

МЕТОДОЛОГИЯ ИЗУЧЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ЭКДИСТЕРОИДОВ В МИРОВОЙ ФЛОРЕ. ПЕРВИЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СКРИНИНГА ФЛОРЫ ВЬЕТНАМА

ВОЛОДИН В. В.⁽¹⁾, ВОЛОДИНА С. О.⁽¹⁾, ВУ ТХИ ЛОАН⁽²⁾,
ВО ТХИ ХОАЙ ТХУ⁽²⁾, ФАМ ХАК ЛИНЬ⁽²⁾

Изученность мировой флоры на содержание фитозкдистероидов. Обоснование методологии исследований.

На протяжении последних двадцати лет в лаборатории биохимии и биотехнологии Института биологии Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар, Россия) исследуются фитозкдистероиды - растительные аналоги гормонов линьки и метаморфоза насекомых, представляющие собой полигидроксильированные стеринны. Обнаружение целого спектра полезных фармакологических свойств при отсутствии токсичности и гормонального действия у млекопитающих открыли перспективу использования фитозкдистероидов в медицине [5, 9, 16, 20].

Впервые фитозкдистероиды были обнаружены в листьях ногоплодника *Podocarpus nakai* Hayata японским исследователем К. Наканиси во время его этно-ботанической экспедиции на о. Тайвань в 1966 г. [17]. Из листьев этого растения, которое местные жители использовали в качестве противоопухолевого средства, было выделено соединение понастерон А, обладающее активностью гормона линьки насекомых и отличающееся от экдизона (гормона линьки) лишь положением в молекуле одной гидроксильной группы. Вслед за этим открытием из другого австралийского вида *Podocarpus elatus* был выделен 20-гидроксиэкдизон, который оказался идентичным истинному гормону линьки, к тому времени недавно выделенному из ракообразных [14]. К настоящему времени из растительных источников идентифицировано около 300 структурно модифицированных экдистероидов, для которых характерны следующие общие элементы структуры: цис-сочленение колец А и В, 7-ен-6-оновую группировку и 14 α -гидроксильную группу [2]. Согласно результатам интенсивных исследований растений на содержание экдистероидов, проведенных в 70-е годы XX века, считалось, что экдистероиды характерны, главным образом, для папоротников и голосеменных, а у цветковых растений они встречаются реже [7]. Например, активность гормона линьки насекомых была обнаружена в экстрактах 24 видов папоротников из 64 исследованных и 73 видов голосемянных флоры Новой Зеландии [22, 23]. На основании этих данных, а также сведений о том, что папоротники и голосемянные практически не подвергаются нападению насекомых, ранее высказывалось предположение, что экдистероиды обуславливают защитный механизм устойчивости именно папоротников и

голосеменных по отношению к фитофагам. Считалось, что у покрытосеменных растений аналогичную функцию пищевых детерпентов выполняют алкалоиды, дубильные вещества и другие соединения [7]. Однако результаты последующих исследований показали, что экистероиды также широко распространены и среди цветковых растений [2]. Наибольшее число экистероидсодержащих видов обнаружено в семействах *Amaranthaceae* (23 вида, принадлежащих 9 родам), *Asteraceae* (23 вида, в основном принадлежащие родам *Rhaponticum* и *Serratula* из трибы *Cardueae*), *Caryophyllaceae* (34 вида, в основном из родов *Silene* и *Lychnis*), *Chenopodiaceae* (13 видов из 8 родов), *Lamiaceae* (14 видов, причем 13 - из рода *Ajuga*), *Ranunculaceae* (30 видов, из которых 11 видов рода *Helleborus* характеризуются повышенным содержанием экистероидов, а остальные 19 из родов *Anemone* и *Pulsatilla* содержат следовые количества экистероидов) [5].

