

ANDRZEJ BAJGUZ

Zakład Biochemii, Instytut Biologii

Uniwersytet w Białymstoku

Świerkowa 20 B, 15-950 Białystok

e-mail: abajguz@noc.uwb.edu.pl

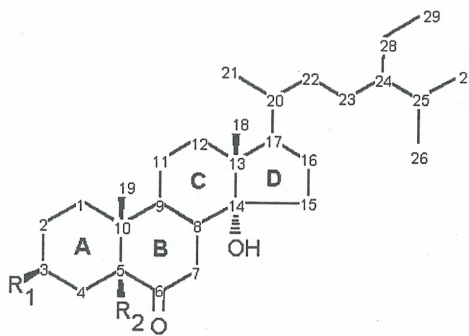
EKDYSTEROIDY W ROŚLINACH

WYSTĘPOWANIE EKDYSTEROIDÓW U ROŚLIN

W roku 1954 Adolf Butenandt i Peter Karlson wyizolowali 25 mg ekdyzonu z 500 kg larw jedwabnika morwowego (*Bombyx mori*). Jednak dopiero w 1965 roku Karlson określił strukturę chemiczną ekdyzonu — hormonu linienia owadów i innych bezkręgowców. Okazało się, że jest to związek polihydroksysteroidowy o szkieletie węglowym cholesterolu (Ryc. 1). Jego nazwa ekdyzon pochodzi od greckiego słowa „ecdysis” — linienie. Obecnie wiadomo, że u większości gatunków owadów najbardziej aktywną, funkcjonalną formą hormonu jest 20-hydroksyekdyzon (HORN 1989).

W 1966 roku po raz pierwszy stwierdzono u roślin obecność ekdysteroidów — strukturalnych analogów ekdyzonu. Z liści zatrzałinu (*Podocarpus nakaii*) wyizolowano ponasterony: A, B, C i D (NAKANISHI i współaut. 1966). W chińskiej medycynie zatrzałin znany jest pod nazwą „Pai-ju-chin” i jest stosowany w leczeniu nowotworów. Po ustaleniu struktury chemicznej ponasteronu A okazało się, że jest on analogiem ekdyzonu i posiada podobną aktywność biologiczną (GRZYBEK 1976, HORN 1989). Ponadto w latach 1966–67 wyizolowano: 20-hydroksyekdyzon z kory *Podocarpus elatus* (GALBRAITH i HORN 1966), 20-hydroksyekdyzon i inokosteron z korzeni *Achyranthes faurieri* (TAKEMOTO i współaut. 1967) oraz polipodin A (czyli 20-hydroksyekdyzon) i polipodin B z kłącza paprotki zwyczajnej (*Polypodium vulgare*) (JIZBA i współaut. 1967) (Ryc. 2). Obecnie w ponad 250 gatunkach roślin i zwierząt stwierdzono występowanie ekdysteroidów. W związku z tym wyróżniane są fito- i zoekdysteroidy. Tylko nieliczne (około 10-ciu) z wyizolowanych ekdysteroidów posiadają aktywność biologiczną, pozostałe stanowią związki pośrednie lub metabolity w

biosyntezie ekdyzonu. Dotychczas u roślin wyizolowano około 100 typowych ekdysteroidów. Fitoekdysteroidy wyizolowano z korzeni, kłączy, łodygi, kory, liści, pylników, kwiatów, owoców oraz nasion. Stężenie fitoekdysteroidów waha się od kilku dziesiątych promila do kilku procent suchej masy odpowiedniej części rośliny

