

ОПЫТ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛЕВЗЕИ САФЛОРОВИДНОЙ *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Piiin В КАЧЕСТВЕ РЕСУРСНОГО ИСТОЧНИКА ЭКДИСТЕРОНА В УСЛОВИЯХ АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

Н.П. ТИМОФЕЕВ✉

Мировой рынок экдистерон-содержащих субстанций на 2021 год оценивался в 100 млрд долларов, и в ближайшие 5 лет потребность в таких субстанциях будет значительно возрастать. Для получения экдистерон-содержащих продуктов фармацевтического качества в первую очередь подходят надземные и подземные части левзеи сафлоровидной *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Piiin. Общепринятые технологии культивирования и изучение *R. carthamoides* в России и за рубежом не связаны с качеством получаемого лекарственного сырья. В настоящей работе впервые реализован альтернативный способ получения экдистерон-содержащей субстанции из листового материала левзеи сафлоровидной *R. carthamoides*. Предлагаемая технология проста, масштабируема в условиях агропопуляций Европейского Севера и соответствует ключевым требованиям, которые предъявляются международными экспертами и специалистами к источникам промышленного получения экдистерона. Нашей целью было проанализировать 32-летний опыт культивирования левзеи сафлоровидной в условиях промышленно эксплуатируемой плантации, расположенной на Европейском Северо-Востоке России (Архангельская обл.), выявить потенциал долголетия и продуктивности агропопуляции *R. carthamoides* по возрастным периодам, изучить закономерности накопления экдистерона в ежегодно отчуждаемой надземной фитомассе, а также оценить качество получаемого растительного сырья по содержанию нормируемых веществ. Исследования выполняли на юго-востоке Архангельской области, в подзоне средней тайги (Котласский р-н; 61°20' с.ш., 47° в.д.), в агропопуляции *R. carthamoides* (единый участок площадью 1 га) в период с 1989 по 2022 годы. Семена были получены из Ботанического сада Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар). Исходное происхождение семян — Алтайская природная популяция; первичный сбор 1956 года. Посев с междурядьями 70 см, подземный (в середине октября после начала осенних заморозков). Норма высева семян — 2,7 кг/га при полевой всхожести 58 %; глубина заделки семян — 2-3 см. Минеральные удобрения (NPK₆₀₋₉₀) вносили только в первые 3 года после посева; далее культивирование в онтогенезе вели по типу органического земледелия (минеральные и органические удобрения, гербициды, химические средства защиты и регуляторы роста растений не применяли). Отчуждение урожая надземных частей было ежегодным одноразовым (в фазу бутонизации). Применяли комплекс популяционных, агрохимических, анатомо-морфологических, биохимических и статистических методов анализа. На уровне агропопуляции изучали возрастные состояния в онтогенезе, плотность (численность), валовую продукцию надземных и подземных органов, урожайность семян, на уровне растений — рост, развитие, морфологическую структуру, продуктивность различных органов (корни, листья, семена). Изъятие образцов проводили в оптимальные фазы развития растений: надземной фитомассы — в фазу бутонизации (I и II декада июня), корневищ — осенью после завершения вегетации (октябрь) или ранней весной до начала вегетации (апрель). В надземной части выделяли морфологически разнородные органы — укороченные вегетативные (розеточные) и стеблевые генеративные (репродуктивные) побеги с соцветиями. Промышленный сбор растительного сырья осуществляли в конце мая—начале июня, в фазу бутонизации. Растительный материал (органы, элементы и фракции) высушивали при переменной температуре от 23-25 до 35-40 °С и относительной влажности воздуха 25-40 % в соответствии с правилами по заготовке и сушке лекарственного сырья. Из воздушно-сухого сырья методом квартования формировали образцы для дальнейшего определения содержания первичных и вторичных метаболитов. Количественное содержание экдистерона в сухих образцах определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с компьютерной обработкой данных по методу внутреннего стандарта. Использовали жидкостный микроколоночный хроматограф Милихром-5 (колонка 80×2 мм, сорбент Nucleosil C18 с размером частиц 5 мкм) (ООО «Медикант», Россия). Также проводили химические анализы сухих образцов на содержание потенциально опасных веществ. Длительность онтогенеза агропопуляции была близка к параметрам природных популяций на субальпийских лугах и составляла свыше 30 лет без перехода в семенной возраст на 33-й год жизни, плотность растений достигала оптимальных значений 28-23 тыс. шт/га, начиная с 3-4-го года жизни. Вегетативная надземная масса и корни с корневищами не поражались болезнями и вредителями. Усредненная масса корней с корневищами в период с относительно устойчивым продуцированием фитомассы (с 5-го по 32-й год жизни) составляла 246,3 г/растение, надземных частей — 223,4 г/растение. Среднегодовая расчетная продуктивность надземной части агропопуляции за этот же период составила около 5300 кг/га, подземной — около 6100 кг/га. Вегетативный тип

размножения был наиболее ярко выражен для субсенильного возрастного состояния (с 13-го по 32-й год и далее), где затраты на продуцирование семян (1,3 кг/га) были крайне низкими. Семенной тип размножения был характерен для генеративного периода, начиная с 4-5-го года (8-30 кг/га) с пиком на 6-7-й годы (108 и 78 кг/га). В целом вклад генеративных побегов в величину фитомассы оказался незначителен на всем протяжении жизненного цикла. Биосинтез и накопление экдистерона были прямо связаны с вегетативным размножением: при анализе содержания экдистерона в розеточных побегах в зависимости от величины надземной массы коэффициент детерминации близок к 80 % ($R^2 = 0,768$). Более 90 % ежегодно синтезируемого экдистерона (22 кг/га) накапливалось в надземной части растений в оптимальный уборочный возраст (с 5-го по 32-й годы), или около 600 кг экдистерона за 27 лет эксплуатации. Качественные показатели лекарственного сырья из листового материала *R. carthamoides* были высокими и соответствовали требованиям для изготовления фармацевтических препаратов с относительной чистотой экдистерона 97 %. Растительное сырье соответствовало всем нормативным требованиям надзорных органов: в нем не накапливались элементы первого и второго класса опасности (тяжелые металлы Hg, Cd, As, Zn; Ni, Cu, Cr) выше фонового уровня, отсутствовали запрещенные хлор- и фосфорорганические соединения, содержание радионуклидов ^{90}Sr и ^{137}Cs и нитритов было ниже допустимой нормы. Из субстанций на основе листового материала *R. carthamoides* экдистерон хорошо экстрагировался в водные и спиртовые растворы и хорошо сохранялся в них без консервантов (на 93-98 % течение 1 сут). Применение кормовой добавки на основе этой субстанции в промышленном животноводстве приводило к значимому оздоровлению поголовья, анаболическому и экономическому эффектам.

Ключевые слова: фитоэкдистероиды, 20-гидроксиэкдизон, *Rhaponticum carthamoides*, левзея сафлоровидная, маралий корень, кормовые добавки, анаболические субстанции.

Левзея сафлоровидная *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Piin, 1933 — многолетнее растение семейства *Asteraceae* (р. *Rhaponticum*, подрод *Fornicium*) (1, 2), синтезирующее биологически активное вещество экдистерон (син.: 20-гидроксиэкдизон, 20E) из класса экдистероидов (ЭС). Это единственное экдистерон-содержащее растение-адаптоген (син.: *Leuzea carthamoides* DC; *Stemmacantha carthamoides*, рапонтikum сафлоровидный, маралова трава, маралий корень), включенное в официальную фармакопею Российской Федерации IX-XIV изданий (с 1961 года) (3), а также Республики Беларусь (4). Оно не токсично и не имеет противопоказаний при использовании (5). В фармакопее других стран Европы, Азии и Америки этот вид в настоящее время отсутствует (6, 7).

Основные фармакотерапевтические эффекты *R. carthamoides* — адаптогенный, анаболический, антистрессовый, антикоагулянтный, антиоксидантный, гемореологический, гипогликемический, ноотропный, эргогенный (5). В последние годы опубликована серия научных обзоров в связи с открывшимися возможностями и перспективами практического применения экдистерон-содержащих субстанций в различных областях: в официальной фармакологии и медицине для лечения сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и метаболических заболеваний (5, 8, 9); для защиты и восстановления при осложнениях коронавирусной инфекции (COVID-19) (10-12); для профилактики и адъювантной терапии злокачественных новообразований, в частности рака молочной железы (13-15); для предотвращения дегенеративных изменений в организме, связанных с длительным стрессом и старением человека (6, 16); для преодоления тяжелых физических и психических нагрузок у здорового человека, включая спорт высоких достижений, где экдистерон не относится к запрещенным средствам (17-21); как фитобиотическая и анаболическая субстанция в составе кормовых добавок для оздоровления сельскохозяйственных животных и значимого повышения их среднесуточного прироста и продуктивности (22-25). В этой связи интересен факт недавнего обнаружения в кровотоке у 20 видов птиц семейства *Passeridae* (Воробьиные) (*Aves: Passeriformes*) относительно высокого содержания экдистерона и его метаболитов, поступающих из семян дикоросов, что способствует защите от вредных факторов среды, а также высокой ско-

рости метаболических процессов роста и развития (26).

Мировой рынок экидистерон-содержащих субстанций на 2021 год оценивался в 100 млрд долларов и, согласно аналитическому отчету и прогнозу глобальной исследовательской и консалтинговой компании «Quince Market Insights» (Индия), в ближайшие 5 лет потребность будет значительно возрастать (27). Рынок препаратов экидистерона из-за резкого дефицита сырьевых ресурсов в значительной степени сфальсифицирован, поскольку не контролируется надзорными органами. Заявленные в продаже через Интернет-сети продукты с экидистероном не соответствуют стандартам качества и безопасности, а также маркировкам на этикетках (28, 29), в основном это экстракт из цианотиса паутинолистого (*Cyanotis arachnoidea* C.V. Clarke) из стран Азии, запрещенный к продаже из-за содержания токсических веществ, в частности канцерогенной аристолохиевой кислоты (30, 31).

Высокоочищенный выделенный экидистерон слишком дорог. Стоимость 10 мг экидистерона 93 % чистоты у такой известной глобальной компании, как «Sigma-Aldrich» (США) (32), на 15 мая 2022 года составляла 40 тыс. руб., а на 8 февраля 2023 года — 52 тыс. руб., или 4-5 млрд руб. за 1 кг, поэтому на практике предлагаются суррогаты. Проведенный анализ показал, что вместо указанных на этикетке 100-500 мг экидистерона в препаратах фактически в среднем содержится в 700 раз меньше — 0,09-4,2 мг на одну капсулу (или 0,38 % чистоты), разброс среди 9 препаратов составил 0,017-0,75 %. Это абсолютно не соответствует заявленным показателям концентрации 20Е 95-99 % чистоты (30). В июле 2021 года опубликованы новые данные: из 16 изученных спортивных добавок, закупленных в США, Канаде, Великобритании, России, Китае, только 5 содержали экидистерон, притом в мизерном количестве (от 0,00005 до 0,15 %). В 11 других препаратах экидистерон не обнаружен (31). Экидистерон не синтезируется в организме млекопитающих и не может быть синтезирован искусственно в промышленных масштабах (химическим, микробиологическим способами или в культуре клеток и тканей), поэтому его получают исключительно из растений, число которых на практике сильно ограничено (9, 33).

Ценность того или иного потенциального источника 20Е определяется его уникальностью, которая складывается из таких показателей, как концентрация экидистерона в биомассе, доступность, биологическая активность, целевое предназначение, экономическая целесообразность. Очевидно, что промышленный интерес представляют те виды, которые характеризуются повышенным содержанием целевых веществ, высокой продуктивностью, отсутствием токсичных примесей, устойчивостью и способностью к интродукции, а также к долголетнему произрастанию в условиях агроценоза (33).

Ключевые требования, которые предъявляются международными экспертами и специалистами к источникам промышленного получения экидистерона (9), следующие: растение должно накапливать не менее 0,5 % 20Е, иметь простой экидистероидный профиль, где не менее 95-97 % приходится на целевой высокоактивный компонент экидистерон (в идеале полное отсутствие минорных и слабоактивных компонентов), растворимый в воде и спирте, а очистка не должна требовать дорогостоящих хроматографических методов; вид должен быть не редким или не охраняемым, мало зависеть от климата и быть невосприимчивым к вредителям и болезням (то есть интродуцируемым и успешно культивироваться в агроценозе); затраты на культивирование, сбор урожая и переработку сырья должны быть минимальными, а первоначальная обработка урожая происходить недалеко от места выращивания (то есть это должны быть многолетние растения в аг-

ропопуляции, у которых сырьем служит ежегодно отчуждаемая надземная фитомасса).

Экдистерон относится к низкотоксичным веществам, не аккумулируется и быстро исчезает из организма после приема внутрь. ЛД₅₀ для экдистерона составляет 6,4 г/кг при внутривенном и 9,0 г/кг — при пероральном введении. Полупериод распада 20Е в организме невелик и зависит от дозы, способа введения, интенсивности абсорбции в кровь, вида подопытных животных. Например, для овец полупериод распада экдистерона равен 0,2 ч при внутривенном, 0,4 ч — при пероральном и 2,0 ч — при внутримышечном введении. Выделение из организма осуществляется через печень и желчь в кишечник и мочу. У крыс с высокой скоростью обмена веществ при внутривенном введении период полувывода составлял 8 мин. У человека пик содержания экдистерона в плазме крови при разовых дозировках 350-1400 мг наступает через 2-4 ч, после чего его количество начинает резко снижаться, и через 1 сут остаются только следы 20Е (9, 34).

В 2020 году безопасность очищенного до фармацевтической чистоты экдистерона (20-гидроксиэкдизон $\geq 97\%$), полученного из левзеи сафлоровидной, была исследована на грызунах и домашних собаках. Применяли высокие дозировки (до 1000 мг/кг ежедневно) в течение 180 сут для крыс и 270 сут 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 сут. Комплекс тестов Safety Pharmacology (поведение животных, ЦНС, функция дыхания, тест hERG и сердечная телеметрия) не выявил отклонений (10). Затем в 2021 году после завершения клинических испытаний препарат был зарегистрирован в США в качестве фармацевтического под коммерческим названием BIO101 от американо-французской компании «Biophytis» (идентификатор NCT03452488) для усиления роста мышц и ингибирования протеолиза (против ускоренного распада белка, при мышечной слабости, саркопении пожилых людей, дыхательной недостаточности грудных мышц) (9, 35).

