

## ПРОМЫШЛЕННЫЕ ИСТОЧНИКИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКДИСТЕРОИДОВ ЧАСТЬ 1. PONAsterone и MURISterone

Тимофеев Н.П.

КХ «БИО», г. Коряжма, Россия

### Введение

1. Ecdysone, ponasterone, ecdysterone и muristerone
2. Источники
3. Различие растений в биосинтезе
4. Важнейшие виды
  - 4.1. Представители для получения *ponasterone A*
    - 4.1.1. *Paxillaceae*
    - 4.1.2. *Polypodiophyta*
    - 4.1.3. *Podocarpaceae* и *Taxaceae*
  - 4.2. Представители для получения *muristerone A*
    - 4.2.1. *Iromoea*

### Литература

## Введение

Растения остаются одним из главных источников разнообразных фармацевтических средств и медицинских препаратов. Как ни парадоксально, но с развитием современной науки и достижениями высоких технологий значение их не только не снижается, а наоборот – повышается. Одним из самых значительных достижений науки последнего времени является разработка технологий использования экдистероидов, синтезируемых растениями, в управлении процессами роста и развития различных организмов. Последнее открытие, добавляя новое содержимое к широко известным адаптогенным и иммуно-модулирующим эффектам экдистероид содержащих препаратов в классической, народной и нетрадиционной медицине (<http://www.sciteclibrary.com/rus/catalog/pages/1502.html>), еще более поднимает значимость и актуальность его для здоровья человека.

Экдистероиды (синоним: экдизоны) – малые липофильные молекулы (рис. 1), возникшие очень давно, еще несколько сот миллионов лет назад, приняли участие в сложном коэволюционном пути развития экосистем и адаптации их к окружающей среде. Присутствие экдистероидов характерно, наряду с цветковыми растениями, для таких древних организмов, как папоротники, грибы, мхи, водоросли, голосеменные растения. Считается, что появившиеся в сравнении с растениями на более поздних этапах эволюции насекомые стали использовать их в качестве гормонального фактора развития. Так как действие экдистероидов в качестве гормональных сущностей проявляется в чрезвычайно низких концентрациях ( $10^{-8}$ ... $10^{-9}$  М), предполагается, что повышенный синтез их у древних папоротников и голосеменных растений первоначально представлял защитный механизм от поедания насекомыми-фитофагами.

В свое время (60-е годы XX-го века.) открытие присутствия громадных количеств гормонов линьки в растениях (в миллионы раз превышающей концентрацию их в насекомых) было большой научной сенсацией. Предполагалось, что это открытие позволит найти экологически безопасный и весьма эффективный метод управления численностью насекомых-вредителей. Однако, как выяснилось при детальных исследованиях, большинство насекомых научились детоксировать фитоэкдистероиды, поступающие через

ротовой аппарат и стали взамен синтезировать зооэкдистероиды собственного производства (экдизоны) – по другим метаболическим путям, отличных от растений.

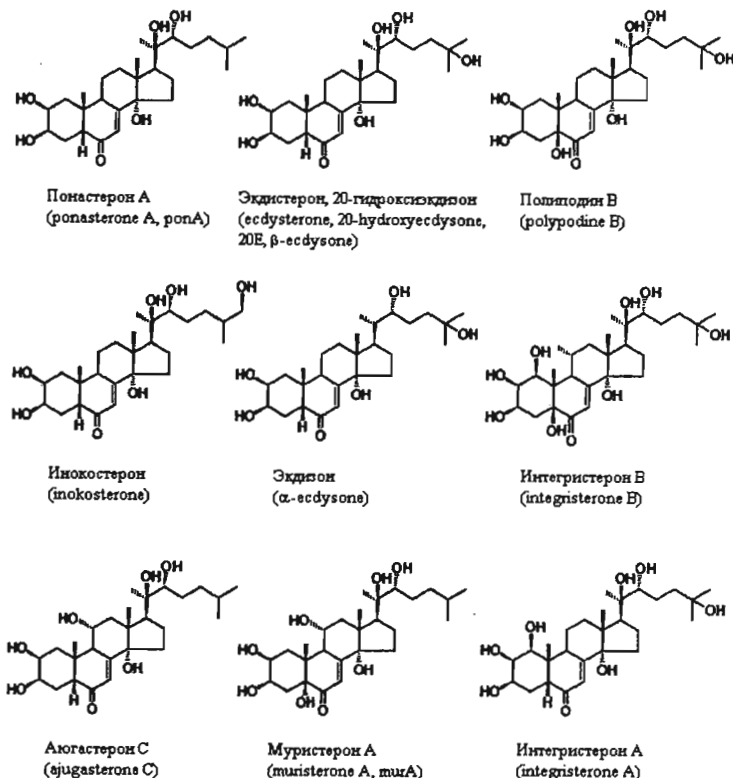


Рис. 1. Представители экдистероидов

Тем не менее, 20-летние исследования в области клеточной и молекулярной биологии, экологической генетики и физиологических наук привели к еще более значительному открытию:

– что экдистероиды являются естественными и абсолютно безопасными лигандами в молекулярных системах переключения генов (Suhr и др., 1998; Wang и др., 2000; Carlson и др., 2001; Jepson и др., 2002);

– что механизмы экдизон- (экдистероид) индуцированных систем экспрессии генов, подобные в клетках насекомых, применимы и к млекопитающим, включая человека (Saez и др., 2000; Albanese и др., 2000; Evans и Saez, 2001);

– что такие системы можно искусственно конструировать, модифицировать и клонировать, создавая рекомбинатные белки-рецепторы и активаторы транскрипции на основе стероидных, тироидных, ретиноидных рецепторов насекомых и млекопитающих, ретро- и альфа вирусов, бактериофагов и шоковых белков (Vogtli и др., 1998; Vegeto и др., 1999; Natesan и Gilman, 2000; Aarnisalo и др., 2002; Jessee и др., 2002).

Значимость последнего открытия чрезвычайно актуальна в постгеномную эру медицины и ожидаются большие объемы инвестиционных вложений в освоение методов молекулярной и геномной терапии (Juliano и др., 2001). С завершением расшифровки геномной библиотеки человека предполагается, что с помощью генных переключателей можно будет выключить клетки, продуцирующие ушербные для организма структуры и остановить развитие болезни, не поддающиеся лечению обычными мерами (Kucharova и Farkas, 2002; Wolter и др., 2002). Аналогично, можно осуществлять встраивание и точечное включение отсутствующих в клетках организма хозяина генов, ответственных за выработку целевых терапевтических агентов, а также запустить в работу факторы регенерации поврежденных тканей (Patrick и др., 2001).

Экдизон-индуцированные системы могли бы использоваться для исследования групповых функций генов как в естественных, так и искусственных системах. При интеграции таких систем с современными компьютерными технологиями появляется возможность диагностики свойств любого вещества или биологического объекта, располагая чрезвычайно малыми количествами последних – в пределах 1 нг (Bassett и др., 2002). Считывая, например, лазерным лучом флуоресцентное излучение таких систем как результат экспрессии группы сцепленных генов в ответ на введение лекарственного препарата, и сравнения с известным профилем, можно заранее предсказать его мутагенность или цитотоксичность (Friend и Stoughton, 2001).