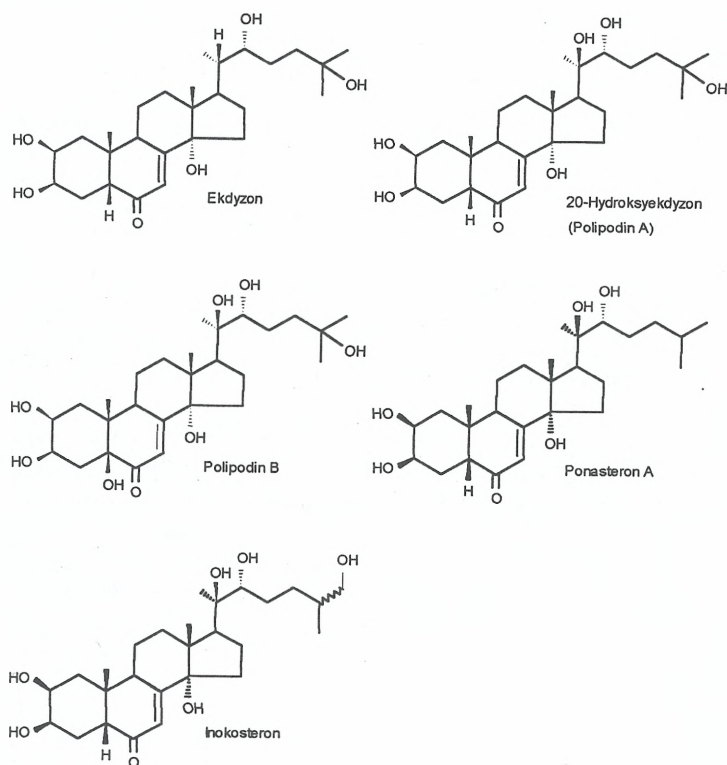


Ryc. 1. Ogólny wzór strukturalny ekdysteroidów ($R_1 = -OH$ lub O , $R_2 = -H$ lub $-OH$).

(LAFONT i HORN 1989). Jak dotąd najwyższe stężenie 20-hydroksyekdyzonu (3,2% suchej masy) zanotowano w suchej masie łodygi *Diploclisia glaucescens* (MILLER i współaut. 1985, BANDARA i współaut. 1989). Surowce roślinne są bardziej zasobne w ekdysteroidy w porównaniu do zwierzęcych. Przykładem są wyniki HOFFMEISTERA i współaut. (1967), którzy z 15 kg świeżych szpilek cisa pospolitego (*Taxus baccata*) wyizolowali 300 mg ekdyzonu, to jest 500 razy więcej, niż można uzyskać z tej samej ilości poczwarek jedwabnika morwowego. Najwyższe stężenie ekdysteroidów, które stwierdzono u owadów wy-

nosi 10^{-4} M, co stanowi około 0,025% suchej masy, podczas gdy u skorupiaków waha się w granicach 10^{-7} – 10^{-6} M (LAFONT i HORN 1989). Ekdysteroidy występują u wielu gatunków roślin naczyniowych, chociaż spotykane są u ro-

ślin niższych, takich jak: glony, grzyby czy paprotniki. Tabela 1 przedstawia występowanie ekdysteroidów u roślin z podziałem na ilość atomów węgla w strukturze chemicznej cząsteczki (LAFONT 1998).



Ryc. 2. Przykłady pierwszych ekdysteroidów wyizolowanych z roślin.

BUDOWA CHEMICZNA FITOEKDYSTEROIDÓW

Strukturę chemiczną ekdysteroidów stanowi steroidowy szkielet 5α -cholestanu, charakteryzujący się posiadaniem 6-ketonowego pierścienia B oraz grupy hydroksylowej w pozycji C-14 α (Ryc. 1).

Fitoekdysteroidy posiadają bardzo zróżnicowaną strukturę chemiczną (LAFONT 1998), która charakteryzuje się następującymi cechami:

1. ogólna liczba atomów węgla wynosi:

a) 27, 28, 29 lub 30 (gdyż ekdysteroidy są pochodnymi różnych fitosteroli);

b) 24, 21 lub 19 jako rezultat rozerwania łańcucha bocznego pomiędzy C-24/C-25, C-20/C-22 lub C-17/C-20 (podobne rozerwania łańcucha bocznego mają miejsce podczas formowania się kwasów żółciowych, kortykosteroidów i androgenów u kręgowców) (Ryc. 3);

2. występowaniem jednej z grup hydroksylowych przy atomach węgla w pozycjach: 3β -OH, 3α -OH lub ewentualnie 3-oksogrupy;

3. występowaniem grup hydroksylowych w szkieletie steroidowym przy węglach w pozycjach: C-1, C-2, C-5, C-11, C-12 i C-19;