К рубежу XX и XXI веков экистероиды были обнаружены у растений, принадлежащих к более, чем 100 семействам из отделов *Polypodiophyta*, *Rynophyta* и *Magnoliophyta* [2]. Экистероидоподобные соединения были обнаружены в красной водоросли *Laurensia pinnata* и грибе *Paxillus panuoides* [13, 24], а из гриба *Polyporus umbellatus* были выделены истинные экистероиды [18]. На данном этапе обобщения данных превалировало мнение, что не существует связи между распространением экистероидов и филогенетической классификаций растений. Экистероидсодержащие виды оказывались в таксонах как в филогенетически близких, так и далеко отстоящих друг от друга, что порождало гипотезу о том, что способность к биосинтезу экистероидов возникла (или возникала неоднократно) уже на ранних стадиях эволюции растений [2].

В ранних обзорах по распространению экистероидов в растительном мире можно привести ряд примеров, в которых утверждается отсутствие четких закономерностей и на внутрисемейственном уровне. Например, в обзоре [1] говорится о семействах *Lamiaceae* и *Ranunculaceae*, содержащих только по одному экистероидсодержащему роду, соответственно *Ajuga* и *Helleborus*; причем в роде *Helleborus* упоминался единственный экистероидсодержащий вид *H. niger*. В семействе *Caryophyllaceae* упоминаются рода, как экистероидсодержащие (*Lychnis* и *Silene*), так и не содержащие этих соединений (*Cucubalus*, *Dianthus*, *Saponaria*). Однако в последующие годы род *Helleborus* был дополнен десятью экистероидсодержащими видами [15]. Исследования флоры Горного Алтая внесли достаточную ясность в распределение экистероидсодержащих видов в семействе *Caryophyllaceae*: экистероидсодержащие роды *Lychnis* и *Silene* принадлежат одной трибе *Lychnideae*, в двух других исследованных трибах *Alsineae* и *Diantheae* экистероидсодержащих родов и видов не было обнаружено [3]. Тенденция

концентрирования экистероидсодержащих видов в определенных родах и трибах оказалась характерна для семейства Chenopodiaceae [11, 12]. Значительные количества экистероидов были обнаружены у представителей триб Chenopodieae и Atripliceae. Представители триб Camphorosmeae и Corispermaceae содержат относительно низкие количества экистероидов, а в трибе Salicornieae экистероидсодержащих видов не было обнаружено. Оказалось, что в трибе Beteae два вида из секции Procumbentes рода *Beta* содержат экистероиды, а остальные являются экистероидотрицательными. Для спорного в систематическом плане рода *Beta*, обнаружение экистероидов в видах *B. patellaris* и *B. webbiana* послужили дополнительными биохимическими признаками для выделения их вместе с видом *B. procumbens* в отдельный род *Patellifolia* от остальных представителей рода *Beta* [28]. Применение ранга трибы при анализе известных данных о распространении экистероидов в семействе Amaranthaceae показало, что большинство известных экистероидсодержащих видов принадлежат шести родам из трибы Amarantheae [5].

В некоторых случаях ранг таксона, объединяющий экистероидсодержащие виды, может несколько меняться в зависимости от объема того или иного семейства. В случае крупных семейств ранг таксона, объединяющий экистероидсодержащие виды, может понижаться до подтрибы, а в небольших по объемам семействах или в семействах, содержащих систематически обособленные группы, этот ранг может повышаться до подсемейства. Например, как будет показано ниже, в семействе Asteraceae из шести исследованных триб экистероиды были обнаружены только у представителей подтрибы Centaureinae (триба Cardueae). Упомянутый нами род *Helleborus* считается настолько обособленным в семействе Ranunculaceae, что выделяется в отдельное подсемейство [4]. На основании анализа достаточно большого списка литературных данных авторами был сделан предварительный вывод о том, что в большинстве же семейств рангом таксона, объединяющим экистероидсодержащие виды в семействах отдела цветковых растений, является триба [5]. Следует отметить, что выявленная тенденция встречаемости экистероидсодержащих растений в определенных трибах не носит абсолютный характер, поскольку в пределах «положительных» родов наряду с видами с очень высоким содержанием экистероидов действительно могут присутствовать виды, вообще не содержащие этих соединений. Можно объяснить отклонения от этой закономерности следующими факторами: 1) несовершенством традиционных систем классификации растений, основанных на морфолого-анатомических признаках, с одной стороны, и некоторой «условностью» ранга триб в целом, с другой стороны; 2) различной чувствительностью методов анализа, использованных в разные годы разными исследователями; 3) возможностью утраты некоторыми видами в пределах «положительных» триб и родов способности к биосинтезу экистероидов в ходе эволюции.