Однако при использовании неочищенных экстрактов из растений, накапливающих экдистерон, нужно учитывать, что только в отношении некоторых из них доказана безопасность, например для *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjijn и *Serratula coronata* L. Большинство других видов токсичны в разной степени по причине накопления в их органах иных химических веществ. Согласно данным литературы, к сильно ядовитым растениям, синтезирующим экдистерон, относятся виды морозника (*Helleborus purpurascens* Waldst. & Kit., *H. caucasicus* A. Braun, *H. niger* L.), вороньего глаза (*Paris quadrifolia* L., *P. polyphylla* Sm., *P. incomplete* M. Bieb.), представители рода *Vitex* (*V. canescens* Kurz, *V. scabra* Wall. ex Schauer, *V. cymose* Bert. ex Spreng.), тисса (*Taxus baccata* Thunb, *T. cuspidate* Siebold & Zucc), а также коккулус сизый *Diploclisia glaucescens* (Blume) Diels, луносемянник даурский *Menispermum dauricum* DC., ипомея лепестковая *Ipomoea petaloidea* Choisy и вьюнок пурпурный *I. hederacea* Jacq. Менее токсичны представители папоротникообразных *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, *Polypodium vulgare* L., *P. lepidopteris* (Langsd. & Fisch.) Mart., видов смолевки *Silene* L., бразильского женьшеня *Pfaffia paniculata* (Mart.) Kuntze, *P. glomerata* (Spreng.) Pedersen, *P. iresinoides* Spreng., цианотиса *Cyanotis arachnoidea* C. B. Clarke, *C. vaga* (Lour.) Schult. & Schult. f. Относительной токсичностью характеризуются виды соломоцвета (*Achyranthes bidentata* Blume, *A. aspera* L.), представители лесных грибов — свинушка толстая *Paxillus atrotomentosa* (Batsch) и подземная *Tapinella panu-*

oides (Batsch) E.-J. Gilbert и китайский трутовик *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fr. (36, 37).

Растения, которые в настоящее время рассматриваются в странах Европы как лучшие источники экидистерона и заслуживают внимания для масштабного производства субстанций в достаточных количествах и по разумной цене, — это виды из родов *Achyranthes* (соломоцвет из сем. *Amaranthaceae*), *Cyanotis* (цианотис из сем. *Commelinaceae*), *Pfaffia* (сума из сем. *Amaranthaceae*), *Leuzea/Stemmacantha/Rhaponticum* (рапontiкум, или левзея, из сем. *Asteraceae*), *Serratula* (серпуха из сем. *Asteraceae*) (9). Согласно данным, представленным в ряде аналитических обзоров (6, 8, 10), среди указанных групп растений для получения экидистерон-содержащих составов фармацевтического качества в первую очередь подходят надземные и подземные части левзеи сафлоровидной (*R. carthamoides*).

Другие представители мировой флоры с адаптогенными свойствами и относительно высоким содержанием экидистерона — *Cyanotis arachnoidea* C.B. Clarke, *Cyanotis vaga* (Lour.) Schult. & Schult. f., *Achyranthes aspera* L., *Cyathula capitata* Moq., *Pfaffia paniculata* (Mart.) Kuntze, *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen — официально не разрешены и не могут продаваться в качестве пищевых или кормовых добавок из-за содержания запрещенных веществ, токсичности и генотоксичности (36). При сравнении эффективности биологически активных соединений из коммерчески доступных растений-адаптогенов — женьшеня обыкновенного *Panax ginseng* С.А.Меу, маки перуанской *Lepidium meyenii* Walp., левзеи сафлоровидной *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Ijijn, элеутерококка колючего *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. наибольший потенциал для расширенного использования на практике имел *R. carthamoides* (6).

Некоторые другие представители рода *Rhaponticum*, исторически происходящие из субальпийской зоны, также синтезируют экидистерон и его аналоги. Например, *Rhaponticum uniflorum* DC. встречается в Сибири, Китае и Монголии, *Rhaponticum scariosum* (Lam.) — в Альпах в Европе (2, 38, 39). Однако подобные перспективные виды еще только изучаются на примере единичных экземпляров и не относятся к культурам, которые возделываются в полевых условиях (40, 41).

Как подземные части левзеи с корневищами, так и надземные, а именно листья вегетативных (розеточных) побегов разрешено использовать в составе фармпрепаратов и пищевых добавок для человека (42), а также фитобиотиков для животных (35). Нормируемым действующим веществом и в листьях, и в корнях служит экидистерон — 0,1 %, или 1000 мг/кг, в расчете на сухое вещество (3, 4). По результатам сравнительных испытаний экстрактов из корней и листьев (вытяжка 1:10), проведенных в Институте мозга человека им. Н.П. Бехтерева РАН (г. Санкт-Петербург), листья розеточных побегов левзеи имели многократное преимущество перед подземными органами по комплексной активности — 66 баллов против 16 (43). Аналогичные результаты изложены в совместной работе британских и австрийских ученых (44).

Экидистерон после биосинтеза в корнях или листьях перераспределяется и концентрируется в молодых и развивающихся органах и тканях (растущие листья, апикальные части, почки и семена). Листья вегетативных побегов *R. carthamoides* по сравнению с корнями, как правило, значительно богаче экидистероном (содержание обычно от 0,25 до 0,5–0,7 %) (6, 36), при этом они ежегодно отрастают, представляя собой возобновляемое растительное сырье. Завершившие вегетацию многолетние корни выполняют прежде всего якорную функцию в почве, поэтому низкое содержание эки-

стерона в заготавливаемых осенью корнях левзеи объяснимо. Согласно публикациям из разных стран (СССР, Чехия, Узбекистан, Франция, Австрия), реальный выход экдистерона из 30-50-65 кг сухих корней с корневищами левзеи сафлоровидной составлял 0,013 % (45); 0,0153 % (46); 0,03 % (44); 0,036 % (47); 0,05 % (48); 0,075 % (49); 0,101 % (50).

Важно подчеркнуть, что в процессе хранения и переработки растительного сырья, загрязненного микроорганизмами, в частности подземных органов *R. carthamoides*, экдистерон может быстро разрушаться (9, 51). Например, в порошкообразной субстанции из корней с корневищами *R. carthamoides*, закупленной в аптечной сети трех крупных городов России и изученной в научной лаборатории, экдистерон не обнаружили (52). Выявленный факт соответствует информации, опубликованной ранее лабораторией аналитической химии (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова), о том, что содержание экдистерона в таблетках Левзеи-П (порошок корневищ с корнями левзеи, ООО «Парафарм», Россия) было следовым (0,040 мг/таблетка) (53).

Кроме того, в результате использования подземных частей плантация перестает существовать, заготовленное таким образом лекарственное сырье характеризуется низким качеством и быстро теряет экдистерон в процессе хранения, а сам технологический процесс экономически невыгоден производителю из-за высокой себестоимости. Следовательно, более перспективен сбор ежегодно отрастающей надземной фитомассы *R. carthamoides* с высоким содержанием экдистерона,

Действительно, в этнографических первоисточниках по Алтайско-Саянской горной области указывается, что местные охотники и вожди известных племен (Цэцэн-хан) использовали мараловую траву в виде порошка из листьев левзеи, но не из корней с корневищами (54). Практические сведения про особенности применения *R. carthamoides* этническими группами из малоизвестных и неизученных областей Центральной Азии, прежде всего из Северо-Западной Монголии, были зафиксированы русским путешественником и этнографом Г.Н. Потаниным в 1876-1870 годах в ходе экспедиций, организованных Императорским Русским географическим обществом.

Утверждение, что маралы (горные олени) выкапывают из-под снега корни *R. carthamoides* и питаются ими в период гона, не соответствует действительности. При проведении специальных исследований учеными Сибирского отделения РАН было установлено, что маралы поедают холодостойкие розеточные листья, которые остаются зелеными под рано выпадающим в горах снегом (55). Все иные представители животного мира на высокогорных пастбищах (лошади, коровы, овцы, олени) также поедают листья левзеи, но не корни, и иногда обрывают соцветия.

К сожалению, общепринятые технологии и изучение *R. carthamoides* в России и за рубежом не связаны с качеством получаемого лекарственного сырья. В опубликованных ранее монографиях авторы не исследовали биосинтез и накопление экдистерона и его аналогов (фитоэкдистероидов) в растительной продукции и тем более в условиях агропопуляций (55-57). Еще одна проблема заключается в том, что, несмотря на почти вековую историю культивирования (первые посевы *R. carthamoides* в СССР датируются 1926 годом), не удается обеспечить длительную хозяйственную эксплуатацию вида. Если на субальпийских лугах онтогенез *R. carthamoides* длится от 50-60 до 75-120 и более лет (55, 58), то в культуре он сокращается до 5-6 лет, а длительность хозяйственного использования обычно не превышает 3-4 лет (33).

В настоящей работе впервые реализована альтернативная техноло-

гия получения экидистерон-содержащей субстанции из листьев розеточных побегов левзеи сафлоровидной *R. carthamoides*. Предлагаемая технология проста и масштабируема в условиях агропопуляций Европейского Севера и удовлетворяет ключевым требованиям, которые предъявляются международными экспертами и специалистами к источникам промышленного получения экидистерона. В частности, вид может длительно (до 30 лет и более) и успешно культивироваться без пересева в агроценозе в условиях холодного и прохладного климата с повышенной влажностью, невосприимчив к болезням и вредителям, служит источником ежегодно возобновляемого лекарственного сырья; в растительном сырье накапливается большое количество экидистерона (0,4-0,6 %), сырье имеет простой экидистероидный профиль, где более 97 % приходится на экидистерон; субстанция удовлетворяет всем нормативным требованиям надзорных органов.

Нашей целью было проанализировать 32-летний опыт культивирования левзеи сафлоровидной в условиях промышленно эксплуатируемой плантации, расположенной на европейском северо-востоке России (Архангельская обл.), выявить потенциал долголетия и продуктивности агропопуляции *Rhaponticum carthamoides* по возрастным периодам, изучить закономерностей накопления экидистерона в ежегодно отчуждаемой наземной фитомассе, а также оценить качество получаемого растительного сырья по содержанию нормируемых веществ.

Методика. Исследования выполняли на юго-востоке Архангельской области, в подзоне средней тайги (Котласский р-н; 61°20' с.ш., 47° в.д.) в агропопуляции *R. carthamoides* (единый участок площадью 1 га) в период с 1989 по 2022 годы. Агропопуляцию семенного происхождения zaloжили в 1989 году. Семена были получены из Ботанического сада Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар). Исходное происхождение семян — алтайская природная популяция; первичный сбор от 1956 года, затем там же (ИБ Коми НЦ) были выполнены 3-4 репродукции с индивидуальным отбором и пересевом.

Предшественниками в севообороте были картофель, однолетние и зерновые культуры. Предпосевная обработка почвы включала вспашку на глубину 22-25 см, дискование и 2-кратную культивацию с одновременным боронованием. Перед посевом участок прикатывали гладкими водоналивными катками. Посев подзимний, с междурядьями 70 см, в середине октября после начала осенних заморозков, четырехрядной овощной навесной сеялкой СОН-2,8А (Россия). Норма высева семян — 2,7 кг/га при полевой всхожести 58 %, ширина междурядий — 70 см, глубина заделки семян — 2-3 см. Минеральные удобрения (НРК₆₀₋₉₀) вносили только в первые три года после посева; далее культивирование в онтогенезе вели по типу органического земледелия: минеральные и органические удобрения, химические средства защиты и регуляторы роста растений, гербициды не применяли. Отчуждение урожая розеточных листьев из наземной части проводили ежегодно однократно в фазу бутонизации; урожай семян собирали в фазу плодоношения.

Для определения комплекса агрохимических показателей почвы участка отбирали и исследовали образцы общепринятыми методами (ФГУ «Агрохимцентр Кировский», г. Киров).

Изучение возрастных состояний в онтогенезе растений и его периодизацию в жизненном цикле, плотность популяции (число растений на единице площади), валовую продукцию надземных и подземных органов, урожайность семян (с учетом фактической плотности агроценоза) проводили по методикам, изложенным в публикации, посвященной исследованию

других агропопуляций *R. carthamoides* в той же местности (59). Возрастные состояния учитывали по доминирующей группе особей. Выделяли виргинильный (прегенеративный), генеративный и постгенеративный периоды онтогенеза. В виргинильный период выделяли следующие возрастные состояния: проростки (p), ювенильные (j), имматурные (im) и взрослые вегетативные растения (v), в генеративном — молодые (g1), средневозрастные (g2) и старые генеративные растения (g3), а также субсенильное возрастное состояние (ss). Календарный (абсолютный) возраст популяций отсчитывался со времени появления всходов. Исходили из следующих критериев: молодое генеративное возрастное состояние — формирование репродуктивных побегов, слабое плодоношение, отсутствие процессов отмирания корневища; взрослое генеративное состояние — относительный максимум репродуктивных побегов, высокая интенсивность процессов роста и плодоношения, уравниваемость процессов новообразования и отмирания; старое генеративное состояние — резкое снижение доли репродуктивных побегов, ослабленный рост, неполноценность и периодичность плодоношения, преобладание процессов отмирания на ветвях корневища. В постгенеративный период субсенильное возрастное состояние различали по отсутствию генеративных побегов у большинства особей, резкому снижению качества плодоношения и ослабленной способности к формированию почек возобновления, партикуляции корневища (60).

В процессе фенологических наблюдений ежегодно отмечали следующие фазы: отрастание побегов, бутонизацию, начало цветения, массовое цветение, плодоношение, отмирание побегов, покой. Динамику роста учитывали, исходя из высоты наиболее развитых побегов растения, от уровня почвы до верхушки побега в выпрямленном виде. Ширину листовой пластинки измеряли в самом широком месте, распрямив лист.

Валовую продукцию популяций устанавливали с учетом надземной и подземной фитомассы в сухом виде, умноженной на фактическую плотность агроценоза в изучаемом возрасте. Плотность определяли с использованием метода учетных площадок размерами 60-80 м², закладываемых в 6-9 точках по диагонали поля. Семенное плодоношение оценивали методом учета всех плодоносящих соцветий в пределах исследуемого сообщества, исходя из выхода выполненных семян (%) и массы 1000 шт. (г).

