AF-2, ответственны за отсоединение корепрессоров от рецептора. Механизмы, регулирующие их деятельность, на сегодняшний день плохо понимаемы. Существует антагонистическая и совместная деятельность за закрепление. Закрепление лиганда может стимулировать независимую вербовку нескольких коактиваторов на димере. Многоточечное кооперативное взаимодействие между этими молекулами

приводит к образованию устойчивых комплексов, например TIF-2 и SRC-1. Одни корегуляторы взаимодействуют с AF-1, другие AF-2 участком; к примеру, CBP/p160 и CBP/p300 являются AF-2 коинтеграторами, CBP/p160/PCAF функционируют совместно как ферменты ацетилирования хроматина.

Таким образом, приведенное изложение показывает, сколь сложным является изложенный процесс. Ключевыми моментами для проявления биологической активности являются: взаимодействие лиганда с рецептором, образование гетеродимерного комплекса и участие различных кофакторов в процессе. Регулирующие лиганды для многих корепрессоров и коактиваторов еще не идентифицированы. Лигандами дополнительных белков-рецепторов могут являться самые различные вещества и не всегда регуляторная их роль может быть определена. Они могут оказаться в пределах клетки-мишени различными способами: активный лиганд или гормон синтезируются в классическом эндокринном органе и транспортируются в клетку; могут являться метаболитами, синтезируемыми в пределах целевой клетки или экзогенно, как например в растениях и доставлены к месту действия с участием приемлемых носителей.

3.3. Взаимодействия со стрессовыми белками

Истоки высокой биологической активности у важнейших экистероид содержащих растений (*Rhaponicum*, *Taxus*, *Irotomea*) следует искать в специфичности вторичного обмена веществ, связанной с эволюционной адаптированностью к суровым условиям жизнеобитания горных систем Сибири, Средней Азии, Монголии, Китая и Индии). Реликты плейстоценового флористического комплекса стали обладателями особой формы метаболизма (Соболевская, 1991), при которой устойчивость к экстремальным условиям жизни (аномально низким и высоким температурам, широким колебаниям освещенности, кислотности почвы, дефициту влаги, избытку ионов металлов и т.д.) обеспечивается продуцированием экистероидов, водорастворимых стрессовых белков и других сопутствующих веществ.

Известно, что ткани и органы растений, подвергнутых стрессу, например экспозиции при аномально высоких или низких температурах, стимулируют производство активных стрессовых факторов транскрипции HSF (heat stress transcription factors). HSF индуцируют экспрессию генов стресса через аминокислотные последовательности шоковых элементов (HSE) на промоторных участках (Voellmy, 2002). Фактор, названный HSF-1, ответственен за регулирование синтеза семейства стрессовых белков (hsp-белков), различающихся между собой последовательностью аминокислот и молекулярной массой. Многие из них являются молекулярными шаперонами (Hsp110, Hsp104, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp56, Hsp27, Hsp10), или структурами, ответственными за репарацию поврежденных молекул (ubiquitin).

Часть этих HSF-белков могут быть активными и в отсутствии стресса (рис. 6.3) и способны инициировать экспрессию генов в клетках млекопитающих при наличии соответствующих условий. Пример такой цепи, активизированной с участием естественного HSF, поступающего извне, или вырабатываемого эндогенно в организме млекопитающих, насекомых и птиц, показан на рис. 10. Фактор транскрипции состоит из двух субъединиц – экистероидного рецептора DmEcR и ретиноидного рецептора RXR. Система активна в присутствии лиганда *muristerone* или других фитоэкистероидов.

3.4. Эффекты с трансмембранными рецепторами

Многие примеры широко известных разнообразных физиологических эффектов, производимых экистероид содержащими субстанциями, опосредованы через систему вторичных мессенджеров (Kholodova, 2001). В этих случаях экистероиды чаще всего влияют на клеточный метаболизм, не проникая внутрь клетки: они разносятся с током крови ко всем тканям и взаимодействуют с мембранными рецепторами тех клеток, которые чувствительны к данным молекулам (рис. 6.2). Лиганд предназначен, чтобы активировать вторичный мессенджер, запрещая или стимулируя деятельность мембранного белка как напрямую, так и конкурируя за рецептор с другими агонистами.

Связывание лиганда с мембранным белком приводит к ряду конформационных изме-

нений, заканчивающихся физиологическими изменениями в клетке. Активированный тем или иным способом рецептор передает сигнал к внутриклеточным мишеням. Таким образом, происходит трансмембранная передача сигналов при участии интегрированных в мембрану рецепторов – сигнал модулирует его каталитическую активность или проводимость ионного канала. Результатом является изменение ферментативной активности какой-либо метаболической стадии или цитоплазматической концентрации того или иного иона, ведущее к возникновению клеточного ответа.

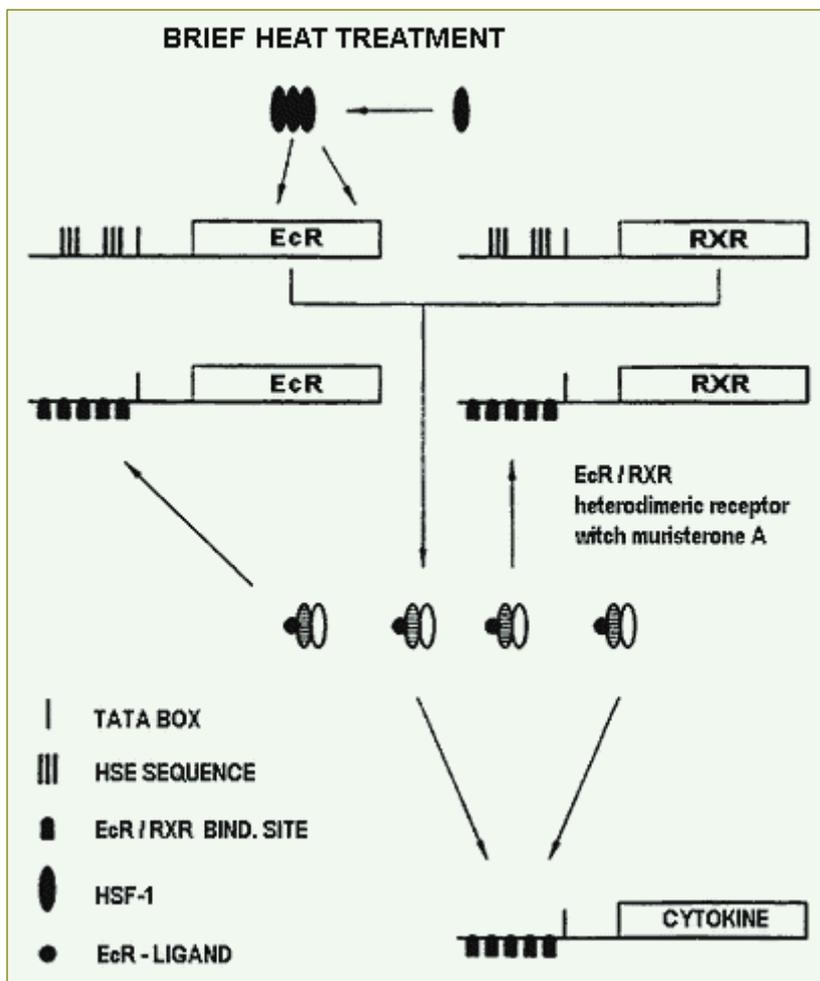


Рис. 10. Активация эктистероидных рецепторов стресс-белками (по Voellmy, 2002; с изменениями)

Вторичный мессенджер, появляющийся внутри клетки в ответ на внеклеточную аппликацию лиганда и обеспечивающий передачу сигнала от рецепторов к внутриклеточным мишеням, состоит, как правило, из нескольких белковых компонентов, совокупность которых составляет каскад передачи сигнала. Помимо белковых посредников, в передачу сигнала во многих случаях вовлекаются и относительно небольшие молекулы, синтезируемые в клетке или доставляемые извне через те или иные носители. Деятельность многих рецепторов модулируется различными средствами, стимулирующими разнообразные пути трансдукции сигнала. Например, FAR (farnesyl activated receptors) – ядерный рецептор, активизированный лигандом – фарнезил пирофосфатом, участвует в передаче сигналов как через промежуточные звенья метаболизма, так и в прямой транскрипции после гетеродимеризации с другими ядерными рецепторами (Evans и Saez, 2001).

Группы мембранных рецепторов весьма многочисленны, включают более чем 70 типов. Наиболее значимыми среди них являются трансмембранные белки (ТМ). Классификация их строится как ITM-14TM, включающие 1-14 трансмембранных областей (Elling и др., 2002).

ТМ-рецепторные белки – мономерные интегральные мембранные белки, полипептидная цепь которых один, два раза или многократно пересекает клеточную мембрану. Участок рецептора, взаимодействующий с первичным сигналом, локализован на внешней стороне мембраны, внутренний участок контактирует с эффекторным белком, ответственным за сигнальную молекулу. Один и тот же лиганд (например, экдистероид) может инициировать передачу сигнала через несколько и даже десятки ТМ-рецепторов одновременно. Часть рецепторов действуют одновременно как ТМ-рецепторы и ионные каналы, изменяя катионную или анионную проводимость металлов.

Наиболее многочисленным является суперсемейство 7ТМ-рецепторов (до 2000 участников в человеческом организме). Известные 7ТМ-белки составлены из родопсин-подобных светочувствительных рецепторов, однако идентичность последовательности между ними очень низка. Эти рецепторы вовлечены в управление гомеостазом организма путем передачи химических сигналов между клетками, через различные регуляторные системы. До настоящего времени лишь несколько сотен 7ТМ были идентифицированы, и проблема состоит в том, что очень трудно характеризовать одиночные рецепторы и найти их лиганды.

Через 7ТМ-рецепторы происходят многие процессы регулирования гомеостаза, противовоспалительных эффектов, снятия боли и т.д. Активность их может проявляться в качестве антигистаминных (против аллергии и язвы желудка) и противоастматических средств, бета-блокаторов (от сердечно-сосудистых болезней), антагонистов ангиотензина (при гипертонии), опиатов (противоболевые средства). Лиганды, действующие через 7ТМ-рецепторы, включают широкое разнообразие химических соединений: ионы кальция и калия; аминокислоты; моноамины (серотонин, гистамин, допамин, адреналин, норадреналин, ацетилхолин, катехоламин и т.д.); липиды (простагландины, тромбоксаны и т.д.); пурины (аденозин, АТР); нейропептиды (тахикинин, нейропептид Y, энкефалин, холецистокинин и т.д.); пептидные гормоны (ангиотензин, брадикинин, глюкагон, кальцитонин, гормон парашитовидной железы); интерлейкины, гликопротеиновые гормоны, протеазы и т.д.

Таким образом, большое разнообразие и количество используемых человеком фарм- и биопрепаратов, действующих через мембранные рецепторы, позволяет предполагать, что проявление части разносторонних форм биологической активности экдистероид содержащих субстанций также обусловлено взаимодействием с ТМ-рецепторами. Разнообразие физиологический действий и перечень терапевтических показаний по использованию экдистероидов в медицине и ветеринарии во многом схож с действием лигандов трансмембранных рецепторов и включает регуляцию минерального, углеводного, липидного и белкового обмена; проявление антиоксидантных, иммуно-модуляторных свойств и т.д.