Какими бы фантастическими не казались новые направления использования экдистероидов, тем не менее, экдизон-индуциров-

нные системы не только созданы и запатентованы, но и реализуются в коммерческих масштабах (<http://www.invitrogen.com>). Кроме того, для экидистероидов важными аспектами клинического применения являются участие в многочисленных негеномных эффектах. Механизмы взаимодействия экидистероидов с мембранными рецепторами в качестве сигнальных молекул, активизирующих вторичные мессенджеры, только еще начинают изучаться (Constantino и др., 2001; Wolter, 2002), но этот факт не препятствует широкому практическому использованию экидистероид содержащих препаратов при нарушениях сердечно-сосудистой, центральной нервной и репродуктивной системы, общего гомеостаза организма (Falkenstein и др., 2000; Тимофеев, 2001).

Поэтому сегодня истребованы такие источники экидистероидных молекул или субстанций на их основе, которые бы характеризовались минимальными дозами, высокой активностью, нетоксичностью, устойчивостью к распаду, быстрым выводом из организма, малой стоимостью и масштабируемостью производства (Rossant и McMahon, 1999; Saez и др., 2000).

### 1. Ecdysone, ponasterone, ecdysterone и muristerone

Первые исследования по экидизонам с целью выделить гормоны насекомых были начаты в начале 30-х годов немецкими учеными. В 1954 году им удалось изолировать 25 мг слабоочищенного вещества из 500 кг куколок тутового шелкопряда (*Bombix mori*) и кристаллизовать его (Butendant и Karlson, 1954). В 1963 году установлена общая структура, которая позволила отнести  $\alpha$ -ecdysone (экидизон) к стероидам (с молекулярной массой  $M=464$ ). В 1965 году произошла расшифровка строения молекулы рентгеноструктурным методом, где в сравнении с  $\beta$ -ecdysterone отсутствует ОН-группа при углеродном атоме  $C_{20}$  (Huber и Hoppe, 1965; Karlson и др., 1965; рис. 1). Сами по себе эти работы были известны лишь узкому кругу специалистов и возможно, оставались бы такими еще долгое время, если бы не стечение обстоятельств, вызвавшее бурный рост интереса и вложение крупных инвестиций в работы, связанные со скринингом мировой флоры и изучением свойств новых молекул.

Открытие экидизонов из растений было случайным фактом, когда чехословацкий ученый Карел Слама выехал для научной работы в США и культивировал там на фильтровальной бумаге припчвен-

ного насекомого, красноклопа бескрылого (*Pyrrhocoris apterus* L.). Здесь его поджидал сюрприз – метаморфоз насекомого нарушался, и он не мог добиться окукливания на последней личиночной стадии. Секрет заключался в происхождении фильтровальной бумаги. В данном случае она была изготовлена из пихты бальзамической (*Abies balsamea*). С другими бумагами метаморфоз протекал нормально. В процессе экстракции был выделен структурный аналог ювенильного гормона ювабион, избирательно действующий именно на этого насекомого. При тестировании других, взятых наугад растений, было установлено наличие в них множества соединений с гормональной активностью насекомых. Метод биотестирования в дальнейшем был модифицирован в  $V_{II}$ -биотест и в настоящее время широко используется для первичного скрининга экидистероидов из растительной флоры в сочетании с радиоиммунным анализом (РИА).

*Ponasterone* (понастерон) был первым фитоэкидистероидом, выделенным и охарактеризованным в 1966 году японскими учеными из хвойного дерева *Podocarpus nakaii* (Nakanishi и др., 1966). В дальнейшем он был обнаружен в родственных видах – *Podocarpus macrophyllus*, *Podocarpus reichei*, с концентрацией около 100 мг/кг (Imai и др., 1967; Takemoto и др., 1968), а также в тисовых – *Taxus canadensis*, *T. chinensis*, *T. cuspidata* (50–80 мг/кг). В конце 70-х и в начале 80-х годов было открыто присутствие *ponasterone* в ракообразных (McCartny, 1979; Lachaise, 1981), а в 1995 году в грибах из семейства свинушковых – *Paxillaceae*, при концентрации до 50 мг/кг (Vokac и др., 1995).

*Ecdysterone* ( $\beta$ -ecdysterone, 20-hydroxyecdysone, 20E; экидистерон, 20-гидроксиэкидизон) в 1966 году вначале был изолирован из ракообразного *Jasus calandei*, в количестве 2 мг из 1 тонны, и поэтому был назван *crustedysone* (Hampshire и Horn, 1966). Затем найден в насекомых: тутовом шелкопряде – *Bombix mori* и *Antherea pernyi*, в количестве 200 мг из 31 кг куколок (Hocks и Wiechert, 1966). После установления структуры в том же году выделен из хвойных и папоротников: сначала в количестве 50 мг из 1 кг *Podocarpus elatus* (Hoffmeister и Grutzmacher, 1966), а затем из корневищ *Polipodium vulgare*, с концентрацией до 10 г/кг (Heinrich и Hoffmeister, 1967). В последующие годы установлено, что *ecdysterone* содержится в абсолютном большинстве растений (Dinan и др., 2001a), включая зла-

ковые (кукурузу – *Zea mays*) и крестоцветные культуры (*Arabidopsis thaliana*). Различие в концентрации достигает от 100 миллионов до 1 миллиарда раз (от 20–300 нг до 20–30 г/кг). Главными отечественными источниками выделения *ecdysterone* в промышленных масштабах являются многолетние растения рапонтikum сафлоровидный – *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin и серпуха венценосная – *Serratula coronata* L., интродуцированные в различных регионах России.

*Muristerone A* (муристерон), самый активный, редкий и чрезвычайно дорогой эктистероид из ныне известных, обнаружен в 1972 году немецкими учеными в семенах эндемичных растений из рода *Ipomoea* сем. вьюнковых (Canonica и др., 1972), произрастающих на южных склонах Гималайских гор. Лишь через 30 лет исканий появились неподтвержденные новые сообщения об извлечении его из секвойи (<http://www.sequoiasciences.com>)

## 2. Источники

В целом присутствие эктистероидов обнаружено не только в высших цветковых растениях, но и голосеменных, папоротниках, грибах, водорослях и мхах, а также насекомых, ракообразных и нематодах. Последними исследованиями установлено, что практически все наземные и водные высшие растения имеют гены синтеза эктистероидов (Лафон, 1998; Dinan и др., 2001a; Volodin и др., 2002). Известно строение около 300 молекул эктистероидов. Наибольшее разнообразие по составу наблюдается среди покрытосеменных. У насекомых обнаружено около 50 структурных аналогов (Voigt и др., 2001).

