



Фитохимическая характеристика и активность лекарственного сырья из листовой части фармакопейного растения левзеи сафлоровидной

© 2022. Н. П. Тимофеев✉

Крестьянское хозяйство БИО (Научно-производственное предприятие),
г. Коряжма, Российская Федерация

В 2016-2020 гг. проведено комплексное исследование проблемы по вовлечению в промышленный оборот экдистеронсодержащей субстанции из листовых частей левзеи сафлоровидной *Rhaponticum carthamoides*, входящей в список растений Государственной фармакопеи, во взаимосвязи с активностью и безопасностью заготавливаемого сырья. Исследовали фитохимические и качественные характеристики лекарственного сырья, полученного по альтернативной технологии (вегетативные побеги вместо корней с корневищами). Культивировали методом органического растениеводства на севере Европейской части России (Архангельская область) с прохладным и влажным климатом, в агропопуляции с плотностью 24-28 тысяч растений на 1 га. Заготовку проводили в начале фазы бутонизации, концентрацию действующего вещества экдистерона определяли фармакопейным методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Установлено, что объектом сбора служили фракции молодых и взрослых розеточных листьев, где накопление больших количеств экдистерона связано с присутствием повышенных количеств белковых веществ ($r^2 = 0,99-0,98$) и существует обратная отрицательная зависимость от клетчатки ($r^2 = -0,99...-0,94$). Индикаторным показателем повышенного синтеза экдистерона является уровень сырого протеина 33-27 %, при котором концентрация экдистерона достигает 4850-3550 мг/кг (0,49-0,36 %) при нормативе 1000 мг/кг (0,1 % в расчете на сухое вещество). Выявлена высокая степень доступности экдистерона из субстанции в водные экстракты, в диапазоне температур от -10 до +100 °C, при последующей сохранности действующих веществ в течение суток на 93-98 %. Суммарный выход экстрактивных веществ составляет 50,2 % (при нормативе 12,0 %). Комплексная биологическая активность экстракта в биотестах характеризовалась стимулирующим действием при высокой степени разведения ($10^{-9}-10^{-11}$ М в расчете на экдистерон) и ингибирующим при малом разведении (1:100). Лекарственное сырье соответствует установленным санитарно-токсикологическим нормативам безопасности по содержанию загрязняющих веществ: в нем не накапливаются тяжелые металлы (Hg, Cd, As, Zn; Ni, Cu, Cr) выше фонового уровня; отсутствуют запрещенные хлор- и фосфорорганические соединения; содержание радионуклидов, нитратов и нитритов ниже норм ПДК.

Ключевые слова: *Rhaponticum carthamoides*, листовые части, экдистерон, биологическая активность, безопасность

Благодарности: работа выполнена без финансового обеспечения в рамках инициативного проекта.

Автор благодарит рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: автор заявил об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Тимофеев Н. П. Фитохимическая характеристика и активность лекарственного сырья из листовой части фармакопейного растения левзеи сафлоровидной. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2022;23(4):480-495. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.4.480-495>

Поступила: 26.04.2022

Принята к публикации: 30.06.2022

Опубликована онлайн: 25.08.2022

Phytochemical characteristic and activity of medicinal raw material from the leaves of pharmacopoeial plant *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin

© 2022. Nikolay P. Timofeev✉

Scientific-Production Enterprise Farm "BIO", Koryazhma, Russian Federation

In 2016-2020 there was carried out a comprehensive study of the problem on involvement into the industrial turnover of ecdysterone-containing substance from the leaf parts of *Rhaponticum carthamoides*, which is included in the list of plants of the State Pharmacopoeia, in relation to the activity and safety of harvested raw materials. Studied were phytochemical and qualitative characteristics of medicinal raw materials obtained by alternative technology (vegetative shoots instead of roots with rhizomes). Cultivated by organic cultivation in the European North-East of Russia (Archangelsk region) with a cool and humid climate, in an agropopulation with a density of 24-28 thousand plants per 1 ha. Harvesting was carried out at the beginning of the budding phase, the concentration of the active ecdysterone substance was determined by the pharmacopoeial method of high performance liquid chromatography (HPLC) analysis. It has been established that the objects of collection are the fractions of young and adult rosette leaves, where the accumulation of large amounts of ecdysterone is associated with the presence of increased amounts of protein substances ($r^2 = 0.99-0.98$) and there is an inverse negative dependence on fiber ($r^2 = -0.99...-0.94$). An indicator of increased synthesis of ecdysterone is the level of crude protein of 33-27 %, at which the concentration of ecdysterone reaches 4850-3550 mg/kg (0.49-0.36 %) at a standard of 1000 mg/kg (0.1 % based on dry substance). A high degree of availability of ecdysterone from the substance in aqueous extracts, in the temperature range from -10 to +100 °C, with subsequent preservation of the active substances during the day by 93-98 % was revealed. Total yield of extractive substances is 50.2 % (with the standard value of 12.0 %). Complex biological activity of the extract in biotests was characterized by a stimulating effect at high dilution ($10^{-9}-10^{-11}$ M per ecdysterone) and inhibitory at low dilution (1:100).

Medicinal raw materials meet the established sanitary and toxicological safety standards for the content of pollutants: it does not accumulate heavy metals (Hg, Cd, As, Zn; Ni, Cu, Cr) above the background level; there are no prohibited chlorine and organophosphorus compounds; radionuclide, nitrate and nitrite content is below norms of maximum allowable concentration.

Keywords: *Rhaponticum carthamoides*, leaf parts, ecdysterone, biological activity, safety

Acknowledgement: the work was done without financial support in the framework of the initiative topics.

The author thanks the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Conflict of interest: the author stated no conflict of interest.

For citations: Timofeev N. P. Phytochemical characteristic and activity of medicinal raw material from the leaves of pharmacopoeial plant *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2022;23(4):480-495. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.4.480-495>

Received: 26.04.2022

Accepted for publication: 30.06.2022

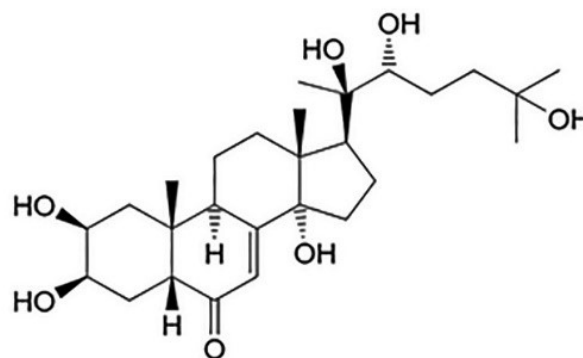
Published online: 25.08.2022

В настоящее время наблюдается большой интерес мировой науки к левзею сафлоровидной *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin – многолетнему растению из семейства сложноцветных (*Asteraceae*) и синтезируемому ею биологически активному веществу экдистерону (синонимы: 20E, 20-гидроксиэкдизон) (рис. 1) [1, 2]. Это единственное экдистеронсодержащее растение-адаптоген, включенное в официальную фармакопею Российской Федерации IX-XIV изданий (с 1961 года) [3], а также Рес-

публики Беларусь [4]. Разрешено использовать как подземные части левзеи с корневищами, так и надземные листовые, и не только в составе фарм- и ветпрепаратов, но и в составе пищевых добавок для человека (Технический регламент¹, 2011; СанПиН 2.3.2.2868-11; прил. 5Б, п.9, п.1], а также как фитобиотическая субстанция в составе кормовых добавок с целью оздоровления сельскохозяйственных животных и значимого повышения их среднесуточного прироста и продуктивности [5].



a / a



b / b

Рис. 1. *R. carthamoides* (Willd.) Iljin с розеточными листьями (a), синтезирующее экдистерон (b) /
Fig. 1. *R. carthamoides* (Willd.) Iljin with rosette leaves (a) synthesizing ecdysterone (b)

Основные фармакотерапевтические и физиологические эффекты комплекса биологически активных веществ (БАВ) из *R. carthamoides* – адаптогенный, анаболический (увеличение прироста мышечной массы), антистрессовый, антикоагулянтный, антиоксидантный, гемореологический, гипогликемический, ноот-

ропный, противомикробный, эргогенный (повышение выносливости и физической работоспособности) и т. д. Нормируемым действующим веществом во всех органах растения является экдистерон – 0,1%, или 1000 мг/кг в расчете на сухое вещество [3, 4].

¹Технический регламент Таможенного союза ТР ТС № 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», в редакции от 14.07.2021. Решение КТС от 09.12.2011. № 880. Астана, 2011.