При использовании неочищенных экстрактов экдистероид содержащих субстанций в реальном организме можно ожидать суммирования негеномного и геномного эффекта действия экдистероидов с другими веществами первичного и вторичного синтеза растений, что делает успешным использование их в при отклонениях в работе различных систем и общего гомеостаза организма.

4. АКТИВНОСТЬ ЭКДИСТЕРОИД СОДЕРЖАЩИХ СОСТАВОВ

4.1. Сравнительная активность различных видов растений

Массовые экдистероид содержащие растения во флоре России сосредоточены в семействе гвоздичных (*Caryophyllaceae*) – роды *Lychnis*, *Silene*, *Sagina*, *Petrocoptis* (Volodin и др., 2002). Часть видов растений из этих родов содержит до 1-2 % экдистероидов в биомассе (Зибарева и Еремина, 1996; Зибарева, 2003) и до недавнего времени рассматривались как наиболее перспективный источник для получения новых экдистероид содержащих препаратов. Однако при исследовании биологической активности в биотестах выявлено, что она проявляется у незначительной части видов; главным образом, на уровне слабых активностей экстрактов (Zibareva и др., 2004).

Можно предполагать, что одной из причин такого положения служит присутствие в растениях большого числа слабоактивных или неактивных фитостероидов. Коэффициенты биологической активности индивидуальных эдистероидов, содержащихся в наиболее характерных для флоры России видах растений из рода *Lychnis*, *Serratula*, *Silene* и *Rhaponticum*, распределяются в следующем убывающем порядке, исходя из требуемого молярного количества для замещения наиболее активного эдистероида *ponasterone A* (1 – контроль):

2 – *kaladasterone*, 5-*deoxy-5α*; 3 – *rapisterone D* и *polypodine B*; 13 – *makisterone A*, 24(28)-*dehydro*; 14 – *ecdysterone*, 22-*benzoate*; 17 – *dachryhainansterone*; 24 – 20-*hydroxyecdysone* (*ecdysterone*, 20E); 42 – *makisterone A*; 97 – *ajugasterone C*; 323 – *viticosterone E* (*ecdysterone*, 25-*acetate*); 355 – *inokosterone*; 419 – *coronasterone* (*ecdysterone*, 3-*epi*); 580 – *integristerone A*; 645 – *makisterone C*; 968 – *turkesterone*; 2 125 – 20-*hydroxyecdysone*, 2 *deoxy*; 3 546 – *ecdysone*; 19 355 – *ecdysone*, 3-*dehydro*; 48 387 – *poststerone*; 132 258 – *silenoside A*; 148 387 – *silensterone*. Неактивны: *silenoside B, D, E, F, G, H*; *ecdysone-3-epi*; *ecdysone-22-phosphate*; 20-*hydroxyecdysone-22-palmitate* и др. (по Dinan, 2003; с изменениями).

Если, к примеру, *Rhaponticum carthamoides* синтезирует множество высокоактивных соединений, сопоставимых с активностью эдистероида *ponasterone A* (*rapisterone D*, *polypodine B*, *dachryhainansterone*, производные *kaladasterone*, *makisterone A*), то в растениях рода *Silene* достаточно много неактивных составов – *silenoside A*; *silensterone*. *silenoside B, D, E, F, G, H*. Возможно, что по схожей причине, связанной с утерей большинства минорных компонентов в ходе химико-технологических работ по изоляции 1-2-х мажорных эдистероидов, экстракты *R. carthamoides*, содержащие всю их сумму, в сравнении с высокоочищенными препаратами обладают значительно более высокой активностью.

В литературе опубликованы сравнительные результаты экспериментов с эдистероидами, изолированными из других видов растений. Адаптогенное действие эдистероидов *Serratula coronata* L. 91 % чистоты изучали в Институте биологии Коми НЦ УрО РАН (Пчеленко и др., 2002). По результатам исследований сделан вывод, что по величине тонизирующего эффекта эдистероидная фракция *S. coronata* (препарат *ecdysten-S*, содержащий 75 % 20-*hydroxyecdysone*) во многом схожа с эдистероидной фракцией *R. carthamoides*, но дозы были увеличенными. Некоторые эффекты, в частности анаболический, который наиболее ярко выражен для *R. carthamoides* (Сыров и Курмуков, 1976; Годоров и др., 2000a,b), в сопоставимых дозах отсутствовали. Анаболический эффект отсутствовал и в другой серии экспериментов с 96.5 % эдистероидной фракцией *S. coronata* (препарат *ecdysone*, содержащий 80.5 % 20-*hydroxyecdysone*; Зайнуллин и др., 2003).

Плотников М.Б. и др. (1999) провели сравнение гемореологической активности экстрактов из надземной части двух эдистероид содержащих видов растений – *Lychnis chalcidonica* L. и *R. carthamoides* (Willd.) Pjin – в модельных опытах на крысах с предварительно индуцированным инфарктом миокарда. Экстракты содержали примерно одинаковую концентрацию 20-*hydroxyecdysone* (0.74 и 0.71 % соответственно). Курс перорального введения длился 5 дней, разовые дозы составляли 150 мг/кг. В эксперименте были получены сопоставимые показатели уменьшения вязкости плазмы крови, но разница в показателях снижения концентрации фибриногена и скорости деформируемости эритроцитов была значительно лучшей у *R. carthamoides*, чем у *L. chalcidonica*.

Сравнительная биологическая активность эдистероид содержащих растений рода *Serratula* и *Rhaponticum* изучалась Ганиевым Ш.Г. (1980) в биотестах по индуцированию окукливания личинок насекомых *Musca domestica* L. и *Califora erythroserhala* Mg. Соцветия, листья и корни растений рода *Rhaponticum* (*R. karatavicum*, *R. nitidum*, *R. integrifolium*) проявляли высокую сравнимую активность на всем протяжении сроков вегетации. У растений рода *Serratula* (*S. algida* I. и *S. lyratofolia* S.), несмотря на присутствие эдистероидов во всех органах, активными были только надземные части, корни проявляли нулевую или крайне незначительную активность, сопоставимую с контролем.

4.2. Неочищенные составы *Rhaponticum carthamoides*

Химически изолированная фракция экидистероидов (91 %, в т. ч. включающая 75 % *20-hydroxyecdysone*), выделенная из надземной части *Serratula coronata*, в биотесте на реакцию спонтанного Е-розеткообразования обладала сложной и неоднозначной модуляционной активностью “доза-эффект” (названной двухфазным действием), в диапазоне концентраций $10^4 \dots 10^{-12}$ М (Тренин и др., 1996). Эффективная иммуно-модуляторная активность CD^{2+} -розеткообразования с человеческими Т-лимфоцитами достигалась при концентрации 1 μ М (10^{-6} М); с индексом стимуляции, равным 1.132 (Trenin и Volodin, 1999).

Естественные экидистероид содержащие субстанции могут обладать значительно более высокой активностью, чем химически изолированные соединения (рис. 11). Культивирование популяций лимфоцитов *in vitro* в присутствии экстракта *Rhaponticum carthamoides* способно вызвать пролиферацию клеток селезенки в концентрации $10^{-13} \dots 10^{-14}$ М (в расчете на *20-hydroxyecdysone*). На фоне неспецифически активизирующих агентов ConA (Т-митоген) и LPS (В-митоген) пролиферация стимулируется вплоть до 10^{-15} М (Зеленков и др., 2001).

По данным двухэтапного фармакологического скрининга, исходя из сопротивляемости к повреждающим воздействиям на фоне контроля, препараты *R. carthamoides*, включающие сумму действующих веществ (настойки и экстракты из корневищ) по эффективности превосходили препарат *ecdysten*, содержащий изолированные и высокоочищенные действующие начала растения (Федоров и др., 1997). Коэффициенты их адаптогенной активности составили соответственно: 0.92 и 0.52 – по сопротивляемости к радиальным перегрузкам; 0.59 и 0.32 – к гипоксии; 0.40 и 0.24 – к 24-часовому стрессу; 0.42 и 0.21 – к гормональной дисфункции; 0.34 и 0.30 – к токсичности этанола; 0.12 и 0.05 – к острой гипотермии (табл. 3).

В экспериментах Саратикова А.С. и др. (1970), проведенных в Томском медицинском институте, было выявлено, что эффективность стимулирующего влияния 20 % экстракта *R. carthamoides* на умственную деятельность человека зависит от величины принимаемой дозы. В дозе 10 капель/сутки число ошибок в корректурном тесте у испытуемых лиц на фоне контроля уменьшилось на 64.6 %; при увеличении дозы до 20 и 40 капель эффективность распознавания символов снизилась соответственно до 42.4 и 34.4 %.

Зная концентрацию *20-hydroxyecdysone* в очищенных и неочищенных препаратах *R. carthamoides*, производимых различными предприятиями и фирмами России, Узбекистана и США (Володин и др., 1996), можно рассчитать сравнительную их биологическую активность. Разовая доза приема жидкого экстракта составляет 20-30 капель (Машковский, 1993), или 0.5 мл (г) для взрослого человека массой 50-70 кг. Максимальные суточные дозы жидкого экстракта с высокой эффективностью, использованные в условиях военно-морского подводного плавания, не превышали 4 г/день на человека (Яковлев и др., 1990). Средняя концентрация *20-hydroxyecdysone* в жидких препаратах примерно равна 0.05 % (Володин и др., 1996), или 0.5 мг/мл. В данном примере минимальная расчетная доза *20-hydroxyecdysone* составит 5 мкг/кг (250 мкг на 50 кг массы тела), а биологическая активность – 10^{-11} М. Максимальная доза равна 40 мкг/кг или около 10^{-10} М.

Для сравнения, рекомендованные разовые дозы таблетированного препарата *ecdysten* составляют 5-10 мг (Машковский, 1993) или 4300-8600 мкг (10^{-8} М) по *20-hydroxyecdysone* на человека. Эффективная высшая суточная доза химически чистого *20-hydroxyecdysone* и препаратов на его основе выше на порядок (10^{-7} М) и равна 50-100 мг/кг (Сыров и Курмуков, 1976; Лекарственные средства..., 1995).

Анаболический эффект малых доз неочищенных экстрактов *R. carthamoides* на беспородных белых мышях установлен как 0.035 мг/кг по *20-hydroxyecdysone*. Увеличенная до 0.387 мг/кг доза в первые 10 дней после внутримышечного введения тормозила проявление анаболического эффекта (Тимофеев и Ивановский, 1996а). Минимальная доза химически изолированной субстанции (препарата *ecdysten*), необходимая для проявления анаболического эффекта, равна 5-10 мг/кг (Сыров и Курмуков, 1976). Аналогично предыдущей ситуации, увеличение дозы до 20 мг/кг приводит к ингибированию биосинтеза белка и РНК в поджелу-

дочной железе мышей, причем менее очищенные 10 % и 2 % экстракты сильнее тормозят начало процесса биосинтеза во времени (Тодоров и др., 2000б).

