

# Теоретическая и прикладная ЭКОЛОГИЯ

№ 1, 2012

Журнал включён в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёных степеней доктора и кандидата наук

Учредитель журнала ООО Издательский дом «Камертон»  
Генеральный директор ООО ИД «Камертон»  
профессор Б.И. Кочуров

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

### Главный редактор

**Т.Я. Ашихмина**, д.т.н., профессор, зав. кафедрой химии Вятского государственного гуманитарного университета, зав. лабораторией биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН

### Зам. главного редактора

**В.В. Гутенёв**, д.т.н., профессор, первый зам. председателя Комитета Государственной Думы РФ по промышленности, лауреат Государственной и Правительственной премий РФ

### Зам. главного редактора

**С.В. Дёгтева**, д.б.н., директор Института биологии Коми НЦ УрО РАН

### Зам. главного редактора

**И.Г. Широких**, д.б.н., зав. лабораторией биотехнологии растений и микроорганизмов Зонального научно-исследовательского института сельского хозяйства Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого РАСХН

### Ответственный секретарь

**С.Ю. Огородникова**, к.б.н., доцент, старший научный сотрудник Института биологии Коми НЦ УрО РАН

Журнал издаётся при поддержке Департамента реализации конвенционных обязательств Министерства промышленности и торговли РФ в рамках ФЦП «Уничтожение запасов химического оружия в РФ», ФБУ «Государственный научно-исследовательский институт промышленной экологии», ФГБУ ВПО «Вятский государственный гуманитарный университет»

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере массовых коммуникаций, связи и охраны культурного наследия  
Свидетельство о регистрации ПИФ № ФС 77-29059

Подписные индексы 82027, 48482 в каталоге Агентства «Роспечать»

Зарубежная подписка оформляется через фирмы-партнёры ЗАО «МК-ПЕРИОДИКА» по адресу: 129110, г. Москва, ул. Гиляровского, 39, ЗАО «МК-Периодика».  
Тел.: (495) 281-91-37, 281-97-63. Факс (495) 281-37-98  
E-mail: info@periodicals.ru. http://www.periodicals.ru

To effect subscription it is necessary to address to one of the partners of JSC «MK-Periodica» in your country or to JSC «MK-Periodica» directly. Address: Russia, 129110, Moscow, 39, Gilyarovskiy St., JSC «MK-Periodica»

Статьи рецензируются. Переписка без разрешения редакции запрещена, ссылки на журнал при цитировании обязательны. Редакция не несёт ответственности за достоверность информации, содержащейся в рекламных объявлениях

Подготовлен к печати в издательстве ООО «О-Краткое» 610000, г. Киров, Динамовский проезд, 4, оф. 3  
Тел./факс (8332) 32-28-39. E-mail: okrat@okrat.ru  
Оригинал-макет, дизайн – Татьяна Коршунова  
Перевод – Ирина Кондакова  
Выпускающий редактор Мария Зелаева  
Директор издательства «О-Краткое» Евгений Дрогов

Подписано в печать 20.03.2012. Формат 60x84<sup>1</sup>/<sub>2</sub>. Печать офс. Бумага офс. Усл.п.л. 12,5. Тираж 1150 экз. Заказ № 1346.

Отпечатано в полном соответствии с качеством предоставленных материалов в ООО «Кировская областная типография» 610000, г. Киров, Динамовский проезд, 4

## ПРЕДСЕДАТЕЛЬ РЕДАКЦИОННЫХ СОВЕТОВ

**Н.П. Лавёров** – председатель межведомственной комиссии при Совете безопасности РФ, вице-президент РАН, академик РАН

## ПРЕЗИДИУМ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

**В.А. Грачёв** – д.т.н., профессор, член-корреспондент РАН, председатель Общественного совета Федеральной службы по экологическому, техническому и атомному надзору  
**В.И. Холстов** – д.х.н., директор Департамента реализации конвенционных обязательств Министерства промышленности и торговли РФ  
**В.Н. Чупис** – д.ф.-м.н., директор Государственного научно-исследовательского института промышленной экологии  
**В.Г. Ильницкий** – д.э.н., директор ОАО «Научно-исследовательский проектно-изыскательский институт «Кировпроект»

## ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

**В.А. Алексеев** – д.т.н., профессор Ижевского государственного университета  
**В.А. Антонов** – к.т.н., заместитель начальника экологической безопасности ВС РФ, член-корреспондент Академии геополитических проблем, профессор Академии военных наук  
**С.И. Барановский** – д.т.н., профессор, академик РЭА, заместитель председателя Общественного Совета «Росатома», председатель Российского экологического конгресса  
**Л.И. Домрачева** – д.б.н., профессор Вятской государственной сельскохозяйственной академии  
**Г.П. Дудин** – д.б.н., профессор, директор Центра инноваций Вятской государственной сельскохозяйственной академии  
**И.А. Жуйкова** – к.г.н., доцент Вятского государственного гуманитарного университета  
**Л.Л. Журавлёва** – д.т.н., заместитель директора Государственного научно-исследовательского института промышленной экологии  
**Г.М. Зенова** – д.б.н., профессор Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова  
**В.И. Измалков** – д.т.н., профессор Военной Академии Генштаба МО РФ  
**Г.Я. Кантор** – к.т.н., научный сотрудник Института биологии Коми НЦ УрО РАН  
**Б.И. Кочуров** – д.г.н., профессор, ведущий научный сотрудник Института географии РАН  
**Н.А. Киреева** – д.б.н., профессор Башкирского государственного университета  
**М. А. Куканиев** – д.х.н., член-корреспондент Академии наук Республики Таджикистан, профессор, зав. лабораторией Института химии им. В.И. Никитина АН РТ  
**В.З. Латыпова** – д.х.н., член-корреспондент Академии наук Республики Татарстан, профессор Казанского государственного университета им. В.И. Ульянова-Ленина  
**Ли Юй** – профессор, директор Института микологии Цзилинского аграрного университета, иностранный член Россельхозакадемии (КНР)  
**В.А. Малинников** – д.т.н., профессор, ректор Московского государственного университета геодезии и картографии  
**А.Г. Назаров** – д.б.н., профессор, заместитель председателя Общественного Совета «Росатома», директор экологического центра ИИЕТ РАН  
**А.Ф. Радченко** – руководитель Аппарата ФГУ Общественная палата (вице-президент ООФР «Экосфера») д.т.н., член-корреспондент РАН, профессор, президент Московского государственного университета геодезии и картографии, лётчик-космонавт, дважды Герой СССР  
**В.А. Сысуев** – д.т.н., академик Россельхозакадемии, директор Зонального научно-исследовательского института сельского хозяйства Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого  
**В.И. Теличенко** – д.т.н., профессор, академик РААСН, ректор Московского государственного строительного университета  
**Т.А. Трифонова** – д.б.н., профессор Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова  
**А.И. Фокин** – зам. председателя Комитета Государственной Думы по природным ресурсам, природопользованию и экологии  
**В. П. Шапорев** – д.т.н., профессор Национального технического университета «Харьковский промышленный институт»  
**В.Т. Юнблуд** – д.и.н., профессор, ректор Вятского государственного гуманитарного университета  
**О.В. Яковенко** – к.ф.н., заместитель начальника отдела экологии Правительства Российской Федерации

По вопросам размещения рекламы и публикации статей обращаться:  
610002, г. Киров, ул. Свободы, 122, тел./факс 8 (8332) 37-02-77.  
E-mail: ecolab2@gmail.com; ecolab@vshu.kirov.ru  
119017, г. Москва, Старомонетный пер., 29.  
Тел./факс 8(499) 129-28-31. E-mail: info@ecoregion.ru

# СОДЕРЖАНИЕ

## ФАРМАКОЛОГИЯ ПРОРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

<i>Т. Я. Ашихмина, В. В. Володин, С. И. Матаев</i> Второе Международное совещание по фитоэктистероидам (4–7 июля 2010, г. Сыктывкар, Россия) .....	4
<i>René Lafont</i> Recent progress in ecdysteroid pharmacology .....	6
<i>В. Н. Сыров, Г. А. Шахмурова, З. А. Хушбактова, Ф. Эгамова, С. О. Осипова</i> Сравнительное изучение регулирующего влияния эктистерона и ретаболила на белоксинтезирующие процессы в организме высших животных .....	13
<i>В. В. Володин, В. Н. Сыров, З. А. Хушбактова, С. О. Володина</i> Стресс-протекторное действие эктистероидсодержащей субстанции Серпистен .....	18
<i>А. Г. Кудяшева, О. Г. Шевченко, Н. Г. Загорская, Л. А. Баилькова, О. В. Раскоша, О. В. Ермакова, Л. Н. Шишкина</i> Исследование противолучевых свойств эктистероидсодержащих препаратов при хроническом облучении в малых дозах .....	24
<i>З. А. Хушбактова, А. В. Царук, В. М. Пикасов, В. Н. Сыров</i> Экспериментальная оценка действия фитоэктистероидов на процессы перекисного окисления липидов печени крыс при проведении опытов <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> .....	31
<i>A. Martins, N. Tóth, Molnár, J. Hohmann, M. Báthori, A. Hunyadi</i> Ecdysteroid derivatives as new modulators of resistance on multi-drug resistant cancer cells .....	34
<i>Л. И. Андреева, А. А. Бойкова, А. А. Быкова, В. В. Володин</i> Воздействие нового эктистероидсодержащего препарата Серпистен на поведенческую активность и формирование клеточной адаптации у крыс при тепловом стрессе .....	36
<i>Н. А. Мойсенко, Ж. Е. Иванкова, Е. Н. Репина, В. В. Володин</i> Гематопротекторное действие эктистероидсодержащей субстанции Серпистен .....	43
<i>Н. Б. Петрова, В. В. Володин</i> Антиагрегационное и стресс-лимитирующее действие эктистероидсодержащей субстанции Серпистен .....	48
<i>И. Д. Бобаев, М. Т. Алимова, Ж. М. Путиева, С. Т. Косназаров, Н. Ш. Рамазанов</i> Экспериментальное изучение иммуномодулирующего действия фитоэктистероидов <i>Silene viridiflora</i> L. ....	55
<i>Ж. И. Исламова, Н. А. Давис, В. Н. Сыров, С. О. Осипова</i> Перспективы использования препаратов, созданных на основе фитоэктистероидов, в лечении лямблиоза .....	57
<i>В. И. Ветошева, А. Е. Попов, С. О. Володина, В. В. Володин</i> Влияние Серпистена на продуктивность памяти пациентов с ограниченными изменениями коронарных сосудов мозга .....	62
<i>Л. Н. Зибарева, О. В. Волкова, Р. Лафон</i> Виды рода <i>Silene</i> L. – продуценты 26-гидроксиэктистероидов .....	65
<i>Р. А. Беляева, В. В. Володин, С. О. Володина, В. Е. Рубцова</i> Изучение дикорастущих форм <i>Serratula coronata</i> L. в условиях Республики Коми .....	73
<i>С. В. Пестов, К. Г. Уфимцев, В. В. Володин, С. О. Володина, А. Г. Донцов</i> Консортивные связи эктистероидсодержащего растения <i>Serratula coronata</i> L. (Asteraceae) .....	77
<i>Н. К. Алиева, А. М. Нигматуллаев, Н. Ш. Рамазанов, И. Д. Бобаев</i> Онтогенез растений <i>Rhaponticum integrifolium</i> C. Winkl. в условиях Кашкадаринской области Узбекистана .....	82
<i>Л. И. Алексеева, В. Н. Орлова (Филлипова), С. О. Володина</i> Влияние экзогенного ситостерина на биосинтез эктистероидов в культуре клеток <i>Ajuga reptans</i> L. ....	86
<i>И. В. Галяутдинов, Н. А. Васькина, В. Н. Одинокоев</i> Молекулярные перегруппировки оксетано-эктистероидов .....	90
<i>А. В. Помелов, Г. П. Дудин, В. Г. Мохнаткин</i> Защитное и мутагенное действие фиторегуляторов на ячмене .....	92
Важный шаг в формировании инфраструктуры эффективного использования результатов космической деятельности .....	97

## БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

## РЕСУРСЫ И ЭКОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

## БИОТЕХНОЛОГИЯ

## ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ

## АГРОЭКОЛОГИЯ

## ХРОНИКА

# CONTENTS

## PHARMACOLOGY OF NATURAL COMPOUNDS

- T. Ya. Ashikhmina, V.V. Volodin, S.I. Mataev** Ecdysteroid containing plants – sources of new adaptogens .....4
- René Lafont** Recent progress in ecdysteroid pharmacology .....6
- V.N. Syrov, G.A.Shakhmurova, Z.A. Khushbaktova, F. Egamova, S.O. Osipova** Comparative study of regulating influence of ecdysterone and retabolil on protein-synthesizing processes in higher animals .....13
- V. V. Volodin, V. N. Syrov, Z. A. Khushbaktova, S. O. Volodina** Stress-protective action of the ecdysteroid containing preparation Serpisten .....18
- A. G. Kudyasheva, O. G. Shevchenko, N. G. Zagorskaya, L. A. Bashlykova, O.V. Raskosha, O.V. Ermakova, L.N. Shishkina** The study of the anty-ray action of ecdysteroid containing preparations at chronic irradiation in lower doses .....24
- Z. A. Khyshbaktova, A. V. Tzaruk, V.M. Gukasov, V.N. Syrov** Estimation of phytoecdysteroids's effect on processes of lipid peroxidation in rat's liver in experiments *in vitro* and *in vivo* ..... 31
- A. Martins, N. Tóth, Molnár, J. Hohmann, M. Báthori, A. Hunyadi** Ecdysteroid derivatives as new modulators of resistance on multi-drug resistant cancer cells ..... 34
- L. I. Andreeva, A. A. Boykova, A. A. Bykova, V. V. Volodin** Action of the new ecdysteroid containing preparation serpisten on the behavior and cellular adaptation in rats under heat stress .....36
- N. A. Moyseenko, J. E. Ivankova, E. N. Repina, V. V. Volodin** Hematoprotective effect of ecdysteroid containing preparation Serpisten .....43
- N. B. Petrova, V. V. Volodin** Anti-aggregation and stress-limitation effect of ecdysteroid-containing preparation Serpisten .....48
- I. D. Bobaev, M. T. Alimova, Zh. M. Putieva, S. T. Kosnazarov, N. Sh. Ramazanov** Experimentatl study of immune-stimulating action of phytoecdystroids of *Silene viridiflora* L. ....55
- J. I. Islamova, N. A. Davis, V. N. Syrov, S. O. Osipova** Perspectives of use of preparations, developed on the basis of phytoecdysteroids in the treatment of giardiasis ..... 57
- V. I. Vetosheva, A. E. Popov, S.O. Volodina, V.V. Volodin** Effect of Serpisten on the memory capacity in patients with organic cerebral coronary vessels lesions .....62

## BIO-ORGANIC CHEMISTRY

- L. N. Zibareva, O. B. Volkova, R. Lafont** Species of *Silene* L. genus – sources of 26-hydroxyecdysteroids .....65

## PLANT RESOURCES AND ECOLOGY BIOTECHNOLOGY

- R. A. Belyaeva, V. V. Volodin, S. O. Volodina, V. E. Rubtsova** The study of the wild specimens of *Serratula coronata* L. in the conditions of Republic of Komi .....73
- S. V. Pestov, K. G. Ufimtsev, V. V. Volodin, S.O. Volodina, A.G. Dontsov** Insects in consortium complex of *Serratula coronata* L. in introduction condition (middle taiga zone, Komi Republic) .....77
- N. K. Alieva, A. M. Migmatullaev, N. Sh. Ramazanov, I. D. Bobaev** Ontogeny of *Rhaponticum integrifolium* C. Winkl. Growing in Kaskadarinskiy region of Uzbekistan .....82

## BIOTECHNOLOGY

- L. I. Alekseeva, V. N. Orlova, S. O. Volodina** Effect of exogenous sitosterol on the biosynthesis of ecdysteroids cell culture *Ajuga reptans* L. ....86

## CHEMICAL MODIFICATION

- I. V. Galyautdinov, N. A. Ves'kina, V. N. Odinokov** Molecular rearrangements of oxtano-ecdysteroids .....90

## AGRICULTURAL ECOLOGY

- A. V. Pomelov, G. P. Dudin, V. G. Mokhnatkin** Phytoregulators safety and mutagenic effects on barley .....92

## CHRONICLE

- The main step in forming infrastructure of utilizing cosmic activity results .....97

## ВТОРОЕ МЕЖДУНАРОДНОЕ СОВЕЩАНИЕ ПО ФИТОЭКДИСТЕРОИДАМ (4–7 июля 2010 г., Сыктывкар, Россия)

Растения синтезируют биологически активные соединения разнообразной химической природы (алкалоиды, сапонины, цианогенные гликозиды, кумарины и др.), относящиеся к специализированному обмену, функции большинства из которых до настоящего времени ещё до конца не изучены. Большой научный и практический интерес представляют исследования фитоекдистероидов, структурно идентичных или близких гормонам линьки членистоногих. Предполагается, что в растениях фитоекдистероиды выполняют экологическую функцию, участвуя во взаимоотношениях между растениями и растительными беспозвоночными и регулируя численность фитофагов. В 1996 г. в г. Сыктывкаре на базе Института биологии Коми НЦ УрО РАН было проведено Первое международное совещание по фитоекдистероидам, в котором приняли участие ведущие специалисты в этой области из России, СНГ и Западной Европы. За прошедшие годы достигнут большой прогресс в изучении фитоекдистероидов: выявлены виды растений, в которых были обнаружены новые экдистероиды, и получены знания о закономерностях распространения фитоекдистероидов в царстве растений, получены высокопродуктивные линии культур клеток экдистероидсодержащих растений, разработаны новые методы химической модификации экдистероидов и научные основы получения фитоекдистероидов из растительного сырья и клеточных культур. Углубление знаний о фитоекдистероидах и расширение сотрудничества между научными группами в России и странами ближнего и дальнего зарубежья, открытие новых перспектив использования фитоекдистероидов в медицине обусловили необходимость широкой дискуссии.

Второе международное совещание по фитоекдистероидам состоялось в Сыктывкаре (4–7 июля 2010 г.) по инициативе Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Организаторами совещания выступили также Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева (Москва) и Научный центр профилактического и лечебного питания Тюменского научного центра СО РАМН при поддержке Научного совета по биохимии РАН, Биохимиче-

ского общества при РАН, Общества биотехнологов России им. Ю. А. Овчинникова. Спонсорами совещания выступили ООО «Комбиофарм» (Сыктывкар) и ООО «Биокор» (Пенза). В состав международного программного комитета вошли д.б.н., проф. А. А. Болдырев (Москва, Россия), д.б.н., проф. В. В. Володин (Сыктывкар, Россия), докт. Л. Дайнан (Веймут, Великобритания), проф. Р. Лафон (Париж, Франция), д.м.н., проф. С. И. Матаев (Тюмень, Россия), докт. И. Мартинуссен (Тромсе, Норвегия), д.б.н., проф. А. М. Носов (Москва, Россия), д.фарм.н., проф. В. Н. Сыров (Ташкент, Узбекистан).

В совещании приняли участие 49 человек из Бразилии, Великобритании, Венгрии, Норвегии, Республики Беларусь, Республики Узбекистан, России, Франции и Чехии с 19 устными и 12 стендовыми докладами.

В ходе совещания планировалось обсудить состояние изученности фитоекдистероидов в аспектах их распространения в мировой флоре, их структурного многообразия, биосинтеза в растениях и культурах растительных клеток, химической модификации; ознакомиться с фармакологическими данными по действию фитоекдистероидов на теплокровных животных и человека, оценить перспективы использования фитоекдистероидов в медицине; определить возможные направления международного сотрудничества.

На первой научной сессии д.б.н. В. А. Мартыненко (Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар) познакомила участников совещания с ботаническими и географическими характеристиками территории Республики Коми, проф. Р. Лафон (Университет Пьера и Марии Кюри, Париж, Франция) представил современные данные о механизме действия фитоекдистероидов на млекопитающих, докт. Л. Дайнан (Веймут, Великобритания) рассмотрел экологические функции экдистероидов.

На второй сессии, посвящённой фармакологическим эффектам фитоекдистероидов, большую группу докладов составили результаты исследований Института биологии Коми НЦ УрО РАН, проведённые под руководством д.б.н., проф. В. В. Володина совместно с Институтом физиологии растений (Мо-

сква), Сыктывкарским государственным университетом, Военно-медицинской академией (Санкт-Петербург) и межрегиональным центром «Адаптоген» (Санкт-Петербург). Докладчики д.б.н. А. Г. Кудяшева, д.б.н. В. И. Прошева, доцент Н. А. Мойсеенко и другие продемонстрировали противолучевое, гематопротекторное, стресс-протекторное, нейротропное, противодиабетическое и гиполипидемическое действие экидистероидсодержащей субстанции Серпистен, разработанной коллективом лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Д.б.н. Л. И. Андреева (Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург) впервые показала возможность использования белков теплового шока в качестве биохимических маркеров для оценки адаптогенного действия фитоэкидистероидов. Большой интерес вызвали доклады проф. В.Н. Сырова, одного из создателей первого экидистероидсодержащего препарата Экидистен, и д.б.н. З.А. Хушбаковой (Институт химии растительных веществ АН РУз, Ташкент, Республика Узбекистан), д.м.н. С. О. Осиповой (НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний МЗ РУз, Ташкент). С обзором фармакологических эффектов выступил один из наиболее известных исследователей фитоэкидистероидов проф. К. Слама (Института энтомологии, Прага, Чехия). Большой интерес вызвал постерный доклад А. Хуняди (Университет Сегеда, Венгрия) «Производные экидистероидов как новые модуляторы устойчивости опухолевых клеток к лекарствам».

На третьей научной сессии, посвящённой результатам изучения биологии и экологии экидистероидсодержащих растений, с докладами выступили к.б.н. С. Н. Пестов (Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар) – «Консортивные связи серпухи венценосной», докт. Р. Пьедаж (Институт по изучению Амазонки, Манаус, Бразилия) – «Экидистероиды растений Амазонии», д.б.н., проф. А. М. Носов (Институт физиологии растений РАН, Москва) – «Вопросы биосинтеза экидистероидов в культурах растительных клеток». К.х.н. Р. Савченко (Институт нефтехимии и катализа РАН, Уфа) представила доклад «Синтез и антиоксидантная активность бис-аддукта 20-гидроксиэкидизона с аналогом витамина Е». Аспирантка Г. Жилицкая

(Институт биоорганической химии НАН Республики Беларусь, Минск) выступила с докладом «Синтез и трансформации изоксазолиновых производных экидистероидов». Большой интерес вызвала лекция профессора Ж.-П. Жиро (Университет Рене Декарта, Париж, Франция) о возможностях метода ядерного магнитного резонанса в исследовании структуры фитоэкидистероидов и их взаимодействиях с рецепторами.

В заключительной дискуссии совещания была отмечена необходимость поиска новых экидистероидсодержащих видов растений в ранее не исследованных флорах. Определена перспектива дальнейшего исследования регуляции биосинтеза экидистероидов в клеточных культурах растений в качестве альтернативного подхода к получению этих соединений биотехнологическим путем. Выявленные фармакологические эффекты фитоэкидистероидов указывают на перспективу их использования в восстановительной и спортивной медицине в качестве новых адаптогенных средств, а также средств для регуляции прежде всего липидного и углеводного обмена. Проф. С. И. Матаев и проф. В. В. Володин обозначили перспективу разработки и внедрения экидистероидсодержащих биологически активных добавок к пище для коррекции адаптивных реакций человека в условиях проживания и трудовой деятельности на Севере. В то же время участники совещания согласились с необходимостью проведения дополнительных исследований фитоэкидистероидов, чтобы подтвердить их безвредность для человека.

В настоящем номере представлены статьи по материалам докладов на данном совещании.

*Т. Я. Ашихмина,  
главный редактор журнала  
«Теоретическая и прикладная экология»,  
В. В. Володин, зам. председателя  
президиума Коми НЦ УрО РАН,  
зав. лабораторией  
биохимии и биотехнологии  
Института биологии Коми  
НЦ УрО РАН, Сыктывкар  
С. И. Матаев,  
директор научного центра  
профилактического и лечебного питания  
ТюмНЦ СО РАМН, Тюмень*

## Recent Progress in Ecdysteroid Pharmacology

© 2012. R. Lafont, professor, Dr.,

Université Pierre et Marie Curie,

e-mail: lafont.rene@wanadoo.fr, rene.lafont@snv.jussieu.fr

Фармакологические эффекты экдистероидов на млекопитающих исследуются более 40 лет. Эти исследования не учитывались западными учеными, но за последние годы ситуация значительно изменилась. Экдистероиды показывают перспективность использования в медицине и сейчас их потенциал активно изучается. В данный момент фармакологический интерес касается в основном снижения жировой массы, защиты от увеличения массы и предупреждения остеопороза. Также ведутся эксперименты по идентификации молекулярных мишеней экдистероидов у млекопитающих.

The pharmacological effects of ecdysteroids on mammals have been investigated for more than 40 years. These studies have been largely ignored by Western scientists, but over recent years the situation has dramatically changed. Ecdysteroids show great promise for human medicine, and their potential is now being actively investigated. Current pharmacological interests concern in particular the reduction of fat mass, the protection of lean mass and the prevention of osteoporosis. In addition, experiments are in progress in order to identify the molecular targets of ecdysteroids in mammals.

Ключевые слова: эдкдистероиды, фармакология, млекопитающие, мышцы, жир, гликемия

Keywords: edysteroid, pharmacology, mammal, muscle, fat, glycemia

### Introduction

Phytoecdysteroids are plant secondary metabolites structurally related to insect moulting hormones. Soon after their discovery, their use as potential insect control substances (as endocrine disruptors) was considered, and this led to toxicological studies in order to assess if these molecules were devoid of toxicity on mammals. However, although unrelated to vertebrate steroid hormones, phytoecdysteroids are able to evoke a wide range of pharmacological effects when ingested by mammals/humans. On the other hand, they are devoid of acute toxicity (LD50 > 9 g/kg per os in rats). The first studies were performed in Japan and showed stimulatory effects on protein synthesis by rat hepatocytes [1]. Soon thereafter, their interference with glucose metabolism and their hypoglycemic effects were demonstrated [2]. Further experiments showed a broad range of metabolic effects [3] among which the anabolic effects were particularly highlighted [4] and this led to the inclusion of phytoecdysteroids amongst the «adaptogenic» substances used by high-level sportsmen and bodybuilders for performance improvement [5, 6]. Most of these experiments were undertaken in Uzbekistan, Russia and Ukraine and published in the Russian language, which generated a strong barrier to their accessibility. Over recent years, several review articles have appeared [5 – 11], and active research has started in western countries, which may sometimes du-

plicate former studies, but which also extends the earlier pharmacological studies by the use of modern molecular methods. The aim of the present review is to describe and discuss these recent studies in three different areas: protein, carbohydrate and lipid metabolism. The second part will be devoted to a discussion of the possible mechanisms involved.

### 1-Effects on glucose metabolism

Most of the experiments have used 20-hydroxyecdysone (20E). The effect of 20E on glycemia was first tested by *in vivo* experiments using three mice/rat models: (1) hyperglycemia induced by glucagon injection, (2) hyperglycemia induced by alloxan injection (which is toxic for pancreatic beta-cells (the source of insulin) and mimicking type 1 diabetes), and (3) hyperglycemia induced by injection of an anti-insulin antiserum [2]. It was observed that a single injection of 20E (0,1–10 mg/kg) significantly reduced hyperglycemia, and modified several enzyme activities in the liver (which explains this hypoglycemic effect): it stimulated glycogen synthase, reduced glucose 6-phosphatase (hence the ability of liver to release glucose) and stimulated glucose 6-phosphate dehydrogenase, the first step of the pentose pathway (which suggests a higher conversion of glucose into lipids as is also the case upon insulin injection). The

hypoglycemic effects of 20E were then confirmed by many authors, and it was also observed that several plants traditionally used by diabetic people contain significant amounts of ecdysteroids, e.g. *Ajuga iva* [12], *A. turkestanica* [13] or *Achyranthes bidentata* in Japan [14].

More recently, several experiments performed with *in vitro* hepatocyte cell cultures allowed more extensive experiments to be performed [15 – 21] [1]. Chen et al. [16] showed that 20E (1-100  $\mu$ M) increased in a dose- (and time-) -dependent manner glucose consumption by insulin-resistant HepG2 cells, with a maximal effect already observed with 5  $\mu$ M 20E which is independent of insulin (Fig. 1). This effect is connected with an increase of the glucose transporter Glut-4 activity on hepatocyte membrane, probably resulting from both new enzyme production and enhanced exocytosis of the enzyme bound to endomembranes. In H4IIE hepatoma cells, Kizelsztein et al. [21] have shown that 20E action is mediated by the PI3K/Akt system: 20E stimulates PI3K, which controls the phosphorylation (activation) of Akt, then phospho-Akt stimulates the translocation of Glut-4 to cell membranes, thus enhancing glucose uptake. Simultaneously, 20E reduces the transcription of genes encoding glucose 6-phosphatase and PEPCK (phosphoenolpyruvate carboxykinase), the latter representing a key enzyme of gluconeogenesis. Finally, 20E reduced the release of glucose by hepatocytes stimulated by dexamethasone-cAMP [21]. All these data confirm the great potential of 20E for glycemia regulation as it should also be noted that 20E does not modify the normal glycemia of healthy control animals [2].

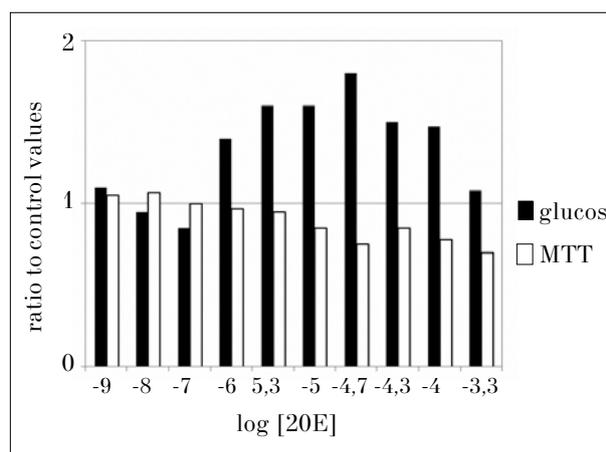
Recently, a proteomic study was engaged to identify all the genes, of which the expression is modified in HepG2 cells by 20E treatment [22] and this approach should lead to further understanding of the mechanism of action of 20E. It would certainly be of great interest to have similar data on glucose metabolism in other cell types (myocytes, adipocytes, etc.), as we know that 20E also stimulates glucose use by peripheral tissues [23], and that regular uptake of 20E increases glycogen content not only in liver, but also in heart and skeletal muscles [24].

## 2-Effects on lipid metabolism

This area is much less well documented than the previous one. The first experiments [2]) analyzed rat serum parameters (triglycerides, free fatty acids and cholesterol); they showed

that 20E-treatment did not change triglyceride content. Similarly, the low levels of free fatty acids were not changed in normal animals, but the elevated levels induced by 48-hour starvation or by alloxan-induced diabetes were rapidly lowered by 25–30% after 20E-treatment. On the other hand, daily 20E treatment over 7 days resulted in a significant decrease of cholesterol content of serum and liver, owing to both a reduced synthesis (assessed from *in vivo*  $^{14}$ C-acetate incorporation) and enhanced degradation. Enhanced cholesterol degradation and bile acid excretion was further demonstrated by Syrov et al. [25, 26] in animals previously treated with triton WR1339 (tyloxapol, a non-ionic detergent known to stimulate cholesterol synthesis in rodent liver [27]).

At the whole animal level, it is well established that 20E regular uptake favours the increase of lean mass [28, 29]. These data were further confirmed and extended by recent experiments using a diet-induced obesity model: when given a high-fat diet, mice rapidly became obese, but when simultaneously given 20E (5 or 10 mg/kg per day), they showed a much lower fat mass increase [21, 30, 31]. This effect does not result from a reduction of food intake. Reduced fat mass corresponds to a reduction of adipocyte size and not of their number, as a consequence of their reduced capacity of fatty acid uptake; at the same time, markers of tissue inflammation and the levels of cytokines involved in adipocyte differentiation/growth are much reduced [31]. A similar reduction of adiposity was observed in ovariectomized female rats receiving 20E [32, 33]. Although it is clear that fat mass develop-



**Fig. 1.** Effect of various 20E concentrations on glucose consumption by HepG2 liver cells *in vitro* [16] (drawn from the data of Chen et al., 2006a). *Solid bars:* rate of glucose uptake by hepatocytes; *open bars:* proportion of viable cells as measured by the MTT test

Table 1

Effect of a 7-day treatment of mice with 20E (5 mg/kg, daily) on muscle development (mean ± s.e.m.) [4].

Muscle type	Treatment	Muscular mass, mg	Protein content, mg
<i>M. soleus</i>	Control	51,5 ± 1,4	9,3 ± 1,1
	20E	55,6 ± 1,8*	11,9 ± 0,9
<i>M. extensor digitorum longus</i>	Control	60,7 ± 2,6	10,5 ± 1,5
	20E	67,2 ± 2,4*	15,7 ± 1,1*

\*Significantly different from control ( $p < 0,05$ ).

Table 2

Effect of a 7-day treatment of mice with 20E (5 mg/kg, daily) on swimming duration upon exhaustion (mean ± s.e.m., n = 10-12) [4].

Treatment	Body weight, g	Swimming time, % of control
Control	20,3 ± 0,2	100 ± 15
20E	20,5 ± 0,2	180 ± 22*
Training	20,3 ± 0,3	131 ± 20
20E + training	21,8 ± 0,4*	190 ± 31*

\*Significantly different from control ( $p < 0,05$ ).

ment is modified upon 20E treatment, the lack of *in vitro* studies does not allow one to conclude whether this corresponds to a direct effect of ecdysteroids on adipocytes or to a consequence of their effects on other tissues (liver, muscles etc.).

### 3-Effects on protein synthesis

The stimulatory effect of phytoecdysteroids on protein synthesis is well documented: it corresponds to a general stimulation at the translational level. This effect is rapid and reaches its maximum value 4 hours after *in vivo* 20E administration in mice, and it is observed with many ecdysteroids [1]. Interestingly, while all tested ecdysteroids (0,5 mg/kg body weight) bearing a 20,22-diol were effective, as well as rubrosterone (an ecdysteroid lacking the side-chain), ecdysone showed no activity. Japanese research mainly focused on protein synthesis in liver, but it was later shown that the stimulation of protein synthesis concerned also muscles. Thus, Chermnykh et al. [4] treated mice by daily intraperitoneal injections of 20E (5 mg/kg) and analyzed the effects on two muscle types, the *soleus* (aerobic) and the *extensor digitorum longus* (anaerobic). After 7 days of treatment, they noticed a significant increase of the weight and protein content of both muscles (Table 1). Moreover, after separation of myofibrils and sarcoplasm, they showed that the increase of protein content concerned only myofibrils. The increase of muscle mass was accompanied by significant improvement of physical performance, which took place even in the absence of training (Table 2). In addition, 20E treatment results in an increase of dietary

nitrogen retention, possibly owing to a reduction in protein catabolism [29]; whether this results from a reduction of stress (hence of glucocorticoid plasma levels) remains to be established.

Recent studies with mouse C2C12 myocyte cell lines [34] reported a similar stimulation of protein synthesis *in vitro*: the effect on [<sup>3</sup>H] leucine incorporation was dose-dependent and rapid (maximum effect was observed after 2 hours exposure) and it required only low ( $\leq 1 \mu\text{M}$ ) concentrations of 20E (Fig. 2). Several ecdysteroids were tested, among which 20E and turkesterone (11 $\alpha$ -hydroxy-20-hydroxyecdysone) were the most active, and semi-purified extracts from ecdysteroid-containing plants (spinach or *Ajuga turkestanica*) were also effective. Similar effect was observed with human skeletal muscle cells treated with 20E. Several pharmacological exper-

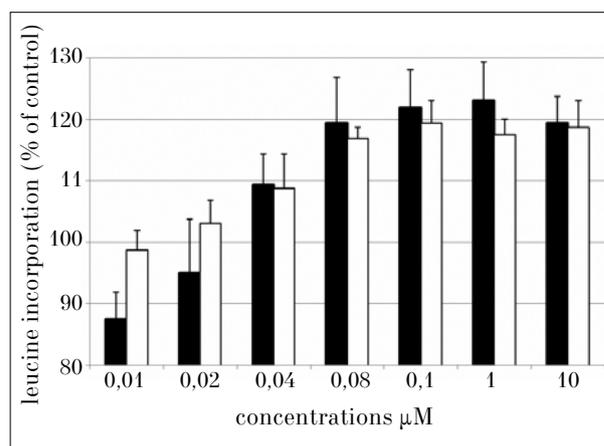


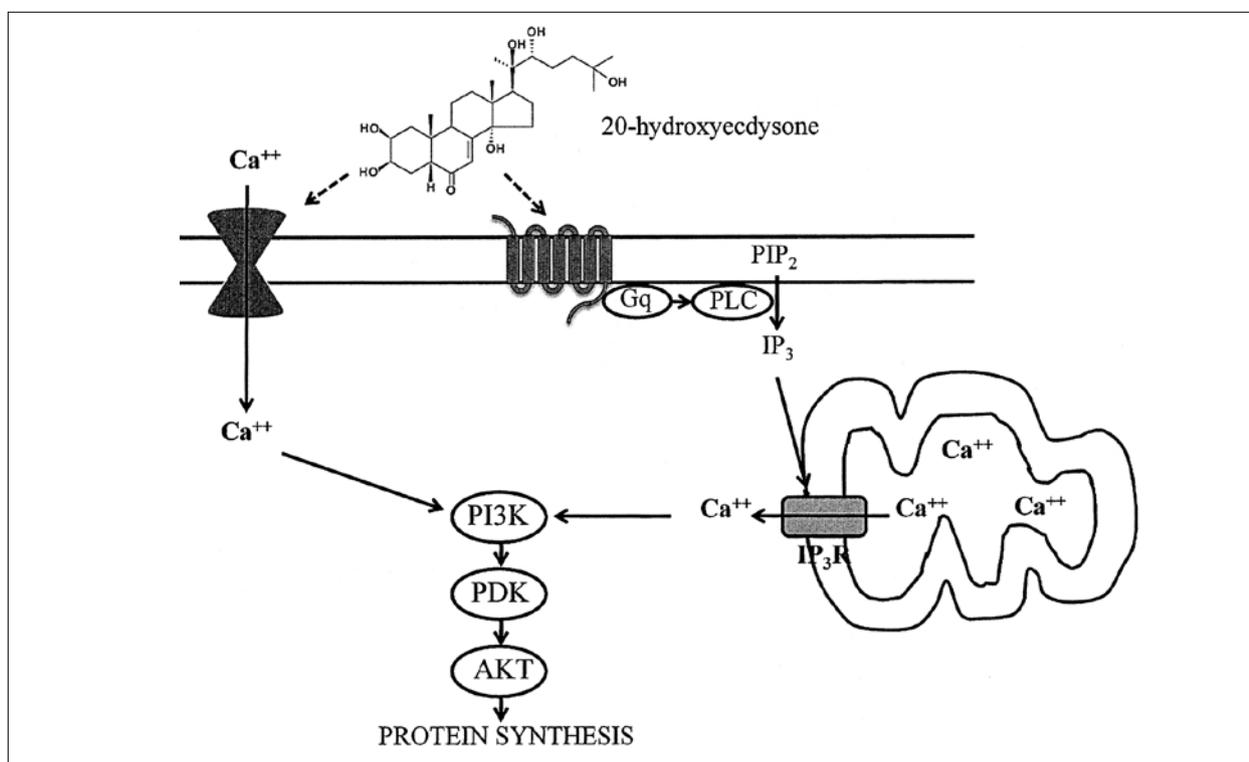
Fig. 2. Effect of two ecdysteroids on [<sup>3</sup>H]leucine incorporation into proteins by C2C12 myotubes *in vitro* [34]. Solid bars: 20-hydroxyecdysone; open bars: turkesterone

iments allowed the authors to demonstrate that the effect of 20E involved the PI3K/Akt system and calcium ions, and to propose a model for the mechanism of action involved [35] (Fig. 3). In this model, the membrane receptor(s) of 20E remains to be identified. These recent experiments included also *in vivo* studies. Gorelick-Feldman et al. [34] found an increase of rat grip strength by 18-24 % ( $p < 0,05$ ) after 28-day treatment with 20E or an equivalent spinach extract.

Tóth et al. [36] used another approach to the problem by using male Wistar rats which received subcutaneous daily injections of 20E (5 mg/kg bwt) in the left thigh over 8 days. At the end of the experiment, the treated animals showed significant ( $p < 0,001$ ) weight increase as compared to controls, the *soleus* and *extensor digitorum longus* muscles were significantly enlarged on both sides. The *soleus* muscle contains two fibre types, I and IIa, and the cross-sectional area of both types was significantly enlarged (Fig. 4). The situation was less clear-cut in the case of *extensor digitorum longus* muscle, which contains four fibre types, where types IIB and IIx predominate. Moreover, 20E increased the number of fibre nuclei, which suggests an acti-

vation of satellite cells. The same authors used also a model of regenerating muscle [37] where snake toxin (notexin, neurotoxic and myotoxic phospholipase A2 isolated from the venom of the Australian tiger snake, *Notechis scutatus*) is injected in the muscle, and this allowed them to show that 20E-treatment increases the growth rate of regenerating *soleus*, but also that the presence of a regenerating muscle modifies the response of the other muscles to 20E treatment.

From the above data, it is clear that 20E and related molecules efficiently promote muscle development and increase physical performance and endurance. In this respect they might be considered as anabolic substances. However they differ from the classical muscle promoting steroids, as they do not interfere with androgen receptors (see Section 5). Several ecdysteroid-containing medicinal plants are indeed used for improving general stamina, such as *Rhaponticum carthamoides* (Russia and Eastern Europe) and *Pfaffia paniculata* (Brazil), and many ecdysteroid-containing preparations are available for increasing muscle mass of bodybuilders. The protein synthesis promoting ability of ecdysteroids also makes them attractive for medical



**Fig. 3.** Proposed mechanisms for the stimulation of protein synthesis by 20E (redrawn from [35], modified). 20E produces an increase of free Ca<sup>2+</sup> originating both from internal stores (through the action of a membrane receptor coupled to a G protein that activates PLC) and from the extracellular space (through a calcium channel), and this activates the PI3K/AKT system, which finally results in a stimulation of protein synthesis.

AKT = protein kinase B (PKB); IP3 = inositol triphosphate; IP3R: receptor of IP3; PI3K = Phosphatidylinositol-3 Kinase; PDK = protein serine/threonine kinase 3'-Phosphoinositide-Dependent Kinase; PLC = Phospholipase C

applications, e.g. for preventing the age-related decline of muscle mass (sarcopenia).

#### 4-Effects on osteoporosis

Syrov et al. [38] observed that the treatment of rats (5 mg/kg, orally) after an experimental bone fracture was able to accelerate healing processes. This observation received little attention until recently, where several laboratories engaged in detailed studies of ecdysteroid effects on bone metabolism and particularly in the context of osteoporosis connected with ageing [32, 33, 39 – 42].

The group of Prof. Wuttke in Göttingen developed a model of ovariectomized female rat which mimics women's menopause, which is classically accompanied by osteoporosis and is often treated by hormonal substitution, which is not devoid of unwanted side-effects. They first analyzed the effects of a plant (*Tinospora cordifolia*) extract over 4 weeks and observed significant osteoprotective effect, resembling that of estrogens on bones, but without any effect on uterus and mammary glands. Analysis of the active ingredients in this extract allowed the isolation of 20E, and further experiments were made with this molecule. Daily treatment of ovariectomized rats with 20E (18-116 mg/animal) showed its strong anti-osteoporotic activity, which was independent of the estrogen receptor (it did not increase uterus weight) [33, 40]. Similar results were obtained by Dong et al. [41, 42] and He [43] using a 20E-containing extract from *Achyranthes bidentata*, another medicinal plant. Gao et al. [44] and Dong et al. [42] showed that 20E accelerates the proliferation of

bone marrow mesenchymal stem cells, and Gao et al. [45] showed that 20E induces osteogenic differentiation in the same cells, thus taken together these data provide a rational explanation for the efficient effect of 20E.

#### 5-General mechanisms of signalling

From the above data, it is clear that ecdysteroids display a lot of pharmacological effects, and the list above is far from complete, as it could include many other areas [5]. Such pleiotropic effects are not unique, and other examples are known of molecules involved in plenty of physiological processes, as e.g. vitamin D<sub>3</sub>. The metabolic fate of 20E is not fully known at the moment, but it is already established that this molecule undergoes a complex set of metabolic conversions, which might explain in part the diversity of its *in vivo* effects. On the other hand, the rapid effects of 20E observed in several *in vitro* systems are consistent with the direct activity of the unconverted molecule. Nevertheless, it would make sense to check the metabolism of the applied ecdysteroid either *in vivo* or *in vitro* in order to allow definitive conclusions to be drawn.

It is generally considered that 20E does not bind vertebrate hormone nuclear receptors [6, 32 – 34]. This applies mainly for the receptors of sex steroid hormones (estradiol, testosterone) and for the glucocorticoid receptor. In fact this situation is not so clearcut for the androgen receptor [6], and this does not necessarily apply to all 20E metabolites. When performing SAR studies, Báthori et al. [6] noticed significant binding of 20E and polypodine B (5β-OH 20E) to

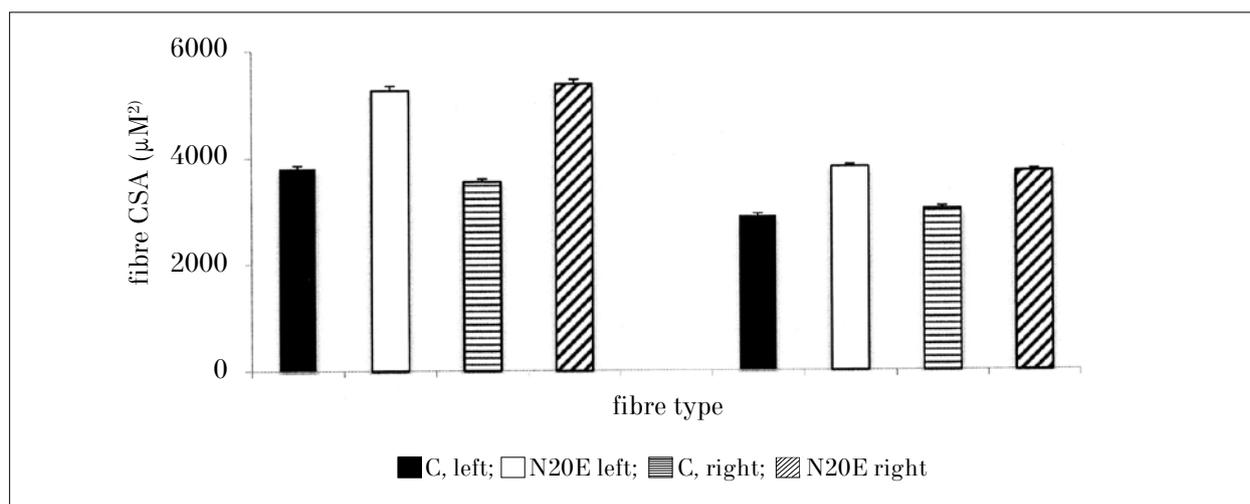


Fig. 4. Effect of 20E treatment on fibre size in the muscle soleus.

C: control animals; N20E: animals treated by 20E injections in the left thigh. Left and right muscles were analyzed at the end of the treatment and fibre cross-sectional area (CSA) was measured for each fibre type (I and IIa) [36]

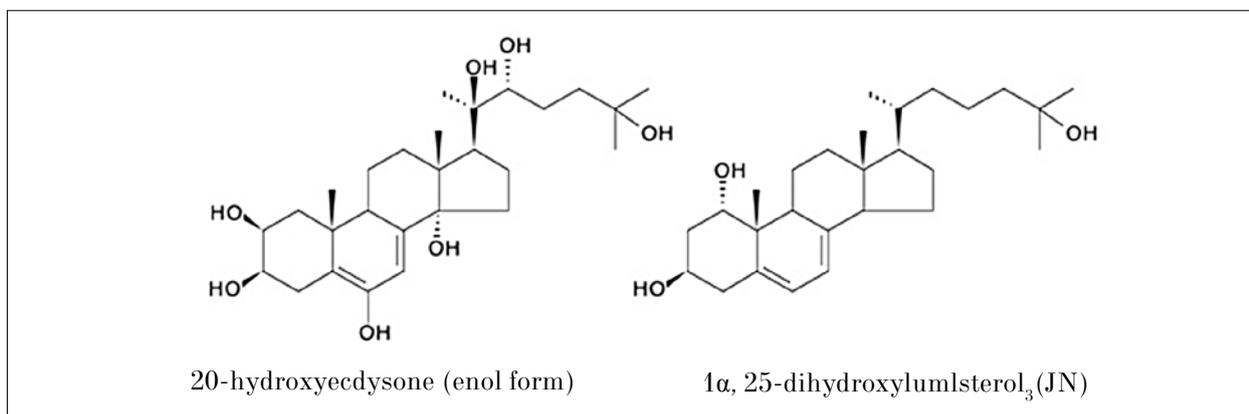


Fig. 5. Structure comparison of lumisterol, a specific ligand of the membrane vitamin D receptor and of 20E in its enol form

the androgen receptor, and a side-chain cleavage product (9,11-didehydropoststerone) showed an even higher binding affinity ( $K_d = 5,15 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ ); this finding may be relevant when considering that one of the metabolic conversions of 20E in mice is the side-chain cleavage between C20-C22, leading to poststerone. Of course there are many more nuclear receptors involved in general metabolic regulations, some of which bind bile acids or a wide array of steroids (e.g. FXR, PXR), and others for which the ligands are still unknown (e.g. ROR $\alpha$ ), and it would be worthwhile to test their ability to bind 20E (or any of its metabolites).

It is now clearly established that steroids may have rapid actions on cell membranes, and this has been demonstrated for many of them, e.g. vitamin D<sub>3</sub> [46]. The ligand specificity of these receptors differs from that of the corresponding nuclear receptors. A striking parallel has been regularly made between the effects of 20E and those of calcitriol [1,25-(OH)D<sub>3</sub>] [11, 47, 48], and it was proposed recently that 20E could bind to the non-genomic (membrane) receptor of vitamin D [11, 49]. This assumption is based on *in silico* docking studies [49] showing possible binding of 20E in its enol form (Fig. 5) to this receptor.

After binding to its putative membrane receptor(s), 20E activates/modulates a complex set of secondary messengers; as those are strongly interconnected, recorded changes concern both cyclic nucleotides, phosphoinositides, calcium ions and it is therefore difficult at the moment to decide which system is the primary target of 20E. At a later step, it is now clear that the PI3K/Akt system is involved, as previously proposed [5, 50] and confirmed by all the data presented above. The PI3K/Akt system represents a key regulator of cellular activity [50].

## Conclusions

There is a growing interest in the pharmacological effects of ecdysteroids on mammals. Their interest is not restricted to the areas described above, and it includes also anti-ageing properties, cosmetic uses, radioprotection etc., in fact the whole long list is impressive. This is illustrated by the list of recent patents included after the bibliography of this article.

Recent experiments have confirmed «old» data from Japan, Uzbekistan, Russia and Ukraine, including the similarity of the effects with those of vitamin D. These new experiments take advantage of recently available molecular tools and should allow a better understanding of the mechanisms of action of 20E and its analogues or metabolites. This could provide the basis for a forthcoming use of ecdysteroids in mammalian or human medicine.

The earlier studies suffered from a strong language barrier and the difficulty of accessing literature published in the Russian language, even though they represent more than 30 years of active research. More recently, this situation is being replicated with the proliferation of scientific articles published in Chinese, so we may hope that a systematic translation system will make those data more readily available to the scientific community.

## Bibliography

1. Uchiyama M., Otaka, T. // In (Burdette W.J., Ed.) «Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophyly». Berlin: Springer-Verlag, 1974. P. 375–400.
2. Uchiyama M., Yoshida, T. // In (Burdette W.J., Ed.) «Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophyly», Berlin: Springer-Verlag, 1974. P. 401–416.
3. Sláma K., Lafont R. // Eur. J. Entomol. 1995. V. 92. P. 355–377.