URL: <https://www.alt.ru/tamdoc/11sr0880/#reglam>

На практике для изготовления препаратов обычно используются подземные части растения, заготавливаемые в природных высокогорных областях Сибири (*экстракт левзеи жидкий* из корней с корневищами, препарат *экдистен* с экдистероном высокой степени очистки из корней) [1]. В разных странах (СССР, Чехия, Узбекистан, Франция, Австрия) реальный выход экдистерона из корней с корневищами *R. carthamoides* незначителен и составляет в среднем около 0,05 % (0,013-0,05-0,101 %) [5]. Кроме того, в процессе хранения и переработки растительного сырья, загрязненного микрофлорой (в частности, из подземных органов *R. carthamoides*), экдистерон может быстро разрушаться [6, 7].

Листовые части *R. carthamoides* на фоне корней являются ежегодно отрастаемым и возобновляемым ресурсом, где экдистерон после биосинтеза в корнях или листьях перераспределяется и концентрируется в молодых и развивающихся органах и тканях (растущие листья, почки возобновления на корневище, семена) [8]. Завершившие вегетацию и зимующие многолетние корни выполняют, прежде всего, якорную функцию в почве, а не развития, поэтому объяснимо низкое содержание экдистерона в заготавливаемых осенью корнях левзеи.

Поэтому перспективно ориентироваться на культивирование и использование *R. carthamoides*, где промышленным источником будет служить ежегодно отрастающая надземная фитомасса с высоким содержанием экдистерона и других сопутствующих биологически активных веществ. К сожалению, общепринятые технологии культивирования *R. carthamoides* в России и за рубежом не связаны с качеством получаемого лекарственного сырья. Ни в одной из ранее опубликованных монографий не исследовано накопление экдистерона в растительной продукции, и тем более в условиях агропопуляций [9, 10, 11]. Неизвестны коррелирующие зависимости, которыми сопровождается процесс биосинтеза и накопления экдистерона (как вторичного метаболита) в уборочных фракциях лекарственного сырья и его связь с основными первичными метаболитами (белковые вещества, клетчатка) и другими БАВ. Также необходимы сведения по доступности экдистерона из лекарственного сырья в водно-спиртовые экстракты и их активности. А само исходное растительное сырье должно соответствовать установленным санитарно-токсикологическим нормативам безопасности – то есть содержание таких загрязняющих веществ, как тяжелые металлы (ртуть – Hg,

свинец – Pb, кадмий – Cd, мышьяк – As, хром – Cr, никель – Ni, олово – Sn, медь – Cu); остатки хлор- и фосфорсодержащих пестицидов (ХОС и ФОС), радионуклидов (радионуклиды цезий-137 стронций-90), нитратов NO_3^- и нитритов NO_2^- не должно превышать нормы их предельно допустимых концентраций (ПДК), не оказывающих негативного влияния на здоровье человека и животных.

Цель исследования – изучить и проанализировать количественные фитохимические и качественные характеристики лекарственного сырья из листовой части левзеи сафлоровидной, культивируемой в условиях агропопуляций Европейского Севера, протестировать биологическую активность и оценить содержание нормируемых веществ безопасности.

В задачи исследования входило:

1. Установить уровни, изменчивость концентрации экдистерона во фракциях лекарственного сырья (молодых, взрослых, стареющих, старых и отмерших) и корреляционную связь их накопления с содержанием основных первичных метаболитов (протеином и клетчаткой).
2. Определить доступность экдистерона из лекарственного сырья в водные и спиртовые экстракты и их устойчивость в среде.
3. Оценить биологическую активность экдистеронсодержащей субстанции промышленного сбора (тестирование иммунно-модулирующей активности *in vitro*).
4. Провести санитарно-токсикологический анализ субстанции на содержание потенциально опасных веществ (тяжелых металлов, радионуклидов, хлор- и фосфорорганических соединений, нитратов, нитритов и т. д.).

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование проблемы, имеющей важное экономическое значение в масштабах государства – вовлечение в массовый оборот экдистеронсодержащей субстанции из листовых частей левзеи сафлоровидной *Rhaponticum carthamoides*, входящей в список растений Государственной фармакопеи, во взаимосвязи с активностью и безопасностью заготавливаемого сырья.

Это альтернативная, теоретически обоснованная и апробированная на практике многоходовая технология в масштабах агропопуляций – розеточные фракции вегетативных побегов вместо принятой до сих пор одноразовой технологии из выкапываемых подземных частей *R. carthamoides*, при которой плантация перестает существовать, заготовленные корни с корневищами низкого качества, быстро теряют экдистерон в период хранения, а процесс экст-

рации является экономически невыгодным производителю из-за высокой себестоимости.

Результаты могут служить стимулом и источником для инвестиционных вложений со стороны заинтересованных компаний в хозяйствующие субъекты Европейского Севера с целью массового выращивания *R. carthamoides* для нужд фармацевтической и пищевой промышленности, а также для удовлетворения потребностей общественного животноводства в качестве высокоэффективной фитобиотической субстанции (адаптогенной, анаболической, антиоксидантной, антистрессовой, гемореологической, гипогликемической, ноотропной, эргогенной и иммунно-модулирующей направленности).

Материал и методы. В публикации отражены результаты изучения лекарственного сырья из растений генеративного периода (2016-2020 гг.). Исследуемое растительное сырье выращено и заготовлено в сухом виде на юго-востоке Архангельской области, в подзоне средней тайги (Котласский р-н; географические координаты – 61°20' с.ш., 47° в.д.), в агропопуляции *R. carthamoides*, с плотностью 24-28 тысяч экз./га в онтогенезе. Выращивание ведется методом органического растениеводства – минеральные удобрения, химические средства защиты и регуляторы роста растений, гербициды не применяли. По комплексу агрохимических показателей почва участка относится к дерново-подзолистым, высококультурным минеральным (почвенные пробы исследовали общепринятыми методами в ФГУ «Агрохимцентр Кировский», г. Киров). Содержание гумуса в пахотном слое 3,6 %, органического вещества 3,1 %. Кислотность корнеобитаемого слоя почвы оптимальная (рН_{KCl} 6,4-6,5); насыщенность основаниями высокая (12,4 мг-экв, или 93,5 %). По элементам питания обеспеченность фосфором высокая (P₂O₅ подвижный 312 мг/кг почвы), калием – средняя (K₂O подвижный 96 мг/кг).

Особенностями климата являются: короткий безморозный период, значительная облачность и недостаток солнечного света в ультрафиолетовом диапазоне, избыточное увлажнение. Зональный коэффициент увлажнения близок к 1,5. Продолжительность вегетационного периода 165-186 дней, безморозного – 105 дней (77-139). Среднегодовые суммы температур выше 15 °C составляют 911 °C (54-57 дней), 10 °C – 1577 °C (107-110 дней), 5 °C – 1936 °C (153 дня). Средняя температура самого теплого месяца июля +17,4 °C.

Промышленный сбор лекарственного сырья проводили в рекомендованную фазу развития (начало бутонизации), характеризующуюся максимальной концентрацией действующего вещества (экдистерона), которыми являются разновозрастные розеточные листья вегетативных побегов. Изъятие образцов для изучения фракционного состава проводили с использованием метода учетных площадок размерами 60-80 м², закладываемых в 6-9 точках по диагонали поля. В надземной фитомассе выделяли морфологически разнородные органы – укороченные вегетативные (розеточные) и стеблевые генеративные (репродуктивные) побеги с соцветием. В каждой выборке исследовали 275-300 вегетативных побегов, содержащих 1100-1500 розеточных листьев, и 30-35 генеративных побегов.

Среди розеточных листьев различали разновозрастные фракции, исходя из их физиологического возраста и состояния (размеры, опушенность, окраска, цельность листовой пластинки). Выделяли следующие фракции розеточных листьев: 1 – неразвернутые молодые; 2 – полуразвернутые молодые; 3 – растущие взрослые; 4 – развитые взрослые; 5 – стареющие взрослые; 6 – старые; 7 – отмершие. Растительный материал (органы, элементы и фракции) сушили под навесом в тени при переменной температуре от 23-25 до 35-40 °C и относительной влажности воздуха 25-40 %, в соответствии с правилами по заготовке и сушке лекарственного сырья. Остаточная влажность воздушно-сухого сырья, определенная методом ускоренной сушки при 130 °C, составляла 10-12 %. Образцы из воздушно-сухого сырья для дальнейшего определения содержания первичных и вторичных метаболитов формировали методом квартования. До анализа их хранили в полиэтиленовых пакетах при комнатной температуре 3-5 мес.

Количественное содержание экдистерона в сухих образцах определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ), с компьютерной обработкой данных по методу внутреннего стандарта, являющегося официально разрешенным фармакопеей [3, 4]. Анализы проводили по хоздоговорам в биохимической лаборатории Ботанического сада Института биологии Коми НЦ УрО РАН (ныне ИБ ФИЦ, г. Сыктывкар). Использовали жидкостный микроколоночный хроматограф «Милихром-5» (колонок 80×2 мм, сорбент Nucleosil C18 с размером частиц 5 мкм) (ООО «Медикант»,

Россия), элюент: раствор ацетонитрила, этанола в воде, подкисленный уксусной кислотой в режиме градиентного элюирования компонентов при скорости 100 мкл/мин, УФ-детектор ($\lambda = 242$ нм). Учитывали средние значения 2 биологических и 3 аналитических повторностей (% от воздушно-сухого вещества).