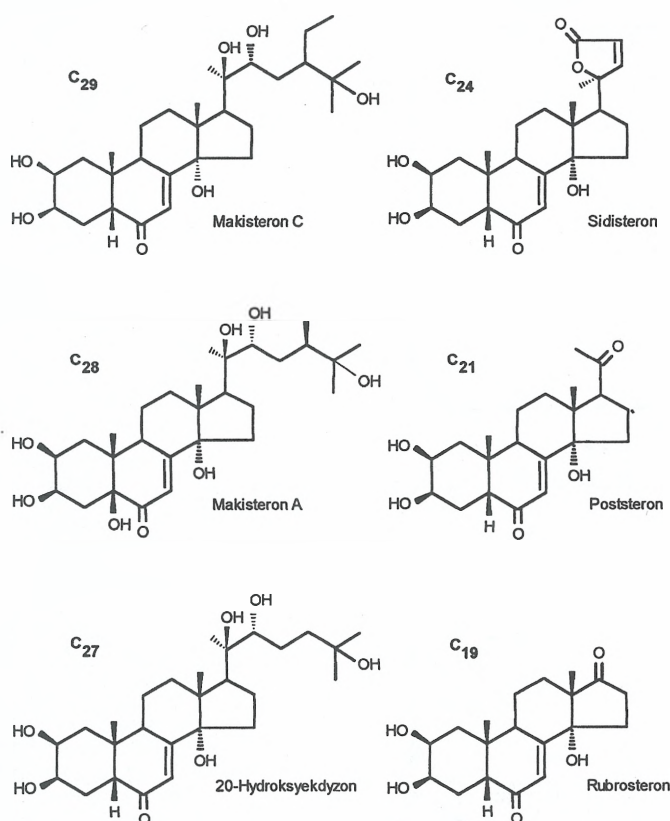
4. występowaniem grup hydroksylowych w łańcuchu bocznym w pozycjach: C-20, C-22, C-23, C-24, C-25, C-26/27 i niekiedy C-28 lub C-29;

5. przyłączaniem do C-2, C-3, C-20, C-22 lub C-25 kwasów: nieorganicznych (fosforowego, siarkowego), organicznych (octowego, benzoowego, cynamonowego, *p*-kumarowego), cukrów (galaktozy, glukozy, ksylazy) lub acetonidu (Ryc. 4);

6. występowaniem dodatkowego wiązania nienasyconego, np.: $\Delta^{9(11)}$, $\Delta^{24(25)}$, $\Delta^{25(26)}$ lub $\Delta^{24(28)}$.

Odstępstwem od tej klasyfikacji było wyizolowanie fitoekdysteroidów posiadających dodatkowy 5-, 6-członowy pierścień laktonowy wbudowany w łańcuch boczny. W tym przypadku laktony posiadają w swojej strukturze zarówno:

— grupę karboksylową przy C-26 oraz jedną grupę hydroksylową przy węglu C-22, C-28 lub C-29 (np. reptanosteron);



Ryc. 3. Przykłady ekdysteroidów o zróżnicowanym pod względem liczby atomów węgla łańcuchu bocznym.

— grupę karboksylową przy C-29 oraz grupę hydroksylową przy C-25 (np. kartamosteron);
 — grupę karboksylową przy C-24 oraz grupę hydroksylową przy C-20 (np. sidisteron) (Ryc. 5) (LAFONT 1998).

roślin przeważnie w stanie wolnym. Znane są jednak przykłady występowania w postaci związanej z innymi związkami, na przykład: ponasterozyd A (czyli 3-D-glukozyd ponasteronu A) wyizolowany z orlicy pospolitej (*Pteridium aquil-*

Tabela 1. Występowanie fitoekdysteroidów o różnej liczbie atomów węgla w cząsteczce (+, występowanie w 1 lub 2 gatunkach roślin; ++, występowanie u wielu gatunków roślin).

Grupy systematyczne	C ₁₉	C ₂₁	C ₂₄	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀
Glony (Algae)				+			
Grzyby (Mycophyta)				+	+		
Paprotniki (Pteridophyta)				+		+	
Nagozależkowe (Gymnospermae)				+		+	
Okrytozależkowe (Angiospermae)	+	+	+	+	+	+	+