Изъятие образцов проводили в оптимальные фазы развития растений: надземной фитомассы — в фазу бутонизации (I и II декада июня), корневищ — осенью после завершения вегетации (октябрь) или ранней весной до начала вегетации (апрель). 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 до 30-35 генеративных побегов. Промышленный сбор растительного сырья осуществляли в конце мая—начале июня, в фазу бутонизации, которая характеризуется максимальной концентрацией действующего вещества (экдистерона) в розеточных листьях вегетативных побегов (смесь фракций молодых и взрослых листьев). Растительный материал (органы, элементы и фракции) высушивали при переменной температуре от 23-25 до 35-40 °С 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 °С, составляла 10-12 %. Образцы из воздушно-сухого сырья для дальнейшего определения содержания первичных и вторичных

метаболитов формировали методом квартования. До анализа их хранили 3-5 мес в полиэтиленовых пакетах при комнатной температуре.

Количественное содержание экидистерона в сухих образцах определяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) с компьютерной обработкой данных по методу внутреннего стандарта (3). Анализы выполняли в лаборатории биохимии и биотехнологии растений (за 1989-2000 годы) и биохимической лаборатории Ботанического сада (2001-2021 годы) Института биологии Коми НЦ УрО РАН (ИБ ФИЦ, г. Сыктывкар). Использовали жидкостный микроколоночный хроматограф Милихром-5 (колонокка 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). Качественный состав определяли по соотношению долевого участия наиболее активного соединения экидистерона (20E) к слабоактивному экидизону (E) — 20E/E. Этот показатель должен быть $\geq 20:1$, что соответствует качественной чистоте ≥ 95 % (или соотношению экидистерона к иным экидистероидам 95:5) (9, 61).

Химические анализы сухих образцов на содержание потенциально опасных веществ (тяжелые металлы Hg, Cd, As, Zn, Ni, Cu, Cr, хлор- и фосфорорганические соединения, радионуклиды ^{90}Sr и ^{137}Cs , нитраты и нитриты) выполняли в соответствии с принятыми методами исследований в аккредитованных лабораториях ФГБУ «Агробиоцентр Кировский» (г. Киров) (см. сайт <http://www.agrobiology.ru>).

Безопасность *R. carthamoides* и выявленных действующих веществ оценивали, пользуясь сведениями о ядовитых растениях и лекарственных средствах растительного происхождения с нежелательными побочными эффектами, включая руководства по синтезируемым растениями токсическим веществам (37, 62, 63), Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (42) и обзоры А.С. Brown (64-68) по токсичным растениям мировой флоры, обнаруженным в пищевых добавках. Названия упомянутых в статье родов и видов растений приведены по международной классификации IPNI (International Plant Names Index) (69).

Математическую обработку данных проводили стандартными методами вариационной и корреляционной статистики с помощью модуля Statistica в программе Microsoft Excel 2016. Использовали параметры генеральной (по результатам сплошного учета) и выборочной совокупности. Для исключения систематических погрешностей с краевых участков агроценоза образцы не отбирали, поверхностные слои отбираемых проб не анализировали; данные по единичным экземплярам, по виду резко отличающимся от нормальных, при обработке не учитывали; к остаточному материалу и типичным особям применяли метод случайной выборки. Вычисляли средние значения показателей и среднеквадратичные отклонения ($M \pm SD$), коэффициенты вариации (C_v , %), амплитуды минимальных и максимальных значений (lim, min-max), исходя из объема выборки особей из популяции (N).

Изменчивость оценивали по шкале, выраженной коэффициентом вариации для биологических исследований: ≤ 7 % — очень низкая, 7-15 % — низкая, 15-25 % — средняя, 26-35 % — повышенная, 36-50 % — высокая, ≥ 50 % — очень высокая (70). Были проанализированы корреляционные связи между накоплением экидистерона и фитомассой растений за 32 года

жизни агропопуляции. На кривых аппроксимации экспериментальных данных приведена соответствующая величина их достоверности в виде коэффициента детерминации, или коэффициента аппроксимации (R^2) как показателя силы и направления взаимосвязи двух изучаемых количественных переменных при доверительном интервале 95 % (при уровне значимости $p = 0,05$).

Результаты. В зоне расположения участка рельеф местности слабо-волнистый повышенный, почвы супесчаные, дерново-среднеподзолистые, сформированы на двучленных отложениях. Верхний горизонт (0-28 см) — частицы песка, с глубины 70-85 см преобладала среднесуглинистая фракция. По комплексу агрохимических показателей почва участка относилась к 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 была оптимальной (pH_{KCl} обменная 6,4-6,5; pH гидролитическая 0,7 мг-экв.), насыщенность основаниями высокой (12,4 мг-экв., или 93,5 %). По элементам питания обеспеченность фосфором была высокой (P_2O_5 подвижный — 31,2 мг/100 г почвы), калием — средней (K_2O подвижный — 9,6 мг/100 г); содержание Са составляло 6,4, Mg — 1,0 мг-экв/100 г.

Территория выполнения исследований относится к подзоне средней тайги и входит в состав Европейско-Западно-Сибирской таежно-лесной биоклиматической области с умеренно прохладным летом и умеренно прохладной зимой, коротким безморозным периодом, значительной облачностью и недостатком солнечного света в ультрафиолетовом диапазоне, избыточным увлажнением. Зональный коэффициент увлажнения (отношение количества осадков к испарению) близок к 1,5. Продолжительность светлого времени суток в начале отрастания *R. carthamoides* (I декада мая) — 16-17 ч, во время цветения (во II-III декаде июня) — 20 ч. Продолжительность вегетационного периода составляла 165-186 сут, безморозного — 105 сут (с амплитудой колебаний по годам 77-139 сут). Среднегодовые суммы температур выше 15 °С составляли 911 °С (54-57 сут), 10 °С — 1577 °С (107-110 сут), 5 °С — 1936 °С (153 сут). Средняя температура самого теплого месяца (июля) — +17,4 °С, самого холодного (января) — -14,3 °С. Устойчивый снежный покров со средней высотой 52-58 см появлялся 11-16 ноября и сохранялся до 17-19 апреля.

Температура на глубине узла кушения многолетних трав держалась в пределах -1,5...-2,2 °С, в отдельные периоды она снижалась до -3,5...-4,0 °С. При переходе температуры воздуха через +5 °С, который наступал 29 апреля, начиналась вегетация многолетних сельскохозяйственных культур. Однако возвраты холодов с заморозками на поверхности почвы (до -5...-7 °С) и повторное выпадение снега часто тормозили рост и развитие растений до начала II декады мая. Заморозки полностью прекращались со второй декады июня и возобновлялись с начала сентября. Завершение вегетации наблюдалось в начале октября, что совпадало с осенним переходом температуры через +5 °С. За год выпадало 495-538 мм осадков, в том числе за теплый период 367-387 мм. Запасы продуктивной влаги в слое почвы 0-20 см за теплый период составляли 37-44 мм, в слое 0-50 см — 55-70 мм, что достаточно для жизнедеятельности большинства многолетних культур. Среднедекадная относительная влажность воздуха в дневное время составляла 62-74 %, наиболее низкие показатели приходились на полуденное время — 54-57 %. В отдельные засушливые периоды влажность могла опус-

каться до 25-35 % и ниже.

Параметры роста и развития побегов в онтогенезе. Левзея сафлоровидная (рис. 1) — многолетнее зимостойкое и холодоустойчивое растение, взрослые особи образуют куст высотой 90-150 см (иногда 50-250 см). Вид интродуцирован из высокогорной зоны субальпийского пояса (до 3000 м над у.м.) и с начала 1960-х годов введен в производство на Европейском Севере (33).

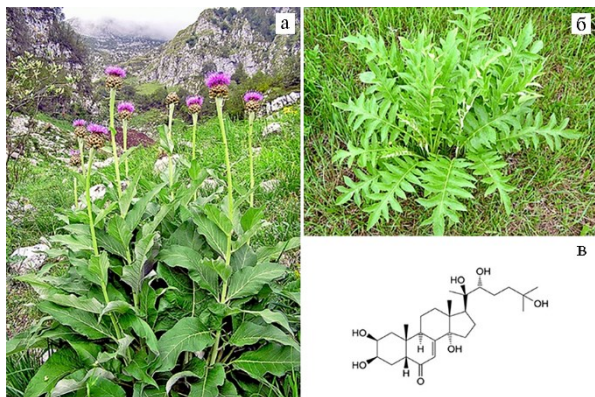


Рис. 1. Представители рода *Rhaponticum*, синтезирующие эктистерон: а — *R. scariosum* Lam. с генеративными побегами (фото Adriano Bruna, Альпы, 2009; <https://www.actaplantatum.org/forum/viewtopic.php?t=13006>); б — *R. carthamoides* (Willd.) Piiin с розеточными листьями (фото Н.П. Тимофеева; Архангельская обл., Котласский р-н, май 2022 года), в — химическая структура эктистерона (71).

По жизненной форме *R. carthamoides* — крупное травянистое полурозеточное поликарпическое растение с ежегодно отмирающими побегами двух типов — вегетативных розеточных и генеративных стеблевых с соцветиями разной степени развитости. Имеет два типа размножения — семенной и вегетативный (клонами). Онтогенез *R. carthamoides* в условиях субальпийских лугов длится 50-75 лет, где средний относительный возраст особей 25-35 лет. Генеративный период продолжается с 6-9 до 30-48 лет. Сенильные особи в природных ценозах чаще всего отсутствуют (55, 72).

По жизненной форме *R. carthamoides* — крупное травянистое полурозеточное поликарпическое растение с ежегодно отмирающими побегами двух типов — вегетативных розеточных и генеративных стеблевых с соцветиями разной степени развитости.

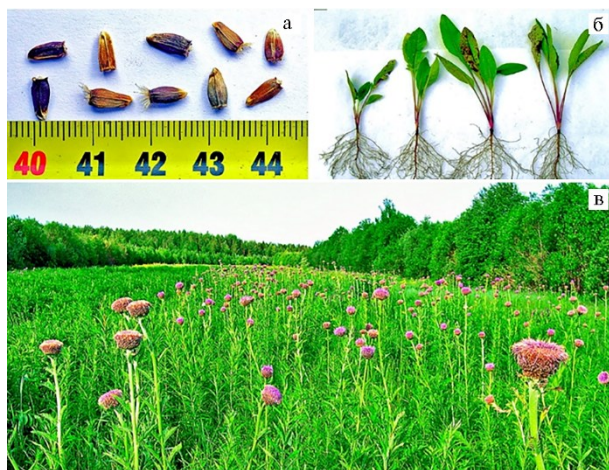


Рис. 2. Растения *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Piiin из агропопуляции, культивируемой в условиях Европейского Северо-Востока: а — семена, б — растения 1-го года жизни, в — растения генеративного периода в фазу цветения (фото Н.П. Тимофеева; Архангельская обл., Котласский р-н, июль 2001 года).

Жизнедеятельность вида в условиях агропопуляции (рис. 2) по итогам 32 лет наблюдений можно было подразделить на два этапа: формирование ценопопуляции, с 1-го по 5-й год жизни (табл. 1); дальнейшее устойчивое продуцирование надземной массы с высоким биосинтезом эктистерона (табл. 2).

В первые 5 лет происходило интенсивное развитие особей на фоне многократного ежегодного нарастания фитомассы (см. табл. 1): проростки в 1-й год проходили имматурные и ювенильные возрастные состояния, на 2-й год достигали виргинильного состояния, которое продолжалось и на 3-й год жизни, а на 4-й год начинался переход в генеративный возраст, кото-

Жизнедеятельность вида в условиях агропопуляции (рис. 2) по итогам 32 лет наблюдений можно было подразделить на два этапа: формирование ценопопуляции, с 1-го по 5-й год жизни (табл. 1); дальнейшее устойчивое продуцирование надземной массы с высоким биосинтезом эктистерона (табл. 2).

рый закреплялся на 5-й календарный год. В дальнейшем (6-32-й годы) интенсивный прирост прекращался. Особи вступали во взрослый генеративный (6-8-й годы), старый генеративный (9-12-й годы) и субсенильный возраст (13-32-й годы), которые различались по способности к продуцированию семян, строению и целостности корневищ.

1. Средние показатели развития надземных органов у *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Piin из агропопуляции, культивируемой в условиях Европейского Северо-Востока, в первые 5 лет онтогенеза (Архангельская обл., Котласский р-н)

Показатель	Год и возраст растений								N
	1990			1991		1992	1993	1994	
	p	j	im	im	v	v	g1	g1-g2	
Число побегов, шт.:									
всего	1,0	1,0	1,0	1,2	4,2	5,7	17,2	35,6	15-20
вегетативных	1,0	1,0	1,0	2,8	3,8	5,1	16,0	31,1	15-20
генеративных					0,4	0,6	1,2	4,2	15-20
плодоносящих						0,01	0,16	0,84	186-4233
Высота генеративных побегов, см						3-42	90,3	114,0	15-20
Высота вегетативных побегов, см	1,5	17,4	21,1	63,7		58,3	75,0	89,8	15-20
Ширина розеточных листьев, см	0,6	3,0	5,0	12,0	14,0	14,5	17,5	22,5	15-20
Масса надземной части:									
всего, г	0,01	0,27	0,42	6,2	10,2	16,4	56,8	210,7	12-15
доля розеточных листьев, %	100	100	100	100	100	93,3	84,0	85,4	12-15
Содержание 20Е в розеточных листьях, %	0,04	0,06	0,11	0,19	0,22	0,25	0,27	0,28	3-4

Примечание. 20Е — экдистерон. Возраст растений в онтогенезе: p — проросток, j — ювенильный, im — иматурный, v — виргинильный, g1, g2 — молодой и зрелый генеративный.