Пути биосинтеза у растений и животных, возможно и у грибов, различны. Предшественниками эктистероидов выступают – ацетат, мевалонат, холестерин, кетол, кетодиол, *ecdysone*, *ponasterone*, *2,22-deoxyecdysone*, *22,25-deoxyecdysone* (Лафон, 1998; Reixach и др., 1999). Биосинтез может быть рассмотрен как образование на первичных стадиях *α-ecdysone* и *ponasterone A*. *Ecdysterone* ( $\beta$ -*ecdysone*) – как результат окисления этих молекул, который далее может трансформироваться до других структур (Балтаев, 2000). В результате ферментативных преобразований получают цис- и транс-изомеры сочленений колец А и В, эпимеры (соединения с  $\alpha$ ,  $\beta$  конфигурацией ОН групп). В растениях эктистероиды присутствуют в виде

хорошо растворимых в воде конъюгатов: с неорганическими кислотами – сульфаты, фосфаты; органическими (карбоновыми, жирными и фенольными) кислотами – ацетаты, бензоаты, кумараты; сахарами – глюкозиды, галактозиды, ксилозиды; с ацетоном и т.д.

$C_{27}$  эктистероиды свойственны для высших представителей растительного мира, для грибов и голосеменных характерны  $C_{28}$  аналоги, а для папоротников – соединения со структурой  $C_{29}$ . Очень редко, но встречаются  $C_{30}$  эктистероиды. В качестве продуктов распада основных эктистероидов ( $C_{27}...C_{29}$ ) могут быть вторичные  $C_{21}...C_{24}$  структурные аналоги. Наиболее распространенным эктистероидом является *ecdysterone*, в качестве дополнительного мажорного компонента в цветковых растениях находят *polypodine B* (полиподин В) и *ecdysone*; у членистоногих – *ecdysone*; в папоротниках и голосеменных – *ponasterone A*, *pterosterone* (*нтеростерон*) и *taxisterone* (*таксистерон*).

Кроме основных, все исследуемые объекты содержат в следовых количествах другие структурные аналоги и их производные (так называемые минорные эктистероиды), число которых у некоторых видов может достигать до 30–40 и более единиц. Некоторые эндемичные и редкие, а также произрастающие в специфических эколого-географических условиях виды содержат эктистероиды необычного или аномального строения, нехарактерные для большинства исследованных объектов. В 90-е годы из китайского гриба-трутовика (*Polyporus umbellatus*, Eichhase) выявлены эктистероиды с новыми структурами (*polyporusterone A...G*), в количестве 0,1–3,0 мг/кг (Ohsawa и др., 1992; Ishida и др., 1999). Из грибов *Tapinella panuoides* и *Paxillus atrotomentosus* (свинуха толстая) в этот же период получены новый тип эргостановых эктистероидов (*paxillosterone*, *atrotosterone*, *malakosterone*) и их производные (Vokac и др., 1998a; 1998b).

Ни в одном из млекопитающих видов эктистероиды не обнаружены. Искусственный синтез возможен только в отношении вторичных, биологически неактивных или малоактивных продуктов, путем химической трансформации основных эктистероидов. Чаще всего для этих целей используют *ecdysterone*. Совсем недавно открыта возможность искусственной фотохимической трансформации, при этом образуются структуры, нехарактерные для химической трансформации, в частности димеры (Harmatha и др., 2002).

Исходя из происхождения, источники получения экидистероидов принято подразделять на фито-, зоо- и микозэкидистероиды (т.е. растения, насекомые с ракообразными и нематодами, грибы). Зоозэкидистероиды, в виду чрезвычайно низких уровней содержания в членистоногих, не могут служить источниками промышленного выделения. Ценность того или иного вида растения или гриба определяется его уникальностью, складывающейся из таких показателей, как: биологическая активность, целевое предназначение, концентрация в биомассе, доступность, экономическая целесообразность.

Практикуется два способа использования экидистероидов: а) в химически изолированном виде (75–99% чистоты); б) в виде малоочищенных или неочищенных составов. Высокоочищенные составы крайне дороги и используются в основном в научных экспериментах. Если целевое предназначение экидистероидов подразумевает массовое их использование в фармацевтической промышленности, на первый план выходит задача снижения себестоимости продукта. И если потенциально полезный вид предоставляет возможность обойтись без трудоемких, многостадийных и длительных процессов экстракции, очистки и изоляции индивидуальных соединений, такой вид мог бы составить промышленный источник нового класса экидистероид содержащих фармпрепаратов. Наиболее перспективным в этой связи было бы использование в качестве исходной субстанции массовых элементов наземной биомассы с повышенным содержанием экидистероидов, не обладающих токсичностью и не требующих высокочистотных технологий переработки.

**Справочно:** Способ получения химически чистых экидистероидов состоит из последовательных операций по измельчению сырья, экстракции и упариванию экстракта, разбавлению водой, фильтровании, рекстракции гидрофобных сопутствующих веществ углеводородным растворителем, осаждению балластных соединений, экстракции фитоэкидистероидов из водного слоя с упариванием, хроматографической очистке на колонке с оксидом алюминия, упариванию элюата, селективного элюирования экидистероидов с сорбента растворителем и концентрировании полученных фракций с экидистероидами, перекристаллизации и вакуумной сушки после растворения продукта в метаноле с последующим упариванием, или же фильтрации с предварительным вымораживанием при температуре от -40 до -70° С (Ferrari и др., 1980; Маматханов, 1980;

Гродзинский и др., 1985; Шаталова и др., 1998; Пунегов и др., 1999; Володин и Володина, 2000; Shibuya и др., 2001; Dinan и др., 2001b).

### 3. Различия растений в биосинтезе

С момента первого открытия и в течение последующих 36 лет проведена большая работа по скринингу всей мировой флоры на содержание экидистероидов. Преследуются две задачи: а) обнаружение видов с максимальной концентрацией уже известных составов; б) выявление новых высокоактивных компонентов (Bathori, 2002). В этих работах используются методы, позволяющие обнаруживать очень малые концентрации. Для детектирования необходимо обладать всего лишь 25 мг образца. Порог чувствительности  $B_{II}$  биотеста составляет 10 мкг/г, РИА – 344 нг/г в экидизоновом эквиваленте (Володин, 1999; Dinan и др., 2001a). При положительных реакциях, свидетельствующих о наличии и значительной активности испытываемых составов, проводится работа по концентрированию и выделению новых соединений в химически чистом виде. Общие принципы и методы очистки, процедуры по изоляции различных классов растительных стероидов, включая экидистероиды, рассмотрены в работе (Dinan и др., 2001b). Пространственное строение и идентификация нового вещества исследуется методами ЯМР, спектрометрии, кристаллографии, пространственного моделирования и т.д.

К настоящему времени накоплен большой объем экспериментальных работ, который позволил выявить определенные закономерности по способности растений мировой флоры к синтезу экидистероидов. Dinan и др. (2001a) проанализировали распределение фитоэкидистероидов в 180 видах растений. Во всех видах, включая экидистероид-негативные растения, обнаружено богатое разнообразие аналогов экидистероидов. РИА-тестирование показало следующую картину локализации экидистероидов:

- ... в листьях – у 48% исследованных видов;
- ... в соцветиях ÷ у 33%;
- ... в корнях – у 17%;
- ... в стеблях – у 16%;
- ... в семенах – у 9%.