Таким образом, анализ литературы о распространении экдистероидов в растительном мире свидетельствует о том, что фитоэkdистероиды присущи многим видам папоротникообразных, голосеменных и покрытосеменных растений, а также некоторым группам водорослей и грибов. Между видами-продуцентами фитоэkdистероидов не прослеживаются дальние филогенетические связи, однако на внутрисемейственном уровне признак «эkdистероидности» проявляется как тенденция в определенных трибах. Понимание упомянутых выше причин гетерогенности «положительных» триб позволило пересмотреть представления о закономерностях распространения фитоэkdистероидов среди растений и разработать научно обоснованный алгоритм поиска эkdистероидсодержащих видов.

Приступая к работе по выявлению закономерностей распространения эkdистероидов в мировой флоре, потребовалось разработать методологию скрининга растений: какие виды растений привлекать для анализа прежде всего, и какими методами проводить этот анализ? Предполагалось, что скрининг будет проводиться в соответствии с принципом «положительных» триб, т.е. при обнаружении эkdистероидов в каком-либо виде растений для анализа в первую очередь должны были привлекаться виды из соответствующего рода и трибы, к которым относится данный эkdистероидсодержащий вид. Более точный прогноз обнаружения эkdистероидсодержащих видов оказался возможным при применении молекулярно-филогенетического анализа [26].

Благодаря сотрудничеству с доктором Лоуренсом Дайнаном из Эксетерского университета в Великобритании оказалось возможным использовать поставленные в его лаборатории чувствительные и экспрессные методы анализа эkdистероидов: биотест на культуре клеток ВП *Drosophila melanogaster* и радиоиммунный анализ [21, 25]. Суть биотеста заключается в том, что у этих клеток имеются рецепторы эkdистероидов, и в присутствии гормонов линьки или их агонистов число клеток на единицу объема начинает возрастать по сравнению с контролем. По увлечению плотности клеток, которую можно измерить турбидиметрически, можно судить о наличии эkdистероидов в среде. Порог чувствительности биотеста - $4 \div 5$ мкг/г. [10, 11], радиоиммунный анализ позволяет улавливать следовые количества эkdистероидов, начиная с 0,1 мкг/г.

Однако возник еще один вопрос, как формировать нужную по объему и видовому составу выборку образцов для анализа? В этих целях можно было бы, например, получать семена растений по делектусам из различных ботанических садов мира. Альтернативой такой поставке исследований мог бы

стать систематический скрининг растений региональных флор. Именно этот подход ученые Института биологии Коми НЦ УрО РАН сочли более перспективным, поскольку по своему определению региональные флоры являются комплексами дикорастущих и натурализованных видов, исторически сложившихся на данных территориях. Эти исследования позволили бы выявить связи между распространением экдистероидов и систематической и географической структурами флоры, а также с комплексом действующих на этих территориях экологических факторов. Для понимания эволюции вторичного обмена и функций экдистероидов в растениях, на их взгляд, еще большую научную значимость представили бы сравнительные данные о распространении экдистероидов в географически удаленных флорах.