Эффект малых доз *R. carthamoides* был изучен на предприятиях по переработке корневищ, в целях конструирования новых лекарственных средств из отходов фарминдустрии. Колхир В.К. и др. (1996) в НПО ВНИИ лекарственных и ароматических растений (г. Москва) исследовали жидкий и сухой экстракты, полученные из реутилизируемого вторичного сырья методом 3-х кратной горячей водной экстракции в течение 2 часов. В экспериментах установлены значительная нейротропная, гемокоагуляционная и тромболитическая активность водного экстракта шрота корней. Двигательная активность и выносливость мышей при форсированном плавании возросли на 22.7-30.3 % в сравнении с контролем; параметры коагуляции крови снизились в 1.5-2.3 раза.

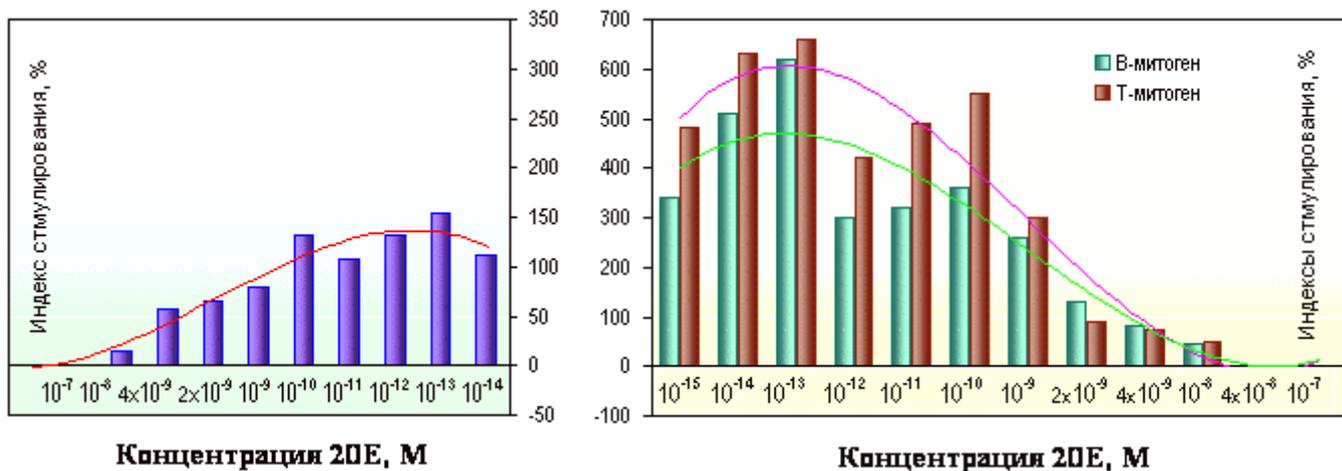


Рис. 11. Стимулирование пролиферации клеток экстрактом *Rhaponticum carthamoides*: слева – спонтанная, справа – индуцированная (по Зеленкову и др., 2001; с изменениями)

Таблица 3

Сравнительная характеристика адаптогенной активности экдистероид содержащих препаратов из *R. carthamoides* (по Федорову и др., 1997; с изменениями)

Факторы воздействия	Коэффициент активности*	
	экстракт корней (0,04 % 20E)	Ecdysten (86 % 20E)
1. Радиальные перегрузки	0.92	0.52
2. Гипоксия	0.59	0.32
3. 24-часовой иммобилизационный стресс	0.40	0.24
4. Гормональная дисфункция	0.42	0.21
5. Интоксикация этанолом	0.34	0.30
6. Мышечные нагрузки	0.15	0.16
7. Острая гипотермия	0.12	0.05
8. Острая гипертермия	0.06	0.07
9. Мышечные нагрузки при гипоксии	0.02	-0.04
10. Допановая интоксикация	-0.41	-0.44

4.3. Составляющие биологической активности

Фармакологическая активность экдистероид содержащих растений обусловлена сложным комплексом фитоекдистероидов с продуктами основного и вторичного обмена веществ. Отмечается большое различие в дозах и направленности действий индивидуальных экдистероидов, очевидно, происходящих путем суммирования активации, блокирования и инактивации через минорные составы, вторичные эндогенные посредники и экзогенные метаболиты.

В активации ядерных рецепторов лигандами-экдистероидами важную роль играют эфиры

с жирными кислотами – аккумуляция, хранение и пролонгированная деятельность (Hochberg, 1999), гликозиды с сахарами (транспортная функция), вещества белковой структуры (шапероны, коактиваторы и корепрессоры), ионы металлов (стабилизаторы пространственной структуры полипептидной цепи).

Во взаимодействиях с трансмембранными рецепторами (трандукция сигнала внутриклеточным мишеням) важная роль принадлежит вторичным посредникам – это пептиды, липиды, аминокислоты, соединения фосфора, кальция, калия (Kholodova, 2001), а также других макро- и микроэлементов. В частности, в отношении экдистероид содержащего растения *S. coronata* было показано, что проявление антиоксидантной активности биологически активного комплекса, содержащего 5 % *20-hydroxyecdysone*, в значительной степени обусловлено присутствием аминокислоты аргинина. Вклад последнего в снижение максимальной интенсивности хемилюминесценции, индуцированной перекисью водорода (H_2O_2), составило 72.6 %; Fe^{2+} – 76.7 % (Кузьменко и др., 1999b).

Португаловым С.Н. с соавторами (1993, 1997) установлено, что антиоксидантные свойства комбинированных спортпрепаратов, включающих растительные адаптогены (элтон, левотон, адаптон и фитотон) усиливаются при включении витаминов (α -токоферола, аскорбиновой кислоты, β -каротина). Более активно уменьшал хемилюминесценцию препарат адаптон на основе *Rhaponticum carthamoides*. Этот же препарат в большей степени, чем вышеуказанные, увеличивал выносливость спортсменов в модельных испытаниях на время педалирования до отказа, при тестировании физической работоспособности по велоэргометрическому тесту.

Аналогичные данные приводятся Сейфулла Р.Д. с соавторами при сравнительном испытании экстракта *Rhaponticum carthamoides* и таблетированных препаратов на основе порошка корней этого растения на фоне экстрактов *Rodiola rosea*, *Schisandra chinensis* (Лекарства и БАД в спорте..., 2003). Моделирование физической работоспособности до отказа на тредбане и велоэргометре при 20-дневном введении исследованных препаратов показало, что комбинированные адаптогены были более активными, вызывая статистически достоверное повышение работоспособности и ингибицию сверхслабого свечения мочи спортсменов.

Корреляция между антиоксидантным действием и свойством повышать физическую работоспособность, т.е. выносливость спортсменов при преодолении утомления, связывается авторами с наличием в композициях витаминов Е и С, которые являются классическими антиоксидантами, блокирующими процесс перекисления жирных кислот и обладающими антирадикальным действием. Кроме того, более сильное влияние комбинированных препаратов перед препаратом *ecdysten* может быть обусловлено, кроме витаминов, антиоксидантными свойствами фенольных соединений в составе исходных растений.

Тимофеев Н.П. и Кокшаров А.В. (2005а) исследовали коррелирующие связи присутствия экдистероидов в растительных тканях с сопутствующими соединениями в разрезе вертикальной и горизонтальной структуры *R. carthamoides*, выращенных на супесчаной, нейтральной по кислотности почве; где минеральные и органические удобрения в течение последних 5 лет не применялись, а уровень золы соответствовала содержанию ее в фитомассе других растений (8.4-11.3 %). Было выявлено, что в сравнении с другими многолетними растениями надземная часть *R. carthamoides* является сверхконцентратом *20-hydroxyecdysone* (в 10 тыс. раз); обогащена протеином (до 34 %) и сырым жиром (4.3-5.1 %), фосфором и калием; характеризуется пониженным содержанием клетчатки, кремния, железа, алюминия и тяжелых металлов.

Усиление биологической активности неочищенных составов можно объяснить суммированием физиологического эффекта индивидуальных экдистероидов с фракциями нуклеиновых и аминокислот кислот, белками теплового шока, ионами металлов-микроэлементов, производными витаминов А и Д, ненасыщенных жирных кислот и т.п. По всей видимости, активация экдистероидных рецепторов с их лигандами происходит через последовательную цепь событий, где важную роль играют комплексы экдистероидов с водорастворимыми белками, каротиноидами, флавоноидами, ненасыщенными жирными кислотами, микроэлементами и другими физиологически активными веществами.

Вероятно, что фенольные и белковые вещества в листьях растений выступают в качест-

ве эффективных активаторов гетеродимеризации, преодоления неустойчивости рецепторного комплекса и его распада во времени, а также являются кофактором, необходимым для запуска механизмов генной транскрипции. Кроме того, виды-сверпродуценты могут содержать растительные рецепторы экидистероидов, а также являться источником множества других нестероидных составов, в частности трансактивационных стрессовых элементов для промоторных участков генов, лигандов для ретиноидных и трансмембранных рецепторов.

Дополнительные факторы активизации и транскрипции, необходимые для запуска ядерных и мембранных рецепторов в работу с лигандами (Jenster и др., 1997; Aranda и Pascual, 2001), в данном случае уже присутствуют. Суммарное физиологическое действие экстрактов известно, однако точные биохимические соединения и механизмы, которыми эти рецепторы стимулируют пролиферативные процессы, остаются неясными.

Фармакологически активная доза экидистероид содержащих препаратов из различных источников, достаточная для проявления физиологического эффекта, будет зависеть, кроме как от индивидуальных характеристик мажорного экидистероида, также и от множества других кофакторов. При всей схожести в проявлении фармакотерапевтических эффектов, результирующая активность экидистероидной фракции каждого растения будет зависеть от синергического действия отдельных соединений, набор которых индивидуален для конкретного вида-носителя. Состав минорных экидистероидов видоспецифичен, что является одной из причин неоднозначного проявления биологической активности таких составов на млекопитающих.

Результаты биотестов более 300 индивидуальных соединений из различных источников позволили создать единую базу данных по биологической активности экидистероидов, присутствующих в живых системах (рис. 12, 13). Активность их различается на 6 порядков и простирается от 10^{-10} до 10^{-4} М. Было найдено, что наибольшей активностью обладают индивидуальные экидистероиды эволюционно отдаленных групп: *ponasterone A* – из ракообразных, папоротников и голосеменных растений; редких и экологически изолированных видов: *rapisterone D*, производные *kaladasterone* и *makisterone A*, *polypodyne B* – из эндемика левзеи сафлоровидной (*R. carthamoides*); *muristerone* – из горных растений рода *Ipomoea*. Среди продуктов конверсии основных экидистероидов наибольшей активностью обладают структуры, нехарактерные для химической трансформации, но синтезируемые в зеленых частях растений в ходе реакций фототрансформации *20-hydroxyecdysone*, в частности *14 α -hydroperoxy-20E*, *14 α -deoxy-20E* и димеры (Harmatha и др., 2002). Димеры возможны и в отношении *ponasterone A*, *ajugasterone C* (Dinan, 2003).