4. Chermnykh N.S., Shimanovsky N.L., Shutko G.V., Syrov V.N. // *Farmakologiya i Toksikologiya*. 1988. V. 6. P. 57–62.
5. Lafont R., Dinan L. // *J. Insect Sci.* 2003. V. 3/7. P. 1–30.
6. Báthori M., Tóth N., Hunyadi A., Márki A., Zádor E. 2008. // *Current Med. Chem.* 2008. V. 15. P. 75–91.
7. Syrov V.N. // *Pharm. Chem. J.* 2000. V. 34(4). P. 193–197.
8. Dinan L., Lafont R. // *J. Endocrinology*. 2006. V. 191(1). P. 1–8.
9. Dinan L. // *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 2009. V. 72(3). P. 126–141.
10. Smaghe G. // *Ecdysone : Structures and Functions*. Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. P. 1–583
11. Tóth N., Hunyadi A., Báthori M., Zádor E. // *Curr. Med. Chem.* 2010. V. 17. P. 1974–1994.
12. Hamden K., Ayadi F., Jamoussi K., Masmoudi H., Elfeki A. // *BioFactors*. 2008. V. 33. P. 165–175.
13. Kutepova T.A., Syrov V.N., Khushbaktova Z.A., Saatov Z. // *Pharm. Chem. J.* 2001. V. 35(11). P. 608–609.
14. Yoshida T., Otaka T., Uchiyama M., Ogawa S. 1971. // *Biochem. Pharmacol.* 1971. V. 20. P. 3263–3268.
15. Chen Q., Xia Y., Qiu Z. // *Chinese Pharmacol. Bull.* 2005. V. 21(11). P. 1358–1362.
16. Chen Q., Xia Y., Qiu Z. // *Life Sciences*. 2006. V. 78. P. 1108–1113.
17. Chen Q., Xia Y., Qiu Z. // *Zhongguo Yaolixue Tongbao*. 2006. V. 22(4). P. 460–464.
18. Chen Q., Zou D., Zhang R., Qiu Z., Xia Y. // *Shandong Medical Journal*. 2008. V. 48(4). P. 13–15.
19. Chen Q., Zhang R., Liu X., Qiu Z., Xia Y. // *Huaxi Yixue*. 2009. V. 24(7). P. 1772–1775.
20. Chen Q., Zhu Y., Zhang R., Liu X., Zou D., Qiu Z. // *Jiangsu Medical Journa.* 2009. V. 35(3). P. 311–313.
21. Kizelsztejn P., Govorko D., Komarnytsky S., Evans A., Wang Z., Cefalu W.T., Raskin I. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009. V. 296. P. E433–E439.
22. Song M., Li Y., Lai G., Qiu Z. // *Zhongguo Yaolixue Tongbao*. 2009. V. 25(12). P. 1640–1644.
23. Syrov V.N., Khushbaktova Z.A., Tashmukhamedova M.A. // *Dokl. Akad. Nauk Respubliki Uzbekistan*. 1997. (4). P. 46–49.
24. Syrov V.N., Aizikov M.I., Kurmukov A.G. // *Dokl. Akad. Nauk Respubliki Uzbekistan*. 1975. (8). P. 37–38.
25. Syrov V.N., Khushbaktova Z.A., Abzalova M.Kh., Sultanov M.B. // *Dokl. Akad. Nauk Respubliki Uzbekistan*. 1983. (9). P. 44–45.
26. Syrov V.N., Nabiev A.N., Sultanov M.B. // *Farmakologiya i Toksikologiya* 1986. V. 49(3). P. 100–103.
27. Frantz I.D., Hinkelman B.T. // *J. Exp. Med.* 1955. V. 101. P. 225–232.
28. Koudela K., Tenora J., Bajer J., Mathova A., Sláma K. // *Eur. J. Entomol.* 1995. V. 92. P. 349–354.
29. Kratky F., Opletal L., Hejhalek J., Kucharova S. // *Zivocisna Vyroba*. 1997. V. 42. P. 445–451.
30. Foucault A.-S., Lafont R., Dioh W., Fromentin G., Veillet S., Tomé D., Quignard-Boulangé A. // *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 2008. V. 22 (suppl.1). P. S103.
31. Foucault A.-S., Mathé V., Lafont R., Even P., Dioh W., Veillet S., Huneau J.-F., Tomé D., Quignard-Boulangé A. // 2010. (manuscript in preparation).
32. Seidlova-Wuttke D., Ehrhardt C., Wuttke W. // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2010. V. 119. P. 121–126.
33. Seidlova-Wuttke D., Christel D., Kapur P., Nguyen B.T., Jarry H., Wuttke W. // *Phytomedicine*. 2010. V. 17(11). P. 884–889.
34. Gorelick-Feldman J., MacLean D., Ilic N., Poulev A., Lila M.A., Raskin I. // *J. Agric. Food Chem.* 2008. V. 56. P. 3532–3537.
35. Gorelick-Feldman J., Cohick W., Raskin I. // *Steroids*. 2010. (in the press).
36. Tóth N., Szabó A., Kacsala P., Héger J., Zádor E. // *Phytomedicine*. 2008. V. 15. P. 691–698.
37. Zádor E., Szakonyi G., Rácz G., Mender L., Ver Heyen M., Lebacqz J., Dux L., Wuytack F. // *Acta Histochem.* 1998. V. 100. P. 355–369.
38. Syrov V.N., Matveev S.B., Kurmukov A.G., Islambekov U.S. // *Meditsinskii Zh. Uzbekistana*. 1986. (3). P. 67–69.
39. Kapur P., Jarry H., Wuttke W., Pereira B.M.J., Seidlova-Wuttke D. // *Maturitas*. 2008. V. 59. P. 329–338.
40. Kapur P., Wuttke W., Jarry H., Seidlova-Wuttke D. // *Phytomedicine*. 2010. V. 17. P. 350–355.
41. Dong Q.W., Chen Z.F., Chen S.Q., Sun F.Y., Hu L.P., Hong M.J., Liang C. // *Guangdong Yaoxueyuan Xuebao*. 2009. V. 25(5). P. 512–515.
42. Dong Q.W., Chen Z.F., Sun F.Y. // *Guangdong Yixue*. 2010. V. 31(1). P. 61–63.
43. He C.C., Hui R.R., Tezuka Y., Kadota S., Li J.X. // *J. Ethnopharmacol.* 2010. V. 127. P. 229–234.
44. Gao X.Y., Wang D.W., Li F.M. // *Acta Pharmaceutica Sinica*. 2000. V. 35(11). P. 868–870.
45. Gao L., Cai G., Shi X. // *Biol. Pharm. Bull.* 2008. V. 31(13). P. 2245–2249.
46. Norman A.W. // *Endocrinology*. 2006. V. 147(12). P. 5542–5548.
47. Kotsyuruba A.V., Bukchanevich O.M., Meged O.F., Tarakanov S.S., Berdyshev A.G., Tuganova A.V. // *Ukr. Biokhim. Zh.* 1999. V. 71(1). P. 27–32.
48. Sagach V.F., Korkach Iu.P., Kotsiuruba A.V., Rudyk O.V., Vavilova H.L. // *Fiziologichnyi Zh.* 2008. V. 54(4). P. 3–10.
49. Meybeck A., Yang C.R., Zhang Y.J., Salmon M., Belot N., Toussaint O., Wurtz J.M., Moras D., Ho R., Raharivelomanana P. // *Communication presented at the 17-th Ecdysone Workshop*. Germany, Ulm, 2008.
50. Constantino S., Santo R., Gisselbrecht S., Gouilleux F. // *European Cytokine Network*. 2001. V. 12. P. 365–367.
51. Brazil D.P., Hemmings B.A. // *Trends Biochem. Sci.* 2001. V. 26. P. 657–664.

**Сравнительное изучение регулирующего влияния экдистерона и ретаболила на белоксинтезирующие процессы в организме высших животных**

© 2012. В. Н. Сыров<sup>1</sup>, д.м.н., зав. лабораторией, Г. А. Шахмурова, к.б.н., доцент, З. А. Хушбактова<sup>1</sup>, д.б.н., в.н.с., Ф. Эгамова<sup>1</sup>, аспирант, С. О. Осипова<sup>2</sup>, д.м.н., зав. лабораторией,

<sup>1</sup> Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан,

<sup>2</sup> НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний МЗ Республики Узбекистан, e-mail: kh.zainab@gmail.com

Изучены в сравнительном аспекте некоторые вопросы регуляции экдистероном (гормон линьки и метаморфоза насекомых) и ретаболилом (стероидный анаболический препарат) биосинтеза белка у млекопитающих (мыши). Показано, что белково-анаболический эффект экдистерона в организме высших животных не связан с его влиянием на синтез мРНК, а является лишь отражением ускорения трансляционных процессов. Соответствующее действие ретаболила направлено прежде всего на транскрипционные процессы с последующей генерализованной стимуляцией синтеза белковых макромолекул на цитоплазматическом уровне вследствие увеличения количества и активности полирибосом.

Comparative study of some aspects of ecdysterone (hormone of molting and metamorphosis of insects) and retabolil (steroid anabolic preparation) regulation of protein biosynthesis in mammals (mice) was carried out. Protein-anabolic effect of ecdysterone in higher animals isn't related to its influence on mRNA synthesis, but it only reflects acceleration of translation processes. Analogous effect of retabolil directs first of all to transcription processes with subsequent generalized stimulation of protein macromolecules synthesis at cytoplasmic level through augmentation of amount and activity of polyribosomes.

**Ключевые слова:** экдистерон, ретаболил, биосинтез белка, высшие животные

**Keywords:** ecdysterone, retabolil, protein biosynthesis, higher animals

В настоящее время достаточно хорошо изучено регулирующее влияние экдистероидов – гормонов линьки и метаморфоза насекомых – на белоксинтезирующие процессы в их организме, связанное в основном со стимуляцией синтеза определённых белков-ферментов на уровне транскрипции, способствующих склеротизации кутикулы личинок в процессе их превращения в куколки [1 – 4]. Однако, после установления факта влияния соединений этого класса на биосинтез белка в организме млекопитающих (по интенсивности включения <sup>14</sup>C-аминокислот в белки органов некоторые из них не уступали 4-хлортестостерону и нероболу [5, 6]) большой интерес вызвало изучение механизма соответствующего эффекта. Это представлялось особенно важным в связи с тем, что высшие животные далеко отстоят от насекомых в эволюционном отношении. Они не способны к эндогенному продуцированию экдистероидов, и их обменные процессы в значительной степени подвержены лишь регулирующему влиянию собственной узкоспециализированной гормональной системы.

В качестве объекта исследования экдистероидов в этом плане нами был выбран экдистерон – 20-гидроксиэкдизон (экдистерон). С одной стороны, экдистерон является одним из основных (истинных) гормонов линьки и метаморфоза насекомых, с другой – он наиболее широко встречается среди экдистероидов, содержащихся в растениях (фитоэкдистероиды), и может попадать в организм высших животных и человека при использовании этих растений либо в качестве источника питания, либо в качестве создаваемых на их основе лекарственных средств и биологически активных добавок к пище, оказывающих анаболическое, адаптогенное и актопротекторное действие [7, 8]. В качестве препарата сравнения использовали известный анаболический стероидный препарат Ретаболил, близкий по строению и действию к гормону высших животных – тестостерону [9].

**Материалы и методы**

Экдистерон для исследований выделяли из растений *Rhaponticum integrifolium* [10]. Экди-

стерон и препарат сравнения Ретаболил вводили мышам (самцы массой 18-20 г) орально в дозах 5,0 и 10,0 мг/кг соответственно за 4 ч до начала эксперимента. В опытах с антибиотиком Д антибиотик применяли за 30 мин до введения испытуемых препаратов в дозе 2 мг/кг.

В серии опытов *in vivo* мышам за 10 мин до декапитации внутрибрюшинно вводили смесь <sup>14</sup>C-аминокислот (лейцина и валина) по 10 мкКи на мышь, после чего печень извлекали и помещали в жидкий азот. Включение <sup>14</sup>C-аминокислот в тотальные белки гомогената ткани печени и в завершённые полипептидные цепи полирибосом, а также радиоактивность кислоторастворимой фракции определяли по описанию [11, 12]. Время синтеза средней полипептидной цепи рассчитывали по методу [13]. Операции по выделению субклеточных компонентов печени проводили в холодной комнате при температуре 2–4 °С, необходимые растворы охлаждали до 0 °С на льду, готовили их на бидистиллированной воде. При выделении из печени мышей полирибосом, а также клеточного сока и определении их концентрации пользовались указаниями [14 – 17]. Функциональную активность полирибосом исследовали в бесклеточной системе синтеза белка по описанию [18], их седиментационный анализ проводили в линейном градиенте (10–50%) плотности сахарозы. На градиент наносили 5 мг полисом в объёме 0,5 мл и центрифугировали при 26000 об./мин в роторе SW-30 на препаративной ультрацентрифуге VAC-601 в течение 120 мин. После этого градиенты распределяли в пробирки по 20 капель, добавляли 2,0 мл воды и спектрофотометрировали при 260 нм [12]. Константы седиментации фракций полирибосом высчитывали, ориентируясь по 80S маркеру. 80S рибосомы получали при обработке полирибосом печени нормальных животных рибонуклеазой. Для этого к суспензии полирибосом (5 мг в 1 мл раствора), содержащей 0,0035 М MgCl<sub>2</sub>, 0,055 М KCl, 0,03 М трис-HCl буфера (pH 7,6) добавляли панкреатическую рибонуклеазу фирмы «Реанал» до конечной концентрации 2 мкг/мл, инкубировали в течение 5 мин при 37 °С и охлаждали в ледяной воде, а затем наносили на градиент. Центрифугировали параллельно с опытными пробами. Соотношение «тяжёлых» и «лёгких» полирибосом печени высчитывали условно, принимая за «тяжёлые» полирибосомы фракции с константой седиментации больше 105S. Радиоактивность образцов измеряли на сцинтилляционном счётчике Марк II (фирма «Nuclear

Chicago», США). Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Проведённые эксперименты показали, что у мышей после однократного введения как эхдистерона, так и ретаболила активность биосинтеза белка в печени заметно возрастает (в последнем случае этот процесс был более выраженным). Подсчёт радиоактивности общих белков гомогената печени показал, что включение в них <sup>14</sup>C-аминокислот у опытных мышей, получавших эхдистерон, было на 75,5%, а у получавших ретаболил – на 97,8% выше, чем в контроле (рис.). Концентрация меченых аминокислот во внутриклеточном фонде у контрольных животных, а также у получавших эхдистерон и ретаболил, практически одинакова (радиоактивность кислоторастворимой фракции ни в одном из вариантов опыта существенно не менялась). Время же синтеза полипептидной цепи, рассчитанное на основании данных специально поставленной серии экспериментов (табл. 1), уменьшается. Всё это даёт основание предположить, что более выраженная стимуляция белкового синтеза, отмеченная нами под действием обоих стероидов в организме млекопитающих, связана с возрастанием абсолютной скорости синтеза белковых макромолекул. Однако принци-

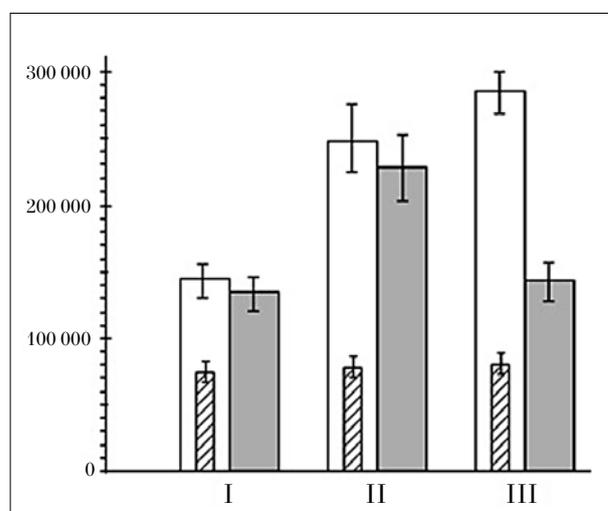


Рисунок. Радиоактивность (имп./мин./г печени) общих белков гомогената (светлые столбики – нормальные животные, тёмные столбики – предварительно обработанные актиномицином Д) и кислоторастворимой фракции (заштрихованные столбики) печени мышей в контроле (I) и после введения животным эхдистерона (II) и ретаболила (III). В каждой группе было по 6–8 животных.

Таблица 1

Влияние экдистерона и ретаболила на включение меченых аминокислот в пептиды печени мышей (n = 6-8), M ± m

Условия опыта	Радиоактивность полипептидов, имп./мин./г печени			Время синтеза полипептидов, с
	тотальные	завершенные	растущие (доля, %)	
Контроль	103241 ± 1521	97002 ± 1313	6239 (0,0604)	83,83
Экдистерон	166194 ± 1766*	160765 ± 1428*	5429 (0,0327)	46,04
Ретаболил	172052 ± 1918*	168126 ± 1535*	3926 (0,0228)	32,65

Примечание: время, прошедшее с момента введения метки до момента погружения печени в жидкий азот, которое необходимо было учитывать при определении времени синтеза средней полипептидной цепи по методу [13], в каждом конкретном случае определяли по секундомеру. В наших условиях в контроле оно равнялось 660 с, у животных, получавших экдистерон и ретаболил - 670 и 682 с соответственно.

\* – различия по сравнению с контролем достоверны при p < 0,05.

альным отличием между ними оказалось то, что этот процесс при введении мышам экдистерона не связан с включением новых генов и индукцией синтеза мРНК, так как предварительное введение актиномицина Д, избирательно блокирующего синтез ДНК-зависимых РНК в клетках животных [19], не устраняло выявленного эффекта стимуляции им белкового синтеза (рис.). При предварительном же введении животным актиномицина Д белково-анаболический эффект ретаболила почти полностью ингибировался (рис.).

Выявленные в этих экспериментах различия в механизме действия соединений из рассматриваемых двух классов стероидов в организме млекопитающих нашли своё продолжение и при выяснении вопроса о локализации их действия на отдельные компоненты белоксинтезирующей системы при проведении перекрёстных опытов с полирибосомами и клеточным соком от контрольных и опытных животных в системе in vitro, а также при анализе седиментационных профилей рибосомных структур из их печени в градиенте плотности сахарозы. Эффект экдистерона, в отличие от ретаболила, зависит главным образом от изменений, происходящих в полирибосомальном аппарате клеток печени (табл. 2). Его

действие на уровне факторов клеточного сока практически не проявлялось, стимулирующее же действие ретаболила на белоксинтезирующую систему гепатоцитов реализовывалось на обоих уровнях. Во-первых, это было видно при комбинации полирибосом из печени контрольных животных и клеточного сока из печени подопытных животных (наблюдалась достоверная активация реконструированной бесклеточной белоксинтезирующей системы только если тестировался ретаболил: включение <sup>14</sup>C-аминокислот в пептиды достоверно повышалось на 11,8%). Во-вторых, добавление к полирибосомам, выделенным из печени мышей, получавших ретаболил, соответствующего же клеточного сока вносило дополнительный заметный «вклад» в активацию белкового синтеза (радиоактивность образцов повышалась на 16,4%). В серии экспериментов нами также было установлено, что повышение функциональной активности полирибосом в клетках печени животных после введения экдистерона не сопровождается существенными изменениями их распределения в градиенте плотности сахарозы. Соотношение между транслирующим и нетранслирующим материалом у подопытных и контрольных животных оставалось в пределах одних и тех же

Таблица 2

Результаты перекрёстных опытов с фракциями контрольных и опытных белоксинтезирующих систем из печени мышей (n = 9), получавших экдистерон и ретаболил в системе in vitro, M ± m

Полирибосомная фракция	Клеточный сок	Включение <sup>14</sup> C-аминокислот в белок, имп./мин/мг полирибосом
Контрольная (из печени интактных животных)	I. Контрольный	12822 ± 392
	II. «Экдистероновый»	13166 ± 380
	III. «Ретаболиловый»	14333 ± 436*
«Экдистероновая»	IV. Контрольный	23368 ± 165*
	V. «Экдистероновый»	24053 ± 305*
«Ретаболиловая»	VI. Контрольный	26986 ± 366*
	VII. «Ретаболиловый»	*31415 ± 502**

Примечание: \* Достоверно по отношению к I (p < 0,05). \*\* Достоверно между VII и VI (p < 0,05).

Таблица 3

Содержание и соотношение «тяжёлых» и «лёгких» компонентов в полирибосомном материале из печени мышей, получавших экдистерон и ретаболил, %

Условия опыта	Материал		Соотношение
	«тяжёлый» (>105S)	«лёгкий» (80-105S)	
Интактные животные	82,4	17,6	4,68
Экдистерон	82,7	17,3	4,78
Ретаболил	89,8	10,2	8,80

величин. Под действием ретаболила это соотношение существенно возросло вследствие увеличения доли полирибосом (т.е. тяжёлого компонента >105S) и уменьшения содержания димеров и мономеров (табл. 3).

Полученные данные свидетельствуют о том, что усиление биосинтеза белка у млекопитающих (белково-анаболическое действие) [6] под влиянием экдистерона не определяется его влиянием на пути передачи генетической информации, как у насекомых [20]. Активация белкового синтеза в данном случае служит лишь отражением ускорения трансляционных процессов, по-видимому, за счёт сопряжённой стимуляции инициации трансляции и элонгации. В результате этого выявленное нами увеличение абсолютной скорости синтеза белка под влиянием экдистерона не сопровождается изменением полирибосомного профиля. В то же время регуляция биосинтеза белка в организме ретаболилом в первую очередь зависит от его активирующего влияния на транскрипционные процессы, усиления синтеза рибонуклеиновых кислот и прежде всего мРНК. В результате возрастает доля транслирующих рибосом и соответственно повышается их функциональная активность в бесклеточной системе белкового синтеза. Однако если бы эффект ретаболила определялся только усиленным синтезом мРНК, то с увеличением количества белковых молекул не должна была меняться абсолютная скорость их биосинтеза. Получив же в этом аспекте прямо противоположные результаты, можно с уверенностью сказать, что ретаболил, оказывая актиномицин Д-зависимую стимуляцию синтеза белка, существенно ускоряет и процессы трансляции через факторы клеточного сока. Не исключено, что в этом может принимать весомое участие транспортная РНК.

Таким образом, экдистероиды (экдистерон) принципиально отличаются по механизму стимуляции белоксинтезирующих процессов в организме млекопитающих и от присутствующего им эффекта в организме членистоногих [4, 2, 20], и от стероидных анаболических препаратов – синтетических аналогов мужских

половых гормонов. Действие экдистероидов (фитоэкдистероидов) в данном случае во многом аналогично действию других растительных веществ, в частности соединений, выделенных из женьшеня и элеутерококка [21], и не несёт никакой специфичности. Их эффекту у млекопитающих связан с воздействием на самые общие механизмы обменных процессов, которое может вести и к повышению функциональной активности полирибосом клетки. В результате активизируется синтез белков, характерных для данного организма, и только на фоне их генетически детерминированной индукции. Этим, на наш взгляд, объясняется тот факт, что при введении соединений из класса экдистероидов (фитоэкдистероидов) высшим животным наблюдается (в отличие от стеранаболов) гармоничное течение анаболических реакций в условиях целостного организма [6], адаптогенное действие [23], не сопровождаемое какими-либо специфическими гормональными эффектами и токсическими влияниями при их длительном применении [24].

### Литература

1. Ахрем А.А., Левина И.С., Титов Ю.А. Экдизоны – стероидные гормоны насекомых. Минск: Наука и техника, 1973. 232 с.
2. Slama K., Romanuk M., Sorm F. Insect hormones and bioanalogues. Wien–New York: Springer-Verlag, 1974. 477 p.
3. Lafont R. Ecdysteroids and related molecules in animals and plants // Arch. Insect Biochem. Physiol. 1997. V. 35. № 1-2. P. 3–20.
4. Уфимцев К.Г., Ширшова Т.И., Володин В.В. Фитоэкдистероиды – детергенты насекомых фитофагов. Екатеринбург: 2009. 89 с.
5. Okui S., Otaka T., Uchiyama M. et al. Stimulation of protein synthesis in mouse liver by insect-moulting steroids // Chem. Pharm. Bull. 1968. V. 16. № 2. P. 384–387.
6. Сыров В.Н. Сравнительное изучение анаболической активности фитоэкдистероидов и стеранаболов в эксперименте // Хим.-фарм. журн. 2000. Т. 34. № 4. С. 31–34.
7. Володин В.В., Володина С.О., Чадин И.Ф., Мартыненко В.А. Экдистероидсодержащие растения: ре-

сурсы и биотехнологическое использование. Екатеринбург 2007. 127 с.

8. Сыров В.Н. Медикаментозные средства и биологически активные добавки на основе фитоэкдистероидов (новые подходы к фармакокоррекции нарушенных метаболических процессов в организме // VII Всероссийская конференция с молодежной научной школой: Тезисы докладов. Уфа. 2009. С. 24.

9. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М. 2008. 1206 с.

10. Патент № IAP 03161, Республики Узбекистан. Способ получения экдистена / Н.Ш. Рамазанов, В.Н. Сыров, З. Саатов, М.Р. Рахматуллаев; № IAP 2004 0058; заявл. 24.02.2004; Расмий ахборотнома, 2006. № 5.

11. Абакумова О.Ю., Куденко Н.Г. Активность белоксинтезирующей системы и синтез РНК в печени и селезенке крыс при стрессе, вызванном ожоговой травмой // Вопр. мед. химии. 1976. № 6. С. 826–830.

12. О.Ю. Абакумова, Н.Г. Куденко, Н.Д. Ертанов и др. Влияние ускорений на активность белоксинтезирующей системы и синтез РНК в печени крыс // Космическая биол. 1973. № 5. С. 45–51.

13. Лейтин В.Л., Лерман В.И. Определение времени синтеза полипептидной цепи в опытах на животных // Биохимия. 1975. Т. 40. № 3. С. 513–520.

14. Olsnes S. Isolation of polysomes from rat liver. Contamination by membrane proteins with high affinity to ribosomes // Biochem. Biophys. Acta. 1971. V. 232. № 4. P. 705-716.

15. Ts'o P.O., Vinograd J. Ribosomes from reticulocytes // Biochem. Biophys. Acta. 1961. V. 49. P. 113–129.

16. Wannemacher R.W., Cooper W.K., Yatvin M.B. The regulation of protein synthesis in the liver of rats // Biochem. J. 1968. V. 107. № 5. P. 615–623.

17. Букринская А.Г., Жданов В.М. Субклеточные системы в вирусологии. М.: Медицина, 1973. 239 с.

18. Угарова Т.Ю., Свиткин Ю.В., Гиневская В.А., Агол В.И. Выделение и трансляция в бесклеточной системе матрично-активной РНК из цитоплазмы клеток асцитной карциномы Кребс-11 // Докл. АН СССР. Сер. Биол. 1973. Т. 211. № 4. С. 996–999.

19. Лейтин В.Л., Подобед О.В., Лерман М.И. Образование полирибосом в цитоплазме животных клеток: кинетика процесса и характеристика цитоплазматических предшественников полирибосом // Биохимия. 1972. Т. 37. № 1. С. 65–80.

20. Siegel J.G., Fristrom J.W. Effect of  $\beta$ -ecdysone on protein synthesis in imaginal discs of *Drosophilla melanogaster* cultured in vitro. II. Effects on synthesis in specific cell fractions // Develop. Biol. 1974. V. 41. № 2. P. 314–330.

21. Дардымов Н.В. Женьшень, элеутерококк (к механизму биологического действия). М.: Наука, 1976. 184 с.

22. Сыров В.Н. Об адаптогенных свойствах фитоэкдистероидов // Докл. АН Руз. 1996. № 11. С. 61–64.

23. Ашрафова Р.А., Сыров В.Н. Общее действие, токсичность и изменения микроструктуры внутренних органов и тканей экспериментальных животных при длительном введении экдистерона // Фармакология природных соединений. Ташкент. 1979. С. 147–153.

**Стресс-протекторное действие  
экдистероидсодержащей субстанции серпистен**

© 2012. В.В. Володин<sup>1</sup>, д.б.н., зав. лабораторией, В.Н. Сыров<sup>2</sup>, д.м.н., зав. лабораторией,  
З.А. Хушбактова<sup>2</sup>, д.б.н., в.н.с., С.О. Володина<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

<sup>2</sup>Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова

Академии наук Республики Узбекистан,

e-mail: volodin@ib.komisc.ru

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

Stress-protective action of ecdysteroid-containing preparation Serpisten is studied on different experimental models. On the model of immobilization stress in rats Serpisten prevented adrenal hypertrophy, as well as decrease in their stockpiles of ascorbic acid and cholesterol, significantly protected the thymus and spleen of involution, prevented decrease in liver weight and had a pronounced tendency to normalize it in glycogen content and malonic dialdehyde, significantly impaired trophic disorders in the gastric mucosa. In swimming experiments Serpisten prevented changes in the adrenal mass, showing clear trend towards normalization in the content of ascorbic acid and cholesterol, restrain reduction of weight of thymus gland and spleen masses. Serpisten reduced the effects of stressing factors on the animals through their ability to normalize catabolic character of metabolism. Serpisten looks better than Eleutherococcus extract on its ability to adapt the organism to the adverse effects.

Ключевые слова: фитоэкдистероиды, серпистен, иммобилизационный стресс, адаптация

Keywords: phytoecdysteroids, Serpisten, immobilized stress, adaptation

В настоящее время возрастает интерес к использованию адаптогенных лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище в гериатрии, восстановительной медицине и спорте. Активные исследования в этой области проводились в Советском Союзе еще в 60–70-х годах XX в., когда были достигнуты значительные результаты по разработке адаптогенных средств из растений российского Дальнего Востока и Сибири: женьшеня – *Panax ginseng* С.А. Mey., аралии высокой – *Aralia elata* (Miq.) Seem., элеутерококка колючего – *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim., заманихи высокой – *Oplopanax elatus* Nakai, лимонника китайского – *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill., а также родиолы розовой – *Rhodiola rosea* L. и левзеи сафлоровидной (= рапонтикум сафлоровидный) – *Leusea carthamoides* (Willd.) DC.

(= *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjij), действующими началами которых были вещества различной природы: тритерпеновые гликозиды, гликозиды коричневого спирта, лигнаны и экдистероиды. В конце 80-х годов в СССР был зарегистрирован первый экдистероидсодержащий препарат Экдистен, содержащий очищенный 20-гидроксиэкдизон (20E) из корневищ левзеи сафлоровидной, который был рекомендован в качестве тонизирующего средства при астенических и астенодепрессивных состояниях, сопровождающихся ослаблением процессов белкового синтеза, длительных инфекциях и интоксикациях, неврастении, неврозах и гипотонии, у спортсменов во время интенсивных тренировок при дисфункции сердечно-сосудистой системы, особенно с выраженными признаками перенапряжения миокарда и усилением белкового катаболизма.

ма в период подготовки к соревнованиям [4]. Разработка препарата, основывалась, главным образом, на ярко выраженном анаболическом и актопротекторном действии 20E.

Результаты многолетнего скрининга растений на содержание экидистероидов, проведенные в лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН, послужили основой для более глубоких биохимических, биотехнологических и фармакологических исследований растений рода *Serratula* L. (сем. Asteraceae), в частности, серпухи венценосной *Serratula coronata* L. Ранее было установлено [2], что в надземной части растений, находящихся в фазе бутонизации и начала цветения, содержание 20E составляет около 1,0% в пересчете на сухую массу, что на порядок выше, чем в корневищах рапontiкума сафлоровидного. Было также показано, что кроме 20E, являющегося основой препарата Экистен из корневищ рапontiкума, в серпухе венценосной содержится другой мажорный экидистероид – 25S-инокостерон (11% суммы экидистероидов), отличающийся от 20E положением одной гидроксильной группы в боковой цепи. Несмотря на то, что существует принципиальная возможность разделения этих двух соединений хроматографическими методами, при разработке экидистероидсодержащей субстанции из надземной части серпухи венценосной представлялось целесообразным стандартизировать в качестве субстанции смесь экидистероидов 20E и инокостерона в соотношении, характерном для нативных растений, на которую получен товарный знак «Серпистен». Использование альтернативного растительного сырья надземной части серпухи венценосной вместо подземных органов рапontiкума сафлоровидного, новая технология выделения фитоэкидистероидов и наличие в листьях серпухи венценосной дополнительного компонента инокостерона потребовали дополнительных фармакологических исследований, в результате которых была показана безвредность Серпистена и выявлены следующие виды специфической активности: высокий уровень актопротекторного и тонизирующего действия, выраженное гипополипидемическое, гипогликемическое, противолучевое, гематопротекторное и нейротропное действие [3 – 8].

Способность Серпистена вызвать позитивные метаболические изменения у интактных животных и животных с разнообразными нарушениями в отдельных обменных процессах навела на мысль о возможности его использования

для нормализации всего симптомокомплекса негативных сдвигов, возникающих в организме под воздействием многих дестабилизирующих факторов как общестрессирующего характера, так и относительно избирательно поражающих отдельные органы и системы. Одной из первых в этом отношении наше внимание привлекла возможность влияния Серпистена на течение реакции напряжения (стресс), играющей существенную роль в жизнедеятельности живых существ, описанной Г. Селье еще в 1936 г. [9]. Однако рассматривая эту тему, нужно иметь в виду, что само по себе состояние стресса является одним из защитных приспособительных механизмов организма на любое сильное раздражение, проявляющееся внешне так называемым общим адаптационным синдромом [9, 10], который отражает перестройку его защитных систем (изменение деятельности центральной нервной системы и эндокринных желез, метаболических процессов) [11]. Высказано предположение, что общим адаптационным синдромом, выраженным одинаково на первом этапе заболевания, характеризуется начало многих патологических состояний независимо от характера этиологического фактора. При этом важно отметить, что устойчивая адаптация достигается не всегда. При достаточно мощных по силе и длительности воздействующих экстремальных факторах не происходит перехода адаптивного процесса в стадию относительной резистентности с нормализацией признаков напряжения, а формируется стадия истощения, характеризующаяся серьезными нарушениями гормонального баланса и тканевого обмена веществ. В результате стрессовая реакция организма из неспецифического звена адаптации может превратиться в общее неспецифическое звено патогенеза, способствуя развитию целого ряда болезненных проявлений [11 – 13]. Все это говорит о том, что защитный характер стресса весьма относителен и во многих случаях нуждается в фитофармакологической коррекции. В этом случае удавшиеся эксперименты по «исправлению» или дополнению при помощи Серпистена собственных попыток организма посредством перестройки метаболизма в органах и тканях бороться с выраженным стрессирующим воздействием имели бы большое значение с практической точки зрения.

Эксперименты в этом направлении были выполнены на крысах-самцах массой 130-140 г. Общую стресс-реакцию у них вызывали иммобилизацией в положении на спине в течение 16 ч. Серпистен в дозе 10 мг/кг вводили внутрь (в виде водной эмульсии с аравийской каме-

дью) сразу после фиксации животных. Препаратом сравнения в данном случае был экстракт элеутерококка жидкий, вводимый аналогично Серпистену в дозе 0,2 мл/100 г массы тела, проявляющий в соответствующих экспериментах способность адаптировать организм животных к стрессирующему воздействию [12]. Перед применением из жидкого экстракта элеутерококка удаляли спирт выпариванием на водяной бане до 1/3 и добавляли дистиллированную воду до получения первоначального объема. Контрольные животные получали адекватное количество водной эмульсии аравийской камеди. Оценку эффективности Серпистена проводили по степени предотвращения им изменений массы тела, надпочечников, тимуса, селезенки и печени, наблюдаемых при стрессе [11]. Кроме того, в надпочечниках определяли содержание аскорбиновой кислоты и холестерина [14] (в первом случае использовали левый, во втором – правый надпочечник), в печени – содержание гликогена [15] и малонового диальдегида (МДА) [16]. В желудке крыс подсчитывали число образовавшихся изъязвлений. В сыворотке крови животных определяли уровень глюкозы [17] и мочевины [18].

В ряде опытов стрессорное воздействие на организм воспроизводили, подвергая крыс принудительному плаванию (без груза). В этом случае помимо вышеописанных показателей в мышечной ткани животных (*m. tibialis anterior*) определяли содержание молочной и пировиноградной кислот (МК и ПВК) [19, 20], адениннуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ) [21] и креатинфосфата (КФ) [22]. По ранее опубликованным методикам рассчитывали окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) системы МК–ПВК [23] и энергетический заряд [24]. Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента.

В проведенных исследованиях было установлено, что в случае, когда стресс вызывался у крыс фиксацией их в положении на спине в течение 16 ч, развивалась достаточно характерная картина реакции напряжения [12]. По отношению к интактным животным относительная масса надпочечников увеличивалась на 28,6% при одновременном падении содержания аскорбиновой кислоты и холестерина на 47,4 и 42,6% соответственно, масса тимуса и селезенки уменьшалась на 36,6 и 45,3% соответственно, в желудке выявлены отчетливые изъязвления. Масса печени также заметно уменьшалась, в ней наблюдались падение

содержания гликогена (на 45,6%) и заметная активация перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует повышение МДА (на 67,2%) в органе. В сыворотке крови стрессированных животных выявлено повышенное содержание мочевины и глюкозы – на 75,7 и 54,5% соответственно. Общая масса животных при этом уменьшалась на 16,5%. Все изменения носили достоверный характер.

Серпистен (табл. 1) препятствовал гипертрофии надпочечников, а также уменьшению в них запасов аскорбиновой кислоты и холестерина, достоверно защищал тимус и селезенку от инволюции, препятствовал резкому уменьшению массы печени и оказывал выраженную тенденцию к нормализации в ней содержания гликогена и МДА. Серпистен значительно ослаблял и трофические нарушения в слизистой желудка, достоверно уменьшая количество кровотокающих изъязвлений. Содержание мочевины в сыворотке крови крыс, получавших Серпистен, было на 27,2, а глюкозы – на 24,6% ниже, чем в контроле ( $p < 0,05$ ). Кроме того, следует отметить, что у крыс, получавших Серпистен, потеря в общей массе тела составила всего 7,2%. Серпистен превосходил по своей эффективности в приведенных экспериментах известное адаптогенное средство – экстракт элеутерококка [12].

В дополнительно проведенной серии экспериментов было показано, что наблюдаемые при введении Серпистена изменения в стадии тревоги свидетельствуют о благоприятной перестройке в приспособительной деятельности организма. При этом животных помещали в такие условия, когда в одном опыте можно было сопоставить способность Серпистена и препарата сравнения изменять ход течения алармной реакции и собственно их адаптогенное действие. Так, крыс, которым за 1 ч до начала эксперимента вводили Серпистен, помещали наряду с контрольными животными в ванну с водой ( $t=27^\circ\text{C}$ ). По истечении 5 ч часть из них была извлечена и забита, а остальные животные продолжали плавать до гибели. То есть в условиях этого опыта была применена и дозированная нагрузка, дающая возможность определить влияние Серпистена на характерные для стресса изменения, и нагрузка до гибели, позволяющая оценить его адаптогенное действие. Плавание животных в течение 5 ч оказалось вполне достаточным, чтобы вызвать существенные изменения в организме, характерные для стресс-реакции (табл. 1). Прежде всего, у этих животных как и при длительной их иммобилизации отмечалась чет-

Таблица 1

Влияние Серпистана на некоторые проявления реакции напряжения у крыс в разных условиях опыта (M ± m, n = 8)

Параметр	Интактные животные	Стресс		
		Контроль	Серпистен	Экстракт элеутерококка
16-часовая иммобилизация в положении на спине				
Масса органа, мг/100 г массы тела				
надпочечники	22,4 ± 1,1	28,8 ± 1,2*	23,0 ± 1,2**	25,6 ± 1,5
тимус	273 ± 17,1	173 ± 10,6*	236 ± 4,8**	*213 ± 6,5**
селезёнка	662 ± 33,6	362 ± 11,8*	502 ± 18,4***	*418 ± 13,9**
печень	5365 ± 184	3877 ± 194*	4928 ± 182,2**	4335 ± 155*
Содержание, мг %				
аскорбиновая кислота надпочечников	380 ± 19,1	200 ± 16,8*	*320 ± 13,6**	*248 ± 11,0**
холестерин надпочечников	2772 ± 199	1592 ± 165*	2386 ± 86,2**	1858 ± 84*
гликоген печени	2109 ± 60,0	1147 ± 49,7*	1910 ± 84,2**	*1483 ± 80,4**
малоновый диальдегид печени, нмоль/мг белка	0,451 ± 0,02	0,754 ± 0,06*	0,498 ± 0,03**	0,657 ± 0,04*
Количество изъязвлений в желудке	Нет	2,10 ± 0,61	0,60 ± 0,30**	0,90 ± 0,29
Дозированное плавание в течение 5 ч				
Масса органа, мг/100 г массы тела				
надпочечники	21,2 ± 0,9	26,2 ± 0,8*	22,4 ± 0,8**	23,5 ± 0,7**
тимус	259 ± 13,2	182 ± 8,5*	232 ± 10,4**	*213 ± 9,5**
селезёнка	654 ± 24,5	582 ± 17,4*	632 ± 22,8	610 ± 23,4
Содержание, мг %				
аскорбиновая кислота надпочечников	360 ± 14,3	223 ± 12,6*	310 ± 16,8***	*271 ± 6,9**
холестерин надпочечников	2700 ± 144	1692 ± 128*	2368 ± 90,4**	*2061 ± 88,2**

Примечание: здесь и далее: достоверность различий (p < 0.05) с показателями интактных животных (\*) и контролем (\*\*).

кая гипертрофия надпочечников с падением в них содержания аскорбиновой кислоты и холестерина (по отношению к животным, не подвергавшимся плаванию и находившимся в течение 5 ч в обычных условиях вивария). Выявлялась и заметная инволюция тимиколимфатической системы, хотя и не столь выраженная, как в случае иммобилизационного стресса. Кроме того, такое многопрофильное стрессорное воздействие (длительное нахождение в несвойственной организму среде) вынуждает животных отчаянно бороться за выживание, что сопровождается активацией реакций, ведущих к значительному расходованию пластических и энергетических ресурсов в организме, о чем убедительно свидетельствуют данные, полученные нами при анализе биохимических показателей (табл. 2). Установлено, что пятчасовое плавание крыс сопровождалось уменьшением (на 46,6%) в скелетной мышце содержания резервных углеводов, резким увеличением (на 161,8%) соотношения МК/ПВК, уменьшением (на 12,4 мВ) окислительно-восстановительного потенциа-

ла (ОВП) МК/ПВК. Все это свидетельствовало о серьезных нарушениях углеводного обмена, ухудшении аэробных процессов окисления. Непосредственным подтверждением этому было и выявленное нами значительное снижение содержания в мышце макроэргических фосфорных соединений и уменьшение величины энергетического заряда (табл. 2).

Серпистен аналогично экстракту элеутерококка, но в более выраженной степени препятствовал изменениям в массе надпочечников, проявляя при этом четкую тенденцию к нормализации в них содержания аскорбиновой кислоты и холестерина, сдерживал уменьшение массы вилочковой железы и массы селезенки (табл. 1). В мышечной ткани крыс, получавших Серпистен, гликогена было на 49,4% больше, чем в контроле, а содержание ПВК – на 21,3 выше, МК – на 17,9% ниже, чем в контроле. Полученные данные свидетельствовали о значительно меньшей степени анаэробноза в данной случае, на что указывали и характерные изменения ОВП МК/ПВК. Анализ метаболитов энергетического обмена

**Таблица 2**  
**Влияние Серпистена и экстракта элеутерококка на некоторые показатели углеводного и энергетического обмена в мышечной ткани крыс**  
 после завершения пятичасового плавания ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )

Условия опыта	Исследуемый показатель										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Интактные животные	510,2±20,6	68,2±2,4	1,9±0,08	35,8±1,6	-251,7	4,98±0,16	3,12±0,09	1,52±0,09	9,62±0,18	0,68±0,006	11,8±0,54
Стресс											
контроль	208,9±18,5*	110,6±3,9*	1,22±0,05*	90,6±6,1*	-264,1	2,48±0,06*	2,56±0,14*	2,15±0,13*	7,19±0,14*	0,53±0,008*	6,7±0,29*
Серпистен	*312,2±11,2**	*90,8±4,8**	*1,48±0,02**	*61,4±3,5**	-258,9	*3,94±0,18**	2,80±0,07	1,49±0,05**	*8,23±0,20**	*0,65±0,006**	*8,6±0,34**
экстракт элеутерококка	239,5±14,1*	*96,5±3,0**	*1,37±0,03**	*70,4±2,6**	-260,7	2,75±0,08*	2,68±0,08*	*1,80±0,05**	7,23±0,12*	*0,57±0,005**	*7,6±0,16**

Примечание: 1-3 – содержание гликогена, молочной (МК) и пировиноградной (ПВК) кислот, мг%; 4 – МК/ПВК, 5 – окислительно-восстановительный потенциал МК/ПВК, мВ, 6-8 – АТФ, АДФ и АМФ, ммМ/г; 9 – сумма аденин-нуклеотидов; 10 – энергетический заряд; 11 – креатинфосфат, ммМ/г.

в мышце на фоне введения крысам Серпистена после завершения пятичасового плавания показал большую сохранность фонда АТФ и КФ, а также большую величину энергетического заряда.

Те же животные, которых оставили плавать до гибели и у которых естественным было предполагать такие же соотношения в функциональном состоянии и биохимических изменениях коры надпочечников и других органов и систем, под влиянием Серпистена плавали заметно дольше (эффект составлял 18,2%,  $p < 0,05$ ), чем контрольные. Экстракт элеутерококка увеличивал время плавания животных до гибели только на 8,4 %. Полученные результаты опытов показывают, что изменения, достигаемые во время стадии тревоги, происходят одновременно с адаптогенным действием Серпистена. Это может однозначно свидетельствовать о том, что наблюдающаяся перестройка приспособительной деятельности под действием Серпистена является благоприятной для организма.

Таким образом, Серпистен уменьшает последствия стрессирующего воздействия на организм животных за счет способности регулировать обмен веществ при его катаболической направленности. По своей возможности адаптировать организм к неблагоприятным воздействиям Серпистен выглядит предпочтительнее экстракта элеутерококка.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке программы президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № 12-П-4-1023: «Научные основы создания адаптогенных и геропротекторных средств растительного происхождения»).*

### Литература

1. Куракина И.О., Булаев В.М. Эджистен – тонизирующее средство в таблетках по 0,005 г // Новые лекарственные препараты. М. 1990. Вып. 6. С. 16–18.
2. В.В. Володин, В.Г. Лукша, Л. Дайнан и др. Инокостерон и макистерон А из *Serratula coronata* // Физиология растений. 1998. Т. 45. № 3. С. 378–382.
3. Фитоэджистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.
4. Патент № 2276991, Россия, МПК А61К 36/28, А61Р 43/00. Тонизирующее и актопротекторное средство «Серпистен» / В.В. Володин, С.О. Володина, Л.Д. Пчеленко; Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; № 2005103372/15; заявл. 09.02.2005; опублик. 27.05.2006. Бюл. № 15.

5. Патент № 2337701, Россия, МПК А61К 36/28. Гиполипидемическое и противоишемическое средство / В.В. Володин, С.О. Володина; ООО «Комбибиофарм»; № 2007104250/15; заявл. 06.02.2007; опублик. 10.11.2008. Бюл. № 31.
6. Патент № 2337698, Россия, МПК А61К 36/28. Противодиабетическое средство для лечения сахарного диабета II типа / В.В. Володин, С.О. Володина; ООО «Комбибиофарм»; № 2007104249/15; заявл. 06.02.2007; опублик. 10.11.2008. Бюл. № 31.
7. Патент № 2326672, Россия МПК С2, А61К 31/565 А61Р 39/00. Противолучевое средство / А.Г. Кудяшева, В.В. Володин, С.О. Володина и др.; Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; № 2006108965/15; заявл. 21.03.2006; опублик. 20.06.2008. Бюл. № 17.
8. Вислобоков А.И., Володин В.В., Игнатов Ю.Д. и др. Влияние эджистероидсодержащей субстанции из серпухи венценовой *Serratula coronata* L. на трансмембранные ионные токи нейронов моллюска // Эксперим. клиническая фармакол., 2006. Т. 69. № 6. С. 9–12.
9. Selye H. A syndrome produced by divers nocuous agents // Nature. 1936. V. 3479. P. 32-40.
10. Selye H. The stress of life. N.Y. 1956. 325 p.
11. Меерсон Ф.З. Адаптация. Стресс и профилактика. М.: Наука, 1981. 280 с.
12. Брехман Н.И. Элеутерококк. Л.: Наука, 1968. 188 с.
13. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984. 270 с.
14. Яичникова А.С. О характере изменения функциональной деятельности коры надпочечников под влиянием экзогенного инсулина // Проблемы эндокринологии, 1973. № 2. С. 67–71.
15. Lo S., Russell J.C., Taylor A.W. Determination of glycogen in small tissue samples // J. Appl. Physiol. 1970. V. 28. № 2. P. 234–236.
16. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. С. 66–68.
17. Каракашов А.В., Вичев Е.П. Микрометоды в клинической лаборатории. София: Медицина и физкультура, 1968. 256 с.
18. Гасанов С.Г. Модификация нового метода количественного определения мочевины крови, предложенного Б.А. Рашкованом // Лабораторное дело. 1961. № 8. С. 8–11.
19. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 368 с.
20. Friedmann F., Hangen G.E. Pyruvic acid. II. The determination of keto acids in blood and urine // J. Biol. Chem. 1944. V. 147. P. 415–442.

21. Векстерн Т.В., Баев А.А. Нуклеотидный состав ядерных эритроцитов // Биохимия. 1957. Т. 22. № 6. С. 1043–1055.

22. Ennor A.H., Rosenberg H. The determination and distribution of phosphocreatine in animal tissues // Biochem. J. 1952. V. 51. P. 606–610.

23. Райскина М.Е., Онищенко Н.А., Шаргородский Б.М. и др. Методы прижизненного исследования метаболизма сердца. М.: Медицина, 1970. 264 с.

24. Atkinson D.E. The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers // Biochem. 1968. V. 7. № 11. P. 4030–4034.

УДК 599:539.1.047

## Исследование противолучевых свойств экидистероидсодержащих препаратов при хроническом облучении в малых дозах

© 2012. А. Г. Кудяшева<sup>1</sup>, д.б.н., зав. лабораторией, О. Г. Шевченко<sup>1</sup>, к.б.н., н.с., Н. Г. Загорская<sup>1</sup>, н.с., Л. А. Башлыкова<sup>1</sup>, к.б.н., с.н.с., О. В. Раскоша<sup>1</sup>, к.б.н., н.с., О. В. Ермакова<sup>1</sup>, д.б.н., в.н.с., Л. Н. Шишкина<sup>2</sup>, д.х.н., зав. лабораторией,

<sup>1</sup>Институт биологии Коми научного центра Урального отделения РАН,

<sup>2</sup>Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,

e-mail: kud@ib.komisc.ru

Изучены противолучевые свойства экидистероидсодержащего препарата Серпистен и инокостерона при использовании их до и после хронического воздействия гамма-излучения в малой дозе 22,6 сГр. Показано, что радиозащитный эффект зависит от дозы препарата и времени применения (терапевтически/профилактически). Использование Серпистена в дозе 50 мг/кг после действия облучения приводит к нормализации фосфолипидной компоненты клеточных мембран печени и эритроцитов, кортикостероидной функции надпочечников, значительно снижает мутагенный эффект. Инокостерон в дозе 5 мг/кг проявляет противолучевые свойства при воздействии гамма-излучения в малой дозе и при определенной схеме введения препарата приводит к нормализации показателей состояния перекисного окисления липидов в тканях облученных животных. Совместное действие инокостерона в дозах 5 и 15 мг/кг с облучением достоверно снижает мутагенный эффект хронического облучения соматических и половых клеток.

Anti-ray properties of the ecdysteroid containing preparation Serpisten and inokosterone when used before and after chronic exposure to  $\gamma$ -radiation at a lower dose of 22,6 cG are studied. It is showed that radioprotective effect depends on the dose and duration of course (therapeutic / prophylactic). Using Serpisten in a dose of 50 mg/kg after the irradiation leads to normalization of the phospholipid component of cell membranes of liver and red blood cells, corticosteroid function of adrenal glands, reduces the mutagenic effect. Inokosterone at a dose of 5mg/kg shows anti-ray properties when exposed to  $\gamma$ -radiation in small doses and with a certain scheme of administration leads to normalization of the status of lipid peroxidation in the tissues of irradiated animals. Inokosterone in doses of 5 and 15 mg/kg significantly reduces the mutagenic effects of radiation on the somatic and germ cells.

**Ключевые слова:** экидистероидсодержащие соединения, гамма-облучение, малые дозы, лабораторные мыши, биохимические, цитогенетические, морфологические показатели

**Keywords:** ecdysteroids, Serpisten,  $\gamma$ -irradiation, low doses, laboratory mice, biochemical, cytogenetic, morphological parameters

В настоящее время является актуальным защита населения, проживающего на загрязнённых радиоактивных территориях в связи с глобальным загрязнением окружающей среды, а также поиск и изучение препаратов растительного происхождения, обладающих адаптогенными и радиопротекторными свойствами в области малых доз облучения [1 – 4]. Исследование радиопротекторного действия фитоэкидстероидов в составе Серпистена пред-

ставляет интерес в связи с существованием положительной корреляции между радиозащитной активностью и способностью адаптогенов повышать общую неспецифическую резистентность организма [5].

По современным представлениям именно активация антиоксидантных систем, процессов репарации ДНК и регуляция апоптоза являются основными механизмами формирования неспецифического адаптивного ответа

универсальной защитной реакции любых организмов, обеспечивающей их устойчивость в неадекватных условиях среды [6 – 8]. Совокупность полученных экспериментальных данных и анализ литературы свидетельствуют об участии экидистероидов в регуляции различных систем организма и позволяют предположить, что биологическая активность этих природных соединений обусловлена воздействием на нейрогуморальные механизмы, параметры физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов и генетические показатели в тканях животных.

Цель работы заключалась в изучении биологического действия фитоэкидистероидов в условиях хронического облучения животных в малых дозах.

### Материалы и методы

Эксперименты проводили весной на самцах белых беспородных мышей. Всего в экспериментах было использовано 250 животных. Мыши находились в гамма-поле, образованном двумя источниками  $^{226}\text{Ra}$ , в течение одного месяца. Мощность дозы облучения составляла 40 мР/ч, суммарная поглощённая доза – в среднем 22,6 сГр. В первых двух экспериментах в течение 10 дней после облучения (терапевтически) либо в течение 10 дней до начала облучения (профилактически) животным заменяли питьевую воду раствором препарата. Дозы препаратов составили 5 и 50 мг/кг для Серпистана и 5 мг/кг – для инокостерона с учетом массы животных и объема потребляемой ими жидкости за 10 дней. В третьем эксперименте животным заменяли воду раствором инокостерона непосредственно в период облучения. Суммарные дозы инокостерона составляли 5 и 15 мг/кг массы тела за 10 сут.