Химанализы образцов фракций листьев на сырой протеин (СП), сырую клетчатку (СК), потенциально опасных и поэтому нормируемых веществ (тяжелые металлы: Hg, Cd, As, Zn; Ni, Cu, Cr), хлор- и фосфорорганические соединения, радионуклиды ^{90}Sr и ^{137}Cs , нитраты и нитриты) выполнены по хоздоговору общепринятыми методами в аккредитованных лабораториях ФГБУ «Агрохимцентр Кировский» (г. Киров).

Доступность экидистерона из лекарственного сырья массового сбора (в водных и спиртовых растворах разных концентраций и их сохранность в среде) исследовали методом ВЭЖХ-анализа из образцов *R. carthamoides* промышленной заготовки (развернутое описание в разделе статьи). Оценка биологической активности из водных экстрактов (тестированием на иммунно-модулирующую активность в культуре клеток) выполнена с использованием скрининговой модели *in vitro*, где применяли последовательные разведения экстракта в кратности от 2 до 9 порядков (от 1:100 до 1:1 000 000 000). При тестировании образцов в клеточной культуре *in vitro* использовали критерий изменения функциональных свойств Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов клеток иммунной системы в виде проявления пролиферативного ответа на введение разбавленного водного экстракта (как спонтанного, так и под влиянием соответствующих митогенов ConA (белок конканавалин А: Т-митоген) и липополисахарид LPS: В-митоген). В контроле использовались идентичные по составу экстракты без митогенов. Для оценки пролиферативной активности клеток подсчитывали средние значения по трем повторностям и вычисляли индекс стимуляции по соотношению митоген-индуцированной пролиферации к спонтанной, которая в разведениях оценивалась относительно значений пролиферации к контролю. Работа выполнена в НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск.

Математическую обработку полученных данных проводили стандартными методами вариационной и корреляционной статистики с

помощью модуля Statistica программы Excel 2016. Использовали параметры генеральной (по результатам сплошного учета) и выборочной совокупности. Применяли статистические значения средней со среднеквадратичными отклонениями ($X \pm m$), коэффициента вариации (C_v , %), амплитуду минимальных и максимальных значений (Lim , min-max). Уровень изменчивости оценивали по шкале, выраженной коэффициентом вариации для биологических исследований: $\leq 7\%$ – очень низкий, 7-15 % – низкий, 15-25 % – средний, 26-35 % – повышенный, 36-50 % – высокий, $\geq 50\%$ – очень высокий.

Проанализированы корреляционные связи между парными значениями полиномиальных трендов, которые для лучшего визуального восприятия представлены в виде графических данных: парные связи между содержанием экидистерона и протеином (20Е-СП), между экидистероном и клетчаткой (20Е-СК). На кривых аппроксимации экспериментальных данных приведена соответствующая величина их достоверности в виде коэффициента детерминации или аппроксимации (R^2) – как показателя силы и направления взаимосвязи двух изучаемых количественных переменных при доверительном интервале 95 % (уровне значимости $p = 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Лекарственное растительное сырье – это свежие или высушенные растения или их части (в нарезанном, измельченном или порошкообразном виде), используемые для производства лекарств промышленными организациями или аптеками, ветеринарными аптеками или индивидуальными предпринимателями, имеющими разрешение на соответствующую деятельность [1]. Стандартизированное лекарственное растительное сырье, после определения химического состава сертифицированными лабораториями, приобретает статус фармацевтической или фитобиотической субстанции и содержит в качестве БАВ неочищенные комплексы продуктов первичного и вторичного метаболизма. У *R. carthamoides* это экидистерон (класс фитоэкидистероидов), флавоноиды и их производные, полифенолы (танины), физиологически активные пептидно-белковые вещества с регуляторными функциями (гормональная, ферментативная, рецепторная, сигнальная и т. д.), витамины, провитамины и их производные, макро- и микроэлементы, аминокислоты и т. д. [5].

При этом важно подчеркнуть, что комплексная биологическая активность субстанций из *R. carthamoides* зависит не только от концентрации экдистерона, но и от других сопутствующих веществ, оказывающих синергическое действие на соответствующие мишени органов и тканей. В серии опытов, по оценке эффекта стимуляции синтеза протеина в мышечных тканях, высокой активностью обладала неочищенная фракция водного и спиртового экстракта левзеи сафлоровидной +33 и +29 % к контролю. В случае с очищенным от так называемых «балластных веществ» сухим спиртовым экстрактом левзеи требовалась дозировка в 100-200 раз выше (в расчете на концентрацию экдистерона) для достижения примерно такого же эффекта +23 % [12]. Аналогичное преимущество неочищенных экстрактов левзеи сафлоровидной перед высокоочищенным экдистероном обнаружено и в экспериментах по ингибированию развития онкогенных клеток HeLa (полученных из раковой опухоли шейки матки) [13].

Резюмируя, можно сказать, что критическая разница в сравнительной активности препаратов из *R. carthamoides* возможна обусловлена не только уровнем содержания экдистерона, но и комплексным синергическим взаимодействием их со стрессовыми белками и пептидами, витаминами и фенольными антиоксидантами в растительном сырье.

1. *Фракции листовых органов R. carthamoides и их ценность.* *R. carthamoides* – многолетнее травянистое растение, жизненный цикл которого может длиться до 25-30 лет и далее; взрослые особи образуют куст высотой 90-150 см (иногда 50-250). Вид интродуцирован из субальпийского пояса Алтае-Саянской высокогорной области (до 3000 м над ур. м.); по жизненной форме является крупным травянистым, полурозеточным поликарпическим растением с ежегодно отмирающими побегами двух типов – вегетативных розеточных (84-93-100 % в структуре фитомассы). Цветоносные (генеративные) побеги с мелкими сидячими листьями высотой 110-140 см появляются только в генеративный период, зацветают в середине июня и начинают отмирать примерно через месяц [8].

Розеточные листья вегетативных побегов крупные черешковые, у взрослых растений более или менее глубоко перисто-рассеченные на 15-22 (0-27) доли, по окраске светло-, желто- или темно-зеленые, образуют розетку диаметром 55-90 см (37-112). В молодом возрасте поверхность листьев белесая, паутинисто-

опушенная, придающая им серебристый оттенок. Размеры взрослых листьев достигают 60-90 см (иногда до 120) по длине и 25-33 см по ширине листовой пластинки. Появление новых листьев, их взросление и отмирание не приурочено к определенным фазам развития, они функционируют в течение всего вегетационного периода, меняя друг-друга во времени – с момента схода снежного покрова весной и до наступления устойчивых осенних заморозков.

Основу лекарственного сырья из надземных частей *R. carthamoides* составляет смесь из розеточных листьев, отрастающих сразу же после схода снежного покрова и заготовленных в оптимальную фазу бутонизации (рис. 1), но которые, однако, неоднородны, так как имеют разный физиологический возраст из-за растянутого во времени их появления и развертывания на побеге. Генеративные побеги немногочисленны и не являются объектом сбора на лекарственные цели, так как они одревесневшие и экдистерон в них концентрируется лишь в апикальной части (в цветоносе и семенах).

Содержание во фракциях экдистерона, протеина, клетчатки и корреляционные связи между ними.

Экдистерон. По результатам химического анализа, наиболее высокую ценность по содержанию экдистерона имеют 5-6 первых фракций, занимая 80-90 % по массе в структуре урожая во время фазы бутонизации (табл. 1). Фракции № 1-2 молодых листьев содержат очень большие концентрации экдистерона – 4850-3800 мг/кг (неразвернутые и полуразвернутые по форме листовой пластинки занимают средний внутренний ярус куста). Фракции № 3-5 взрослых листьев также насыщены экдистероном, из них растущие – 3550 мг/кг, развитые – 2950 мг/кг и стареющие – 2140 мг/кг (занимают верхний ярус куста и наиболее развиты по длине и ширине листа).

Старые розеточные листья (фракция № 6) еще удовлетворяют нормативу (1330 мг/кг экдистерона), но их отчуждение нежелательно, так как они являются донорами для фракции растущих молодых (туда перераспределяется экдистерон). Отмершие листья (фракция № 7) расположены в самом нижнем ярусе по периметру куста на высоте 3-10 см от поверхности почвы, образуя ветошь, и загрязнены микрофлорой – они не подлежат уборке для производства лекарственного сырья. Относительная концентрация экдистерона в них всего лишь 7 % от молодых листьев (350 мг/кг).