Присутствие широкого спектра экидистероидных молекул в растениях сопровождается конъюгацией их с другими, хорошо растворимыми в воде продуктами вторичного обмена веществ: неорганическими (сульфаты, фосфаты) и органическими кислотами (ацетаты, бензоаты, циннаматы), сахарами (глюкозиды, галактозиды, ксилозиды), с ацетоном и т.д. Присутствуют также отклонения от стандартных структур в форме стереоизомеров, дополнительных двойных связей, псевдо-молекулярных отрицательных ионов, окси-групп и гидроксильных группировок в различных положениях стероидного ядра и боковых цепях (Лафон, 1998; Bathori и др., 2000; Golbraikh и др., 2000; Хатымов и др., 2002). В результате ферментативных преобразований образуются цис- и транс-изомеры сочленений колец А и В, эпимеры и т.д.

Предполагается, что множество перестановок среди этих различных функциональных групп могут привести к тысячам различных аналогов экидистероидов, смеси и соотношения которых способны предопределять уникальную биологическую активность неочищенных экстрактов. Соединение, которое содержится в следовых количествах, может внести более существенный вклад в результирующую активность, чем вещество, присутствующее в высоких концентрациях.

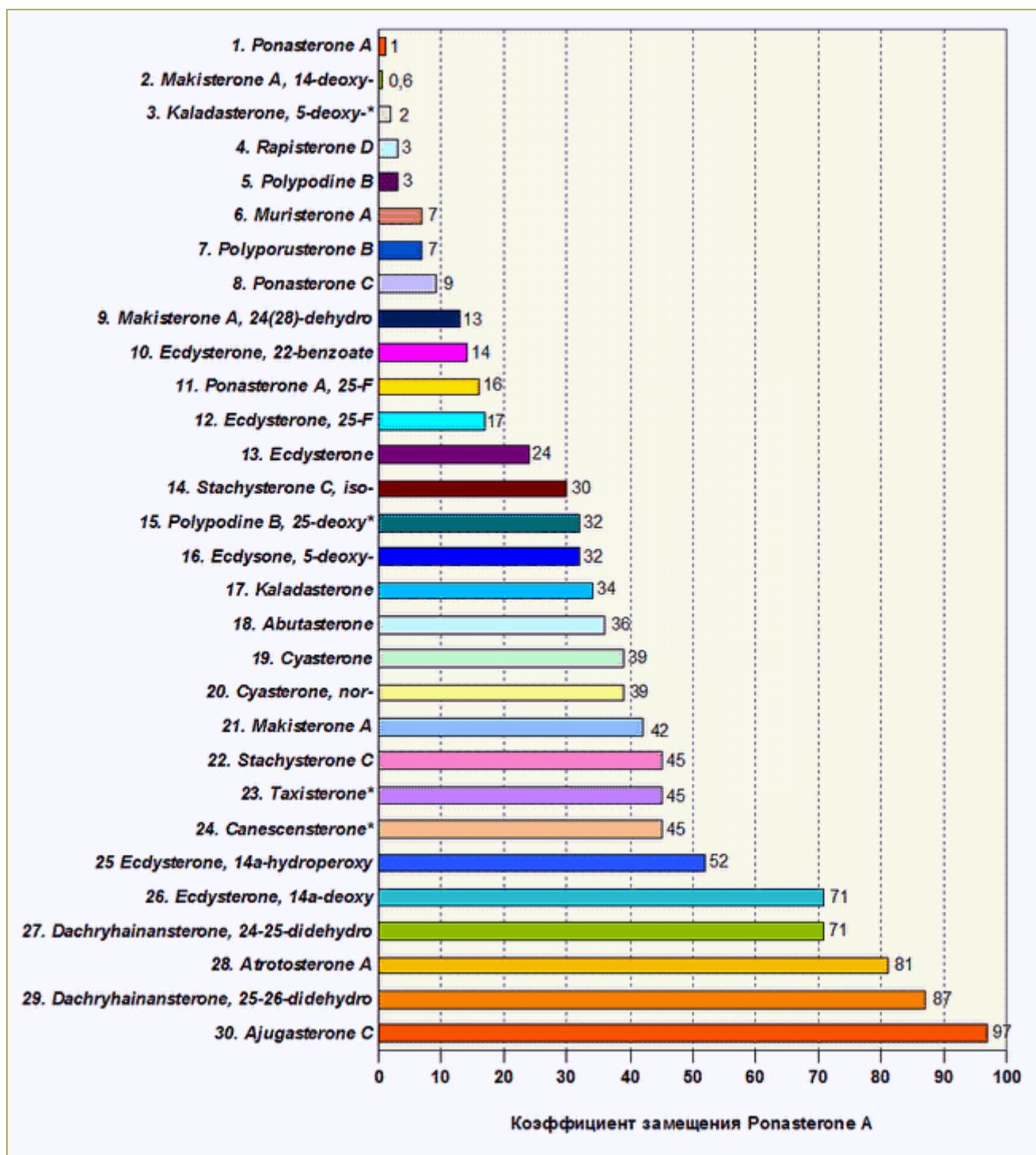


Рис. 12. База данных по биологической активности изолированных эктистероидов: Соединения с убывающей активностью от 1 (контроль) до 100-кратной (*... активность возможна и ниже)

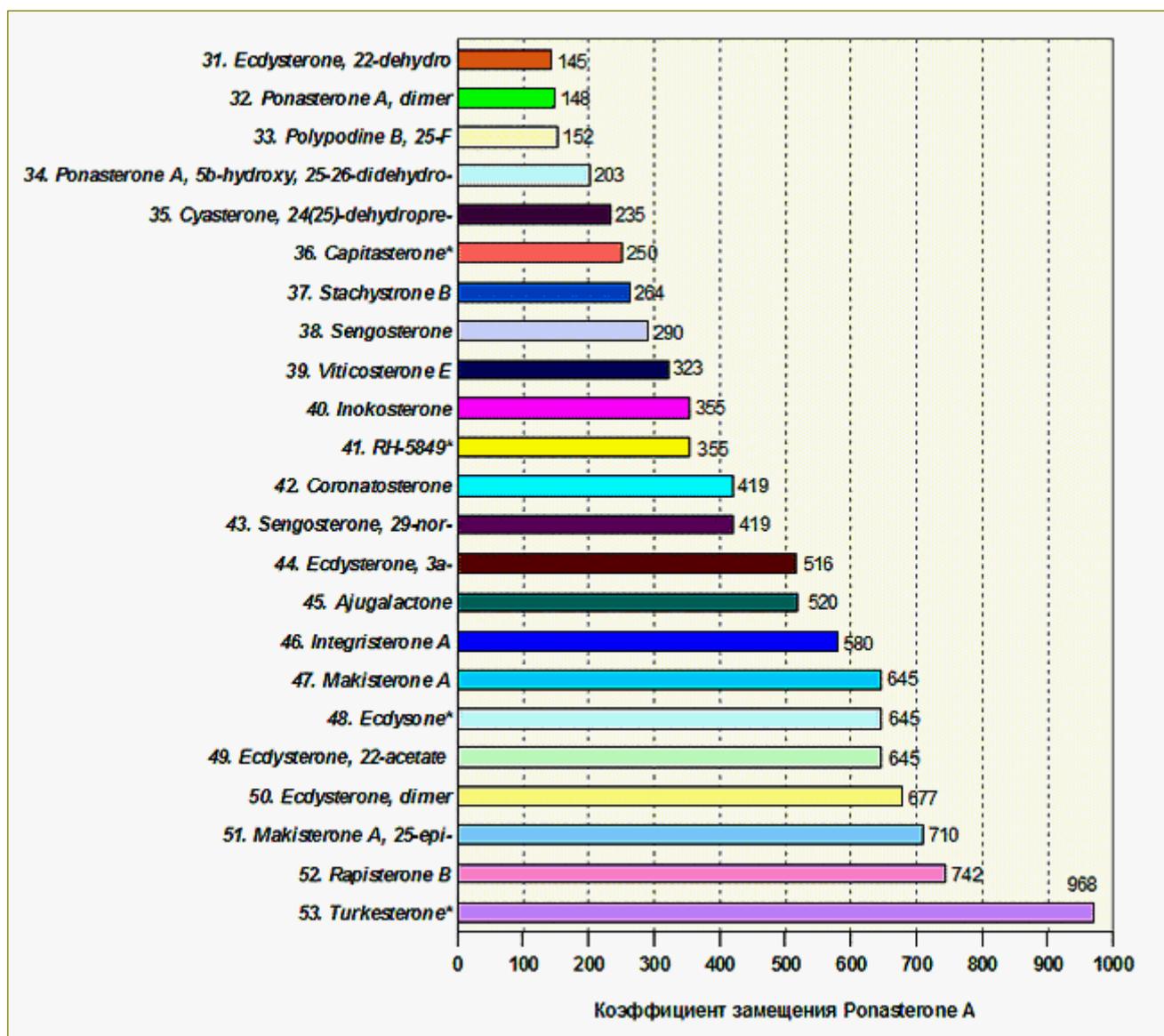


Рис. 13. База данных по биологической активности изолированных эктистероидов (продолжение): Соединения с убывающей активностью от 100 до 1000-кратной к контролю

4.4. Новые препараты из *Rhaponticum carthamoides*

Сложный химический состав растения обуславливает комплексную биологическую активность эктистероидов с другими метаболитами. Результаты многих исследований свидетельствуют, что исходная активность лекарственного сырья *R. carthamoides* в процессе множественных процедур по изоляции индивидуальных мажорных фитоэктистероидов в значительной степени теряется. В ходе технологических работ по изоляции 1-3 мажорных компонентов остальные удаляются как балластные, хотя соединение, которое содержится в следовых количествах, может внести более существенный вклад в результирующую активность, чем вещество со значительно высокой концентрацией.

В настоящее время ведутся разработки нового класса эктистероид содержащих препаратов из цельного лекарственного сырья, характеризующихся прежде всего сверхнизкими дозами действующих веществ. Достигнутые успехи по освоению промышленной технологии культивирования открыли возможность конструирования и выпуска на коммерческий рынок нового класса высокоактивных препаратов и биологически активных добавок к пище – *Биоинфузин*, *БЦЛ-Фито*, *Lipolite*, *Rapontik*TM (Ивановский, 2000; Тимофеев, 2000; 2004; Zdrojewska, 2004; Ozarowska, 2005; <http://www.genesis-gp.com>; рис. 14).

Новые препараты получают из отдельных элементов надземной фитомассы *R. carthamoides*, выращиваемого в условиях агропопуляций с использованием технологии, способствующей биосинтезу высокоактивных экидистероидов и их сохранность во время переработки сырья (Тимофеев и др., 1996b; 1998; 2005b). Сертифицированное лекарственное сырье, употребляемое при их изготовлении, позволяет достичь высокой адаптогенной и фармакологической активности препаратов при минимальных дозах (Тимофеев, 2000).



Рис. 14. Новые препараты из надземных частей *Rhaponticum carthamoides* с участием фирм *Genesis Group* (США), *Fitostar* и *Mitra*

Например, эффективные дозы фармпрепаратов “Биоинфузин” и “БЦЛ-ФИТО” составляют 0.5-10.0 мкг/кг биомассы по 20-hydroxyecdysone (синонимы: 20E, ecdysterone), или $10^{12} \dots 2 \cdot 10^{-13}$ М (Ивановский, 2000; Тимофеев, 2001). Это не ошибка и не опечатка, потому что средняя суточная доза химически чистого 20-hydroxyecdysone и препаратов на его основе равна 5-50 мг/кг массы тела (Сыров и др., 1975; Куракина и Булаев, 1990; Гаджиева и др., 1995; Тодоров и др., 2000a; Пчеленко и др., 2002; Зайнуллин и др., 2003;).