Изучали состояние процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ): состав фосфолипидов (ФЛ) в печени, эритроцитах, ТБК-активные продукты, активность каталазы в печени, общую пероксидазную активность в крови, обобщенные показатели липидного обмена; морфофункциональные показатели органов эндокринной системы: морфологию коры надпочечников и щитовидной железы, содержание гормонов в надпочечниках: кортикостерона, 11-дегидрокортикостерона, альдостерона; цитогенетические параметры: частоту микроядер (МЯ), митотический индекс (МИ) в клетках костного мозга, частоту аномальных головок спермиев (АГС). Используемые методы подробно описаны нами ранее [9 – 11].

Для оценки цитогенетической эффективности исследуемых препаратов на половые и соматические клетки животных были использованы два экспресс-метода. Уровень аномалий спермиев и микроядерный тест использовали как критерий чувствительности организмов к мутагенам [12]. Для анализа частоты хромосомных аберраций в соматических клетках проведен микроядерный тест на клетках костного мозга [13]. Нарушения в половых клетках оценивали по уровню АГС [14].

### Результаты и обсуждение

В первом эксперименте с Серпистаном хроническое низкоинтенсивное облучение животных привело к резкому увеличению суммарного содержания ФЛ в липидах эритроцитов крови, а также доли лизоформ ФЛ (ЛФХ) в ФЛ эритроцитов. При этом в печени облучённых животных достоверных изменений по сравнению с контролем по этим показателям не отмечали [15]. Более выраженные изменения в составе ФЛ эритроцитов по сравнению с липидами других изученных тканей (печень, головной мозг, селезёнка) обусловлены тем, что липиды эритроцитов крови интактных животных всегда обладают прооксидантной активностью и, как правило, содержат пероксиды [16]. Гамма-облучение вызвало двукратный подъем доли кардиолипина и фосфатидной кислоты (КЛ+ФК) в ФЛ как эритроцитов крови, так и печени мышей [15]. Возрастание количества фосфатидной кислоты в ФЛ эритроцитов может быть связано с активацией фосфолипаз С и D. Наличие кардиолипина в составе ФЛ эритроцитов связано с гетерогенностью популяции клеток эритроидного ряда и присутствием в ней ретикулоцитов, и рост доли КЛ в ФЛ эритроцитов вследствие облучения может быть обусловлен ускоренным выходом в кровяное русло незрелых форм (ретикулоцитов), что действительно имеет место при радиационном воздействии в малых дозах [11, 17, 18]. Хроническое облучение привело к повышению (в 2,5 раза) частоты микроядер в клетках костного мозга мышей, уровня АГС (табл. 1).

Действие собственно Серпистана приводит к расширению сетчатой зоны в надпочечниках, свидетельствующему об усиленной продукции стероидных гормонов. Они участвуют в обеспечении адаптации организма, повышают его стрессоустойчивость и предотвращают развитие ряда патологий (рис. 1). При совместном действии Серпистана и храни-

Таблица 1

Эффекты действия Серпистена и ионизирующего излучения на цитогенетические параметры

Вариант эксперимента	Костный мозг, ‰			Спермии, ‰	
	∑ клеток	частота клеток с микроядрами	индекс митотический	∑ клеток	доля аномальных головок
Контроль	26000	5,0 (26)	3,0 (8)	13500	2,34 (27)
Серпистен, мг/кг					
5	8000	5,0 (8)	2,9 (8)	2500	2,0 (5)
50	8000	7,1* (8)	3,3 (8)	4000	2,95 (8)
Облучение	7000	12,9* (8)	4,3* (7)	4000	4,16* (8)
Серпистен, мг/кг + облучение					
5	8000	12,6* (8)	2,3* (8)	4000	*3,65 ** (8)
50	8000	6,0 (8)	2,5* (8)	3500	*3,46** (7)
Облучение + Серпистен, мг/кг					
5	7000	4,6 (8)	3,6 (7)	5000	*3,2** (10)
50	9000	6,7 (8)	4,8 (9)	4000	*1,82** (8)

Примечание: различия с контролем (\*) и отличия от эффекта хронического облучения (\*\*) достоверны при  $p < 0,05$ . В скобках указано число исследованных животных.

ческого низкоинтенсивного гамма-излучения наблюдаемый эффект в значительной степени зависел как от дозы вещества, так и от времени его поступления в организм (в профилактическом или терапевтическом режимах).

Анализ биохимических данных показывает значительное возрастание доли сфингомиелина (СМ) в ФЛ эритроцитов крови во всех вариантах эксперимента, а в ФЛ печени – только при профилактическом использовании Серпистена в дозе 5 мг/кг. Доля ФЛ в составе общих липидов в большинстве вариантов опыта не отличалась от контрольных зна-

чений. Однако при совместном действии препарата и облучения эффект оказался более выраженным (рис. 2А). Содержание лизоформ в ФЛ печени облучённых животных, получавших Серпистен (независимо от схемы применения), достоверно не отличалось от контрольных показателей. В липидах эритроцитов использование Серпистена в дозе 5 мг/кг только в терапевтическом режиме привело к нормализации данного показателя, в дозе 50 мг/кг – уменьшило содержание лизоформ до следовых количеств. В большинстве вариантов опыта применение Серпистена способ-

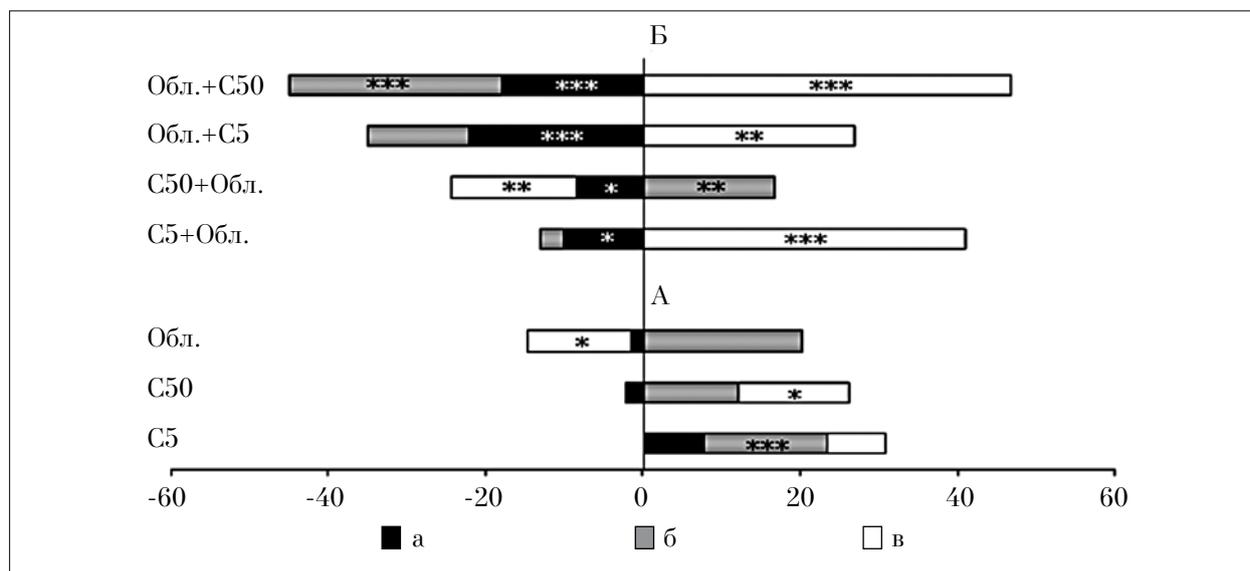
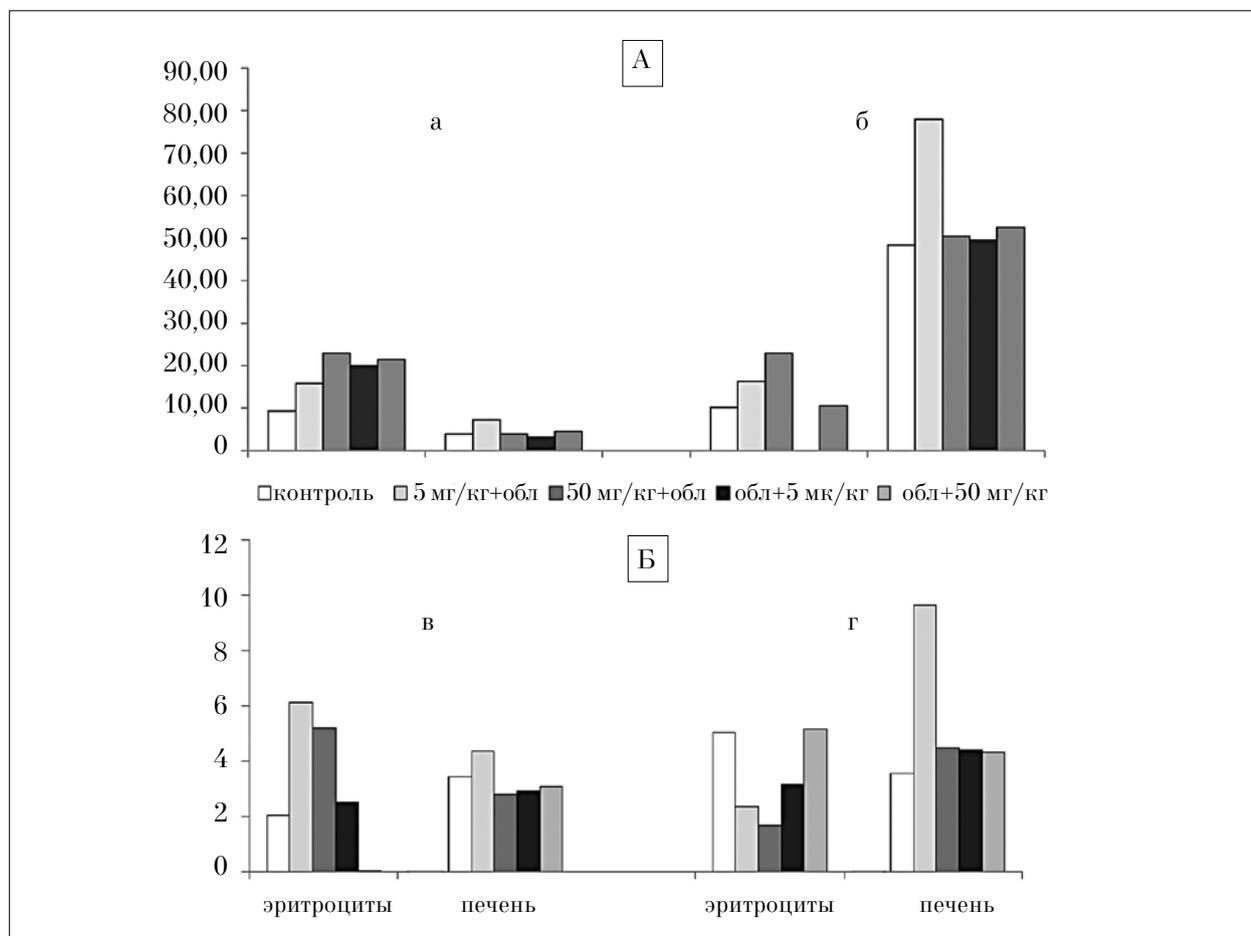
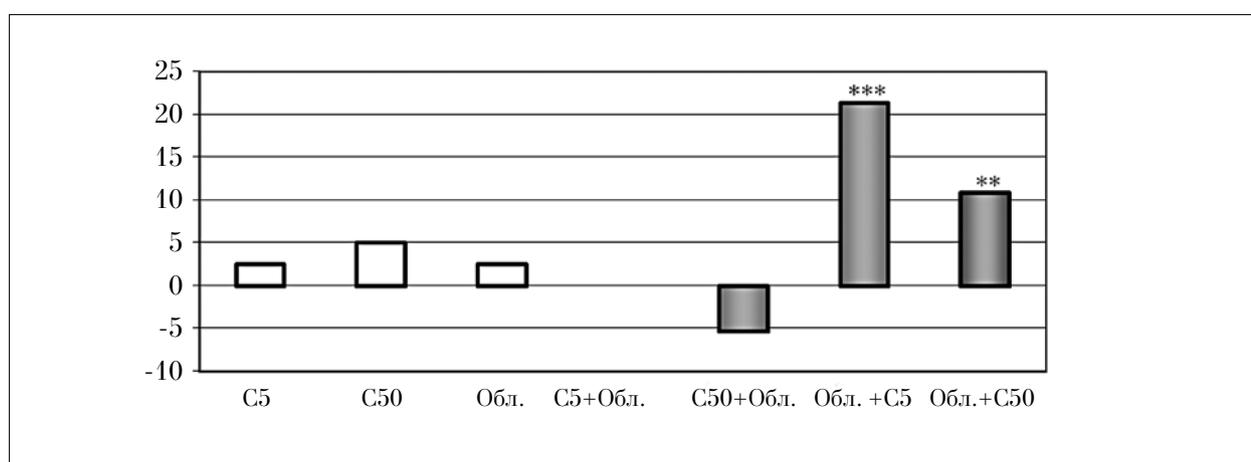


Рис. 1. Ширина клубочковой (а), пучковой (б) и сетчатой (в) зон коры надпочечников белых беспородных мышей после раздельного (А) и сочетанного (Б) действия Серпистена и облучения  
Примечание: Здесь и далее: разница по отношению к контролю (мм) достоверна при  $p < 0,05$  (\*),  $p < 0,01$  (\*\*) и  $p < 0,001$  (\*\*\*).



**Рис. 2.** Совместное действие Серпистена и облучения на отдельные показатели липидного обмена (А) и минорные фракции фосфолипидов (Б) в эритроцитах крови и печени мышей. По вертикали указана доля (%) сфингомиелина (а), фосфолипидов (б), кардиолипина в сумме с фосфатидной кислотой (в) и лизофосфатидилхолина (г)



**Рис. 3.** Диаметры фолликулов щитовидной железы белых беспородных мышей после раздельного (белые столбики) и сочетанного (серые столбики) действия Серпистена и облучения (разница по отношению к контролю, мкм)

Таблица 2

Содержание гормонов в надпочечниках после отдельного и сочетанного действия ионизирующей радиации и Серпистена

Вариант эксперимента	Гормон, нг		
	Кортикостерон	11-дегидрокортикостерон	Альдостерон
Контроль	44,0 ± 11,0	6,0 ± 1,0	121,0 ± 37,0
Серпистен, мг/кг			
5	117,0 ± 19,0**	11,0 ± 3,0	78,0 ± 30,0
50	45,0 ± 9,0	10,0 ± 4,0	53,0 ± 18,0
Облучение	76,0 ± 13,0	7,0 ± 1,0	68,0 ± 25,0
Серпистен, г/кг + облучение			
5	74,0 ± 12,0	3,0 ± 1,0	82,0 ± 29,0
50	79,0 ± 16,0	2,6 ± 0,4*	137,0 ± 33,0
Облучение + Серпистен, мг/кг			
5	61,0 ± 20,0	4,0 ± 1,0	94,0 ± 44,0
50	103,0 ± 17,0*	13,0 ± 6,0	136,0 ± 40,0

Примечание: отличия от контроля достоверны при  $p < 0,05$  (\*) и  $p < 0,01$  (\*\*).

ствовало нормализации содержания КЛ+ФК в ФЛ печени облучённых мышей, в ФЛ эритроцитов восстановление доли этих ФЛ наблюдали только при терапевтическом введении Серпистена в дозе 50 мг/кг (рис. 2Б). Применение Серпистена в дозе 50 мг/кг как до, так и после облучения достоверно уменьшало повреждающее действие облучения на соматические клетки – антимутагенный эффект (АЭ) равен 53,3–48,1%, в половых клетках наиболее выраженный эффект (56%) отмечен при действии Серпистена в дозе 50 мг/кг после облучения – уменьшение в 2,3 раза (табл. 1). Изучение морфологического состояния щитовидной железы показало, что максимально приближены к контрольным значениям результаты профилактического введения мышам Серпистена до облучения, причем после обеих доз препарата (рис. 3). Серпистен при сочетанном действии с облучением оптимизирует кортико-стероидную функцию надпочечников, препятствуя её функциональному истощению. Введение Серпистена и последующее облучение животных, так же как прием препарата после облучения, приближает результат по содержанию гормонов надпочечника к контрольному уровню, снижая уровень кортикостерона и 11-дегидрокортикостерона (табл. 2).

Поскольку биологическая активность Серпистена во многом зависит от наличия в составе препарата инокостерона, в частности, инокостерон обладает более выраженным антиоксидантным и анаболическим действием [19], это обуславливало необходимость более подробного изучения противолучевых свойств данного соединения.

Воздействие гамма-излучения в малой дозе привело к увеличению общей пероксидазной активности (ОПА), введение инокостерона до облучения приближало ОПА крови к контрольному уровню (рис. 4А). Испол-

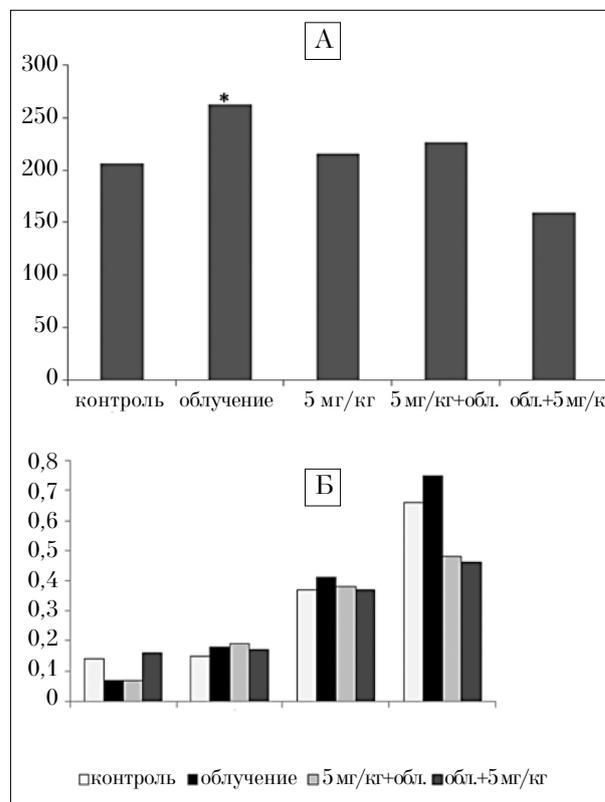


Рис. 4. Влияние совместного действия инокостерона и гамма-облучения на общую пероксидазную активность (мкМ/мл) крови (А) и содержание вторичных продуктов перекисного окисления липидов (Б) в плазме крови (а), печени (б), мозге (в) и селезенке (г) мышей

зование инокостерона и до, и после облучения способствовало нормализации интенсивности процессов ПОЛ в головном мозге и вызывало существенное снижение содержания вторичных продуктов ПОЛ в селезенке. В плазме крови при их последовательном действии эффект препарата зависел от времени его поступления в организм: нормализация данного показателя обнаружена только при терапевтическом использовании препарата (рис. 4Б). Положительная корреляция между активностью каталазы и ТБК-активными продуктами была отмечена в группах интактных животных и мышей, получавших инокостерон. Хроническое облучение в малой дозе приводит к нарушению связей между активностью каталазы и вторичных продуктов перекисного окисления липидов в печени мышей. Применение инокостерона (5 мг/кг) как до, так и после облучения способствовало восстановлению взаимосвязи между показателями активности каталазы и вторичными продуктами перекисного окисления липидов: коэффициенты корреляции соответственно равны  $0,89 \pm 0,13$  и  $0,79 \pm 0,17$  [15].

Совместное действие инокостерона с облучением достоверно снижает мутагенный эффект хронического облучения соматических и половых клеток (табл. 3). Обе дозы (5 и 15 мг/кг) оказывают одинаковый антимуtagenный эффект на клетки костного мозга и спермии – уровень снижения цитогенетических повреждений от облучения составил 42–46%.

### Заключение

Таким образом, использование Серпистена в дозе 50 мг/кг после действия облучения приводит к нормализации как фосфолипид-

ной компоненты клеточных мембран печени и эритроцитов по большинству изученных показателей, так и кортикостероидной функции надпочечников; применение препарата в этой дозе как до, так и после облучения значительно снижает мутагенный эффект, вызванный облучением. При терапевтическом использовании Серпистен обладает выраженным противолучевым эффектом в области низкоинтенсивного облучения в малой дозе, однако радиозащитный эффект зависит от дозы препарата. Нормализацию состава ФЛ мембран митохондрий печени крыс под действием экидистероидсодержащих препаратов отмечали также в условиях аллоксанового диабета [1]. Показано [20], что экстракты некоторых растений, содержащие экидистероиды, за счет влияния на содержание и соотношение различных фракций липидов и фосфолипидов в эритроцитарных мембранах препятствуют модификации формы эритроцитов при различных экспериментальных патологиях животных.

Инокостерон проявляет противолучевые свойства при воздействии низкоинтенсивного гамма-излучения в малой дозе и при определенной схеме введения препарата приводит к нормализации показателей состояния ПОЛ в тканях облученных животных. Результаты изучения влияния фитоэкидистероидов (Серпистен и инокостерон) на цитогенетические показатели при хроническом облучении в малых дозах выявили их противолучевой эффект, уровень которого зависит от дозы и последовательности использования экидизонсодержащих препаратов. Защитное действие Серпистена при его профилактическом использовании в основном обусловлено стимуляцией репарационных процессов, при терапевтическом применении наблюдается усиление эли-

Таблица 3

Эффекты действия инокостерона и ионизирующего излучения на цитогенетические параметры (n = 15)

Вариант эксперимента	Параметр		
	МЯ, ‰	МИ, ‰	АГС, %
Контроль	5,15	3,85	2,46
Инокостерон, мг/кг			
5	3,87*	2,8*	2,31
15	8,13*	3,13	2,76
Облучение	13,6*	3,60	4,16*
Инокостерон, мг/кг + облучение			
5	8,13*	3,13	2,23**
15	*7,60**	3,07*	2,40**

Примечание: МЯ – частота клеток с микроядрами, МИ – митотический индекс, АГС – доля спермиев с аномальными головками. Сумма проанализированных клеток составила в контроле 13000, остальных вариантах эксперимента – по 15000. Различия с контролем (\*) и вариантом «облучение» (\*\*) достоверны при  $p < 0,05$ .

минации (апоптоза) клеток с повреждениями ДНК. Антимутагенный эффект инокостерона при сочетанном действии с облучением обусловлен активацией антиоксидантной и репарационной систем защиты ядерного материала.

Результаты исследований показали, что биологическая активность экдистероидсодержащих препаратов связана с воздействием на систему регуляции ПОЛ, цитогенетические параметры и структурно-функциональное состояние органов эндокринной системы. Это обуславливает их способность модифицировать эффекты низкоинтенсивного гамма-облучения животных в малых дозах. Установлена существенная зависимость биологических последствий облучения от дозы экдистероидсодержащих соединений, времени их поступления в организм [21].

*Исследования выполнены при финансовой поддержке программы президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № 12-П-4-1023: «Научные основы создания адаптогенных и геропротекторных средств растительного происхождения»).*

### Литература

1. Сыров В.Н., Ташмухамедова М.А., Хушбактова З.А. и др. Влияние фитоэкдистероидов и нерабола на показатели углеводного и липидного обменов и фосфолипидный спектр мембран митохондрий печени крыс при экспериментальном сахарном диабете // Укр. биохим. журн. 1992. Т. 64. № 4. С. 61–67.

2. Кудряшов Ю.Б. О химической защите от ионизирующей радиации низкой интенсивности // Радиационная биология. 1997. Т. 37. № 4. С. 673–675.

3. Залашко М.В., Королева И.Ф., Салохина Г.А. и др. Противолучевые свойства липокаротиноидного экстракта из дрожжей *Rhodotorula glutinis* // Радиационная биология. 1997. Т. 37. № 1. С. 41–45.

4. Легеза В.И., Владимиров В.Г. Новая классификация профилактических противолучевых средств // Радиационная биология. 1998. Т. 38. № 3. С. 416–425.

5. Владимиров В.Г., Красильников И.И. Фармакологические механизмы радиозащитного эффекта в условиях целостного организма и перспективы изыскания радиопротекторов // Радиационная биология. 1994. Т. 34. Вып. 1. С. 121–133.

6. Соффер В.Н. Репарация генетических повреждений // Соросовский образовательный журн. 1997. № 8. С. 4–13.

7. Засухина Г.Д. Радиоадаптивный ответ в клетках человека, различающихся по репарации ДНК // Радиационная биология. 1999. Т. 39. № 1. С. 58–63.

8. Пелевина И.И., Афанасьев Г.Г., Алещенко А.В. и др. Радиоиндуцированный адаптивный ответ у детей и влия-

ние на него внешних и внутренних факторов // Радиационная биология. 1999. Т. 39. № 1. С. 106–112.

9. Кудяшева А.Г., Шишкина Л.Н., Загорская Н.Г., Таскаев А.И. Биохимические механизмы радиационного повреждения природных популяций мышевидных грызунов. СПб.: Наука, 1997. 156 с.

10. Кудяшева А.Г., Шишкина Л.Н., Шевченко О.Г. и др. Биологические эффекты радиоактивного загрязнения в популяциях мышевидных грызунов. Екатеринбург. 2004. 214 с.

11. Материй Л.Д., Ермакова О.В., Таскаев А.И. Морфофункциональная оценка состояния организма мелких млекопитающих в радиологических исследованиях (на примере полевки-экономки). Сыктывкар. 2004. 164 с.

12. Заичкина С.И., Кондакова Н.В., Розанова О.М. и др. Тестирование противолучевого действия биологически активных веществ в диапазоне средних и малых доз облучения с использованием цитогенетического показателя – микроядерного теста // Хим.-фарм. журн. 2004. Т. 38. № 8. С. 3–8.

13. Шевченко В.А., Померанцева М.Д. Генетические последствия действия ионизирующих излучений. М.: Наука, 1985. 279 с.

14. Heddle J.A. A rapid in vivo test chromosomal damage // Mutat. Res. 1973. V. 18. № 2. P. 187–190.

15. Шевченко О.Г., Загорская Н.Г., Кудяшева Н.Г., Шишкина Л.Н. Противолучевые свойства экдистероидсодержащих препаратов // Радиационная биология. 2007. Т. 47. № 4. С. 501–508.

16. Шишкина Л.Н., Хрустова Н.В. Кинетические характеристики липидов тканей млекопитающих в реакциях автоокисления // Биофизика. 2006. Т. 51. Вып. 2. С. 340–346.

17. Маслова К.И. Радиочувствительность таежных грызунов и возможность их приспособления к действию ионизирующей радиации как радиологическому фактору среды. Сыктывкар, 1978. 23 с. (Сер. Науч. докл. / Коми фил. АН СССР; Вып. 40).

18. Аклеев А.В., Варфоломеева Т.А. Состояние гемопоза в условиях многолетнего облучения костного мозга у жителей прибрежных сел р. Теча // Радиационная биология. 2007. Т. 47. № 3. С. 307–321.

19. Володин В.В., Пчеленко Л.Д., Володина С.О. и др. Фармакологическая оценка новой экдистероидсодержащей субстанции серпистен // Растительные ресурсы. 2006. Т. 42. Вып. 3. С. 113–130.

20. Плотников М.Б., Алиев О.А., Васильев А.С. и др. Влияние экстракта левзеи сафлоровидной на структурно-метаболическое состояние эритроцитов при ишемии головного мозга у крыс // Бюл. эксперим. биол. мед. 2008. Т. 146. № 7. С. 50–53.

21. Патент № 2326672, Россия МПК С2, А61К 31/565 А61Р 39/00. Противолучевое средство / А.Г. Кудяшева, В.В. Володин, О.Г. Шевченко, Н.Г. Загорская, С.О. Володина, Л.А. Башлыкова, О.В. Ермакова; Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; № 2006108965; заявл. 21.03.2006; опубл. 20.06.2008. Бюл. № 2.

**Экспериментальная оценка действия фитоэкдистероидов на процессы перекисного окисления липидов печени крыс при проведении опытов *in vitro* и *in vivo***

© 2012. З. А. Хушбактова, д.б.н., в.н.с., А. В. Царук, аспирант, В. М. Гукасов, д.м.н., зав. лабораторией, В. Н. Сыров, д.м.н., зав. лабораторией, Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан, e-mail: kh.zainb@gmail.com

Экдистерон и туркестерон оказывают ингибирующее влияние на процессы перекисного окисления липидов как в опытах *in vitro* (наблюдается задержка развития железоиндуцируемой хемилюминесценции в гомогенатах печени крыс), так и в опытах *in vivo* (после введения в организм животных отмечено достоверное уменьшение содержания в печени малонового диальдегида). Циастерон, отличающийся от экдистерона и туркестерона наличием в структуре лактонового кольца, в первом случае оказывает прооксидантное действие, во втором проявляет схожий с ними эффект. Все три исследованных фитоэкдистероида при введении крысам повышают активность ферментов антиоксидантной защиты организма – каталазы и супероксиддисмутазы.

Ecdysterone and turkesterone exert an inhibiting influence on processes of lipids peroxidation in experiments *in vitro* (retardation of the development of ferrum-induced chemoluminescence in homogenates of rats liver) as well as *in vivo* (significant decrease of malonic dialdehyde content in liver after administration of the preparations to animals). Cyasterone differed from ecdysterone and turkesterone by the presence of lactonic ring in the structure, in experiments *in vitro* exerts prooxidant action, but *in vivo* it manifests antioxidant effect typical for two first ecdysteroids. All three ecdysteroids under investigation increase activity of the enzymes of antioxidant protection of an organism: catalase and superoxide dismutase.

**Ключевые слова:** экдистерон, туркестерон, циастерон, перекисное окисление липидов, антиоксидантный эффект, высшие животные  
**Keywords:** ecdysterone, turkesterone, cyasterone, lipid peroxidation, antioxidant effect, higher animals

Работы Nakanishi et al. [1], а также Galbraith и Horn [2] положили начало выделению из растений стероидных веществ с активностью гормонов линьки и метаморфоза насекомых, названных впоследствии фитоэкдистероидами [3]. Фармакологические исследования фитоэкдистероидов выявили у них способность активно влиять на метаболические (прежде всего белково-анаболические) процессы в организме млекопитающих [4 – 6]. Известно, что биологический эффект стероидов, в том числе и различных стероидных гормонов высших животных, во многом обусловлен первоначальным изменением физико-химических свойств мембран клеток и субклеточных структур [7] за счёт воздействия на происходящие в их липидном компоненте процессы перекисного окисления липидов [8]. Отсутствие чётких и однозначных данных в этом аспекте касательно фитоэкдистероидов послужили основанием для проведения данной работы.

**Материалы и методы**

В работе исследовали экдистерон, туркестерон и циастерон (рис.), выделенные из *Rhaponticum carthamoides* и *Ajuga turkestanica* [9, 10]. В опытах *in vitro* их влияние на перекисное окисление липидов (ПОЛ) изучали в гомогенатах печени крыс-самцов (массой 150-180 г), оценивая изменения параметров хемилюминесценции (ХЛ), сопровождающей этот процесс в присутствии Fe<sup>2+</sup> [11].

Во всех случаях эксперимента регистрировали интенсивность «быстрой» вспышки ХЛ, латентный период, скорость нарастания, а также светосумму «медленной» вспышки ХЛ. Измерение сверхслабого свечения производили на установке, включающей в себя чувствительный детектор сверхслабой ХЛ – фотоэлектронный умножитель ФЭУ-39А, источником стабилизированного напряжения для которого служил высоковольтный стабилизатор ВС-22.

Электросигнал с ФЭУ усиливался с помощью усилителя ЛПУ-01 и регистрировался на самопишущем потенциометре КСП-4. Гомогенат печени помещался в термостатируемую (37 °С) кювету в темновой камере. Объём каждой пробы доводили до 9 мл среды инкубации, содержащей 105 мМ КСl, 20 мМ КН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub> (рН 7,4). Концентрация белка в 1 мл составляла 1,8 мг (определяли по Лоури). Спустя 4 мин после введения различных концентраций стероидов в кювету добавляли ионы двухвалентного железа из расчета 1,0 мл 1·10<sup>-2</sup> М раствора FeSO<sub>4</sub>, после чего начинали регистрацию ХЛ.

В серии экспериментов *in vivo* фитоэкдистероиды вводили непосредственно в организм животных (по шесть в группе) по 5 мг/кг орально в течение семи дней. О выраженности процессов перекисного окисления липидов в их организме в данном случае судили по содержанию в печени одного из конечных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) [12]. Кроме того, в печени определяли активность ферментов системы антиоксидантной защиты организма – каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) [13, 14].

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Проведённая работа показала, что изучаемые фитоэкдистероиды, заметно отличающиеся между собой по химическому строению, оказывают неоднозначное влияние на перекисное окисление липидов в системе *in vitro* с использованием гомогенатов печени крыс. Так, только экдистерон (табл. 1) проявил чёткое, хотя и достаточно слабое ингибирующее влияние на этот процесс, которое проявлялось задержкой в развитии ХЛ (происходило уменьшение «быстрой» и «медленной» вспышек ХЛ, а также «стационарного свечения»).

Действие же туркестерона проявлялось ингибирующим влиянием на ХЛ только по таким определяемым параметрам, как латентный период, скорость нарастания и светосумма «медленной» вспышки. В то же время чётко прослеживалось дозозависимое увеличение интенсивности «быстрой» вспышки ХЛ. Однако, несмотря на эти различия, пользуясь формулой [8] (для чего графически определяли концентрацию соединения, уменьшающую угол наклона полулогарифмических апоморфоз «медленной» вспышки ХЛ в два раза), для экдистерона и туркестерона была рассчитана величина антиокислительной активности (АОА), которая составила в данном случае 3,3·10<sup>2</sup> и 2,8·10<sup>2</sup> М<sup>-1</sup> соответственно. Эти значения оказались несравненно меньше значений АОА, полученной в соответствующих экспериментах для собственных гормонов млекопитающих, в частности, таких как эстрон, относящийся к классическим антиоксидантам [15]. Что же касается циастерона, то он не только не вызывал торможения ПОЛ в модельной системе, а напротив, проявлял выраженный прооксидантный эффект. Под его влиянием более, чем в 10 раз, увеличивалась интенсивность «быстрой» вспышки и существенно повышалась скорость нарастания и светосумма «медленной» вспышки ХЛ.

Таким образом, полученные на основе хемилюминесцентного анализа данные показали наличие непосредственной антиоксидантной активности у экдистерона и туркестерона. Обнаруженный же прооксидантный эффект циастерона, проявляющего в организме вышших животных схожую с другими фитоэкдистероидами активность [5, 8], позволял предполагать наличие у него опосредованного механизма ингибирующего ПОЛ действия за счет стимуляции эндогенной антиоксидантной системы организма.

В отдельно проведённой серии экспериментов в условиях, когда исследуемые фито-

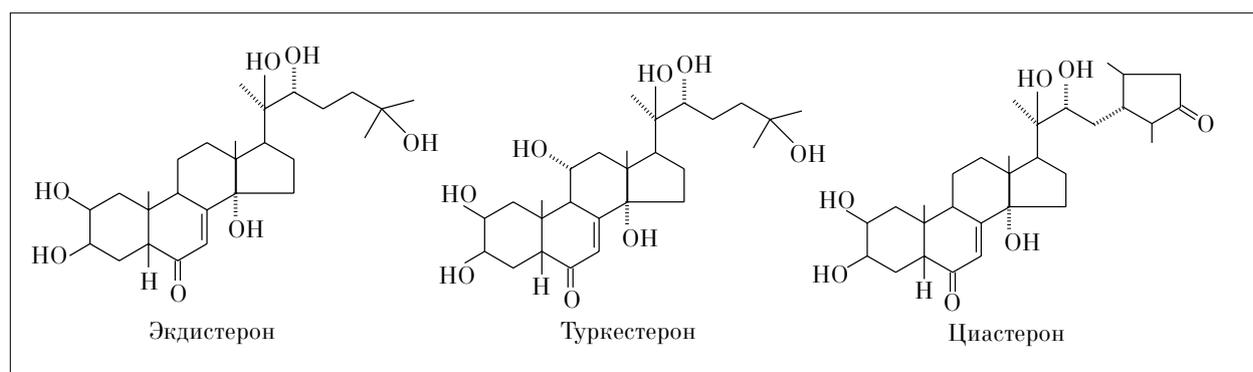


Рисунок. Строение экдистерона, туркестерона и циастерона

Таблица 1

Влияние фитоэкдистероидов на параметры кинетики железоиндуцируемой хемилюминесценции гомогенатов печени крыс в опытах *in vitro*,  $M \pm m$

Исследуемое соединение	Концентрация, М	Параметр				АОА, $M^{-1}$
		I	II	III	IV	
Экдистерон	0	$5,0 \pm 0,40$	$2,4 \pm 0,26$	$143 \pm 12,8$	$1,73 \pm 0,072$	$3,3 \cdot 10^2$
	$2,6 \cdot 10^{-3}$	$4,0 \pm 0,33$	$2,8 \pm 0,30$	$133 \pm 13,1$	$1,23 \pm 0,068^*$	
	$5,2 \cdot 10^{-3}$	$4,0 \pm 0,36$	$3,1 \pm 0,24$	$122 \pm 14,1$	$0,81 \pm 0,032^*$	
	$7,8 \cdot 10^{-3}$	$3,0 \pm 0,48^*$	$7,4 \pm 0,49^*$	$73,5 \pm 7,8^*$	$0,36 \pm 0,011^*$	
Туркестерон	0	$5,0 \pm 0,36$	$2,3 \pm 0,24$	$160 \pm 15,4$	$1,80 \pm 0,033$	$2,8 \cdot 10^2$
	$3,0 \cdot 10^{-3}$	$6,0 \pm 0,38$	$2,6 \pm 0,21$	$142 \pm 12,1$	$1,54 \pm 0,021^*$	
	$6,0 \cdot 10^{-3}$	$9,0 \pm 0,42^*$	$2,9 \pm 0,18$	$132 \pm 14,2$	$1,23 \pm 0,018^*$	
	$9,0 \cdot 10^{-3}$	$9,0 \pm 0,44^*$	$10,9 \pm 0,52^*$	$112 \pm 9,7^*$	$0,38 \pm 0,012^*$	
Циастерон	0	$5,0 \pm 0,46$	$2,3 \pm 0,28$	$140 \pm 11,2$	$1,49 \pm 0,031$	-
	$5,0 \cdot 10^{-3}$	$64,0 \pm 1,7^*$	$3,0 \pm 0,27$	$237 \pm 14,3^*$	$2,05 \pm 0,098^*$	
	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$72,0 \pm 3,3^*$	$2,9 \pm 0,19$	$235 \pm 18,4^*$	$2,25 \pm 0,044^*$	
	$5,0 \cdot 10^{-2}$	$52,0 \pm 1,8^*$	$3,0 \pm 0,18$	$224 \pm 10,2^*$	$1,73 \pm 0,019^*$	

Примечание: I – интенсивность «быстрой» вспышки, *отн. ед.*, II – латентный период, *мин.*; III – светосумма «медленной» вспышки, *отн. ед.*; IV – скорость нарастания, которую определяли как тангенс угла наклона прямой, выражающей зависимость логарифма интенсивности свечения от времени на начальной экспоненциальной стадии «медленной» вспышки; АОА – актиокислительная активность. Цифровые значения определяемых параметров являются средними величинами из пяти наблюдений. Различия (\*) с соответствующим контролем достоверны при  $p < 0,05$ . Почерк – эффект отсутствовал.

Таблица 2

Влияние фитоэкдистероидов на содержание в печени крыс малонового диальдегида (МДА), каталазы и супероксиддисмутазы (СОД),  $M \pm m$

Условия опыта	МДА, нмоль/мг белка	Каталаза, моль/мин/г белка	СОД, усл. ед./мин/мг белка
Интактные животные (контроль)	$0,731 \pm 0,04 (-)$	$15,8 \pm 0,78 (-)$	$1,58 \pm 0,08 (-)$
Экдистерон	$0,563 \pm 0,02^* (-29,8)$	$18,8 \pm 0,82^* (+18,9)$	$1,96 \pm 0,12^* (+24,0)$
Туркестерон	$0,572 \pm 0,02^* (-27,8)$	$19,0 \pm 0,92^* (+20,2)$	$1,98 \pm 0,14^* (+25,3)$
Циастерон	$0,584 \pm 0,03^* (-25,2)$	$18,4 \pm 0,84^* (+16,5)$	$1,88 \pm 0,10^* (+18,9)$

Примечание: в скобках указан эффект, %. Различия (\*) между значениями указанных величин достоверны при  $p < 0,05$ .

экдистероиды вводились непосредственно в организм животных, эта гипотеза нашла своё чёткое подтверждение. Показано, что все три тестируемых стероида достаточно выражено и примерно в равной степени уменьшали в печени млекопитающих содержание МДА (табл. 2). При этом наблюдали достоверное повышение активности каталазы (16–20%) и СОД (на 19–24%). Все эти данные совместно с имеющимися фактами об установлении под действием фитоэкдистероидов прочного сопряжения между белками и фосфолипидами мембран (выявлено на митохондриях печени крыс с хроническим токсическим гепатитом [16]) свидетельствуют о том, что они не являются истинными ингибиторами свободнорадикального окисления как, например, фенольные соединения [17] (хотя эффект экдистерона и несколько напоминает их действие).

Фитоэкдистероиды, скорее всего, следует рассматривать в качестве структурных антиоксидантов, чьё антиокислительное действие опосредуется изменением мембранных структур.

Полученные данные во многом дополняют спектр известных биологических эффектов фитоэкдистероидов в организме высших животных и дают возможность лучше понять их позитивных эффект, обнаруживаемый при введении экспериментальным животным с рядом патологических состояний, в развитии которых не последнюю роль играет резкая активация процессов перекисного окисления липидов (гепатит, миокардит) [18, 19].

### Литература

1. Nakanishi K., Koreeda M., Sasaki S. et al. Insect hormones. I. The structure of ponasteron A an insect-

moulting hormone from the leaves of *Podocarpus nakaii* Hay // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1966. V. 24. P. 915–917.

2. Galbraith M.N., Horn D.H.S. An Insect-moulting hormone from a plant // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1966. V. 24. P. 905–906.

3. Goodwin T.W., Horn D.H.S., Karlson P. et al. Ecdysteroids: a generic term // *Nature.* 1978. V. 272. № 5649. P. 122.

4. Ахрем А.А., Ковганко Н.В. Экдистероиды: химия и биологическая активность. Минск: Наука и техника, 1989. 327 с.

5. Сыров В.Н., Саатов Э., Сагдуллаев Ш.Ш., Маматханов А.У. Зависимость структура-анаболическое действие фитоэкдистероидов, выделенных из растений Центрально-азиатского региона // *Хим.-фарм. журн.* 2001. № 12. С. 23–27.

6. Фитоэкдистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.

7. Сергеев П.В., Сейфулла Р.Д., Майский А.И. Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов. М.: Наука, 1971. 224 с.

8. Владимиров Ю.А., Сергеев П.В., Сейфулла Р.Д., Руднев Ю.Н. Влияние стероидов на перекисное окисление липидов мембран митохондрий печени // *Мол. биол.* 1973. Т. 7. № 2. С. 247–253.

9. Балтаев У.А., Абубакиров Н.К. Фитоэкдистероиды *Rhaponticum carthamoides* // *Химия природных соединений.* 1987. № 5. С. 681–684.

10. Усманов Б.З., Горовиц М.Б., Абубакиров Н.К. Фитоэкдизоны *Ajuga turkestanica*. III. Строение туркестерона // *Химия природных соединений.* 1975. № 4. С. 466–470.

11. Владимиров Ю.А., Сулова Т.Б., Оленев В.И. Хемилюминесценция, сопряженная с образованием ли-

пидных перекисей в биологических мембранах // *Биофизика.* 1969. Т. 14. № 5. С. 836–845.

12. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // *Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. С. 66–68.*

13. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Т. и др. Метод определения активности каталазы // *Лабораторное дело.* 1988. № 1. С. 16–19.

14. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // *Лабораторное дело.* 1983. № 10. С. 30–33.

15. Гукасов В.М., Федоров В.К. Влияние гормонов на процесс перекисного окисления липидов биологических мембран // *Роль изменений структуры мембран в клеточной патологии. М. 1977. С. 8–52.*

16. Ташмухамедова М.А., Алматов К.Т., Хушбактова З.А. и др. Влияние фитоэкдистероидов и стеранаболов на активность и стабильность мембранно-связанных ферментов митохондрий печени при экспериментальном гепатите // *Вопр. мед. химии.* 1986. № 1. С. 81–84.

17. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. Киев: Наукова думка, 1976. 260 с.

18. Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Набиев А.Н. Экспериментальное изучение гепатопротекторных свойств фитоэкдистероидов и неробола при поражении печени четыреххлористым углеродом // *Эксперим. клин. фармакол.* 1992. № 3. С. 61–65.

19. Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Ташмухамедова М.А. и др. Выделение экдистерона и силенеозида А из силены брагуйской и изучение их фармакологического действия при экспериментальной миокардиодистрофии // *Кимё ва фармация (Ташкент).* 1997. № 4. С. 43–47.

## **Производные экдистероидов как новые модуляторы устойчивости раковых клеток, обладающих множественной лекарственной резистентностью**

© 2012. А. Мартинс<sup>1</sup>, Н. Тот<sup>1</sup>, Дж. Молнар<sup>2</sup>, М. Батори<sup>1</sup>, А. Хуняди<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Институт фармакогнозии, факультет фармации, Университет Сегеда, Венгрия

<sup>2</sup> Кафедра медицинской микробиологии и иммунологии, факультет медицины, Университет Сегеда, Венгрия

e-mail: hunyadi.a@pharm.u-szeged.hu

Phytoecdysteroids, analogues of the moulting hormone of arthropods, have been described for their multiple beneficial effects accompanied

by a very low toxicity in mammals [1]. Ecdysteroids seem to possess general health-improving action for mammals and humans [1 – 3], that is

why they are referred to a category of products for healthy lifestyle and apparently do not have much data on clinical research.

In this work, several natural and semisynthetic ecdysteroids were studied by flowing cytometry method for their inhibitory activity on the efflux of rhodamine by L5178 mouse T-cell lymphoma cells [4, 5] that are characterised by overexpress of human ABCB1 transporter (P-glycoprotein), commonly responsible for the failure of chemotherapy in some cases of MDR cancer. Derivatives of lower polarity exhibited slight inhibitory activities. The ecdysteroids were also tested for their activity as modulators of the doxorubicin activity for the same cell line, resistant to this chemotherapeutic agent.

Significant synergistic effects were found in case of the less polar derivatives such as ecdysteroid diacetone, while common ecdysteroids like 20-hydroxyecdysone were inactive in this system. The most active compound, dacryhainansterone 2,3;20,22-diacetone, was found to decrease the IC<sub>50</sub> of doxorubicin 20 times when used at 9.38 µM concentration, whereas it was practically inactive (IC<sub>50</sub> = 61.8 µM) when used alone.

Considering that multi-drug resistance is a problem and the main reason of therapy failure not only in case of cancer but also of almost all bacterial and non-bacterial infections [6,7], our findings may open a prospective new direction for ecdysteroid research.

Фитоэктистероиды – аналоги гормонов линьки членистоногих – известны своими множественными полезными эффектами в сочетании с очень низкой токсичностью [1]. По-видимому, эктистероиды обладают общеукрепляющим действием для млекопитающих и человека [1 – 3], благодаря чему их относят скорее к категории продуктов для здорового образа жизни и, очевидно, поэтому для них нет большого количества данных клинических исследований.

В настоящей работе ряд природных и полусинтетических эктистероидов был исследован методом проточной цитометрии на их способность ингибировать активность выведения родамина Т-клетками лимфомы L5178, которые характеризуются сверхэкспрессией транспортера ABCB1 человека (Р-гликопротеин), обычно ответственный за неудачу в химиотерапии в некоторых случаях рака с множественной лекарственной резистентностью. Производные меньшей полярности показали небольшую ингибиторную активность. Эктистероиды были также протестированы как модуляторы активности доксирубицина для этой же линии клеток, которые устойчивы к этому химиотерапевтическому агенту. Значительные синергические эффекты были найдены в случае менее полярных производных, таких как диациетониды эктистероидов, в то время как обычные эктистероиды, типа 20-гидроксиэктидиона, были неактивны в этой системе. Было показано, что наиболее активное соединение – дакри-

хайнанстерон 2,3,20,22-диациетонид – уменьшает IC<sub>50</sub> рублина в 20 раз при концентрации 9.38 µM, в то время как он был практически неактивен (IC<sub>50</sub> = 61,8 µM), когда использовался сам по себе.

Учитывая, что множественная лекарственная резистентность является новой проблемой не только в случае онкологических заболеваний, но и почти всех бактериальных и небактериальных инфекций [6, 7], наши данные открывают перспективы новых исследований в области эктистероидов.

*Работа выполнена при поддержке Венгерского исследовательского фонда (ОТКА К72771) и Нового плана развития Венгрии (ТМОР-4.2.2-08/1-2008-0013).*

## References

1. Lafont R., Dinan L. // J. Insect Sci. 2003. 3: 7.
2. Báthori M., Pongrácz Z. // Curr. Med. Chem. – 2005. V. 12. P. 153–172.
3. Dinan L., Lafont R. // J. Endocrinol. 2006.V. 191. P. 1–8.
4. Pastan I., Gottesman M.M., Ueda K., Lovelace E., Rutherford A.V., Willingham M.C. // PNAS USA – 1988. V. 85. P. 4486–4490.
5. Choi K., Frommel T.O., Stern R.K., Perez C.F., Kriegler M., Tsuruo T. Roninson I.B. // PNAS USA – 1991. V. 88. P. 7386–7390.
6. Amaral L., Engi H., Viveiros M., Molnar J. // In Vivo – 2007. V. 21. P. 237–244.
7. Zhang L., Ma S. // Chem. Med. Chem. 2010. V. 5. P. 811–822.

**Воздействие нового экидистероидсодержащего препарата Серпистен на поведенческую активность и формирование клеточной адаптации у крыс при тепловом стрессе**

© 2012. Л. И. Андреева<sup>1</sup>, д.б.н., с.н.с., А. А. Бойкова<sup>1</sup>, зав. лабораторией, А. А. Быкова<sup>1, 2</sup>, лаборант, магистрант, В. В. Володин<sup>3</sup>, д.б.н., зав. лабораторией,  
<sup>1</sup> Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова,  
<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет,  
<sup>3</sup> Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
 e-mail: mila@inteh.spb.ru

Исследовано влияние фитоэкидистероидного препарата Серпистен на поведение крыс Вистар и содержание в тканях печени, сердца и мозга двух белков стресса (белков теплового шока) семейства 70. Курсовое введение Серпистена в суммарной дозе 12 мг/кг активировало двигательную и исследовательскую активность крыс. Однако появились элементы тревожности, усиливаемые тепловым стрессом. Сочетание введения Серпистена и теплового стресса привело к увеличению массы надпочечников. Серпистен участвует в стресс-реакции организма, увеличивает содержание в тканях индуцибельного защитного белка Hsp70, свидетельствующего о срочной адаптации клетки. В печени отмечено увеличение содержания конститутивного белка Hsc70, что, по нашему мнению, отражает процессы долговременной структурно-функциональной адаптации.

We investigated the action of phytoecdysteroid preparation Serpisten on the behavior of Wistar rats and a content of two stress proteins 70 in liver, heart and brain. Administration of Serpisten in total dose 12 mg/kg led to activation of rat's motor and exploratory activity. Some elements of anxiety, which enhanced by heat stress, have been also noted. Combination of Serpisten delivering and heat stress gave increase of adrenals weight. Serpisten takes part in stress-reaction of organism and increases inducible protecting stress protein 70 (Hsp70) content in tissues. This finding testifies to urgent cellular adaptation. In liver we have noted increased content of cognate protein Hsc70. We think this fact reflects lasting structural and functional adaptation.

**Ключевые слова:** фитоэкидистероиды, тепловой стресс, адаптация, поведение, индуцибельный белок теплового шока семейства 70 (Hsp70), конститутивный белок теплового шока (Hsc70)

**Key words:** phytoecdysteroids, heat stress, adaptation, behavior, inducible heat shock protein Hsp70, cognate heat shock protein Hsc70

**Введение**

Фитоэкидистероиды, обнаруженные в некоторых видах растений, идентичны или структурно близки гормонам линьки и метаморфоза членистоногих. Этот факт свидетельствует о сложной взаимосвязи растений и насекомых, во многом определяющей численность их популяции [1 – 3]. В последние годы были показаны потенциальные возможности использования фитоэкидистероидов в медицине. Выяснилось, что экидистероиды непосредственно не взаимодействуют с рецепторами стероидных гормонов млекопитающих. Механизм их действия у животных и человека в настоящее время, в первую очередь, связывают с эффектами, оказываемыми на клеточную мембрану, однако не исключаются и их геномные эффекты [4, 5]. Также до конца не выяснены фармакокинетические характеристики экидистероидов. При введении 20-гидроксиэкидизона (20E)

внутри человеку период полувыведения составляет около 9 ч [4]. Однако не исключается его энтерогепатическая циркуляция, обеспечивающая более длительное нахождение 20E в организме. Адаптогенное действие экидистероидсодержащего препарата Серпистен сохраняется, по крайней мере, в течение нескольких дней после его отмены [6]. В настоящее время привлекательность препаратов, содержащих экидистероиды, определяется их множественными положительными эффектами у млекопитающих. Было обнаружено их анаболическое, тонизирующее действие наряду с большой терапевтической широтой и отсутствием у них токсичности в используемых дозах. Фитоэкидистероиды стимулируют биосинтез белка, ускоряют процессы заживления, повышают физическую работоспособность животных [4]. Немаловажным явилось обнаружение у фитоэкидистероидов противодиабетического и антиатеросклеротического действия, что зна-

чительно расширяет спектр их использования в качестве адаптогенов не только у здоровых людей, но и у людей с заболеваниями, прогрессирующими с возрастом, по В. М. Дильману, – «болезнями адаптации» [7].