У большинства растений содержание экидистероидов составляет малую величину – 0,07–0,7 мкг/г, лишь у небольшой части оно

повышенное – 118–766 мкг/г. Уровни конъюгатов коррелируют с уровнем свободных экдистероидов и могут быть обнаружены после гидролиза гидролитическими ферментами (обычное содержание конъюгатов 0,2–0,5; реже – до 1,6–14,5 мкг/г). Классическое brassinosteroid содержащее растение *Arabidopsis thaliana*, а также 50 других исследованных экдистероид-негативных видов (*Allium albidum*, *Arabis arenosa*, *Acer mandchuricum*, *Betula lenta*, *Desmodium elegans* и т.д.) накапливают низкие уровни экдистероидов (в пределах от 20–150 до 600–800 пг/г и выше). Сделан вывод, что большинство или все растения имеют гены синтеза экдистероидов, даже те виды, для которых ранее считалось, что существует альтернативный путь метаболизма, как в случае brassinosteroidами, но этот путь у 95% растений не активизирован.

Volodin и др. (2002) исследовали на содержание экдистероидов 381 вид (82 семейства), произрастающих во флоре Европейского Северо-Востока России, что составляет примерно третью часть от видового разнообразия региона (<http://ib.komisc.ru/biochem/ecdysteroids>). Обнаружено присутствие их в подавляющем числе видов, но лишь 4% обладали положительным ответом в биотесте на радиоиммунную активность, куда относятся виды с высоким и умеренным содержанием. Эти данные согласуются с работами других исследователей, показывающих, что значимые концентрации экдистероидов характерны для 5–6% растений (Voigt и др., 2001).

Исходя из способности к биосинтезу экдистероидов, растительные источники условно можно подразделить на следующие группы:

- I. 1–30 г/кг (0,1–3,0%) – виды-сверхконцентраторы;
- II. 0,1–1 г/кг (0,01–0,1%) – виды с высоким содержанием;
- III. 10–100 мг/кг (0,001–0,01%) – растения с умеренным содержанием;
- IV. 0,5–10 мг/кг (0,00005–0,001%) – растения с низким содержанием;
- V. 0,1–0,5 мг/кг и ниже – виды со следовыми концентрациями.

Существующие большие различия в биосинтезе у различных видов (от наногамм до нескольких десятков грамм на 1 кг сухого вещества) определяются регуляцией экспрессии генов, которые у подавляющего числа современных растений заглушены. После синтеза, которое происходит в кончиках корней или в листьях, у однолетних видов экдистероиды концентрируются в апикальных ча-

стях, включая цветы и семена. У многолетних видов происходит перераспределение между временно развивающимися и многолетними органами в течение вегетационного периода (Adler и Grebenok, 1995). Главные компоненты – *ecdysterone*, *polypodine B*, *ecdysone*; минорные – *makisterone*, *ajugasterone*, *inokosterone*, *integristerone* и другие видоспецифичные соединения. Соотношение между ними меняется в ходе развития растения. Многие соединения найдены только в одном или немногих видах. Даже в пределах одного рода существуют большие различия в содержании. Повышенное накопление экдистероидов наблюдается у видов, изолированных пространственно и нет никакой закономерности в распределении по видам, кроме как у филогенетически близких видов, имеющих древнее единое историко-географическое происхождение.

На примере с *ecdysterone* можно проследить, что концентрирование может происходить в самых различных частях растений: 3,2% в стеблях *Diploclisia glaucescens* (сем. *Menispermaceae*); 2,3% в корнях *Cyanothis arachinoidea* (сем. *Commelinaceae*); 1,5% в семенах *Rhaponticum carthamoides* (сем. *Asteraceae*); 1,4% в коре *Vitex stickeri* (сем. *Verbenaceae*); 1,3% в листьях центрального метамера *Serratula coronata* (сем. *Asteraceae*); 1,0% в корневищах *Polypodium vulgare* (сем. *Polypodiaceae*); 0,9% в листьях *Pfaffia iresinoides* (сем. *Amaranthaceae*); 0,44% в соцветиях *R. carthamoides* (Лафон, 1998).

#### 4. Важнейшие виды

Интерес для промышленности представляют виды, характеризующиеся повышенной концентрацией исходных веществ, групповым произрастанием, высокой продуктивностью, способностью к интродукции, устойчивым и долголетним произрастанием в условиях культуры. Как было рассмотрено выше, различия в уровнях концентрации экдистероидов достигают огромных величин – 8–9 порядков. Обычное содержание экдистероидов в растительных объектах и грибах составляет очень малую величину – тысячные и сотые доли процента от сухого веса. Но встречаются растения, у которых отдельные органы в узком возрастном и вегетационном диапазоне могут концентрировать значительные количества экдистероидов. В среднем один вид-сверхконцентратор приходится на несколько тысяч других видов.

#### 4.1. Представители для получения *ponasterone A*

*Ponasterone A* может быть выделен из биологических объектов, относящихся к семействам: грибов *Paxillaceae*; папоротников *Pteridaceae*, *Osmundaceae*, *Aspidaceae*, *Schizaceae*, *Sinopteridaceae*, *Gleicheniaceae*, *Blechnaceae*; хвойных *Podocarpaceae* и *Taxaceae* (Балтаев, 2000). Многие исследователи полагают, что и некоторые другие растения могут содержать *ponasterone*, но количество его явно недостаточное, чтобы быть заслуживающим внимания.

4.1.1. *Paxillaceae* – грибы из семейства свинушковых, распространены на многих материках; сапрофиты, развивающиеся на почве или древесине. Предпочитают хвойные леса. Содержание *ponasterone* в пределах 0,003–0,005%. Другие синтезируемые ими экидистероиды – *ecdysterone*, *paxillosterone*, *atrosterone*, *malakosterone*, *turkesterone*.

*Paxillus atrotomentosus* (Fries) Fries) – свинушка толстая, встречается в средней и северной полосе России, Западной Европе. Шляпка 5–15 (30) см в диаметре. Симбиотроф, развивается на пнях и стволах сосны. Ранее считался малосъедобным грибом 4-й категории. Содержит токсичные вещества, кумулирующиеся в организме и вызывающие отравление при повторном употреблении.

*Tapinella panuoides* (*Paxillus panuoides* (Fr.) Fr.) – калифорнийский гриб, шляпка диаметром 2–7 см, обитает в хвойных лесах, одиночно или группами.

4.1.2. *Polypodiophyta* – папоротникообразные; многолетние, медленно развивающиеся травы с подземными корневищами и листьями-вайями. Число видов достигает 10–12 тысяч. Наиболее древняя группа растений, расцвет которых произошел в палеозойскую эру. Экидистероид синтезирующее семейство *Osmundaceae*, историческими корнями уходящее к первопапоротникам, представлено переходными формами от древовидных к типично травянистым растениям; *Schizaeaceae* (сем. схизейные) – древнее семейство, обладающее множеством примитивных признаков; *Gleicheniaceae* (сем. глейхениевые) – известно с карбонового периода, характеризуется сочетанием примитивных и высокоспециализированных признаков.