Особенность механизма действия новых фармпрепаратов – стимулирующая активность малых и ингибирующее действие больших доз на пролиферативные процессы в организме. Да-

же однократное введение их способно вызвать существенный анаболический и иммуностимулирующий эффект на клеточном и гуморальном уровне (Тимофеев и Ивановский, 1996а; Ивановский, 2000; Лагунова и Ивановский, 2002). При 7-и дневном курсе применения достигается значительный иммуно-стимулирующий эффект последствия, который сохраняется на высоком уровне в течение 30 дней (рис. 15). Немаловажен и тот факт, что неочищенные экдистероид содержащие составы показывают стойкий производственный анаболический эффект в условиях массового производственного использования (рис. 16).

Справочно:

1. **Препарат Биоинфузин** – рег. № 001047-ОП; жидкая форма на основе *R. carthamoides*. Предназначен для внутримышечного и внутривенного введения. Применяется для повышения общей резистентности организма в период патологических состояний различной этиологии, усиления половой активности, лечения респираторных заболеваний. *Биоинфузин* обладает достаточно высокой степенью иммунологической активности, вызывая увеличение в сыворотке крови гамма-глобулинов на 30 % и на 20 % повышая фагоцитарную активность лейкоцитов. Обеспечивает снижение заболеваемости до 2-х раз, увеличение жизнеспособности на 40 %. Суточные дозы препарата по *20-hydroxyecdysone* составляют: 0.1-0.5 мкг/кг (10^{12} ... $2 \cdot 10^{13}$ М). ЛД₅₀ в опытах на острую токсичность равнялась 9.5 г/кг по препарату, что свидетельствует о его безопасности.
2. **Препарат БЦЛ-ФИТО** – порошкообразная форма на основе препарата БЦЛ (рег. № 000313-ОП) и высококачественных элементов листевой части *R. carthamoides*. Предназначен для лечебно-профилактического использования в ветеринарной практике, применяется при заболеваниях желудочно-кишечного тракта у различных видов домашних и общественных животных. Обладает высокой антагонистической активностью к кишечной палочке, стрептококкам, протее, стафилококкам и возбудителям дизентерии. Для него характерна высокая степень целлюлозолитической активности, что делает невозможным развитие патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Наряду с антибактериальными свойствами, препарат обладает также анаболическим и иммуно-стимулирующим эффектом. Не оказывает негативного влияния на качество получаемой продукции, не вызывает у животных осложнений. С успехом заменяет целый комплекс antimicrobных лекарственных средств: антибиотиков, сульфаниламидов, нитрофуранов, являясь при этом экологически чистым продуктом. Противопоказаний к применению не установлено.

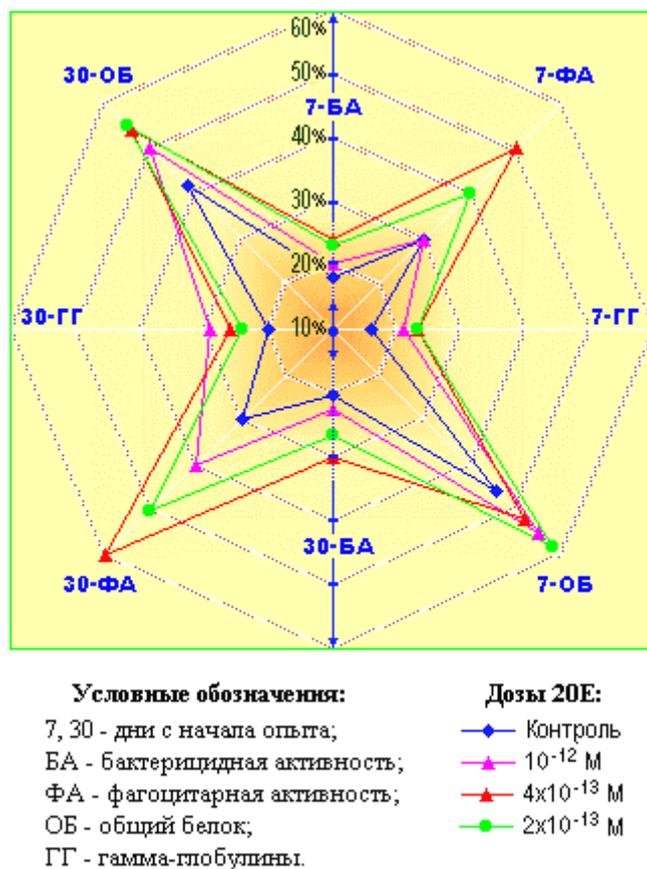


Рис. 15. Иммуно-модуляторный эффект препарата “Биоинфузин” (курс – 7-кратное введение; по Ивановскому, 2000)

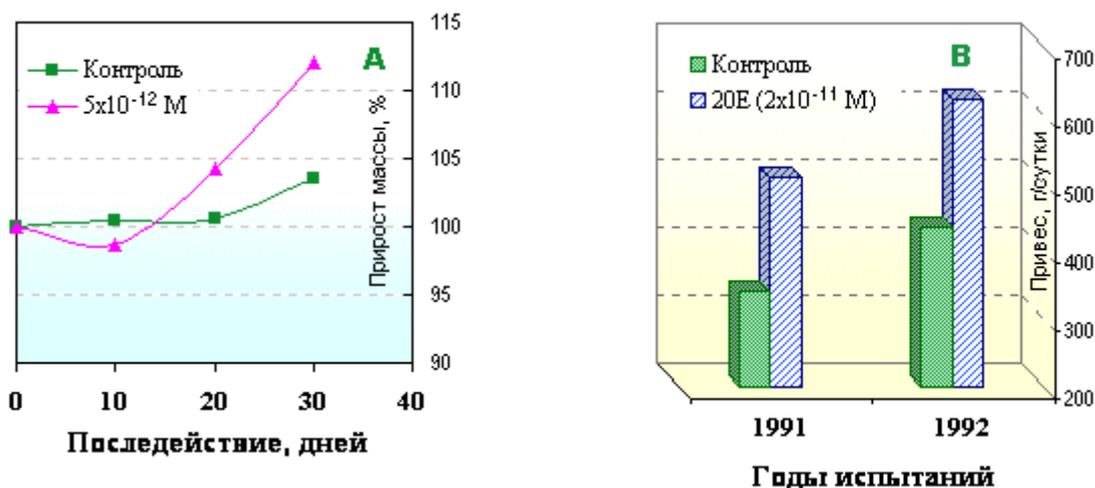


Рис. 16. Анаболический эффект малых доз экдистероидов:
А – однократное внутримышечное введение (по Тимофееву и Ивановскому, 1996а)
В – производственные испытания в течение 3-х месяцев (по Тимофееву, 1994)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экдистероиды представляют самый распространенный и самый многочисленный класс нетоксичных стероидных соединений в биосфере; они участвуют в жизнедеятельности практически всех классов организмов, выполняя множественные функции. Широкое распространение экдистероидов в природе закономерно приводит к вопросу относительно механизмов проявления ими биологической активности: как у членистоногих при эндогенном синтезе, так и у человека и млекопитающих при поступлении извне с пищей. Познавание теоретических основ проявления активности экдистероидов в живых системах важно для понимания прикладного использования этих соединений в качестве фармацевтических, инсектицидных или противопаразитарных средств.

Физиологические эффекты экдистероидов на организм человека и теплокровных животных весьма разнообразны. Использование экдистероид содержащих растений уходит корнями в глубины племенных культовых обрядов аборигенов, населяющих различные географические регионы. В официальной научной медицине экдистероид содержащие натуральные составы используются при нарушениях работы сердечно-сосудистой, центральной нервной и репродуктивной системы; в качестве тонизирующих и стимулирующих средств при умственном и физическом утомлении; пониженной работоспособности, импотенции, ослаблении функций разных органов. В спортивной и военной медицине препараты на их основе служат для адаптации и повышения работоспособности здорового человека в условиях лимитирующих факторов, в т.ч. преодоления чрезвычайных физических и психических нагрузок. Вне официальной медицины в наибольшей степени распространено профилактическое использование в качестве адаптогенных, анаболических, антидепрессивных, гемореологических, ноотропных и противоопухолевых средств

Проявление активности экдистероидов в реальном организме зависит не столько от их присутствия в препаратах или пищевых добавках, сколько от взаимного сочетания с другими сопутствующими факторами. Для проявления активности экдистероидов необходимо прохождение ими ряда последовательных стадий в качестве лигандов для внутриклеточных или мембранных рецепторов, совместно с производными каротина и витамина А. Кроме того, требуются белковые вещества – коактиваторы и корепрессоры транскрипции, а также стрессовые факторы транскрипции, вступающие в прямые белок-белковые взаимодействия с раз-

личными рецепторами.

Важную роль в активации экистероидов играют эфиры с жирными кислотами (аккумуляция, хранение и пролонгированная деятельность), гликозиды с сахарами (транспортная функция), низкомолекулярные пептиды (шапероны, коактиваторы и корепрессоры), ионы металлов (стабилизаторы пространственной структуры полипептидной цепи). Кроме того, виды-сверпродуценты могут содержать растительные рецепторы экистероидов, а также являться источником множества других нестероидных составов, в частности трансактивационных стрессовых элементов для промоторных участков генов и лигандов для ретиноидных и трансмембранных рецепторов. Также, вторичные минорные экистероиды – агонисты и антагонисты, фенольные и жиросодержащие соединения, макро- и микроэлементы способны оказывать как синергическое, так и ингибирующее влияние на результирующую активность.

При использовании неочищенных экстрактов экистероид содержащих субстанций в реальном организме можно ожидать суммирования негеномного и геномного эффекта их действия с другими веществами первичного и вторичного синтеза растений, что позволяет конструировать новые формы препаратов из цельного лекарственного сырья, характеризующихся высокой адаптогенной и фармакологической активностью при минимальных дозах. Разработан новый класс фармпрепаратов и биологически активных добавок к пище – *Биоинфузин*, *БЦЛ-Фито*, *Lipolite*, *RapontikTM*, с использованием отдельных элементов надземной фитомассы *Rhaponticum carthamoides*, выращиваемого в условиях агропопуляций с использованием технологии, способствующей биосинтезу высокоактивных экистероидов и их сохранность во время переработки сырья.