Данное исследование было инициировано, с одной стороны, наличием у фитоэкдистероидов адаптогенных свойств, с другой – недостаточностью сведений о системных и клеточных механизмах их действия. В работе изучали воздействие курсового введения препарата Серпистен, содержащего фитоэкдистероиды растения серпуха венценосная (*Serratula coronata* L.), на изменение поведенческих реакций крыс, позволяющих судить о двигательной, исследовательской активности, степени тревожности и эмоциональности животных как в обычных условиях, так и при тепловом стрессе. Критерием адаптации на клеточном уровне служило определение содержания в тканях крыс белков теплового шока, или белков стресса семейства 70. Как мы полагаем, увеличение содержания индуцибельного белка стресса 70 (Hsp70) свидетельствует о срочной адаптации клетки, повышающей её жизнеспособность и устойчивость к действию стрессорных факторов, а увеличение содержания конститутивного белка теплового шока (Hsc70) преимущественно отражает процесс формирования структурно-функциональной адаптации [8].

### Постановка эксперимента и использованные методы

В опыте использовали самцов крыс Вистар из питомника «Рапполово» (Ленинградская область). Работу с животными осуществляли согласно правилам лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003). После привоза крысы были разделены на четыре группы (I – контроль, II – контроль + нагревание, III – Серпистен, IV – Серпистен + нагревание) и помещены в стандартные клетки по пять особей в каждую при свободном доступе к еде и воде, где они находились в течение трех недель. К моменту начала введения Серпистена масса крыс составила в среднем  $252 \pm 31$  г. Каждый вечер у животных забирали еду, а утром вводили с помощью зонда воду или водный свежеприготовленный раствор Серпистена из расчёта 2 мг/кг. Фитоэкдистероидсодержащая субстанция Серпистен (Гр № 77.99.23.3.У.1923.3.08 от 11.03.2008 г.) разработана в лаборатории биохимии и биотехноло-

гии Института биологии Коми НЦ УрО РАН (зав. проф. В.В. Володин). Серпистен представляет собой сумму очищенных фитоэкдистероидов 20E и 25S-инокостерона, выделенных из листьев растений серпухи венценосной (*Serratula coronata* L., сем. Asteraceae). Объём вводимого раствора несколько варьировал с максимальным значением 0,5 мл в зависимости от массы тела животного. После процедуры введения Серпистена крысы получали еду. Серпистен и воду давали в течение семи дней (с одним днем пропуска в середине курса), итого шесть раз. Суммарная доза Серпистена составила 12 мг/кг.

Вечером заключительного дня эксперимента крыс групп II и IV подвергали нагреванию в водяной бане (стеклянный цилиндр диаметром 25 и высотой 40 см) с постоянным подогревом воды до  $43,5^\circ\text{C}$  в течение 15 мин. Воду наливали до уровня 20 см. Сразу же после извлечения животного из водяной бани измеряли температуру тела с помощью ректального датчика электротермометра медицинского (ТПЭМ-1). Среднее значение температуры тела после нагревания составило  $42,2 \pm 0,2^\circ\text{C}$  (в обычных условиях ректальная температура тела крысы – около  $37,5^\circ\text{C}$ ). Животных высушивали полотенцем и помещали обратно в клетки.

Вечером перед окончанием опыта у крыс всех групп забирали еду. В последний день опыта в 10 ч утра проводили тестирование животных. Поведенческие реакции оценивались в тесте «открытое поле» (ОП) [9]. Тестируемых животных помещали в центр поля, освещённого по центру лампой 60 Вт на высоте 1 м. В течение 3 мин оценивали горизонтальную двигательную активность (количество пересеченных квадратов поля), исследовательскую активность (количество заглядываний в «норки», вставаний на задние лапы – стойки), эмоциональность и тревожность (количество болюсов дефекаций и количество уринаций), а также фиксировали количество отдельных актов и общее время груминга, выходов в центр поля и длительность замираний.

Затем животных тестировали в «приподнятом крестообразном лабиринте» (ПКЛ) в течение 5 мин. В настоящее время этот тест считается наиболее адекватным для оценки тревожности [10]. Тревожность, определяемая по данной методике, отражает естественный страх высоты и открытых пространств у грызунов. Время пребывания в открытых рукавах лабиринта специфически отражает уровень тревожности животного: увеличение вре-

мени пребывания в открытых рукавах свидетельствует об уменьшении тревожности. Оценивали исследовательскую активность (количество заглядываний в закрытые рукава и выглядывание из них, вставаний на задние лапы, число переходов из одного рукава в другой), тревожность (время первого выбора закрытого рукава, время нахождения в открытых и закрытых рукавах, количество свешиваний), эмоциональность и тревожность (количество болюсов дефекаций и количество уринаций) и так же, как и в тесте ОП, фиксировали число отдельных актов и общее время груминга, длительность замираний. Во время выполнения крысами тестов ОП и ПКЛ осуществляли видеозапись. Впоследствии производили подсчет всех элементов поведения животных.

Через час после поведенческих тестов крыс усыпляли внутрибрюшинным введением тиопентала натрия (40 мг/кг) и производили взятие тканей печени, сердца (левого желудочка) и головного мозга (гиппокамп) для определения содержания двух белков стресса с молекулярной массой 70 кД (Hsp70 и Hsc70). Также определяли массу обоих надпочечников. Пробы для определения белков готовили сразу после взятия материала. Для приготовления проб навески тканей 30 мг гомогенизировали ручным тefлоновым гомогенизатором в лизирующем буфере. Далее пробы помещали в морозильную камеру на 40 мин., после чего снова гомогенизировали и ставили на заморозку. После повторного размораживания экстракты центрифугировали при 3500 g в течение 5 мин, затем в супернатанте измеряли концентрацию белка по методу M. Bradford [11]. Для электрофореза из белковых экстрактов тканей сердца, печени, мозга готовили пробы с конечной концентрацией белка 10 мкг/мкл (для сердца), 5 и 20 мкг/мкл (для печени) и 5 мкг/мкл (для мозга). До процедуры электрофореза пробы хранили при -20 °C.

Электрофоретическое разделение белков проводили по методу U.K. Laemmli [12]. Образцы гиппокампа, сердца и печени наносили в лунки стартового геля из расчета соответственно 50, 80 и 40 мкг для Hsp70 и 10, 20 и 5 мкг для Hsc70. Перенос электрофоретически разделённых белков на PVDF мембрану («MP Biomedicals», США) с последующей иммунной идентификацией этих двух белков проводили по методу H. Towbin [13]. В качестве первичных антител к белкам теплового шока использовали кроличьи поликлональные антитела RAR к Hsp70 и мышинные моноклональные антитела N69 к Hsc70, предоставленные

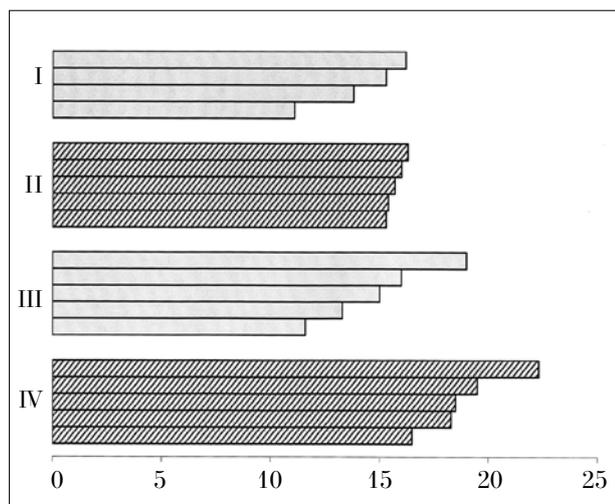
лабораторией защитных механизмов клетки Института цитологии РАН. В качестве вторичных антител использовали антитела против иммуноглобулина мыши («Dako», Дания) и антитела против иммуноглобулина кролика («Absam», Великобритания), меченные пероксидазой хрена. Мембраны сканировали и обсчитывали с использованием специальной компьютерной программы анализа графических изображений, учитывающей площадь пятна и интенсивность окрашивания. Результаты представляли в условных единицах.

Статистическую обработку данных производили с помощью программы Statistica 6 с нахождением среднего арифметического и стандартной ошибки среднего. Для обработки данных после исключения экстремумов проводили тест на нормальность распределения. Использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых групп.

### Результаты и обсуждение

Курсовое введение Серпистена в суммарной дозе 12 мг/кг не привело к изменению массы надпочечников, но после теплового воздействия и абсолютная их масса, и её доля по отношению к массе тела достоверно возросли у животных IV группы по сравнению с I-III группами. Гиперплазия надпочечников после перенесённого воздействия отражает реализацию стресс-реакции на уровне организма, где задействована ось гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников. По-видимому, введение Серпистена потенциально может активировать функцию надпочечников, что наиболее отчетливо проявилось на фоне теплового воздействия (рис. 1).

Курсовое введение Серпистена (наметилась тенденция) и особенно Серпистена с нагреванием привело к активизации горизонтальной двигательной активности животных в тесте ОП (табл. 1). Число пересечённых квадратов достоверно больше в IV группе по сравнению с I и II группами. Заметно увеличилась исследовательская активность крыс (норки) после курса Серпистена, особенно выражены изменения в IV группе. Как курсовое введение Серпистена, так и Серпистена с последующим нагреванием привело к заметному снижению числа отдельных актов груминга и общего времени груминга (табл. 1). Груминг рассматривают как гигиеническую чистку (активная форма поведения) и в качестве показателя смещённой двигательной активности, характерной для состояния озабоченности, ре-



**Рис. 1.** Изменение массы надпочечников при введении серпистена и теплового воздействия. Достоверны различия между группами I-III ( $P = 0,014$ ), II-IV ( $P = 0,009$ ) и III-IV ( $P = 0,047$ )  
Примечание: Здесь и далее: каждый столбик – отдельное животное.

акции на новизну, потребности устранения беспокойства, как инверсию активных форм защиты в пассивную форму. Активация груминга, по мнению В.П. Пошивалова [9], может являться стресс-протективным признаком поведения грызунов.

Таким образом, по результатам тестирования поведения в ОП курсовое введение Серпистена увеличило двигательную и исследовательскую активность животных, особенно выражено после их нагревания, не изменило тревожности (время замираний, выходы в центр поля), эмоциональности (количество болюсов дефекаций) и страха (количество уриаций), значительно уменьшило смещённую двигательную активность (груминг). В тесте ПКЛ были выявлены изменения поведения в III и, в особенности, в IV группах (табл. 2). Время первого ухода крыс в закрытые рукава после курса Серпистена не изменилось по сравнению с I и II группами, но животные не

переходили из одного в другой закрытый рукав, тенденция к увеличению времени замираний также имела место, что могло бы свидетельствовать об увеличении их тревожности. Однако другие показатели, которые учитываются при оценке тревожности, эмоциональности и страха, не изменились. Так, время пребывания крыс в закрытых рукавах и количество свешиваний не изменились по сравнению с I группой. Кроме того, в III группе отсутствовали уриации (признак страха). То есть тестирование поведения крыс данной группы в ПКЛ показало их более спокойное поведение в ситуации, обычно вызывающей возникновение тревожности и страха у крыс. Противоположную направленность носили изменения в поведении крыс, получавших Серпистен, в тесте ПКЛ после теплового воздействия. Крысы IV группы свешивались с рукавов лабиринта. Они быстрее уходили в закрытые рукава после помещения их на ПКЛ и дольше в них находились. Вместе с тем, в отличие от III группы, больше переходили из одного закрытого рукава в другой (табл. 2). Более быстрый уход IV группы крыс в закрытые рукава и большее время пребывания в них по сравнению со всеми другими группами животных являются проявлением тревожности под воздействием сочетанного действия Серпистена и теплового стресса.

Таким образом, по результатам двух поведенческих тестов следует отметить, что наибольшие изменения в поведенческой активности крыс были в IV группе в плане активизации двигательной и исследовательской активности (тест ОП), но с проявлениями тревожности (тест ПКЛ).

Определение содержания индуцибельного белка стресса Hsp70 в тканях крысы после курса Серпистена показало, что в гиппокампе (рис. 2а) его содержание имело тенденцию к увеличению (в 1,5 раза), в печени (рис. 2б) – почти в четыре раза ( $P = 0,021$ ),

**Таблица 1**

Изменение паттернов поведения крыс (тест «открытое поле») после курсового введения Серпистена и теплового воздействия

Паттерн поведения	Группа				Достоверность различий (группа), P
	I	II	III	IV	
Активность					
двигательная	35,5 ± 13,5	39,4 ± 4,6	43,0 ± 16,7	56,6 ± 11,5	0,050 (I, IV) 0,009 (II, IV)
исследовательская	4,8 ± 4,5	4,2 ± 6,3	7,6 ± 6,2	11,0 ± 3,1	0,050 (I, IV)
Груминг					
количество отдельных актов	3,5 ± 3,7	6,4 ± 4,0	1,4 ± 1,3	0,8 ± 0,8	0,012 (II, IV)
суммарное время, с	10,3 ± 10,1	14,5 ± 6,3	6,0 ± 8,8	1,0 ± 1,4	0,021 (II, IV)

Таблица 2

Изменение паттернов поведения крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» после курсового введения Серпиštena и теплового воздействия

Паттерн поведения	Группа				Достоверность различий (группа), P
	I	II	III	IV	
<b>Тревожность</b>					
время первого выбора закрытого рукава, с	38,3 ± 16,5	49,4 ± 34,6	29,8 ± 7,9	8,5 ± 5,1	0,021 (I, IV) 0,028 (II, IV) 0,021 (III, IV)
длительность нахождения в закрытых рукавах, с	200,3 ± 87,1	230,0 ± 17,8	192,0 ± 95,6	289,5 ± 8,7	0,021 (I, IV) 0,014 (II, IV) 0,014 (III, IV)
количество свешиваний	11,5 ± 5,7	10,6 ± 5,8	8,0 ± 6,8	4,4 ± 2,4	0,050 (I, IV)
<b>Активность</b>					
исследовательская	5,3 ± 1,3	3,8 ± 2,4	2,2 ± 2,9	6,6 ± 2,5	0,037 (III, IV)
количество переходов между закрытыми рукавами	2,3 ± 1,5	1,6 ± 1,1	0	2,4 ± 2,6	0,021 (I, III)
<b>Замирание</b>					
длительность, с	23,8 ± 18,9	75,8 ± 43,0	90,4 ± 67,5	43,0 ± 40,3	0,050 (I, II)
Количество уринаций	1,3 ± 1,3	1,0 ± 0,7	0	0,8 ± 0,8	0,028 (I, III) 0,037 (II, III)

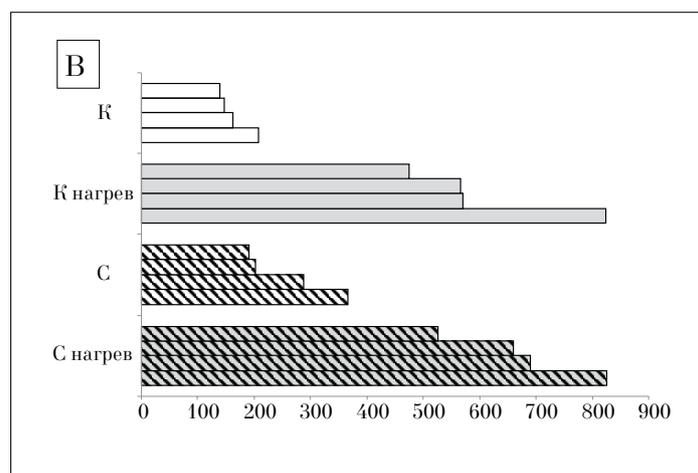
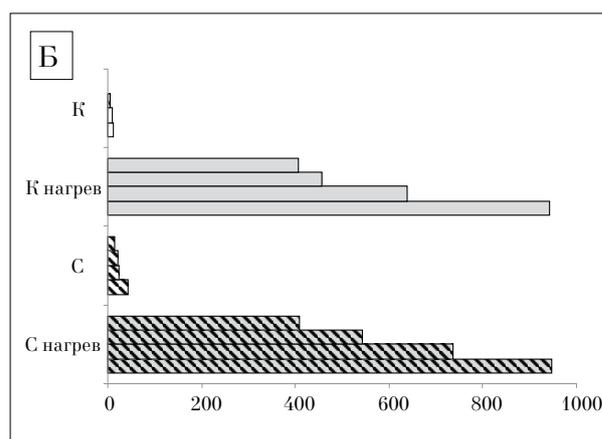
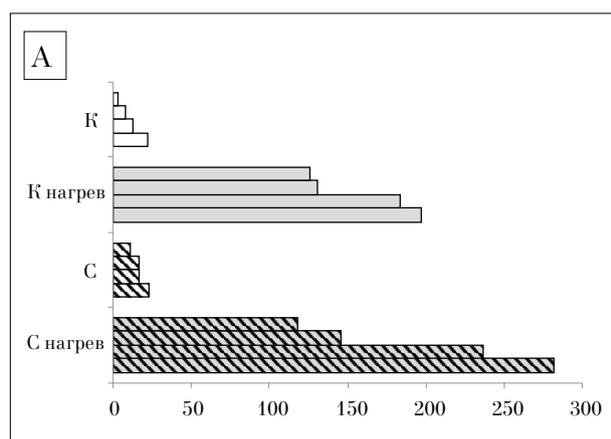
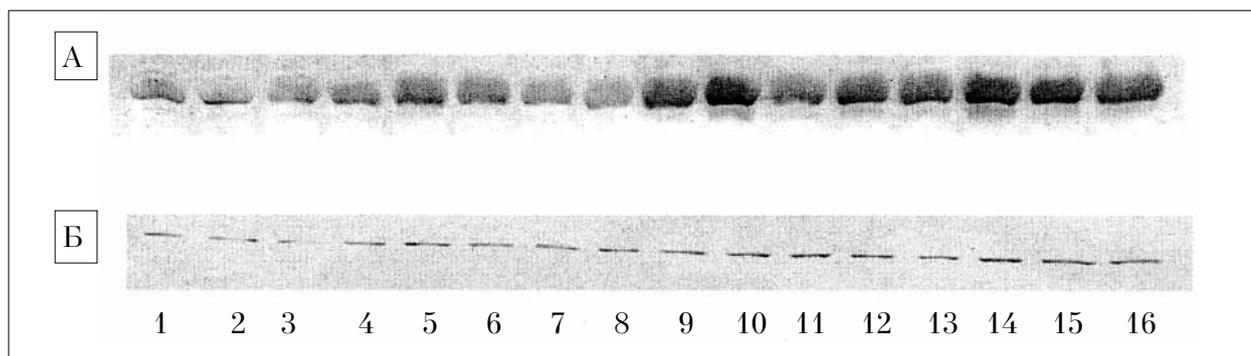


Рис. 2. Содержание Hsp70 в гиппокампе (а), печени (б) и левом желудочке сердца (в) крысы после курсового введения Серпиštena и теплового воздействия. По горизонтали – относительные единицы, соответствующие количеству Hsp70



**Рис. 3.** Выявление индуцибельного белка стресса Hsp70 в левом желудочке сердца (А) и конститутивного белка стресса Hsc70 в печени (Б) крысы методом иммуноблоттинга.  
Условные обозначения: 1 – 4 – группа К, 5-8 – группа С, 9 – 12 – группа К нагрет, 13-16 – группа С нагрет

в сердце (рис. 2в, 3) также отмечали увеличение ( $P = 0,083$ ). После теплового воздействия содержание Hsp70 увеличилось в разной степени в разных тканях (рис. 2 и 3), при этом у крыс IV группы не было разницы в индукции Hsp70 при тепловом стрессе по сравнению с контролем (II группа). Серпистен не способствует увеличению содержания Hsp70 в тканях крысы после теплового воздействия в отличие от лимонника, который усиливает экспрессию Hsp70 у крыс после перегревания, действуя синергично теплу. Содержание конститутивного белка Hsc70 в сердце и гиппокампе практически не изменилось, а в печени отмечено увеличение ( $P = 0,021$ ) его содержания после курса Серпистена в суммарной дозе 12 мг/кг (рис. 4). Можно полагать, что введение Серпистена запускает механизмы срочной адаптации, наилучшим образом проявляющиеся в печени и сердце крыс (Hsp70), что свидетельствует об активации защитных механизмов клетки. Увеличение Hsc70 отмечено лишь в печени при введении суммарной дозы Серпистена 12 мг/кг, что можно связать с увеличением биосинтеза белков в печени.

Данные, полученные в настоящем исследовании, демонстрируют способность Серпистена при курсовом введении крысам в суммарной дозе 12 мг/кг активизировать двигательную и исследовательскую активность животных (тест ОП), с другой стороны, отмечены признаки, характерные для повышенной тревожности животных (тест ПКЛ). Найденные изменения поведенческой активности усиливаются после теплового стресса на фоне введения Серпистена. Увеличение массы надпочечников после курса Серпистена в совокупности с тепловым стрессом также свидетельствует об усилении Серпистеном реакции организма на тепловой стресс. Возможно, Серпистен вмешивается в активацию оси

гипоталамус–гипофиз–кора надпочечников и симпатно-адреналовой системы. Однако пока не ясно, на каком уровне организации стресс-реакции действует Серпистен и каковы клеточные и молекулярные механизмы его действия.

Непосредственное действие Серпистена на нейроны улитки в широком диапазоне доз, начиная с 0,01 мкг/мл, выявило неселективную активацию натриевого и кальциевого трансмембранных токов [14], что можно объяснить неспецифическим действием экдистероидов на мембраны нервных клеток. Активирующее действие 20Е на  $Na^+/H^+$  обмен в слюнных железах дрозофилы является  $Ca^{2+}$ -зависимым [15]. Также было недавно показано усиление входа кальция в клетки скелетных мышц мыши под влиянием 20Е [16]. Возможно, механизм неспецифической активации нейронов усилением входящих кальциевых токов под действием Серпистена объясняет активизацию поведения, обнаруженную в данном исследовании.

Известно, что повышение содержания индуцибельного белка стресса семейства 70 является отражением действия на клетки организма возбуждающих/стрессирующих факторов. Поэтому обнаруженное нами увеличение содержания Hsp70 в тканях крысы после курсового введения Серпистена также свидетельствует о том, что фитоэкдистероиды оказывают стрессподобное действие, являясь мягкими стрессорами (или прострессорами), не вызывающими повреждений. Поскольку увеличение устойчивости (адаптация) клеток и организма в целом формируется в ответ на предъявляемый вызов, то увеличение содержания в тканях защитного белка Hsp70 отражает процесс срочной адаптации, в данном случае происходящий под влиянием фитоэкдистероидов. Приобретение более долговременной устойчи-

ности, связанной с активацией пластических процессов и повышением энергетического потенциала клеток, невозможно без участия конститутивного белка Hsc70 [6], увеличение содержания которого отмечено нами в печени после курсового введения Серпистана. Очевидно, печень является органом первой линии при пероральном введении экдистероидов. Анаболическое действие экдистероидов на печень и стимуляция синтеза белка в печени грызунов были обнаружены ещё 40 лет назад [17]; фитоэкдистероиды оказывают также гепатопротекторный и восстанавливающий функцию печени эффект при ее токсическом повреждении [18].

По всей видимости, важным механизмом действия фитоэкдистероидов, объясняющим их стимулирующее действие на биосинтез клеточных белков, служит потенцирование сигнального пути, связанного с поступлением ионов кальция в клетку, активацией фосфатидилинозитол-3 киназы (PI3 киназы) и протеинкиназы B (Akt), что в конечном итоге приводит к активации белкового синтеза и повышению выживаемости клетки [16]. У хлопковой совки (*Helicoverpa armigera*) Hsc70 принимает непосредственное участие в передаче сигнала от 20E через связывание с белком USP1 и последующим запуском экспрессии 20E-связанных генов [19]. У млекопитающих Hsc70 совместно с Hsp90 участвует в регуляции активности Akt. В период восстановления после стресса Hsc70 накапливается в ядрышках, этот процесс невозможен без участия протеинкиназ, в частности, PI3 киназы [20].

Необходимо дальнейшее изучение системных и клеточных механизмов действия фитоэкдистероидов, что представляет несомненный научный интерес, а также обусловлено потребностью в подобных препаратах для практического здравоохранения.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке программы президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № 12-П-4-1023: «Научные основы создания адаптогенных и геропротекторных средств растительного происхождения»).*

### Литература

1. Lafont R. Phytoecdysteroids in the World flora: diversity, distribution, biosynthesis and evolution // *Rus. J. Plant Physiol.* 1998. V. 45. P. 276–295.
2. Dinan L. Phytoecdysteroids: biological aspects // *Phytochem.* 2001. V. 57. P. 325–339.

3. Уфимцев К.Г., Ширшова Т.И., Володин В.В. Фитоэкдистероиды – детерренты насекомых-фитофагов. Екатеринбург. 2009. 89 с.

4. Lafont R., Dinan L. Practical uses for ecdysteroids in mammals and human: an update // *Insect. Sci.* 2003. V. 3. № 7. 30 p.

5. Bathori M., Toth N., Hunyadi A. et al. Phytoecdysteroids and anabolic-androgenic steroids structure and effects on humans // *Curr. Med. Chem.* 2008. V. 15. № 1. P. 75–91.

6. Фитоэкдистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.

7. Дильман В.М. Четыре модели медицины. Л.: Медицина, 1987. 288 с.

8. Андреева Л.И., Бойкова А.А., Маргулис Б.А. Особенности внутриклеточного содержания и функциональная роль белков теплового шока семейства 70 кДа при стрессе и адаптации // *Технологии живых систем.* 2009. Т. 6 № 3. С. 11–17.

9. Пошивалов В.П. Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах. М. 1978. 43 с. (Деп. в ВИНТИ; № 3164-78).

10. Green S., Hodges H. Animal models of anxiety // *Behavioural models of psychopharmacology* / Ed. by P. Willner. Cambridge: CUP, 1991. P. 21–49.

11. Bradford M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976. V. 72. P. 248–254.

12. Laemmli R.K. Cleavage and structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* 1970. V. 227. P. 680–685.

13. Towbin H., Staehelin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1979. V. 7. P. 4350–4354.

14. Вислобоков А.И., Володин В.В., Игнатов Ю.Д. и др. Влияние экдистероидной фракции из *Serratula coronata* на трансмембранные ионные токи нейронов улитки // *Эксперим. клин. фармакол.* 2006. Т. 69. № 6. С. 9–12.

15. Schneider S., Wunsch S., Schwab A., Oberleithner H. Rapid activation of calcium-sensitive Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange induced by 20-hydroxyecdysone in salivary gland of *Drosophila melanogaster* // *Mol. Cell. Endocrinol.* 1996. V. 116. № 1. P. 73–79.

16. Gorelick-Feldman J., Cohick W., Raskin I. Ecdysteroids elicit a rapid Ca<sup>2+</sup> flux leading to Akt activation and increased protein synthesis in skeletal muscle cells // *Steroids.* 2010. V. 75. № 10. P. 632–637.

17. Otaka T., Okui S., Uchiyama M. Stimulation of protein synthesis in mouse liver by ecdysterone // *Chem. Pharm. Bull.* 1969. V. 17. № 1. P. 75–81.

18. Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Комарин А.С. и др. Экспериментальная и клиническая оценка эффективности экдистена в лечении гепатита // Эксперим. клин. фармакол. 2004. Т. 68. № 5. С. 56–59.

19. Zheng W.W., Yang D.T., Wang X.J. et al. Hsc70 binds to ultraspiracle resulting in the upregulation of 20-hydroxyecdysone-responsive genes in *Helicoverpa*

*armigera* // Mol. Cell. Endocrinol. 2010. V. 315. № 1-2. P. 282–291.

20. Banski P., Mahboubi H., Kodiha M. et al. Nuclear targeting of the chaperone HSC70 is regulated by stress, cell signaling and a composite targeting signal which is controlled by autoinhibition // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. № 28. P. 21858–21867.

УДК 612.111: 577.25: 581.198:547.918

## Гематопротекторное действие экдистероидсодержащей субстанции Серпистен

© 2012. Н. А. Мойсеенко<sup>1</sup>, к.б.н., доцент, Ж. Е. Иванкова<sup>1</sup>, к.б.н., доцент,  
Е. Н. Репина<sup>1</sup>, к.б.н., доцент, В. В. Володин<sup>2</sup>, д.б.н., зав лабораторией,

<sup>1</sup> Сыктывкарский государственный университет,

<sup>2</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,  
e-mail: volodin@ib.komisc.ru

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

The effect of ecdysteroid containing preparation Serpisten on blood indices of laboratory animals (rats, rabbits) in norm and induced hemolytic (phenylhydrazine) and post-hemorrhagic anemia is studied. It is found that on the background of hemolytic anemia in rats the introduction of Serpisten reduces reticulocytosis as compared with the animals, treated with hemolytic poison, reduces number of erythrocytes with Heinz bodies, as well as number of autorosettes. It is shown that in condition of hemolytic anemia introduction of Serpisten improves phagocytic activity and the total sum of absorbed cells. Similar effects of Serpisten were observed in the experiments on rabbits with bloodletting. Serpisten can be considered as a potential hematoprotective remedy.

Ключевые слова: анемия, фенилгидразин, эритроцит, лейкоцит, ретикулоцит, тельца Гейнца, осмотическая резистентность, гемоглобин, фагоцитоз, фитоэкдистероиды, Серпистен

Keywords: anemia, phenylhydrazine, erythrocyte, leukocyte, reticulocyte, Heinz bodies, osmotic resistance, hemoglobin, phagocytosis, phytoecdysteroids, Serpisten

Фитоэкдистероиды – полигидроксированные стероидные соединения, структурно близкие гормонам линьки и метаморфоза насекомых, обладающие фармакологическим действием на млекопитающих и человека. Известно более 250 различных экдистероидов, найденных в растениях. Наиболее перспективными в качестве источников экдистероидов являются растения из родов *Serratula* (Astraceae) и *Silene* (Caryophyllaceae) [1]. Мы

исследовали действие на показатели крови экдистероидсодержащей субстанции Серпистен (*далее* – Серпистен), которая была выделена из надземной части растений серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.) в лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН (зав. лаб. проф. В.В. Володин) [2]. Состав субстанции: 20-гидроксиэкдизон (20E) – 80, инокостерон – 11, экдизон – 4% и другие минорные

компоненты. К настоящему времени ещё не выявлен весь спектр благоприятного фармакологического действия фитоэкдистероидов, а также не установлен полностью механизм их действия у теплокровных животных.

Цель данной работы заключалась в исследовании влияния Серпистана на показатели крови лабораторных животных (крысы, кролики) в норме и при вызванных гемолитической (фенилгидразин) и постгеморрагической (кровопускание) анемиях.

### **Материал и методы**

Материалом исследования служила смешанная артерио-венозная кровь, которую брали методом тотального обескровливания путем декапитации (крысы) на фоне легкого хлороформного наркоза, стабилизировали гепарином в разведении 1:1 в 0,9% NaCl. У кроликов кровь для текущего анализа брали пункцией краевой вены уха в объеме 1,0-1,3 мл, при кровопускании – 20% общего её объема, исходя из расчёта 5,4% массы тела [3].

Параметры красной и белой крови определяли известными в лабораторной и клинической практике методами [4]. Концентрацию ретикулоцитов (Рт) определяли пробирочным методом Гейльмейера с учетом возрастных стадий созревания клеток. Одновременно определяли количество клеток с тельцами Гейнца. Щелочерезистентность гемоглобина (Нб) определяли по Зингеру [5] в нашей модификации: резистентность Нб определяли в течение более длительного времени (3, 5, 10 и более мин) в том случае, если требовался больший период времени действия денатурирующего агента, в качестве которого использовался гидроксид натрия; в работе использовали 5% гемолизаты эритроцитов (Эр). Электрофоретические свойства Нб определяли электрофорезом в вертикальных блоках, полиакриломидного геля – по Г. Мауреру [6] в модификации для химической полимеризации гелей (система № 1). Кислотную резистентность Эр определяли по И.И. Гильтезону и И.А. Терскову [7], используя 0,002 н HCl и отслеживая процесс гемолиза Эр каждые 15 с. Осмотическую резистентность Эр определяли унифицированным методом с использованием раствора хлорида натрия с убывающей (интервал 0,05%) концентрацией от 0,9 до 0,2% в известной модификации Л.И. Идельсона. Резервные возможности поверхностной мембраны и осморегуляции лейкоцитов определяли по методу М. З. Федоровой и В.Н. Левина [8]. Диаметры эритроци-

тов и лейкоцитов измеряли прямым микроскопическим методом под масляной иммерсией с помощью микрометра окулярного винтового МОВ-1 [5]. Морфо-функциональные характеристики Эр и лейкоцитов (размеры, форма, площадь поверхности) определяли расчётным путем [4, 5]. Число розеткообразующих клеток определяли по методу Д. И. Бельченко [9]. Фагоцитарную активность нейтрофилов и моноцитов определяли методом дрожжевого фагоцитоза [10]. Адгезионные свойства лейкоцитов определяли по методу Л. Г. Зайцева [11]. Гемолитическую анемию вызывали двух-трёхкратными подкожными инъекциями 2,5% раствора фенилгидрозина (ФГ) в 0,9% NaCl [12]. В работе использовали 0,3% раствор Серпистана в физиологическом растворе. Инъецировали внутримышечно по 5–20 мкг/кг (до анемизации животных и на фоне анемии). Физиологический раствор (0,9% водный раствор NaCl) использовали в качестве плацебо (контроль).

### **Результаты и обсуждение**

Показано, что в ответ на введение ФГ или кровопускание в крови крыс и кроликов соответственно отмечаются снижение концентрации Эр, Нб и показателя гематокрита по сравнению с интактными, что указывает на развитие анемии. Это повлекло за собой снижение вязкости крови и увеличение скорости оседания Эр. Указанные изменения наиболее выражены в ответ на введение гемолитического яда, слабее – в ответ на введение ФГ на фоне предварительных инъекций Серпистана и наименее – на кровопускание. При гемолитической анемии в крови существенно ( $p < 0,001$ ) увеличивается количество телец Гейнца, которые представляют собой преципитат денатурированных под влиянием ФГ липидов и белков поверхностных мембран Эр и содержащегося в них Нб [13 – 15], т. е. являются гемотоксическим эффектом действия этого гемолитического яда. Доля Эр с тельцами Гейнца является индикатором глубины анемии. В связи с этим интересно отметить, что в случае развития гемолитической анемии на фоне предварительного введения Серпистана доля Эр с тельцами Гейнца оказывается существенно ниже ( $p < 0,01$ ), чем в случае реакции только на введение ФГ –  $43,5 \pm 1,8$  и  $89,5 \pm 1,5\%$  соответственно. Это подтверждает вышеуказанное предположение о менее глубокой анемизации крыс в случае, если анемия развивалась на фоне предварительных инъекций Серпи-

стена. В этом мы видим гематопротекторное и адаптогенное действие Серпистена, в основе которых лежит его мембраностабилизирующее действие [1]. В зимний период названные эффекты более выражены, нежели в летний, что, по-видимому, является отражением сезонных перестроек поверхностных мембран Эр.

Кроме того, в ответ на введение ФГ в крови крыс наблюдается резкое увеличение количества ауторозеток ( $p < 0,001$ ). Феномен ауторозеткообразования заключается в прилипании Эр к моно- и гранулоцитам с образованием структур, напоминающих розетки. Они способствуют освобождению крови от патологически измененных, поврежденных или стареющих Эр [9]. Инъекции Серпистена приводят к снижению в крови крыс количества ауторозеток, что свидетельствует о «нормализации» состояния поверхностных мембран Эр и, как результат, меньшей подверженности их действию гемолитического яда ФГ.

Свидетельством повреждения мембраны при действии ФГ является также снижение осмотической резистентности Эр, при этом в крови отчетливо выделяются популяции Эр с низкой устойчивостью к гипотонической среде (рис. 1). Предварительные инъекции плацебо или Серпистена приводили к тому, что осмотическая резистентность Эр в ответ на инъекции ФГ практически не изменялась по сравнению с интактными животными. При этом резистентность Эр при действии Серпистена более близ-

ка к значениям, полученным для интактных животных, по сравнению с действием физиологического раствора. Этот факт можно считать проявлением адаптивного и мембраностабилизирующего действия субстанции. В аналогичных экспериментах с лейкоцитами показано, что в ответ на ФГ «резервные возможности» их поверхностных мембран используются максимально. В итоге большое количество клеток погибает. В ответ же на введение Серпистена, независимо от дозы, мембранный резерв используется неполно, т. е. Серпистен оказывает мембраносберегающее действие через стабилизацию мембран.

Благоприятным прогнозом выхода из состояния анемии является увеличение в крови доли незрелых Эр – Рт, концентрация которых является показателем интенсивности работы органов кроветворения. Особенно сильно увеличивается доля Рт в ответ на ФГ: с 15–23 (группа интактных животных) до 176–360‰ (группа опытных животных с вызванной гемолитической анемией), т. е. в 8–18 раз. В крови появляются Рт II стадии зрелости по Гейльмейеру (рис. 2), которые отсутствуют у интактных животных, свидетельствуя о значительной интенсификации кроветворения. Введение Серпистена снижает уровень ретикулоцитоза по сравнению с животными, которым вводился только ФГ, сдвигая его к уровню интактных (адаптивный эффект Серпистена). При этом «нормализация» уровня Рт сильнее выражена

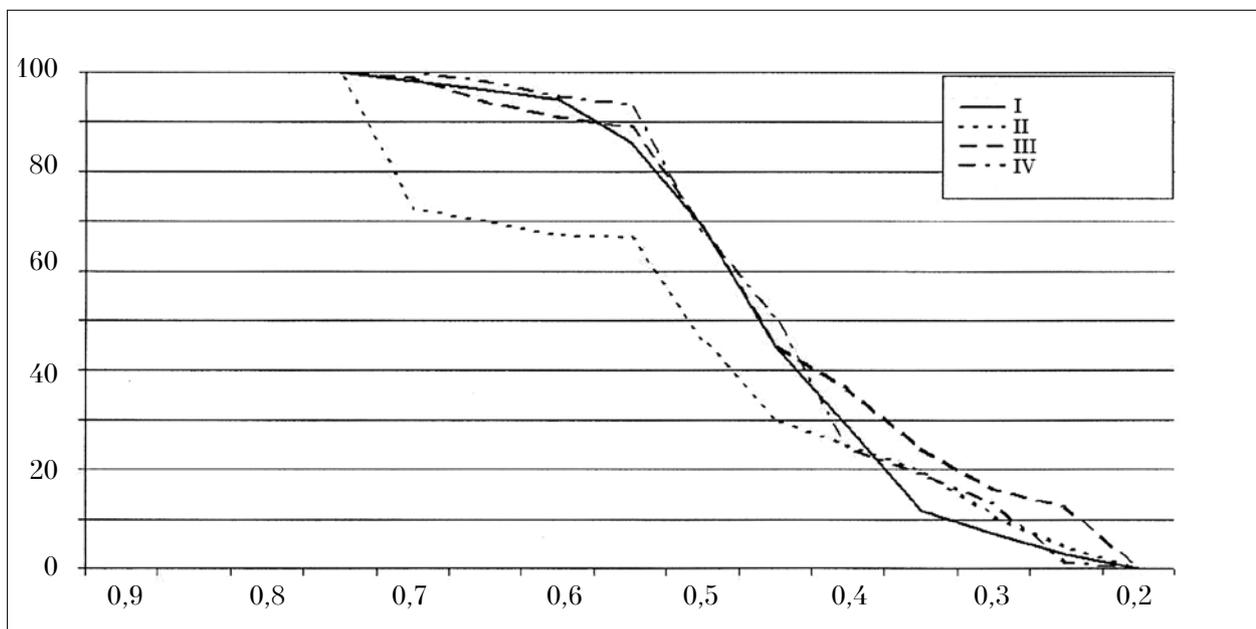
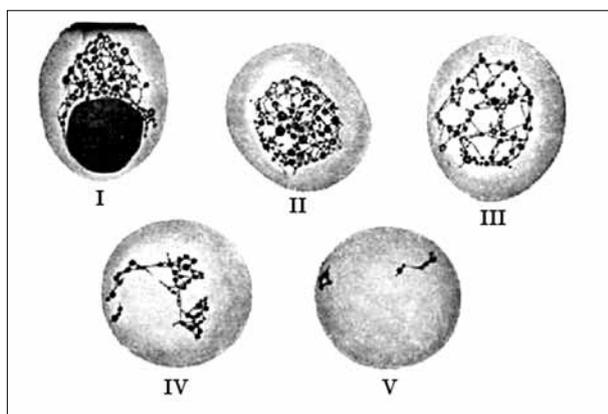


Рис. 1. Осмотическая резистентность эритроцитов крыс.

Условные обозначения: I – интактные, II – фенилгидразин, III – Серпистен + фенилгидразин, IV – фенилгидразин в физиологическом растворе. По оси абсцисс – концентрация растворов NaCl, %. По оси ординат – количество резистентных клеток, %



**Рис. 2.** Ретикулоциты. Римскими цифрами обозначены стадии зрелости по Гейльмейеру

в тех опытах, в которых Серпистен вводили до введения ФГ, т. е. анемизация животных оказывалась менее глубокой (мембраностабилизирующий эффект). В крови при этом не отмечали Рт II стадии зрелости, уменьшено число Эр с тельцами Гейнца и количество ауторозеток. Всё это – свидетельства нормализации состояния Эр и лейкоцитов и их поверхностных мембран через стабилизацию. В любом варианте анемизации отмечено ускорение созревания Рт, о чем судили по сдвигу возрастной ретикулоцитарной формулы влево, в сторону более молодых форм, и уменьшению в крови доли более зрелых клеток. Изменения состояния клеток сказываются на их функциях, а также на физико-химических и функциональных свойствах содержания в них Нв.

Нами проведён анализ изменения показателей фагоцитоза крыс Wistar под действием Серпистена на фоне гемолитической анемии (ФГ при введении в дозе 7,5 мг/кг двукратно). Как и ожидалось, фагоцитарная активность лейкоцитов существенно снижается при действии ФГ (табл.). Однако, если ФГ вводили на фоне предварительной инъекции Серпистена

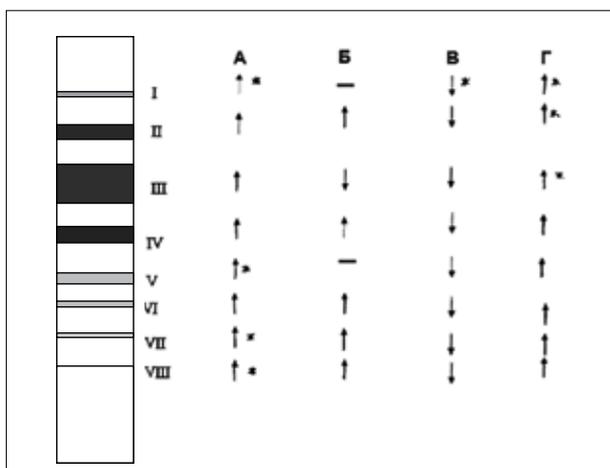
(20 мг/кг), то его гемолитический эффект не проявлялся, по-видимому, вследствие нормализации структурно-функциональной организации поверхностной мембраны под действием изучаемого препарата. Более того, показатели фагоцитарной активности и суммы поглощённых клеток в группе животных, получавших Серпистен, даже превышают уровень интактных. Наблюдаемые явления мы рассматриваем как одновременное проявление мембраностабилизирующего и стимулирующего фагоцитарную активность лейкоцитов действия Серпистена. Кроме того, показано что под влиянием Серпистена снижаются адгезионные способности лейкоцитов, что, в свою очередь, должно приводить к улучшению микроциркуляции крови.

Параллельно изменениям свойств поверхностной мембраны Эр изменяются физико-химические характеристики Нв. В опытах *in vitro* показано, что обработка цельных Эр крыс раствором ФГ приводит к снижению относительной электрофоретической подвижности всех фракций Нв по сравнению с интактными (рис. 3). При сочетанном действии ФГ и 20Е наблюдали противоположный эффект: электрофоретическая подвижность всех фракций Нв повышалась. Аналогичный эффект наблюдали и при обработке эритроцитарной массы только раствором 20Е, причём он более выражен, чем в присутствии ФГ: относительная электрофоретическая подвижность всех семи фракций Нв увеличивалась. Сочетанное действие Серпистена и ФГ даёт тот же эффект, что и собственно Серпистен, т. е. мембрана Эр в присутствии Серпистена не реагирует на гемолитический яд. Обработка же гемолизатов (водных растворов Нв) либо не изменяет, либо незначительно изменяет подвижность фракций. Отсюда следует, что изменения зарядных свойств Нв обусловлены, пре-

**Таблица**  
Показатели фагоцитоза самцов (верхняя строка) и самок (нижняя строка) крыс Wistar при действии фенилгидразина и Серпистена

Показатель, %	Группа		
	А	Б	В
Фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов	44,2 ± 0,4	28,2 ± 0,9**	55,9 ± 2,7** <sup>a</sup>
	44,4 ± 1,5	27,6 ± 4,1*	67,7 ± 5,8* <sup>a</sup>
Сумма поглощённых клеток	94,4 ± 3,6	64,5 ± 2,0**	138,3 ± 12,9* <sup>a</sup>
	135,1 ± 3,6	66,6 ± 9,2*	162,4 ± 11,8
Фагоцитарный индекс	2,1 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,4 ± 0,2
	3,0 ± 0,8	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,5

*Примечание:* А – интактная, Б – фенилгидразин, В – фенилгидразин + Серпистен. В каждой группе было по восемь самцов и восемь самок. Разница с интактными животными достоверна при \**p* < 0,01 и \*\**p* < 0,001; с фенилгидразиновой группой – при <sup>a</sup>*p* < 0,01.



**Рис. 3.** Схема электрофореза гемоглобина (Hb) крыс. Римскими цифрами обозначены номера анодных фракций гемоглобина согласно их подвижности в электрическом поле; стрелками – направления изменения электрофоретической подвижности фракций. Изменения электрофоретической подвижности фракций Hb животных опытных групп по сравнению с интактными животными достоверны (\*) ( $p < 0.05$ ). Прочерк – изменений нет  
 Условные обозначения: А – эритроцитарная масса с добавлением 20Е, Б – гемолизат с добавлением 20Е; В – эритроцитарная масса, обработанная фенолгидразином (ФГ), Г – эритроцитарная масса, обработанная смесью 20Е и ФГ.

жде всего, изменениями поверхностной мембраны, с которой молекулы Hb связаны структурно [16], т. е. Серпистен оказывает отчетливое мембраностабилизирующее действие не только в условиях *in vivo*, но и *in vitro*. При этом изменяется и щелочерезистентность Hb, свидетельствуя об изменении конформации молекул. Любопытно, что изменения щелочерезистентности противоположны изменениям электрофоретической подвижности. Изменения физико-химических свойств Hb должны сказываться на его функциональных свойствах.

Аналогичные эффекты Серпистена наблюдали и в экспериментах на кроликах с кровопусканием. Нами показано, что в этих условиях, по сравнению с интактными животными, происходит ускорение восстановления всех показателей крови после дозированной кровопотери. Концентрация Эр восстанавливается уже к девятому, а Hb и Рт – к 15 дню с ускорением созревания последних, тогда как без инъекции Серпистена восстановление концентрации Hb происходит только к 18-21, а Рт – к 28 дню. Кривые осмотического и кислотного гемолиза Эр, отслеживаемые через каждые три дня после кровопотери, на фоне Серпистена имеют гораздо меньший разброс. Ретикулоцитоз также плавно нарастал, достигая миниму-

ма к девятому дню, а затем так же постепенно снижался. В целом же следует отметить, что явление анемизации при кровопускании выражено гораздо слабее, чем при действии гемолитического яда.

Таким образом, Серпистен может рассматриваться как потенциальное гематопротекторное средство, прежде всего, при гемолитических анемиях, благодаря стабилизации мембран Эр, а также как средство, облегчающее выход организма из патологического состояния анемии благодаря гематостимулирующему и активирующему фагоцитоз действию.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № 12-П-4-1023: «Научные основы создания адаптогенных и гемопротекторных средств растительного происхождения»).*

### Литература

1. Фитоэкдистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука 2003. 293 с.
2. Патент № 2153346, Российская Федерация, МКИЗ А61К35/78. Способ получения экдистероидов / В.В., Володин, С.О. Володина; Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; № 99106351/14; заявл. 29.03.99; опубл. 27.07.2000. Бюл. № 21.
3. Западнюк И.П., Западнюк В.И. Захария Е.А. Лабораторные животные. Киев: Выща школа, 1974. 304 с.
4. Лабораторные методы исследования / Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 369 с.
5. Тодоров Й. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София. 1963. 665 с.
6. Маурер Г. Диск-электрофорез. Теория и практика электрофореза в полиакриломидном геле. М.: Мир, 1971. 215 с.
7. Гительзон И.П., Терсков И.А. Метод кислотных эритрограмм // Биофизика. 1957. Вып. 2. С. 259–266.
8. Федорова М.З., Левин В.Н. Метод комплексного исследования геометрии, площади поверхности, резервных возможностей мембраны и осморегуляции лейкоцитов крови // Клиническая диагностика. 1997. № 11. С. 9. Бельченко Д.И. Внутрисосудистое ауторозеткообразование при гемолитической анемии // Гематол. трансфузиол. 1992. № 4. С. 23–25.
10. Иммунологические методы. М.: Медицина, 1987. 472 с.
11. Зайцев Л.Г. Комплексный анализ гемореологических профилей у мужчин и женщин при разных функциональных состояниях организма: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М. 2000. 32 с.
12. Стародуб Н.Ф. Изучение свойств фракций гемоглобина крыс // Биохимия. 1974. Т. 39. № 4. С. 757–761.

13. Василенко Н.М. Действие ксенобиотиков на систему крови // *Общая токсикология*. М.: Медицина, 2002. С. 258–259.

14. Packer L. Nitric oxide part B physiological processes // *Methods Enzymol*. 1996. V. 269. P. 66–78.

15. Gross P. Biological activity of hydroxyl-amine // *CRC Crit. Rev. Toxicol*. 1985. V. 14. P. 87–99.

16. Молчанова Т.П. Основы молекулярной организации белков мембраны эритроцитов и их дефекты, приводящие к гемолитическим анемиям // *Гематол. трансфузиол*. 1989. № 7. С. 32–41.

УДК 612.111: 577.25: 581.198:547.918

### **Антиагрегационное и стресс-лимитирующее действие экдистероидсодержащей субстанции Серпистен**

© 2012. Н. Б. Петрова<sup>1</sup>, к.б.н., доцент, В. В. Володин<sup>2</sup>, д.б.н., зав. лабораторией,

<sup>1</sup> Сыктывкарский государственный университет,

<sup>2</sup> Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

e-mail: nbp1959@yandex.ru

Исследовано действие эдкдистероидсодержащего препарата Серпистена и преднизолонa на агглютинабельность и адренореактивность эритроцитов и состояние симпато-адреналовой системы крыс в покое и при иммобилизационном стрессе. Показано, что при введении за 24 ч до иммобилизации у крыс Серпистен способствует сохранению исходной агглютинабельности и адренореактивности эритроцитов и препятствует чрезмерной активации симпато-адреналовой системы. У человека двухнедельный прием Серпистена приводит к стимуляции эритропоэза и снижению десенситизации клеточных мембран к действию катехоламинов. В обоих случаях применение Серпистена приводит к снижению ответа на стрессорное воздействие.

Effects of edysteroid containing preparation Serpisten and prednisolone on erythrocytes agglutinability and adrenoactivity and also condition of sympatho-adrenal system in dormantlcy and in the state of immobilization stress are studied. In comparison with prednisolone Serpisten promotes preservation of the original level of adrenoactivity of erythrocytes and prevents excessive activation of sympatho-adrenal system when introduced in rats 24 hours prior to immobilization. In humans, a 2-week course of nutritional intake off Serpisten leads to stimulation of erythropoiesis and reduction of desensitization of the cell membrane to the action of catecholamines. In both cases stress response is reduced.

**Ключевые слова:** симпато-адреналовая система, адренореактивность, реакция агглютинации эритроцитов, фитоэдкдистероиды, Серпистен

**Keywords:** sympatho-adrenal system, adrenoactivity, erythrocyte agglutinability reaction, phytoecdysteroids, Serpisten

В последнее десятилетие возрос интерес к использованию при различных патологиях и дизадаптивных состояниях препаратов природного происхождения – адаптогенов, обладающих в большинстве случаев малой токсичностью и широким спектром регулирующих эффектов. Одним из новых адаптогенных средств является Серпистен, представляющий собой смесь очищенных эдкдистероидов из растения серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.) [1]. К настоящему времени показан ряд положительных эффектов Серпистена на физиологические функции млекопитающих. В литературе имеется достаточно дан-

ных, указывающих на существенную роль вегетативной нервной системы и её адренергического звена в регуляции системы крови на стрессорные воздействия, а также неоспоримо значение адренергической системы для реализации эффекта адаптогенов [2]. Однако механизмы её участия для проявления эффектов фитоэдкдистероидов неизвестны.