Таблица 1 – Химический состав фракций розеточных листьев *R. carthamoides* в генеративном периоде (фаза бутонизации) /

Table 1 – Chemical composition of rosette leaf fractions of *R. carthamoides* in the generative period (budding phase)

Фракция розеточных листьев / Fraction rosette leaves	Внешний признак / External sign	Экдистерон, мг/кг / Ecdisterone, mg/kg	Протеин, % / Protein, %	Клетчатка, % / Fiber, %
1. Неразвернутые / Unfolded	Белесо-опушенные / White-powdered	4850	33,4	11,9
2. Полуразвернутые / Semi-expanded	Светло-зеленые / Light green	3800	29,2	16,5
3. Растущие / Growing	Темно-зеленые / Dark green	3550	27,2	17,4
4. Развитые / Developed	Зеленые / Green	2950	24,1	18,8
5. Стареющие / Aging	Желтовато-зеленые / Yellowish green	2140	20,9	20,0
6. Старые / Old	Пожелтевшие / Yellowed	1330	17,5	25,3
7. Отмершие / Dead	Темно-бурые / Dark brown	350	16,6	21,4
Среднее (для 1-5) / Average (for 1-5)	-	3450,0	27,0	16,9
Cv, %	-	29,1	17,7	18,4
Lim (min-max)	-	2140-4850	20,9-33,4	11,9-20,0

Белковые вещества (сырой протеин). Их содержание меняется аналогично концентрации экдистерона, но не так резко; наивысшее во фракциях № 1-2 молодых листьев (33-29 %), затем во фракциях № 3-5 взрослых листьев (растущие 27 %; развитые 24 % и стареющие 21 %). Во фракции № 6 старых листьев протеина около 18 %, № 7 отмерших – 16 % (или 49 % относительно молодых листьев).

Клетчатка. Динамика содержания противоположна динамике экдистерона и протеина – 12-16 % у молодых листьев, 17-20 % у взрослых, 25 % у старых (или 213 % относительно молодых). У отмерших листьев клетчатки 21 %, что меньше во фракции старых (25 %) и объясняется их отмиранием в раннем возрасте (их содержимое вместе с экдистероном перераспределилось в пользу более позднее развивающихся и более крупных розеточных листьев).

Таким образом, наблюдается скоординированное развитие между фракциями розеточных листьев, которое отражается на химическом составе первичных метаболитов: белковых веществ (как основа ферментативных биохимических реакций жизнедеятельности) и клетчатки (как структурного строительного материала) с экдистероном (уже как вторичного продукта метаболических реакций ферментного биосинтеза). Усредненные

концентрации рассматриваемых компонентов по основным 5 уборочным фракциям составляют (для фазы бутонизации): экдистерона – 3450 мг/кг ($C_v = 29,1 \%$); протеина – 27,5 % ($C_v = 17,7 \%$); клетчатки – 16,9 % ($C_v = 18,4 \%$). При анализе и сопоставлении этих данных с другими крайне редкими литературными источниками выявляется аналогичная картина – при низких значениях содержания протеина (14-16 %) в вегетативных побегах содержание экдистерона было крайне низким (0,05-0,14 %) [9, 11].

Корреляция относительного содержания экдистерона с протеином и клетчаткой во фракциях розеточных листьев *R. carthamoides* приведена на графическом рисунке 2, где прослеживается статистически достоверная разнонаправленность кривых аппроксимации экспериментальных данных – между клетчаткой и экдистероном. Взаимно зависимые (парные) связи одной величины от другой в виде коэффициента детерминации представлены на рисунке 3 – откуда следует, что существует прямая и очень высокая зависимость содержания экдистерона от уровня протеина для розеточных листьев ($R^2 = 0,99-0,98$). Зависимость концентрации экдистерона от клетчатки, наоборот, сильная отрицательная ($R^2 = -0,99 \dots -0,94$).

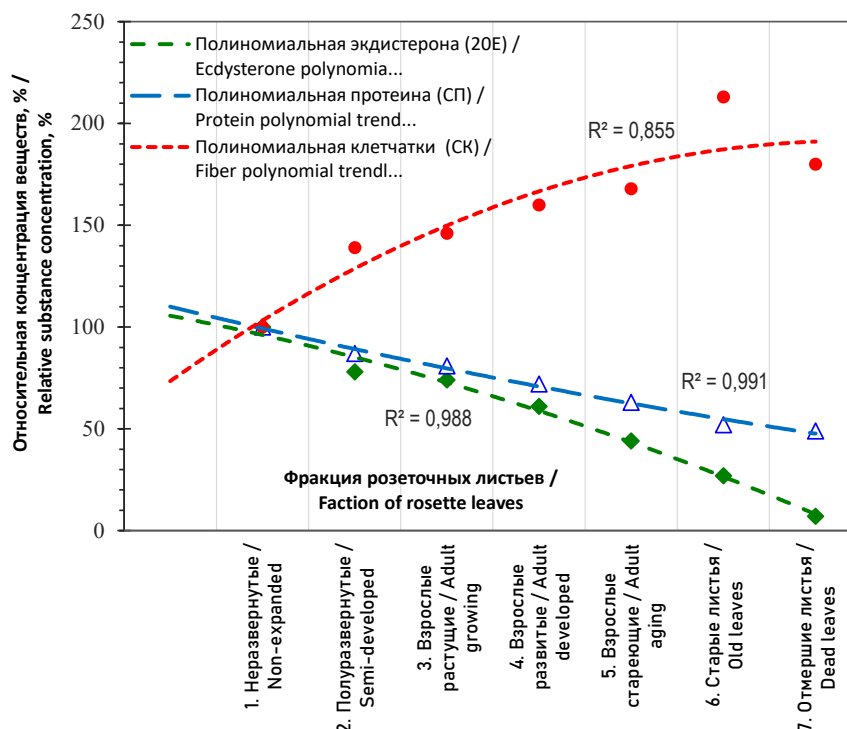


Рис. 2. Корреляция относительного содержания экдистерона на фоне протеина и клетчатки во фракциях розеточных листьев *R. carthamoides*. Пунктирные линии – сглаженные (приближенные) кривые аппроксимации данных, R^2 – соответствующая величина их достоверности /

Fig. 2. Correlation of relative content of ecdysterone against protein and fiber in fractions of rosette leaves of *R. carthamoides*. Dotted lines are smoothed (approximated) curves of data approximation, R^2 is the corresponding value of their reliability

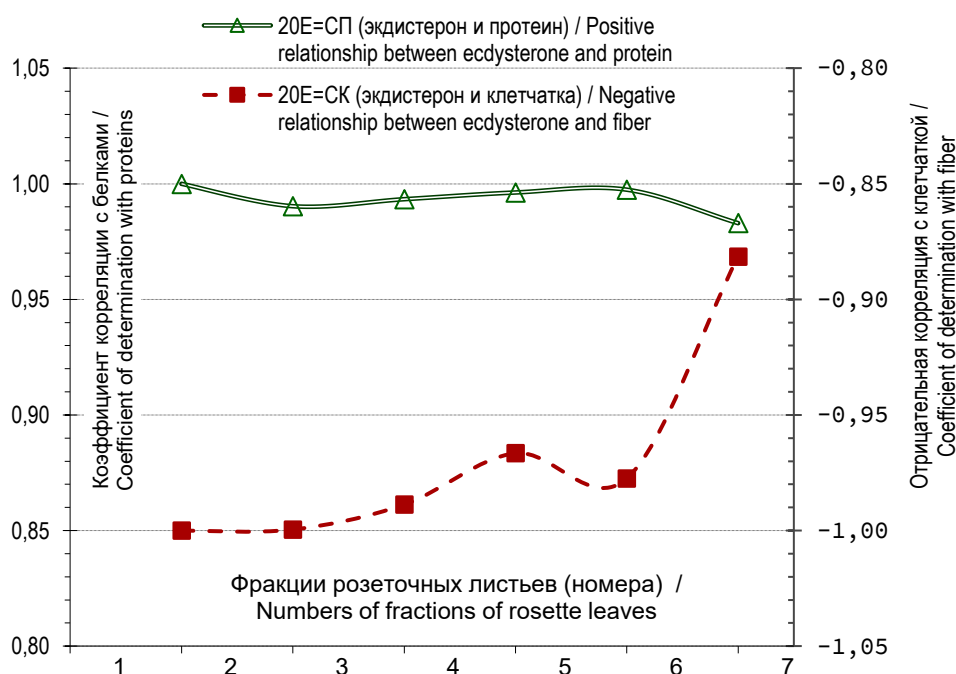


Рис. 3. Парная зависимость содержания экдистерона от протеина и клетчатки во фракциях розеточных листьев *R. carthamoides* (фаза бутонизации) /

Fig. 3. Pairwise dependence of ecdysterone content on protein and fiber in rosette leaf fractions of *R. carthamoides* (budding phase)

2. Доступность экидистерона из листовой части в водные и спиртовые экстракты. Надземные части (листья левзеи) *R. carthamoides* официально разрешены и в сравнении с подземными являются ежегодно возобновляемым ресурсом. Экидистерона в них содержится на порядок больше, а комплексная активность может быть в 4 раза выше подземных частей [14]. Процесс экстракции из подземных органов *R. carthamoides* очень трудоемок, требует больших количеств этилового спирта (3-кратная экстракция 70%-м спиртом с кипячением по 1,5-2,0 часа на каждом этапе, при гидромодуле 10-11:1) [12]; а при водной экстракции без стерилизации, вследствие обильного загрязнения почвенной микрофлорой, экидистерон из мелкоизмельченных корней может разрушиться в течение нескольких часов [6, 7].