Разработанная учеными Института биологии Коми НЦ УрО РАН методология скрининга растений на содержание экдистероидов была применена для выявления закономерностей распространения экдистероидов во флоре европейского северо-востока России. Детальные результаты скрининга опубликованы ранее [5, 25]. В контексте этого обзора приводились наиболее важные данные и закономерности. Всего было проанализировано 411 видов из 308 родов, принадлежащих 82 семействам изучаемой флоры. Большая часть из них (381 вид) представляла случайную выборку видов, произрастающих на территории флоры. Другая часть образцов (30 видов) была отобрана из «положительных» триб, в которых ожидалась высокая вероятность обнаружения экдистероидов. В случайной выборке биотест дал положительный результат для 16 образцов из 381 вида (примерно 4%). В то же время среди видов, отобранных на основании хемотаксономического прогноза, экдистероиды были обнаружены у 40% видов (в 13-ти из 30-ти изученных). Содержание экдистероидов в различных видах растений колеблется в широких пределах: от 0,1 до 10^4 мкг/г. Среди них только небольшое число видов накапливает умеренные ($10 \div 10^2$ мкг/г) и высокие ($10^2 \div 10^4$ мкг/г) концентрации экдистероидов, значимые в биотесте и, по-видимому, выполняющие в растениях функцию защиты против насекомых-фитофагов (экологическая функция). Однако, следовые количества экдистероидов ($0,1 \div 0,5$ мкг/г) были неожиданно обнаружены с помощью РИА в образцах исследованных видов (около 40% от числа изученных видов), не зависимо от их систематического положения. Хотя вопрос о назначении следовых количеств экдистероидов в растениях ($0,1 \div 4$ мкг/г), обнаруживаемых с помощью радиоиммунного анализа, пока остается нерешенным, появление положительного ответа в биотесте на культурах клеток дрозофилы можно считать критерием выявления видов, у которых экдистероиды играют экорегуляторную роль. Ведь именно приблизительно в этом интервале концентраций по полученным и

литературным данным начинает проявляться и детеррентный (антифидантный) эффект экдистероидов в отношении неадаптированных видов насекомых-фитофагов. Например, личинки *Pieris brassicae* и *Mamestra brassicae* отторгают пищу, в которой содержится всего 5÷60 ppm 20-гидроксиэкдизона [8]. Результаты исследований также показали многообразные эффекты фитоэкдистероидов на насекомых фитофагов, зависящие от природы экдистероида, действующей концентрации, вида насекомого и стадии его развития. При этом следует учитывать и тот факт, что в процессе эволюции некоторые виды насекомых-фитофагов приобрели специальный механизм детоксикации экдистероидов и способны питаться на растениях с высоким содержанием этих веществ [6].

Во флоре европейского северо-востока России наибольшее число видов растений с экологически значимой концентрацией экдистероидов, давших положительный ответ в биотесте на культуре клеток дрозофилы, обнаружено в семействах Asteraceae (роды *Rhaponticum*, *Serratula* и *Acroptilon*), Caryophyllaceae (роды *Silene*, *Lychnis*, *Coccyanthe*, всего восемь видов), Amaranthaceae (род *Amaranthus*) и Chenopodiaceae (роды *Chenopodium*, *Atriplex*, *Axyris* и *Kochia*). Анализ ареалов видов-продуцентов экдистероидов позволил выявить принадлежность значительного числа видов к южным и полизональным широтным группам, что свидетельствует о существовании эколого-географического фактора, определяющего распространение экдистероидов в мировой флоре.

На примере этих многолетних исследований было обосновано использование комплексных флористических и молекулярно-филогенетических подходов для выявления закономерностей распространения фитоэкдистероидов в связи с систематической и флористической структурой изучаемой флоры, а также предложен алгоритм составления хемотаксономического прогноза обнаружения фитоэкдистероидов, который может быть использован для поиска экдистероидсодержащих растений в ранее неизученных региональных флорах. Например, интерес представляют такие регионы, как Северный Кавказ, Закавказье, Средняя и Юго-Восточная Азия. Во флорах Кавказа и Средней Азии имеется большое число видов из подтрибы Centaurineae (сем. Asteraceae) и видов трибы Lychnideae сем. Caryophyllaceae, вероятность обнаружения экдистероидов в которых очень высока. Весьма высокой является вероятность обнаружения экдистероидов в сем. Amaranthaceae, Acanthaceae, Araceae, Aquifoliaceae, Anacardiaceae, Fagaceae, Capparaceae, Convolvulaceae, Malvaceae, Podocarpaceae, Simaroubaceae, Verbenaceae и некоторых других таксонах флоры Вьетнама [26, 27].