Цель настоящей работы – охарактеризовать свойства эритроцитарной мембраны (агглютинабельность, адренореактивность) и состояние симпато-адреналовой системы у млекопитающих (крыса, человек) при действии стрессорных факторов и их возможную кор-

рекцию с помощью препаратов стероидной природы (Серпистена и синтетического аналога глюкокортикоидных гормонов – преднизолона).

### Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 73 самцах (масса  $230 \pm 18$  г) белых беспородных крыс (возраст 3-4 и 12 мес). Иммунизационный стресс производили жёсткой фиксацией крысы в положении «лёжа на спине» на 30 мин. Серпистен в дозе 20 мг/кг массы животного вводили внутримышечно (в виде 0,3% раствора) за 24 ч до иммунизационного стресса. Для выяснения механизма действия Серпистена были проведены дополнительные исследования с использованием синтетического аналога глюкокортикоидных гормонов позвоночных животных – преднизолона (Индия), который также вводился за 24 ч до иммунизации животного, но в меньшей дозе – 5,71 мг/кг (из расчёта максимально допустимой концентрации для терапевтического эффекта). Кровь крыс брали методом тотального обескровливания путем декапитации животных после легкого хлороформного наркоза. Кровь стабилизировали гепарином. Все эксперименты проводили с соблюдением биоэтических правил.

Проведены исследования по влиянию Серпистена (Гр № 77.99.23.3.У.1923.3.08) на показатели периферической крови и состояние симпатно-адреналовой системы (САС) человека. Испытуемые – практически здоровые люди: девять юношей и пять девушек в возрасте 18–22 лет принимали per os 5 мг Серпистена ежедневно в течение двух недель утром после легкого завтрака. В качестве стрессирующего агента использовали физическую нагрузку (проба Летунова), которая предназначена для оценки адаптации организма к работе на выносливость. Медицинский персонал забирал кровь в специально оборудованном помещении утром натощак венопункцией из локтевой вены до и после двухнедельного приема субстанции биологически активной добавки Серпистен, до и после физической нагрузки. Показатели периферической крови определяли общепринятыми в лабораторной и клинической практике методами [3].

Агрегационную способность эритроцитов (Эр) оценивали с помощью метода фитогемагглютинации с использованием лектинов – фитогемагглютининов (ФГА). Растворы ФГА получали путем экстрагирования их из размоло-

тых семян гороха посевного (*Pisum sativum*). Количественное измерение реакции агглютинации проводили в камере Горяева на 10-, 20-, 30- и 40-й мин наблюдения [4]. ФГА обладают свойством избирательно связываться с олигосахаридными участками интегральных гликопротеидов мембраны Эр. Результатом развивающегося взаимодействия является склеивание Эр друг с другом – реакция агглютинации Эр (РАЭ). Оценку состояния САС и адренореактивности организма крысы и человека осуществляли с помощью метода фитогемагглютинации в сочетании с пропранололовым тестом [5] и дополнительно для человека – методом осмотического гемолиза Эр с добавлением  $\beta$ -адреноблокатора [6].

Статистическую обработку проводили с использованием параметрических и непараметрических методов. Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента [7]. Для расчётов и графической обработки данных использовали приложение Microsoft Office 97, Microsoft Excel 8.0.

### Результаты и обсуждение

Известно, что независимо от видовой или половой принадлежности, возраста, функционального состояния организма человека и животных РАЭ на ФГА с течением времени (с 10-й по 40-ю мин наблюдения) возрастает. Однако степень увеличения в значительной степени варьирует и зависит от состояния мембраны Эр и воздействий, оказываемых на неё [8].

#### Влияние Серпистена на свойства эритроцитарной мембраны и активность САС крыс

У интактных крыс на 10-й мин наблюдения РАЭ составляла 27–28%, на 40-й мин доля агглютинировавшихся Эр возрастала у 3-4- и 12-месячных крыс до 65 и 56% соответственно (табл. 1, 2). Под действием пропранолола (ПП) у всех крыс РАЭ снижалась. Выраженность и дозо-зависимость эффекта ПП определяется как состоянием эффекторного звена –  $\beta$ -адренорецепторов на мембранах клеток-мишеней, так и активностью центральных адренергических стресс-реализующих структур [9, 10]. Выраженность эффекта ПП на РАЭ у интактных крыс была высокая и составляла на 10- и 40-й мин 19–20 и 10–16% соответственно. Значительный эффект на ПП свидетельствовал о неактивированном состоя-

Таблица 1

Влияние стресса и экидстероидсодержащей субстанции Серпистен на реакцию агглютинации эритроцитов крыс в контроле (верхняя строка) и под действием пропранолола (нижняя строка),  $X \pm \sigma$

Время, мин	Группа животных		
	А	Б	В
10-я	27,4 ± 3,9	49,1 ± 6,5*	28,5 ± 8,5**
	21,8 ± 6,8	41,5 ± 4,4	19,4 ± 8,5
20-я	32,1 ± 5,0	57,2 ± 6,5*	40,0 ± 4,6**
	26,9 ± 4,4	52,0 ± 4,1	30,5 ± 7,6
30-я	41,8 ± 5,3	61,7 ± 6,6*	53,1 ± 4,5**
	33,8 ± 3,6	54,7 ± 5,1	41,9 ± 7,2
40-я	56,0 ± 3,0	68,1 ± 6,8*	58,9 ± 1,2**
	43,9 ± 2,4	60,2 ± 6,3	48,4 ± 4,3

Примечание: разница статистически значима между реакцией агглютинации эритроцитов крыс интактной (А) и стрессовой (Б) групп при  $p < 0,001$  (\*), стрессовой и группы серпистен + стресс (В) при  $p < 0,01$  (\*\*).

Таблица 2

Влияние стресса и преднизолон на реакцию агглютинации эритроцитов крыс в контроле (верхняя строка) и под действием пропранолола (нижняя строка),  $X \pm \sigma$

Время, мин.	Группа животных			
	А	Б	В	Г
10-я	28,32 ± 1,67	21,7 ± 1,35*	**66,3 ± 1,41*	**41,2 ± 1,91*
	23,17 ± 3,72	22,16 ± 2,66	64,8 ± 1,9	37,5 ± 2,5
20-я	46,5 ± 1,97	35,6 ± 1,22*	**71,5 ± 2,64*	**47,0 ± 1,58
	37,8 ± 3,8	34,14 ± 2,38	68,5 ± 3,28	43,9 ± 1,78
30-я	53,7 ± 1,52	48,7 ± 1,03*	**74,4 ± 2,3*	**57,2 ± 2,1
	45,9 ± 1,56	47,1 ± 1,61	72,86 ± 2,27	50,7 ± 1,28
40-я	65,1 ± 1,94	57,7 ± 2,44*	**79,69 ± 1,04*	**68,5 ± 0,58
	58,7 ± 1,81	56,1 ± 2,68	76,9 ± 0,8	61,9 ± 1,43

Примечание: разница статистически значима между реакцией агглютинации эритроцитов крыс интактной (А) и экспериментальных групп: преднизолон (Б), стресс (В) и преднизолон + стресс (Г) при  $p < 0,001$  (\*); стресс (В) и группами преднизолон (Б) и преднизолон + стресс (Г) при  $p < 0,01$  (\*\*).

нии САС у интактных животных [5]. Наблюдалась линейная зависимость эффекта ПП от времени его действия: с увеличением времени действия эффект β-адреноблокатора снижался. Подобная зависимость отражает высокую адренореактивность Эр и сохранение нормального функционального состояния адренорецепторов на мембране Эр.

Иммобилизационный стресс значительно дестабилизировал мембрану Эр. Агглютинативность Эр увеличивалась в 1,5-2,0 раза на 10-й мин наблюдения. При иммобилизационном стрессе в сосудистое русло выходят депонированные «старые» Эр со сниженной ферментативной активностью  $Na^+ - K^+ - АТФ - азы$  и холинэстеразы [11]. Они обладают сниженным электрическим зарядом и поэтому быстро агглютинируют. Кроме того, известно, что при стрессе отмечается сдвиг рН крови в кислую сторону, что сказывается на состоянии мембран эритроцитов. Показано, что при метаболическом ацидозе (сахарный диабет) увеличивается вязкость крови, повышается агрегация,

уменьшается деформируемость эритроцитов [12]. При любых видах стресса резко меняется соотношение синтоксических и катотоксических механизмов в сторону преобладания последних – стресс-реализующих. Нами показано, что активность САС при иммобилизации у крыс значительно возрастает. Выраженность реакции Эр на ПП в пределах 2–4 и 9–11% соответственно у 3-4- и 12-месячных крыс свидетельствует о значительной активации катотоксических механизмов (табл. 1).

Ранее был показан гематопротекторный эффект Серпистена у крыс [13]. Фитогемагглютинация Эр при многократном действии Серпистена в малых дозах была ниже показателей у интактных животных, адренореактивность Эр не изменялась. Преднизолон в покое также оказывал сходный (мембраностабилизирующий) эффект, уменьшая реакцию агглютинации Эр, вызванную ФГА (табл. 1, 2). При этом адренореактивность Эр «преднизолоновых» крыс изменялась. На Эр этих крыс β-блокатор не действовал, отражая активированную САС

(табл. 2). Известно, что глюкокортикоидные гормоны млекопитающих и их синтетические аналоги, в том числе и преднизолон, увеличивают чувствительность адренорецепторов к имеющимся в крови катехоламинам.

Введённые за 24 ч до иммобилизационного стресса оба препарата (Серпистен и преднизолон) оказывали защитный эффект, предотвращая стресс-индуцированную агрегацию Эр. Однако эффект ПП у крыс, получавших Серпистен на фоне иммобилизованного стресса, был максимален на всех минутах наблюдения (рис. 1), что свидетельствовало об отсутствии активации САС. Сохранялась чёткая линейная зависимость эффекта ПП от времени его действия. При введении преднизолона на фоне

иммобилизационного стресса реакция на ПП была умеренной (в пределах 9–11%). Кроме того, нелинейная зависимость ПП от времени его действия указывала на активное состояние САС и нарушение функционального состояния β-адренорецепторов на мембране Эр. Следовательно, Серпистен на фоне иммобилизации снижал активность САС. Преднизолон в покое повышал активность САС, а на фоне иммобилизационного стресса не справлялся с чрезмерной активацией САС. Таким образом, действие Серпистена и преднизолона на адренореактивность Эр и состояние САС у крыс как в покое, так и при стрессе различаются.

По современным представлениям многие из позитивных эффектов адаптогенов реали-

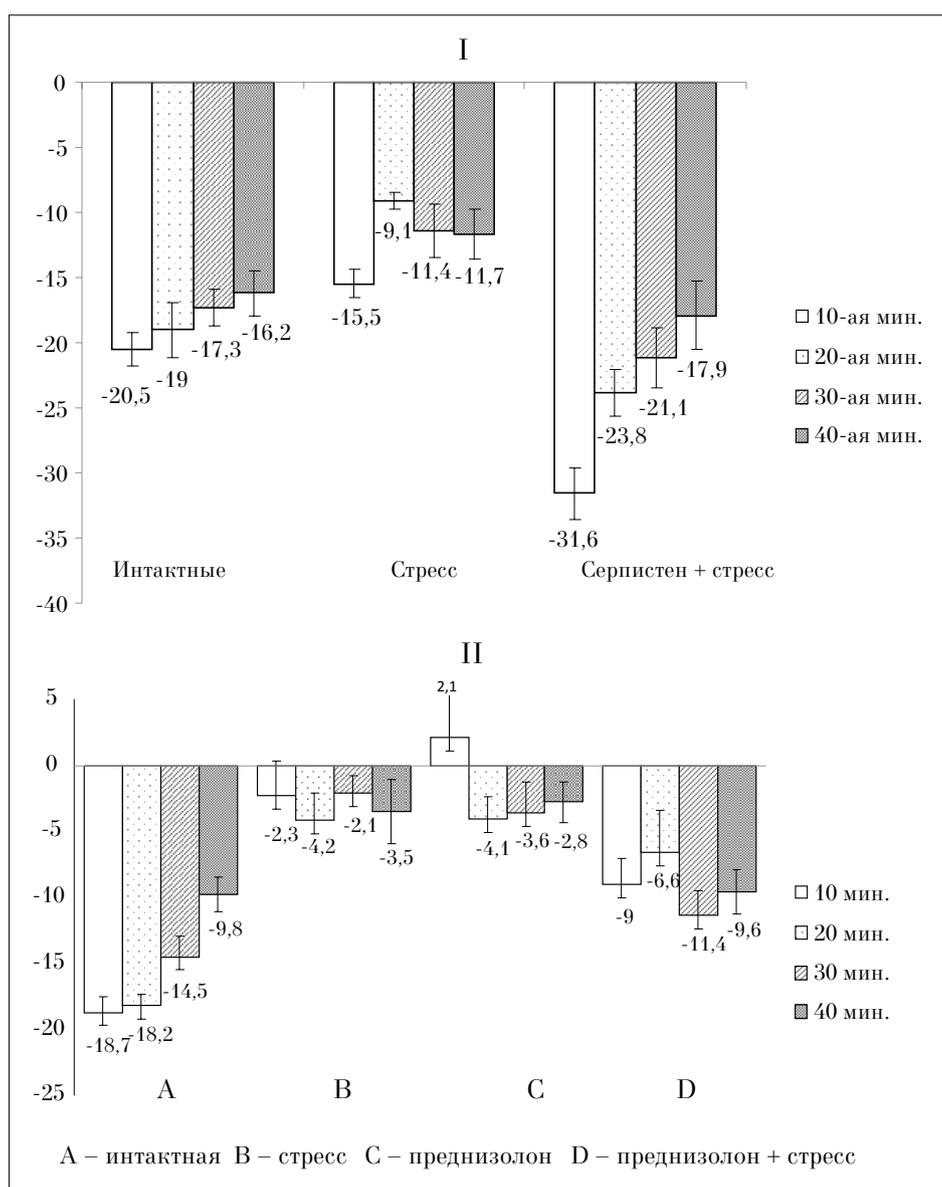


Рис. 1. Выраженность эффекта ПП на Эр крыс интактной и опытных групп при стрессе и действии Серпистена (I) и преднизолона (II) (за исходный уровень приняты параметры РАЭ в контрольных пробах)

зуются через центральные структуры управления формированием стресс-реакции с обязательным участием гормонов адреномедулярной и адренокортикальной систем [14, 15]. Показан стимулирующий эффект Серпистена на кору надпочечников лабораторных мышей, который проявлялся в увеличении ширины коры, в основном, за счёт пучковой, отчасти – сетчатой зон [16]. Таким образом, действие Серпистена на физиологические функции организма млекопитающих может быть опосредовано гормонами коры надпочечника, однако не сводится к действию последних.

**Влияние Серпистена на показатели периферической крови и активность САС человека**

Количественные и качественные показатели периферической крови отличались в контроле у юношей и девушек и соответствовали данным литературы [3]. Показатели фитогемагглютинации Эр по полу не различались и составляли на 10- и 40-й мин наблюдения у юношей и девушек  $29,0 \pm 4,7$  и  $37,0 \pm 3,2$  и  $59,0 \pm 4,4$  и  $64,0 \pm 3,1\%$  соответственно. Адренореактивность организма ( $\beta$ -АРМ) в группе исследуемых лиц в покое была выше нормальных величин, характерных для неактивированной САС (2-20 усл. ед.), и составляла  $30,5 \pm 3,4$  усл. ед. (13-46 усл. ед.). Показатели выше нормы наблюдались у 75% испытуемых. Вероятно, это связано с более высокой частотой встречаемости гиперадренергического состояния у северян [17].

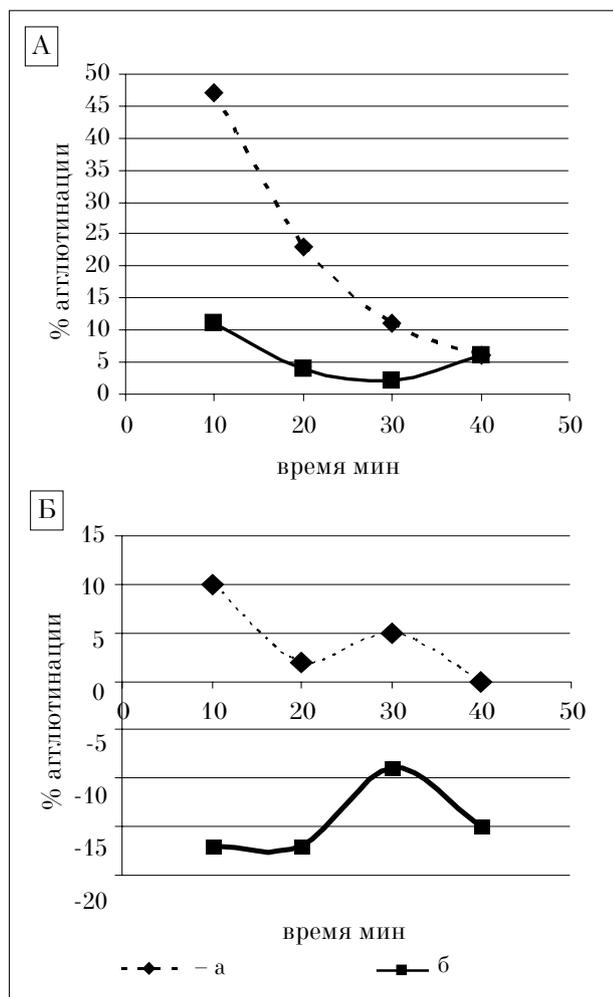
Физическая нагрузка, независимо от пола, достоверно увеличивала количество Эр, показатель гематокрита и вязкость крови, но при этом наблюдали снижение средноклеточного объема Эр и средноклеточного содержания гемоглобина в них. Указанные изменения отражают выброс депонированной крови в ответ на физическую нагрузку. Агглютинабельность Эр при физической нагрузке увеличивалась в среднем в 1,5 раза. Активность САС повышалась, показатели  $\beta$ -АРМ увеличивались в среднем на 34% и составляли  $41,0 \pm 3,4$  усл. ед. (19-49 усл. ед.).

Показатели периферической крови испытуемых после двухнедельного приема Серпистена изменялись. В покое было отмечено снижение количества Эр у 86% испытуемых. В показателях гематокрита и гемоглобина не наблюдали достоверных различий по сравнению с исходными показателями до приема препарата. У всех испытуемых имела место

интенсификация эритропоэза, на что указывало увеличение абсолютного количества ретикулоцитов и относительного количества ретикулоцитов III и IV степени зрелости. Ранее на крысах также был показан гемостимулирующий эффект Серпистена [18]. На лабораторных животных ранее был показан и антиагрегационный эффект ФЭС, в том числе и Серпистена [5, 12]. У человека нами не было обнаружено однонаправленного действия препарата на агрегационные свойства Эр. Агглютинабельность Эр под действием препарата снижалась лишь у половины обследованных лиц. Показатели  $\beta$ -АРМ после приема Серпистена снижались у 73% испытуемых и приближались к нормальным величинам, что отражало снижение общей десентизации клеточных мембран.

После двухнедельного приема Серпистена изменилась реакция показателей крови на физическую нагрузку. Она стала менее выраженной, чем до приема препарата. Эритроцитоз, увеличение гематокрита, вязкости и снижение средноклеточного объема Эр были незначительными. Показатели фитогемагглютинации в ответ на нагрузку оставались относительно стабильными и даже снижались у 62% испытуемых. В целом по группам (юноши, девушки) наблюдали снижение стрессиндуцированной агрегации Эр (рис. 2). Снижалась также и выраженность активации САС в ответ на физическую нагрузку.

Таким образом, действие Серпистена на параметры периферической крови человека было неоднозначным и, очевидно, зависело от состояния центральных механизмов регуляции стресс-реакции. Однако проявлялась общая направленность эффекта Серпистена – снижался ответ на стрессорное воздействие. Мы полагаем, что основное влияние Серпистен в условиях стресса оказывает на центральные структуры реализации стресс-реакции, в результате чего снижается уровень медиаторов стресса (в том числе и катехоламинов), уменьшается выброс депонированной крови с Эр, обладающими нарушенными морфофункциональными характеристиками. Высказанное предположение находит подтверждение в данных литературы. Введение 20-гидроксиэкдизона крысам активизировало холинергические структуры мозга, в результате чего в подбугорье снижалась концентрация ацетилхолина и реципрокно увеличивалась концентрация норадреналина [19]. Одновременно в гипоталамусе возрастала концентрация  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК), кото-



**Рис. 2.** Влияние физической нагрузки на реакцию агглютинации эритроцитов (РАЭ) у юношей (А) и девушек (Б) до (а) и после (б) приема Серпистена. За нулевой уровень принята РАЭ человека в покое

рая играет роль неспецифического тормозного механизма, ограничивающего стрессовую реакцию и предупреждающего стрессорные повреждения. Кроме того, в циркулирующей крови снижался уровень медиаторов стресса – адреналина и норадреналина – и наблюдалось повышение содержания ацетилхолина и серотонина [20]. Имеются данные [21], что фитоэкдистероиды обладают способностью балансировать процессы возбуждения и торможения за счет потенциации возбуждения ГАМК-рецепторов с одной стороны и облегчения синаптического проведения – с другой. Кроме того, 20Е ограничивает повреждающее действие на адренергические нейроны возбуждающего нейромедиатора глутамата [21]. Серпистен обладает выраженным тонизирующим эффектом на центральную нервную систему, который проявлялся в ускорении ориентировочно-исследовательской реакции и стимуляции памяти у животных [22].

На основании полученных нами результатов и данных литературы можно утверждать, что действие фитоэкдистероидов, в том числе и Серпистена, реализуется через центральные механизмы формирования стресс-реакции и стресс-устойчивости. По нашему мнению, перестройка регуляторных механизмов связана с активацией синтоксических (сдерживающих стресс) механизмов с переключением энергетической компоненты на белковый синтез (как в центральных, так и исполнительных органах) с последующим формированием систем с более мощной энергетической ёмкостью и высокими функциональными резервами.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № 12-П-4-1023: «Научные основы создания адаптогенных и герпротекторных средств растительного происхождения»).*

### Литература

1. Патент № 2153346, Российская Федерация, МКИЗ А61К 35/78. Способ получения экдистероидов / В.В. Володин, С.О. Володина; Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; № 99106351/14.3; заявл. 29.03.99; опубл. 27.07.2000. Бюл. № 21.
2. Скурихин Е.Г., Суслов Н.И., Провалова Н.В. Адренергические механизмы влияния препаратов природного происхождения на систему крови в условиях имобилизационного стресса // Поиск, разработка и внедрение новых лекарственных средств и организационных форм фармацевтической деятельности: Матер. междунар. науч. конф. Томск. 2000. С. 186–187.
3. Лабораторные методы исследования / Под ред. В.В. Меньшикова. М. 1987. 369 с.
4. Мойсеенко Н.А., Иржак Л.И. Агглютинация эритроцитов кролика при напряженном эритропоэзе // Журн. общ. биол. 1972. Т. 33. № 6. С. 779–784.
5. Патент № 2310196, Российская Федерация, МПК6 G01N 33/48. Способ определения функциональной активности симпато-адреналовой системы / Н.Б. Петрова, Н.А. Мойсеенко, В.В. Володин; ИБ Коми НЦ УрО РАН; № 2005141251/15; заявл. 28.12.2005; опубл. 10.11.2007. Бюл. № 31.
6. Длусская И.С., Стрюк Р.И. Новый метод прогнозирования и оценки эффективности β-адреноблокаторов у больных гипертонической болезнью // Кардиология. 1997. № 8. С. 110–130.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. школа, 1990. 340 с.
8. Петрова Н.Б., Канева А.М., Рау И.В., Изъюрова Е.В. Адренореактивность эритроцитов человека и животных при различных воздействиях // Физиологи-

ческие механизмы природных адаптаций: Матер. докл. III междунар. симпоз. Иваново. 1999. С. 123–124.

9. Манухин Б.Н., Нестерова Л.А., Смурова Е.А. Характеристика кинетики взаимодействия бета-адренорецепторов эритроцитов крыс со специфическим блокатом пропранололом // Биол. мембраны. 1994. Т. 11. № 5. С. 489–491.

10. Шишкина Г.Т., Дыгало Н.Н. Молекулярная физиология адренергических рецепторов // Усп. физиол. наук. 1997. Т. 28. № 1. С. 61–70.

11. Маслова М.И. Активность мембранных ферментов при различных стрессорных воздействиях // Физиол. журн. 1994. Т. 80. № 7. С. 76–79.

12. Васильев А.С., Плотников М.Б., Алиев О.И. и др. Гемореологическая активность экстракта из надземной части *Serratula coronata* (Asteractae) // Растительные ресурсы. 2008. № 1. С. 104–109.

13. Мойсеенко Н.А., Петрова Н.Б., Иванкова Ж.Е., Репина Е.Н. Гематопротекторное и антистрессорное действие препаратов фитостероидов «Серпистен» из растений *Serratula coronata* L. // Материалы XX съезда физиологического общества им И.П. Павлова. М. 2007. С. 339

14. Panossian A., Wikman G., Wagner H. Plant adaptogens III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action // Phytomed. 1999. V. 6. № 4. P. 287–300.

15. Панасян А., Амбарцумян М., Ованиссян А., Викман Г. Адаптогены модифицируют ответ на стресс в результате угнетения увеличения протеинкиназы (P-SARK), оксида азота и кортизона в крови кроликов // Фитофарм 2006: Матер. X междунар. съезда. СПб. 2006. С. 505–506.

16. Раскоша О.В., Ермакова О.В., Селезнева А.В., Стрекаловская О.В. Состояние периферических эндокринных желез белых беспородных мышей после воздействия эрдистероидов серпухи венценосной // Вестн. ИБ Коми НЦ УрО РАН. 2007. № 2. С. 33–35.

17. Лютоева Т.А., Петрова Н.Б. Адренореактивность организма человека на Севере // Физиология человека и животных: от эксперимента к клинической практике: Матер. IX молодеж. науч. конф. ИФ Коми НЦ УрО РАН. Сыктывкар. 2010. С. 95–97.

18. Мойсеенко Н.А., Петрова Н.Б., Иванкова Ж.Е., Репина Е.Н. Действие фитостероидов на количественные и качественные показатели крови млекопитающих в норме и при экспериментальных воздействиях // Вестн. СГУ. Сер. Физика. Химия. Биология. 2006. Вып. 1. С. 122–137.

19. Карасева Ю.В., Морозов В.Н., Хадарцев А.А. и др. Фитостерон и синтоксические программы адаптации // Эколого-физиологические проблемы адаптации: Матер. XI междунар. симпоз. М. 2003. С. 229–231.

20. Tsujiyama S., Ujihara H., Ishihara K., Sasa M. Potentiation of GABA-induced inhibition by 20-hydroxyecdysone, a neurosteroid, in cultured rat cortical neurons // Jap. J. Pharmacol. 1995. V. 68. P. 133–136.

21. Tsujiyama S., Mishima H.K., Shoge K. et al. Existence of inotropic glutamate receptor Subtypes in cultured rat retinal ganglion cells obtained by the magnetic cell sorter method and inhibitory effect of 20-hydroxyecdysone, a neurosteroid, on the glutamate response // Jap. J. Pharmacol. 2002. V. 89. P. 44–52.

22. Фитостероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.

**Экспериментальное изучение иммуностимулирующего действия  
фитоэктистероидов *Silene viridiflora* L.**

© 2012. И. Д. Бобаев<sup>1</sup>, к.х.н, с.н.с., М. Т. Алимова<sup>2</sup>, к.м.н., с.н.с., Ж. М. Путиева<sup>1</sup>, к.х.н., с.н.с.,  
С. Т. Косназаров<sup>3</sup>, аспирант, Н.Ш. Рамазанов<sup>1</sup>, д.х.н., с.н.с.,

<sup>1</sup> Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова  
Академии наук Республики Узбекистан,

<sup>2</sup> Институт иммунологии Академии наук Республики Узбекистан,

<sup>3</sup> Комплексный институт естественных наук, Каракалпакское отделение  
Академии наук Республики Узбекистан,  
e-mail: ramazonovn@list.ru

Исследована иммуномодулирующая активность эктистероидов *Silene viridiflora* L. в составе освобождённых от растворителей метанольного и бутанольного экстрактов растения и обогащённой эктистероидной фракции, выделенной из сухого метанольного экстракта обработкой смесью хлороформ: метанол (4:1). Показано, что наиболее выраженную стимуляцию гуморального иммунного ответа на эритроциты барана при внутрибрюшинном введении проявляет обогащённая фракция эктистероидов в дозе 10 мг/кг.

Immune-modulating activity of ecdysteroids from *Silene viridiflora* L. in the content of methanol and butanol extracts and also in enriched fraction obtained from methanol extract by treatment with chloroform-methanol mixture (4:1) is studied. It is established that enriched fraction of ecdysteroids in a dose of 10 mg/kg manifests most pronounced stimulation of the humoral immune response to sheep erythrocytes in intraperitoneal introduction.

Ключевые слова: *Silene viridiflora*, фитоэктистероиды, иммуномодулирующее действие

Keywords: *Silene viridiflora*, phytoecdysteroids, immune-modulating action

Известно, что в патогенезе многих заболеваний большую роль играет состояние иммунной системы. Различные стрессовые ситуации, которым подвергается современный человек в повседневной жизни, влекут за собой нарушения в иммунной системе организма [1]. В связи с этим на сегодняшний день актуальны поиск и создание новых иммуномодулирующих препаратов и биологически активных пищевых добавок. В этом отношении большой исследовательский интерес представляют фитоэктистероиды, являющиеся структурными аналогами гормонов линьки насекомых [2, 3]. Целью настоящей работы было изучение иммуномоделирующего действия фитоэктистероидов растений *Silene viridiflora* L.

**Материалы и методы**

Эксперименты по изучению иммуномодулирующих свойств препаратов эктистероидов *S. viridiflora* проводили на белых беспородных мышах массой 20-22 г. В первой серии экспериментов изучено действие водно-спиртовых метанольного и бутанольного экстрактов (доза 10 мг/кг массы тела животного). Во второй серии проведено сравнитель-

ное испытание фракций эктистероидов, полученных обработкой метанольного экстракта смесью хлороформ-метанол (4:1), в дозах 2, 10 и 50 мг/кг массы тела животного, и иммунала – препарата растительного происхождения, широко используемого в практической медицине (доза 1 мкл/кг массы тела животного).

Мышей внутрибрюшинно иммунизировали 0,5 мл взвеси эритроцитов барана (ЭБ), содержащей  $5 \cdot 10^6$  клеток. В день иммунизации животным внутривенно вводили по 0,5 мл исследуемых препаратов. Контрольная группа получала водно-спиртовый раствор в том же объёме и по той же схеме, что и животные опытных групп. Влияние препаратов на гуморальный иммунный ответ изучали методом Jerne [4], позволяющим оценить количество антителообразующих клеток (АОК) в селезёнке иммунизированных ЭБ мышей. Подсчитывали общее количество АОК в селезёнке и их удельное содержание в пересчете на 1 млн ядросодержащих клеток селезёнки (ЯСКС).

**Результаты и обсуждение**

Перспективным источником фитоэктистероидов является смолёвка зеленоваточветко-

Таблица 1

Влияние растительных экстрактов *Silene viridiflora* на антителообразование,  $M \pm m$

Растительный экстракт (номер группы)	Число антителообразующих клеток			
	на селезёнку	ИА (p)	на 10 <sup>6</sup> ЯСКС	ИА (p)
Метанольный (1)	15467 ± 1010	1,08 (>0,05)	220 ± 7,26	1,05 (>0,05)
Бутанольный (2)	21133 ± 1913	1,48 (<0,01)	293 ± 6,35	1,40 (<0,001)
Контроль (10)	14267 ± 763	–	209 ± 8,52	–

Примечание. Здесь и далее: ЯСКС – ядросодержащие клетки селезёнки, ИА – индекс активности.

Таблица 2

Влияние обогащённой фракции экидистероидов *Silene viridiflora* на антителообразование,  $M \pm m$  (p < 0,01)

Условия эксперимента	Число антителообразующих клеток			
	на селезёнку	ИА	на 10 <sup>6</sup> ЯСКС	ИА
Контроль иммунизации	12400 ± 979		168 ± 4,81	
Фракция экидистероидов, мг/кг				
2	21000 ± 1301	1,69	272 ± 9,51	1,62
10	33200 ± 1126	2,68	427 ± 12,19	2,54
50	22400 ± 851	1,81	298 ± 4,42	1,77
Препарат сравнения Иммунал, 1 мкл/кг	27400 ± 1914	2,14	348 ± 14,14	2,05

вая (*Silene viridiflora* L., сем. Caryophyllaceae) – травянистое растение с маленькими зеленоватыми цветками высотой 50-120 см, произрастающее в европейской части Средиземноморья и Балканском полуострове [5]. В экспериментах на мышах выявлена противоопухолевая активность препаратов этого растения [6]. Ботаниками Института химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз смолёвка зеленоваточетковая была успешно интродуцирована в условия серозёмно-оазисной почвы Республики Узбекистан.

Установлено, что надземная часть *S. viridiflora* в фазе цветения содержит большое количество экидистерона. Анализ методом ВЭЖХ показал его содержание около 1,5%. Предварительные исследования позволили выделить и идентифицировать его основные экидистероиды (доля сухой массы растения, %): экидистерон (0,35), полиподин В (0,25), 2-дезоксидекидистерон (0,2), интегристерон А (0,2), силенеозид D (0,1), силенеозид А (0,08) и 26-гидроксиполиподин В (0,035), 2-дезоксидекидистерон (0,01) [7, 8].

Результаты экспериментов (табл. 1, 2) показали, что введение экспериментальным животным одновременно с иммунизацией ЭБ бутанольного экстракта экидистероидов *S. viridiflora* привело к увеличению количества АОК селезёнки, что свидетельствует о стимуляции процесса антителообразования. Введение метанольного экстракта экидистероидов *S. viridiflora* слабо влияло на процесс антителообразования. Введение обогащённой фракции экидистероидов *S. viridiflora* в различных дозах и иммунала как препарата сравнения стиму-

лируют процесс антителообразования. При этом наиболее эффективной оказалась доза 10 мг/кг массы тела животного. При увеличении дозы препарата до 50 мг/кг иммуностимулирующий эффект снижается.

Таким образом, бутанольный экстракт экидистероидов *Silene viridiflora* в дозе 10 мг/кг вызывает стимуляцию процесса антителообразования. Иммуномодулирующий эффект метанольного экстракта в такой же дозе отсутствует. Фракция экидистероидов, полученная обработкой метанольного экстракта смесью хлороформ-метанол (4:1), стимулирует процесс антителообразования. Наиболее эффективна доза 10 мг/кг массы тела животного.

### Литература

1. Арипова Т.У., Батырбеков А.А., Залялиева М. В., Камалов З.С. Иммунофизиология и стресс. Ташкент. 2005. 144 с.
2. Рамазанов Н.Ш., Бобаев И.Д., Алимова М.Т. и др. Изучение влияния фитоэкидистероидов на иммунную систему // Журн. теоретической и клинической мед. Ташкент. 2010. № 1. С. 11–14.
3. Бобаев И.Д., Алимова М.Т., Рамазанов Н.Ш., Бойматов И.М. Иммуностимулирующее действие фитоэкидистероидов // Химия и медицина: Матер. VIII Всерос. конф. с междунар. участием. Уфа. 2010. С. 128.
4. Jerne N.K., Nordin A.A. Plague formation in agar by single antibody producing cells // Science. 1963. V. 140. P. 405.
5. Флора СССР. Т. 6. Смолёвка - *Silene*. М.-Л. 1936. С. 674.
6. Плотников М.Б., Зибарева Л.Н., Колтунов А.А. и др. Гемореологические свойства экстрактов из некото-

рых растений, содержащих экидистероиды // Растительные ресурсы. 1998. Т. 34. № 1. С. 91–97.

7. Мамадалиева Н.З., Зибарева Л.Н., Саатов Э., Lafont R. Фитоэкидистероиды растений *Silene viridiflora* // Химия

природных соединений. 2003. С. 150–153.

8. Рамазанов Н.Ш. Экидистероиды растений родов *Silene*, *Rhaponticum* и *Ajuga*: Автореф. дис. ... докт. хим. наук. Ташкент. 2007. 49 с.

УДК 615.322:576.8/89-07

## Перспективы использования препаратов, созданных на основе фитоэкидистероидов, в лечении лямблиоза

© 2012. Ж. И. Исламова<sup>1</sup>, к.м.н., с.н.с., Н. А. Давис<sup>2</sup>, м.н.с., В. Н. Сыров<sup>1</sup>, д.м.н., зав. лабораторией, С. О. Осипова<sup>2</sup>, д.м.н., зав. лабораторией,

<sup>1</sup> Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова Академии наук Республики Узбекистан,

<sup>2</sup> НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний МЗ Республики Узбекистан, e-mail: svetosip7@mail.ru

Изучали способность препарата Экидистен, созданного на основе фитоэкидистероида экидистерона, выделенного из *Rhaponticum carthamoides* (Willd) Pjin., в лечении лямблиоза как моноинфекции у иммунокомпетентных лиц и как ко-инфекции у больных с выраженными нарушениями иммунного статуса (больные туберкулезом и ВИЧ-инфицированные). Показана высокая дозо-зависимая эффективность Экидистена в лечении лямблиоза и способность корректировать некоторые иммунологические и биохимические отклонения, в том числе у больных туберкулезом: снижать повышенные уровни сывороточного IgE и активности печёночных ферментов. Обнаружена способность элиминировать лямблии и у суммарного препарата Аюстан, созданного на основе фитоэкидистероидов (экидистерон, туркестерон, циастерон и др.), выделенных из *Ajuga turkestanica*. Обсуждены возможные механизмы выявленной активности.

Ability of the preparation Ecdysten, developed on the basis of phytoecdysteroid ecdysterone, isolated from *Rhaponticum carthamoides* (Willd) Pjin, to eliminate *Giardia lamblia* in treatment of giardiasis as a mono-infection in immunocompetent individuals and co-infection in patients with intensive immunological disorders (patients with tuberculosis and HIV-infected individuals) was studied. A high dose-depending efficiency of Ecdysten in treatment of giardiasis was shown as well as ability to correct some immunological and biochemical disturbances, including decrease of elevated level of serum IgE and activity of hepatic enzymes. Ability to eliminate *G. lamblia* was found also in the preparation Ayustan, developed on the basis of phytoecdysteroids (ecdysterone, turkesterone, cyasterone and other) isolated from *Ajuga turkestanica*. Possible mechanisms of ecdysten ability to eliminate *G. lamblia* are discussed.

**Ключевые слова:** Экидистен, лечение лямблиоза, лямблиоз как сопутствующее заболевание при туберкулезе и ВИЧ-инфекции

**Keywords:** Ecdysten, treatment of giardiasis, giardiasis as a concomitant disease in tuberculosis and HIV-infection

Лямблиоз (Лз) – одна из самых распространённых протозойных инфекций в мире. Имеющиеся антилямблиозные препараты обладают рядом неблагоприятных побочных эффектов [1], к ним постоянно растёт резистентность. Кроме того, следует учитывать, что метронидазол, до сих пор рассматриваемый как препарат первой линии в лечении Лз, остаётся одним из наиболее мощных антибактериальных препаратов, действующих на анаэробные микроорганизмы [1, 2], и следовательно, можно ожидать, что он будет угнетать

анаэробные компоненты индигенной микрофлоры кишечника – бифидобактерии и лактобактерии. Поэтому поиск нетоксичных соединений, в основном растительного происхождения, продолжается. Установлено, что трофозоиты лямблий гибнут под воздействием водного экстракта черники [3], озонированного подсолнечного масла [4]. Растительные средства, заимствованные А.К. Agarwal et al. [5, 6] из аюрведической медицины, не оказывали влияния на паразитов, но активировали макрофаги, повышая их фагоцитарную актив-

ность, и вызывали элиминацию паразитов более чем в 90% случаев.

В настоящее время сформировались достаточно большие группы лиц, которые предъявляют особые требования к лечению Лз как сопутствующей инфекции – больные туберкулезом и ВИЧ-инфицированные, поскольку комплексная терапия основного заболевания (противотуберкулёзные и антиретровирусные препараты) включает гепатотоксичные препараты, в том числе и высокогепатотоксичные [4], и дополнительная нагрузка на печень крайне нежелательна. Поэтому поиск средств, эффективно излечивающих Лз, среди растительных препаратов, в том числе среди фитоэкдистероидов, практически нетоксичных и оказывающих ряд позитивных эффектов на организм высших животных, в том числе и гепатопротекторный [7, 8], остаётся актуальным.

Целью настоящего исследования является изучение эффективности Экдистена, препарата, разработанного на основе фитоэкдистероида экдистерона, выделенного из *Rhaponticum carthamoides* (Willd) Pjin, в лечении Лз у иммунокомпетентных лиц и больных туберкулезом и ВИЧ-инфицированных, а также возможности Экдистена в коррекции некоторых иммунологических и биохимических изменений, спровоцированных лямблиозной инфекцией.

### **Материалы и методы**

Обследовано 210 больных первичным и 200 больных персистирующим Лз, а также 30 больных туберкулезом лёгких (превалировал инфильтративный туберкулёз) и 30 ВИЧ-инфицированных с сопутствующим Лз. Контрольную группу для иммунологических исследований составляли 29 здоровых лиц. Все обследованные были в возрасте от 19 до 50 лет.

Диагноз первичного Лз ставили ранее не лечившимся больным с впервые выявленными лямблиями, не принимавшим противолямблиозных препаратов. В группу больных персистирующим Лз включали лиц с инфекцией, резистентной к традиционным лямблицидным препаратам (метронидазол, альбендазол и др.). Все больные туберкулезом получали изониазид, этамбутол, пипразинамид, рифампицин, стрептомицин. Большинство ВИЧ-инфицированных получали антиретровирусную терапию (АРВТ) (саквинавир, дуовир, азидотимидин, ставудин, ламивудин, невирапин, ифавиренц, вирокомб).

Лз диагностировали методом трёхкратной копроскопии, отрицательные случаи верифи-

цировали дополнительным анализом с использованием метода формалин-эфирного обогащения [9]. В случаях диареи исключали бактериальную этиологию, используя традиционные бактериологические методы [10]. Эффективность лечения оценивали с помощью 7-8-кратной копроскопии с провокацией соевым слабительным и формалин-эфирным обогащением. У всех обследованных больных исключали вирусные гепатиты, алкоголизм и наркоманию и определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатамино-трансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы, гамма-глутамил-транспептидазы (ГГТ), диастазы и билирубина на аппарате VITROS-250 с использованием тест-систем Ortho-Clinical-Diagnostics (США).

Экдистен назначали по 5 мг три раза в день между приемами пищи 100 больным первичным и 100 персистирующим Лз, такое же количество больных получало по 5 мг четыре раза в день. В лечении Лз у больных туберкулезом и ВИЧ-инфицированных применяли Экдистен в суточной дозе 20 мг. Курс лечения составлял 10 дней. 10 больных первичным Лз, входивших в группу сравнения, получали метронидазол по 0,25 г три раза в день в течение недели. Изменения в состоянии больных в процессе лечения оценивали с помощью стандартных клинико-лабораторных методов. Сроки элиминации лямблий определяли с помощью ежедневной копроскопии у больных первичным Лз, получавших ежедневно 20 мг Экдистена или 0,75 г метронидазола. Отрицательные результаты копроскопии верифицировали с помощью метода обогащения по Ritchie et al. [9].

До и после окончания курсов лечения определяли иммунный статус: популяции лимфоцитов периферической крови в реакции непрямого розеткообразования с помощью моноклональных антител к CD3, CD4, CD8 и CD20 производства ООО Медбиоспектр (Москва) [11], уровень сывороточных иммуноглобулинов IgM, IgG и IgA определяли по Mancini et al. [12], уровень общего сывороточного IgE – иммуноферментным методом, тест-системы ООО Вектор-Бест (Новосибирск).

Статистическую обработку данных проводили с помощью t-критерия Стьюдента и стандартного пакета программы «Origin».

### **Результаты и обсуждение**

Эффективность Экдистена в элиминации лямблий носила выраженный дозозависимый

эффект: ежедневная доза 15 мг вызывала элиминацию соответственно у 90,0 и 73,0% больных первичным и персистирующим Лз, при её повышении до 20 мг аналогичные показатели составляли 97,0 и 82,0%. Поэтому в дальнейшем мы использовали суточную дозу 20 мг. Клиническая манифестация Лз под влиянием Экдистена ослабевала или исчезала быстрее, чем при лечении метронидазолом, особенно это касалось таких симптомов, как слабость, утомляемость, дискинезия желчного пузыря, аллергодерматозы, что, по-видимому, связано с анаболическими и гепатопротекторными свойствами Экдистена, включая его способность нормализовать состав желчи [7], а также угнетать высвобождение гистамина из тучных клеток [13]. Вероятно, определённую роль играет и восстановление структуры слизистой за счёт усиления репаративно-регенераторных процессов, показанное в том числе и на модели мышей, заражённых лямблиями [14].

У больных персистирующим Лз было достоверно снижено содержание CD3<sup>+</sup>- (соответственно 44,2 ± 1,6 против 54,6 ± 1,5%,  $p < 0,05$ ) и CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов (32,4 ± 1,2 против 39,9 ± 5,2%,  $p < 0,01$ ), уровень сывороточных IgG (840 ± 79 против 1120 ± 45 мг/%,  $p < 0,05$ ). Уровень общего сывороточного IgE у больных Лз был повышен незначительно, но при выделении лиц с аллергодерматозами его уровень повышался (122,0 ± 7,0 против 67,2 ± 4,7 МЕ/мл). Курс Экдистена нормализовал выявленные отклонения: содержание CD3<sup>+</sup>- и CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов повышалось соответственно до 50,7 ± 1,2 и 38,4 ± 2,7 %, IgG – 1130 ± 71 мг/%, IgE снижалось до 86 ± 9 МЕ/мл, что объясняется, помимо устранения паразитов, известной иммуномодулирующей активностью экдистена [14, 15]. В какой-то степени данные об элиминации лямблий под влиянием Экдистена соответствуют информации о позитивном влиянии экдистерона на продуктивность жвачных путём элиминации простейших из кишечного тракта [16].

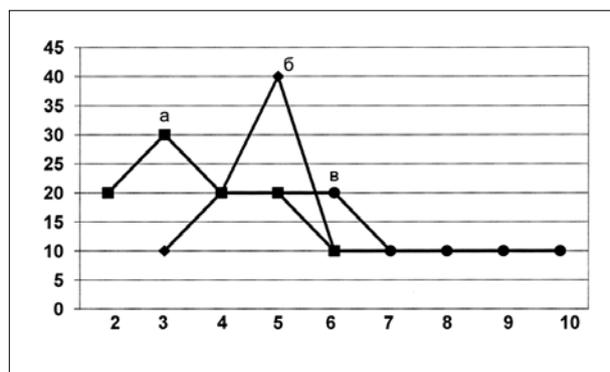
Особый интерес представляло изучение способности Экдистена элиминировать лямблии у больных туберкулезом и ВИЧ-инфицированных с сопутствующим Лз, тем более, что Лз усугублял характерный для туберкулеза иммунологический дисбаланс. В частности, повышение содержания общего сывороточного IgE у больных туберкулезом, свободных от паразитов, составляло 152,7 ± 18,9 МЕ/мл, при сопутствующем Лз этот показатель достигал 398,8 ± 24,6 МЕ/мл ( $p < 0,01$ ). Элиминация паразитов приводила к

достоверному снижению концентрации IgE: 234,3 ± 12,9 МЕ/мл ( $p < 0,05$ ).

Хотя при моноинфекции лямблиями, как правило, повышения активности печёночных ферментов не наблюдается даже при длительной персистенции паразитов, Лз как сопутствующее заболевание усиливал нарушения функций печени при туберкулезе, обусловленные туберкулезной интоксикацией и длительной полихимиотерапией гепатотоксичными препаратами, часто требующими назначения гепатопротекторов. У 12,0 ± 4,5% больных туберкулезом без Лз была достоверно повышена активность АлАТ и АсАТ, что соответствует данным литературы. Этот показатель был выше у больных туберкулезом с сопутствующим Лз (восемь пациентов) – 26,6 ± 8,0%. У больных туберкулезом с Лз чаще выявляли комплексное повышение активности АлАТ, АсАТ, ГГТ и щелочной фосфатазы.

Экдистен элиминировал лямблии и у больных туберкулезом, и у ВИЧ-инфицированных с сопутствующим Лз, но в двух случаях у больных туберкулезом первый курс был неэффективен и лишь назначение повторного курса с увеличением суточной дозы до 25 мг привело к клиренсу паразитов.

Механизмы, лежащие в основе выявленного феномена, остаются неясными. Они могут быть связаны как со стимуляцией протективных факторов, так и непосредственным влиянием Экдистена на лямблии, предположительно оно может выражаться в непосредственном угнетении жизнеспособности лямблий или ограничении интенсивности инфекции за счет связывания Экдистена рецепторами, ответственными за прикрепление трофозоитов к слизистой. В определённой степени помочь ответить на эти вопросы может ежедневный мониторинг элиминации лямблий (рис.). С этой целью обследовали 10 больных первичным Лз, леченных метронидазолом, и 40 и 60 больных первичным и персистирующим Лз соответственно, которых лечили Экдистеном. У всех больных элиминация лямблий носила стабильный характер: отрицательные пробы отмечались постоянно после первого дня, когда было установлено отсутствие паразитов. У больных первичным Лз, которые принимали Экдистен, в первые два дня лямблии продолжали определяться, с третьего по пятый день элиминацию лямблий отмечали у 70% больных. У остальных 30% больных элиминация паразитов завершалась на шестой и седьмой день лечения. Иное распределение сроков элиминации паразитов наблюдали у больных



**Рисунок.** Сроки элиминации лямблий у больных с первичным лямблиозом при лечении метронидазолом (а) и экдистероном (б) и персистирующим лямблиозом при лечении Экдистероном (в).  
По вертикали – процент больных с элиминацией лямблий, по горизонтали – сутки

персистирующим Лз. На четвёртый день элиминацию отмечали у 20% больных, в течение шести дней клиренс паразитов завершился у 50% больных, у 10% больных элиминация паразитов потребовала 10 дней. Метронидазол вызвал элиминацию паразитов в течение первых трёх дней у 50%, на шестой день все больные были свободны от лямблий.

Клиренс в течение первых пяти дней, наблюдаемый при лечении Экдистероном у 70% больных первичным и 50% персистирующим лямблиозом, позволяет предположить непосредственное воздействие на паразита. Более длительные сроки потребовались для воздействия на лямблии, резистентные к традиционным противолямблиозным препаратам. По всей вероятности, немаловажную роль играет способность экдистероидов захватываться клетками печени и экскретироваться в желчь [17]: таким образом Экдистерон поступает в двенадцатиперстную и тонкую кишку – место локализации лямблий – при приеме per os и вторично попадает туда, экскретируясь с желчью, что должно усиливать его влияние как на местные иммунологические механизмы и физиологический статус кишки, так и на паразитов.

Позднее, по-видимому, реализуются в полной мере адаптогенные, анаболические (восстановление сниженной активности пищеварительных ферментов) и иммуномодулирующие (активация иммунологических механизмов, в том числе и местных) свойства Экдистерона и его способность нормализовать состав желчи (желчь без патологических отклонений губительно действует на лямблии) [7, 18]. Интересно, что при апробации в клинике в качестве адаптогена суммарного препарата Аюстана, созданного на основе фитоэкдистероидов

экдистерона, туркестерона, циастерона и др., выделенных из *Ajuga turkestanica* (Rgl.) Brig, помимо его выраженной адаптогенной активности обнаружена также и его способность вызывать элиминацию лямблий.

Таким образом, Экдистерон может рассматриваться как препарат выбора в лечении Лз, особенно при лечении Лз как сопутствующей инфекции у лиц с тяжёлыми хроническими вирусными (ВИЧ-инфекция) и бактериальными (туберкулёз) заболеваниями, требующими минимизировать нагрузку лекарственных препаратов на печень. Кроме того, в последние годы появляются сообщения о длительной персистенции абдоминальных симптомов и утомляемости после элиминации паразитов, хорошо документированной семикратным паразитологическим обследованием. Больных лечили метронидазолом и альбендазолом [19]. Авторы связывают развитие постинфекционного синдрома с длительностью и тяжестью течения Лз и вирулентностью штаммов лямблий. С нашей точки зрения, в этом феномене возможную роль играет использование метронидазола, негативно влияющего на индигенную микрофлору кишечника. Экдистерон, практически лишённый побочных эффектов, в этом плане также имеет преимущества.

## Литература

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М. 2006. 1206 с.
2. Lofmark S., Edlund C., Nord C.E. Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections // Clin. Infect. Dis. 2010. V. 50. Suppl.1. P. 16–23.
3. Anthony J.P., Fyfe L., Stewart D., McDougall G.J., Smith H.V. The effect of blueberry extracts on *Giardia duodenalis* viability and spontaneous excystation of *Cryptosporidium parvum* oocysts, in vitro // Methods. 2007. V. 42. № 4. P. 339–48.
4. Hernandez F., Hernmandez D., Zamora Z. et al. *Giardia duodenalis*: effects of an ozonized sunflower oil product (Oleozon) on in vitro trophozoites // Exp. Parasitol. 2009. V. 121. № 32. P. 208–212.
5. Agarwal A.K., Singh M., Gupta N. Management of giardiasis by an immunomodulatory herbal drug Pippali rasayana // J. Ethnopharmacol. 1994. V. 44. № 3. P. 143–146.
6. Agarwal A.K., Tripathi D.M., Sahai R. Management of giardiasis by a herbal drug Pippali rasayana. A clinical study // J. Ethnopharmacol. 1997. V. 56. P. 233–236.
7. Сыров В.Н. Фитоэкдистероиды: биологические эффекты в организме высших животных и перспективы использования в медицине // Эксперим. клин. фармакол. 1994. № 5. С. 61–65.