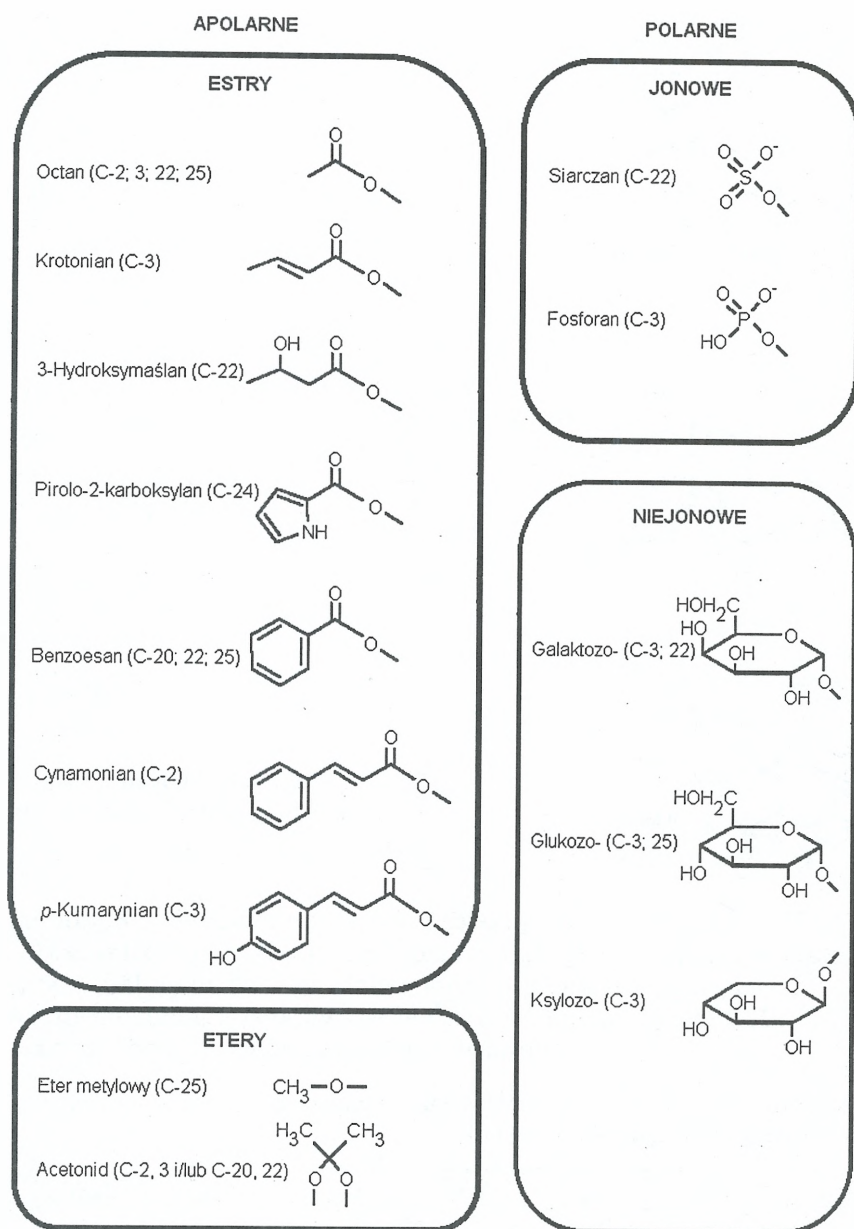
Fitoekdysteroidy cechują się strukturalnym podobieństwem z innymi grupami roślinnych steroidów: brassinosteroidów, witanolidów, kukurbitacyń czy saponin (CZERPAK 1993, LAFONT 1997, BAJGUZ 1999). Ekdysteroidy występują u

linum) (TAKEMOTO i współaut. 1968), witikosteron E (czyli octan ekdysteronu) z *Vitex megapota-mica* (RIMPLER 1969), blechnozyd A i B (czyli glukozyd 2-deoksyeckdyzonu) z podrzenia (*Blechnum minus*) (SUKSAMRARN i współaut. 1986).

BIOSYNTeza EKDYSTEROIDÓW U ROŚLIN

Biosynteza ekdysteroidów u roślin jest bardzo słabo poznana pomimo, że ekdysteroidy występują w komórkach roślinnych w 2–5-krotnie wyższych stężeniach niż u stawonogów.

Okazało się, że fito- i zoоекdysteroidy wykazują, obok podobieństwa strukturalnego, homologie w biosyntezie i metabolizmie. Jednakże u bezkręgowców ekdysteroidy stanowią jedyną grupę



Ryc. 4. Przykłady związków apolarnych i polarnych przyłączanych do ekdsterydów (numeracja atomów węgla w strukturze ekdsterydów, do których mogą być przyłączane odpowiednie związki) (według LAFONTA i HORN 1989, LAFONTA i współaut. 1994, LAFONTA 1998).