Первичные результаты скрининга флоры Вьетнама на содержание экдистероидов.

В 2015 г. учеными Института биологии Коми НЦ УрО РАН и Тропического центра организованы исследования флоры Северного Вьетнама и получены следующие наиболее важные результаты:

1. На основании принципов хемосистематики и молекулярной филогенетики, отражающих выявленные ранее закономерности о распространении экдистероидов в растениях мировой флоры разработан прогноз обнаружения экдистероидов во флоре Северного Вьетнама. Наиболее вероятно было обнаружение экдистероидов в представителях определенных родов и триб в семействах *Amaranthaceae*, *Acanthaceae*, *Araceae*, *Aquifoliaceae*, *Anacardiaceae*, *Fagaceae*, *Capparaceae*, *Convolvulaceae*, *Malvaceae*, *Podocarpaceae*, *Simaroubaceae*, *Verbenaceae* и некоторых других таксонах.

2. В мае и октябре 2015 г. проведен экспедиционный выезд в Национальный парк «Кук Фуонг» (Северный Вьетнам). Образцы растений отбирались для создания гербария в целях уточнения систематического положения видов и для биомассы, необходимой для хроматографического, иммуно-ферментного и молекулярно-генетического анализов. Для анализов отбирались различные части растений (листья, стебли, подземная часть, семена - для травянистых растений; листья и, по возможности, кора и плоды - для древесных растений). Всего собрано образцов 51 вида растений из вышеперечисленных семейств.

3. Проведен хроматографический анализ образцов выборочных видов растений, в которых обнаружение экдистероидов на основании прогноза было наиболее вероятным. По предварительным оценкам в качестве ресурсных видов растений для получения очищенных экдистероидсодержащих субстанций, галеновых и новогаленовых препаратов могут служить травянистые растения *Cyathula prostrata* и *Achyranthes bidentate* (сем. *Amaranthaceae*), а также древесные растения рода *Vitex* (сем. *Verbenaceae*), максимальное количество экдистероидов обнаружено в коре деревьев. Высокое содержание экдистероидов обнаружено также в листьях кустарников рода *Sida* (сем. *Malvaceae*) (см. таблицу).

Таблица 1. Содержание экистероидов в выборочных видах растений флоры Северного Вьетнама

N п/п	Семейство/вид	Орган растения	Содержание 20-гидрокси- экидизона, % мас.	Примечание
1	Amaranthaceae <i>Achyranthes bidentata</i>	Соцветия	0,17	перспективно
2	<i>Cyathula prostrata</i>	Листья	0,18	
		Соцветия	0,36	
3	Malvaceae <i>Sida acuta</i>	Листья	0,81	перспективно
4	<i>Sida rhombifolia</i>	Побеги	0,19	
		Корень	0,11	
		Листья	0,40	
5	Verbenaceae <i>Vitex quinata</i>	Кора Листья	1,98 0,20	перспективно
6	<i>Vitex leptobotrys</i>	Листья Побеги	0,33 0,48	Требуется дальнейшего изучения

4. Разработана схема выделения очищенной экистероидной субстанции и обогащенного экистероидами и полифенолами экстракта из биомассы растений *Cyathula prostrata*. Схема включает первичную экстракцию метанолом, сгущение и высушивание экстракта, приготовление хроматографической насадки, колоночную хроматографию на оксиде алюминия (ступенчатый градиент хлороформ-метанол), перекристаллизацию очищенного продукта в системе этилацетат-метанол 9:1.

Обсуждение результатов

Ранее в Институте биологии Коми НЦ УрО РАН с использованием современных методов хемотаксономии и молекулярной филогенетики, а также современных методик анализа растительного материала на содержание фитоэкистероидов удалось доказать существование филогенетических связей между видами-продуцентами на уровне определенных клад внутри некоторых семейств сосудистых растений, провести анализ ареалов экистероидсодержащих видов и создать научно обоснованный прогноз обнаружения фитоэкистероидов во флоре Вьетнама, насчитывающей более 8 тысяч видов сосудистых растений. Без предварительной разработки вышеуказанной методологии скрининга растений этого региона, характеризующегося исключительно большим видовым разнообразием, проведение полноценного скринингового исследования было бы