8. Сыров В.Н. Об адаптогенных свойствах фитостероидов // Докл. АН РУз. 1996. № 11. С. 61–64.
9. Ritchie I.S., Pan C., Hunter G.W. A comparison of the zinc sulfate and the MGI (formalin ether) technics // J. Parasitol. 1952. V. 38. № 4. Suppl. P. 16.
10. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргер. М.: Медицина, 1982. 462 с.
11. Залялиева М.В., Прохорова Р.С. Способ определения субпопуляций лимфоцитов // Расмий ахборот. 2001. № 4. С. 12.
12. Mancini G., Carbonara A., Heremans J. et al. Immunochemical quantitation of antigen by single radial immunodiffusion // Immunochemistry. 1965. № 2. P. 235–248.
13. Takei M., Endo K., Nishimoto N. Effect of Ecdysterone on histamine release from rat peritoneal mast cells // J. Pharmaceutical Sci. 1991. V. 80. № 4. P. 309–310.
14. Исламова Ж.И. Экспериментально-клиническое исследование эффективности Экдистена в лечении лямблиоза: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ташкент. 2005. 22 с.
15. Кузьмицкий Б.Б., Голубева М.Б., Конопля Н.А. Новые возможности изыскания иммуномодуляторов среди соединений стероидной структуры // Фармакол. Токсикол. 1990. Т. 52. № 3. С. 20–22.
16. Purser D.B., Baker S.K. Ecdysones used to improve productivity of ruminants. – (PCT Int. Appl. WO 94 18984 (CL. A6131/575) 01 Sep. 1994. AU Appl.93/719).
17. Lafont R., Girault J.P., Kerb U. Excretion and metabolism of injected ecdysone in the white mice // Biochem. Pharmacol. 1988. № 37. P. 1174–1177.
18. Карапетян А.Е. Изучение биологии лямблий при помощи культурального метода исследования: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Ростов-на-Дону. 1964. 28 с.
19. Morch K., Hanevik K., Rortveit G. et al. Severity of Giardia infection associated with post-infectious fatigue and abdominal symptoms two years after // BMC Infect. Dis. 2009. № 9. P. 206.

УДК 612.821 + 615.322

## Влияние Серпистена на продуктивность памяти пациентов с ограниченными изменениями коронарных сосудов мозга

© 2012. В. И. Ветошева<sup>1</sup>, к.б.н., доцент, А. Е. Попов<sup>2</sup>, зав. отделением, С. О. Володина<sup>3</sup>, к.б.н., с.н.с., В.В. Володин<sup>3</sup>, д.б.н., зав. лабораторией,  
<sup>1</sup> Сыктывкарский государственный университет,  
<sup>2</sup> Коми республиканская больница,  
<sup>3</sup> Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
 e-mail: volodin@ib.komisc.ru

Исследовано влияние экдистероидсодержащего препарата Серпистен на продуктивность памяти. Установлено, что Серпистен действительно проявляет позитивный эффект на параметры кратковременной и долговременной памяти пациентов с органическими поражениями коронарных сосудов и является эффективным средством для увеличения умственной работоспособности. Полученные данные позволяют рекомендовать данный препарат как средство профилактики атеросклероза и гипертонии.

The influence of ecdysteroid containing substance Serpisten on memory is studied. Serpisten does have a positive effect on the parameters of long-term and short-term memory capacity in patients with organic lesions of cerebral coronary vessels. It is an effective remedy for increasing mental working capacity in women, the improvement being more pronounced in women than in man. Effect of Serpisten is less pronounced in case of severe atherosclerotic lesions. The findings obtained permit the preparation Serpisten to be recommended for atherosclerosis and hypertension prophylaxis for preventing severe damages of cerebral vessels.

Ключевые слова: фитоэкдистероиды, Серпистен, *Serratula coronata*, продуктивность памяти, атеросклероз

Keywords: phytoecdysteroids, Serpisten, *Serratula coronata*, memory capacity, atherosclerosis

Цель работы заключалась в исследовании продуктивности памяти у лиц с органическими изменениями в коронарных сосудах с использованием традиционной методики А.Р. Лурия [1] до и после курсового приема препарата Серпистен, представляющего собой сумму эдкдистероидов растений серпухи венценозной (*Serratula coronata* L.) [2].

Выбор этой методики был обусловлен тем, что с возрастом у людей прогрессируют органические изменения в коронарных сосудах и эти изменения в значительной степени затрагивают такую важную функцию головного мозга как продуктивность памяти, которая после развития атеросклеротических изменений постепенно снижается, что ограничивает возможность выполнения некоторых видов профессиональной деятельности.

Оценку состояния коронарных сосудов мозга осуществляли в отделении функциональной и ультразвуковой диагностики Коми республиканской больницы (г. Сыктывкар). Для этого у испытуемых были обследованы обе общие сонные артерии в продольной и поперечной проекциях для выявления сечения, в котором атеросклеротическая бляшка име-

ла наибольший размер, области бифуркаций общих сонных артерий, внутренние и наружные сонные артерии, позвоночные и подключичные артерии. Определяли толщину комплекса интима-медиа (ТКИМ) общей сонной артерии, увеличение которого может быть предвестником развития нежелательных сосудистых событий. В исследовании принимали участие 23 человека в возрасте от 43 до 73 лет: девять мужчин и 14 женщин, у которых наблюдали органические изменения стенок коронарных сосудов, выраженные в разной степени – от начальных до артеросклеротических, а также отмечались явления ангиоспазма и венозного застоя. Полученные данные были статистически обработаны с использованием непараметрических Т-критерия Вилкоксона и U-критерия Манна-Уитни.

### Результаты и обсуждение

После курсового приема Серпистена были получены положительные субъективные и клинические результаты, проявляющиеся в улучшении самочувствия, исчезновении головных болей, частичной нормализации ар-

териального давления, повышения работоспособности. Аналогичные позитивные сдвиги были получены у людей пожилого возраста Н.Б. Маньковским и Р.П. Белоногом в Институте геронтологии АМН СССР при использовании Рантарина – адаптогена животного происхождения [3]. Причём как Серпистен, так и Рантарин оказывали положительное действие на самочувствие и общее состояние испытуемых, отмечалось снижение тревожности.

Ультразвуковая диагностика сосудов выявила, что у всех испытуемых исчезли явления

ангиоспазма, у 27% испытуемых наблюдали уменьшение ТКИМ; у 23% отмечали уменьшение размеров бляшек в сонных артериях, у 9% увеличился просвет правой позвоночной артерии и у 5% обнаружено уменьшение венозного застоя, т.е. отмечался позитивный сдвиг в состоянии основных коронарных сосудов, более выраженный у лиц с начальными органическими изменениями.

Исследование продуктивности памяти выявило её улучшение после приёма Серпистена (табл. 1). Для того, чтобы сравнить эффект

Таблица 1

Изменение продуктивности памяти у обследованных до (верхняя строка) и после (нижняя строка) приёма Серпистена

Показатель	Продуктивность памяти	Достоверность различий
Кратковременная память, после предъявления		
	I	
	5,30 ± 0,27	<0,01
	6,70 ± 0,33	
II	7,10 ± 0,28	<0,01
	8,00 ± 0,29	
III	8,10 ± 0,31	<0,05
	8,90 ± 0,26	
IV	8,60 ± 0,25	>0,05
	9,20 ± 0,23	
V	8,60 ± 0,28	<0,01
	9,60 ± 0,15	
Долговременная память	7,70 ± 0,50	>0,05
	8,60 ± 0,42	

Примечание: здесь и далее – продуктивность памяти – количество слов, которые воспроизводит человек после предъявления стимулирующего ряда из 10 слов.

Таблица 2

Изменение продуктивности разных видов памяти у людей с начальными органическими (группа I) и атеросклеротическими (группа II) изменениями до (верхняя строка) и после (нижняя строка) приёма Серпистена

Показатель	Группа I	Достоверность различий	Группа II	Достоверность различий
Кратковременная память, после предъявления				
	I			
	6,00 ± 0,35	<0,01	5,00 ± 0,34	>0,05
	7,60 ± 0,37		5,80 ± 0,39	
II	8,00 ± 0,37	>0,05	7,00 ± 0,34	>0,05
	8,70 ± 0,33		7,30 ± 0,37	
III	7,00 ± 0,37	<0,01	8,00 ± 0,46	>0,05
	9,60 ± 0,22		8,20 ± 0,36	
IV	9,20 ± 0,25	>0,05	8,10 ± 0,38	>0,05
	9,70 ± 0,21		8,70 ± 0,37	
V	9,50 ± 0,27	>0,05	8,40 ± 0,45	>0,05
	10,00 ± 0,01		9,10 ± 0,28	
Долговременная память	8,80 ± 0,33	<0,05	6,60 ± 0,83	>0,05
	9,60 ± 0,22		7,70 ± 0,70	

Таблица 3

Сравнительный анализ продуктивности памяти у мужчин и женщин до (верхняя строка) и после (нижняя строка) приёма Серпистена

Показатель	Женщины	Мужчины
Кратковременная память, после предъявления		
I	5,40 ± 0,20*	5,20 ± 0,57
	7,30 ± 0,33*	6,00 ± 0,33*
II	7,20 ± 0,38*	6,90 ± 0,42
	8,50 ± 0,37*	7,40 ± 0,41
III	8,40 ± 0,39	7,90 ± 0,51
	9,10 ± 0,26	8,50 ± 0,47
IV	8,90 ± 0,31	8,30 ± 0,31*
	9,00 ± 0,31	9,30 ± 0,37*
V	9,80 ± 0,79	8,50 ± 0,56
	9,60 ± 0,2	9,40 ± 0,29
Долговременная память	8,30 ± 0,65	7,00 ± 0,76
	8,90 ± 0,41	8,30 ± 0,79

Примечание: \* Различия достоверны при  $p < 0,05$ .

действия Серпистена на продуктивность памяти испытуемых, имеющих разную степень выраженности патологических изменений, обследованных разделили на две группы. Анализ данных (табл. 2) показал, что у лиц с начальными органическими изменениями сосудов головного мозга продуктивность кратковременной памяти увеличилась после курсового приема препарата, в то время как при атеросклеротических изменениях достоверное улучшение результатов не наблюдалось, хотя позитивная тенденция также была выражена. Аналогичные результаты получены при исследовании долговременной памяти, причём у лиц с начальными органическими изменениями наблюдали достоверный рост продуктивности памяти, более того, многие испытуемые воспроизводили весь стимульный ряд, иногда сохраняя даже порядок чередования слов. В то время как до приёма препарата некоторые пациенты при воспроизведении называли лишние слова, не предъявляемые экспериментатором.

Гендерный анализ показателей продуктивности памяти выявил, что до приёма препарата гендерные различия в показателях кратко- и долговременной памяти не достигали значимого уровня, хотя тенденция более высоких значений продуктивности памяти у женщин сохранялась в течение всего времени исследования (табл. 3). После курсового приема препарата после I и II предъявления стимулов продуктивность памяти у женщин оказалась достоверно выше, чем у мужчин ( $p < 0,05$ ). В дальнейшем тенден-

ция сохранилась, но различия не достигали значимого уровня ( $p > 0,05$ ). Продуктивность кратковременной памяти у женщин после курсового применения препарата достоверно увеличилась после I и II предъявления стимульного материала ( $p < 0,05$ ). У мужчин же достоверный рост результатов наблюдали только после IV предъявления стимульного ряда. Малочисленность выборки не позволила получить достоверных различий по всем показателям, тем не менее, максимальный прирост продуктивности памяти и у мужчин (15,4%), и у женщин (35%) наблюдали после I предъявления стимулов на фоне Серпистена, затем у женщин по мере предъявления стимулов прирост монотонно снижается (11,8; 8,0; 1,1 и 2,2%). У мужчин же наблюдали флуктуации (7,2; 7,6; 12,0 и 10,5%). Долговременная память у женщин увеличилась на 7,2%, у мужчин прирост составил 18,6%.

Обобщив полученные данные, следует отметить, что Серпистен положительно влияет на показатели продуктивности кратко- и долговременной памяти у пациентов с органическими поражениями коронарных сосудов и является эффективным средством для увеличения умственной работоспособности. Причём у женщин позитивные сдвиги выражены в большей степени, чем у мужчин. Однако, при значительных атеросклеротических изменениях положительный эффект был выражен в меньшей степени. Это можно объяснить тем, что при начальных органических изменениях в сосудах головного мозга после трёхне-

дельного приема препарата наблюдали более выраженные позитивные сдвиги: снижалась ТКИМ, уменьшались размеры бляшек, если они были неплотные, исчезали явления ангиоспазма, уменьшался венозный застой. Полученные данные позволяют рассматривать Серпистен как средство профилактики атеросклероза и гипертонии, предупреждающее тяжёлые повреждения сосудов головного мозга. Кроме того, Серпистен можно считать несомненно перспективным препаратом, увеличивающим продуктивность как кратко-, так и долговременной памяти, поскольку он не имеет побочного действия.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект № 12-П-4-1023: «Научные основы создания адаптогенных и геропротекторных средств растительного происхождения»).*

### Литература

1. Рубинштейн С.Я. Экспериментальные методики патопсихологии. М. 1999. 342 с.
2. Фитоэксдистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.
3. Маньковский Н.Б., Белоног Р.П. Действие Рантарина на людей пожилого возраста // Биологические ресурсы Восточной и Юго-Восточной Азии. Владивосток. 1978. С. 101–109.

Виды рода *Silene* L. – продуценты 26-гидроксиэктистероидов© 2012. Л. Н. Зибарева<sup>1</sup>, д.х.н., зав. лабораторией, О. В. Волкова<sup>1</sup>, Р. Лафон<sup>2</sup>, профессор,<sup>1</sup> Томский государственный университет, Сибирский ботанический сад,<sup>2</sup> Университет Пьера и Марии Кюри,

e-mail: zibareval@inbox.ru

Представлены результаты анализа распространения 26-гидроксипроизводных эктистероидов в насекомых и растениях. Показано, что виды рода *Silene* являются перспективными источниками полярных эктистероидов. Установлен состав эктистероидов в растениях *Silene frivaldszkyana* и *S. viridiflora*, интродуцированных в Западную Сибирь. Предложена схема биосинтетических превращений эктистероидов в растениях этих видов.

Distribution of 26-hydroxyderivatives of ecdysteroids in insects and plants is reviewed. It is showed that species of *Silene* the genus are perspective sources of polar ecdysteroids. The ecdysteroids composition is studied in *Silene frivaldszkyana* and *S. viridiflora*, introduced in Western Siberia. The scheme of biosynthetic transformations of ecdysteroids in these plant species is proposed.

Ключевые слова: *Silene*, фитоэктистероиды, 26-гидроксипроизводныеKeywords: *Silene*, ecdysteroids, 26-hydroxyderivatives

## Введение

Фитоэктистероиды составляют большую часть (примерно 3/4) известных в настоящее время эктистероидов. Большое разнообразие химических структур фитоэктистероидов, по всей вероятности, обусловлено их детеррентной функцией по отношению к фитофагам и объяснимо в рамках теории биохимической коэволюции растений и насекомых.

Семейство Caryophyllaceae является наиболее изученным на содержание эктистероидов. Они обнаружены в 125 видах из 323 проанализированных. Наибольшее число эктистероидсодержащих видов найдено в родах *Silene* L. (смолёвка) и *Lychnis* L. (лихнис). Следует заметить, что эктистероиды, выделенные из представителей этого семейства, характеризует большое структурное многообразие [1]. Из растений многочисленного рода *Silene* выделено более 70 различных эктистероидов, как распространённых (20-гидроксиэктизон (20E), полиподин В, эктизон (E), понастерон А, 2-дезоксид-20-гидроксиэктизон), так и редко встречающихся (сидистерон, стахистерон Д, туркестерон, 24(28)-дегидромакистерон А, витикостерон Е и др.). В видах этого рода впервые были идентифицированы новые для науки соединения: 2-дезоксид-20,26-дигидроксиэктизон, 2-дезоксидэктизон-22β-D-гликозид, 2-дезоксиполиподин В-3β-D-гликозид в *Silene pseudotites* Besser. [2], 2,22-диацетат 20,26-дигидрок-

сиэктизона, 3,22-диацетат 20,26-дигидроксиэктизона в *Silene viridiflora* L. Sp. Pl. [3], 2-дезоксид-20-гидроксиэктизон-25-гликозид в *S. gigantea* L. [4], витикостерон Е-22-О-бензоат в *S. wallichiana* Klotzsch. [5]. Эктистероиды, синтезируемые смолёвками, являются как свободными, так и гликозидами, эфирами и оксипроизводными по боковой цепи и стероидной части молекул. Структурное разнообразие эктистероидов свидетельствует о наличии разветвлённых путей их биосинтеза и биохимической пластичности видов рода *Silene*.

В последнее время обнаружен ряд 26-оксипроизводных, набор которых в насекомых и растениях различен. Для насекомых (*Manduca sexta*, *Pieris brassicae*, *Bombyx mori* и др.) характерно присутствие как 26-оксипроизводных эктизона (26E) (26-гидроксиэктизон, 26-гидроксиэктизон-22-гликозид, 26-гидроксиэктизон-26-фосфат, 26-гидроксиэктизон-2-фосфат, 3-эпи-26-гидроксиэктизон, 22-дезоксид-26-гидроксиэктизон), так и 26-оксипроизводных 20-гидроксиэктизона (26,20E) [6]. Цель настоящей работы заключалась в изучении структурного разнообразия 26-оксипроизводных в представителях рода *Silene*.

## Материалы и методы

Растения интродуцированы в Сибирском ботаническом саду Томского госуниверситета (СибБС ТГУ). В коллекции насчитывается 25 образцов *S. frivaldszkyana*, выращиваемых

в течение 16 лет из семян, полученных из ботанических садов Германии, Румынии, Франции, Польши, Венгрии, Латвии, а также 14 репродукций СибБС. Состав экидистероидов изучен в образце, выращенном из семян ботанического сада Галле (Германия). *S. viridiflora* успешно интродуцирована из семян ботанических садов Германии, Польши, Франции, Испании, Австралии (10 образцов), получены 10 репродукций СибБС. Выделение экидистероидов осуществлено из растений, выращенных из семян, полученных из Польши (Бидгош).

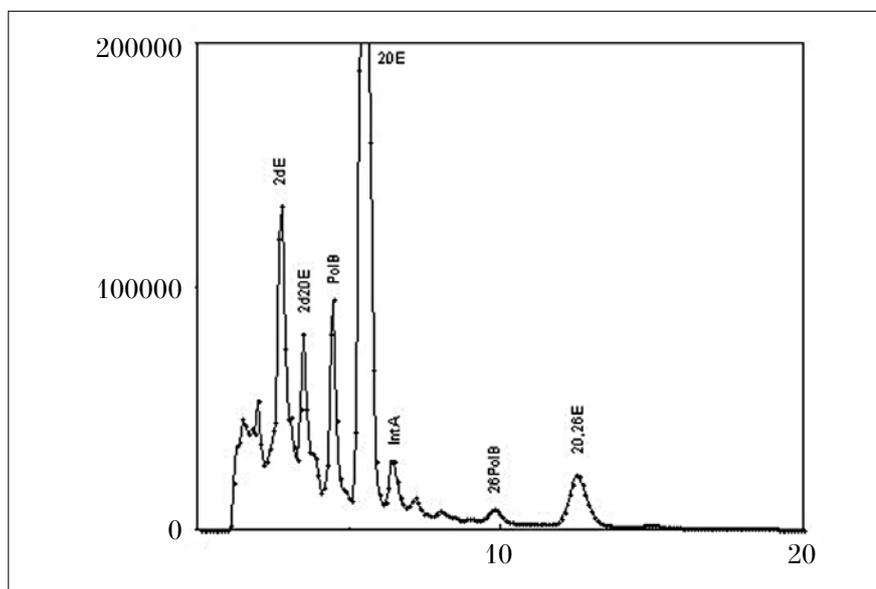
Сухое измельченное сырьё экстрагировали пять раз 70% этанолом при 55 °С. Объединённые экстракты сконцентрировали и разбавили водой в соотношении 1:2. Осадок удалили, этанол удалили вакуумной перегонкой. Водную фракцию селективно экстрагировали гексаном, затем бутанолом. Бутанольную фракцию выпарили. Бутанольный остаток разделили на колонке, заполненной SiO<sub>2</sub> (Silica gel L 100/160 (Chemapol); 100 г; 90 x 2 см), элюировали СНCl<sub>3</sub>/EtOH 9:1-2:1, фракции собирали по 50 мл. Экидистероиды перекристаллизовывали из системы этилацетат/этанол (7:1 или 5:1, v/v) и затем очищали с помощью ВЭЖХ. Использовали следующие системы растворителей – NP1: Zorbax-SIL (250 x 4,6 мм; размер частиц 5 мм) элюировали циклогексан/изопропанол/вода (CIW, 100:40:2.5 v/v/v), 1 мл/мин.; NP2: Zorbax-SIL (250 x 4,6 мм; размер частиц 5 мм) элюировали дихлорметан/

изопропанол/вода (DIW, 125:30:1.5 v/v/v) 2 мл/мин.; NP3: Zorbax-SIL (250 x 4.6 мм; размер частиц 5мм) элюировали дихлорметан/изопропанол/вода (125:40:3 v/v/v) 2 мл/мин.; RP1: ACE аналитическая колонка (150 x 4,6 мм, размер частиц 5 мм), линейный градиент 15-35 % ACN в воде 40 мин, 1 мл/мин; RP2: Phenomenex ODS-2 колонка (15 см), элюировали изократически 40% метанолом в H<sub>2</sub>O, 1 мл/мин.

Идентификацию мажорных экидистероидов в некоторых видах *Silene* проводили с помощью ВЭЖХ, сравнивая с временами удерживания стандартов при элюировании различными системами растворителей. УФ-спектры записывали на Varian DMS 100 спектрофотометре. Пики экидистероидов идентифицировали по УФ-спектрам ( $\lambda = 242-245$  нм). Масс-спектры записаны на Jeol JMS-700 спектрометре (CI/D). ЯМР-спектр получили при 300 К на Bruker Avance 500 с использованием стандартных Bruker микропрограмм.

### Результаты

Из интродуцированных растений *S. frivaldszkyana* выделено восемь экидистероидов. Проведена их идентификация и установлено с помощью физико-химических методов (ВЭЖХ, УФ-, ЯМР-, масс-спектрометрии), что этот вид синтезирует 20E, полиподин В (PolB), 2-дезоксид-20-гидроксиэкидизон

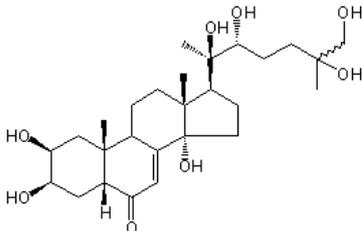
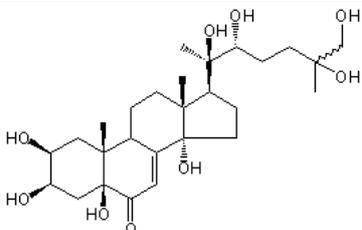
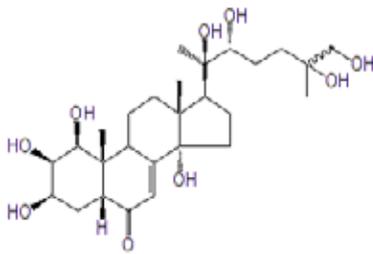
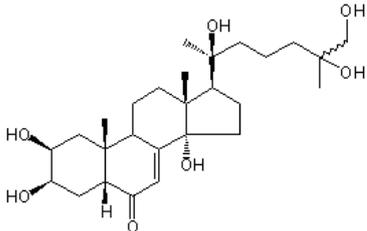
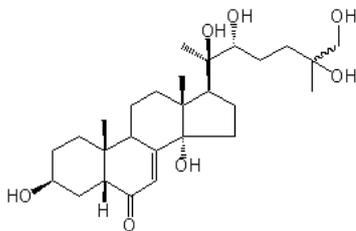
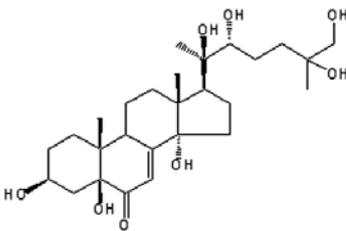


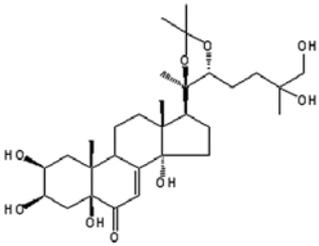
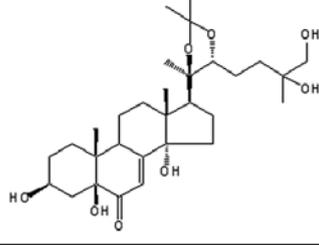
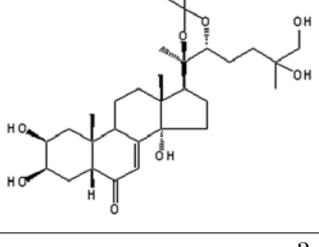
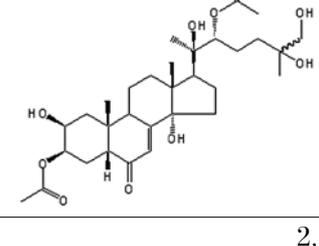
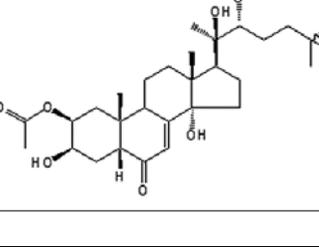
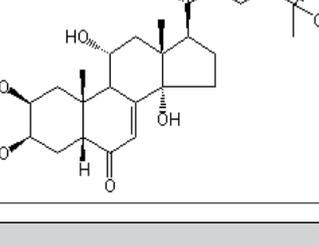
**Рис. 1.** ВЭЖХ этанольного экстракта *Silene frivaldszkyana* (дихлорметан/изопропанол/вода 100:40:3, 2 мл/мин./, Zorbax-Sil).

Условные обозначения: 2dE – 2-дезоксидэкидизон, 2d20E – 2-дезоксид-20-гидроксиэкидизон, PolB – полиподин В, 20E – 20-гидроксиэкидизон, Int A – интегристерон А, 26PolB – 26-гидроксиполиподин В, 20,26E – 20,26-дигидроксиэкидизон. По горизонтале: время удерживания соединений, мин.

Таблица 1

Распространение 26-гидроксиэкдистероидов в растениях

Структура	Вид растения	Автор
<b>20,26-дигидроксиэкдизон</b>		
	<i>Lychnis flos-cuculi</i> <i>Silene nutans</i> <i>S. frivaldszkyana</i> <i>S. otites</i> <i>S. viridiflora</i> <i>Podocarpus elatus</i> <i>Palisota schweinfurthii</i>	Girault et al. [8] Girault et al. [8] Zibareva et al. [4] Bathori et al. [9] Simon et al. [10] Thompson et al. [11] Kusamba et al. [12]
<b>26-гидроксиполиподин В</b>		
	<i>Lychnis flos-cuculi</i> <i>Silene nutans</i> <i>S. frivaldszkyana</i> <i>S. viridiflora</i>	Girault et al. [8] Girault et al. [8] Zibareva et al. [4] Mamadaliyeva et al. [7] Simon et al. [10]
<b>26-гидроксиинтегристерон А</b>		
	<i>S. frivaldszkyana</i>	Zibareva et al. [4]
<b>22-дезоксид-20,26-дигидроксиэкдизон</b>		
	<i>S. nutans</i>	Girault et al. [8]
<b>2-дезоксид-20,26-дигидроксиэкдизон</b>		
	<i>S. pseudotites</i>	Meng et al. [2]
<b>2-дезоксид-26-гидроксиполиподин В</b>		
	<i>S. viridiflora</i>	Toth et al. [13]

Структура	Вид растения	Автор
20,22-ацетонид 5,20,26-тригидроксиэкдизона		
	<i>S. viridiflora</i>	Toth et al. [13]
20,22-ацетонид 2-дезоксид-5,20,26-тригидроксиэкдизона		
	То же	Toth et al. [13]
20,22-ацетонид 20,26-дигидроксиэкдизона		
	<i>S. viridiflora</i>	Toth et al. [13]
3,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона		
	То же	Mamadalieva et al. [3]
2,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона		
	То же	Mamadalieva et al. [3]
11,20,26-тригидроксиэкдизон		
	<i>Vitex canescens</i>	Suksamrarn et al. [14]

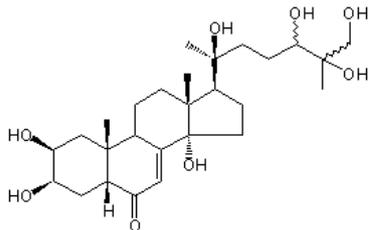
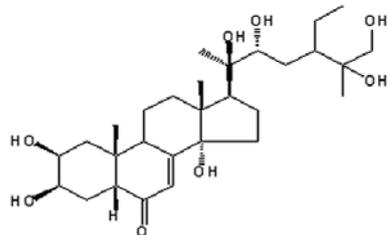
Структура	Вид растения	Автор
26-гидроксипиннатастерон		
	<i>V. cymosa</i>	Dos Santos et al. [15]
26-гидроксимакистерон С		
	<i>Leuzea carthamoides</i>	Budesinsky et al. [24]

Таблица 2

Состав экистероидов двух видов сем. Caryophyllaceae

<i>Silene frivaldszkyana</i>
20-гидроксиэкдизон [2]
2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон
2-дезоксидэкдизон
Полипидин В
Интегристерон А
26-гидроксиинтегристерон А
20,26-дигидроксиэкдизон
26-гидроксиполипидин В
<i>Silene viridiflora</i>
20-гидроксиэкдизон [7, 17]
Полипидин В
2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон [7, 10, 17]
26-гидроксиполипидин В
Интегристерон А
Силенеозид А [7, 17]
Силенеозид Д
3,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона [3]
2,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона
2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон-20-О-бензоат [18]
20,22-ацетонид 5 $\alpha$ ,2-дезоксид-20-гидроксиэкдизона [10]
2,3;20,22-диацетонид макаистерона С
20,22-ацетонид 5 $\beta$ -2-дезоксид-20-гидроксиэкдизона
20,26-дигидроксиэкдизон
2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон
2-дезоксидинтегристерон А
2-дезоксид-5,20,26-тригидроксиэкдизон [13]
20,22-ацетонид 5,20,26-тригидроксиэкдизона
20,22-ацетонид 2-дезоксид-5,20,26-тригидроксиэкдизона
20,22-ацетонид 20,26-дигидроксиэкдизона

(2d20E), 2-дезоксидэкдизон (2dE), интегристерон А (IntA), а также три 26-гидроксипроизводных – 26-гидроксиполипидин В (26PolB), 20,26-дигидроксиэкдизон (20,26E), 26-интегристерон А (рис. 1). Последнее соединение выделено впервые.

Постепенное увеличение полярности системы растворителей хлороформ–этанол позволило последовательно выделить из надземной части *S. viridiflora* экистероиды разного строения (табл. 1): 2-дезоксид-20-гидроксиэкдизон; полипидин В, 20E; 26-гидроксиполипидин В, интегристерон А, силенеозиды Д и А, 2,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона и 3,22-диацетат 20,26-дигидроксиэкдизона [3, 7].

### Обсуждение

Разнообразие полярных фитоэкистероидов с 7-8 оксигруппами значительно богаче зооэкистероидов. Для растений, в том числе и рода *Silene*, свойственен в основном синтез 26-оксипроизводных 20E (табл. 1). Следует заметить, что лишь один экистероид из этого ряда – 20,26-дигидроксиэкдизон обнаружен как у насекомых-фитофагов, так и в растениях. Анализ распространения 26-гидроксипроизводных в растениях свидетельствует о наибольшей встречаемости их в роде *Silene*. Наиболее богатыми продуцентами 26-гидроксилированных экистероидов среди растений являются *S. frivaldszkyana* и *S. viridiflora*. Из четырёх известных в настоящее время экистерои-

дов, имеющих восемь гидроксильных групп в составе молекулы, два таких полярных экидстероида (в том числе и при C<sub>26</sub>) впервые обнаружены нами в указанных видах.

В литературе имеются сведения, что концентрации и даже качественный состав экидстероидов подвержены весьма существенным колебаниям в зависимости от места произрастания растений. Так, *S. brachyica*, произрастающая в Киргизии, содержит 20E, полиподин В, интегристерон А, витикостерон Е, силенеозиды А, В, С, Д, экидзон-22-сульфат, а образец этого же вида из Узбекистана – 20E, 2-дезоксипроизводные экидзона и 20E, интегристерон А, силенеозиды А, В, С, Е, 20,22-моноацетонит 2-дезоксипроизводного экидзона, 22-ацетат 2-дезоксипроизводного экидзона [16]. Вариабильность химического профиля экидстероидов наблюдали в образцах *Serratula coronata* L. разного происхождения: растения, собранные в Узбекистане, содержали 20E, витикостерон Е и Е [19, 20]; выращенные в Республике Коми – 20E, Е, 25S-инокостерон, макистероны А и С, аюгастерон С и дакрихайнанстерон [21], в то время как в дикорастущих в Башкирии обнаружены 20E, экидзон, полиподин В, аюгастерон С, 22-О-ацетил-20E, 22-дезоксипроизводного экидзона и новый фитоэкидстероид – коронатастерон [22]. Продемонстрировано влияние комплекса условий горных районов Монголии на уровень и состав экидстероидов в *Silene repens* [23]. Образцы *S. viridiflora* (Венгрия) характеризуются многообразием структур экидстероидов, сре-

ди которых идентифицированы и 26-гидроксипроизводные (табл. 2). При выращивании в условиях Узбекистана растения этого вида не синтезировали полиподин В, 2-дезоксипроизводного экидзона и 26-гидроксиполиподин В [18]. В то же время нами из интродуцированных в Западную Сибирь растений были выделены гликозиды и ацетаты экидстероидов, которые не были выявлены в растениях венгерского образца. Таким образом, на примере *S. viridiflora* продемонстрировано влияние условий произрастания растений на состав экидстероидов.

Из растений *S. viridiflora*, интродуцированных в Сибирском ботаническом саду, ранее выделен другой набор соединений. По всей вероятности, синтез в интродуцентах протекает по схеме, представленной на рисунке 2А. Предполагаемая схема превращений экидстероидов в 26-гидроксипроизводные приведена на рисунке 2Б. Следует отметить, что синтез 26-гидроксипроизводных предполагает в качестве промежуточного продукта 20,26-дигидроксипроизводного экидзона, который обнаружен в образце венгерского происхождения, но не выделен нами из интродуцированных растений. Авторами [10] предложена гипотетическая схема превращений экидстероидов в популяции *S. viridiflora* из окрестностей Вакратот (Венгрия). Очевидно, что биосинтез экидстероидов в растениях *S. viridiflora*, произрастающих в различных климатических условиях, протекает по различному пути.

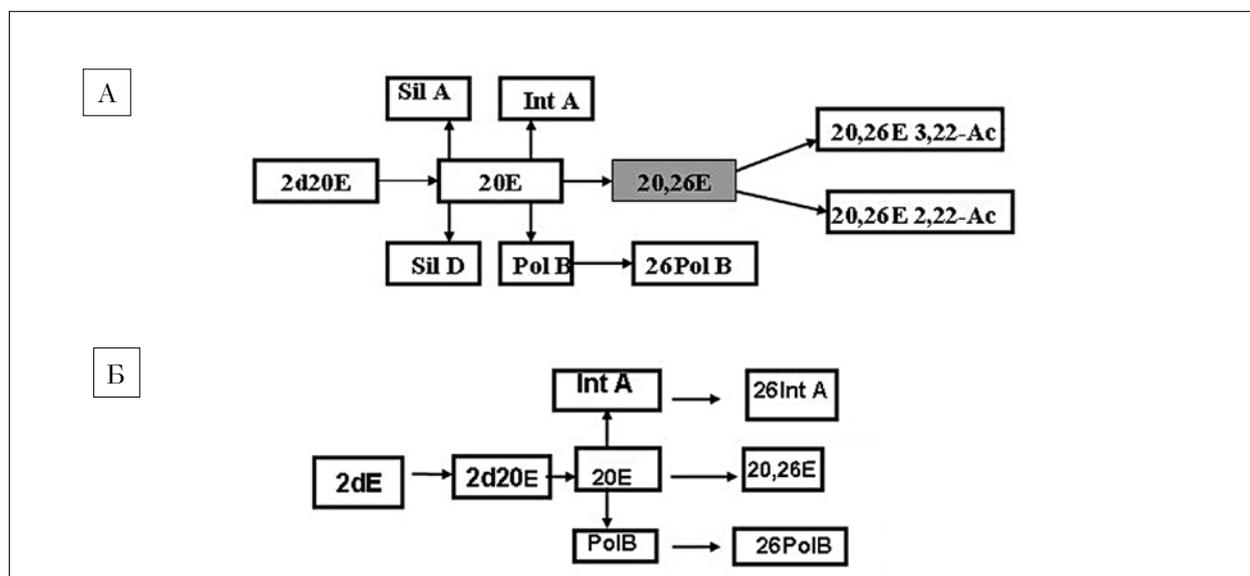


Рис. 2. Схема превращений экидстероидов в *Silene viridiflora* (А) и *S. frivaldszkyana* (Б), интродуцированных в Сибирском ботаническом саду

Условные обозначения: Sil A – силенеозид А; Sil D – силенеозид Д; 20,26E 3,22-Ac – 3,22-диацетат 20,26-дигидроксипроизводного экидзона; 20,26E 2,22-Ac – 2,22-диацетат 20,26-дигидроксипроизводного экидзона; 26Int A – 26-гидроксипроизводного интегристерона А. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

**Заключение**

Изучение распространения полярных экидистероидов – 26-гидроксипроизводных – показало, что растения характеризуются большим структурным разнообразием, чем насекомые. У растений найдены 26-гидроксипроизводные 20E, тогда как у насекомых обнаружены производные как 20-гидроксиэкидизона, так и экидизона. Наибольшее число полярных экидистероидов с восемью оксигруппами, включая и при C<sub>26</sub>, выявлено в видах *S. viridiflora* и *S. frivaldszkijana*. Условия произрастания влияют на синтез экидистероидов, включая и 26-гидроксипроизводных.

**Литература**

1. Zibareva L., Volodin V., Saatov Z. et al. Distribution of phytoecdysteroids in the Caryophyllaceae // *Phytochem.* 2004. V. 64. № 2. P. 499–517.
2. Meng J., Whiting P., Zibareva L. et al. Identification and quantitative analysis of the phytoecdysteroids in *Silene* species (Caryophyllaceae) by high performance liquid chromatography. Novel ecdysteroids from *Silene pseudotites* // *J. Chromatography.* 2001. V. 935. P. 309–319.
3. Mamadalieva N., Zibareva L., Evrard-Todeschi N. et al. New minor ecdysteroids from *Silene viridiflora* // *Collect. Czech. Chem. Commun.* 2004. V. 69. P. 1675–1680.
4. Zibareva L., Yeriomina V.I., Munkhjargal N. et al. The phytoecdysteroid profiles of 7 species of *Silene* (Caryophyllaceae) // *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 2009. V. 72. № 4. P. 234–248.
5. Саатов З., Горовиц М.Б., Абубакиров Н.К. Фитоэкидистероиды растений рода *Silene* XVI. Витикостерон E-22 О-бензоат из *S. wallichiana* // *Химия природных соединений.* 1988. № 4. С. 546–549.
6. Ecdybase (The Ecdysone Handbook) – a free online ecdysteroids database. – ([www.ecdybase.org](http://www.ecdybase.org) 15.06.2010).
7. Mamadalieva N., Zibareva L., Saatov Z., Lafont R. Phytoecdysteroids of *Silene viridiflora* // *Chem. Natural Compounds.* 2003. V. 39. P. 199–203.
8. Girault J.-P., Bathori M., Varga E. et al. Isolation and identification of new ecdysteroids from the Caryophyllaceae // *J. Natural Products.* 1990. V. 53. P. 279–293.
9. Bathori M., Girault J.-P., Kalasz H. et al. Complex phytoecdysteroid cocktail of *Silene otites* (Caryophyllaceae) // *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 1999. V. 41. P. 1–8.
10. Simon A., Toth N., Toth G. et al. Ecdysteroids from *Silene viridiflora* // *Helvetica Chim. Acta.* 2009. V. 92. P. 753–761.

11. Galbraith M.N., Hort H.S., Middleton E.L. et al. Structure of podecdysone C, a steroid with moulting hormone activity from the bark of *Podocarpus elatus* R. Br. // *Experientia.* 1973. V. 29. № 7. P. 782.
12. Kusamba C., Nicoletti M., Federici E. et al. Isolation of ecdysteroids from three species of *Palisota* // *Fitoterapia.* 1995. V. LXVI. P. 175–178.
13. Toth N., Simon A., Toth G. et al. 26-hydroxylated ecdysteroids from *Silene viridiflora* // *J. Natural Products.* 2008. V. 71. P. 1461–1463.
14. Suksamrarn A., Promrangsan N., Jintasirikul A. Highly oxygenated ecdysteroids from *Vitex canescens* root bark // *Phytochem.* 2000. V. 53. P. 921–924.
15. Dos Santos T.C., Delle Monache F., Leit o S.G. Ecdysteroids from two Brazilian *Vitex* species // *Fitoterapia.* 2001. V. 72. P. 215–220.
16. Саатов З. Экидистероиды растений сем. Caryophyllaceae, Labiatae, Compositae: Автореф. дис. ... докт. хим. наук. Ташкент. 1993. 36 с.
17. Zibareva L. Phytoecdysteroids of Caryophyllaceae Juss. // *Contemporary problems of ecology.* Berlin–London: Springer, 2009. V. 2. № 5. P. 476–488.
18. Рамазанов Н.Ш., Султанов С.А., Саатов З., Нигматуллаев А.М. Фитоэкидистероиды рода *Silene* и динамика их содержания // *Химия природных соединений.* 1997. № 6. С. 718–723
19. Новосельская И.Л. Фитоэкидизоны растений рода *Serratula*: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Ташкент. 1977. 23 с.
20. Новосельская И.Л., Горовиц М.Б., Абубакиров Н.К. Витикостерон E, экидистерон, а-экидизон. Фитоэкидистероиды *Serratula coronata* // *Химия природных соединений.* 1981. № 5. С. 668–669.
21. Volodin V.V., Alexeeva L.I., Kolegova N.A. et al. Futher ecdysteroids from *Serratula coronata* L. (Asteraceae) // *Biochem. System. Ecol.* 1998. V. 26. P. 459–461.
22. Балтаев У.А., Галяутдинов И.В., Боровикова Е.Б., Одинокоев В.Н. Фитоэкидистероиды растений рода *Serratula* и *Chenopodium*. Выделение и трансформации // *Лесохимия и органический синтез: Матер. докл. III все-рос. совещ. Сыктывкар.* 1998. С. 28.
23. Мунхжаргал Н., Зибарева Л.Н., Лафон Р., Прибыткова Л.Н., Писарева С.И. Изучение качественного состава и содержания экидистероидов дикорастущей в Монголии и интродуцированной в Западную Сибирь *Silene repens* // *Химия растительного сырья.* 2009. № 4. С. 133–138.
24. Budesinsky M., Vokac K., Harmatha J., Cvaccka J. Additional minor ecdysteroid components of *Leuzea carthamoides* // *Steroids.* 2008. V. 73. P. 502–514.

## Изучение дикорастущих форм *Serratula coronata* L. в условиях Республики Коми

© 2012. Р. А. Беляева<sup>1</sup>, к.с.-х.н., в.н.с., В. В. Володин<sup>2</sup>, д.б.н., зав. лабораторией,  
С. О. Володина<sup>2</sup>, к.б.н., с.н.с., В. Е. Рубцова<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Республики Коми РАСХН,

<sup>2</sup> Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
e-mail: volodin@ib.komisc.ru

В течение 2005–2008 гг. в условиях коллекционного питомника (Республика Коми) изучали образцы экидистероидсодержащих растений *Serratula coronata* L. из четырёх географически удаленных популяций. На основе сравнения морфологических и продуктивных признаков и содержания 20-гидроксиэкидизона установлено, что наиболее ценными для дальнейшей селекционной работы являются образцы с происхождением из средней полосы России (Серпуховской район Московской области) и района Кавказских Минеральных Вод.

During 2005–2008 four specimens of plants *Serratula coronata* L. of different geographical origin were studied in conditions of nursery-garden in the Komi Republic. Comparative study of the morphological and productive characteristics and 20-hydroxyecdysione content showed that specimens from the middle zone of Russia (Serpukhov district of Moscow region) and the Caucasian Mineral Waters are most prospective for the purpose of further selection.

Ключевые слова: серпуха венценосная (*Serratula coronata*), селекция, 20-гидроксиэкидизон

Keywords: *Serratula coronata*, selection, 20-hydroxyecdysone

Виды семейства астровых (Asteraceae), в частности, рода серпуха (*Serratula* L.) являются перспективными продуцентами фитоэкидистероидов. В настоящее время показано использование 20-гидроксиэкидизона (20E) – основного экидстероида растений – в составе лекарственных препаратов адаптогенного, кардиотропного, противоязвенного действия [1, 2]. Один из перспективных видов этого рода – серпуха венценосная (*Serratula coronata* L.) – распространён в южных областях европейской части России, Сибири, на Дальнем Востоке, Северном Кавказе, Казахстане и в Средней Азии. Выделение перспективных образцов растений из природных популяций и выращивание этой ценной культуры было организовано в ботаническом саду Томского госуниверситета в 80-е годы XX в. [3]. В Республике Коми работы по интродукции серпухи венценосной проводятся с 1988 г. в Институте биологии Коми НЦ УрО РАН [4]. *S. coronata* – многолетнее травянистое растение, зимостойкое, устойчивое к возврату весенних заморозков. В её листьях содержание 20E на порядок выше, чем в подземных органах известного фармакопейного вида рапонтникума сафлоровидного (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin), и составляет около 1,0% [5].

В связи с этим поставлена задача изучить образцы *S. coronata* из географически удаленных популяций по морфологическим и хозяйственно ценным признакам и выделить перспективные для дальнейшего использования в селекционной работе.

### Материалы и методы

Экспериментальный материал изучали в коллекционном питомнике в ГНУ «НИИСХ РК» РАСХН (г. Сыктывкар). Были изучены образцы *S. coronata* из удаленных популяций: «московский» (семена собраны В. В. Володиным и И.Ф. Чадиным в приграничной зоне Приокского террасного заповедника в 2002 г.), «томский» (семена получены от к.б.н. Т. Г. Хариной в 1992 г.), «новосибирский» (семена собраны В.В. Володиным и И.Ф. Чадиным в Черепановском районе Новосибирской области), «пятигорский» (семена собраны В.В. Володиным и И. Ф. Чадиным в районе Кавказских Минеральных Вод). Для комплексной оценки образцов использовали следующие признаки: число прикорневых и стеблевых листьев и их размеры, количество генеративных побегов на одно растение, их высота и диаметр у основания, число корзинок на генеративном по-

бега, число выполненных семян в корзинке, их линейные размеры и масса. Также были определены хозяйственно-ценные признаки: облиственность, вегетативная масса растения, содержание 20Е. Для оценки степени варьирования изучаемых признаков использован коэффициент вариации ( $v$ ) по Б. А. Доспехову [6].

При определении морфологических признаков использовали листья в средней части генеративных побегов. Количество листьев подсчитывали на главной оси генеративного побега. Размеры корзинок измеряли у верхушечных бутонов в фазах начала цветения и созревания. Для исследования семенной продуктивности измеряли диаметр корзинки, подсчитывали сформировавшиеся семена, в том числе выполненные, их массу, массу 1000 семян и их размеры. Для определения 20Е отбирали стеблевые листья средней части побегов в фазы полной бутонизации и начала цветения. Содержание 20Е определяли в Институте биологии Коми НЦ УрО РАН на аналитической системе ВЭЖХ «Varian» (США).

### Результаты и обсуждение

В первый год жизни растений (2005 г.) морфологический анализ провели через 30 дней после высадки рассады в поле и перед уходом в зиму. К 25 июля образцы сформировали от трёх до семи прикорневых листьев длиной 9,0–19,8 см. Наиболее развитые растения оказались у «московских» образцов растений *S. coronata* (пять-шесть листьев длиной 18,2–19,0 см) и «томских» (шесть листьев по 19,8 см). Наибольшее число прикорневых листьев отмечено у «пятигорских» образцов *S. coronata*, но они были мелкие (длина 9,7 см). Анализ растений перед уходом в зиму (12 сентября 2005 г.) свидетельствовал о хорошем развитии образцов серпухи в условиях Севера. Практически у всех образцов отмечено удвоение количества прикорневых листьев и их размеров. Образцы «томский» и «московский» *S. coronata* достигли фазы стеблевания. Наблюдения, проведённые нами весной следующего года, установили большой размах изменчивости (79–100%) по зимостойкости изучаемых образцов.

В 2006 и 2007 гг. были проведены дальнейшие исследования образцов *S. coronata* различного географического происхождения. Анализ образцов был проведён в фазу бутонизации растений (14.07.2006 г. и 18.07.2007 г.). В 2006 г. наибольшее число прикорневых ли-

стьев (от 11 до 14 шт.) образовали «московский», «томский» и «новосибирский» образцы. Длина наибольшего листа колебалась от 38,0 до 44,3 см, ширина – от 16,0 до 22,3 см. Листья сильнорассечённые, слабоопушённые, размеры конечной доли листа у этих образцов составили от 9,3–15,0 до 3,5–6,0 см. Наиболее крупные размеры конечной доли были у «томского» образца (табл. 1). По высоте генеративных побегов на второй год развития выделились «томский» и «московский» образцы. Несмотря на меньшую высоту побегов «новосибирского» и «пятигорского» (табл. 1), по числу стеблевых листьев и их размерам они не отличались. На третий год развития наиболее развитые растения сформировались у «московского» образца. Число прикорневых листьев увеличилось у всех образцов на 2–3 шт. за исключением «московского» образца, у которого число прикорневых листьев увеличилось в два раза и листья по размерам были значительно крупнее. Число генеративных побегов на растение у «московского» и «томского» образцов увеличилось в два раза, «пятигорского» – в пять раз. Их высота увеличилась в два-три раза, но диаметр был меньше, чем в предыдущем году. По числу стеблевых листьев и их размерам образцы различались слабо. На четвёртый год жизни растения достигли полного развития. Число генеративных побегов на растение составило у «московского» и «томского» образцов 19 и 21 шт. соответственно, у «пятигорского» – уменьшилось до 3 шт. Стебли были толщиной 1,1–1,2 см, без антоциановой окраски, неопушённые. Высота прикрепления нижних ветвей составила соответственно 48,3; 78,0 и 97,6 см. С этим признаком, очевидно, связано число ветвей первого порядка. Наибольшее их число (11 шт.) выявлено на побегах «московского» образца. Листья у всех образцов были удлинённые, сильнорассечённые, слабоопушённые, длиной 46–48 и шириной 13–28 см; наиболее узкими листьями отличался «пятигорский» образец.

Семенная продуктивность растений серпухи венценосной зависит от числа генеративных стеблей и соцветий, количества семян в корзинке, в том числе – выполненных (табл. 2). По семенной продуктивности образцы существенно варьировали как между собой, так и по годам исследований. В 2007 г. (на третьем году жизни) лучшие результаты показал «пятигорский» образец. На растениях формировались крупные корзинки с большим числом выполненных семян, с каждого растения было получено по 378 полноценных семян. В 2008 г.

Таблица 1

Морфологические признаки образцов серпухи венценосной второго (верхняя строка) и третьего (нижняя строка) годов жизни

Признак	Образец			
	«московский»	«томский»	«новосибирский»	«пятигорский»
Число, шт.				
листьев				
прикорневых	13	11	14	10
	25	14	16	10
стеблевых	8	11	11	7
	10	8	–	10
побегов генеративных	4	5	1	2
	8	9	–	11
Длина листа, см				
прикорневого наибольшего	44,3	38,0	41,7	43,0
	63,0	45,7	43,6	30,0
стеблевого				
нижнего	40,3	34,0	39,3	39,7
	–	–	–	–
среднего	31,0	29,7	32,7	30,3
	–	–	–	–
верхнего	8,7	7,7	7,0	7,2
	–	–	–	–
Ширина листа, см				
прикорневого наибольшего	16,0	18,0	22,3	19,7
	31,0	23,7	24,0	21,0
стеблевого				
нижнего	16,3	13,3	17,0	17,0
	–	–	–	–
среднего	13,0	14,0	15,7	13,7
	–	–	–	–
верхнего	3,2	3,2	3,3	4,6
	–	–	–	–
Размер конечной доли наибольшего прикорневого листа, см	9,3	15,0	9,7	10,2
	12,0	7,5	8,0	10,0
Высота генеративного побега, см	70,0	73,3	62,7	51,7
	158,6	134,9	–	144,6
Диаметр генеративного побега внизу, см	2,10	1,20	1,50	1,40
	0,67	0,75	–	0,6
Опушённость стеблевых листьев	Слабо	Нет	Слабо	Слабо
	То же	То же	То же	То же

Примечание: прочерк – нет данных. Описание признаков растений второго и третьего годов жизни выполнено 16.06.2006 г. и 18.06.2007 г. соответственно.