Папоротники распространены везде, от тропиков до высоких северных и южных широт, в разных климатических зонах. Являются субдоминантами лесных ассоциаций, произрастают в тенистых сырых лесах, на выходах скал, склонах, в трещинах скалистых

обнажений горного и субальпийского пояса. Часто предпочитают места с сильной инсоляцией, чередованием высоких и низких температур, влажных и сухих сезонов. Содержание *ponasterone A* составляет тысячные, редко сотые доли процента. Другие синтезируемые экидистероиды – *ecdysterone*, *ecdysone*, *pterosterone*, *makisterone* и т.д.

*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn – орляк обыкновенный, из сем. *Dennstaedtiaceae* (денштедтиевые). Космополит, имеет массовое распространение в умеренной зоне. Растения с длинными подземными корневищами диаметром 0,5–1,5 см, от которых приблизительно через 0,7–1 м отходят одиночные листья-вайи на длинных черешках. Размеры вай: в поперечнике 50–100 см, по длине 65–140 см. Предпочитает бедные подзолистые почвы. Встречается в светло-зеленомошных и травяных сосновых, дубово-сосновых, разреженных еловых лесах, а также в негустых светлых хвойных или березовых лесах. Разрастается на вырубках и гарях. Достигает возраста 50–60 лет. Листья разворачиваются из почек 4–15-летних корневищ. Образует клоны в несколько сот квадратных метров, которые могут расти на одном местообитании сотни и даже тысячи лет (Алексеев и др., 1988).

Ядовитое споровое растение. Большие количества его могут причинять серьезные проблемы здоровью. Токсические свойства проявляются по типу авитаминозной активности против тиамин (тиаминазоподобные соединения, расщепляющие ферментативно витамин В<sub>1</sub>). Содержит также канцерогенные кумулятивные вещества, действующие на пищеварительные органы. Токсичность передается через молоко животных. Фермент разрушается при воздействии высокой температуры в ходе переработки (Орлов и др., 1990).

*Osmunda asiatica* (Fern.) Ohwi – из сем. *Osmundaceae* (чистоусовые); распространен в Китае, Японии, Корее. Может расти на кислых, нейтральных или щелочных почвах, представленных песками, глинами и торфяниками; в полутени или в полном затенении. Часто преуспевает в большинстве сырых, омываемых потоками вод почвах, предпочитая условия среды с кислотной реакцией. Однако растения жизнеспособны и в условиях засухи и яркого освещения, при отсутствии влаги в почве. Как и множество других папоротников, может содержать канцерогенные вещества, фермент тиаминазин.

*Osmunda claytoniana* – встречается в Приморском крае, Северной Америке, Японии, Китае, Гималаях. Предпочитает влажные местообитания на лесных полянах, вблизи рек, по лесным оврагам и среди кустарников.

4.1.3. *Podocarpaceae* и *Taxaceae* – древние реликтовые семейства голосеменных; кустарники или деревья (<http://www.conifers.org>). Являются источником более 40 индивидуальных экидистероидов. *Ponasterone A* извлекается из хвои или коры, содержание достигает 0,005–0,01%, редко 0,022% (у *Podocarpus macrophyllus*). Другие синтезируемые экидистероиды – *ecdysterone*, *makisterone*, *dacryhainansterone*, *taxisterone* и т.д.

*Podocarpaceae* – сем. подокарповые; насчитывает до 173 видов и разновидностей из 16 родов (Cheng Wan-chün и др., 1978). Вечнозеленые кусты или деревья, с иглообразными или линейно-ланцетовидными листьями, расположенными спиралеобразно или мутовчато. Распространены в Юго-Восточной Азии, но большинство видов ограничены одним или несколькими островами Океании; такими, как Тасмания, Новая Зеландия, Новая Каледония, Новая Гвинея, Филиппины, Борнео. Некоторые разновидности встречаются в Индии, Китае, Африке, на Карибских островах, Мексике, Чили. Недостаточно изученное семейство, многим видам угрожает исчезновение. Значительный интерес представляют виды из рода *Dacrydium*.

*Podocarpus macrophyllus* (Thunb.) D. (*P. forrestii*, *P. chinensis*) – ногоплодник тисовый или длиннолистный, китайский, kusamaki. Вечнозеленые деревья высотой около 3,5 м, произрастающие в тени деревьев из семейства *Lauraceae* и *Fagaceae*. Хвоя узколанцетовидная, 8–12 см длиной и 0,7–1,2 см шириной. Встречаются в скалистой местности на высоте 760–1367 м (Япония, Китай, Бирма, Китай, Тайвань). В качестве разновидности может рассматриваться *Podocarpus forrestii* Craib – кустарник высотой 3–5 м, обитающий в сухих или влажных, тенистых лесах горных провинций Китая, на высоте 2400–3000 м над у.м.

*Podocarpus elatus* R. Br. ex Endlicher – сосна бурая или сосновая слива; дерево с продолговато-линейной хвоей 5–14 см длины и 0,6–1,8 см ширины. Распространен в Австралии, вблизи тропических лесов.

*Podocarpus nakaii* Hayata (*P. macrophyllus* var. *nakaii*) – дерево

среднего размера, до 60 см в диаметре. Произрастает рассеянно в широколиственных лесах в северной и центральной части Тайваня. Хвоя линейно-ланцетовидная, от темно-зеленого до серебристо-зеленого цвета, 6–8 см длиной и 0,8–1,2 см шириной.

*Dacrydium* – род дакридиум, представленный деревьями или кустами с вечнозеленой хвоей и смолистой древесиной. Распространены в гористых местностях (острова Новой Зеландии, Новой Каледонии, Фиджи, Соломоновы, Новой Гвинеи и Индонезии, Филиппинам, Таиландии). Много редких разновидностей произрастают в Японии и Китае. Древесина смолистая. Значимые виды: *Dacrydium pierrei* – содержит, кроме *ponasterone A*, редкий экидистероид *dacryhainansterone*; *Dacrydium intermedium* – содержит экидистероид *dacrysterone*.

*Dacrydium elatum* (Roxb.) Wallich ex Hook (*D. pierrei* Hickel; *D. beccarii* var. *subelatum* Corne; *D. junghuhnii* Miq; *Juniperus elata* Roxb; oak, kayan, sempilor) – вечнозеленое дерево 8–40 м высотой и до 100 см диаметре, с множеством более или менее вертикальных ответвлений и веток в виде пучков, формирующих выпуклую корону. Хвоя линейно-ланцетовидной формы, до 14 мм длиной и 0,3 мм шириной. Диапазон произрастания: Вьетнам, Лаос, Камбоджа, Таиланд, Западная часть Малайзии, Суматра, Борнео. Обитает рассеянно, главным образом в субальпийском поясе (900–1700 м над у.м.), наиболее изобилует на открытых участках. Очень вынослив, предпочитает прохладный климат, сухие песчано-гравийные горные почвы. Редкий вид, внесен в список исчезающих во Вьетнаме (под наименованием *D. pierrei*).

*Dacrydium medium* de Laubenfels – встречается в виде небольшого куста до 1 м высотой, с плотно разветвленной компактной кроной овальной формы. Хвоя остроконечно-ланцетовидная, до 20 мм длины и 0,6 мм ширины. Диапазон распространения: в горах Западной Малайзии (960–2100 м над у.м.) и Новой Суматры (1800–2600 м над у.м.); обычно на каменистых и сухих, довольно бедных почвах.