затруднительным. В основу методологии скрининга растений на содержание экистероидов был положен принцип «положительных» триб (или клад, если использовались данные молекулярно-филогенетического анализа), требования к отбору растительного материала и выбору методов обнаружения экистероидов. Молекулярно-филогенетический анализ семейств, в которых обнаружение экистероидов было наиболее вероятно, проводили на основании данных GenBank (международный Банк последовательностей ДНК) и данных секвенирования собственных собранных образцов. При обнаружении экистероидов в каком-либо виде, скринингу подвергали представителей триб (или клад), которым данный вид принадлежит. Для анализа отбирали различные части растений, при этом преимущественно анализировали молодые листья растений в фазу бутонизации и цветения, корни растений в конце вегетации, а также семена, в которых, как правило, аккумулируется повышенное количество экистероидов. Для проведения молекулярно-филогенетического и биохимического анализа требуется не более 200 мг растительного материала [26]. При составлении прогнозного списка учитывали и сведения об использовании растений изучаемых семейств в народной медицине Вьетнама в качестве общеукрепляющих, иммуностимулирующих и сахароснижающих средств, что характерно для экистероидов.

Проведенные исследования свидетельствуют о применимости разработанной методологии в отношении проведения широкого скрининга растений флоры Вьетнама на содержание экистероидов. Так, например, из 2000 видов сосудистых растений Национального парка «Кук Фуонг» в список потенциальных продуцентов вошел 51 вид растений, из них повышенное содержание экистероидов было обнаружено в 6 видах. В качестве ресурсных видов рекомендовано 2 вида, из них травянистое растение *Cyathula prostrata* с содержанием экистероидов в надземной части 0,2%; другое - древесном растении *Vitex quinata*, в коре которого содержание экистероидов достигает 2%.

Перспективы дальнейших исследований. Полученные результаты позволяют продолжить исследования в 2016 г. в следующих направлениях: 1) продолжить широкий скрининг флоры Вьетнама и исследовать растения Среднего и Южного Вьетнама, преимущественно в семействах Verbenaceae (род *Vitex*) и Commelinaceae (род *Cyanotis*); 2) провести углубленные ресурсоведческие и биохимические исследования растений *Cyathula prostrata*; 3) оценить пригодность коры дерева *Vitex quinata* для технологической переработки с целью получения обогащенных экстрактов и очищенных субстанций экистероидов; 4) разработать способ микроклонального размножения *Vitex quinata*, оценить возможность создания искусственных плантаций деревьев этого вида в качестве сырья для фармацевтической промышленности.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Программы президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» по теме: «Ресурсы экистероидсодержащих растений флоры Вьетнама и изучение адаптогенного действия биологически активных добавок, содержащих фитоекистероиды, на работоспособность лиц, испытывающих высокую физическую и психическую нагрузку» (15-12-4-59), НИР «Технологии «живых систем» на основе высших растений, культивируемых растительных клеток, микроорганизмов и ферментов для получения биомедицинских препаратов, биотоплива и защиты окружающей среды» (номер гос. регистрации 115021210021) и Программы НИР на 2016г. Тропцентра по теме Эколан М-4.1 «Биологически активные вещества тропических растений и микроорганизмов».