у всех образцов размеры корзинок и число семян в них оказались меньше, чем в предыдущем году. Однако доля выполненных семян была выше и сформировались более полновесные семена. На четвёртый год развития «московский» и «томский» образцы сформировали более мощные растения с большим числом цветков, что отразилось на повышении их семенной продуктивности. У «пятигорского» образца урожай семян снизился в связи с умень-

шением числа генеративных побегов и соцветий на растениях. В среднем за два года наилучшие показатели отмечены у «московского» образца. «Томские» образцы отличались более мелкими семенами.

Важное хозяйственное значение имеет продуктивность надземной массы и содержание 20Е. В первый год пользования по содержанию 20Е (в стеблях, листьях и соцветиях) выделялся «пятигорский» образец (соответ-

Таблица 2

Семенная продуктивность образцов серпухи венценосной в 2007 (верхняя строка) и 2008 (нижняя строка) гг.

Признак	Образец		
	«московский»	«томский»	«пятигорский»
Диаметр корзинки, см	3,1	2,7	3,4
	2,4	1,6	2,0
Число, шт.			
корзинок на растение	10	8	9
	16	14	5
семян в корзинке			
общее	72	56	75
	68	63	63
выполненных (доля, %)	25 (33,3)	30 (53,6)	42 (56,0)
	46 (67,6)	45 (71,4)	49 (77,8)
Масса абсолютная 1000 семян, г	4,9	3,8	5,0
	6,9	6,2	6,1
Размер семян, см			
длина	0,8	0,6	0,7
	0,9	0,6	0,7
ширина	0,2	0,2	0,2
	0,2	0,2	0,2
Продуктивность семенная одного растения, шт.	250	240	378
	736	630	245

Таблица 3

Сырьевая продуктивность образцов серпухи венценосной на четвёртый год жизни

Признак	Образец		
	«московский»	«томский»	«пятигорский»
Масса, г			
сухая одного растения	496,0	313,0	128,0
стеблей и соцветий	268,0	147,0	58,0
листьев (доля в структуре урожая, %)	228 (45,9)	166 (53,0)	70 (54,7)
Содержание валовое 20Е в листьях одного растения, г (содержание 20Е в стеблевых листьях, %)	44,5 (0,20)	29,5 (0,18)	45,0 (0,36)

ственно 0,18:0,41:0,50%). Другие образцы значительно уступали ему по содержанию 20Е. На четвёртый год жизни сухая масса растений «московского» образца практически удвоилась, «томского» – увеличилась в 1,3 раза, «пятигорского» – снизилась в 1,7 раза (табл. 3). Содержание 20Е в стеблевых листьях «московского» и «томского» образцов было практически одинаковым, а пятигорский превосходил их почти в два раза. Поэтому, несмотря на меньший урожай сухой массы, валовое содержание 20Е в нём достаточно высокое.

Таким образом, в результате изучения морфологических и продуктивных признаков образцов серпухи венценосной нами установлено, что наиболее ценными для дальнейшей селекционной работы являются «московский» и «пятигорский» образцы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы интеграционных проектов (проект № 12-И-4-2072: «Ресурсный и биотехнологический потенциал растений Урала и сопредельной территории европейского северо-востока России – подуцентов важнейших групп биологически активных веществ»).*

### Литература

1. Абубакиров Н.К. Экдистероиды цветковых растений // Химия природных соединений. 1981. № 6. С. 685–702.
2. Куракина И.О., Булаев В.М. Экдистен – тонизирующее средство в таблетках по 0,005 г // Новые лекарственные препараты. М. 1990. Вып. 6. С. 16–18.
3. Харина Т.Г. Эколого-биологические особенности серпухи венценосной в связи с интродукцией в За-

падной Сибири: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск. 1990. 16 с.

4. Мишуров В.П., Портнягина Н.В., Рубан Г.А. Интродукция серпухи венценосной на Севере // Интродукция растений на европейском Северо-Востоке. Сыктыв-

кар. 1995. С. 91-100. (Тр. Коми НЦ УрО РАН; № 140).

5. Фитоэктистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.

6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М. 1985. 351 с.

УДК 574:595.7-153.11:577.175.24

## Консортивные связи эктистероидсодержащего растения *Serratula coronata* L. (Asteraceae)

© 2012. С. В. Пестов, к.б.н., н.с., К. Г. Уфимцев, к.б.н., н.с.,  
В. В. Володин, д.б.н., зав. лабораторией,  
С. О. Володина, к.б.н., с.н.с., А. Г. Донцов, к.х.н., с.н.с.,  
Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
e-mail: ufimtsev@ib.komisc.ru

Описан консортивный комплекс эктистероидсодержащего растения *Serratula coronata* L. в условиях интродукции в Республике Коми. Установлено, что основным фитофагом этого вида растений является тля *Uroleucon jaceae* L. Соцветия серпухи поражаются личинками мухи-пестрокрылки. К опылителям серпухи венценосной в условиях интродукции относятся три группы: медоносные пчёлы, шмели и мухи-журчалки. Специализированные хищники тлей представлены личинками и имаго божьих коровок, златоглазок, личинками мух-журчалок, неспециализированные – клопами Nabidae и мушками-зеленушками Dolichopodidae. К паразитам мух-журчалок относятся наездники Ichneumonidae и круглые черви Mermitidae. Исследованы степень поражения растений серпухи венценосной и изменение численности тли *Uroleucon jaceae* в течение вегетационного периода. Методом ВЭЖХ определено содержание эктистероидов и сахаров в пади тлей, питающихся соком растений серпухи венценосной. Впервые установлено наличие в пади основных эктистероидов серпухи венценосной – 20E и Ip, а также минорных компонентов эктистерона и макистерона А, идентичное содержанию их в нативных растениях и клеточном соке. Показано, что основными углеводными компонентами пади являются фруктоза, трегалоза и сахароза. Полученные данные позволяют в перспективе исследовать возможное участие фитоэктистероидов, как экорегуляторов, в ближних и дальних экологических связях в наземных экосистемах.

The consortium complex of *Serratula coronata* L. in conditions of introduction (middle taiga zone, Komi Republic, Russian Federation) is described. The herbivores of *Serratula* are aphids and gall flies. The flowers of *Serratula* are visited by 26 species of insects. The most abundant pollinators are bumblebee *Bombus pratorum* (L.) and honey bees *Apis mellifera* L. Number of predators and parasites insects of herbivores is revealed. Chemical composition of aphid's honey dew and way of migration of plant secondary metabolites in the trophic chains (plants *Serratula coronata* and aphid's *Uroleucon jaceae* L.).

Ключевые слова: *Serratula coronata*, консортивный комплекс,  
*Uroleucon jaceae*, фитоэктистероиды

Keywords: *Serratula coronata*, consortium complex,  
*Uroleucon jaceae*, phytoecdysteroids

Серпуха венценосная (*Serratula coronata* L.) – многолетнее растение из семейства астровых (Asteraceae) высотой 35–150 см, листья перистораздельные или перисторассечённые. Вид широко распространён в лесостепной и лесной зоне Евразии от Западной Европы до Дальнего Востока, является одним из наиболее перспективных продуцентов эктистероидов – растительных аналогов гормонов линьки и метаморфоза насекомых. Содержание 20-гидроксиэктистерона (20E) в надземной части растений колеблется от 0,7 до 3,0%

[1]. В настоящее время ведутся работы по интродукции серпухи венценосной в качестве кормовой культуры и источника биологически активных веществ [2–4]. В природе любой организм взаимодействует со своим абиотическим и биотическим окружением. Помимо климатических и эдафических факторов, обычно учитываемых при интродукции, важным является выявление консортивных связей между видами. В практическом плане большой интерес представляет определение роли насекомых двух групп – фитофагов и опылите-

лей. Значение насекомых-фитофагов для растения неоднозначно. С одной стороны, можно говорить об отрицательном воздействии фитофагов на растения, поскольку они отчуждают часть фитомассы. С другой – биоповреждения могут приводить к индукции биосинтеза вторичных метаболитов, что имеет важное практическое значение. Например, поражение растений паслёна дольчатого *Solanum laciniatum* (Ait.) тлей приводит к увеличению содержания соласодина в листьях [5], а повреждение личинками комарика *Bradysia impatiens* Joh. корней шпината (*Spinacia oleracea* L.) вызывает многократное увеличение концентрации 20E в растениях [6].

На примере смолёвки татарской (*Silene tatarica* (L.) Pers.) показано, что для популяций растений характерен высокий уровень полиморфизма по содержанию 20E, что препятствует адаптации насекомых к постоянной концентрации экзогенных гормонов линьки в пище [4]. В эксперименте [7] из шести особей тли *Myzus persicae* Sulzer после нескольких партеногенетических генераций было получено шесть групп тлей (по 15 генетически идентичных особей) и изучена их реакция на экдистероидсодержащую диету. Высокая концентрация 20E приводила к значительному уменьшению числа полученных нимф у двух групп, в то время как низкие концентрации приводили как к уменьшению, так и к увеличению количества потомства. Представители двух групп практически отвергали пищу, содержащую 20E, в то время как особи другой группы предпочитали её. Таким образом, биохимическая изменчивость растений и разделение насекомых на устойчивых и чувствительных по отношению к 20E особей является стратегией выживания растений и насекомых на видовом и популяционном уровнях. В литературе имеются и другие данные о разнообразном влиянии экзогенных экдистероидов на рост и развитие насекомых-фитофагов [8 – 10].

Цель настоящего исследования заключается в описании консортивного комплекса *Serratula coronata* в условиях интродукции в подзону средней тайги Республики Коми и изучении путей миграции вторичных метаболитов в цепях питания на примере взаимоотношений между растениями серпухи венценосной и тлей, являющейся её основным фитофагом.

### Материал и методы

Исследования проводились в июне-августе 2006–2010 гг. на опытном участке сер-

пухи венценосной Института биологии Коми НЦ УрО РАН в окрестностях г. Сыктывкара. Насекомых собирали кошением энтомологическим сачком по растениям, осмотром растений и ручным сбором. Учёт опылителей производился в течение 10-минутного интервала. Препараты тлей в 10% растворе формалина были переданы А.В. Стекольщикову (ЗИН РАН, Санкт-Петербург) и определены им как *Uroleucon jaceae* (L.). Определяли долю поражённых колониями тлей растений и подсчитывали число тлей на одном растении. Сбор пади производили с помощью предварительно взвешенных прозрачных пластиковых дисков диаметром 9 см, укрепленных на генеративных побегах ниже участков, поражённых тлями, с 15 растений ежедневно. Диски с падью взвешивали. Падь с дисков смывали дистиллированной водой, воду отгоняли в вакууме на роторном испарителе, массу пади определяли гравиметрическим методом. Качественный состав и количественное соотношение экдистероидов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на аналитической ВЭЖХ-системе Varian Pro Star (США) по ранее описанной методике [14]. Качественный состав и количественное соотношение сахаров определяли на аналитической ВЭЖХ-системе Knauer Smartline 2300 (Германия) по описанной ранее методике [15]. Для определения динамики численности тли ежедневно производили их подсчёт на каждом из 15 экспериментальных растений.

### Результаты и обсуждение

По нашим наблюдениям, растения серпухи венценосной в фазе цветения при интродукции в таёжной зоне Республики Коми сильно поражаются тлями. В этой фазе в листьях и апикальной части побегов содержится чрезвычайно высокая концентрация экдистероидов (до 3%) [8]. Замечено, что тли поражали именно те части побегов, в которых содержание экдистероидов было максимальным. На основании наших наблюдений можно предположить, что этот вид тлей является нечувствительным к высоким концентрациям фитоэкдистероидов благодаря особенностям пищеварительной и выделительной систем. Известно, что тли, питающиеся флоэмным соком растений, избавляются от избытка сахаров, выделяя их в неизменном виде в окружающую среду в составе пади [11]. Возможно, по этому же механизму могут выводиться и экзогенные экдистероиды – полигидроксилированные ци-

клические спирты, имеющие заметное структурное сходство с сахарами [12]. Следует подчеркнуть, что судьба экзогенных экистероидов, выделяемых совместно с сахарами в составе пади, является абсолютно не изученной в ближних и дальних пищевых цепях и представляет несомненный научный и практический интерес. В этих целях нами проведено описание консортивного комплекса серпухи венценосной. Установлено, что кроме основного фитофага *Uroleucon jaceae*, другими фитофагами серпухи венценосной являются долгоносики *Chlorophanus viridis* (L.) и *Phylobius* sp., щитоноска пижмовая *Cassida vibex* L. и личинки мух-пестрокрылок (Thephtitidae). Среди прочих листогрызущих насекомых найдены также личинки пилильщиков, которые делают на листьях дырчатые погрызы, и гусеницы чешуекрылых, которые вызывают краевые погрызы. Доля поражённых листогрызущими насекомыми растений серпухи венценосной составляла 2–3%. В агроценозе серпухи часто встречались клопы *Lygus* и *Carposcoris*. К опылителям серпухи венценосной в условиях интродукции относятся три группы насекомых: медоносные пчёлы (*Apis mellifera* L.), шмели (*Bombus*), мухи-журчалки (*Syrphidae*) [13]. Наиболее обильными видами – посетителями цветков серпухи являются шмель *Bombus pratorum* (L.) и медоносная пчела *Apis mellifera* L. Консорты второго порядка представлены хищниками и паразитами. Тлей *Uroleucon jaceae* питаются личинки и имаго божьих коровок *Adalia bipunctata* (L.), *A. septempunctata* L.,

*Hippodamia tredecimpunctata* (L.) и *Anisosticta novemdecimpunctata* (L.) (Coccinellidae) и златоглазок *Chrysopa perla* (L.) (Chrysopidae), личинки мух-журчалок родов *Sphaerophoria* и *Syrphus* (*Syrphidae*). Последние являются хозяевами наездников-ихневмонид (*Ichneumonidae*) и круглых червей *Mermitidae*. Кроме того, в сборах отмечены хищные клопы *Nabidae*, мушки-зеленушки *Dolichopodidae*, которые относятся к неспециализированным хищникам, и мухи-шаровки *Ogcodes gibbosus* (L.) (*Arcoceridae*) – паразиты пауков.

Изучение динамики повреждаемости растения серпухи венценосной и численности тли *Uroleucon jaceae* в течение вегетационного периода показало, что максимальная повреждаемость растений приходится на начало августа при переходе растения из фазы бутонизации в фазу цветения (рис. 1). Размер колоний и заселённость колониями растений неуклонно возрастали в течение всей фазы отрастания, хотя и были подвержены колебаниям, в зависимости от погодных условий. При переходе в фазу бутонизации все растения были заселены колониями тлей. Средняя численность колонии превышала 100 особей. Размер колонии достиг максимума при переходе из фазы бутонизации в фазу цветения и составил 627 особей на одно растение (рис. 2). Сбор пади осуществляли на разных фенологических фазах. Максимальное количество было получено во время цветения растений (рис. 3).

ВЭЖХ-анализ пади на содержание экистероидов показал, что её качественный со-

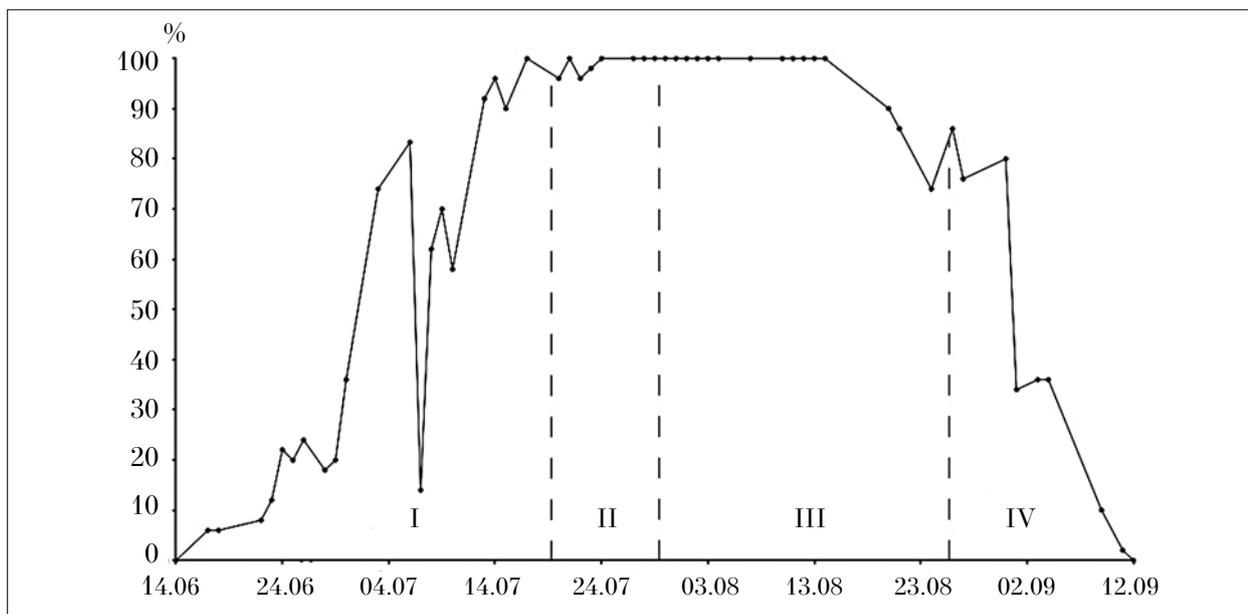


Рис. 1. Доля (%) поражённых тлей *Uroleucon jaceae* растений *Serratula coronata* в фазы отрастания (I), бутонизации (II), цветения (III) и плодоношения (IV)

Примечание: По горизонтали: здесь и далее – дата учёта.

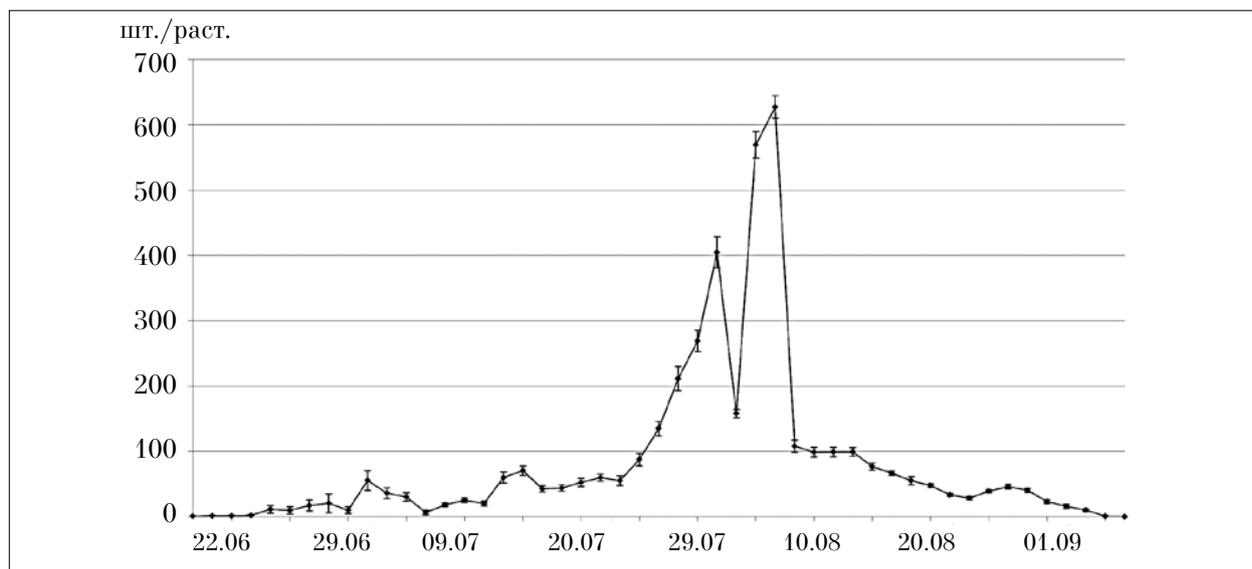


Рис. 2. Динамика численности тлей на растении *Serratula coronata*

став идентичен таковому в клеточном соке растений серпухи венценосной. На ВЭЖХ-хроматограммах образца пади тлей обнаружены пики характерных для растений основных экидистероидов 20E и инокостерона (In), а также минорных компонентов – экидизона и макистерона А. Обнаружение экидистероидов в составе пади представляет интерес, с одной стороны, для понимания биохимических механизмов устойчивости тлей к экзогенным гормонам линьки, с другой – позволяет поставить вопрос о возможном участии фитоэкидистероидов в трофических цепях. Содержание основных экидистероидов 20E и In в пади тли было минимальным в фазе бутонизации и достигло своего максимума в период плодоношения растений (рис. 4 А). Анализ участков поражённых тлей цветоносов показал, что макси-

мальное содержание 20E и In наблюдается во время фазы бутонизации и значительно снижается к фазе плодоношения (рис. 4 Б).

Содержание суммы сахаров в пади составляет 30 %. Основными компонентами являются глюкоза, фруктоза и сахароза (рис. 5 А), в меньших количествах присутствуют мальтоза и раффиноза. Максимальная концентрация основных сахаров (рис. 5 Б) отмечена во время бутонизации растений.

### Заключение

Впервые описан консортивный комплекс экидистероидсодержащего растения *Serratula coronata* L. в условиях интродукции (средняя тайга Республики Коми). Установлено, что основным фитофагом этого вида растений является тля *Uroleucon jaceae* L. Соцветия серпухи поражаются личинками мухи-пестрокрылки. К опылителям серпухи венценосной в условиях интродукции относятся три группы: медоносные пчёлы, шмели и мухи-журчалки. Специализированные хищники тлей представлены личинками и имаго божьих коровок, златоглазок, личинками мух-журчалок, неспециализированные – клопами *Nabidae* и мушками-зеленушками *Dolichopodidae*. К паразитам мух-журчалок относятся наездники *Ichneumonidae* и круглые черви – *Mermitidae*. Исследована степень поражения растений серпухи венценосной и изменение численности тли *Uroleucon jaceae* в течение вегетационного периода.

Методом ВЭЖХ определено содержание экидистероидов и сахаров в пади тлей, пита-

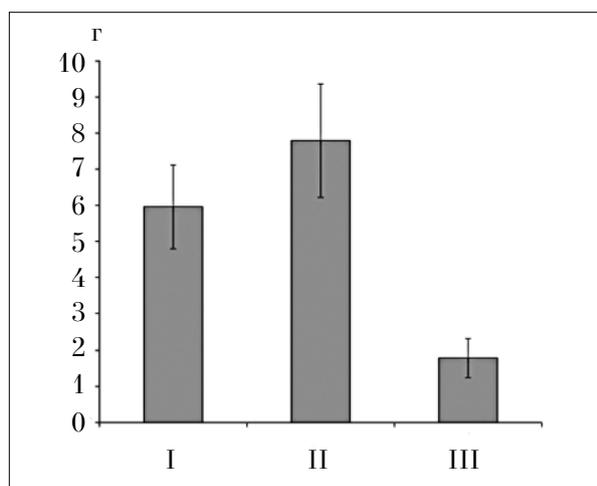


Рис. 3. Масса (г) пади тли *Uroleucon jaceae* на различных фазах развития растений *Serratula coronata*

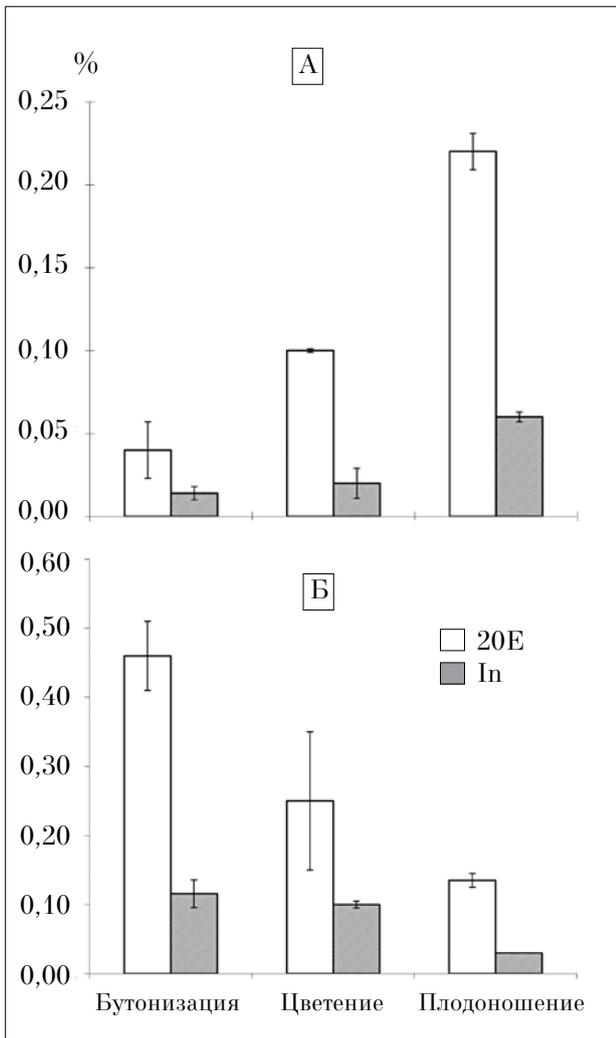


Рис. 4. Массовая доля (%) 20E и In в пади тлей (А) и участках цветоносов (Б) *Serratula coronata*, поражённых тлей

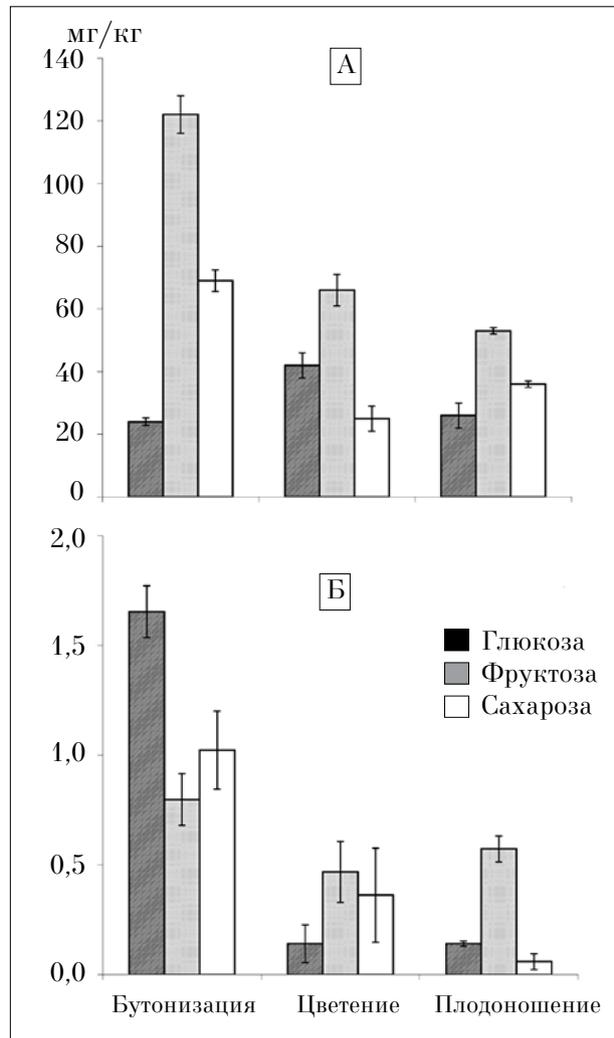


Рис. 5. Содержание (мг/кг) углеводов в пади тлей (А) и участках цветоносов (Б) *Serratula coronata*, поражённых тлей

ющихся соком растений серпухи венценосной. Впервые установлено наличие в пади основных экидистероидов серпухи венценосной – 20E и In, а также минорных компонентов – экидизона и макистерона А, идентичное содержанию их в нативных растениях и клеточном соке. Показано, что основными углеводными компонентами пади являются фруктоза, трегалоза и сахароза. Полученные данные позволяют в перспективе исследовать возможное участие фитоэкидистероидов, как экорегуляторов, в ближних и дальних экологических связях в наземных экосистемах.

Авторы благодарят к.б.н., с.н.с. А.В. Стекольщикова (ЗИН РАН, Санкт-Петербург) за определение вида тли.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы интеграционных проектов (проект № 12-И-4-2072: «Ресурсный и био-

технологический потенциал растений Урала и сопредельной территории европейского северо-востока России – подцентов важнейших групп биологически активных веществ»).

### Литература

1. Володин В.В., Володина С.О., Чадин И.Ф., Мартыненко В.А. Экидистероидсодержащие растения: ресурсы и биотехнологическое использование. Екатеринбург. 2007. 125 с.
2. Харина Т.Г. Эколого-биологические особенности серпухи венценосной в связи с интродукцией в Западной Сибири: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. 1990. 16 с.
3. Саад М.Л. Серпуха венценосная (*Serratula coronata* L.) как перспективный источник фитоэкидистероидов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Киев. 1993. 25 с.
4. Мишуров В.П., Портнягина Н.В., Рубан Г.А. Интродукция серпухи венценосной на Севере // Интродукция растений на европейском Северо-Востоке. Сыктывкар. 1995. С. 94–100. (Тр. Коми НЦ УрО РАН; № 140).

5. Шаин С.С. Биорегуляция продуктивности растений. М. 2005. 248 с.
6. Schmelz E.A., Grebenok R.J., Ohnmeiss T.E., Browers W.S. Interaction between *Spinacia oleraceae* and *Bradysia impatiens*: a role for phytoecdysteroids // Arch. Insect Biochem. Physiol. 2002. V. 51. P. 204–221.
7. Malausa T., Salles M., Marquet V. et al. Within-species variability of the response to 20-hydroxyecdysone in peach-potato aphid (*Myzus persicae* Sulzer) // J. Insect Physiol. 2006. V. 52. № 5. P. 480–486.
8. Фитоэктистероиды / Под ред. В.В. Володина. СПб.: Наука, 2003. 293 с.
9. Уфимцев К.Г., Ширшова Т.И., Володин В.В. Фитоэктистероиды – детерrentы насекомых-фитофагов. Екатеринбург. 2009. 89 с.
10. Уфимцев К.Г., Ширшова Т.И., Володин В.В. Фитоэктистероиды как детерrentы насекомых-фитофагов: действие растения серпухи венценосной *Serratula coronata* L. – продуцента эктистероидов – на египетскую хлопковую совку *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) // Усп. совр. биол. 2009. Т. 129. № 3. С. 1–15.
11. Курсанов А.Л. Транспорт ассимилятов в растении. М.: Наука, 1976. 646 с.
12. Slama K. Ecdysteroids: insect hormones, plant defensive factors, or human medicine // Phytoparasitica. 1993. V. 21. № 1. P. 3–8.
13. Пестов С.В., Володин В.В. Насекомые консортивного комплекса *Serratula coronata* L. в условиях интродукции (средняя тайга Республики Коми) // Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития: Матер. Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Киров. 2007. Вып V. Ч. 2. С. 261–264.
14. Чадин И.Ф., Колегова Н.А., Володин В.В. Распределение 20-гидроксиэктидизона в генеративных растениях *Serratula coronata* L. // Сиб. экол. журн. 2003. № 1. С. 49.
15. Тарабукин Д.В., Торлопов М.А., Володин В.В., Донцов А.Г. Получение порошковой целлюлозы и глюкозы ферментативным гидролизом целлюлозы в смеси с крахмалом // Биотехнология. 2009. № 4. С. 57–63.

УДК 581.4 + 581.6

## Онтогенез растений *Rhaponticum integrifolium* C. Winkl. в условиях Кашкадаринской области Узбекистана

© 2012. Н. К. Алиева<sup>1</sup>, ст. преподаватель, А. М. Нигматуллаев<sup>2</sup>, к.б.н., зав. лабораторией,  
Н. Ш. Рамазанов<sup>2</sup>, д.х.н., с.н.с., И. Д. Бобаев<sup>2</sup>, к.х.н., с.н.с.,

<sup>1</sup> Кокандский государственный педагогический институт,

<sup>2</sup> Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова

Академии наук Республики Узбекистан,

e-mail: ramazonovn@list.ru

Изучен большой жизненный цикл эктистероидсодержащего растения *Rhaponticum integrifolium* в природных популяциях (Кашкадаринская область Республики Узбекистан). Установлено, что длительность прегенеративного, генеративного и сенильного периодов растений изученного вида составляет 4–5, 20–25 и 4–5 лет соответственно. Начало фенофаз зависит от высоты местности над уровнем моря: поднятие местности от 400 до 1500 м приводит к запаздыванию наступления фенофаз на две-три недели. Выявлены возрастные состояния растений в различных экологических и фитоценотических условиях. Представленные данные свидетельствуют о перспективности выращивания данного вида растений в культуре в качестве сырья для получения эктистероидов.

Whole lifecycle of ecdysteroid containing plant *Rhaponticum integrifolium* in natural populations (Kashkadarinskaya region of Uzbekistan) is studied. It is established that pregenerative period lasts 4–5 years, generative – 20–25 years, senile – 4–5 years. The beginning of the phenophases of *Rhaponticum integrifolium* depends on the above sea level altitude: lifting of the terrain from 400 to 1500 m above sea level leads to a delay of the phenophases for 2–3 weeks. The age state of plants in different ecological and phytocenotic conditions is revealed. Data obtained testify to perspectives of cultivation of this plant species as ecdysteroid containing raw material.

Ключевые слова: *Rhaponticum integrifolium*, онтогенез, эктистероиды

Keywords: *Rhaponticum integrifolium*, ontogeny, ecdysteroids

Фитоэктистероиды, являющиеся структурными аналогами гормонов линьки насекомых, привлекают всё большее внимание для использования в восстановительной медицине, поскольку препараты на их основе способствуют адаптации и повышению работоспособности.

ности здорового человека в условиях лимитирующих факторов, в том числе для преодоления чрезмерных физических и психических нагрузок [1]. Фармакопейным сырьём для получения индивидуального 20-гидроксидизона – субстанции препарата Экдистен – служат подземные органы рапontiкума сафлоровидного (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin), произрастающего в Горном Алтае. Учитывая ограниченные запасы этого вида растений в природных популяциях, проблемы его выживания в агроценозах при выращивании в культуре и относительно низкое содержание экдистероидов в сырье, актуальной задачей является выявление новых растительных источников фитоэкдистероидов. При исследовании флоры Узбекистана на содержание экдистероидов Ш. Г. Ганиевым был выявлен новый источник этих соединений – *Rhaponticum integrifolium* C. Winkl. (сем. Asteraceae) [2].

Из цветочных корзинок *R. integrifolium*, произрастающего на Ферганском хребте, выделены фитоэкдистероиды: экдистерон, интегристерон А, интегристерон В, 24(28)-дегидромакистерон А и другие, которые обладают выраженной анаболической активностью [2 – 7]. В связи с обнаружением в этом виде растений значительных количеств фитоэкдистероидов встаёт задача создания устойчивой сырьевой базы путём введения *R. integrifolium* в культуру. В этих целях с 2000 г. нами начато изучение биологии этого вида в культуре и природе. В течение трёх лет (2006–2009 гг.) изучен большой жизненный цикл растения и возрастная структура ценопопуляций этого вида в окрестности с. Гилон (Кашкадаринская обл. Узбекистана).

В исследованиях применён метод сравнительного анализа в структуре надземных и подземных органов разновозрастных особей [8]. Этапы жизни растения описаны согласно положениям, разработанным Т. А. Работновым [9].

*Rhaponticum integrifolium* – большоголовник цельнолистный – многолетнее поликарпическое травянистое растение. Стебель 60–150 см высоты, прямостоящий, полосатобороздчатый, прижато-кратко-опушённый, цельнокрайний; прикорневые листья черешковые стеблевые постепенно к верхушке стебля уменьшающиеся, сидячие. Корзинка шаровидная 4,5–6,0 см в диаметре. Венчики бледно-желтоватые, в конце цветения бледно-оранжевые. Семянки обратно яйцевидные, голые, молочно-белые. Щетинки холка с бороздками, превышающими попереч-

ник щетинки более чем в 3–4 раза, кремовые. Длина 0,8–1,0 см, ширина 0,3–0,5 см.

**Латентный период.** Семена отличаются друг от друга формой, размером и абсолютной массой, что в большой мере зависит от положения в цветочных корзинках. В обычном расположении в центре корзины цветка образуются неполноценные семена. Объём зародыша в семенах составляет 10–14%. Срок созревания семян зависит от экологических условий местообитания растения (климата, абсолютной высоты, экспозиции склона). На высоте 1500–1600 м н.у.м. обычно семена созревают в конце июля, а на высоте 2000–2500 м – в середине августа. Семена представляют одногнездную семянку 0,8–1,0 см длиной, 0,2–0,3 см шириной, масса 1000 семян 20–24 г, поверхность семян гладкая, молочного цвета, форма семян слабо четырёхгранная. Всхожесть и энергия прорастания семян в лабораторных условиях довольно низкая и составила 30–33%. В природе прорастает около 70–75% семян, но выживает очень небольшое количество проростков (0,2–0,5%). Наблюдения показывают, что одной из причин этого является резкое наступление жаркого периода, когда за короткий срок высыхает верхний слой почвы и корешки проростков погибают от недостатка влаги. Для повышения процента прорастания проведены предпосевная механическая обработка семян и воздействие низких температур согласно методике М. Т. Николаевой [10, 11], что позволило достичь всхожести семян до 85%. Для успешного создания плантации необходимо произвести посев семян осенью (октябрь–ноябрь). В этом случае семена проходят естественную стратификацию под снегом, и для сохранения проростков и всходов достаточно выполнение некоторых агротехнических мероприятий (рыхление почвы, внесение органических удобрений, 1–2-разовый полив).

**Виргинильный период. Фаза проростков.** При прорастании первым появляется корешок. Прорастание семян надземное – семядоли выносятся гипокотилем над поверхностью почвы и выполняют функцию фотосинтеза. Семядоли удлинённо обратно-яйцевидные. Через три-пять дней после прорастания наблюдается быстрорастущий стержневой корень. Семядоли также увеличиваются в размерах и к моменту появления над поверхностью почвы составляют 20–25 и 7–8 мм в длину и ширину соответственно. Обычно оболочка семени сохраняется 3–5 дней, после чего семядоли расходятся и оболочки сбрасываются. Надземные и подземные части проростков

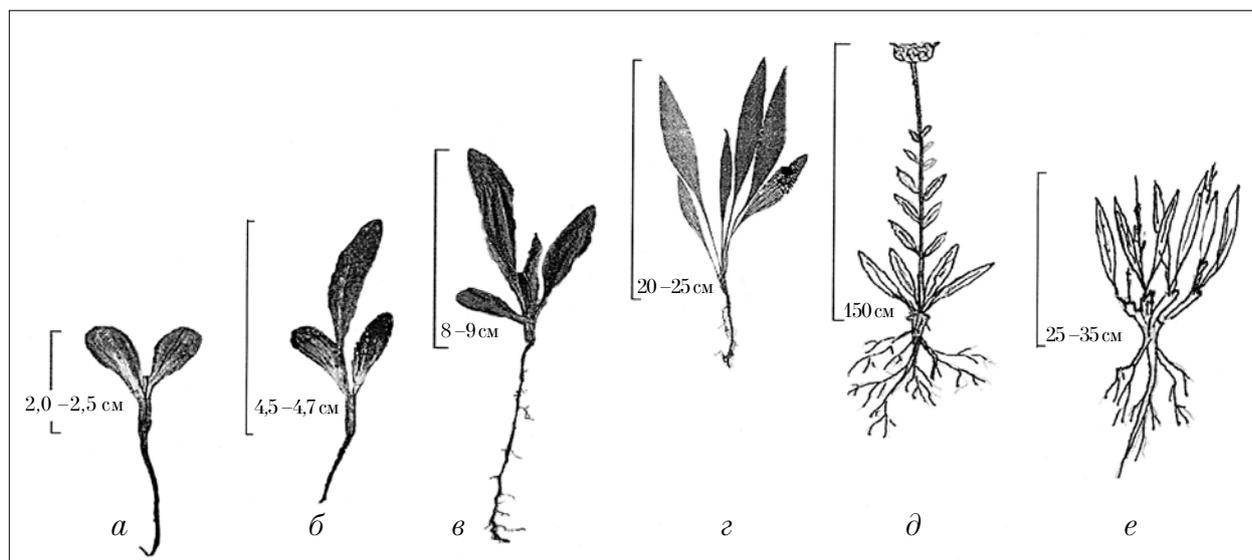


Рис. Возрастные состояния *Rhaponticum integrifolium*: проросток (а), всходы (б), ювенильное (в) и виргинильное (г), генеративное (д) и сенильное (е) растения

продолжают увеличиваться и достигают максимума ко времени появления первого настоящего листа (рис. а). Продолжительность этой фазы 7–8 дней.

**Фаза всходов.** Форма первых настоящих листьев: простые, цельные с короткими черешками и с сильным опушением (рис. б). На 14–15 день после появления длина (с черешками) и ширина первого настоящего листа большеголовника цельнолистного составили 4,5–7,0 и 1,0–1,2 см соответственно. Уже в это время видны различия в строении корней изучаемого вида – на главном корне на глубине 3–4 см наблюдали появление боковых корней, длина которых достигала 0,3–0,4 см. Второй лист появляется через 10–15 дней. Он крупнее первого: длина его 8–9 и ширина 1,2–1,5 см; длина черешка 4–5 см. К этому времени главный корень удлиняется до 15–17 см, длина боковых корней достигает 3–5 см. К 20–25 апреля появляется третий лист. Полное формирование этого листа отмечается с признаками отмирания семядольных листьев и растение вступает в ювенильную фазу.

**В ювенильной фазе** интенсивно развивается надземная часть и корневая система растения. К концу первого года жизни главный корень достигал 35–45 см длины, диаметр базальной части составил 3–5 мм. На базальной части стебля в конце мая начинают закладываться почки возобновления. Увеличиваются и размеры листьев: до 20–25 см длины, 3–5 см ширины, количество которых резко возрастает до 12–17 см.

В условиях с. Гилон (Кашкадаринская обл., Шахрисябзкий р-н) в конце июля в при-

роде и на опытных участках отмечали начало высыхания первых листьев, затем постепенно начали высыхать остальные листья. Во втором и третьем годах жизни в конце февраля и начале марта у большеголовника цельнолистного появляется первый лист, а спустя 10–15 дней почти одновременно второй и третий, до 10–15 мая их количество достигло 8–10 шт. Листья растений второго года вегетации крупнее однолетних – 25–30 см длины и 4–6 см ширины. Первый лист начинает желтеть и высыхать в начале июня. Растения заканчивают вегетацию в конце июля (рис. в).

К концу **виргинильного периода** большеголовник формирует розетку из листьев до 35 см высоты при ширине 8 см (рис. г).

**Генеративный (репродуктивный) период.** В наших опытах *R. integrifolium* вступил в генеративный период на четвёртом году жизни (рис. д). В конце апреля и начале мая, в зависимости от наступления тёплых весенних дней, от почек возобновления *Rhaponticum integrifolium* начинают отрастать одновременно, как правило, 5–6 розеточных листьев и генеративной побег. В начале вегетации рост розеточных листьев идет очень интенсивно. Так, суточный прирост составляет в начале мая 5–9 см. После полного формирования розеточных листьев их рост почти прекращается, длина составляет 25–35 см, ширина 6–10 см. В это время генеративный побег начинает заметно удлиняться на 2–3 см в сутки. Наиболее интенсивный рост (до 5,0–5,5 см/сут) отмечается во второй декаде мая. Рост его замедляется и прекращается к началу цветения (июнь), высота побега достигает до 150 см.

Цветки в корзинке распускаются от периферии к центру. Период цветения одной корзинки 8–10 дней, поэтому на одном растении можно одновременно видеть корзинки с цветами и бутонами. Созревание семян длится 30–35 дней. В августе растение заканчивает свою вегетацию и генеративный побег отмирает полностью. В базальной части корня образуются почки возобновления, из которых на следующий год развиваются вегетативные и генеративные побеги.

В первый год жизни при наступлении генеративного периода растения образуют только по одному генеративному побегу, у старых экземпляров – до 25 побегов.

После 10–15 лет развития у растений корневая система претерпевает некоторые изменения. У одних экземпляров главный стержневой корень сохраняет свою форму, у других он отмирает и образуются несколько пальчатых или пальчато-стержневых корней. Базальная часть корня вследствие ежегодного нарастания отмирающих генеративных побегов разрастается и превращается в своеобразное структурное образование – каудекс. В естественных условиях длительность генеративного периода составляет 20–25 лет. Хорошо развитые генеративные растения имеют до 25–27 генеративных побегов.

**Сенильный период.** Сенильный период развития у *R. integrifolium* продолжительный. С основания отмерших побегов проявляется партикуляция – признак наступления старения растения, которая длится 8–10 лет. Старение растений выражается в образовании только 4–7 вегетативных побегов, загнивании и отмирании корневой системы. Листья короткие, черешковые и их размеры и количество уменьшаются (рис. е).

Таким образом, изучение большого жизненного цикла *Rhaponticum integrifolium* в ценопопуляции показало, что длительность пре-генеративного и генеративного периодов 4–5 и 20–25 лет соответственно, сенильное возрастное состояние длится 4–5 лет. Начало фенофазы большеголовника цельнолистного за-

висит от высоты местности над уровнем моря. Поднятие местности от 400 до 1500 м н.у.м. приводит к запаздыванию наступления фенофаз на 2–3 недели. В целом, исследование онтогенеза большеголовника цельнолистного свидетельствует о перспективности выращивания данного вида растений в культуре в качестве сырья для получения экидистероидов.

## Литература

1. Сейфулла Р.Д. Спортивная фармакология. М. 1999. 118 с.
2. Ганиев Ш.Г. Экидизонсодержащие растения родов *Serratula* L., *Rhaponticum* Ludw. Узбекистана и прилегающих районов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ташкент. 1980. 28 с.
3. Болтаев У., Горовиц М.Б., Хамидходжаев С.А., Абубакиров Н.К. Фитоэкидизоны *Rhaponticum integrifolium* // Химия природных соединений. 1974. № 3. С. 406–407.
4. Болтаев У., Горовиц М.Б., Абдуллаев Н.Д., Ягудаев М.Р., Абубакиров Н.К. Фитоэкидизоны *Rhaponticum integrifolium* // Химия природных соединений. 1977. № 6. С. 813–819.
5. Болтаев У., Горовиц М.Б., Абдуллаев Н.Д. и др. Фитоэкидизоны *Rhaponticum integrifolium*. Интегристерон В // Химия природных соединений. 1978. № 4. С. 457–463.
6. Рамазанов Н.Ш. Экидистероиды растений родов *Silene*, *Rhaponticum* и *Ajuga*: Автореф. дис. ... докт. хим. наук. Ташкент. 2007. 49 с.
7. Ганиев Ш.Г. Содержание экидизонов в некоторых растениях трибы *Cynareae* Zess. сем. *Asteraeae* (*Compositae*) // Растительные ресурсы. 1975. Т. XI. Вып. 1. С. 94–96.
8. Серебряков И.Т. Экологическая морфология растений. М. 1962. 377 с.
9. Работнов Т.А. Жизненный цикл многолетних травянистых растений в луговых ценозах // Труды БИН АН СССР. Л. 1950. Сер. 3. Вып. 6. С. 7–204.
10. Николаева М.Т. К биологии прорастания семян некоторых видов *Ferula* L. // Труды БИН АН СССР. Л. 1948. Сер. 4. Вып. 6. С. 218–228.
11. Николаева М.Т. Физиологическое изучение покоя и прорастания семян *Ferula* L. // Труды БИН АН СССР. Л. 1950. Сер. 4. Вып. 7. С. 78–136.

## Влияние экзогенного ситостерина на биосинтез экдистероидов в культуре клеток *Ajuga reptans* L.

© 2012. Л. И. Алексеева, к.б.н., с.н.с.,  
В. Н. Орлова (Филиппова), к.б.н., н.с., С. О. Володина, к.б.н., с.н.с.,  
Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
e-mail: alexeeva@ib.komisc.ru

Показано, что экзогенный ситостерин индуцирует синтез экдистероидов и цитохрома P450 в каллусной культуре клеток *Ajuga reptans* L. Определены индекс роста, содержание экдистероидов и цитохрома P450.

It is shown that exogenous sitosterol induces the synthesis of ecdysteroids and cytochrome P450 in callus cultures of *Ajuga reptans* L. The growth index, content of ecdysteroids and cytochrome P450 are determined.

Ключевые слова: *Ajuga reptans*, каллусная культура, цитохром P450, экдистероиды, ситостерин

Keywords: *Ajuga reptans*, callus cultures, cytochrome P450, ecdysteroids, sitosterol

Живучка ползучая (*Ajuga reptans* L., сем. Lamiaceae) является одним из перспективных источников фитоэкдистероидов, отличающихся большим разнообразием (рис. 1) химических структур [1]. Экдистероиды *Ajuga reptans* проявляют адаптогенное, тонизирующее, кардиотропное, иммуномодулирующее и ранозаживляющее действие [2]. Альтернативу природному источнику получения экдистероидов могут составить культуры растительных клеток *Ajuga reptans* [3]. К настоящему времени способы повышения уровня биосинтеза экдистероидов и роста культуры клеток ограничены воздействием фитогормонов, источниками азотного и углеводного питания, освещением красным светом [4, 5]. Известно, что увеличение уровня биосинтеза вторичных метаболитов в культурах растительных клеток возможно при введении предшественников этих соединений в питательную среду. Так, при выращивании каллусной и суспензионной культуры *Dioscorea deltoidea* в присутствии мевалоновой кислоты или холестерина значительно увеличивается выход диосгенина [6].

Для бородчатых корней *Ajuga reptans* было установлено, что 20-гидроксиэкдизон ( $C_{27}$ -экдистероид) синтезируется из холестерина или латостерина (рис. 2А) [7, 8]. Предшественником 29-норциастерона ( $C_{28}$ -экдистероид) в бородчатых корнях *Ajuga reptans* var. *atropurpurea* является  $C_{28}$ -стерин клеростерин (рис. 2Б) [9], который может синтезироваться из 24-метилхолестерина [10], а также 2-ацетат холестерина [11]. Од-

нако, известно, что холестерин не трансформируется в  $C_{28}$ - и  $C_{29}$ -экдистероиды [11]. Пути биосинтеза аюгалактона ( $C_{29}$ -экдистероид) не установлены. Предшественниками  $C_{27}$ - $C_{29}$ -экдистероидов могут являться также  $\Delta^{24}$ -алкилированные фитостерины, например, ситостерин, которые при деалкилировании превращаются в холестерин (рис. 2) [12]. Ферментные системы, участвующие в биосинтезе экдистероидов, изучены мало. Установлено лишь, что при биосинтезе экдистероидов гидроксирование стеринового ядра и боковой цепи холестерина осуществляется ферментом цитохром P450 [13]. Известно, что введение гидроксильных групп в положениях  $C_2$  ядра,  $C_{20}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{25}$  боковой цепи катализируют ферменты, представляющие собой цитохром P450-зависимые монооксигеназы [14].

Целью данной работы является изучение влияния экзогенного ситостерина в среде для культивирования на рост каллусной культуры, цитохрома P450 и содержание экдистероидов в культуре клеток *Ajuga reptans*.