*Taxaceae* – сем. тисовые; состоит из 5 родов, 17–20 разновидностей, произрастающих главным образом в северном полушарии (Florin, 1948). Представлен одними из самых долгоживущих растений (до 2000–4000 лет). Хвоя тисовых резко отличается от других хвойных. Это вечнозеленые деревья или кусты, не смолистые и не



ароматические растения. Листья в виде простых игл, сохраняющихся в течение несколько лет. Древесина, кора, хвоя и семена ядовиты для многих видов животных и человека. Отравления сопровождаются замедлением работы сердца, гипотонией, тошнотой, болями в животе, судорогами, сильной диареей, головокружением и могут закончиться конвульсией, комой и смертью (Орлов и др., 1990).

*Taxus cuspidata* – тис остроконечный; хвойное вечнозеленое дерево высотой до 20 м, на островах Дальнего Востока в виде стланика, на севере кустарник. Редкий вид. Растет одиночно в хвойно-широколиственных лесах на высотах до 900 над у.м. Развивается медленно (15–20 см прироста в год), очень теневынослив. Ядовит, смертельная доза для разных животных составляет от 75–100 до 200–500 г хвои (Красная книга..., 1988).

*Taxus cuspidata* Siebold & Zuccarini – тис японский или дальневосточный; ichii, onko, kuaraboku. Гибрид *T. baccata* Ч *T. cuspidata* is *T. Ч media*. Дерево с пирамидальной кроной, высотой до 16 м. Некоторые разновидности (*T. cuspidata* f. *nana*) – кустарники, произрастают в горах. Листья линейные, размерами 1,5–2,5 см ? 2–3 мм. Древнее реликтовое растение. Редкий вид в большей части диапазона произрастания (Северная Корея, Китай, Монголия, Сахалин и Курилы, Япония). Встречается одиночно, по крутым и пологим горным склонам, древним террасам и склонам. Выносит большие морозы, резкие перепады освещенности и влажности.

*Taxus globosa* Schlectendal (*T. baccata* subsp. *globosa* Pilger) – тис мексиканский. Дерево или куст до 4,6 м высотой.

*Taxus canadensis* Marshall (*Taxus baccata* Linnaeus subsp. *canadensis* (Marshall) Pilger; *T. baccata* var. *minor* Michaux; *T. minor* (Michaux) Britton; *T. procumbens* Loddiges) – тис канадский или американский. Кусты высотой до 2 м, низко разветвленные, раскидистые. Хвоя размерами 1,0–2,5 см x 1,0–2,4 мм. Произрастает в Канаде, Новой Шотландии, Франции, США на высотах до 1500 м над у.м., в нижнем ярусе хвойных или смешанных лесов, по краям болот, вдоль ущелий крутых склонов и скалистых уступов.

*Taxus baccata* Linnaeus – тис европейский, английский, обычный или ягодный. Вечнозеленое хвойное дерево или кустарник до 13–20 м высотой. Реликтовое растение третичного периода, встречается на высоте 500–1200 м над у.м. Распространение от Британии до Ирана. Естественные ареалы сильно сокращены, сохраня-

ется в заповедниках Британских островов, Польше, Венгрии, Украине, на Кавказе.

#### 4.2. Представители для получения *muristerone A*

Достоверно известно про биосинтез *muristerone* только у представителей рода *Ipomoea*, относящихся к сем. *Convolvulaceae* (вьюнковые). Самый загадочный, окутанный тайной источник. С момента обнаружения (в 1972 году) опубликовано около 1,5 тысяч работ, связанных с *muristerone A*, и только в самых первых нескольких работах упоминается источник выделения (*Canonica* и др., 1972; 1975, 1977). Кроме того, номенклатура рода *Ipomoea* чрезвычайно запутана, под этими наименованиями могут подразумеваться совершенно разные растения.

4.2.1. *Ipomoea* – вьюнок пурпурный (сем. *Convolvulaceae*); растения из этого рода распространены от тропических лесов до саванн и лугов, некоторые разновидности достигают умеренных зон (<http://www.fau.edu/divdept/biology/people/convolv.htm>). По жизненной форме это вьющиеся, лазающие или тянущиеся вверх травянистые растения, имеют сердцевидные листья и воронкообразные цветы. Могут достигать высоты от 10 см до 2 м, редко 5–15 м (*Ipomoea arborescens*). Соцветия диаметром от 1 до 9–15 см. Плоды величиной до 30–40 мм. Обитают до высоты приблизительно 3000 м над у.м. Растительные части имеют молочный латекс, который может быть незаметным или очевидным. Семена содержат малые количества галлюциногенных эрголиновых алкалоидов.

*Ipomoea petaloidea* (*Merremia petaloidea* (Choisy) Burkill) – впервые описан в 1935 году. Очень редкое растение, произрастающее на склонах Гималайских гор. Источником выделения экидистероидов служат семена. В работе Ferrari и др. (1980) описана технология извлечения – из 40 кг семян получены: *makisterone A* – 10 г (0,025%), *muristerone A* – 10 г (0,025%), *crustecdysone* – 60 г (0,15%), *ecdysone* – 5 г (0,001), а также алкалоиды – 9,5 г (0,02%).

*Ipomoea hederacea* Jacquin (*Ipomoea calonyction*; seeds *kaladana*) – местами произрастания являются Индия, Доминикано, Колумбия. Содержит *muristerone A* – 0,0005%, *kaladosterone* – 0,006%, *calonysterone* – 0,0015% (Tsujii и др., 1999). По другим источникам, максимальное содержание *muristerone A* может достигать 0,15% (Лафон, 1998).

По свидетельству Austin и Нубман (1996), под названием

kaladana (секция *Pharbitis* Nil., сем. *Convolvulaceae*) в качестве синонимов могут подразумеваться семена разных растений – *Ipomoea hederacea* Jacquin, *I. avicularis* Rafinesque, *I. barbata* Roth, *I. barbiger* Sweet, *I. caerulea* Roxb., *I. carulea* Koen. in Roxb., *I. desertorum* House, *I. desertorum* House, *I. hederacea* var. *integrifolia* Hallier f., *I. phymatodes* Sprengel, *I. scabra* J.F. Gmelin, *I. scabrata* Roemer & Schultes.

Секция *Calonyction* (Choisy) р. *Ipomoea* включает описания 4 видов из Северной Америки: *Ipomoea alba* L. (*I. canonyction*, moonvine, moonflower), *I. magniflora* O'Donell, *I. santillanii* O'Donell, *I. turbinata* Lagasca у Segura. Считается, что это всего лишь небольшая часть от всех разновидностей, число которых на самом деле может достигать до 50 и более единиц.

### Литература

1. Aarnisalo P., Kim C.-H., Lee J. W., Perlmann T. Defining requirements for heterodimerization between the retinoid X receptor and the orphan nuclear receptor Nurrl // *J. Biol. Chem.*, 2002. – V. 277; Is. 38. – P. 35118-35123.

2. Adler J.H., Grebenok R.J. Biosynthesis and distribution of insect-molting hormones in plants – a review // *Lipids*, 1995; N. 30. – P. 257-262.