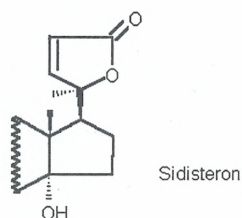
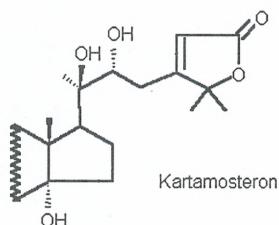
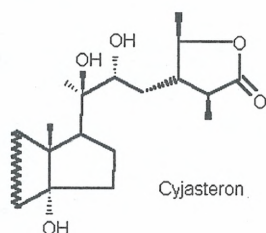
steroidowych hormonów, które poza kontrolą rozwoju osobniczego, to znaczy procesów związanych z linieniem i rozmnażaniem, bezpośrednio oddziałują na kształtowanie się morfogenezy i różnicowanie tkanek (GRZELAK 1994, ADLER i GREBENOK 1995, LAFONT 1997).

Hipotetyczny szlak biosyntezy ekdsterydów u roślin jest przedstawiony na rycinie 6. Mechanizm biosyntezy ekdsterydów został szczegółowo poznany u owadów. Przekształcenia kolejnych związków ekdsterydowych u roślin, jak i owadów katalizują monooksygenazy zależne od cytochromu P450, tlenu cząsteczkowego i NADPH (KAPLER i współaut. 1989; GRZELAK 1994; ADLER i GREBENOK 1995; GREBENOK i współaut. 1996; LAFONT 1997, 1998).

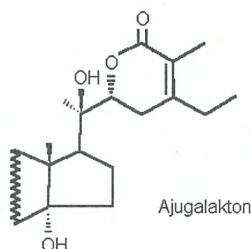
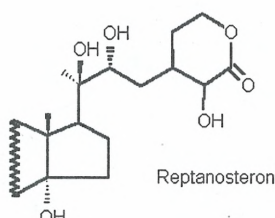
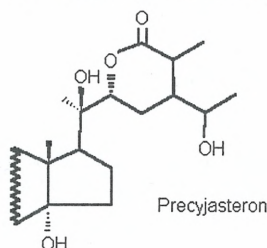
Przemianę cholesterolu do ekdsterydów stwierdzono u różnych gatunków zatrzałinu

(*Podocarpus elata* i *P. macrophyllus*) (SAUER i współaut. 1968, JOLY i współaut. 1969, HIKINO i współaut. 1970), paprotki zwyczajnej (DE SOUZA i współaut. 1970, COOK i współaut. 1973, DAVIES i współaut. 1980) oraz cisu pospolitego (DE SOUZA i współaut. 1969, COOK i współaut. 1973, LLOYD-JONES i współaut. 1973), u których następuje formowanie się 7-dehydrocholesterolu z cholesterolu. Obecnie rośliną modelową stosowaną w celu poznania szlaku biosyntezy ekdsterydów i jej regulacji podczas ontogenezy jest szpinak warzywny (*Spinacia oleracea*) (Ryc. 7). Bezpośrednim prekursorem w biosyntezie fitoekdsterydów jest kwas mewalonowy (MVA), który przekształca się w pirofosforan izopentenylu (IPP) poprzez skwalen ulega przemianom do cholesterolu. Następnie cholesterol ulega przekształceniu w latosterol, który po-

5-członowy pierścień laktonowy



6-członowy pierścień laktonowy



Ryc. 5. Przykłady ekdysteroidów posiadających dodatkowy 5- lub 6-członowy pierścień laktonowy wbudowany w łańcuch boczny (według LAFONTA i HORNA 1989, LAFONTA i współaut. 1998).