2. Показатели развития надземных органов *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Piin из агропопуляции, культивируемой в условиях Европейского Северо-Востока, в период устойчивого продуцирования надземной фитомассы с высоким биосинтезом экдистерона с 5-го по 32-й год жизни (Архангельской обл., Котласский р-н, 1994-1921 годы)

Показатель	$M \pm SD$	$Cv, \%$	max	min	N
Число побегов, шт.:					
всего	31,00±12,40	40,1	60,4	17,9	15-20
вегетативных	28,30±10,70	37,9	54,6	14,8	15-20
генеративных	2,71±2,13	78,6	3,8	0,6	15-20
плодоносящих	0,19±0,31	167,9	1,1	0,001	20188-52
Высота генеративных побегов, см	125,0±10,1	8,1	143,1	107,9	15-20
Высота вегетативных побегов, см	87,3±11,3	13,0	119,1	65,2	15-20
Ширина розеточных листьев, см	24,5±3,8	15,6	33,0	19,4	15-20
Масса надземной части:					
всего, г	223,4±74,4	33,3	354,0	95,1	6-9
доля розеточных листьев, %	84,4±5,3	6,3	93,9	73,2	6-9
Содержание 20Е в розеточных листьях, %	0,41±0,10	24,4	0,64	0,28	3-4

Сенильный период в целом по популяции не наступал: растения продолжали нормально отрастать и вегетировать на 31-33-й годы жизни. При анатомическом исследовании подземных частей в начале 33-го года жизни (29 апреля 2022 года) было обнаружено, что процессы отмирания и новообразования особей находятся в относительном динамическом равновесии (1:1). Общее число побегов (31,5 шт., $Cv = 28,0 \%$) и многолетних почек возобновления (52,7 шт., $Cv = 42,5 \%$) было сопоставимо с суммарным числом отмерших побегов (83,7 шт., $Cv = 47,7 \%$).

Растения во время роста надземных органов и зимующие корневища не поражались болезнями и вредителями. Для листьев существовали кратковременные периоды в жизненном цикле (фаза проростков), когда они не обладали потенциалом устойчивости к листогрызущим фитофагам. Вредителями семян в фазу созревания были птицы из сем. Воробьиные (*Passeridae*), соцветий (единичные поражения в некоторые годы) в фазу

формирования семян — жуки-бронзовки *Oxythyrea funesta*, *Potosia cuprea* ssp. *metallica* (*Cetoniinae*), восковик полосатый, или перевязанный, *Trichius fasciatus* (*Scarabaeidae: Trichiinae*) (61).

Основу лекарственного сырья *R. carthamoides* в надземных органах составляли розеточные листья вегетативных побегов: крупные черешковые, у взрослых растений более или менее глубоко перисто-рассеченные на 15-22 долей (минимальный показатель — отсутствие рассечений, максимальный — 27 долей), по окраске светло-, желто- или темно-зеленые, образовывали розетку диаметром в среднем 55-90 см (от 37 до 112 см). В молодом возрасте поверхность листьев была паутинисто-опушенной, придающей им серебристый оттенок. Размеры взрослых листьев достигали 60-90 см, иногда до 120 см по длине и 25-33 см по ширине листовой пластинки. Появление новых листьев, их взросление и отмирание не было приурочено к определенным фазам развития, они функционировали в течение всего вегетационного периода, меняя друг друга во времени, с момента схода снежного покрова и до наступления устойчивых осенних заморозков.

Цветоносные (генеративные) побеги имели высоту 110-140 см, иногда до 180 см. Стебель нарастал за счет вставочного роста междоузлий, на котором были спиралеобразно расположены 28-55 листьев различной сложности строения. На верхушке полого неразветвленного стебля формировалось одиночное соцветие — крупная шаровидная корзинка диаметром 4-6 см (разброс от 3 до 8 см), с обоеполыми фиолетово-лиловыми цветками. Сроки цветения особей в агропопуляции приходились обычно на 14-26 июня. В конце июня зацветали менее 1 % побегов. Даты трех самых ранних отклонений для агропопуляции — 10.06.1995, 10.06.2005, 09.06.2015; одна поздняя дата — 07.07.2017. Появление новых генеративных побегов, их цветение в июле-сентябре не наблюдалось. В целом развитие *R. carthamoides* до фазы бутонизации занимало 15-23, цветения — 44-56, плодоношения — 72-77 сут. После плодоношения в середине июля репродуктивные побеги отмирали, розеточные побеги продолжали вегетировать, пока среднесуточной температуры не опускалась ниже 0 °С во II декаде октября, постепенно уменьшаясь по числу и размерам. В надземной сфере преобладали вегетативные (розеточные) побеги: их доля в массе надземных органов в первые 3 года жизни составляла 100-93,3 %, на 4-5 годы — 84,0-85,4 %, в дальнейшем (5-32-й годы) практически не менялась — 84,4 % (при минимальном $C_v = 6,3$ %). Вклад генеративных побегов в величину фитомассы оказался незначителен на всем протяжении 32-летнего жизненного цикла: 6,7 % — на 3-й год, 6,0 % — на 4-й год, 4,6 % — на 5-й год, 5,6 % — в среднем за период с 5-го по 32-й годы жизни.

Общее число побегов у особей в первые 5 лет последовательно возрастало (см. табл. 1): с 1,0 до 4,2 шт. на 2-й год; 5,7 шт. — на 3-й год; 17,2 шт. — на 4-й год; 35,6 — на 5-й год жизни. Максимальное число зафиксировали во взрослый генеративный период на 6-9-й годы (60,4-52,1 шт.), минимальное пришлось на начало субсенильного возраста — на 13-15-й годы (17,9-20,6 шт.). В период стабильного функционирования агропопуляции с устойчивым продуцированием надземной фитомассы (с 5-го по 32-й годы; см. табл. 2) средняя численность побегов была равна 31,0 шт. ($C_v = 40,1$ %), а на начало 33-го года — 31,5 шт.

Число вегетативных побегов возрастало до 5-го года жизни (с 1,0 до 31,1 шт.), и в последующие годы сохранялось среднее значение 28,3 шт. ($C_v = 37,9$ %). Генеративные побеги с соцветиями начинали появляться с 3-го года, однако они отмирали, не достигая фазы плодоношения (высота

3-42 см). На 4-й год растение в среднем формировало 1,2 генеративных побега, из которых лишь незначительная часть (0,16 шт.) цвела и завязывала полноценные семена; на 5-й год на растении было в среднем 0,84 плодоносящих побега. В субсенильном возрасте число генеративных побегов снова оказалась незначительной (см. табл. 2) — 0,19 шт./растение, что было близко к параметрам природных популяций (55) и указывало на преимущественно вегетативный тип размножения клонами после дезинтеграции материнского растения на относительно самостоятельные дочерние особи.

Обращает на себя внимание то, что при стабильной величине затрат на формирование генеративных побегов (не более 15-16 % от фитомассы на протяжении всего онтогенеза при минимальном коэффициенте вариации 6,3 %) число плодоносящих репродуктивных побегов за 27 лет (с 5-го по 32-й годы) при средних значениях 0,19 шт./растение варьировало очень сильно — от 0,001 до 1,13 шт. ($C_v = 167,9$ %). Это было связано как с возрастными особенностями индивидуальных растений в популяции, так и с поздневесенними заморозками до $-7...-10$ °С от проникающих на территорию воздушных арктических масс, вызывающих необратимые повреждения и отмирание соцветий (розеточные листья *R. carthamoides* устойчивы к ним). Аналогичное влияние климатических факторов на варьирование параметров плодоношения отмечено и для природных горных популяций (55).

Фитомасса и изменчивость ее накопления в онтогенезе. Продуктивность популяции определяют умножением числа растений на единице площади на величину сухой фитомассы особей. Густота всходов *R. carthamoides* в агроценозе в 1-й год жизни составляла 114 тыс. шт/га, с 3-4-го по 10-й — 27-24 тыс. шт/га, с 13-го по 15-й — 16-20 тыс. шт/га, далее колебалось по годам с 22-30 до 20-23 тыс. шт/га (рис. 3). В целом субсенильном возрасте (с 13-го по 32-й годы) среднее значение плотности равнялось 24,5 тыс. шт/га (с колебаниями от 16,4 до 30,5 тыс. шт., $C_v = 16,0$ %). В пересчете на норму при подзимнем посеве (с 4-5-кратным запасом на единицу площади) при квалифицированном уходе потребность семян для высева составляла около 3 кг/га (при средней массе 1000 семян 15 г илевой всхожести около 60 %).

Иные нормы высева, рекомендованные в монографиях по культивированию *R. carthamoides* и составляющие до 10-15 кг/га (57) и 20-25 кг/га семян первого класса (56), следует считать завышенными. При высоких нормах высева в последующие годы происходило самоизреживание и стабилизация численности популяции. Факторами среды, вызывающими снижение численности особей в ценозе для *R. carthamoides*, могут быть переувлажнение, вызывающее загнивание корневой системы, конкурентное подавление со стороны быстрорастущих многолетних сорных растений в первые три года жизни, ранние сроки укоса надземной фитомассы (со 2-го года), сроки посева семян (весенний вместо подзимнего), дефицит влаги почв (засуха), старение и т.д.

В биологии *R. carthamoides* проявлялось характерное для высокогорных растений постепенное прорастание в течение 3 лет: весной 1-го года, во 2-3-й декаде мая, появлялось 85-88 % растений от общего их числа, на 2-й год — 10-12 %, на 3-й — 2-3 % (при условии, что почва не была переувлажнена и семена не загнили). Первые 2 мес были наиболее уязвимым периодом по причине слаборазвитости первичной корневой системы, образованной боковыми ответвлениями главного корня диаметром 0,03-0,05 мм, которые располагались в поверхностном слое почвы. Была возможна массовая гибель особей из-за неоптимального режима почвы от переувлажнения и от пересыхания. Подземная сфера интенсивно развивалась после форми-

рования стеблекорня (с появлением придаточных корней из зоны гипокотилия), что следовало по времени за фазой развертывания розеточного зародышевого побега в ювенильном возрасте. В иматурном возрасте доля корневой системы растений возрастала с 19-21 до 43 % от общей фитомассы, что приводило к повышению устойчивости к летней засухе и обеспечивало рост пазушных почек возобновления в многочисленные боковые вегетативные побеги.

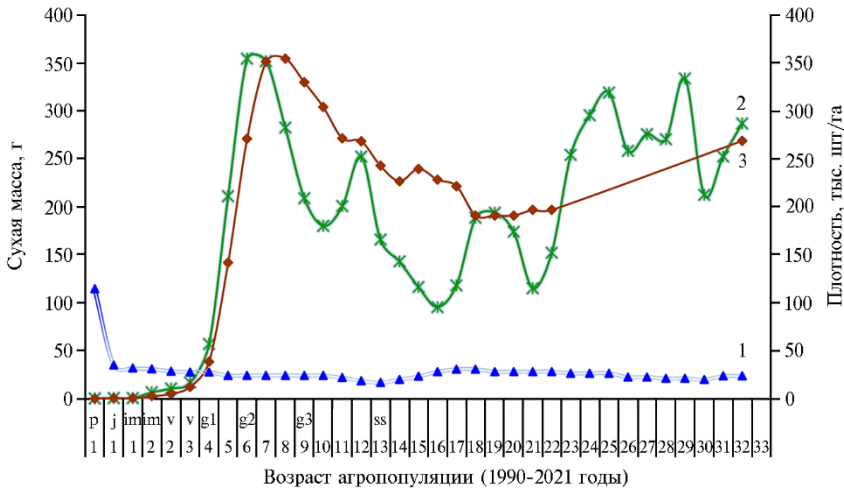


Рис. 3. Динамика плотности (1) и величина сухой фитомассы надземных (2) и подземных (3) органов у *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Piiп в агропопуляции, культивируемой в условиях Европейского Северо-Востока, в течение онтогенеза. Возраст растений в онтогенезе: p — проросток, j — ювенильный, im — иматурный, v — виргинильный, g1, g2, g3 — молодой, зрелый и старый генеративный; ss — субсенильный (Архангельской обл., Котласский р-н, 1990-2021 годы).

3. Продуктивность агропопуляции *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Piiп, культивируемой в условиях Европейского Северо-Востока, в первые 5 лет онтогенеза (Архангельской обл., Котласский р-н)

Показатель	Год и возраст растений								N
	1990			1991	1992	1993	1994		
	p	j	im	im	v	v	g1		
Плотность, тыс. шт/га	114,3	34,6	31,5	30,8	28,3	27,5	27,3	24,0	40-48
Масса одного растения, г:									
надземные части	0,013	0,27	0,42	6,2	10,2	16,4	56,8	210,7	12-15
подземные части	0,003	0,07	0,30	2,3	4,7	11,9	38,2	141,3	12-15
Развитые соцветия, шт/растение						0,01	0,16	0,84	186-4233
Продуктивность, кг/га:									
надземная часть	1,5	9,3	13,2	191	289	452	1553	5046	12-15
подземная часть	0,3	2,4	9,5	71	133	328	1044	3384	12-15
семена						0,17	8,0	30,3	186-4233

Примечания. Возраст растений в онтогенезе: p — проросток, j — ювенильный, im — иматурный, v — виргинильный, g1, g2 — молодой и зрелый генеративный.

В первые 3 года жизни сухая надземная фитомасса ювенильных, иматурных и виргинильных растений составляла соответственно 0,3; 6,2 и 16,4 г и не представляла интереса для отчуждения (табл. 3). С 4-го года, когда начинался переход агропопуляции в генеративный возраст, надземная масса возрастала до 56,8 г. С 5-го года жизни наблюдался массовый переход популяции в генеративное состояние и выход на средние параметры развития — 210,7 г надземной массы с растения при среднем значении 223,4 г за период 5-32-й годы (табл. 4). На 6-8-й годы (зрелый генеративный возраст) были зафиксированы максимальные значения фитомассы особей — соответственно 354, 352 и 282 г. На 9-12-й годы жизни популяция находилась в

старогенеративном возрасте, масса надземных органов составляла 208,7-179,9 г (см. рис. 3).

При старении растений на начало субсенильного возраста (13-17-й годы), которое сопровождалось постепенным разрушением корневой системы первичного растения в зоне главного корня и ее расчленением на дочерние, приходилась минимальная величина фитомассы надземных органов — 95,1 г/растение. В последующие годы отмечалось возрастание фитомассы надземных органов во втором обновленном цикле онтогенеза, когда дочерние особи, вегетативно возникшие в форме клона, занимали место материнских растений, то есть происходило омоложение популяции. При этом среднее значение надземной фитомассы за период с 5-го по 32-й год жизни (223,4 г) оказалось близко к значению за 5-й год жизни (210,7 г). Повышенная изменчивость обсуждаемого показателя по годам наблюдений ($C_v = 33,3 \%$) (см. рис. 3) вызвана сильным влиянием влажности (интенсивные дожди) и температуры воздуха (35-38 °С и заморозки до -5...-10 °С) на сезонное развитие.