3. Albanese C., Reutens A. T., Bouzahzah B., Fu M., D'Amico M., Link T., Nicholson R., Depinho R. A., Pestel R. G. Sustained mammary gland-directed, ponasterone A-inducible expression in transgenic mice // *FASEB J.*, 2000; N. 14. – P. 877-884.

4. Austin D.F., Huaman Z. A synopsis of *Ipomoea* (*Convolvulaceae*) in the Americas // *Taxon*, 1996; N. 45. – P. 3-38.

5. Bassett J., Douglas K., Buskirk S., Bondarenko A. Method and system for analyzing biological response signal data. – US Patent 6,453,241. September 17, 2002.

6. Bathori M., Kalasz H., Csikkelne S.A. Mathe Components of *Serratula* species; screening for ecdysteroid and inorganic constituents of some *Serratula* plants // *Acta Pharm. Hung.*, 1999. – V. 69; N 2. – P. 72-76.

7. Butenandt A., Karlson P. Ueber die Isolierung eines metamorphosehormones der Insekten in kristallisierter Form // *Z. Naturforsch.*, 1954; N. 9b. – P. 389-391.

8. Canonica L., Danieli B., Weisz-Vincze G., Ferrari G. Structure of muristerone A, a new phytoecdysone // *Chem. Commun.*, 1972. – P. 1060-1061.

9. Canonica L., Danieli B., Ferrari G., Krepinsky J., Weisz-Vincze I. A novel method of isolation of phytoecdysones from kaladana seeds // *Phytochemistry*, 1975; N. 14. – P. 525-527.

10. Canonica L., Danieli B., Ferrari G., Krepinsky J., Haimova M. New phytoecdysones from kaladana. I. Structure of muristerone A and kaladasterone // *Gazzetta Chimica Italiana*, 1977; N. 107. – P. 123-130.

11. Carlson G. R., Cress D. E., Dhadialla T. S., Hormann R. E., Le D. P. Ligands for modulating the expression of exogenous genes via an ecdysone receptor complex. – US Patent 6,258,603. July 10, 2001.

12. Cheng Wan-чън, Fu Li-kuo, Chao Chi-son. Podocarpaceae / In: Cheng Wan-чън & Fu Li-kuo, eds. *Fl. Reipubl. Popularis Sin.*, 1978; N.7. – P. 398-422.

13. Constantino, S., Santos, R., Gisselbrecht, S., Gouilleux, F. The ecdysone inducible gene expression system: unexpected effects of muristerone A and ponasterone A on cytokine signaling in mammalian cells // *European Cytokine Network*, 2001. – V. 12; N. 2. – P. 365-367.

14. Dinan L., Savchenko T., Whiting P. On the distribution of phytoecdysteroids in plants // *Cellular and Molecular Life Sci.*, 2001a. – V. 58; N. 8. – P. 1121-1132.

15. Dinan L., Harmatha J., Lafont R. Chromatographic procedures for the isolation of plant steroids // *J Chromatogr. A*, 2001b. Nov 23. – V. 935; N. 1-2. – P. 105-123.

16. Evans R.M., Saez E. Formulations useful for modulating expression of exogenous genes in mammalian systems, and products related thereto. – US Patent 6,333,318. December 25, 2001.

17. Falkenstein E., Tillmann H.C., Christ M., Feuring M., Wehling M. Multiple actions of steroid hormones – a focus on rapid, nongenomic effects // *Pharmacol. Rev.*, 2000. – V. 52; N. 4. – P. 513-56.

18. Ferrari G. Process for the preparation of polyhydroxylated steroids, lysergol and ergolinic alkaloids. – US Patent 4,198,344. April 15, 1980.

19. Florin R. On the morphology and relationship of the *Taxaceae* // *Botanical Gazette*, 1948; N. 110. – P. 31-39.

20. Friend S. H., Stoughton R. Methods of determining protein activity levels using gene expression profiles. – US Patent 6,324,479. November 27, 2001.

21. Hampshire F., Horn D.H.S. Structure of crustecdysone, a crustacean moulting hormone // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1966. – P. 37-38.

22. Harmatha J., Dinan L., Lafont R. Biological activities of a specific ecdysteroid dimer and of selected monomeric structural analogues in the B (II) bioassay // *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2002. – V. 32; N. 2. – P. 181-185.

23. Heinrich G., Hoffmeister H. Ecdyson als Begleitsubstanz des Ecdysterons in *Polypodium vulgare* L. // *Experientia*, 1967; V. 23. – P. 995.