Нами изучен сравнительный процесс извлечения экидистерона из листовой части в экстракт дистиллированной водой и спиртом и сохранность в среде, который проводили официальным ФЭЖХ-методом XIV Госфармакопии (г. Сыктывкар, Коми Научный Центр УрО РАН). Варианты извлечения экидистерона: а) 70%-м и 10%-м этиловым спиртом в течение 1 суток; б) дистиллированной водой после 2 часов и 1 суток экспозиции ($T = 20-25^{\circ}\text{C}$); в) после 2-часового воздействия температуры +20, +40, +60, +100 $^{\circ}\text{C}$ в термостате и после-

дующего остывания в течение 17-22 часов; г) замораживание в лабораторной холодильной установке в течение 2 часов, дальнейшая выдержка 22 часа при -10°C , оттаивание).

Результаты. Сумма экстрактивных веществ из листовой части *R. carthamoides* при водной экстракции в сравнении со спиртовой составила в 1,3 раза выше и варьировала в пределах 43-48 % (70%-м этанолом – 34-37 %). В среднем из 8 образцов при водном способе в экстракт перешло 46,1 % сухих веществ. При дополнительной экстракции остатка этиловым спиртом (после водной) получено еще 4,1 %. Суммарный выход экстрактивных веществ в целом в 4 раза выше нормативных – 50,2 % против 12,0 % [3].

Концентрация экидистерона при водной экстракции оказалась в 1,6 раза выше в сравнении 70%-м спиртом: 0,45 и 0,28 % (табл. 2). При снижении концентрации спирта, как растворителя, с 70 до 10 % содержание экидистерона в спиртовом экстракте увеличилось с 0,28 до 0,40 %, но все равно была ниже водной. Дальнейшее испытание различных режимов водной экстракции в течение 1 суток показало, что температура в диапазоне от -10 до $+100^{\circ}\text{C}$ практически не оказывает разрушающего действия на экидистерон; концентрация остается такой же высокой 0,42-0,43 %, как и в контроле – 0,45 % (табл. 3).

Таблица 2 – Эффективность водной и спиртовой экстракции экидистерона из листьев *R. carthamoides* ($T 20-25^{\circ}\text{C}$) /

Table 2 – Efficiency of aqueous and alcoholic extraction of ecdysterone from the *R. carthamoides* leaves ($T 20-25^{\circ}\text{C}$)

Вариант / Variant	Растворитель / Solvent	Выдержка / Exposure	Экидистерон, % / Ecdysterone, %	Эффективность, % / Efficiency, %
Вода / Water	H ₂ O	1 сутки / 1 day	0,45	100,0
Вода / Water	H ₂ O	2 часа / 2 hours	0,34	75,5
Спирт, 10%-й / Ethanol, 10%	C ₂ H ₅ OH	1 сутки / 1 day	0,40	88,9
Спирт, 70%-й / Ethanol, 70%	C ₂ H ₅ OH	1 сутки / 1 day	0,28	62,2

Таблица 3 – Влияние температуры на эффективность водной экстракции экидистерона из листьев *R. carthamoides* /

Table 3. Effect of temperature on the efficiency of aqueous extraction of ecdysterone from the leaves of *R. carthamoides*

Температура, $^{\circ}\text{C}$ / Temperature, $^{\circ}\text{C}$	Растворитель / Solvent	Выдержка, час / Exposure, hour	Экидистерон, % / Ecdysterone, %	Эффективность, % / Efficiency, %
+20	H ₂ O	24	0,45	100,0
+40	H ₂ O	2+17	0,44	97,8
+60	H ₂ O	2+19	0,43	95,6
+100	H ₂ O	2+22	0,42	93,3
-10	H ₂ O	2+22	0,43	95,6

Более высокую степень извлекаемости экдистерона из листовых органов водой, а не спиртом, можно объяснить тем, что в клеточном соке экдистерон присутствует не в чистом виде, а сопровождается конъюгацией его с другими, хорошо растворимыми в воде продуктами вторичного обмена веществ: неорганическими (сульфаты, фосфаты) и органическими (ацетаты, бензоаты, циннаматы) кислотами, сахарами (глюкозиды, галактозиды, ксилозиды) и т. д. После биосинтеза в корнях или листьях они перераспределяются с водным потоком ассимилятов через флоэму от взрослых органов к молодым и развивающимся органам и тканям.

Таким образом, экдистерон в листовых частях левзеи сафлоровидной (*R. carthamoides*), заготовленной в оптимальные сроки, находится в подвижной водорастворимой транспортной форме, не требует обязательной экстракции спиртом (как в случае корней с корневищами) и легкодоступен для организма животных и человека – при высокой сохранности действующих веществ (93–98 %) в водных растворах, в диапазоне температур от -10 до +100 °С. Для сравнения: растворимость 97 % химически изолированного экдистерона в воде составляет 0,19 %, в 70%-ом спирте-этаноле – 6,1 % [15].

Следует также заметить, что кроме плохой растворимости в воде очищенного экдистерона, биодоступность его в организме крайне низка еще и из-за неустойчивости к разложению микрофлорой кишечника – от 0,06–0,10 % до 1,0 %. Поэтому эффективный синтез протеина в мышцах происходит лишь при очень высоких концентрациях (97 %) экдистерона – достигающих до 20–30 мг/кг (1,4–2,0 г в день для человека или около 5×10^{-7} М) [7, 16]. Объясняется данный факт тем обстоятельством, что у поглощенной и биодоступной части экдистерона происходит внутрипеченочный цикл, во время которого экдистерон становится водорастворимым в результате конъюгации с производными глюкозы (процесс глюкуронизации) и его метаболиты попадают в кровь, а затем возвращаются через желчный проток обратно в кишечник [7]. В итоге требуются очень высокие дозировки фармакологически очищенного экдистерона для проявления физиологического эффекта в реальном организме (*in vivo*). В случае же неочищенных препаратов *R. carthamoides* экдистерон в экстракте защищен танинами (полифенольными

дубильными веществами, имеющим антибактериальные свойства), содержание которых в листовых органах доходит до 9–13 %.

3. *Биологическая (иммунно-модулирующая) активность водных экстрактов в биотестах.* Комплексная активность неочищенной экдистеронсодержащей субстанции каждого вида растения будет зависеть от синергического, антагонистического или конкурирующего друг с другом действия отдельных соединений, набор которых индивидуален для конкретного вида-носителя. Нами (в НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск) исследована активность водных экстрактов листовой части левзеи *R. carthamoides* различного разведения (от 1:100 до 1:1 000 000 000, спонтанная без митогена и Т- и В-митогенами) для двух сроков промышленной заготовки (взрослые генеративные растения). Фазы развития растения во время вегетационного периода соответствовали: а) фазе максимального накопления экдистерона в листовых органах (активная вегетация до начала бутонизации); б) фазе оттока экдистерона из розеточных листьев (завершение бутонизации с переходом к цветению). Полученные в скрининговом эксперименте данные приведены в таблице 4.

Выявлено, что особенностью механизма действия водных экстрактов *R. carthamoides* является тормозящее действие больших доз и стимулирующая активность малых дозировок на процессы пролиферации – деления и размножения лимфоцитов на клеточном (Т-лимфоциты) и гуморальном уровнях (антитела, продуцируемые В-лимфоцитами). Для образцов, отобранных во время завершения фазы бутонизации с переходом к цветению, не наблюдается зависимости стимуляции пролиферации Т- и В-клеток в испытуемом диапазоне разведений, а явное ингибирование пролиферации наблюдается только при слабом разведении (10^{-2} или 10^{-4} М по экдистерону).