4. Показатели продуктивности агропопуляции *Rhaponticum carthamoides* (Willd.)

Пііп, культивируемой в условиях Европейского Северо-Востока, в период устойчивого продуцирования надземной фитомассы с 5-го по 32-й год жизни (Архангельской обл., Котласский р-н, 1994-1921 годы)

Показатель	$M \pm SD$	$C_v, \%$	max	min	<i>N</i>
Плотность, тыс. шт/га	24,1±3,5	14,7	30,5	16,4	40-48
Масса одного растения, г:					
надземные части	223,4±74,4	33,3	354,0	95,1	6-9
подземные части	246,3±58,6	23,8	354,4	190,6	6-9
Развитые соцветия, шт/растение	0,19±0,31	167,9	1,13	0,0005	20188-52
Продуктивность:					
надземная часть, кг/га	5338,4±1760,6	33,0	8483	2634	6-9
подземная часть, кг/га	6019,3±1337,1	22,9	8548	3977	6-9
семена, кг/га	1,31±0,65	49,6	1,98	0,49	20188-52

Масса подземных частей (корней с корневищами в сухом виде) возрастала вслед за надземной (см. табл. 3, 4): в первые 3 года она также была незначительна (0,3, 4,7 и 11,9 г/растение), на 4-й год составляла 38,2 г, на 5-й —141,3 г. Максимальную величину за генеративный период с возрастанием до максимума от 270,6 до 354,4 г и последующим снижением до 303,7 г отмечали на 6-10-й годы жизни. Среднее значение массы подземных органов в субсенильном возрасте (13-32-е годы) было равно 217,3 г, а на 33-й год жизни (после перезимовки на 29.04.2022 года) — 268,5 г ($C_v = 28,6 \%$). Усредненное значение массы корней с корневищами в период с относительно устойчивым продуцированием надземной фитомассы (с 5-го по 32-й год) составляло 246,3 г ($C_v = 23,8 \%$), что несколько выше среднего значения для надземных частей (223,4 г при $C_v = 33,3 \%$) и свидетельствует об их важности в качестве запасящего органа для формирования надземной фитомассы в будущем периоде.

Таким образом, колебания величины подземной массы по годам были в целом более сглажены, поскольку она менее зависима от сезонных температур по сравнению с надземной и формируется за счет оттока органических веществ из надземных органов в процессе их постепенного отмирания.

Закономерности накопления экдистерона в надземной части растений. Процессы биосинтеза и накопления экдистерона зависимы от ростовых процессов в надземной сфере, обусловленных, в свою очередь, развитием корневой системы материнского растения и ее дезинтеграцией на дочерние особи. Розеточные листья вегетативных побегов *R. carthamoides* составляли 84-94 % от массы надземных органов. Содержание экдистерона в них было минимальным в 1-й год (0,06-0,11 %), затем возрастало последовательно до 0,19-0,28 % с 2-го по 5-й год жизни (см.

табл. 1, рис. 4). В генеративный период (с плодоносящими цветоносными побегами) оно составляло 0,29-0,33 % (на 6-10-й годы) и уменьшалось от 0,44 до 0,40 % при переходе с генеративного в субсенильный возраст за 11-13-й годы (см. табл. 2).

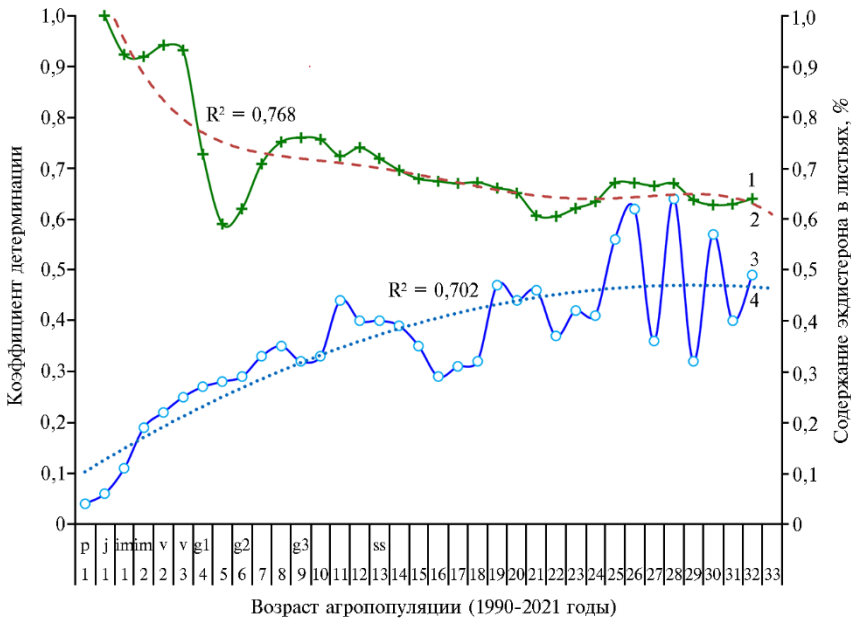


Рис. 4. Корреляционная связь между величиной надземной массы растений и содержанием экидистерона (1), достоверность аппроксимации (2), накопление экидистерона 20E (3) и тренд его накопления (4) в листьях вегетативных побегов *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Piiin из агропопуляции, культивируемой в условиях Европейского Северо-Востока, в течение онтогенеза. Возраст растений в онтогенезе: р — проросток, j — ювенильный, im — имматурный, v — виргинильный, g1, g2, g3 — молодой, зрелый и старый генеративный; ss — субсенильный (Архангельской обл., Котласский р-н, 1990–2021 годы).

За последующие годы субсенильного возраста (16-32-й годы), при минимальной репродукции (в среднем 1 плодоносящее соцветие на 5 растений) содержание экидистерона в вегетативных побегах оставалось высоким — 0,41 % (варьирование 20E по годам от 0,28 до 0,64 % при колебании числа плодоносящих соцветий от 0,001 до 1,13 шт.). В этот период резко сокращалась семенная репродукция и синтезированный экидистерон, ранее перераспределявшийся с водным потоком ассимилятов от листьев к семяпочкам соцветий и семенам, оставался в розеточных листьях. Ранее на примере 8 популяций *R. carthamoides* и *Serratula coronata* в возрасте до 15 лет мы показали, что динамика содержания экидистероидов в их вегетативных органах обратно и сильно зависима от семенной репродукции (59). Полученную в настоящей работе модель взаимной связи ($R^2 = 0,768$) между суммарной величиной надземной массы *R. carthamoides* и содержанием экидистерона в розеточных побегах с коэффициентом детерминации около 80 % (что соответствует $r = 90$ %) можно признать объясняющей зависимость биосинтеза и накопления экидистерона от развитости вегетативных побегов.

Мы установили комплекс коррелятивных параметров растений в онтогенезе, сочетающихся с наибольшим (0,56-0,64 %) накоплением экидистерона в вегетативных побегах *R. carthamoides*: длина розеточных листьев — 97-119 см (максимум), доля розеточных листьев в структуре фитомассы — 91-94 % (максимум), число плодоносящих соцветий — 0,016-0,021 шт./растение (минимум), суммарная величина надземной фитомассы (вместе с генеративными побегами) — 270-320 г (выше средней величины 223 г на 20-40 %).

Продуктивность агропопуляции. Валовая продукция на единице площади популяции (с учетом плотности) служит интегральным показателем, характеризующим экологический оптимум, и отражает отношение организма ко всей совокупности факторов внешней и внутренней среды. В природных условиях урожайность надземной массы дикорастущих зарослей *R. carthamoides* на Горно-Алтайской сельскохозяйственной опытной станции составляет 2200-4000 кг/га. Максимальная биопродуктивность отдельных фрагментов чистых зарослей может достигать 6500-7000 кг/га. Продуктивность подземных органов *R. carthamoides* в Алтайско-Саянской горной области колеблется в пределах 80-1500 кг/га. Наибольшие площади субальпийских лугов заняты ценозами, где средняя масса корневищ составляет около 57-75 кг/га, а 12-20 % ресурсных участков имеют продуктивность 570-640 кг/га (55). На относительно небольших участках на территории Казахстана продукция сухих корней *R. carthamoides* оценивается в 1,0-1,1 т/га (73).

В культуре корневища левзеи сафлоровидной для использования в качестве фармакопейного лекарственного сырья начинают убирать с 3-го года жизни. Учитывая, что наиболее интенсивный прирост корневой массы происходит в конце вегетационного периода, уборку проводят в сентябре-октябре. Средняя урожайность сухих корней (без учета фактической плотности) в Московской области составляла 2000-2500 кг/га (56). В Финляндии ожидаемый урожай корней (в пересчете с квадратных метров на гектар) через 3 года выращивания был около 2000 кг/га, надземных частей — 1000-2500 кг/га (57). В условиях Пермского края урожайность надземной массы без применения удобрений в среднем за 6 лет составила 2520 кг/га (74). В Сибири на полях экспериментального хозяйства Центрального сибирского ботанического сада урожайность надземной массы *R. carthamoides* в возрасте 4-5 лет достигала 3600 кг/га (56). В более старых посевах отмечено снижение урожайности, например в Ленинградской области в посевах 7-8-летнего возраста она не превышала 700-800 кг/га. В Московской области на среднесуглинистой почве опытной станции Российского государственного аграрного университета — МСХА им. К.А. Тимирязева продуктивность на 6-й год составила 3740 кг/га и к 9-му году снижалась в 3,6 раза (59).

В изучаемых условиях Европейского Севера валовая продукция агропопуляции (см. табл. 3) была мизерной в первые 2 года и на 3-й год культивирования и составляла соответственно лишь 8 % и 5 % по отношению к средним значениям за 5-32-й годы жизни (или 452 кг/га надземной и 328 кг/га подземной фитомассы). На 4-й год продуктивность агропопуляции примерно соответствовала данным литературы — 1553 кг/га для надземной части и 1044 кг/га для подземной. В дальнейшем продуктивность продолжала увеличиваться, составив на 5-й год соответственно 5046 и 3384 кг/га, и вышла на пик в зрелом генеративном возрасте — около 8500 кг/га на 6-7-й годы для надземных и на 7-8-й годы для подземных органов. В старом генеративном и субсенильном возрасте фитомасса снижалась и варьировала в соответствии с закономерностями, описанными выше (см. рис. 4). В целом, с 5-го по 32-й годы жизни (за 27 лет хозяйственной эксплуатации) средняя расчетная продуктивность надземной части агропопуляции составила около 5338 кг/га ($Cv = 33,0 \%$), подземной — 6019 кг/га ($Cv = 22,9 \%$) (см. табл. 4).

Урожайность семян с единицы площади в первые 3 года отсутствовала. На 4-й и 5-й жизни она составила соответственно 8 и 30 кг/га, а наибольшие значения показателя пришлось на 6-й и 7-й годы — 108 и

78 кг/га, снизившись на 8-10-й годы соответственно до 50, 26 и 5 кг/га. После перехода в субсенильный возраст, когда доминировало вегетативное размножение, средний ежегодный выход семян за период с 13-го по 32-й год составил 1,3 кг/га (от 0,49 до 1,98 кг/га). Коэффициент семенного размножения особи (отношение числа полноценных семян на единице площади к плотности) в этот период был равен 3,3.

Для сравнения — в естественных условиях субальпийских лугов Алтая средний урожай семян составлял 8-30 кг/га, а в редких зарослях мог доходить до 150-200 кг/га (55). В условиях Европейского Севера урожайность семян с опытных делянок была следующей: Финляндия — до 200-290 кг/га (57), Коми Республика — до 295-410 кг/га. В Пермском крае (75) на 9-10-й год жизни выход семян оценивался в 386-542 кг/га (38,6-54,2 г/м²). При этом обильное плодоношение в таких случаях сопровождалось крайне низким значением содержания экидистерона в листовых органах — от 0,05-0,07 до 0,14 % (43); 0,04-0,09 % (44).

Тем самым подтверждается наш тезис о том, что одним из ключевых факторов регуляции концентрации экидистерона в листовых органах становится процесс конкуренции между семенным и вегетативным размножением: обильное продуцирование семян приводит к оттоку экидистерона из вегетативных побегов и раннему завершению жизненного цикла растений вследствие массового отмирания генеративных побегов после плодоношения вместе с почками возобновления, служащих базисом для формирования в будущие годы новых розеточных листьев, синтезирующих экидистерон.

Приблизительная оценка валового синтеза и накопления экидистерона в оптимальном эксплуатируемом возрасте (с 5-го по 32-й годы) составляла в надземной сфере (при амплитуде содержания 20Е 2,8-6,4 г/кг) около 21,9 кг/га (14,9-34,2 кг/га) ежегодно, или около 600 кг экидистерона за 27 лет эксплуатации. В подземной сфере растений при ориентировочном содержании 20Е 0,3-0,5 г/кг аккумулировалось около 2,4 кг/га (от 1,8 до 3,0 кг/га) экидистерона, но эти части растений могут отчуждаться лишь один раз.

Таким образом, 90 % ежегодно синтезируемого экидистерона накапливается в надземной части растений из агропопуляции *R. carthamoides*. Если же исходить из потенциала жизненного цикла промышленно эксплуатируемой популяции с учетом возможности многократного изъятия фитомассы, то экидистерон сконцентрирован в надземных органах более чем на 99 %.

Качественные показатели лекарственного сырья из листовых органов. Важным показателем качества лекарственного сырья *R. carthamoides* для изготовления препаратов служит соотношение высокоактивного экидистерона (активность в биотестах $7,5 \times 10^{-9}$ М) к слабоактивному экидизону (активность $1,1 \times 10^{-6}$ М), поскольку менее активные экидистероиды могут полностью или частично блокировать физиологическое действие более активных соединений, содержащихся в экстрактах растений (8, 48). Желательно, чтобы чистота экидистерона была не менее 95 % ($\geq 20:1$), лучше 97 % ($\geq 30:1$), а в идеале — почти полное отсутствие минорных и слабоактивных компонентов ($\geq 1000:1$) (9). В противном случае исходное сырье приходится подвергать сложной многоступенчатой хроматографической процедуре очистки от неактивных примесей (10).