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ахрем А. А., Левина И. С., Титов Ю. А., *Экизоны - стероидные гормоны насекомых*, Минск: Наука и техника, 1973, 232 с.
2. Лафон Р., *Фитоекистероиды и мировая флора: разнообразие, распределение и эволюция*, Физиология растений, 1998, 45:326-346.
3. Ревина Т. А., Ревушкин А. С., Ракитин А. В., *Экистероидсодержащие виды во флоре Горного Алтая*, Раст. ресурсы, 1988, **24**(4):565-570.
4. Тахтаджян А. Л., *Система магнолиофитов*, Л.: Наука, 1987, 438 с.
5. Фитоекистероиды, Под ред. В.В. Володина. Санкт-Петербург: Наука, 2003, 293 с.
6. Уфимцев К. Г., Ширшова Т. И., Володин В. В., *Фитоекистероиды-детерпенты насекомых-фитофагов*, Ин-т биологии Коми НЦ УрО РАН. - Екатеринбург: УрО РАН, 2009, 91 с.
7. Харборн Д., *Введение в экологическую биохимию*, М.: Мир, 1985, 176 с.
8. Bergamasco R., Horn D. H. S., *Distribution and role of insect hormones in plants*, Invertebrate endocrinology. Vol. 1. Endocrinology of insects, Eds. R.G.H. Downer, H.N.Y. Laufer, A.R. Liss. New York, 1983, p. 627-654.
9. Brittany L. Graf, Alexander Poulev, Peter Kuhn et al., *Quinoa seeds leach phytoecdysteroids and other compounds with anti-diabetic properties*, Food Chemistry, 2014, **163**:178-185.
10. Clement C., Dinan L., *Development of a bioassay for ecdysteroid-like and antiecdysteroid activities in plants*, Insect chemistry. ecology, Ed. I. Hrdy. Prague: Academia, 1991, p.221-226.
11. Dinan L., *Distribution and levels of phytoecdysteroids within individual plants of species of the Chenopodiaceae*, Eur. J. Entomol., 1995, **92**:295-300.

12. Dinan L., Whiting P., Scott A., *Taxonomic distribution of phytoecdysteroids in seeds of members of the Chenopodiaceae*, Biochem. Systematic. Ecol., 1998, **26**:553-576.
13. Fukuzawa A., Kumagai Y., Masamune T. et al., *Acetyl-pinnasterol and pinnasterol, ecdysone-like metabolites from the marine red algae Laurencia pinnata*, Tetrahedron, 1981, **22**:4085-4086.
14. Gilbraith M. N., Horn D. H. S., *An insect-moulting hormone from a plant*, J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1966, p.905-906.
15. Hardman R., Benjamin T. V., *The Co-occurrence of ecdysones with bufadienolides and steroidal saponins in the genus Helleborus*, Phytochem., 1976, №15, p.1515-1516.
16. Lafont R., Dinan L., *Practical uses for ecdysteroids in mammals and human: an update*, Insect. Sci., 2003, **3**(7):1- 30.
17. Nakanishi K., Koreeda M., Sasaki S. et al., *The structure of ponasteron A an insect moulting hormone from the leaves of Podocarpus nakaii Hay*, Chem. Commun., 1966, p.915-917.
18. Ohsawa T., Yukawa M., Takao C. et al., *Studies on constituents of fruit body of Polyporus umbellatus and their cytotoxic activity*, Chem. Pharm. Bull., 1992, **40**:143-147.
19. Dinan L., Harmatha Ju., Volodin V., Lafont R., *Phytoecdysteroids: diversity, biosynthesis and distribution in Ecdysone: structure and functions*, Ed. G. Smagghe. - Springer, 2009, p.3-45.
20. Raskosha O. V., Bashlykova L. A., Ermakova O. V., *Biological effects of phytoecdysteroids and chronic low-dose irradiation*, Radiats Biol Radioecol, 2010 Jul-Aug, **50**(4):434-442.
21. Reum L., Koolman J., *Radioimmunoassay of ecdysteroids*, Ecdysone. From chemistry to mode of action, Ed. J. Koolman. Stuttgart-New York: Thieme Med. Publ., 1989, p.131-143.
22. Russell G. B., Fenemore P. G., *Insect moulting activity of some New Zealand gymnosperms*, New Zealand J. Sci., 1970, №13, p.61-63.
23. Russell G. B., Fenemore P. G., *Insect moulting hormone activity in some New Zealand ferns*, New Zealand J. Sci., 1971, №14, p.31-54.
24. Vokač K., Budesinsky H., Harmatha J., *Ecdysteroids from the mushroom Tapinella panuoides (syn. Paxillus panuoides)*, XI Ecdysone Workshop: Programme and Abstracts. Ceske Budejovice, 1994, p.119.
25. Volodin V., Chadin I., Whiting P., Dinan L., *Screening plants of European North-East Russia for Ecdysteroids*, Biochem. Systematic. Ecol., 2002, **30**:525-578.
26. Volodin V. V. и др., *Floristic and molecular phylogenetic analysis of the distribution of phytoecdysteroids among plants of North-East Russia (Asteraceae and Caryophyllaceae)*, Volodin V. V., Volodina S. O., Biology and Medicine., 2015, **7**(1):1-23.