Наибольшая стимулирующая активность экстрактов *R. carthamoides* совпала с фазой активной вегетации растений, при которой происходит биосинтез и накопление экдистерона в листовых органах. На фоне неспецифически активирующих агентов ConA (Т-митоген) и LPS (В-митоген) пролиферация наиболее ярко стимулируется в диапазоне разведений $10^{-7} \dots 10^{-9}$, что составляет в пересчете на экдистерон $10^{-9} \dots 10^{-11}$ М.

Таблица 4. Влияние водных экстрактов из листьев *R. carthamoides* на пролиферативную активность лимфоцитов, индуцированных клеточным митогеном /

Table 4. Effect of aqueous extracts from the leaves of *R. carthamoides* on the proliferative activity of lymphocytes induced by cellular mitogen

Разведение / Dilution	Спонтанная пролиферация* / Spontaneous proliferation *	Индекс стимуляции / Stimulation indice	
		В-митоген / B-mitrogen	T-митоген / T-mitogen
Фаза активной вегетации / Active vegetation phase			
Контроль / Control	1.00	3.0	4.7
10 ⁻² (1:100)	Нет	Нет	Нет
10 ⁻³ (1:1 000)	0.72	2.6	3.0
10 ⁻⁴ (1:10 000)	0.71	3.6	5.5
10 ⁻⁵ (1:100 000)	0.76	3.2	4.9
10 ⁻⁶ (1:1 000 000)	0.87	3.0	4.2
10 ⁻⁷ (1:10 000 000)	0.66	6.2	6.6
10 ⁻⁸ (1:100 000 000)	0.75	4.2	5.5
10 ⁻⁹ (1:1 000 000 000)	0.62	4.2	6.4
Фаза завершения бутонизации / End of budding phase			
Контроль / Control	1.00	4.2	8.0
10 ⁻²	0.77	1.6	2.5
10 ⁻³	0.65	4.1	5.6
10 ⁻⁴	1.31	3.9	6.0
10 ⁻⁵	1.07	3.9	5.8
10 ⁻⁶	1.31	3.7	5.6
10 ⁻⁷	1.54	4.0	4.2
10 ⁻⁸	1.12	5.1	6.3
10 ⁻⁹	1.38	3.4	4.8

* Относительные значения пролиферации / * Relative values of proliferation

Данная тенденция максимального стимулирования экстракта при концентрации 20Е до 10⁻¹¹ М и ингибирования при повышенной концентрации 20Е до 10⁻⁴ М совпадает с кривой стимулирующей концентрации синтеза протеина в мышцах (без использования митогенов),

найденной европейскими учеными в экспериментах по дозозависимому ингибированию экспрессии гена миостатина в культуре клеток миобласты мыши С2С12 с помощью эктистерона, полученного также из *R. carthamoides* (рис. 4) [17].

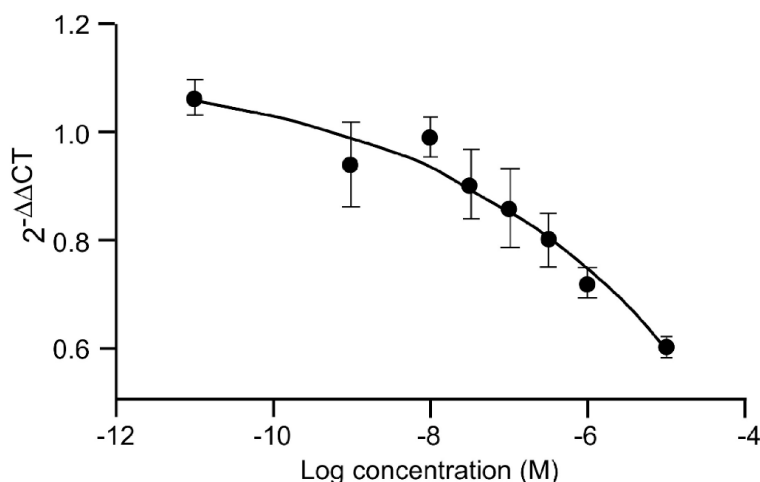


Рис. 4. Экспрессия гена миостатина эктистероном в зависимости от дозы, по [17] /

Fig. 4. Myostatin gene expression by ecdysterone in a dose-dependent manner, by [17]

4. Санитарно-токсикологическая оценка (безопасность). Биологическая ценность лекарственных растений оценивается не только способностью к повышенному синтезу целевых веществ, но и низкой предрасположенностью к концентрированию различных токсических соединений естественного или антропогенного происхождения. Первоначальные сообщения (начало 1970-х годов, выполненных методами цветных реакций) о наличии алкалоидов у *R. carthamoides* при тщательном исследовании не подтверждены. В современной литературе нет также сведений о накоплении тритерпеновых сапонинов, других сильнодействующих, наркотических или ядовитых веществ (буфадииенолидов, сердечных гликозидов, аристолохиевой кислоты, фотосенсибилизирующих, кумулятивных или расщепляющих витамины веществ).

Изучение токсичности надземной части *R. carthamoides* в качестве кормовых добавок ранее уже проводилось в бывшем СССР и за рубежом. В длительных опытах, когда измельченные листовые части растений *R. carthamoides* использовались в рационах, неблагоприятных эффектов не было обнаружено. В экспериментах была доказана их нетоксичность в дозах, достигающих до 0,3-0,5 кг сухого вещества надземной массы для крупного рогатого скота. Крысы и птицы могли питаться семенами данного вида, которые содержали до 1,5 % экидистерона, и хорошо себя чувствовали [5].

Экидистерон, основное действующее вещество в листовых органах *R. carthamoides*, относится к низкотоксичным веществам, не кумулируется и быстро исчезает из организма после приема внутрь. ЛД₅₀ для экидистерона составляет 6,4 г/кг при внутривенном и 9,0 г/кг при пероральном введении. Полупериод его распада в организме невелик; различия связаны с дозами, способами их введения, интенсивностью абсорбции в кровь, видами подопытных животных и т. д. Например, для овец (жвачные) полупериод распада экидистерона при внутривенном введении равен 0,2 ч, пероральном – 0,4 ч и при внутримышечном 2,0 ч. Выделительный путь – через печень и желчь в кишечник (кал) и мочу. У крыс с высокой скоростью обмена веществ при внутривенном введении полувывод был равен 0,13 ч (8 мин). У человека пик экидистерона в плазме крови в разовых дозировках 350-1400 мг наступает через 3 (2-4) часа, после чего содержание его

резко начинает снижаться, и через сутки остаются только следы [7].

В 2020 году очищенный до фармацевтической степени чистоты экидистерон ($\geq 97\%$), полученный из растения левзеи сафлоровидной (*R. carthamoides*), был исследован на грызунах и домашних собаках в Европе на безопасность, включая общую токсикологию и генотоксичность. Дозировки применяли высокие (на уровне до 1000 мг/кг), которые ежедневно повторялись в течение 180 суток для крыс и 270 суток для собак. Препарат при пероральном введении продемонстрировал хороший профиль безопасности, при отсутствии наблюдаемых побочных эффектов. Исследования на генотоксичность *in vitro* и *in vivo* были отрицательными при дозах 1,0-1,5 г/кг для крыс и собак в течение 28 дней. Комплекс тестов Safety Pharmacology (поведение животных, ЦНС, функция дыхания, тест hERG и сердечная телеметрия) не выявили отклонений [18].

Однако при использовании неочищенных экстрактов из разных экидистероидсодержащих растений нужно знать, что только в отношении некоторых из них доказана безопасность, например, *R. carthamoides* и *Serratula coronata* [5]. Большинство же других видов токсичны в различной степени по причине накопления иных химических веществ в органах этих растений.

Согласно Европейскому агентству по безопасности пищевых продуктов [19], среди ботанических видов, которые содержат вещества естественного происхождения, представляющие опасность для здоровья человека, сильноядовитыми среди экидистерон-синтезирующих растений являются: виды морозника (*Helleborus purpurascens*, *H. caucasicus*, *H. niger*), вороньего глаза (*Paris quadrifolia*, *P. polyphylla*, *P. incompleta*), представители рода витекса (*Vitex canescens*, *V. scabra*, *V. cymosa*), тисса (*Taxus baccata*, *T. cuspidata*); а также коккулюс сизый (*Diploclisia glaucescens*), луносемянник даурский (*Menispermum dauricum*), выюнок пурпурный (*Ipomoea petaloidea*, *I. hederacea*). Менее токсичны представители папоротникообразных (*Pteridium aquilinum*, *Polypodium vulgare*, *P. lepidopters*), видов смолевки (*Silene*), бразильского женьшеня (*Pfaffia paniculata*, *P. glomerata*, *P. iresinoides*), цианотиса (*Cyanotis arachnoidea*, *C. vaga*). Относительная токсичность у видов соломоцвета (*Achyranthes biden-*

tata, *A. aspera*), представителей лесных грибов – свинушки толстой и калифорнийской (*Paxillus atrotomentosus*, *Tapinella panuoides*) и китайского трутовика (*Polyporus umbellatus*) [5].