Для сухого неочищенного спиртового экстракта, выделенного из 65 кг сухих корней *R. carthamoides* с корневищами, соотношение 20Е/Е было равно около 60:1, где экидистерона содержалось 0,37 %, экидизона — 0,006 % (46).

Согласно данным из Чехии (50), соотношение 20E/E для сухих корней *R. carthamoides* составило более 1000:1. Для надземной части *R. carthamoides* этот показатель качества непостоянен и зависит от интенсивности формирования и развития генеративных побегов. Ранее на 12 разновозрастных агропопуляциях *R. carthamoides* и *S. coronata* в первые 16 лет культивирования мы показали, что у *R. carthamoides* до вступления в генеративный период состав фитоэкдистероидов был представлен только высокоактивным экдистероном. Экдизон в надземных репродуктивных органах синтезировался синхронно их развитию: в начале вегетации в генеративных побегах он не обнаружен, во время цветения его долевого участие достигало 9,1 %, в период налива семян и плодоношения — 17,8-18,7 %. В период обильного плодоношения долевого участие экдизона возрастало и в вегетативных побегах, хотя в меньшей степени — с 1,5 до 4,7 % в фазе бутонизации и до 13,3 % в фазе цветения (61).

Качественное соотношение экдистерона к экдизону (20E/E) в вегетативных побегах *R. carthamoides* за 32 года выращивания в условиях агропопуляции менялось следующим образом: у имматурных и виргинильных растений оно было выше 1000:1 (1-3-й годы), у молодых генеративных растений в фазе бутонизации составляло около 980:1. У взрослых генеративных растений при переходе в фазу цветения 20E/E уменьшалось до 20-6:1, а к началу плодоношения — до 3-4:1. В субсенильный период (13-32-й годы), когда семенное размножение было подавлено, экдизон синтезировался в следовом количестве ($\leq 0,001$ %) — соотношение 20E/E варьировало по годам от 560-900:1 до 60-80:1, что отвечало требованию относительному качеству чистоты 20E 97 %.

Сравнение с другими промышленными источниками экдистерона показало, что *R. carthamoides* имеет преимущество перед ними как по количественному содержанию, так и по доброкачественности синтезируемого экдистерона. В частности, А. Hunyadi с соавт. (30) исследовали состав пищевых добавок Европейского рынка, изготовленных из экстракта цианотиса паутинового *Cyanotis arachnoidea* С.В. Clarke, и показали, что соотношение экдистерона к другим (минорным) ЭС было ухудшенным — около 0,9:1 при количественном содержании 0,2-2,4 %/0,09-2,49 %. Близкий вид, цианотис длиннолистный *Cyanotis longifolia* Benth., выращенный в горшечной культуре во Франции, имел аналогичное качественное соотношение экдистерона: в надземной фитомассе — 1,8:1 (0,095 %/0,052 %), в корнях — 0,63:1 (0,385 %/0,607 %) (76). В целом и другие виды из сем. *Commelinaceae* из естественных мест обитания характеризуются относительно пониженным содержанием экдистерона в сухой фитомассе: *Cyanotis hirsuta* Baker — 0,140 %, *Cyanotis kewensis* С.В. Clarke — 0,0245 %, *Cyanotis longifolia* Benth. — 0,008 %, *Cyanotis somaliensis* С.В. Clarke — 0,111 %, *Cyanotis speciosa* (L.f.) Hassk. — 0,093 % (76). Кроме того, в коммерческих экстрактах *Cyanotis* в 2021 году обнаружены примеси полусинтетических экдистероидов нефтяного происхождения, взаимодействующих с рецепторами экдистерона в качестве конкурирующих агонистов и антагонистов, что может привести к множеству негативных фармакологических и токсикологических последствий при их употреблении (29).

Среди других показателей качества лекарственного сырья важны сведения о накоплении в нем токсических соединений естественного или антропогенного происхождения, включая тяжелые металлы, радионуклиды, хлор и фосфорорганические соединения. Результаты первых исследований начала 1970-х годов, выполненных методами цветных реакций, которые свидетельствовали о наличии алкалоидов у *R. carthamoides*, впоследствии не

были подтверждены (77). В современной литературе нет также сведений о накоплении этим видом тритерпеновых сапонинов, других сильнодействующих, наркотических или ядовитых веществ, потенциально опасных для здоровья человека или могущих представлять опасность для животных при использовании в качестве корма и кормовых добавок (буфадиенолидов, сердечных гликозидов, аристолохиевой кислоты, фотосенсибилизирующих, кумулятивных или расщепляющих витамины веществ и т.п.) (42, 63, 65-67).

Изучение токсичности надземной части *R. carthamoides*, используемой в качестве кормовых добавок, уже проводилось ранее. В длительных опытах с включением измельченных листьев *R. carthamoides* в рационы не обнаружили неблагоприятных эффектов. Была доказана их безвредность в дозах до 0,3-0,5 кг сухого вещества надземной массы. Крысы и птицы могли питаться семенами этого вида, которые содержали до 1,5 % экдистерона (36).

5. Химический состав экдистерон-содержащей субстанции из листовых органов *Rhaponticum carthamoides*, выращенных в условиях промышленно эксплуатируемой плантации (Котласский р-н Архангельской обл., 2016-2020 годы) (78)

Показатель	Норма	Фактически полученные значения
Действующие вещества, %:		
экдистерон (20-гидроксиэкдизон, 20E)	≥ 0,1	0,56-0,61
доля экдистерона от ФЭС	≥ 95,0	95,3-99,6
экстрактивные вещества	≥ 12,0	50,2
протеин сырой	≥ 16-19	19-27
клетчатка сырая	≤ 23-26	16-19
Тяжелые металлы, мг/кг:		
Hg	0,05	0,009-0,016
Cd	0,3	0,020-0,115
As	0,5	0,05
Ni	3,0	0,59-1,30
Pb	5,0	0,18-0,30
Cu	30,0	7,9
Zn	50,0	28,4
Хлор- и фосфорорганические соединения, мг/кг:		
ДДТ и его метаболиты	0,05	< 0,007
ГХЦГ и его изомеры	0,05-0,20	< 0,001
метафос	0,00-0,50	Не обнаружен
карбофос	2,0-5,0	Не обнаружен
Соединения азота, мг/кг:		
NO ²⁻	10,0	0,3-2,0
NO ³⁻	2000	700-1200
Радионуклиды, Бк/кг:		
⁹⁰ Sr	100,0	5,7
¹³⁷ Cs	600,0	4,8

Пр и м е ч а н и е. ФЭС — фитоекдистероиды, ДДТ — сумма хлороорганических пестицидов (дихлордифенилтрихлорэтан, дихлордифенилдихлорэтан, дихлордифенилдихлорэтилен и т.д.), ГХЦГ — сумма иных инсектицидов (линдан, гексахлорциклогексан, гептахлор, кельтан, альдрин) (данные представлены в соответствии с протоколами тестирования, см. <http://www.agrobiology>).

В условиях промышленного возделывания при санитарно-токсикологической оценке безопасности продукции приоритетным является соответствие содержания тяжелых металлов нормативным требованиям. Актуальность контроля тяжелых металлов у высокогорных растений связана с их генетической предрасположенностью к накоплению ртути, кадмия, никеля, свинца и меди. При исследовании фармакопейных характеристик лекарственного сырья из листовых органов *R. carthamoides* (78) нами установлено (табл. 5), что надземные части *R. carthamoides*, выращенные и заготовленные в изучаемой агропопуляции, не накапливали элементы первого и второго класса опасности (Hg, Cd, As, Zn; Ni, Cu, Cr) выше фонового уровня и соответствовали ПДК для зеленой массы многолетних трав. Запрещенные по санитарно-гигиеническим стандартам хлор- и фосфорорга-

нические соединения в фитомассе отсутствовали. Содержание радионуклидов ^{90}Sr и ^{137}Cs было ниже ПДК (68,8 и 6,2 Бк/кг в сравнении с разрешенными 100 и 600 Бк/кг). Количество нитритов находилось в пределах нормы (0,3-2,0 мг/кг) (см. табл. 5).

Первые результаты массового применения добавок на основе листового материала *R. carthamoides*, выращенной в рассматриваемой агропопуляции, были получены в свиноводческом комплексе АО «Котласский ЦБК» (Архангельская обл., Россия) со среднемесячным поголовьем 1,6 тыс. шт., длительность эксперимента составляла 12 мес (79). Супоросным свиноматкам, пороссятам-отъемышам и откормочному поголовью в возрасте 2-4 мес ежедневно скармливали гранулированную травяную муку из надземной части *R. carthamoides* 4-го года жизни в расчете 20 г/т живой массы. Рацион животных был основан на пищевых отходах предприятий общественного питания с неблагоприятным фитосанитарным составом, что сопровождалось диспепсией. В итоге произошло оздоровление стада и снижение падежа новорожденных поросят в 2,1-2,7 раза, а анаболический эффект выразился в увеличении выхода продукции стада в живой массе на 40,6 %.

Дальнейшие исследования выполняли в племенном свиноводческом хозяйстве АО «Заречье» (Кировская обл.) в строго контролируемых условиях. Согласно полученным данным, при введении в рацион поросят-отъемышей субстанции из *R. carthamoides* их живая масса превысила показатель в контроле на 15-22 %, интенсивность среднесуточного прироста массы тела — на 24,0-32,8 %, заболеваемость животных снизилась в 1,6-2,5 раза, сохранность составила 100 % (22). Сопоставимые результаты были получены и в экспериментах с использованием химически очищенного экдистерона (20-гидроксиэкдизона 96 % чистоты), выделенного из *R. carthamoide*. Анаболический эффект в этом случае составил 12-16 % при одновременном снижении расхода кормов на 11-17 % на 1 кг прироста живой массы (80).

Суммируя полученные результаты, следует отметить, что биосинтез и накопление экдистерона были прямо связаны с вегетативным размножением (с интенсивностью нарастания розеточных побегов по годам и их мощностью), и обратно пропорциональны интенсивности семенного плодоношения. Взаимосвязь между суммарной величиной надземной массы и содержанием экдистерона в розеточных побегах за 32 года культивирования характеризовалась коэффициентом детерминации $R^2 = 0,768$ (или около 80 %) и отражал зависимость биосинтеза и накопления экдистерона от развитости вегетативных побегов. Приблизительная оценка валового синтеза и накопления экдистерона в оптимальном эксплуатируемом возрасте (с 5-го по 32-й годы) составляла в надземной сфере около 21,9 кг/га ежегодно, или около 600 кг экдистерона за 27 лет эксплуатации. В подземной сфере содержалось около 2,4 кг/га экдистерона. Для фабричного производства лекарственных препаратов, пищевых добавок и фитобиотиков предпочтительно использовать розеточные листья вегетативных побегов, содержащие большие концентрации экдистерона (0,4-0,6 % при нормативе 0,1 %). Качественные характеристики лекарственного сырья, заготовленного в оптимальную фазу развития (начале бутонизации) были высокими и соответствовали требованиям для изготовления фармпрепаратов с относительной чистотой экдистерона 97 %. Подземные части (корни с корневищами) не накапливали значимых концентраций экдистерона (в среднем 0,03-0,05 %) и могли быстро терять действующие вещества вследствие инфицирования почвенной микрофлорой. Семенная продуктивность возрастала по годам (8-30 кг/га) и достигало пика на 6-й и 7-й годы (108 и 78 кг/га), снижаясь

в старогенеративном возрасте (8-10-й годы) соответственно до 50, 26 и 5 кг/га. В субсенильный период (с 13-го по 32-й год жизни и далее) тип размножения менялся с семенного на вегетативный и продукция семян имела крайне низкие значения (1,3 кг/га с коэффициентом семенного размножения 3,3). Усредненное значение массы корней с корневищами с 5-го по 32-й год жизни составляло 246,3 г/растение, что несколько выше среднего значения фитомассы надземных частей — 223,4 г/растение.

Из субстанций на основе листового материала *R. carthamoides* экдистерон хорошо экстрагировался в водные и спиртовые растворы и хорошо сохранялась в них без консервантов (на 93-98 % течение 1 сут). Суммарный выход экстрактивных веществ составлял 50,2 % (при норме 12,0 %). В биотестах экстракт обладал стимулирующим действием при сильном разведении (10^{-9} - 10^{-11} М в расчете на экдистерон) и ингибирующим — при меньшем (100-кратном) разведении (10^{-4} - 10^{-5} М) (78).

В дальнейшем следует изучить влияние кратности и периодичности укосов (величины отчуждаемой надземной массы) на формирование и соотношение вегетативных и генеративных побегов левзеи сафлоровидной, а также возможность воздействовать на процесс синтеза экдистерона через применение удобрений, фитогормонов и элиситоров.

Итак, в результате 32-летних исследований агропопуляции *Rhaponticum carthamoides*, культивируемой в Архангельской области с 1989 по 2022 год по технологии ежегодного однократного отчуждения надземной фитомассы, было установлено, что природно-климатические условия Европейского Северо-Востока, характеризующиеся прохладным климатом, промывным типом водного режима, длинным световым днем и коротким вегетационным периодом, благоприятны для промышленного выращивания левзеи сафлоровидной. Длительность онтогенеза агропопуляции была близка к параметрам природных популяций на субальпийских лугах и составляла свыше 30 лет без перехода к сенильному возрастному состоянию на 33-й год жизни. Плотность растений в агроценозе достигала оптимальных значений 28-23 тыс. шт/га, начиная с 3-4-го года жизни. В условиях агропопуляции в первые 4 года шел интенсивный рост и развитие растений, на 5-й год (после перехода в генеративный период) начиналось семенное размножение особей. Среднегодовая расчетная продуктивность надземной части агропопуляции в период устойчивого продуцирования надземной фитомассы с высоким уровнем биосинтеза экдистерона (с 5-го по 32-й годы жизни) составила около 5300 кг/га, подземной — около 6100 кг/га. С накоплением наибольшего количества экдистерона в вегетативных побегах *R. carthamoides* (0,56-0,64 %) сочетались такие параметры, как максимальная длина розеточных листьев (97-119 см), максимальная доля розеточных листьев в структуре фитомассы (91-94 %), минимальное число плодоносящих соцветий (0,016-0,021 шт/растение), суммарная величина надземной фитомассы вместе с генеративными побегами — 270-320 г (выше средней величины 223 г на 20-40 %). Экдистерон из листовых органов хорошо экстрагировался в водные и спиртовые растворы без потери действующих веществ (при хранении водного экстракта в течение 1 сут сохранность экдистерона — 93-98 %). Суммарный выход экстрактивных веществ из листьев составлял 50,2 % при нормативе 12,0 %. Полученное лекарственное сырье удовлетворяло всем нормативным требованиям надзорных органов по содержанию радионуклидов, тяжелых металлов, остатков гербицидов, инсектицидов и иных химических средств защиты растений. Применение субстанции из листового материала *R. carthamoides* в промышленном животноводстве сопро-

вождалось оздоровлением стада и снижением смертности молодняка свиней в 2 и более раз, возрастанием интенсивности среднесуточного прироста на 24-33 %, снижением расхода кормов на 11-17 %.