### Материалы и методы

Каллусную культуру *Ajuga reptans* выращивали на модифицированной среде Мурасиге-Скуга с добавлением сахарозы – 30 г/л; 2,4-D – 1 мг/л; БАП – 0,2 мг/л; мезо-инозита – 100 мг/л; НУК – 1 мг/л; ПВП – 2 г/л и витаминов по Стаба (мг/л): фолиевая кислота и рибофлавин – по 0,5, биотин – 1, Са-пантотенат – 1, кобаламин – 0,0015 [3]. В среду Мурасиге-Скуга до-

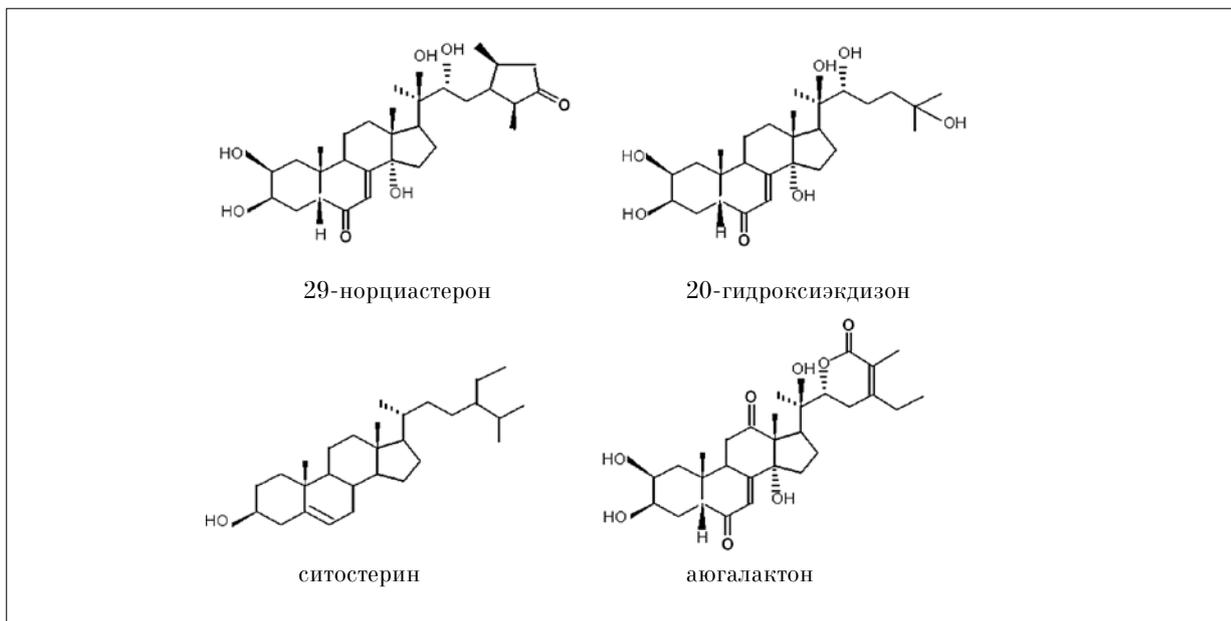


Рис. 1. Структурные формулы ситостерина и экдистероидов каллусной культуры *Ajuga reptans*

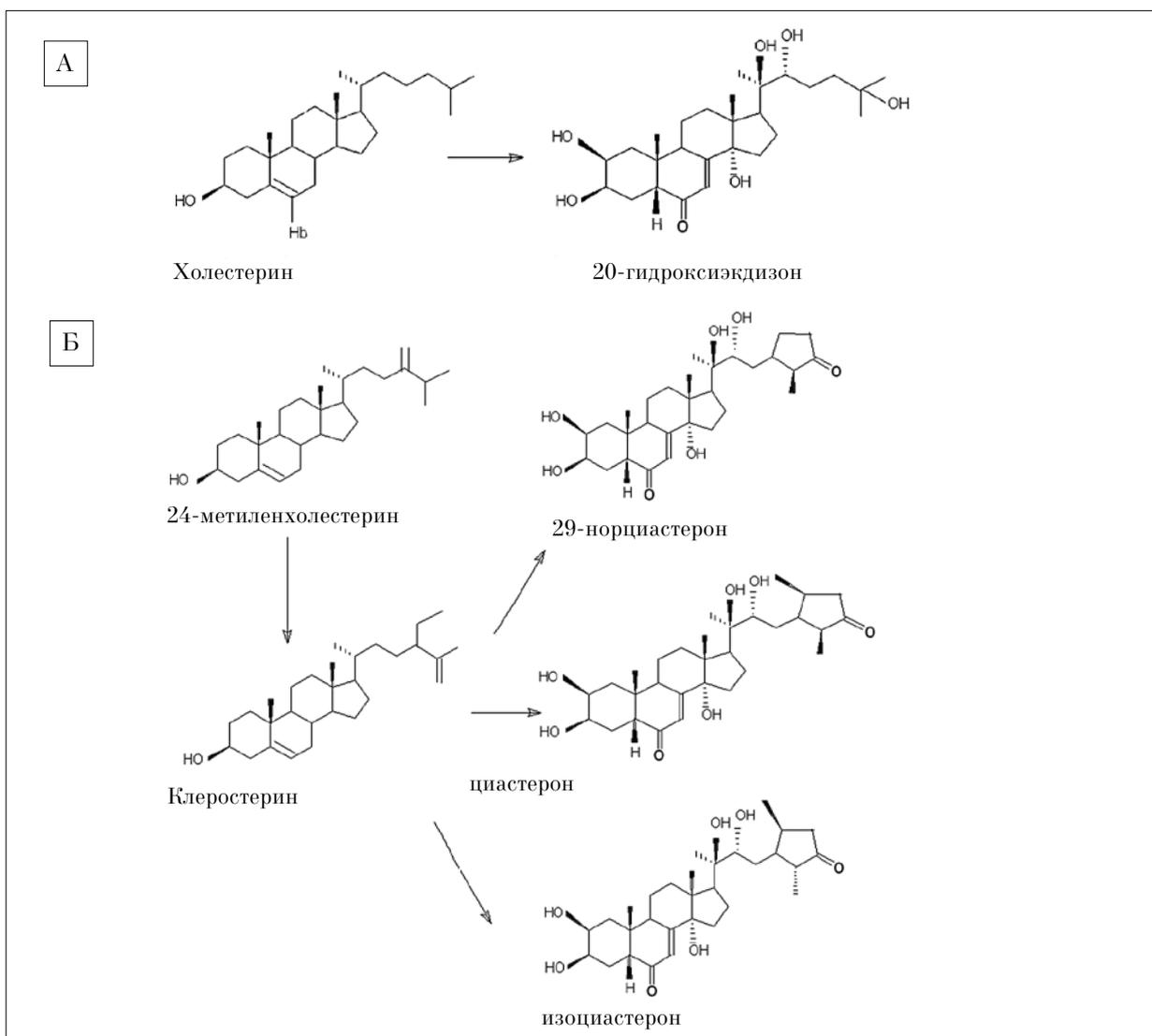


Рис. 2. Биосинтез 20-гидроксиэкдизона (А) и экдистероидов циастерона, изоциастерона и 29-норциастерона [7, 8] (Б) в бородчатых корнях *Ajuga reptans* var. *atropurpurea*

полнительно добавляли ситостерин с концентрацией 5, 25 и 50 мг/л.

Выделение цитохрома Р-450 из культуры клеток *Ajuga reptans* L. осуществляли следующим образом [13]. Культуры клеток (25 г) гомогенизировали в 50 мл 0,1М К-фосфатного буфера (рН 7,5) с добавлением 20% глицерина, 50мМ аскорбиновой кислоты, 1мМ ДТТ и 1% твина-80. Гомогенат центрифугировали при 6000 g в течение 20 мин. на центрифуге MPW-210 (Польша). Все операции по выделению цитохрома Р-450 проводили при 4 °С. Определение содержания белков осуществляли фотоколориметрическим методом, предложенным Бредфорд [15]. Количественное определение цитохрома Р 450 и его денатурированной формы – цитохрома Р 420 – проводили по дифференциальным спектрам поглощения карбонильного комплекса, восстановленного дитионитом натрия образца гемопротейна (СО-спектр), используя коэффициенты молярного поглощения, равные 91 и 114 мм<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup> при 450 и 420 нм соответственно, по формуле, предложенной Омура и Сато [16]. Спектральные измерения проводили на спектрофотометре SPECORD M40 (Германия).

Экдистероиды определяли в культуре клеток *Ajuga reptans*, высушенных при 60 °С. Экстракцию экдистероидов осуществляли метанолом из расчета 20 мл/г сухой массы при 50 °С в течение часа. Полученные экстракты пропускали через концентрирующий патрон Диасорб С16 (ЗАО «БиоХимМак», Россия). Экдистероиды элюировали с патрона 3 мл 60% метанола. Содержание экдизона и 20-гидроксиэкдизона определяли методом обращённо-фазовой ВЭЖХ на оборудовании производства Чехословакии: насос НРР 4001, детектор UV-VIS LCD 2536, λ = 254 нм с использованием колонки Диасорб С16, 6 мкм (150 x 4 мм) (ЗАО «БиоХимМак», Россия), элюента вода–ацетонитрил–тетрагидрофуран (100:16:4) при скорости элюирования 0,7 мл/мин. Содержание экдистероидов в исследуемых растворах рассчитывали методом абсолютной калибровки, сравнивая время удерживания исследуемых компонентов с временем удерживания стан-

дартных образцов экдистероидов.

### Результаты и их обсуждение

Проведённые исследования показали, что добавление в среду для выращивания каллусной культуры ситостерина приводит к увеличению индекса роста каллусной культуры *Ajuga reptans* по сырой массе (табл. 1), которое не связано с оводнением каллуса. Качественный состав экдистероидов каллусной культуры *Ajuga reptans* не изменяется при изменении состава питательной среды, однако при добавлении в среду ситостерина происходит увеличение концентрации 20-гидроксиэкдизона, 29-норциастерона и аюгалактона (табл. 2). При добавлении в среду 50мг/мл ситостерина содержание аюгалактона в каллусной культуре превышает его содержание в растении *Ajuga reptans* [17]. Дальнейшее повышение экзогенного ситостерина в среде для выращивания культуры клеток ограничено его растворимостью в воде. Одновременно с увеличением экдистероидов при добавлении ситостерина (50мг/мл) в среду для культивирования каллусной культуры *Ajuga reptans* происходит увеличение содержания цитохрома Р450 от 0,31 (контроль) до 0,65 нмоль/мг белка.

Таким образом, при добавлении в среду для культивирования каллусной культуры *Ajuga reptans* С<sub>29</sub>-стерина происходит увеличение как С<sub>29</sub>-экдистероидов, так и С<sub>27</sub>-, С<sub>28</sub>-экдистероидов. Повышение содержания аюгалактона в культуре клеток *Ajuga reptans* (табл. 2) позволяет предположить, что ситостерин является одним из предшественников аюгалактона, при этом цитохром Р450 участвует в процессе гидроксилирования стеринового ядра и боковой цепи при биосинтезе экдистероидов трансформацией ситостерина в каллусной культуре *Ajuga reptans*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке программы интеграционных проектов ( проект № 12-И-4-2072: «Ресурсный и биотехнологический потенциал растений Урала и сопредельной территории европейского*

Таблица 1

Характеристика каллусной культуры *Ajuga reptans*

Концентрация ситостерина в среде, мг/л	Индекс роста по сырой массе	Доля сухих веществ, %
Контроль (0)	8,58 ± 0,87	3,06 ± 0,12
5	7,36 ± 0,52	3,03 ± 0,26
25	10,18 ± 0,76	2,66 ± 0,12
50	12,00 ± 0,78	2,82 ± 0,24

Влияние ситостерина на содержание экидистероидов и цитохрома P450 в каллусной культуре *Ajuga reptans*

Концентрация ситостерина в среде, мг/л	Содержание цитохрома P450, нмоль/мг белка	Содержание экидистероидов, %			
		20-гидрокси-экидизон	29-норциастерон	аюгалактон	сумма экидистероидов
Контроль (0)	0,31	0,0293 ± 0,0010	0,0031 ± 0,0001	0,0096 ± 0,0010	0,0420
5	0,38	0,0250 ± 0,0010	0,0031 ± 0,0001	0,0233 ± 0,0047	0,0514
25	0,46	0,1041 ± 0,0031	0,0567 ± 0,0044	0,0527 ± 0,0023	0,2135
50	0,65	0,1228 ± 0,0047	0,0166 ± 0,0007	0,1058 ± 0,0089	0,2452

северо-востока России – подцентов важнейших групп биологически активных веществ»).

### Литература

- Alexeeva L.I., Lafont R., Volodin V.V., Luksha V.G. Ecdysteroids from *Ajuga reptans* // Rus. J. Plant Physiol. 1998. V. 45. № 3. P. 372–377.
- Саатов Э., Сыров В., Маматханов А.У., Абубакиров Н.К. Фитоэкидистероиды растений рода *Ajuga* и их биологическая активность // Химия природных соединений. 1994. № 2. С. 152–155.
- Володин В.В. Экидистероиды в интактных растениях и клеточных культурах: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М. 1999. 52 с.
- Mboma N., Cellebaut A., Motte J. Phytoecdysones in plants, callus and cell suspension cultures // Acta Bot. Neerland. 1986. V. 35. № 1. P. 48.
- Ануфриева Э.Н. Ростовые и биосинтетические характеристики культур клеток *Serratula coronata* и *Ajuga reptans* – продуцентов экидистероидов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 1997. 24 с.
- Васильева И.С., Пасишнеченко В.А. Стероидные гликозиды растений и культуры клеток диаскорей, их метаболизм и биологическая активность // Усп. биол. химии. 2000. Т. 40. С. 153–204.
- Nagakari M., Kushiro T., Yagi T. et al. 3β-Hydroxy-5α-cholest-7-en-6-one as an intermediate of 20-hydroxyecdysone biosynthesis in a hairy root culture of *Ajuga reptans* var. *atropurpurea* // J. Chem. Soc. Chem. P. 1994. V. 15. P. 1761–1762.
- Ohyama K., Kushiro T., Nakamura K., Fujimoto Y. Biosynthesis of 20-hydroxyecdysone in *Ajuga hairy roots*: fate of 6α- and 6β-hydrogens of lathosterol // Bioorgan. Med. Chem. 1999. № 7. P. 2925–2930.
- Okuzumi K., Harra N., Fujimoto Y. et al. Biosynthesis of phytoecdysteroids in *Ajuga hairy roots*: clerosterol as a precursor of cyasterone, isocyasterone and 29-norcyasterone // Tetrahedron Lett. 2003. V. 44. № 2. P. 323–326.
- Fujimoto Y., Ohyama K., Nomura K. et al. Biosynthesis of sterols and ecdysteroids in *Ajuga hairy roots* // Lipids. 2000. V. 35. № 3. P. 279–288.
- Nagakari M., Kushiro T., Matsumoto T. et al. Incorporation of acetate and cholesterol into 20-hydroxyecdysone by hairy root clone of *Ajuga reptans* var. *atropurpurea* // Phytochem. 1994. V. 36. № 4. P. 907–910.
- Rees H.H. Pathways of biosynthesis of ecdysone // Ecdysone: from chemistry to mode of action / Ed. by J. Koolman. N.-Y.: Thieme Med. Publ., 1989. P. 1952–1960.
- Grebenok R.J., Galbraith D.W., Benveniste I., Feyereisen R. Ecdysone 20-monoxygenase, a cytochrome P450 enzyme from spinach *Spinacia oleracea* // Phytochem. 1996. V. 42. № 4. P. 927–933.
- Kappler C., Kabbouh M., Hetru C. et al. Characterization of three hydroxylases involved in the final steps of biosynthesis of the steroid hormone ecdysone in *Locusta migratoria* (Insecta: Orthoptera) // J. Steroid Biochem. 1988. V. 31. № 6. P. 891–898.
- Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.
- Omura T., Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes // J. Biol. Chem. 1964. V. 239. P. 2379–2385.
- Алексеева Л.И., Тетерюк Л.В., Володин В.В., Колегова Н.А. Динамика содержания экидистероидов у *Ajuga reptans* L. на северной границе ее ареала // Растительные ресурсы. 1998. Вып. 4. С. 56–62.

## Молекулярные перегруппировки оксетано-эктистероидов

© 2012. И. В. Галяутдинов, к.х.н., с.н.с., Н. А. Велькина, к.х.н., н.с.,  
В. Н. Одиноков, д.х.н., профессор, зав. лабораторией,  
Институт нефтехимии и катализа РАН,  
e-mail: Natveskina@mail.ru

Синтезированы новые эктистероиды с перегруппированной в 14-е положение 18-метильной группы путем кислотно-катализируемой молекулярной перегруппировки оксетанового цикла в оксетано-эктистероидах и каталитического гидрирования в щелочном метаноле.

New ecdysteroids with rearranged to C<sup>14</sup> 18-methyl group have been synthesized with the usage of acid-catalyzed molecular rearrangement of oxetane cycle in oxetano-ecdysteroids and catalytic hydrogenation in alkaline methanol.

Ключевые слова: Оксетано-эктистероиды, молекулярная перегруппировка, гидрирование  $\Delta^7$ -связи, 9 $\alpha$ ,13 $\alpha$ -Эпокси-14 $\beta$ -метил-13-деметил-14-дезоксид-7,8 $\alpha$ -дигидро-эктистероид

Keywords: Oxetano-ecdysteroids, molecular rearrangement,  $\Delta^7$ -bond hydrogenation, 9 $\alpha$ ,13 $\alpha$ -epoxy-14 $\beta$ -methyl-13-demethyl-14-deoxy-7,8 $\alpha$ -dihydro-ecdysteroid

Стероидный остов эктистероидов имеет, как правило, структуру 5 $\beta$ -холестана. Однако в 1970 г. в Японии был выделен фитоэктистероид с перегруппированной метильной группой, получивший название стахистерон А [1]. В структуре этого эктистероида 18-метильная группа вместо своего обычного положения у атома C<sup>13</sup> находится у атома C<sup>14</sup>. Это первый (и пока единственный) природный 27-углеродный стероид с перегруппированной метильной группой.

Ранее нами была обнаружена необычная трансформации диацетонида 20-гидроксиэктизона в литий-аммиачном растворе, в результате которой образуется диацетонид 9 $\alpha$ ,14 $\alpha$ -эпокси-14-дезоксид-20-гидроксиэктизона **1** (оксетано-эктистероид, оксетан) [2]. Это соединение в водном этаноле медленно перегруппировывается с образованием смеси диацетонидов – 9 $\alpha$ ,13 $\alpha$ -эпокси-14 $\beta$ -метил-13-деметил-14-дезоксид-20-гидроксиэктизона **2** и 9 $\alpha$ -гидроксистахистерона **3** [3]. Нами установлено, что перегруппировка ускоряется добавкой Et<sub>2</sub>O • BF<sub>3</sub> и вместо 2 сут протекает за 5 мин (рис.).

Недавно нами сообщалось о новом методе гидрирования  $\Delta^7$ -связи эктистероидов над катализатором Pd-C в метаноле, содержащем метилат натрия [4]. Оказалось, что в этих условиях оксетан **1** превращается в единственный продукт – диацетонид 9 $\alpha$ ,13 $\alpha$ -эпокси-14 $\beta$ -метил-13-деметил-14-дезоксид-7,8 $\alpha$ -дигидро-20-гидроксиэктизон **4**. Как видно, наряду с гидрированием  $\Delta^7$ -связи происходит перегруппировка оксетанового цикла по пути А с образова-

нием тетрагидрофуранового цикла и 1,2-сдвигом 18-метильной группы в 14-е положение. Поскольку оксетан **1** устойчив в метанольном растворе едкого кали (по данным тонкослойной хроматографии изменений не происходит в течение 2 сут.), можно считать, что перегруппировка оксетанового цикла происходит после завершения реакции гидрирования и обработки реакционной смеси раствором NH<sub>4</sub>Cl.

Уместно отметить, что в тех же условиях гидрирования оксетана **5** с незащищенными вицинальными гидроксигруппами также образуется один продукт – 9 $\alpha$ -гидрокси-7,8 $\alpha$ -дигидростахистерон **6**, что подтверждает протекание перегруппировки оксетанового цикла после гидрирования  $\Delta^7$ -связи.

Неожиданно оказалось, что 14 $\alpha$ -гидропероксид **7** и  $\Delta^{8(14)}$ -аналог 20-гидроксиэктизона **8**, образующиеся наряду с оксетаном **1** из диацетонида 20-гидроксиэктизона в литий-аммиачном растворе [2], превращаются в условиях гидрирования [4] также в соединение **4**. Образование метилперегруппированного соединения **4** из гидропероксида **7** тем более удивительно, что в литий-аммиачном растворе последний превращается только в 20-гидроксиэктизон.

Путь превращения  $\Delta^{8(14)}$ -аналога **8** в соединение **4** идет, очевидно, через 14 $\alpha$ -гидропероксид **7**, в который, как известно, легко превращается в алкен **8** при контакте с кислородом воздуха.

Структура соединений **4** и **6** доказана на основании данных ЯМР-спектроскопии, срав-

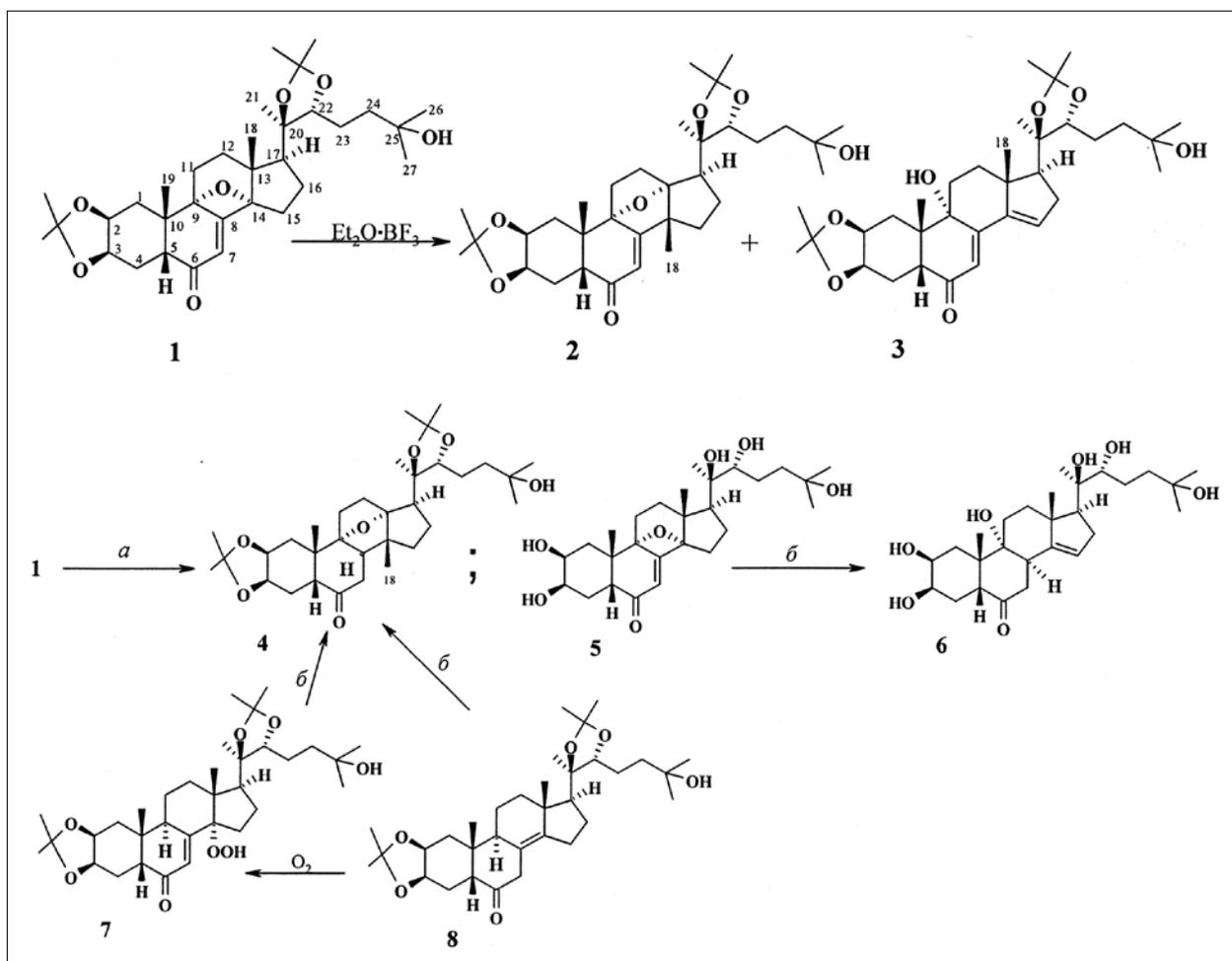


Рис. Схема молекулярных перегруппировок оксетано-эктистероидов

Примечание: Условия и реагенты: а –  $\text{H}_2/\text{Pd}-\text{C}$ ,  $\text{EtONa}$ ,  $\text{EtOH}$ ,  $20^\circ\text{C}$ ; б –  $\text{H}_2/\text{Pd}-\text{C}$ ,  $\text{MeONa}$ ,  $\text{MeOH}$ ,  $20^\circ\text{C}$ .

нением со спектрами соединений с надежно установленной структурой. Конфигурация образующегося при гидрировании хирального центра  $\text{C}^8$  в соединениях 4 и 6 отвечает установленной стереохимии гидрирования  $\Delta^7$ -связи в принятых условиях [4].

Таким образом, с использованием кислотно-катализируемой молекулярной перегруппировки оксетанового цикла в оксетано-эктистероидах и каталитического гидрирования в щелочном метаноле синтезированы эктистероиды с перегруппированной в 14-е положение 18-метильной группой.

## Литература

1. Imai S., Murata E., Fujioka S., Matsuoka T., Koreeda M., Nakanishi K. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1970. V. 92. P. 7510–7512.
2. Odinokov V.N., Galyautdinov I.V., Ibragimova A.Sh., Veskina N.A., Khalilov L.M., Dolgushin F.M., Starikova Z.A. // *Mendeleev Commun.* 2008. T. 18. C. 291–294.
3. Одиноков В.Н., Галютдинов И.В., Ибрагимова А.Ш., Вескина Н.А., Халилов Л.М., Долгушин Ф.М., Старикова З.А. // *Химия природных соединений.* 2008. С. 1339–1355.
4. Савченко Р.Г., Уразаева Я.Р., Шафиков Р.В., Одиноков В.Н. // *Журн. органической химии.* 2009. Т. 45. С. 1163–1166.

## Защитное и мутагенное действие фиторегуляторов на ячмене

© 2012. А. В. Помелов, к.б.н., доцент, Г. П. Дудин, д.б.н., зав. кафедрой, профессор, В. Г. Мохнаткин, д.т.н., ректор, Вятская государственная сельскохозяйственная академия, e-mail avpomelov@yandex.ru.

В полевых опытах с ячменём проведено испытание фиторегуляторов иммуноцитифит (0,3 г/т), агат 25К (14 и 30 г/т), альбит (30 г/т). Получена достоверная прибавка урожая зерна (2,1–3,8 ц/га). Препараты уступали по эффективности против корневых гнилей протравителям фенорам супер и дивиденд стар в 1,3–11,5 раза. Полифункциональные препараты агат 25К и альбит проявили антистрессовое действие на корни проростков ячменя. Наблюдалось достоверное увеличение частоты мутации Waxy-гена ячменя при обработке семян биопрепаратами альбит (30 г/т) и агат 25К (120 г/т) по сравнению с контролем в 4,4 и 1,6 раза.

In barley field experiments such phytoregulators as immunotsitofit (0, 3 g/t), agate 25K (14 and 30 g/t), albite (30 g/t) were tested. There was significant increase in grain yield (2,1–3,8 t/ha). The chemicals were 1,3–11,5 times less effective against root rot than the protectants fenoram super in the dividend star. Multifunctional drugs agate 25K and albite have had an anti-stress effect on roots of barley seedlings. There was a significant, 4,4 and 1,6 times increase in the frequency of barley Waxy-gene mutations at seed treatment with such biologics as albite (30 g/t) and agate 25K (120 g/t), as compared with the control.

Ключевые слова: яровой ячмень, фиторегуляторы, инфекция семян, корневые гнили, прибавка урожая, мутагенез, мутации, химический и физический стресс

Keywords: spring barley, phytoregulators, seed infection, root rot, yield increase, mutagenesis, mutations, chemical and physical stress

### Введение

Среди групп пестицидов особое внимание заслуживают регуляторы роста, обладающие полифункциональным характером действия. С помощью фиторегуляторов можно воздействовать на гормональный баланс в растениях. Фитогормоны вырабатываются в ответ на действие биотических и абиотических факторов и позволяют растениям адаптироваться к изменениям окружающей среды. Экзогенная обработка фиторегуляторами изменяет баланс фитогормонов, что проявляется в стимулирующих или ингибирующих ростовых процессах [1]. Стимулирование иммунитета растений с помощью иммуномодуляторов позволяет индуцировать у растений комплексную неспецифическую устойчивость ко многим болезням, повысить сопротивляемость к неблагоприятным факторам окружающей среды, активизировать ростостимулирующие процессы, что положительно влияет на урожайность. К таким препаратам относят иммуноцитифит, агат 25К, альбит, хитозар и другие.

Имуноцитифит (д.в. арахидоновая кислота) – полифункциональный препарат, активируя иммунитет, повышает устойчивость растений к болезням, а также обладает хоро-

шим антистрессовым действием [2]. Агат-25К – многофункциональный биопрепарат комплексного действия на основе метаболитов ризосферных бактерий *Pseudomonas aureofaciens* Н 16. В его состав входят макро- и микроэлементы, витамины, флавоидные и физиологически активные вещества. Препарат альбит содержит естественное запасное вещество полибетагидроксималяную кислоту из почвенных бактерий *Bacillus megaterium* и *Ps. aureofaciens*, стимуляторы роста и иммуногены микробной и растительной природы, а также полный сбалансированный стартовый набор макро- и микроэлементов. Альбит обладает выраженным ауксиновым действием, повышает урожайность сельскохозяйственных культур на 10–25% [3]. Препараты агат 25К и альбит зарегистрированы не только как регуляторы роста, но и как фунгициды. Регуляторы роста позволяют значительно уменьшить кратность обработки посевов фунгицидами в период вегетации.

К фиторегуляторам адаптогенного действия относят гумат натрия, который стимулирует выработку растениями фитогормонов, повышает устойчивость растений к абиотическим и биотическим стрессам, оказывают непосредственное влияние на проницаемость мембран клеток.

В связи со значительным влиянием условий внешней среды на проявление активности химических и биологических препаратов, является актуальным изучение эффективности регуляторов роста на зерновых культурах в конкретных природно-климатических условиях.

На кафедре селекции и семеноводства Вятской ГСХА на культуре ярового ячменя проводятся исследования по выявлению мутагенной активности физических и химических факторов, в том числе фитогормонов, фиторегуляторов, фунгицидов [4 – 6]. Имеются единичные сведения о мутагенном эффекте на растения ячменя современных фиторегуляторов при обработке семян [7].

Цель данной работы – изучить фунгицидное, антистрессовое и мутагенное действие фиторегуляторов на ячмене сорта Абава при обработке семян.

### Материалы и методы исследований

Полевые исследования проводились на опытном поле Вятской ГСХА в 1998–1999 и 2004–2006 гг. на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве. В опытах изучали регуляторы роста: иммуноцитифит (0,3 г/т), а также агат 25К (14 и 30 г/т), альбит (30 г/т). В качестве эталона использовали химические фунгициды фенорам супер и дивиденд стар. В контрольном варианте обработку семян проводили водой из расчёта 10 л/т. Семена обрабатывали за один день до посева согласно вариантов опыта, приведённых в таблице 1. Посев проводили сеялкой СФК-6 в оптимальные сроки. Норма высева – 5 млн. всхожих семян/га. Учётная площадь делянки 20 м<sup>2</sup>, повторность четырёхкратная. Расположение делянок систематическое в один ярус. Уборку проводили комбайном «Самро-130».

Для изучения антистрессовой активности препаратов закладывали лабораторные опыты на чистом речном песке. Семена обрабатывали препаратами согласно вариантов опытов, приведённых в таблице 2. В чашку Петри высевали по 10 семян, повторность 6-8 кратная. Каждый опыт повторяли дважды. Семена проращивали в термостате при температуре 22 °С. Физический стресс (недостаток влаги) создавали внесением 10 мл воды на 150 г песка, химический стресс – внесением в песок гербицида трефлан (д.в. трифлуралин) из расчёта 0,5 л/га. Ячмень является чувствительной культурой к данному гербициду. Биометрические измерения проводили на 10 день после посева.

Для изучения мутагенного действия регуляторов роста использовали тест-линию маркерного *Waxy*-гена ячменя. В 2003 г. (опыт 1) и в 2005 г. (опыт 2) семена ячменя линии - *waxy* обрабатывали препаратами за один день до посева согласно вариантов, приведённых в таблице 3. Растения выращивали в полевых условиях на опытном поле Вятской ГСХА. В период созревания пыльников колосья с главных стеблей срезали и фиксировали в 70%-ом этиловом спирте, а затем высушивали. Пыльцевые зёрна просматривали под микроскопом. Определение *Waxy*-изменений в пыльцевых зёрнах проводили по Е. Р. Виленскому и В. К. Щербакову [8]. Мутантные пыльцевые зёрна при специфическом окрашивании на крахмал в растворе Люголя приобретают тёмно-синюю или чёрную окраску и отличаются меньшими размерами.

### Результаты и их обсуждение

Результаты фитоанализа показали, что семена ячменя (опыт 1) в годы исследований были в слабой степени заражены грибами из рода *Fusarium* (3,5–6,7%), а заражённость семян основным возбудителем корневых гнилей *Bipolaris sorokiniana* составила: в 1998 г. – 5,3%, 1999 г. – 93,5%. Иммуномодуляторы уступали по эффективности против семенной инфекции фунгициду фенорам супер в 1,3–2,1 раза (табл. 1).

Биологическая эффективность фиторегуляторов зависит от заражённости семян. Так, в 1999 г. при очень высокой заражённости семян фитопатогеном *B. sorokiniana* защитное действие препаратов агат 25К и иммуноцитифит не превышало 11%. Регуляторы роста повысили иммунитет растений к возбудителям корневых гнилей в фазу начала выхода в трубку, при этом фунгицидное действие было существенно ниже (соответственно в 2,7 и 11,5 раза), чем протравителя фенорам супер.

Фиторегуляторы, проявляя ростостимулирующее и антистрессовое действие, обеспечили достоверную прибавку зерна ячменя. В 1999 г., когда наблюдался значительный недостаток влаги в июне, в большей мере проявил свои свойства иммуноцитифит. Прибавка зерна обеспечивалась за счёт повышения продуктивной кустистости (118%) и числа зёрен в колосе (108% к контролю).

В опыте 2 биопрепараты агат 25К и альбит изучались не только как регуляторы роста, но и фунгициды с нормой расхода 30 г/т. При очень слабой заражённости семян возбудителями корневых гнилей биологическая эф-

Таблица 1

Эффективность фиторегуляторов на ячмене

Препарат, (доза)	Прибавка* урожаю зерна, ц/га	Биологическая эффективность, %		
		Семенная инфекция		Корневые гнили (фаза начала выхода в трубку)
		<i>Bipolaris sorokiniana</i>	<i>Fusarium spp.</i>	
Опыт 1. 1998–1999 годы				
Фенорам супер, СП (2 кг/т)	3,0	100,0	100,0	72,4
Агат 25К, ТПС (14 г/т)	3,5	47,0	74,3	26,7
Иммуноцитифит, Таб. (0,3 г/т)	3,8	49,8	64,3	6,3
НСР <sub>05</sub>	3,5			
Опыт 2. 2004–2006 годы				
Дивиденд стар, КС (1 л/т)	1,5	100,0	100,0	85,7
Агат 25К, ТПС (30 г/т)	2,3	53,8	68,0	52,2
Альбит, ТПС (30 г/т)	2,1	65,2	75,0	54,6
НСР <sub>05</sub>	1,7			

Примечание: \* – Урожайность ячменя в контрольном варианте составила: 1997 г. – 53,2 ц/га, 1998 г. – 20,7 ц/га, 1999 г. – 16,5 ц/га, 2004–2006 гг – 28,1 ц/га.

Таблица 2

Антистрессовое действие фиторегуляторов на ячмене (средние данные по 2 закладкам опытов)

Вариант	Длина проростков		Длина корней	
	см	%	см	%
Лабораторный опыт 1. Физический стресс (недостаток влаги, 40 % ППВ)				
Контроль (обработ. водой, 10 л/т)	5,1±0,6	100,0	6,3 ±0,2	100,0
Гумат натрия, жидкий, 8 л/т	5,6±0,6	109,8	6,7 ±0,4	106,3
Иммуноцитифит, таблетированный, 0,3 г/т	5,6±0,5	109,8	8,5±1,0	134,9
Лабораторный опыт 2. Химический стресс (трефлан, 0,5 л/га)				
Контроль (обработ. водой, 10 л/т)	7,7±0,40	100,0	1,29±0,05	100,0
Дивиденд стар, КС, 1 л/т	7,2 ±0,45	93,5	1,66±0,15	128,7
Агат 25К, ТПС, 30 г/т	8,5±0,95	110,4	1,71±0,19	132,6
Альбит, ТПС, 30 г/т	7,1±0,15	92,2	1,73 ±0,18	134,1

Эффективность фунгицидов и регуляторов роста агат 25К и альбит колебалась по годам от 25 до 100%. В среднем за три года препарат альбит проявил более высокую фунгицидную активность против возбудителя *B. sorokiniana* по сравнению с препаратом агат 25К. Защитное действие регуляторов роста против фузариозной инфекции семян было выше (на 15–26%), чем против гельминтоспориозной. Эффективность изучаемого препарата альбит (опыт 2) зависела от распространения корневых гнилей в период вегетации. Так, в 2004 г. при слабом распространении корневых гнилей в фазу начала выхода в трубку, альбит, как и дивиденд стар, полностью подавлял их развитие, а в 2005–2006 гг., при умеренном распространении данного заболевания, защитное действие препарата было в пределах 27–37%, что ниже химического протравителя в 2,0–3,1 раза.

Результаты лабораторных опытов пока-

зали, что иммуноцитифит снимал отрицательное влияние недостатка влаги на корни (табл. 3). Гербицид трефлан оказывает токсическое действие на однолетние злаковые растения. При определенных условиях этот гербицид может проявить фитотоксическое последствие на растения ячменя. Обработка семян полифункциональным регулятором агат 25К снижала фитотоксическое действие трефлана на проростки ячменя.

Изучаемые препараты не оказали существенного влияния на длину проростков, находящихся в условиях химического стресса. Наиболее сильную антистрессовую активность проявили полифункциональные препараты альбит и агат 25К на корни. Так, длина корней увеличилась по сравнению с контролем в 1,3 раза.

Антистрессовое действие регуляторов роста можно объяснить изменением гормо-

Частота мутации *Ваху*-гена при обработке семян ячменя химическими и биологическими препаратами

Варианты опыта	Проанализировано пыльцевых зёрен, тыс. шт.	Мутантных пыльцевых зёрен	
		n	$P \pm S_p$ , %
Опыт 1 (средние данные за 2001 и 2003 годы)			
1. Контроль, вода (10л/т)	70	46	0,066±0,010
2. Фенорам супер, СП (2 кг/т)	57	87	0,082±0,016***
3. Фенорам супер, СП (6 кг/т)	65	118	0,182±0,017***
4. Агат 25К, ТПС, (40 г/т)	54	48	0,082±0,012
5. Агат 25К, ТПС (120 г/т)	57	65	0,103±0,013**
Опыт 2 (2005 год)			
1. Контроль, вода (10л/т)	77	43	0,056±0,009
2. Дивиденд стар, КС (1 л/т)	54	84	0,156±0,017***
3. Альбит, ТПС (30 г/т)	64	157	0,245±0,020***

Примечание: \*\* – различия достоверны при  $P > 0,99$ ; \*\*\* – различия достоверны при  $P > 0,999$ .

нального баланса в сторону ауксинов, играющих важную роль в ростовых процессах корня. Гормоны участвуют в ответных реакциях практически на все стрессы.

Для подтверждения мутагенной активности изучаемых факторов использовали тест-систему *Ваху*-изменений в пыльцевых зёрнах ячменя. Результаты исследований показали, что спонтанное мутирование пыльцевых зёрен колебалось от 0,056 до 0,66% (табл. 3).

В опыте 1 достоверное увеличение частоты мутации *Ваху*-гена ячменя при обработке семян полифункциональным препаратом агат 25К наблюдалось только в завышенной норме расхода 120 г/т. В опыте 2 максимальная мутагенная активность была у препарата альбит и превышала химический протравитель дивиденд стар в 1,6 раза.

Таким образом, при слабой заражённости семян возбудителями корневых гнилей можно рекомендовать для обработки семян ячменя фиторегуляторы полифункционального действия, имеющие высокий хозяйственный эффект.

### Выводы

1. В полевых опытах от применения фиторегуляторов (обработка семян) получена прибавка урожая зерна ярового ячменя 2,1–3,8 ц/га, которая обеспечивалась за счёт увеличения продуктивной кустистости на 118–121% по сравнению с контролем.

2. Эффективность регуляторов роста против возбудителей корневых гнилей составила: на семенах – 47–75%, в фазу начала выхода в трубку – 6,3–53% и была ниже химических протравителей фенорам супер и дивиденд стар в 1,3–11,5 раза.

3. Полифункциональные препараты агат 25К и альбит проявили антистрессовое действие на корни проростков ячменя. Длина корней проростков ячменя, находящихся в условиях стресса, увеличилась в 1,3 раза.

4. При обработке семян биопрепаратами в рекомендованных нормах расхода (альбит) и – завышенных (агат 25К) частота мутации *Ваху*-гена ячменя составила соответственно 0,245 и 0,103%, что достоверно выше контроля в 4,4 и 1,6 раза.

5. Преимущество испытанных биофунгицидов в сравнении с химическими препаратами защиты растений состоит в антистрессовых и ростостимулирующих эффектах.

### Литература

1. Тютрев С.Л. Физиолого-биохимические основы управления стрессоустойчивостью растений в адаптивном растениеводстве // Вестник защиты растений. 2000. №1. С. 11–34.
2. Кульнев А.И., Соколова Е.А. Многоцелевые стимуляторы защитных реакций, роста и развития растений (на примере препарата иммуноцитифит). Пушчино: ПНЦ РАН, 1997. 97 с.
3. Дурьнина Е.П., Панченко О.А., Злотников А.К., Злотников К.М. Влияние биопрепарата альбит на продуктивность ячменя и содержание биофильных элементов в урожае // Агрохимия. 2006. № 1. С. 49–54.
4. Дудин Г.П. Частота *Ваху*-мутаций у ячменя, обработанного лазерным излучением и фитогормонами // Генетика. 1990. Т. 26. № 2. С. 363–366.
5. Дудин Г.П., Кривошеина О.С., Пуртова И.В. Экспериментальный мутагенез в селекции и генетике ячменя // Научное наследие Н. И. Вавилова - фундамент развития отечественного и мирового сельского хозяйства:

Матер. междунар. конф. М.: ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева, 2007. С. 57–58.

6. Дудин Г.П., Лысиков В.Н. Индуцированный мутагенез и использование его в селекции растений. Киров: Вятская ГСХА, 2009. 208 с.

7. Черемисинов М. В. Изменение маркерного Waxy-гена ячменя под влиянием фунгицидов-протравителей се-

мян и биологических препаратов // 60 лет высшему аграрному образованию Северо-Востока Нечерноземья: Матер. I Всерос. науч.-практ. конф. Киров, 2004. С. 124–126.

8. Виленский Е.Р., Щербаков В.К. Роль фитогормонов в естественном и индуцированном мутационном процессе // Цитология и генетика. 1985. Т. 19. № 3. С. 214–217.

## ВАЖНЫЙ ШАГ В ФОРМИРОВАНИИ ИНФРАСТРУКТУРЫ ЭФФЕКТИВНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ КОСМИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

22–23 марта 2012 г. в Москве состоялась Первая Всероссийская научно-практическая конференция с участием ведущих университетов, предприятий ракетно-космической отрасли и регионов России на тему «Проблемные вопросы привлечения потенциала высших учебных заведений в интересах подготовки и повышения квалификации специалистов в области использования результатов космической деятельности, а также обеспечения конкурентоспособности отечественных космических продуктов и услуг».



Организаторы, спонсоры  
и активные участники Конференции

В конференции приняло участие около 300 делегатов из 80 организаций, в том числе представители Федерального космического агентства, Российской академии наук, Министерства сельского хозяйства РФ, Федерального агентства лесного хозяйства, Федеральной службы по экологическому, технологическому и атомному надзору, предприятий ракетно-космической отрасли, ведущие специалисты из 17 регионов и 37 высших учебных заведений России.

Открыл конференцию руководитель Роскосмоса Поповкин В. А., который подчеркнул её актуальность, направленность на решение проблемы дефицита подготовленных кадров, способных создавать и применять космические продукты и услуги в различных отраслях экономики на основе использования данных дистанционного зондирования Земли, навигационного, гидрометеорологического и других видов космического обеспечения в интересах качественного повышения уровня жизни людей.

Основные цели Конференции:

- интеграция усилий и ресурсов предприятий ракетно-космической отрасли, ведущих университетов и регионов страны в интересах создания и эффективного использования отечественных конкурентоспособных космических продуктов, услуг и технологий с учетом потребностей широкого круга конечных пользователей;

- выработка единого подхода к обеспечению подготовки и повышению квалификации специалистов в области использования результатов космической деятельности.



Выступление руководителя Федерального  
космического агентства В. А. Поповкина

Конференция была организована Научно-производственной корпорацией «РЕКОД» при официальной поддержке Федерального космического агентства и Кластера космических технологий и телекоммуникаций Фонда «Сколково», руководитель которого Жуков С.А. в своём приветствии подчеркнул, что инновационные проекты, продвигаемые Кластером, – важная составляющая вклада космонавтики в улучшение качества жизни россиян.

В докладе генерального директора ОАО «НПК «РЕКОД» Безбородова В.Г. «Основы государственной политики в области использования результатов космической деятельности в интересах социально-экономического и инновационного развития Российской Федерации и её регионов» было подчеркнуто, что наступает новая эра управления регионами России на основе комплексного использования результатов космической деятельности, идёт становление национальной инфраструктуры Центров космических услуг как элементов ситуацион-

ных центров различных уровней, осуществляется создание системы подготовки конечных пользователей космических продуктов и услуг.

На пленарном заседании заслушано 33 доклада. В числе докладчиков были руководители региональных Центров космических услуг, директора НИИ, Центров мониторинга, ректоры, проректоры, заведующие кафедрами, профессора ведущих университетов, где на основе безвозмездных лицензионных договоров, заключённых с ОАО «НПК «РЕ-КОД», реализуется комплексный проект «Космические регионы», имеющий целью создание национальной инфраструктуры Центров космических услуг.

С докладом «Опыт подготовки специалистов в области использования национальной спутниковой системы ГЛОНАСС» выступил Президент Московского государственного университета геодезии и картографии, дважды Герой Советского Союза, лётчик-космонавт, доктор технических наук, член-корреспондент РАН, депутат Законодательного собрания Кировской области Виктор Петрович Савиных. Он рассказал об опыте подготовки специалистов по использованию спутниковой системы ГЛОНАСС и других результатах космической деятельности, а также опыте и перспективах обеспечения МИИГАиК российских космических миссий освоения дальнего космоса.

К сотрудничеству в области инициативных геоинформационных проектов, к поддержке в форме совместных грантов, участию в конференциях и конкурсах пригласил в своём выступлении Дмитрий Сергеевич Пайсон (Кластер космических технологий и телекоммуникаций Фонда развития Центра разработки и коммерциализации новых технологий «Сколково»).

Интересными и проблемными были выступления представителей регионов, ректоров и проректоров вузов, в которых шёл конкретный разговор о деятельности Центров космических услуг в регионах, об опыте создания инновационно-образовательных Центров космических услуг на базе вузов.

Речь шла также об образовательной деятельности университетов, системах подготовки и переподготовки кадров, современной инфраструктуре обучения и подготовки специалистов в области использования результатов космической деятельности, организации научной деятельности молодых учёных, привлечении молодёжи, студентов, аспирантов к исследованиям в области разработки и применения региональных космических технологий, трансформации действующих астрономических обсерваторий в вузах в научно-образовательных центрах космических исследований, проблемах обеспечения вузов стандар-

тами, программами, учебно-методической и научной литературой, оснащении приборами, соответствующей техникой и о многом другом.

О деятельности университетского планетария, подготовке специалистов через магистратуры, действующие в Казанском (Приволжском) федеральном университете, по направлениям «Геодезия и дистанционное зондирование», «Картография и геоинформатика», «Землеустройство и кадастр» в своём выступлении рассказал профессор кафедры астрономии и космической геодезии Рафаэль Александрович Кащеев. Он отметил, что при подготовке специалистов в вузах отсутствует профессиональный образовательный стандарт, на основе которого должны быть разработаны и сформулированы компетенции выпускника вуза в области использования результатов космической деятельности.

Новым формам интеграции возможностей вузов и бизнеса при подготовке специалистов по спутниковой навигации на базе учебного центра ГЛОНАСС был посвящён доклад заместителя генерального директора ОАО «Российские космические системы» Инны Васильевны Бриндиковой, которая пригласила вузы к сотрудничеству и участию в совместных проектах.

В выступлении Игоря Александровича Алексеева – начальника отдела организации научной деятельности Благовещенского государственного педагогического университета, исполнительного директора НОЦ геохимического и ландшафтного биоценологического мониторинга космодрома «Восточный», говорилось о деятельности университета в области использования результатов космической деятельности и формах подготовки и переподготовки кадров в данном направлении.

Вопросам повышения роли космического образования в области использования результатов космической деятельности в довузовской и общевузовской подготовке и переподготовке специалистов, проблемам аэрокосмического образования школьников был посвящён доклад руководителя научно-методического семинара в области использования результатов космической деятельности Дальневосточного федерального университета Ирины Константиновны Щегловой.

Интерес участников конференции вызвало Постановление Правительства РФ от 22 февраля 2012 г. № 160 «О лицензировании космической деятельности» в части лицензирования приёма и первичной обработки информации, получаемой с космических аппаратов дистанционного зондирования Земли. Советником руководителя Роскосмоса Заичко В.А. были даны разъяснения о порядке выдачи лицензий и предоставлении структуры сигнала от КА ДЗЗ, в том числе от КА типа «Метеор», для научных и образовательных целей.

Со стороны вузов – участников консорциума «УНИГЕО» представителем Уральского федерального университета Князевым С.Т. были высказаны предложения по использованию имеющихся в консорциуме станций приёма данных ДЗЗ совместно с Единой территориально-распределённой информационной системой ДЗЗ, формируемой Роскосмосом, и Центрами космических услуг.

От ЗАО «Совзонд» с докладом выступила руководитель направления комплексных проектов Колесникова О.Н., в котором были освещены опыт сотрудничества компании с вузами по созданию центров космического мониторинга, а также программа поддержки вузов в рамках поставки им аппаратно-программного обеспечения.

В ходе конференции прозвучали многочисленные обращения участников к ОАО «НПК «РЕКОД» и Роскосмосу с предложениями:

- развернуть на базе ведущих университетов систему инновационно-образовательных Центров космических услуг для подготовки квалифицированных специалистов – пользователей РКД, ускорения коммерциализации результатов космической деятельности;

- оказать помощь в создании образовательной системы, ориентированной на конечных пользователей РКД, в том числе базового регионального образовательного комплекта обучающего программного обеспечения, курсов лекций и практикумов в сфере использования РКД;

- объединить потенциалы московских и региональных университетов для обучения использованию результатов космической деятельности, разработки образовательного стандарта для магистратуры по направлению подготовки «Использование результатов космической деятельности»;

- использовать в составе базового регионального образовательного комплекта бесплатно предоставляемое программное обеспечение ОАО «НПК «РЕКОД», ЗАО ИТЦ «СКАНЭКС», ЗАО «Совзонд»;

- организовать выработку общих технических требований к системам высокоточного позиционирования ГЛОНАСС/GPS;

- развивать в России единую сеть приема, обработки и представления данных не только от КА ДЗЗ, но и в целом результатов космической деятельности – сеть Центров космических услуг.

Каждый доклад участника конференции был по-своему интересен, представлял научную новизну и социально-экономическую значимость.

В завершении первого дня Конференции Федеральное космическое агентство, ОАО «НПК «РЕКОД» и Кластер космических технологий и телекоммуникаций Фонда «Сколково» наградили наиболее активных участников дипломами Конференции.



Вручение дипломов участникам Конференции (генеральный директор ОАО «НПК «РЕКОД» Безбородов В.Г. и проректор ЮЗГУ Атакищев О.И.)

23 марта прошли выездные заседания в форме мастер-классов в базовом Центре космических услуг ОАО «Научно-производственная корпорация «РЕКОД» и в Научном центре оперативного мониторинга Земли ОАО «Российские космические системы», на которых были подробно представлены базовая геоинформационная платфор-



Мастер-класс «Опыт практического использования базовой геоинформационной платформы РЕКОД» (Центр космических услуг ОАО «НПК «РЕКОД»)

ма РЕКОД Центров космических услуг, обладающая возможностями сопряжения с современными отечественными и зарубежными космическими и другими информационными системами, продуктами и услугами, технологии приёма, первичной и тематической обработки информации, получаемой с космических аппаратов метеообеспечения и дистанционного зондирования Земли, условия и порядок её предоставления пользователям КА.

Мастер-классы позволили получить участникам конференции представление об оборудовании указанных центров, архиве имеющихся в Роскосмосе данных ДЗЗ, характеристиках получаемой космической информации, возможных путях её получения и вариантах использования для создания космических продуктов и услуг.

В целом конференция прошла успешно, отличалась новизной материалов и технологий, демонстрацией опыта, который используется в вузовской научной и образовательной практике. По составу участников и широте рассмотренных проблем конференция явилась масштабным научно-практическим мероприятием, где впервые подверглись всестороннему системному и инфраструктурному анализу и обсуждению вопросы подготовки и повышения квалификации специалистов в области использования результатов космической деятельности, интеграции усилий и ресурсов предприятий ракетно-космической отрасли, ведущих университетов и регионов страны, привлечения университетов к созданию конкурентоспособных космических продуктов и услуг.

Участниками конференции было предложено строить систему подготовки и повышения квалификации специалистов в сфере использования РКД на основе последовательной подготовки представителей университетов и конечных пользователей на базе ОАО «НПК «РЕКОД» и профильных предприятий России в области ДЗЗ и спутникового мониторинга в сочетании с подготовкой конечных пользователей в регионах на базе ведущих университетов в области использования РКД.

Участниками конференции поддержана стратегическая инициатива «Космос для жизни, для

людей», выдвинутая Федеральным космическим агентством, Кластером космических технологий и телекоммуникаций Фонда развития Центра разработки и коммерциализации новых технологий «Сколково» и ОАО «НПК «РЕКОД» и предусматривающая создание национальной инфраструктуры обеспечения эффективного использования результатов космической деятельности в составе инфраструктуры:

- оказания услуг с использованием результатов космической деятельности;
- создания космических продуктов и услуг;
- подготовки и повышения квалификации конечных пользователей результатами космической деятельности;
- поддержки и продвижения результатов космической деятельности.

Было рекомендовано ОАО «НПК «РЕКОД» продолжить практику проведения ежегодных форумов с участием ведущих университетов, Федерального космического агентства, других заинтересованных федеральных организаций, ведомств и регионов России, направленных на решение комплексных проблем эффективного использования результатов космической деятельности.

С учётом проведённого на конференции анализа эффективности использования результатов космической деятельности, обсуждения проблемных вопросов и поступивших предложений были разработаны рекомендации.

ОАО «НПК «РЕКОД» ведётся обработка результатов конференции и будет разработан комплексный план реализации предлагаемых мероприятий.

*Т. Я. Ашихмина, профессор Вятского государственного гуманитарного университета (г. Киров),  
А. А. Опарин, заместитель директора департамента государственной собственности Кировской области (г. Киров),  
В. Г. Безбородов, генеральный директор Научно-производственной корпорации «РЕКОД» (г. Москва)*