В условиях промышленного возделывания при санитарно-токсикологической оценке безопасности продукции приоритетным является соответствие уровня содержания тяжелых металлов, остатков пестицидов и радионук-

лидов нормативным требованиям. Надземные листовые части *R. carthamoides*, выращенные и заготовленные на дерново-подзолистых почвах Европейского Севера в качестве лекарственного сырья, не накапливали элементы первого и второго класса опасности (Hg, Cd, As, Zn; Ni, Cu, Cr) выше фонового уровня (табл. 5) и соответствовали при этом ПДК для зеленой массы многолетних трав².

Таблица 5. Химический состав экдистеронсодержащей субстанции из листьев *R. carthamoides* /
 Table 5. Chemical composition of ecdysterone-containing substance from the leaves of *R. carthamoides*

Показатель / Indicator	Норма / Norm	Фактически / Actually
Действующие вещества ³ , % [3, 4] / Active ingredients, %		
Экдистерон / Ecdysterone	≥ 0,1	0,4-0,6
Экстрактивные вещества / Extractives	≥ 12,0	50,2
Протеин сырой / Protein raw	≥ 16-19	19-27
Клетчатка сырая / Fiber raw	≤ 23-26	16-19
Тяжелые металлы ^{4, 5} , мг/кг / Heavy metals, mg/kg		
Hg (ртуть) / Mercury	0,05	0,009-0,016
Cd (кадмий) / Cadmium	0,3	0,115-0,020
As (мышьяк) / Arsenic	0,5	0,05
Ni (никель) / Nickel	3,0	0,59-1,30
Pb (свинец) / Lead	5,0	0,18-0,30
Cu (медь) / Copper	30,0	7,9
Zn (цинк) / Zinc	50,0	28,4
Хлор- и фосфорорганика ⁶ , мг/кг / Chlorine and phosphororganics, mg/kg		
ДДТ и его метаболиты / DDT and its metabolites	0,05	< 0,007
ГХЦГ и его изомеры / HCH and its isomers	0,05-0,20	< 0,001
Метафос / Metafos	0,00-0,50	Нет / Not
Карбофос / Carbofos	2,0-5,0	Нет / Not
Соединения азота ⁷ , мг/кг / Nitrogen compounds, mg/kg		
NO ₂ ⁻ (нитриты) / Nitrites	10,0	0,3-2,0
NO ₃ ⁻ (нитраты) / Nitrates	2000	700-1200
Радионуклиды ⁸ , мг/кг / Radionuclides, mg/kg		
⁹⁰ Sr (стронций) / Strontium	100,0	5,7
¹³⁷ Cs (цезий) / Cesium	600,0	4,8

²Таланов Г. А., Хмелевский Б. Н. Санитария кормов: справочник. М.: Агропромиздат, 1991. 303 с.

³Петрухин И. В. Корма и кормовые добавки. М.: Агропромиздат, 1989, с. 53.

⁴Таланов Г. А., Хмелевский Б. Н. Указ. соч.

⁵Черников В. А., Алексахин Р. М., Голубев А. В. и др. Агроэкология. Под ред. Черникова В.А. и Чекерса А. И. М.: Колос, 2000. 536 с.

⁶Таланов Г. А., Хмелевский Б. Н. Указ. соч.

⁷Там же.

⁸Черников В. А., Алексахин Р. М., Голубев А. В. Указ. соч.

Запрещенные по санитарно-гигиеническим стандартам хлор- и фосфорорганические соединения в фитомассе отсутствовали. Содержание радионуклидов ^{90}Sr и ^{137}Cs было ниже ПДК (68,8 и 6,2 против 100 и 600 Бк/кг), уровень нитратов и нитритов (0,3-2,0 мг/кг) находился в пределах норм.

Выводы. 1. Климатические условия Европейского Северо-Востока с прохладным климатом, повышенной влажностью и длинным световым днем благоприятны для промышленного выращивания и получения экистеронсодержащей субстанции *R. carthamoides*, входящей в список Государственной фармакопеи. В качестве источника растительного сырья предпочтительно ориентироваться на заготовку надземной продукции, где объектом сбора служат молодые и взрослые розеточные листья вегетативных побегов. Подземные части нежелательны, так как это ведет к уничтожению популяции, сами корни с корневищами не концентрируют значимых количеств действующих веществ (как правило, менее 0,1 %), такое сырье быстро теряет качество при хранении из-за загрязненности почвенной микрофлорой и требует оперативной и трудоемкой экстракции этиловым спиртом.

2. Установлено, что накопление больших количеств экистерона в надземных частях *R. carthamoides* связано с присутствием повышенных количеств белковых веществ. Наблюдается прямая зависимость содержания экистерона от уровня протеина ($r^2 = 0,99-0,98$) и обратная отрицательная зависимость от клетчатки ($r^2 = -0,99...-0,94$). Индикаторным показателем повышенного синтеза экистерона является уровень сырого протеина 33-27 %, при котором концентрация экистерона достигает 4850-3550 мг/кг (0,49-0,36 %) при нормативе 1000 мг/кг (0,1 % в расчете на сухое вещество).

3. Выявлена высокая степень доступности экистерона из листовых органов *R. carthamoides* в водные экстракты в диапазоне температур от -10 до +100 °С, при последующей сохранности действующих веществ в течение суток на 93-98 %. Экстрагируемость экистерона водой в 1,6 раза выше в сравнении 70%-м этиловым спиртом. Сумма всех экстрактивных веществ из листовой части при водной экстракции составляет 43-48 % от сухой массы (70%-м спиртом – 34-37 %). При дополнительной экстракции остатка этанолом суммарный выход достигает 50,2 %, что в 4 раза выше норматива (12 %). Комплексная биологическая активность экстракта в биотестах с культурой клеток иммунной системы характеризуется ингибиторным характером действия при малом разведении исходной субстанции (1:100), и высоким стимулирующим действием при высокой степени разведения ($1:10^{-7}...1:10^{-9}$ по сухому веществу или $10^{-9}...10^{-11}$ М в расчете на экистерон).

4. Лекарственное сырье из листовых органов левзеи сафлоровидной, выращенное по технологии органического растениеводства, соответствует установленным санитарно-токсикологическим нормативам безопасности по содержанию загрязняющих веществ. Надземные части *R. carthamoides* не накапливают элементы первого и второго класса опасности (тяжелые металлы Hg, Cd, As, Zn; Ni, Cu, Cr) выше фонового уровня; запрещенные по санитарно-гигиеническим стандартам хлор- и фосфорорганические соединения в фитомассе отсутствуют, содержание радионуклидов ^{90}Sr и ^{137}Cs , нитратов и нитритов ниже норм ПДК. Действующее вещество экистерон не аккумулируется в организме человека и животных, не токсичен и безвреден.

Список литературы

1. Shikov A. N., Narkevich I. A., Flisyuk E. V., Luzhanin V. G., Pozharitskaya O. N. Medicinal plants from the 14th edition of the Russian Pharmacopoeia, recent updates. Journal of Ethnopharmacology. 2021;268:113685. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113685>
2. Todorova V., Ivanov K., Ivanova S. Comparison between the Biological Active Compounds in Plants with Adaptogenic Properties (*Rhaponticum carthamoides*, *Lepidium meyenii*, *Eleutherococcus senticosus* and *Panax ginseng*). Plants. 2022;11(1):64. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11010064>
3. Фармакопея 2.5.0091.18: Рапонтикума сафлоровидного корневища с корнями (*Rhapontici carthamoides rhizomata cum radicibus*). Госфармакопея РФ, 14 изд. М.: ФЭМБ, 2018. Т. 4. С. 6360-6368.
4. Левзеи сафлоровидной листья: *Rhapontici carthamoides folium* (Leuzea leaf). Государственная Фармакопея РБ. Минск: Минздрав, 2007. Том. 2. С. 368-369.
5. Тимофеев Н. П. Потенциал экистероид синтезирующих растений для фитобиотиков (Обзор). International Agricultural Journal. 2021;64(6):46-112. DOI: <https://doi.org/10.24412/2588-0209-2021-10384>
6. Пунегов В. В., Мишуrow В. П., Никитина Е. Н. Способ получения экистероидов растения рода *Serratula*: α -экидизона, β -экидизона и инокостерона: пат. №2138509 Российская Федерация. №97121539/14: заявл. 22.12.1997; опублик. 27.09.1999. 7 с. Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/RU2138509C1/ru>