24. Hocks P., Wiechert R. 20-Hydroxyecdysone, isoliert aus Insekten // *Tetrahedron Lett.*, 1966; V. 26. – P. 2989-2993.

25. Hoffmeister H, Grutzmacher H.F. Zur chemie des ecdysterons // *Tetrahedron Lett.*, 1966; V. 33. – P. 4017-4023.
26. Huber R., Hoppe W. Zur chemie des ecdysons. VII. Die kristall- und molekyl-strukturanalyse des insektenverpuppung hormons ecdyson mit der automatisierten falt-molekylmethode // *Chem. Ber.*, 1965; V. 98. – P. 2403-2424.
27. Imai S., Fujioka S., Nakanishi K., Koreeda M., Karokawa T. Extraction of ponasterone A and ecdysterone from *Podocarpaceae* and related plants // *Steroids*, 1967; V. 10. – P. 557-565.
28. Ishida H., Inaoka Y., Shibatani J., Fukushima M., Tsuji K. Studies of the active substances in herbs used for hair treatment. II. Isolation of hair regrowth substances, acetosyringone and polyporusterone A and B, from *Polyporus umbellatus* Fries // *Biol. Pharm. Bull.*, 1999. – V. 22; N. 11. – P. 1189-1192.
29. Jepson I., Martinez A., Greenland A. J. Gene switch. – US Patent 6,379,945. April 30, 2002.
30. Jessee J., Ciccarone V.C. Regulated expression of recombinant proteins using RNA viruses. – US Patent 6,451,579. September 17, 2002.
31. Juliano R.L., Astriab-Fisher A., Falke D. Macromolecular therapeutics: Emerging strategies for drug discovery in the postgenome era // *Molecular Interventions*, 2001; N. 1. – P. 40-53.
32. Karlson P., Hoffmeister H., Hummel H., Hocks P., Spiteller G. Zur chemie des ecdysons. VI. Reaktionen des ecdysonmolekyls // *Chem. Ber.*, 1965; N. 98. – P. 2394-2402.
33. Kucharova S., Farkas R. Hormone nuclear receptors and their ligands: role in programmed cell death (review) // *Endocr. Regul.*, 2002. – V. 36; N. 1. – P. 37-60.
34. Lachaise F., Goudeau M., Hetru C., Kappler C., Hoffman J.A. Ecdysteroids and ovarian development in the shore crab, *Carcinus maenas* Hoppe-Seyler's // *Z. Physiol. Chem.*, 1981; N. 362. – P. 521-529.
35. McCartney J.F. Ponasterone A: a new ecdysteroid from the embryos and serum of brachyuran crustaceans // *Steroids*, 1979; N. 34. – P. 799-806.
36. Nakanishi K., Koreeda M., Sasaki S., Chang M.L., Hsu H.Y. Insect hormones. The structure of ponasterone A, an insect-moulting hormone from the leaves of *Podocarpus nakaii* Hay // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1966; V. 24. – P. 915-917.
37. Natesan S., Gilman M.Z. Compositions and methods for regulation of transcription. – US Patent 6,117,680. September 12, 2000.
38. Ohsawa T., Yukawa M., Takao C., Muruyama M., Bando H. Studies on constituents of fruit body of *Polyporus umbellatus* and their cytotoxic activity // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1992. – V. 40; N. 1. – P. 143-147.
39. Patrick C.W., Zheng B., Wu X., Gurtner G., Barlow M., Koutz C., Chang D., Schmidt M., Evans G.R. Muristerone A induced nerve growth factor release from genetically engineered human dermal fibroblasts for peripheral nerve tissue engineering // *J Tissue Eng.*, B, 2001. – V. 7; N. 3. – P. 303-311.
40. Reixach N., Lafont R., Camps F., Casas J. Biotransformations of putative phytoecdysteroid biosynthetic precursors in tissue cultures of *Polypodium vulgare* // *Eur. J. Biochem.*, 1999; N 266. – P. 608-615.
41. Rossant J., McMahon A. Meeting review «Cre»-ating mouse mutants a meeting review on conditional mouse genetics // *Genes & development*, 1999. – V. 13; N. 2. – P. 142-145.
42. Saez E., Nelson M. C., Eshelman B., Banayo E., Koder A., Cho G. J., Evans R. M. Identification of ligands and coligands for the ecdysone-regulated gene switch // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2000; N. 97. – P. 14512-14517.
43. Shibuya T., Ario T., Fukuda S. Composition. – US Patent 6,224,872. May 1, 2001.
44. Suhr S.T., Gil E.B., Senut M.-C., Gage F.H. High level transactivation by a modified *Bombyx* ecdysone receptor in mammalian cells without exogenous retinoid X receptor // *PNAS*, 1998; V. 95. – P. 7999-8004.
45. Takemoto T., Hikino Y., Yin H., Hikino H. Isolation of ponasterone A from *Taxus cuspidata* var. nana // *Yakugaku Zasshi*, 1968; N. 88. – P. 359.
46. Tsuji K., Shibata J., Okada M., Inaoka Y. Blood flow amount-improving agent comprising steroid derivative and cosmetic using same. – US Patent 5,976,515. – November 2, 1999.
47. Vegeto E., McDonnell D. P., O'Malley B. W., Schrader W. T., Tsai M.J. Mutated steroid hormone receptors, methods for their use and molecular switch for gene therapy. – US Patent 5,935,934. August 10, 1999.
48. Voigt B., Whiting P., Dinan L. The ecdysteroid agonist/antagonist and brassinosteroid-like activities of synthetic brassinosteroid/ecdyseroid hybrid molecules // *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2001. – V. 58; N. 8. – P. 1133-1140.
49. Vogtli M., Elke C., Imhof M.O. Lezzi M. High level transactivation by the ecdysone receptor complex at the core recognition motif // *Nucleic Acids Research*, 1998. – V. 26; N. 10. – P. 2407-2414.
50. Vokac K., Budesinsky M., Harmata J. New ecdysteroids from mushrooms / Communication presented at the 16th Conference on isoprenoids, 1995; Sept 17-23.
51. Vokac K., Budesinsky M., Harmatha J., Pis J. New ergostane type ecdysteroids from fungi. Ecdysteroid constituents of mushroom *Paxillus atrotomentosus* // *Tetrahedron*, 1998a. – V. 54; N. 8. – P. 1657-1666.
52. Vokac K., Budesinsky M., Harmatha J., Kohoutova J. Ecdysteroid constituents of the mushroom *Tapinella panuoides* // *Phytochemistry*, 1998b. – V. 49; N. 7. – P. 2109-2114.
53. Volodin V., Chadin I., Whiting P., Dinan L. Screening plants of European

North-East Russia for ecdysteroids // Biochemical Systematics and Ecology, 2002. – V. 30; Is. 6. – P. 525-578.

54. Wang S.F., Ayer S., Segraves W.A., Williams D.R., Raikhel A.S. Molecular determinants of differential ligand sensitivities of insect ecdysteroid receptors // Mol. Cell. Biol., 2000; N. 20. – P. 3870-3879.

55. Wolter S., Mushinski J.F., Saboori A.M., Resch K., Kracht M. Inducible expression of a constitutively active mutant of mitogen-activated protein kinase kinase 7 specifically activates c-JUN NH2-terminal protein kinase, alters expression of at least nine genes, and inhibits cell proliferation // J. Biol. Chem., 2002. – V. 277; Is. 5. – P. 3576-3584.

56. Алексеев Ю.Е., Вахрамеева М.Г., Денисова Л.В., Никитина С.В. Лесные травянистые растения: Биология и охрана. – М.: Агропромиздат, 1988. – 233 с.

57. Балтаев У.А. Фитоэктистероиды – структура, источники и пути биосинтеза в растениях // Биоорганическая химия, 2000. – Т. 26; № 12. – С. 892-925.

58. Володин В.В. Эктистероиды в интактных растениях и клеточных культурах. Автореф. дис. канд....биол. наук. – М., 1999. – 49 с.

59. Володин В.В., Володина С.О. Способ получения эктистероидов. – Патент РФ 2153346. Оpubл. 27.07.2000.

60. Гродзинский А.М., Холодова Ю.Д., Мишунин И.Ф., Богуславский В.А., Зильберс Ю.А., Кляшторная Г.В. Способ получения в-эктизона из растения рода *Serratula*. – Патент СССР 1146050. Оpubл. 23.03.85.

61. Красная книга РСФСР. – М.: Росагропромиздат, 1988. – 592 с.

62. Лафон Р. Фитоэктистероиды и мировая флора: Разнообразие, распространение, биосинтез и эволюция // Физиология растений, 1998; № 3. – С. 326-346.

63. Маматханов А.У., Шамсутдинов М.-Р., Шакиров Т.Т. Выделение эктистерона из корней *Rhaponticum carthamoides* // Химия природных соединений, 1980; № 5. – С. 528-529.

64. Орлов Б.Н., Гелашвили Д.Б., Ибрагимов А.К. Ядовитые животные и растения СССР. – М.: Высшая школа, 1990. – 272 с.

65. Пунегов В.В., Мишуров В.П., Никитина Е.Н. Способ получения эктистероидов растения рода *Serratula* а-эктизона, в-эктизона и инокостерона. – Патент РФ 2138509. Оpubл. 26.04.1999.

66. Тимофеев Н.П. Левзея сафлоровидная: Проблемы интродукции и перспективы использования в качестве биологически активных добавок / Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сб. трудов. Вып. 5. – М., РАЕН, 2001. – С. 108-134.

67. Шаталова Т.А., Оганесян Э.Т., Пшуков Ю.Г. Способ получения фитоэктизонов. – Патент РФ 2112540. Оpubл. 10.06.1998.