ЛИТЕРАТУРА

1. Albanese C., Reutens A. T., Bouzahzah B., Fu M., D'Amico M., Link T., Nicholson R., Depinho R. A., Pestel R. G., **2000**. Sustained mammary gland-directed, ponasterone A-inducible expression in transgenic mice. *FASEB J*, 14, 877-884.
2. Aranda A., Pascual A., **2001**. Nuclear Hormone Receptors and Gene Expression. *Physiol Rev*, 81(3), 1269-1304.
3. Bandara B.M.R., Jayasinghe L., Karunaratne V., Wannigama G.P., Bokel M., Kraus W., Sotheeswaran S., **1989**. Ecdysterone from stem of *Diploclisia glaucescens*. *Phytochemistry*, 28(4), 1073-1075.
4. Bathori M., Kalman A., Argay G., Kalasz H., **2000**. The analysis and crystallographic characterization of 20-hydroxyecdysone. *Curr Med Chem*, 7(12), 1305-1312.
5. Bathori M., Pongracz Z., **2005**. Phytoecdysteroids – from isolation to their effects on humans. *Curr Med Chem*, 12(2), 153-172.
6. Billas I.M., Moulinier L., Rochel N., Moras D., **2001**. Crystal structure of the ligand-binding domain of the ultraspiracle protein USP, the ortholog of retinoid X receptors in insects. *J Biol Chem*, 276(10), 7465-7474.
7. Brummitt R.K., Powell C.E., **1992**. Authors of plant names: a list of authors of scientific names of plants, with recommended standard forms of their names, including abbreviations. Royal Botanic Gardens, Kew, 1992, 732 pp.
8. Butenandt A., Karlson P., **1954**. Über die Isolierung eines metamorphose-hormones der Insekten in kristallisiertem Form. *Z Naturforsch*, 9b, 389-391.
9. Catalan R.E., Martinez A.M., Aragones M.D., Miguel B.G., Robles A., Godoy J.E., **1985**. Alterations in rat lipid metabolism following ecdysterone treatment. *Comp Biochem Physiol [B]*, 81(3), 771-775.
10. Cheung J., Smith D.F., **2000**. Molecular chaperone interactions with steroid receptors: an update. *Molecular Endocrinology*, 14(7), 939-946.
11. Dinan L., Savchenko T., Whiting P., **2001**. On the distribution of phytoecdysteroids in plants. *Cellular and Molecular Life Sci.*, 58(8), 1121-1132.
12. Dinan L., **2003**. Ecdysteroid structure-activity relationships. *Studies in Natural Products Chemistry*, 29, P. 3-71.
13. Dressel U., Thormeyer D., Altincicek B., Paululat A., Eggert M., Schneider S., Tenbaum S. P., Renkawitz R., Banihammad A., **1999**. Alien a highly conserved protein with characteristics of a corepressor for members of the nuclear hormone receptor superfamily. *Mol Cell Biol*, 19(5), 3383-3394.
14. Elling C. E., Holst L. B., Schwartz T. W., Gerlach L.O., Pedersen J.T., **2002**. Method of identifying ligands of biological target molecules. US Patent Application 20,020,061,599. May 23.
15. Evans R.M., **1988**. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, 240, 889-895.
16. Evans R.M., Saez E., **2001**. Formulations useful for modulating expression of exogenous genes in mammalian systems, and products related thereto. US Patent 6,333,318. December 25.
17. Giguere V., **2001**. Orphan nuclear receptors: From gene to function. *Endocrine Reviews*, 20(5), P. 689-725.
18. Golbraikh A., Bonchev D., Tropsha A., **2000**. Novel chirality descriptors derived from molecular topology. *J Chem Inf Comput Sci*, 41(1), 147-158.

19. Govaerts S., **2001**. How many species of seed plants are there? *Taxon*, 50, 1085-1090.
20. Guo D., Lou Z., **1992**. Textual study of Chinese drug loulu / *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 17(10), P. 579-581.
21. Hamilton A., **2003**. Medicinal plants and conservation: issues and approaches // Coordinator, people and plants initiative, and member, plants conservation committee and medicinal plants specialist group, IUCN // International plants conservation unit, WWF-UK Panda House, Catteshall Lane Godalming, Surrey GU7 1XR, UK, 2003.
22. Hanaya R., Sasa M., Ishihara K., Akimitsu T., Iida K., Amano T., Serikawa T., Arita K., Kurisu K., **1997**. Antiepileptic effects of 20-hydroxyecdysone on convulsive seizures in spontaneously epileptic rats. *Jpn J Pharmacol*, 74(4), 331-335.
23. Harmata J., Dinan L., **1997**. Biological activity of natural and synthetic ecdysteroids in the B_{II} bioassay. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 35, 219-225.
24. Harmatha J., Dinan L., Lafont R., **2002**. Biological activities of a specific ecdysteroid dimer and of selected monomeric structural analogues in the B(II) bioassay. *Insect Biochem Mol Biol.*, 32(2), P.181-185.
25. Hikino H, Ohizumi Y, Takemoto T., **1972**. Absorption, distribution, metabolism and excretion of insect-metamorphosing hormone ecdysterone in mice. *Chem Pharm Bul*, 20, 2454-2458.
26. Hochberg R.B., **1998**. Biological esterification of steroids. *Endocrine Reviews*, 19(3), P. 331-348.
27. Hocks P., Wiechert R., **1996**. 20-Hydroxyecdysone, isoliert aus insekten. *Tetrahedron Lett.*, 26, P. 2989-2993.
28. Jenster G., Spencer T.E., Burcin M.M., Tsai S. Y., Tsai M-J., O'Malley B.W., **1997**. Steroid receptor induction of gene transcription: A two-step model. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94, P. 7879-7884.
29. Jepson I., Martinez A., Greenland A. J., **2002**. Gene switch. US Patent 6,379,945. April 30.
30. Kholodova Iu.D., Tugai V.A., Zimina V.P., **1997**. Effect of vitamin D3 and 20-hydroxyecdysone on the content of ATP, creatine phosphate, carnosine and Ca²⁺ in skeletal muscles. *Ukr Biokhim Zh*, 69(3), 3-9.
31. Kholodova Yu.D., **2001**. Phytoecdysteroids: biological effects, application in agriculture and complementary medicine. *Ukr Biokhim Zh*, 73, 21-29.
32. Kibrik N.D., Reshetnyak J.A., **1996**. Therapeutical approaches to sexual disadaptation. *European Neuropsychopharmacology*, 6(S.4, N.1004), 167.
33. Kosovski M.I., Syrov V.N., Mirakhmedov M.M., Katkova S.P., Khushbaktova Z.A., **1989**. The effect of nerobol and ecdysterone on insulin-dependent processes linked normally and in insulin resistance. *Probl Endokrinol*, 35(5), 77-81.
34. Kozlova T., Thummel C.S., **2000**. Steroid regulation of postembryonic development and reproduction in *Drosophila*. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 11(7), 276-280.
35. Kucharova S., Farkas R., **2002**. Hormone nuclear receptors and their ligands: role in programmed cell death (review). *Endocr Regul*, 36(1), 37-60.
36. Lafont R., **2003**. Ecdysteroids and related molecules in animals and plants. Conference on Isoprenoids-2003. *Chem Listy* 97, 280-281.
37. Lafont R., Dinan L., **2003**. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update. *Journal of Insect Science*, 3(7), 30 pp.
38. Lafont R., Girault J.P., Kerb U., **1988**. Excretion and metabolism of injected ecdysone in the white mouse. *Biochemical Pharmacology*, 36(6), 1177-1180.
39. Laird S.A. & ten Kate K., **2002**. Linking biodiversity prospecting and forest conservation // In *Selling forest environmental services* (ed. S. Pagiola, J. Bishop and N. Landell-Mills). Earthscan, London, UK, 151-172.
40. Meybeck A., Bonte F., Redziniak G., **1997**. Use of an ecdysteroid for the preparation of cosmetic or dermatological compositions intended, in particular, for strengthening the water barrier function of the skin or for the preparation of a skin cell culture medium, as well as to the compositions. US Patent 5,609,873. March 11.
41. Mirzaev I.R., Syrov V.N., Khrushev S.A., Iskanderova S.D., **2000**. Effect of ecdystene on parameters of the sexual function under experimental and clinical conditions. *Eksp Klin Farmakol*, 63(4), 35-37.
42. Nakanishi K., Koreeda M., Sasaki S., Chang M.L., Hsu H.Y., **1996**. Insect hormones: The structure of ponasterone A, an insect-moulting hormone from the leaves of *Podocarpus nakaii* Hay. *J Chem Soc Chem Commun*, 24, 915-917.
43. Nishimoto N., Shiobara Y., Inoue S.S., Fujino M., Takemoto T., Yeoh C.L., Oliveira F.D., Akisue G., Akisue M.K., Hashimoto G., **1988**. Three ecdysteroid glycosides from *Pfaffia iresinoides*. *Phytochemistry*, 27, 1665-1668.
44. Osipova S.O., Islamova Zh.I., Syrov V.N., Badalova N.S., Khushbaktova Z.A., **2002**. Ecdysten in the treatment of giardiasis. *Med Parazitol*, 1, 29-33.
45. Otaka T., Okui S., Uchiyama M., **1969**. Stimulation of protein synthesis in mouse liver by ecdysone. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 17(1), 75-81.
46. Ozarowska A., **2005**. Roslina zycia. *Alternatywna Medycyna*, 1, P. 16.
47. Purser D.B., Baker S.K., **1999**. Ecdysones used to improve productivity of ruminants. US Patent 5,922,702. July 13.
48. Rees H.H., **1995**. Ecdysteroid biosynthesis and inactivation in relation to function. *Europ J Entomol*, 92(1), 9-39.
49. Romert A., Tuvendal P., Simon A., Dencker L., Eriksson U., **1998**. The identification of a 9-cis retinol dehydrogenase in the mouse embryo reveals a pathway for synthesis of 9-cis retinoic acid. *Developmental Biology*, 95(8), 4404-4409.
50. Ross S.A., McCaffery P.J., Drager U.C., De Luca L.M., **2000**. Retinoids in embryonal development. *Physiological Reviews*, 80(3), 1021-1054.
51. Selepcova L. Jalc D. Javorsky P., Baran M., **1993**. Influence of *Rhaponticum carthamoides* (Wild) Iljin on the growth of ruminal bacteria in vitro and on fermentation in an artificial rumen (Rusitec). *Arch Tierernahr*, 43(2), 147-156.
52. Shibuya T., Ario T., Fukuda S., **2001**. Composition. US Patent 6,224,872. May 1.