КХ «БИО»,
165650 Россия, г. Коряжма, пр. Ленина, 47,
e-mail: sciens@leuzea.ru ✉

Поступила в редакцию
15 мая 2022 года

Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2023, V. 58, № 1, pp. 114-141

EXPERIENCE OF *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iiin CULTIVATION AS A NATURAL SOURCE OF ECDYSTERONE UNDER THE CONDITIONS OF THE ARKHANGELSK REGION

N.P. Timofeev✉

KKh BIO, 47, ul, Lenina, Koryazhma, 165650 Russia, e-mail sciens@leuzea.ru (✉ corresponding author)

ORCID:

Timofeev N.P. orcid.org/0000-0003-4565-7260

The author declares no conflict of interests

Final revision received May 15, 2022

Accepted July 7, 2022

doi: 10.15389/agrobiology.2023.1.114eng

Abstract

In 2021, the global market for ecdysterone-containing substances amounted to \$100 billion and is expected to grow significantly in the next 5 years. The aboveground and underground parts of *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iiin are primarily suitable to obtain ecdysterone-containing products of pharmaceutical quality. However, both in Russia and abroad, common technologies for *R. carthamoides* cultivation and study are not focused on the quality of the medicinal raw materials. In this paper, we have implemented for the first time an alternative technology for the production of ecdysterone-containing substance from the leaf parts of *R. carthamoides*. The technology is simple and can be scaled up in agropopulations of the Northern European Russia and meets the key requirements for industrial raw materials and end ecdysterone products set by international experts. Our goal was to summarize 32 years of experience in growing *R. carthamoides* on a plantation located in the European Northeast of Russia (Arkhangelsk Province). We assessed the potential for longevity and productivity of the agricultural population by life cycle stages and age, the regularities of ecdysterone accumulation in annually harvested aboveground plant parts, and the quality of obtained plant raw material for the content of standardized substances. The study was performed in the southeast of the Arkhangelsk Province (the Middle Taiga subzone, Kotlass District; 61°20'N, 47°E) in an agropopulation of *R. carthamoides* (the field area of 1 ha) in 1989-2022. The seeds obtained from the Botanical Garden of the Komi Scientific Center, UB RAS (Syktyvkar) were initially originated from the Altai natural population (first collected in 1956). Autumn sowing was performed in mid-October after the beginning of autumn frosts (row spacing of 70 cm, seed embedding depth of 2-3 cm, seed rate of 2.7 kg/ha; 58 % field germination of seeds). Mineral fertilizers (NPK₆₀₋₉₀) were applied during the first three years after sowing followed by organic farming without use of mineral and organic fertilizers, chemical pesticides, and plant growth regulators. The aboveground parts were annually harvested during budding. A set of population, agrochemical, morphoanatomical, biochemical and statistical methods were used to assess parameters of the plant population (age states in ontogenesis, population density, gross production of above-ground and under-ground organs, seed yield) and individual plants (growth, development, morphological structure, productivity of roots, leaves, and seeds). Samples were collected at optimal phases of plant development, the aboveground phytomass during budding (I-II decade of June), rhizomes in autumn, after the end of vegetation (October), or in early spring, before the beginning of vegetation (April). Shortened vegetative (rosette) and stem generative (reproductive) shoots with inflorescences were morphologically heterogeneous organs separated in the aboveground part. Industrial harvesting of plant raw materials was carried out in late May-early June, during budding. Plant material (organs, elements and fractions) was dried at 23-25 to 35-40 °C and relative humidity of 25-40 % in accordance with the procedure for harvesting and drying medicinal raw materials. The samples of air-dry raw materials for further determination of the content of primary and secondary metabolites were formed by quartering method. The amount of ecdysterone in dry samples was determined by reverse phase high performance liquid chromatography with the internal standards (a liquid microcolumn chromatograph Milichrom-5, column 80×2 mm, Nucleosil C18 sorbent with a particle size of 5 µm; LLC «Medicant», Russia). Potentially dangerous substances were also assessed. Duration of agropopulation ontogenesis was close to parameters of natural populations in subalpine meadows and is more than 30 years without transition to senile age on the 33rd year of life, plant density reached optimum values of 28-23 thousand pcs/ha, starting from the 3-4 years of life. Diseases and pests did not affect vegetative

aboveground mass and roots with rhizomes. The average root mass with rhizomes during the period of relatively stable mass production (from the 5th to the 32nd year of life) was 246.3 g/plant, aboveground mass was 223.4 g/plant. Calculated annual productivity of the agropopulation during the same period averaged approximately 5300 kg/ha for aboveground parts, and approximately 6100 kg/ha for underground parts. Vegetative type of reproduction was most pronounced for subsenile age state (from the 13th to the 32nd year and onwards), when seed production was extremely low, 1.3 kg/ha. The seed type of reproduction was characteristic of the generative period from years 4-5 (8-30 kg/ha) with a peak during years 6-7 (108 and 78 kg/ha). In general, the percent of generative shoots in total plant biomass was insignificant throughout the life cycle. Ecdysterone biosynthesis and accumulation in the leaves of rosette shoots were directly related to vegetative reproduction, namely to the aboveground mass value ($R^2 = 0,768$, or close to 80 %). More than 90 % of annually synthesized ecdysterone (22 kg/ha) was concentrated in the aboveground part of plants at optimal harvesting age (from year 5 to year 32), or about 600 kg of ecdysterone for 27 years of operation. Qualitative indicators of medicinal raw materials from leaves of *R. carthamoides* were high and met the requirements for the manufacture of pharmaceuticals with a relative purity of ecdysterone 97 %. The plant material met all the regulatory requirements of the supervisory authorities. The levels of heavy metals (Hg, Cd, As, Zn; Ni, Cu, Cr) did not exceed the permissible level, there were no prohibited organochlorine and phosphorus compounds, the content of radionuclides ^{90}Sr and ^{137}Cs and nitrites were below the permissible limit. Ecdysterone from the dried flour of the *R. carthamoides* leaves was well extracted into aqueous and alcohol solutions and was well preserved (up to 93-98 % within 24 hours) without preservatives. Its use significantly improved animal health (a 1.6-2.5-fold decrease in mortality), had an anabolic and economic effects (i.e., a 24-33 % higher daily weight gain and a decrease in feed consumption by 11-17 %).

Keywords: phytoecdysteroids, 20-hydroxyecdysone, *Rhaponticum carthamoides*, *Leuzea safflower*, maral root, feed additives, anabolic substances.

REFERENCES

1. *Rhaponticum carthamoides*. V knige: *Rastitel'nye resursy SSSR. Tsvetkovye rasteniya, ikh khimicheskiy sostav, ispol'zovanie. Semeystvo Asteraceae (Compositae)* /Otvetsvennyy redaktor P.D. Sokolov [In: Plant resources of the USSR. Flowering plants, their chemical composition and use. Family *Asteraceae (Compositae)*. P.D. Sokolov (ed.)]. St. Petersburg, 1993, iss. 7: 161-163 (in Russ.).
2. Hidalgo O., Garcia-Jacas N., Garnatje T., Susanna A. Phylogeny of *Rhaponticum (Asteraceae, Carduaceae-Centaureinae)* and related genera inferred from nuclear and chloroplast DNA sequence data: taxonomic and biogeographic implications. *Annals of Botany*, 2006, 97(5): 705-714 (doi: 10.1093/aob/mcl029).
3. *Rhapontici carthamoides rhizomata cum radicibus*. V knige: *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii* [In: State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. XIV edition. Moscow, 2018, Vol. 4: 6360-6368 (in Russ.).
4. *Rhapontici carthamoides folium* (Leuzea leaf). V knige: *Gosudarstvennaya Farmakopeya Respubliki Belarus'* [In: State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus]. 2nd edition. Molodechno, 2016, Vol. 2: 1257-1258 (in Russ.).
5. 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: 10.1016/j.jep.2020.113685).
6. 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: 10.3390/plants11010064).
7. Liu X.X., Chen C.Y., Li L., Guo M.M., He Y.F., Meng H., Dong Y.M., Xiao P.G., Yi F. Bibliometric study of adaptogens in dermatology: pharmacophylogeny, phytochemistry, and pharmacological mechanisms, drug design. *Development and Therapy*, 2023, 17: 341-361 (doi: 10.2147/DDDT.S395256).
8. Głazowska J., Kamiński M.M., Kamiński M. Chromatographic separation, determination and identification of ecdysteroids: focus on maral root (*Rhaponticum carthamoides*, *Leuzea carthamoides*). *Journal of Separation Science*, 2018, 41(23): 4304-4314 (doi: 10.1002/jssc.201800506).
9. Dinan L., Diogh 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: 10.3390/biomedicines9050492).
10. Lafont R., Dilda P., Diogh W., Dupont P., Signore S.D., Veillet S. *20-hydroxyecdysone extract of pharmaceutical quality, use and preparation thereof. Patent France FR 3065644A1. Publ. 2020-02-21.*
11. Lafont R., Serova M., Didry-Barca B., Raynal S., Guibout L., Dinan L., Veillet S., Latil M., Diogh W., Dilda P.J. 20-Hydroxyecdysone activates the protective arm of the RAAS via the MAS receptor. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2021, 68(2): 77-87 (doi: 10.1530/JME-21-0033).
12. Latil M., Camelo S., Veillet S., Lafont R., Dilda P.J. Developing new drugs that activate the protective arm of the renin-angiotensin system as a potential treatment for respiratory failure

- in COVID-19 patients — review. *Drug Discovery Today*, 2021, 26(5): 1311-1318 (doi: 10.1016/j.drudis.2021.02.010).
13. Sláma K. Vitamin D1 versus ecdysteroids: growth effects on cell regeneration and malignant growth in insects are similar to those in humans. *European Journal of Entomology*, 2019, 116: 16-32 (doi: 10.14411/eje.2019.003).
 14. Slama K. Approaching a time we can prevent pernicious malignant tumors? Mini review. *EC Pharmacology and Toxicology*, 2020, 8(3): 01-09.
 15. Shuvalov O., Fedorova O., Tananykina E., Gnennaya Y., Daks A., Petukhov A., Barlev N.A. An arthropod hormone, ecdysterone, inhibits the growth of breast cancer cells via different mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 561537 (doi: 10.3389/fphar.2020.561537).
 16. Panossian A.G., Efferth T., Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Kuchta K., Mukherjee P.K., Banerjee S., Heinrich M., Wu W., De-An Guo D.A., Wagner H. Evolution of the adaptogenic concept from traditional use to medical systems: pharmacology of stress- and aging-related diseases. *Medicinal Research Reviews*, 2021, 41(1): 630-703 (doi: 10.1002/med.21743).
 17. Isenmann E., Ambrosio G., Joseph J.F., Mazzarino M., Torre X., Zimmer Ph., Kazlauskas R., Goebel C., Botre F., Diel P., Parr M.K. Ecdysteroids as non-conventional anabolic agent: performance enhancement by ecdysterone supplementation in humans. *Archives of Toxicology*, 2019, 93: 1807-1816 (doi: 10.1007/s00204-019-02490-x).
 18. Parr M.K., Müller-Schöll A. Pharmacology of doping agents — mechanisms promoting muscle hypertrophy (review). *AIMS Molecular Science*, 2018, 5(2): 131-159 (doi: 10.3934/molsci.2018.2.131).
 19. Parr M.K., Ambrosio G., Wuest B., Mazzarino M., Torre X., Sibilia F., Joseph J.F., Diel P., Bottrè F. Targeting the administration of ecdysterone in doping control samples. *Forensic Toxicology*, 2020, 38: 172-184 (doi: 10.1007/s11419-019-00504-y).
 20. Marciniak A., Nemeček S., Walczak K., Walczak P., Merksiz K., Grzybowski Ja., Grzywna N., Jaskuła K., Orłowski W. Adaptogens — use, history and future. *Quality in Sport*, 2023, 9(1): 19-28 (doi: 10.12775/QS.2023.09.01.002).
 21. *World anti-doping code. International standard. Prohibited List 2023*. Available: https://www.wada-ama.org/sites/default/files/2022-09/2023list_en_final_9_september_2022.pdf. Accessed: 10.05.2022.
 22. Ivanovskiy A.A., Timofeev N.P., Ermolina S.A. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*, 2019, 20(4): 387-397 (doi: 10.30766/2072-9081.2019.20.4.387-397) (in Russ.).
 23. Timofeev N.P. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*, 2021, 22(6): 804-825 (doi: 10.30766/2072-9081.2021.22.6.804-825) (in Russ.).
 24. Bathori M., Toth N., Hunyadi A., Marki A., Zador E. Phytoecdysteroids and anabolic-androgenic steroids — structure and effects on humans. *Current Medicinal Chemistry*, 2008; 15(1): 75-91 (doi: 10.2174/092986708783330674).
 25. Lafont R., Dinan L. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: and update. *Journal of Insect Science*, 2003, 3(7): 1-30 (doi: 10.1673/031.003.0701).
 26. Hornok, S., Csorba, A., Kováts, D., Csörgő T., Hunyadi A. Ecdysteroids are present in the blood of wild passerine birds. *Scientific Reports*, 2019, 9: 17002 (doi: 10.1038/s41598-019-53090-9).
 27. *Ecdysterone market, by type (0.95, 0.98, other), by application (pharma & healthcare, cosmetic & skin care, other), by region (North America, Europe, Asia Pacific, Middle East & Africa, and South America) — Market Size & Forecasting To 2028. Report Code: CH2066906. Quince Market Insights. Hadapsar, Pune, India, 2021*. Available: <https://www.quincemarketinsights.com/industry-analysis/ecdyserone-marke>. Accessed: 10.05.2022.
 28. Ambrosio G., Wirth D., Joseph J.F., Mazzarino M., Torre X., Botre F., Parr M.K. How reliable is dietary supplement labelling? Experiences from the analysis of ecdysterone supplements. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2020, 177: 112877 (doi: 10.1016/j.jpba.2019.112877).
 29. Tóth G., Herke I., Gáti T., Vágvölgyi M., Berkecz R., Parfenova L.V., Ueno M., Yokoi T., Nakagawa Y., Hunyadi A.A Commercial extract of *Cyanotis arachnoidea* roots as a source of unusual ecdysteroid derivatives with insect hormone receptor binding activity. *Journal of Natural Products*, 2021, 84(7): 1870-1881 (doi: 10.1021/acs.jnatprod.0c01274).
 30. Hunyadi A., Herke I., Lengyel K., Báthori M., Kele Z., Simon A., Tóth G., Szendrei K. Ecdysteroid-containing food supplements from *Cyanotis arachnoidea* on the European market: evidence for spinach product counterfeiting. *Scientific Reports*, 2016, 6: 37322 (doi: 10.1038/srep37322).
 31. Kraiem S., Al-Jaber M.Y., Al-Mohammed H., Al-Menhali A.S., Al-Thani N.J., Helaleh M., Samsam W., Touil S., Beotra A., Georgakopoulos C., Bouabdallah S., Mohamed-Ali V., Al Maadheed M. Analytical strategy for the detection of ecdysterone and its metabolites in vivo in uPA(+/-)-SCID mice with humanised liver, human urine samples and estimation of prevalence of its use in anti-doping samples. *Drug Testing and Analysis*, 2021, 13(7): 1341-1353 (doi: 10.1002/dta.3032).
 32. *20-Hydroxyecdysone. Product No H5142 (≥93 %, HPLC, powder). 2022*. Available: <https://www.sigmaaldrich.com/RU/en/product/sigma/h5142>. Accessed: 10.05.2022.
 33. Timofeev N.P. Achievements and problems in investigation of biology in medicinal herbs of *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin and *Serratula coronata* L. (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2007, 3: 3-17 (doi: 10.15389/agrobiology.2007.3.3rus) (in Russ.).