7. Dinan L., Dioh W., Veillet S., Lafont R. 20-Hydroxyecdysone, from Plant Extracts to Clinical Use: Therapeutic Potential for the Treatment of Neuromuscular, Cardio-Metabolic and Respiratory Diseases. *Biomedicines*. 2021;9(5):492. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9050492>
8. Тимофеев Н. П., Володин В. В., Фролов Ю. М. Распределение 20-гидроксиэкдизона в структуре биомассы надземной части *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin. Растительные ресурсы. 1998;34(3):63-69. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30571373>
9. Постников Б. А. Маралий корень и основы введения его в культуру. Новосибирск: СО РАСХН, 1995. 276 с.
10. Терехин А. А., Вандышев В. В. Технология возделывания лекарственных растений. М.: РУДН, 2008. 201 с.
11. Галамбози Б., Киракосян Г. М., Лужанин В. Г., Флисюк Е. В., Макаров В. Г., Пожарицкая О. Н., Шиков А. Н. Выращивание эфиромасличных и лекарственных растений в условиях Севера: монография. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2018. 318 с.
12. Bili A. S., Mejer M., Shevale K., Lorenson L., Foler N., Roller M., Birtik S., Fansa-Berton P. E. R., Falkao L. D. Композиции и способы для улучшенного мышечного метаболизма: пат. №2730853 Российская Федерация. № 2017127509: заявл. 03.02.2016; опубл. 26.08.2020. Бюл. № 24. 98 с. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43917593>
13. Peschel W., Kump A., Prieto J. M. Effects of 20-hydroxyecdysone, *Leuzea carthamoides* extracts, dexamethasone and their combinations on the NF- κ B activation in HeLa cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011;63(11):1483-1495. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01349.x>
14. Барнаулов О. Д. Элементы стратегии фитотерапии детей, часто болеющих респираторными вирусными инфекциями. Классические фитоадаптогены: Элементы стратегии фитотерапии. Традиционная медицина. 2015;(3):52-56. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=24347207>
15. Маматханов А. У., Шамсутдинов М.-Р., Шакиров Т. Т. Выделение экдистерона из корней *Rhaponticum carthamoides*. *Химия природных соединений*. 1980;(5):528-529.
16. Удинцев А. В., Ихалайнен А. А., Максимов В. А. Сравнительная экспериментальная оценка параметров токсичности и фармакокинетики лекарственных субстанций на основе фитостероида экдистерона. *Российский биомедицинский журнал Medline.ru*. 2014;15:250-262. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23556206>
17. Dilda P., Foucault A. S., Serova M., On S., Raynal S., Veillet S., Dioh W., Lafont R. BIO101, a drug candidate targeting Mas receptor for the treatment of age-related muscle degeneration. From molecular target identification to clinical development. Abstract 4-01. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2016;7(5):655. URL: <https://www.biophytis.com/wp-content/uploads/2019/02/Biophytis-2016-Poster-presentation-at-SCWD-December-10-11-2016-Dilda-et-al.pdf>
18. Lafont R., Dilda P., Dioh W., Dupont P., Signore S. D., Veillet S. 20-hydroxyecdysone extract of pharmaceutical quality, use and preparation thereof. Patent France FR3065644A1 (Biophytis). 2020. URL: <https://patents.google.com/patent/FR3065644A1/en>
19. Compendium of botanicals reported to contain naturally occurring substances of possible concern for human health when used in food and food supplements. *EFSA Journal*. 2012;10(5):2663. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2663>

References

1. Shikov A. N., Narkevich I. A., Flisyuk E. V., Luzhanin V. G., Pozharitskaya O. N. Medicinal plants from the 14th edition of the Russian Pharmacopoeia, recent updates. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;268:113685. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113685>
2. Todorova V., Ivanov K., Ivanova S. Comparison between the Biological Active Compounds in Plants with Adaptogenic Properties (*Rhaponticum carthamoides*, *Lepidium meyenii*, *Eleutherococcus senticosus* and *Panax ginseng*). *Plants*. 2022;11(1):64. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11010064>
3. Pharmacopoeia 2.5.0091.18: *Rhaponticum carthamoides* rhizomata cum radicibus. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed. Moscow: FEMB, 2018. Vol. 4. pp. 6360-6368.
4. *Rhaponticum carthamoides* folium (*Leuzea* leaf). State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. Minsk: Ministry of Public Health, 2007. Vol. 2. pp. 368-369.
5. Timofeev N. P. Potentiality of ecdysteroid synthesizing plants for feed additives (review). *International Agricultural Journal*. 2021;64(6):46-112. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.24412/2588-0209-2021-10384>
6. Punegov V. V., Mishurov V. P., Nikitina E. N. Method of preparing ecdysteroids of plant *Serratula*: α -ecdysone, β -ecdysone and inocosterone: Patent RF, no. 2138509, 1999. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2138509C1/ru>
7. Dinan L., Dioh W., Veillet S., Lafont R. 20-Hydroxyecdysone, from Plant Extracts to Clinical Use: Therapeutic Potential for the Treatment of Neuromuscular, Cardio-Metabolic and Respiratory Diseases. *Biomedicines*. 2021;9(5):492. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9050492>

8. Timofeev N. P., Volodin V. V., Frolov Yu. M. Distribution of 20-hydroxyecdysone in the structures of the above-ground biomass of *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin. *Rastitel'nye resursy* = Rastitelnye Resursy. 1998;34(3):63-69. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=30571373>
9. Postnikov B. A. Maral root (*Rhaponticum carthamoides*) and the bases of its introduction into culture. Novosibirsk: *SO RASKhN*, 1995. 276 p.
10. Terekhin A. A., Vandyshchev V. V. Technology of cultivation of medicinal plants. Moscow: *RUDN*, 2008. 201 p.
11. Galambozi B., Kirakosyan G. M., Luzhanin V. G., Flisyuk E. V., Makarov V. G., Pozharitskaya O. N., Shikov A. N. Growing essential and medicinal plants in the North: monograph. Sankt-Peterburg: *SpetsLit*, 2018. 318 p.
12. Bili A. S., Mejer M., Shevale K., Lorensen L., Foler N., Roller M., Birtik S., Fansa-Berton P. E. R., Falkao L. D. Compositions and methods for improved muscular metabolism: Patent no. 2730853 RF. 2020. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43917593>
13. Peschel W., Kump A., Prieto J. M. Effects of 20-hydroxyecdysone, *Leuzea carthamoides* extracts, dexamethasone and their combinations on the NF- κ B activation in HeLa cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011;63(11):1483-1495. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01349.x>
14. Barnaulov O. D. The strategy elements of phytotherapy for children with frequent respiratory viral infections. classical phytoadaptogenes. *Traditsionnaya meditsina*. 2015;(3):52-56. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=24347207>
15. Mamatkhanov A. U., Shamsutdinov M.-R., Shakirov T. T. Isolation of ecdysterone from the roots of *Rhaponticum carthamoides*. *Khimiya prirodnikh soedineniy* = Chemistry of Natural Compounds. 1980;(5):528-529. (In Uzbekistan).
16. Udintsev A. V., Ikhalaynen A. A., Maksimov V. A. The comparative experimental access of toxicity and pharmacokinetic parameters of pharmacological substances based on phytosteroid ecdysterone. *Rossiyskiy biomedicalnyi zhurnal Medline.ru*. 2014;15:250-262. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23556206>
17. Dilda P., Foucault A. S., Serova M., On S., Raynal S., Veillet S., Dioh W., Lafont R. BIO101, a drug candidate targeting Mas receptor for the treatment of age-related muscle degeneration. From molecular target identification to clinical development. Abstract 4-01. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2016;7(5):655. URL: <https://www.biophytis.com/wp-content/uploads/2019/02/Biophytis-2016-Poster-presentation-at-SCWD-December-10-11-2016-Dilda-et-al.pdf>
18. Lafont R., Dilda P., Dioh W., Dupont P., Signore S. D., Veillet S. 20-hydroxyecdysone extract of pharmaceutical quality, use and preparation thereof. Patent France FR3065644A1 (Biophytis). 2020. URL: <https://patents.google.com/patent/FR3065644A1/en>
19. Compendium of botanicals reported to contain naturally occurring substances of possible concern for human health when used in food and food supplements. *EFSA Journal*. 2012;10(5):2663. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2663>

Сведения об авторе

✉ **Тимофеев Николай Петрович**, кандидат биол. наук, заведующий лабораторией интродукции и биосинтеза экдистероидов, Крестьянское хозяйство БИО (Научно-производственное предприятие), Ленина пр-кт, д. 47а, г. Коряжма, Российская Федерация, 165650, e-mail: sciens@leuzea.ru,
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4565-7260>

Information about the author

✉ **Nikolay Timofeev**, PhD in Biology, Head of the Laboratory of Introduction and Biosynthesis of Ecdysteroids, Scientific-Production Enterprise Farm "BIO", Lenin Avenue, 47a, Koryazhma, Russian Federation, 165650, e-mail: sciens@leuzea.ru, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4565-7260>

✉ – Для контактов / Corresponding author