53. Slama K., Lafont R., **1995**. Insect hormones – ecdysteroides: their presence and actions in vertebrates (review). Eur J Entomol, 92, 355-377.
54. Slama K., Koudela K., Tenora J., Mathova A., **1996**. Insect hormones in vertebrates: anabolic effects of 20-hydroxyecdysone in *Japanese quail*. Experientia, 52(7), 702-706.
55. Smith S., **1998**. Small Brain Neuropeptides. Trends in Endocrinology and Metabolism, 9, 301-302.
56. Suhr S.T., Gil E.B., Senut M.-C., Gage F.H., **1998**. High level transactivation by a modified *Bombyx* ecdysone receptor in mammalian cells without exogenous retinoid X receptor. PNAS, 95, 7999-8004.
57. Takahashi H., Nishimoto N., **1992**. Antidiabetic agents containing ecdysterone or inokosterone. J Patent 04,125,135.
58. Takei M., Endo K., Nishimoto N., Shiobara Y., Inoue S., Matsuo S., **1991**. Effect of ecdysterone on histamine release from rat peritoneal mast cells. J Pharm Sci, 80, 309-310.
59. Taniguchi S.F., Bersani-Amado C.A., Sudo L.S., Assel S.M.C., Oga S., **1997**. Effect of *Pfaffia irsinoides* on the experimental inflammatory process in rats. Phytotherapy Research, 11, 568-571.
60. Trenin S., Volodin V.V., **1999**. 20-hydroxyecdysone as a human lymphocyte and neutrophil modulator: in vitro evaluation. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 41, 156-161.
61. Tsitsimpikou C., Tsamis G.D., Siskos P.A., Spyridaki M.H., Georgakopoulos C.G., **2001**. Study of excretion of ecdysterone in human urine. Rapid Commun Mass Spectrom, 15(19), 1796-1801.
62. Uchiyama M., Yoshida T., **1974**. Effect of ecdysterone on carbohydrate and lipid metabolism // Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophyly. Springer-Verlag.: Berlin, 401-416.
63. Vegeto E., McDonnell D. P., O'Malley B. W., Schrader W. T., Tsai M.J., **1999**. Mutated steroid hormone receptors, methods for their use and molecular switch for gene therapy. US Patent 5,935,934. August 10.
64. Voellmy R., **2002**. Molecular regulatory circuits to achieve sustained activation of genes of interest by a single stress. US Patent 6,342,596. January 29.
65. Vogtli M., Elke C., Imhof M.O. Lezzi M., **1998**. High level transactivation by the ecdysone receptor complex at the core recognition motif. Nucleic Acids Research, 26(10), 2407-2414.
66. Voigt B., Whiting P., Dinan L., **2001**. The ecdysteroid agonist/antagonist and brassinosteroid-like activities of synthetic brassinosteroid/ecdysteroid hybrid molecules. Cellular and Molecular Life Sciences, 58(8), 1133-1140.
67. Volodin V., Chadin I., Whiting P., Dinan L., **2002**. Screening plants of European North-East Russia for ecdysteroids. Biochemical Systematics and Ecology, 30(6), 525-578.
68. Wang S., Ayer S., Segraves W.A., Williams D.R., Raikhel A.S., **2000**. Molecular determinants of differential ligand sensitivities of insect ecdysteroid receptors. Mol Cell Biol, 20, 3870-3879.
69. Zdrojewska A., **2004**. Elikzir zycia (New preparations from *Rhaponticum carthamoides* Lipolite and Rapontik). Czwarty Wymiar, 12, 38-39.
70. Zhu Y., Kan L., Qi C., Kanwar Y.S., Yeldandi A.V., Rao M.S., Reddy J.K., **2000**. Isolation and characterization of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) interacting protein (PRIP) as a coactivator for PPAR. J Biol Chem, 275(18), 13510-13516.
71. Zibareva L., Volodin V., Saatov Z., Savchenko T., Whiting P., Lafont R., Dinan L., **2004**. Distribution of phytoecdysteroids in the *Caryophyllaceae*. Phytochemistry, 64(2), 499-517.
72. Айзиков М.И., Курмуков А.Г., Сыров В.Н., **1978**. Физиологическая активность и корреляция изменения белкового, углеводного и жирового обмена под влиянием экидистерона и неробола. Фармакология природных веществ, 107-125.
73. Ахмед И., **1993**. Фитоэкидстероиды серпухи невооруженной (*Serratula inermis*) и их влияние на биосинтез нуклеотидов и нуклеиновых кислот в тканях цыплят с различной обеспеченностью витамином Д3: Автореф. канд....биол. наук. Киев, 27 с.
74. Ахрем А.А., Ковганко В.В., **1989**. Экидстероиды: Химия и биологическая активность. Минск: Наука и техника, 327 с.
75. Балтаев У.А., **2000**. Фитоэкидстероиды – структура, источники и пути биосинтеза в растениях. Биоорганическая химия, 26(12), 892-925.
76. Володин В.В., Чадин И.Ф., **2003**. Экидстероиды в мировой флоре: Обзор. Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН, 67, 2-11.
77. Володин В.В., Тимофеев Н.П., Колегова Н.А., **1996**. Содержание 20-гидроксиэкидизона в различных экидстероид содержащих лекарственных препаратах // Международное совещание по фитоэкидстероидам. Сыктывкар, Коми НЦ УрО РАН, 138.
78. Володин В.В., Ширшова Т.И., Бурцева С.А., Мельник М.В., **1999**. Биологическая активность 20-гидроксиэкидизона и его ацетатов. Растительные ресурсы, 35(2), 76-81.
79. Гаджиева Р.М., Португалов С.Н., Панюшкин В.В., Кондратьева И.И., **1995**. Сравнительное изучение анаболизирующего действия препаратов растительного происхождения экидистена, леветона и “Прайм-Плас”. Экспериментальная и клиническая фармакология, 5, 46-48.
80. Ганиев Ш.Г., **1980**. Экидизонсодержащие растения родов *Serratula* L., *Rhaponticum* Ludw. Узбекистана и прилегающих районов: Автореф. дис...канд. биол. наук. Ташкент, ун-т им. В.И. Ленина, 28 с.
81. Гусак Ю.К., Морозов В.Н., Дармограй В.Н., Гусак Н.Ю., **2002**. Фитолечение климактерического синдрома. Актуальные вопросы акушерства и гинекологии, Раздел II Гинекология, 1(1), 41.
82. Дармограй В.Н., **1996а**. Фармакогностическое изучение некоторых видов семейства гвоздичных и перспективы использования их в медицинской практике [Химическая структура флавоноидов, экидстероидов, элемент-

- ный состав, анатомическое строение отдельных видов]: Автореф. дис... д-ра фармац. наук. Рязань, гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова, 92 с.
83. Дармограй В.Н., Ухов Ю.И., Сысыкин А.А., Петров В.К., Рывкин О.М., Потехинский С.М., 1996б. Эффективность применения фитоэкдистероидной мази при химическом ожоге // Информ. листок Ряз. ЦНТИ. Рязань, 54-96, 4с.
 84. Дармограй В.Н., Петров В.К., Золотарев Ю.В., Ковалев Э.А., 1999. Фитоэкдистероиды – перспективы применения в хирургической практике // От коллатерального кровообращения к органосберегающим операциям. Рязань, 1999, 211-214.
 85. Дармограй В.Н., Петров В.К., Гордлеев В.А., Ухов Ю.И., 2001а. Превентивное и терапевтическое действие фитоэкдистероидов при индуцируемых анемиях и лейкопениях // Мат-лы VIII Рос. нац. конгр. «Человек и лекарство». Москва, 315-316.
 86. Дармограй В.Н., Морозов В. Н., Хадарцев А. А., Гусак Ю.К., Лазарева Ю.В. Биологически активные вещества – модуляторы программ адаптации // Реабилитация больных с различной стоматологической патологией: Сб. науч. трудов, посвященный 10-летию стомат. факультета. Рязань, 2001б. – С.11-20.
 87. Дармограй В.Н., Петров В.К., Ухов Ю.И. Теоретическое и клиническое обоснование концептуальной модели механизма действия фитоэкдистероидов // Биохимия на рубеже XXI века: Межрег. сб. науч. тр., Рязань, 2002а. – С. 489-492.
 88. Дармограй В.Н., Гусак Ю.К., Морозов В.Н., Гусак Н.Ю., Зотов В.В., Назимова С.В., Кривошеева Г.А. 2003. Опыт использования фитоэкдистероидов в лечении угрожающего прерывания беременности // Традиционные методы лечения в акушерско-гинекологической практике: Тр. II научно-практ. конф. Москва, 107-108.
 89. Зайнуллин В.Г., Мишуров В.П., Пунегов В.В., Старобор Н.А., Баилыкова Л.А., Бабкина Н.Ю., 2003. Биологическая эффективность двух кормовых добавок, содержащих экдистероиды *Serratula coronata* L. Растительные ресурсы, 39(2), 95-103.
 90. Зеленков В.Н., Тимофеев Н.П., Колесникова О.П., Кудяева О.Т., 2001. Выявление биологической активности для водных экстрактов листовой части левзеи сафлоровидной на модели *in vitro* // Актуальные проблемы инноваций в создании фитопродуктов на основе нетрадиционных растительных ресурсов и их использование в фитотерапии. Москва, РАЕН, 59-62.
 91. Зибарева Л.Н., 2003. Фитоэкдистероиды растений семейства *Caryophyllaceae*: Автореф. док...хим. наук. Новосибирск, Институт биоорганической химии СО РАН, 31 с.
 92. Зибарева Л.Н., Еремичева В.И., 1996. Динамика содержания экдистероидов в видах рода *Silene* L., выращиваемых в Сибирском ботаническом саду (г. Томск). Растительные ресурсы, 32(1-2), 106-110.
 93. Иванов В.И., 1987. Питательные и стимулирующие свойства рапонтика сафлоровидного в силосованном и искусственно высушенном виде. Сб. науч. тр. Москва, ВНИИ кормов, 37, 165-177.
 94. Ивановский А.А., 2000. Влияние биоинфузина на некоторые показатели иммунитета. Ветеринария, 9, 43-46.
 95. Колхир В.К., Сакович Г.С., Соколов С.Я., Толстых Л.П., Савина А.А., Бойко В.П., Омельницкий П.П., Сидорова Е.А., 1996. Использование шрота корней левзеи как лекарственного сырья (экспериментальное обоснование). Медико-фармацевтический вестник, 6.
 96. Кузьменко А.И., Морозова Р.П., Николенко И.А., Донченко Г.В., 1999а. Антиоксидантный эффект 20-гидроксиэкдизона в модельных системах. Военно-медицинский журнал, 3, 35-38.
 97. Кузьменко А.И., Морозова Р.П., Николенко И.А., Корниец Г.В., Донченко Г.В., 1999б. Влияние витамина D3, аргинина и биологически активного комплекса из *Serratula coronata* на свободнорадикальное окисление липидов при D-гиповитаминозе. Украинский биохимический журнал, 71(2), 69-74.
 98. Кузьмицкий Б.Б., Голубева М.Б., Конопля Н.А., Ковганко Н.В., Ахрем А.А., 1990. Новые перспективы в поиске иммуномодуляторов среди соединений стероидной структуры. Фармокология и токсикология, 3, С. 20-22.
 99. Куракина И.О., Булаев В.М., 1990. Экдистен – тонизирующее средство в таблетках по 0,005 г. Новые лекарственные препараты, 6, 16-18.
 100. Курмуков А.Г., Сыров В.Н., 1988. Противовоспалительные свойства экдистерона. Медицинский журнал Узбекистана, 10, 68-70.
 101. Кушке Э.Э., Алешкина Я.А., 1955. Левзея сафлоровидная. Москва, Медгиз, 11 с.
 102. Лагунова О.Н., Ивановский А.А., 2002. Новый препарат из левзеи сафлоровидной – Биоинфузин // Биотехнология, экология, медицина: Под редакцией д.т.н. А.Ф.Труфанова. Москва-Киров, ЭКСПРЕСС, 34-36.
 103. Лафон Р., 1998. Фитоэкдистероиды и мировая флора: Разнообразие, распространение, биосинтез и эволюция. Физиология растений, 3, 326-346.
 104. Лекарства и БАД в спорте: Практическое руководство для спортивных врачей, тренеров и спортсменов, 2003. Под общей ред. Сейфулла Р.Д. и Орджоникидзе З.Г. Москва, Литтерра, 320 с.
 105. Лекарственные средства: 4000 препаратов, свойства, применение, противопоказания. Справочник. Под ред. М.А.Клюева, 1995. Москва, Книжный Дом «Локус»; Гомель, Агентство «РИД», 704 с.
 106. Машиковский М.Д., 1993. Лекарственные средства. В 2-х частях. Часть 1. Москва, Медицина, 736 с.
 107. Мирзаев Ю.Р., Сыров В.Н., 1992. Влияние фитоэкдистероидов на половую активность крыс-самцов. Доклады АН УзССР, 3, 47-49.
 108. Миронова В.Н., Холодова Ю.Д., Скачкова Т.Ф., 1982. Гипохолестеренемический эффект фитоэкдистероидов в экспериментальной гиперхолестеренемии на крысах. Вопросы медицинской химии, 3, 101-104.
 109. Молоковский Д.С., Давыдов В.В., Тюленев В.В., 1989. Активность препаратов адаптогенных растений в экспе-