27. Wang Q. H., Yang L., et al., *Three new phytoecdysteroids containing a furan ring from the roots of Achyranthes bidentata Bl.*, Molecules. 2011 Jul 18, **16**(7): 5989-5997.
28. Williams J., Scott, Ford-Lloyd B., *Patellaria: a new genus in the Chenopodiaceae*, Feddes repertorium, 1976, **87**:289-292.

TÓM TẮT

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU SỰ PHÂN BỐ CỦA ECDYSTEROID TRONG THỰC VẬT THỂ GIỚI. KẾT QUẢ SÀNG LỌC BAN ĐẦU VỀ ECDYSTEROID TRONG THỰC VẬT VIỆT NAM

Kết quả nghiên cứu đã ghi nhận cho thấy ecdysteroid phân bố trong nấm, thảo và có mặt rộng rãi trong thực vật hạt kín, tập trung ở các họ như *Amaranthaceae*, *Asteraceae*, *Caryophyllaceae*, *Chenopodiaceae*, *Lamiaceae*, *Ranunculaceae*. Cho đến nay đã có gần 300 hợp chất ecdysteroid được phân lập từ thực vật.

Khi nghiên cứu quy luật phân bố của ecdysteroid trong thể giới thực vật Volodin V.V. và cộng sự đã sử dụng các phương pháp như phân tích nguồn gốc phát sinh loài, test trên tế bào ruồi giấm BII *Drosophila melanogaster* (độ nhạy 4÷5 µg/g), miễn dịch phóng xạ (giới hạn xác định từ 0,1 µg/g). Kết quả phân tích số lượng lớn các loài thực vật ở vùng Đông Bắc Châu Âu nước Nga cho thấy hàm lượng ecdysteroid dao động trong khoảng rộng từ 0,1 đến 10⁴ µg/g.

Việt Nam nằm trong khu vực có hệ sinh thái đa dạng và phong phú, nhất là hệ thực vật nhiệt đới. Dựa vào các tài liệu nghiên cứu đã công bố và quy trình nghiên cứu ecdysteroid của các nhà khoa học Viện Sinh học Komi, Liên bang Nga, nhóm tác giả đã tiến hành khảo sát và thu mẫu thực địa được 51 loài trong số hơn 2000 loài trong danh mục thực vật của Vườn quốc gia Cúc Phương. Kết quả phân tích bước đầu phát hiện thấy 6 loài chứa ecdysteroid (chiếm 11,7% tổng số loài) với hàm lượng ecdysteroid dao động từ 0,2% (phần trên mặt đất của *Cyathula prostrata*) đến gần 2% trọng lượng khô (vỏ *Vitex quinata*). Hai loài trên được khuyến nghị nghiên cứu sâu hơn nhằm mục đích tạo nguyên liệu sản xuất chế phẩm chứa ecdysteroid có tác dụng adaptogen. Các nghiên cứu tương tự sẽ tiếp tục triển khai trên khu hệ thực vật miền Trung, miền Nam Việt Nam, hướng tập trung chủ yếu vào các chi *Vitex* (họ *Verbenaceae*) và *Cyanotis* (họ *Commelinaceae*).

Ключевые слова: экдистероид, 20-гидроксиэкдизон, флора Вьетнама, *Vitex quinata*.

Nhận bài ngày 04 tháng 11 năm 2016

Hoàn thiện ngày 16 tháng 11 năm 2016

⁽¹⁾ *Институт биологии Коми НЦ УрО РАН*

⁽²⁾ *Российско-Вьетнамский научно-исследовательский и технологический тропический центр*