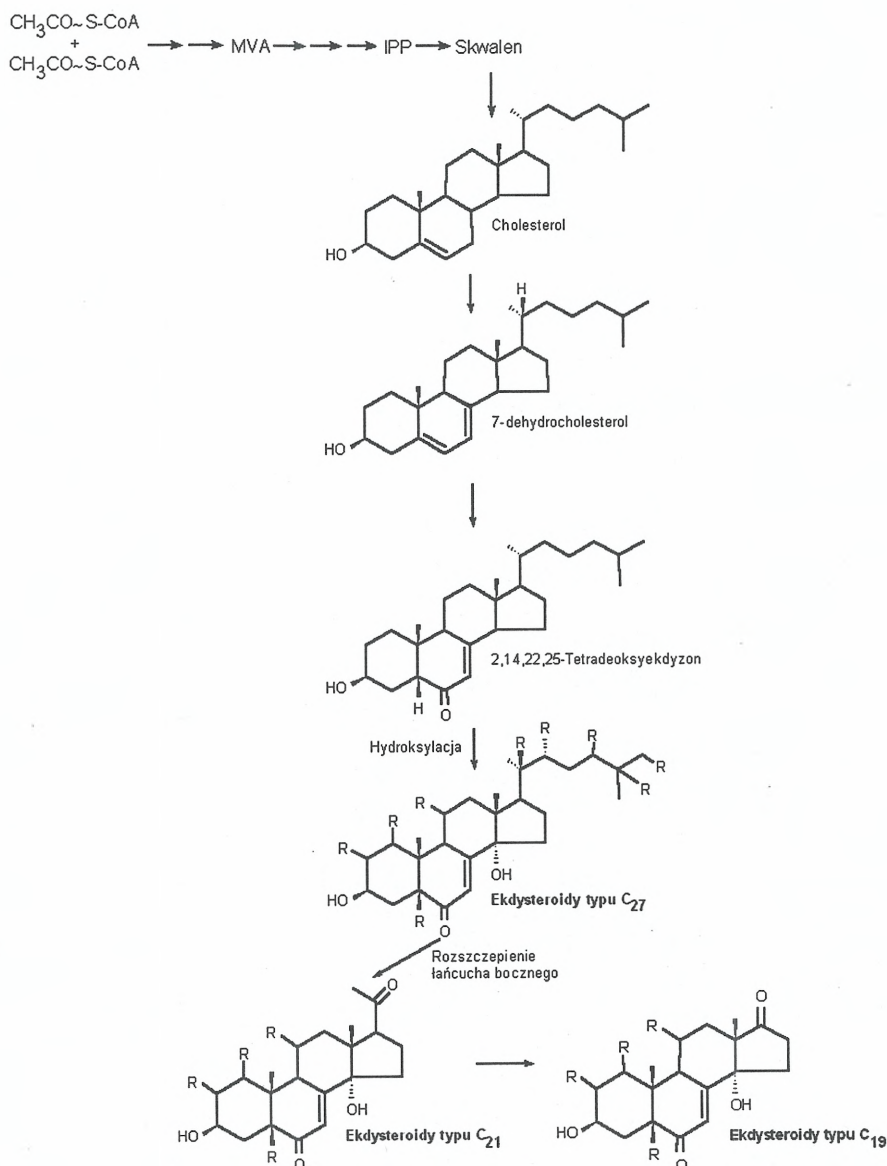
przez niezidentyfikowane dotąd związki pośrednie przechodzi w ekdyzon. Przemiany ekdyzonu do 20-hydroksyekdyzonu poprzez pochodną fosforanową katalizuje 20-monooksygenaza ekdyzonowa. Reakcja ta zależy od cytochromu

P450 oraz wymaga NADPH jako koenzymu. Aktywność tego enzymu związana jest zarówno z frakcją mikrosomalną, jak i mitochondrialną (GREBENOK i ADLER 1993; GREBENOK i współaut. 1994, 1996; ADLER i GREBENOK 1995).

REGULACJA METABOLIZMU EKDYSTEROIDÓW U ROŚLIN

Regulacja biosyntezy ekdysteroidów w szpinaku warzywnym odbywa się na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego fosforanowych pochodnych ekdysteroidów powstałych w wyniku przemian metabolicznych ekdyzonu (Ryc. 8a, b). W komórkach szpinaku warzywnego egzogenne podany ekdyzon (Ryc. 8a), bądź 2-dekso-20-hydroksyekdyzon (Ryc. 8b), włącza się w szlak biosyntezy ekdysteroidów, w którym jest metabolizowany poprzez 3-fosforan ekdyzonu do 20-hydroksyekdyzonu. Ten ostatni podlegając procesowi estryfikacji z fosforanami, jest na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego, metabolizowany do cholesterolu. Mechanizm tego procesu nie został jeszcze wyjaśniony. Z kolei nadmiar egzogennej ekdysteroidu po estryfikacji z fosforanami jest przekształcany również na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego w cholesterol (GREBENOK i ADLER 1991, 1993; GREBENOK i współaut. 1994; ADLER i GREBENOK 1995).