- риментальном диабете. Проблемы эндокринологии, 6, С. 82-87.
110. Осинская Л.Ф., Саад Л.М., Холодова Ю.Д., **1992**. Антирадикальные свойства и антиоксидантная активность экдистерона. Украинский биохимический журнал, 64, 114-117.
 111. Плотников М.Б., Алиев О.И., Васильев А.С., Маслов М.Ю., Чернышева Г.А., Краснов Е.А., Зибарева Л.Н., **1999**. Гемореологическая активность экстрактов из надземной части *Lychnis chaldedonica* L. и *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin при экспериментальном инфаркте миокарда. Растительные ресурсы, 35(1), 103-107.
 112. Плотников М.Б., Алиев О.И., Васильев А.С., Маслов М.Ю., Дмитрук С.Е., Краснов Е.А., **2001**. Влияние экстракта левзеи сафлоровидной на реологические свойства крови у крыс с артериальной гипертензией. Экспериментальная и клиническая фармакология, 64, 6, 45-47.
 113. Португалов С.Н., Панюшкин В. В., Агаева Э. Н., **1993**. Влияние растительных препаратов мягкого действия и экдистена на физическую работоспособность и функциональное состояние спортсменов. Теория и практика физической культуры, 8, 44-45.
 114. Португалов С.Н., Панюшкин В.В., Абрамова Т.Ф., **1996**. Сравнение анаболизирующего действия недопинговых препаратов растительного происхождения: экдистена, леветона и "Прайм плас". Теория и практика физической культуры, 9, 47-49.
 115. Португалов С.Н., Сейфулла Р.Д., Панюшкин В.В., Азизов А.П., **1997**. Изучение действия недопинговых анаболизирующих препаратов растительного происхождения на физическую работоспособность высококвалифицированных гребцов // Науч. тр. 1996 г. Москва, ВНИИФК, 281-292.
 116. Постников Б.А., **1995**. Маралий корень и основы введения его в культуру. Новосибирск, СО РАСХН, 276 с.
 117. Пчеленко Л.Д., Метелкина Л.Г., Володина С.О., **2002**. Адаптогенный эффект экдистероидсодержащей фракции *Serratula coronata* L. Химия растительного сырья, 1, 69-80.
 118. Растения в медицине, **1983**. Сост.: Вольнский Б.Г., Бендер К.И., Фрейдман С.Л. и др. Изд-во СГУ, 485 с.
 119. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование, **1993**. Т. 7. Сем. *Asteraceae*. СПб, Наука, 161-163.
 120. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: Цветковые растения, их химический состав, использование, **1994**. Т. 8. Сем. *Vitaceae-Turpaseae*. СПб, Наука, 271 с.
 121. Саратиков А.С., Краснов Е.А., Шадрин Г.Д., Зотова М.И., Нехода М.Ф., Аксенова Р.А., Алексеева Л.П., **1970**. Химико-фармакологическое исследование корней левзеи сафлоровидной // Известия Сибирского отделения Академии наук СССР: Серия биол. науки. Вып. 2. Новосибирск, Наука, Сиб. отд-е, 10, 88-95.
 122. Сахибов А.Д., Сыров В.Н., Усманова А.С., Абакумова О.Ю., **1989**. Экспериментальный анализ иммуотропического действия фитоэкдистероидов. Доклады Академии Наук Узбекской ССР, 55-57.
 123. Сейфулла Р.Д., **1998**. Научно-методические рекомендации о применении новых комбинированных адаптогенов растительного происхождения в спортивной медицине // Методические рекомендации. Москва, ВНИИФК, 28 с.
 124. Сейфулла Р.Д., **1999**. Спортивная фармакология. Москва, Спорт-Фарма Пресс, 120 с.
 125. Соболевская К.А., **1991**. Интродукция растений в Сибири. Новосибирск, Наука, 184 с.
 126. Соколов С.Я., **2000**. Фитотерапия и фитофармакология: Руководство для врачей. Москва. Медицинское информационное агентство, 976 с.
 127. Сыров В.Н., Айзиков М.И., Курмуков А.Г., **1975**. Влияние экдистерона на содержание белка, гликогена и жира в печени, сердце и мышце белых крыс. Доклады Академии наук УзССР, 8, 37-38.
 128. Сыров В.Н., Курмуков А.Г., **1976**. Об анаболической активности фитоэкдизона-экдистерона, выделенного из *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin. Фармакология и токсикология, 6, 690-693.
 129. Сыров В.Н., Набиев А.Н., Султанов М.В., **1986**. Действие фитоэкдистероидов на желчеотделительные функции печени в норме и при экспериментальном гепатите. Фармакология и токсикология, 3, 100-103.
 130. Сыров В.Н., Назирова С.С., Кушбактова З.А., **1997**. Результаты экспериментального изучения фитоэкдистероидов в качестве стимуляторов электропоза у лабораторных животных. Экспериментальная и клиническая фармакология, 3, 41-44.
 131. Тимофеев Н.П., **1994**. Результаты практического внедрения в свиноводство рапонтика сафлоровидного в качестве экдистероидного сырья // Мат-лы III Междунар. конф. по селекции, технологии возделывания и переработки нетрадиционных растений. Симферополь, Таврия, 166-167.
 132. Тимофеев Н.П., Ивановский А.А., **1996а**. Анаболический эффект малых доз препаратов рапонтика // Международное совещание по фитоэкдистероидам. Сыктывкар, Коми НЦ УрО РАН, 133.
 133. Тимофеев Н.П., Володин В.В., Фролов Ю.М., **1996б**. Некоторые аспекты производства экдистероидсодержащего сырья из надземной части *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin // Международное совещание по фитоэкдистероидам. Сыктывкар, Коми НЦ УрО РАН, 90.
 134. Тимофеев Н.П., Володин В.В., Фролов Ю.М., **1998**. Распределение 20-гидроксиэкдизона в структуре биомассы надземной части *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin. Растительные ресурсы, 34(3), 63-69.
 135. Тимофеев Н.П., **2000**. Разработка новых фармпрепаратов из левзеи сафлоровидной ("Биоинфузин" и "БЦЛ-ФИТО") // Инновационные технологии и продукты: Сб. трудов. Вып. 4. Новосибирск, НТФ "АРИС", 26-36.
 136. Тимофеев Н.П., **2001**. Левзея сафлоровидная: Проблемы интродукции и перспективы использования в качестве биологически активных добавок // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сб. научн. трудов. Вып. 5. – Москва, РАЕН, 108-134.
 137. Тимофеев Н.П., **2003**. Промышленные источники получения экдистероидов. Часть I. Ponasterone и muristerone // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сб. науч. трудов. Вып. 9. –

- Москва, РАЕН, 64-86.
138. Тимофеев Н.П., 2004. Исследования по экидистероидам: Использование в медицине, Интернет-ресурсы, источники и биологическая активность. Биомедицинская химия, 50(прил. 1), 133-152.
 139. Тимофеев Н.П., Кокишаров А.В., 2005а. Макроэлементный профиль *Rhaponticum cartahamoides* (Willd.) Iijin // Мат-лы III Рос. науч.-практ. конф. "Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами и создания функциональных продуктов". Москва, 84-85.
 140. Тимофеев Н.П., 2005б. Динамика структуры биомассы лекарственных растений *Rhaponticum cartahamoides* (Willd.) Iijin и *Serratula coronata* L. в агроценозе // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сб. науч. трудов. Вып. 12. Москва, РАЕН, – С. 211-220.
 141. Тодоров И.Н., Митрохин Ю.И., Ефремова О.И., Сидоренко Л.И. 2000а. Влияние экидистерона на биосинтез белков и нуклеиновых кислот в органах мышей. Химико-фармацевтический журнал, 34(9), 3-5.
 142. Тодоров И.Н., Митрохин Ю.И., Ефремова О.И., Сидоренко Л.И., 2000б. Действие экстрактов левзеи сафлоровидной на биосинтез РНК и белков в органах мыши. Химико-фармацевтический журнал, 34(9), 24-26.
 143. Томашко К.Х., Гуклер Р., 1996. Экологическое значение экидистероидов у морских артропод // Международное совещание по фитоэкидистероидам. Сыктывкар, Коми НЦ УрО РАН, 43-44.
 144. Тренин Д.С., Володин В.В., Бейкин Я.Б., Шлыкова А.Б., 1996. Экидистероидная фракция надземной части *Serratula coronata* L. в реакции спонтанного Е-розеткообразования и агаромиграционном тесте *in vitro*. Экспериментальная и клиническая фармакология, 1, 55-57.
 145. Федоров В.Н., Раков А.А., Смирнов Н.А., Стувичек В.Г., Смирнов А.В., Арбузов Е.Е., Попков В.В., Федорова Т.Б., Вдовиченко В.Д., Аришинов А.В., Султанов С.Ш., Ситников И.Г., Сошин А.Б., Ефременко Л.В., 1997. Сравнительная эффективность фармакопейных препаратов адаптогенов // Мат-лы VI Междунар. науч-практ. конф. "Нетрадиционное растениеводство, экология и здоровье". Главы 6,7,8. – Симферополь, Национальная академия наук Украины, 1997, 486-487.
 146. Фомовская Г.Н., Бердышев А.Г., Холодова Ю.Д., 1992. Иммуно-модуляторный эффект экидистерона. Украинский биохимический журнал, 64(2), С. 56-61.
 147. Хатымов Р.В., Муфтахов М.В., Мазунов В.А., Недопекин Д.В., Галяутдинов И.В., Одинокоев В.Н., 2002. Особенности масс-спектров резонансного захвата электронов молекулами экидистероидов // Известия Академии наук. Серия химическая, 2002, 2, 291-294.
 148. Чермник Н.С., 1988. Действие метандростенола и экидистерона на физическую выносливость животных и белковый обмен в скелетных мышцах. Фармакология и токсикология, 51(6), 57-60.
 149. Шаин С.С., Терехин А.А., 2002. Растения против стрессов. Москва, Оверлей, 160 с.
 150. Яковлев Г.М., Новиков В.С., Хавинсон В.Х., 1990. Резистентность, стресс, регуляция. Ленинград, Наука, 238 с.