34. Dinan L., Balducci C., Guibout L., Foucault A.-S., Bakrim A., Kumpun S., Girault J.-P., Tourette C., Dioh W., Dilda P.J., Veillet S., Lafont R. Ecdysteroid metabolism in mammals: The fate of ingested 20-hydroxyecdysone in mice and rats. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2021, 212: 105896 (doi: 10.1016/j.jsbmb.2021.105896).
35. *A double-blind, placebo controlled, randomized interventional clinical trial (SARA-INT) (SARA-INT)*. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT0345248. Available: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03452488>. Accessed: 10.05.2022.
36. Timofeev N.P. *International Agricultural Journal*, 2021, 64(6): 46-112 (doi: 10.24412/2588-0209-2021-10384) (in Russ.).
37. 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: 10.2903/j.efsa.2012.2663).
38. Das N., Mishra S.K., Bishayee A., Ali E.S., Bishayee A. The phytochemical, biological, and medicinal attributes of phytoecdysteroids: an updated review. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2021, 11(7): 1740-1766 (doi: 10.1016/j.apsb.2020.10.012).
39. Zhang X.-P., Zhang J., Dong M., Zhang M.-L., Huo C.-H., Shi Q.-W., Gu Y.-C. Chemical constituents of plants from the genus *Rhaponticum*. *Chemistry & Biodiversity*, 2010, 7(3): 594-609 (doi: 10.1002/cbdv.200800275).
40. Carasso V., Mucciarelli M., Dovana F., Müller J.V. Comparative germination ecology of two endemic *Rhaponticum* species (*Asteraceae*) in different climatic zones of the Ligurian and Maritime Alps (Piedmont, Italy). *Plants*, 2020, 9(6): 708 (doi: 10.3390/plants9060708).
41. Timofeev N.P., Punegov V.V., Bindasova T.N. V sbornike: *Khimiya i tekhnologiya rastitel'nykh veshchestv* [In: Chemistry and technology of plant substances]. Syktyvkar, 2022: 197-197 (in Russ.).
42. *Tekhnicheskiiy reglament Tamozhennogo soyuza. TR TS № 021/2011 «O bezopasnosti pishchevoy produktsii»*. Reshenie KTS ot 09.12.2011 № 880, v red. ot 14.07.2021 [Technical regulations of the Customs Union. TR CU No. 021/2011 "On food safety". Decision of the CCC dated 12/09/2011 No. 880, amended 07/14/2021]. Astana, Kazakhstan (in Russ.).
43. Barnaulov O.D. *Traditsionnaya meditsina*, 2015, 3: 52-56 (in Russ.).
44. 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: 10.1111/j.2042-7158.2011.01349.x).
45. Girault J.-P., Lafont R., Varga E., Hajdu Zs., Herke I., Szendrei K. Ecdysteroids from *Leuzea carthamoides*. *Phytochemistry*, 1988, 27(3): 737-741 (doi: 10.1016/0031-9422(88)84085-8).
46. Bili A.Sh., Meyer M., Sheval'e K., Lorensen L., Fol'er N., Roller M., Birtik S., Fansa-Berton P.E.R., Fal'ko L.D. *Kompozitsii i sposoby dlya uluchshennogo myshechnogo metabolizma. Patent RU 2730853 C2. NATUREKS SA. Frantsiya. Zayavl. 03.02.2016. Opubl. 26.08.2020. Byul. № 24* [Substances and methods to improve muscle metabolism. Patent RU 2730853 C2. NATUREX SA. France. Appl. 02/03/2016. Published 08/26/2020. Bull. No. 24] (in Russ.).
47. Piš J., Buděšínský M., Vokáč K., Laudová V., Harmatha J. Ecdysteroids from the roots of *Leuzea carthamoides*. *Phytochemistry*, 1994, 37(3): 707-711 (doi: 10.1016/S0031-9422(00)90343-1).
48. Mamatkhanov A.U., Shamsutdinov M.-R., Shakirov T.T. *Khimiya prirodnykh soedineniy*, 1980, 5: 528-529 (in Russ.).
49. Baltaev U.A., Abubakirov N.K. *Khimiya prirodnykh soedineniy*, 1987, 5: 681-684 (in Russ.).
50. Vokáč K., Buděšínský M., Harmatha J. Minor ecdysteroid components of *Leuzea carthamoides*. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 2002, 67(1): 124-139 (doi: 10.1135/cccc20020124).
51. Timofeev N.P., Lapin A.A., Zelenkov V.N. Quality assessment of *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin as medicinal raw material by the bromic antioxidant capacity estimation. In: *Functional foods for chronic diseases. The modern day cure without the side effects of traditional treatments*. D.M. Martirosyan (ed.). Richardson (Texas, USA), D&A Incorporated, 2006: 164-172. Accessed: 10.05.2022.
52. *Protokol issledovaniya na sodержanie ekdisteroidov № 18 ot 31.03.2021 g.* Syktyvkar, IB FITs Komi NTs UrO RAN. Available: https://leuzea.ru/pdf/drug_leuzea-p_from_the_pharmacacy.pdf. No date (in Russ.).
53. Sevko D.A. *Kontsentrirovaniye i opredeleniye fitosteroidov s pomoshch'yu molekulyarno-imprintirovannykh sorbentov i tandemnoy mass-spektrometrii vysokogo razresheniya. Avtoreferat kandidatskoy dissertatsii* [Concentration and determination of phytosteroids using molecularly imprinted sorbents and high resolution tandem mass spectrometry. PhD Thesis]. Moscow, 2016 (in Russ.).
54. Potanin G.N. *Ocherki Severo-zapadnoy Mongolii: rezul'taty puteshestviya, ispolnennyye v 1876-1877 g. po porucheniyu Imp. Rus. geogr. o-va chl. sotr. onogo G.N. Potaninym. Vyp. 4. Materialy etnograficheskije* [Essays on North-Western Mongolia: the results of a journey completed in 1876-1877 by member-employee G.N. Potanin on behalf of Imp. Rus. geogr. society. Issue. 4. Ethnographic materials]. St. Petersburg, 1883: 188-189 (in Russ.).
55. Postnikov B.A. *Maraliy koren' i osnovy vvedeniya ego v kul'turu* [Maral root and the basics of its introduction into culture]. Novosibirsk, 1995 (in Russ.).
56. Terekhin A.A., Vandyshev V.V. *Tekhnologiya vozdeystviya lekarstvennykh rasteniy* [Technology

- of cultivation of medicinal plants]. Moscow, 2008 (in Russ.).
57. Galambozi B., Kirakosyan G.M., Luzhanin V.G., Flisyuk E.V., Makarov V.G., Pozharitskaya O.N., Shikov A.N. *Vyrashchivanie efiromaslichnykh i lekarstvennykh rasteniy v usloviyakh Severa: monografiya* [Growing essential oil plants and medicinal plants in the conditions of the North: monograph]. St. Petersburg, 2018 (in Russ.).
 58. Kubentaev S.A., Danilova A.N. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2017, 37: 31-46 (in Russ.).
 59. Timofeev N.P. *Rastitel'nye resursy*, 2006, 42(2): 17-36 (in Russ.).
 60. Timofeev N.P. Ecological relations of the agropopulations of ecdysteroid-containing plants *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin and *Serratula coronata* L. with the insects-phytophagans. Report 1. *Contemporary Problems of Ecology*, 2009, 2(5):489-500 (doi: 10.1134/S1995425509050166).
 61. Timofeev N.P. Composition variability of phytoecdysteroids in agrocenoses and their role in the vulnerability of plants to phytophagans. Report 2. Ecological relations of the agropopulations of ecdysteroid-containing plants *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin and *Serratula coronata* L. with the insects-phytophagans. *Contemporary Problems of Ecology*, 2009, 2(6): 531-541 (doi: 10.1134/S1995425509060071).
 62. Baù A., Bottex B. EFSA's compendium of botanicals. *Zenodo*, 2018. (doi: 10.5281/zenodo.1212388).
 63. Yang J., Wang, L. Safety pharmacology and toxicity study of herbal medicines. In: *Traditional herbal medicine research methods: identification, analysis, bioassay, and pharmaceutical and clinical sciences*. W.J.H. Liu (ed.). Wiley, 2011 (doi: 10.1002/9780470921340.ch7).
 64. Brown A.C. An overview of herb and dietary supplement efficacy, safety, and government regulation in the United States with suggested improvements. Part 1 of 5 series. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 107(Part A): 449-471 (doi: 10.1016/j.fct.2016.11.001).
 65. Brown A.C. Liver toxicity related to herb and dietary supplements: online table of medical case reports. Part 2 of 5 series. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 107(Part A): 472-501 (doi: 10.1016/j.fct.2016.07.001).
 66. Brown A.C. Kidney toxicity related to herb and dietary supplements: online table of medical case reports. Part 3 of 5 series. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 107(Part A): 502-519 (doi: 10.1016/j.fct.2016.07.024).
 67. Brown A.C. Heart toxicity related to herb and dietary supplements: online table of case reports. Part 4 of 5. *Journal of Dietary Supplements*, 2018, 15(4): 516-555 (doi: 10.1080/19390211.2017.1356418).
 68. Brown A.C. Cancer related to herbs and dietary supplements: online table of case reports. Part 5 of 5. *Journal of Dietary Supplements*, 2018, 15(4): 556-581 (doi: 10.1080/19390211.2017.1355865).
 69. *IPNI (International Plant Names Index)*. Available: <https://www.ipni.org/>. Accessed: 10.05.2022.
 70. Mamaev S.A. V kn.: *Individual'naya i ekologo-geograficheskaya izmenchivost' rasteniy. Trudy Instituta ekologii rasteniy i zhivotnykh UNTs AN SSSR. Tom 94* [In: Individual and ecogeographical variability of plants. Proceedings of the Institute of Plant and Animal Ecology, UNC, USSR Academy of Sciences. Vol. 94]. Sverdlovsk, 1975: 3-14 (in Russ.).
 71. *Ecdybase: The ecdysone handbook*. R. Lafont, J. Harmatha, F. Marion-Poll, L. Dinan, I.D. Wilson (eds.). Available: <https://ecdybase.org/>. Accessed: 10.05.2022.
 72. Polozhiy A.V., Nekratova N.A. V knige: *Biologicheskie osobennosti rasteniy Sibiri, nuzhdayushchikhsya v okhrane* [In: Biological features of Siberian plants in need of protection]. Novosibirsk, 1986: 198-226 (in Russ.).
 73. Myrzangalieva A.B., Samarkhanov T.N. *Vestnik Evraziyskogo natsional'nogo universiteta imeni L.N. Gumileva. Seriya Biologicheskie nauki*, 2018, 124(3): 55-64 (in Russ.).
 74. Matolinets D.A., Voloshin V.A. *Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki*, 2017, 47(6): 66-72 (doi: 10.26898/0370-8799-2017-6-9) (in Russ.).
 75. Maysak G.P., Matolinets D.A. *Kormoproizvodstvo*, 2021, 2: 32-35 (in Russ.).
 76. Crouzet S., Maria A., Dinan L., Lafont R., Girault J.-P. Ecdysteroids from *Cyanotis longifolia* Benth. (*Commelinaceae*). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2009, 72(4): 194-209 (doi: 10.1002/arch.20329).
 77. Kokoska L., Janovska D. Chemistry and pharmacology of *Rhaponticum carthamoides*: a review. *Phytochemistry*, 2009, 70(7): 842-855 (doi: 10.1016/j.phytochem.2009.04.008).
 78. Timofeev N.P. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*, 2022, 23(4): 480-495 (doi: 10.30766/2072-9081.2022.23.4.480-495) (in Russ.).
 79. Timofeev N.P. *Materialy III Mezhdunarodnoy konferentsii po selektsii, tekhnologii vozdeleyvaniya i pererabotki netraditsionnykh rasteniy* [Proceedings of III International Conference on breeding, cultivation technology and processing of non-traditional plantsных растений]. Simferopol', 1994: 166-167 (in Russ.).
 80. Kratky F., Opletal L., Hejhalek J., Kucharova S. Effect of 20-hydroxyecdysone on the protein synthesis of pigs. *Zivocisna Vyroba*, 1997, 42: 445-451.