Cząsteczka 20-hydroksyekdyzonu podlega wielu reakcjom metabolicznym, które przedstawia Tabela 2. Z kolei ogólny schemat reakcji metabolicznych ekdyzonu zachodzących u roślin ilustruje rycina 9. Hydroksylacja ekdyzonu w pozycji C-20 powoduje jego aktywację do 20-hydroksyekdyzonu. Forma ta, podobnie jak u owadów, jest najbardziej aktywną biologicznie spośród ekdysteroidów występujących w komórkach roślinnych. Ekdyzon utleniany jest jedynie w pozycji C-3 do 3-dehydroekdyzonu, który z kolei może redukować się z powrotem do ekdyzonu lub do jego 3 α -epimeru. Enzymami biorącymi udział w 3-epimeryzacji ekdysteroidów są: oksydaza ekdyzonowa i 3 α -reduktaza 3-oksoekdysteroidowa. Oksydaza ekdyzonowa katalizuje przemianę ekdyzonu lub 20-hydroksyekdyzonu do 3-dehydroekdysteroidów (3-oksoekdysteroidów). 3 α -Reduktaza odpowiedzialna jest za przemianę 3-dehydroekdysteroidów do 3 α -epimerów, natomiast 3 β -reduktaza



Ryc. 6. Hipotetyczny szlak biosyntezy ekdysteroidów typu C_{27} , C_{21} , i C_{19} z częściowym uwzględnieniem szlaku biosyntezy cholesterolu (według ADLERA i GREBENOKA 1995; LAFONTA 1997, 1998).

katalizuje przemianę 3-dehydroekdysteroidów z powrotem do początkowego ekdysteroidu (ekdyzonu lub 20-hydroksyekdyzonu). Ponadto oba enzymy wymagają obecności w komórkach NADH i NADPH (Ryc. 10) (WEIRICH 1989). Konjugaty ekdyzonu powstają w wyniku reakcji estryfikacji najczęściej w pozycjach: C-2, C-3, C-20, C-22 lub C-25 z grupami związków przed-

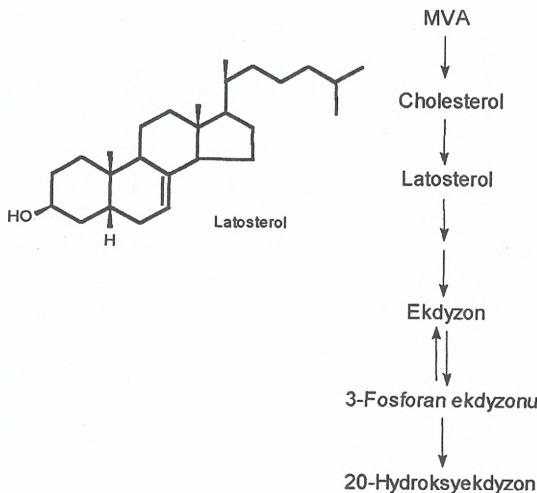
stawionych na rycinie 4. Z kolei w wyniku rozerwania łańcucha bocznego ekdyzonu w pozycjach: C-20/C-22, C-24/C-25, C-17/C-20 powstają między innymi: poststeron, rubrosteron (Ryc. 3) (LAFONT i CONNAT 1989, LAFONT i współaut. 1994, ADLER i GREBENOK 1995, GREBENOK i współaut. 1996).

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA EKDYSTEROIDÓW U ROŚLIN

W komórkach roślinnych podstawową rolę w transporcie fitoekdysteroidów pełnią rurki sitowe i plazmodesmy komórkowe. Ekdysteroidy, podobnie jak inne hormony, wędrują w organizmie w postaci wolnej, czyli aktywnej biologicznie, bądź nieaktywnej to znaczy związanej najczęściej z białkami, rzadziej z kwasami tłuszczowymi. Do wnętrza komórki fitoekdyste-

roidy mogą przenikać drogą dyfuzji lub na zasadzie transportu aktywnego z udziałem specyficznych przenośników białkowych (RIPA i współaut. 1990, GREBENOK i ADLER 1991, TOMÁS i współaut. 1993, DINAN 1998).

MATSUOKA i współaut. (1969) stwierdzili stosując testy biologiczne, że ponasteron A, 20-hydroksyekdyzon oraz inokosteron posiadają

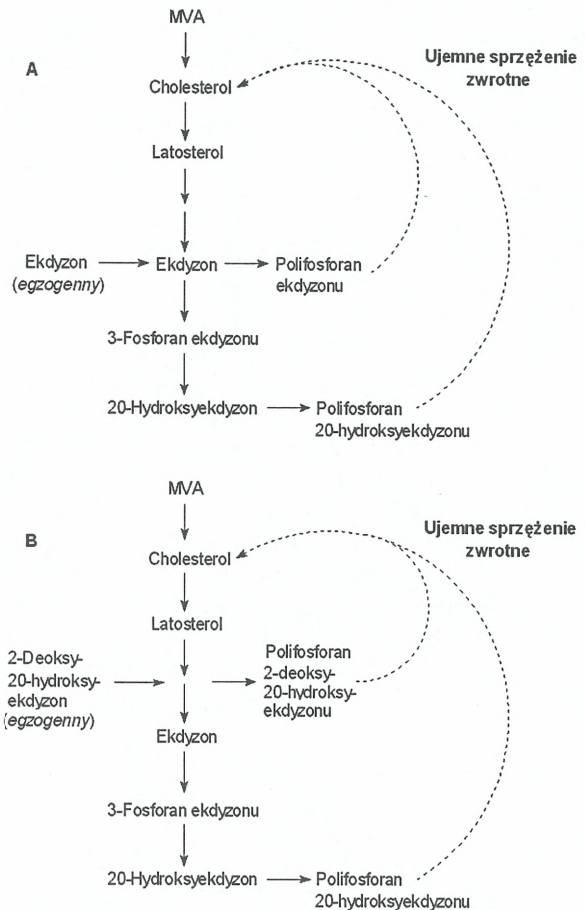


Ryc. 7. Szlak biosyntezy ekdysteroidów w szpinaku warzywnym (*Spinacia oleracea*) (według GREBENOKA i ADLERA 1993; GREBENOKA i współaut. 1994, 1996).

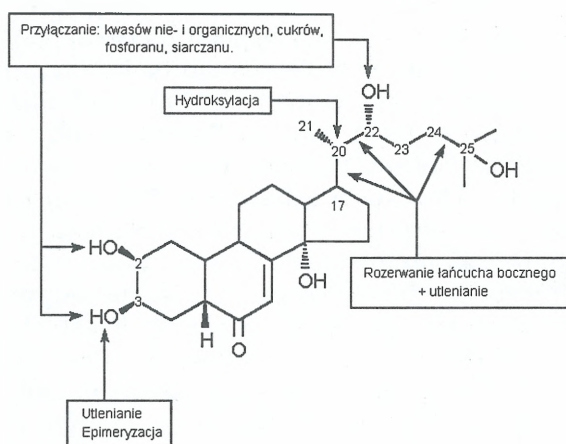
aktywność giberelino-podobną. Ekdysteroidy te stymulowały wzrost drugiego międzywęźla li-
Tabela 2. Przykłady reakcji metabolicznych 20-hydroksyekdyzonu u roślin.

Typ reakcji	Atomy węgla wchodzące w reakcje
Przylączenie grup hydroksylowych:	1, 5, 11, 19, 23, 24, 26
Odlączenie grup hydroksylowych:	2, 20, 22, 25
Utleńanie:	3, 22
Epimeryzacja:	3 α / β , 5 α / β
Podstawienie grupy alkilowej:	24 (metylowa, etylowa, metylenowa...)
Estryfikacja:	
— octanem:	2, 3, 22, 25
— benzoesanem:	20, 22, 25
— cynamonianem:	2
— kumarynianem:	3
— siarczanem:	22
Eteryfikacja:	
— międzycząsteczkowa:	między C-22 a C-25
— metoksyeterem:	25
— galaktozydami:	3, 22
— glikozydami:	3, 25
— acetonidami:	między C-2 a C-3, C-20 a C-22
Dehydratacja:	$\Delta^{9(11)}$, $\Delta^{24(25)}$, $\Delta^{25(26)}$
Rozerwanie łańcucha bocznego:	C-24/C-25, C-20/C-22, C-17/C-20
Obecność dodatkowego pierścienia laktonowego:	występuje zazwyczaj w ekdysteroidach typu: C ₂₈ lub C ₂₉

ścia oraz korzeni sadzonek ryżu siewnego (*Oryza sativa*). MACHÁČKOVÁ i współaut. (1995) poddali 20-hydroksyekdyzon testom biologicznym sprawdzającym aktywność następujących fitohormonów: auksyn (test wydłużenia liścienia pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum*), giberelin (test karłowatości kukurydzy (*Zea mays*) i ryżu), cytokinin (test wydłużeniowy kalusa tytoniu (*Nicotiana tabacum*)). Stwierdzono, że 20-hydroksyekdyzon nie wykazywał żadnej aktywności biologicznej w przeprowadzonych testach, za wyjątkiem nieznacznej aktywności giberelino-podobnej w sadzonkach ryżu. Jednocześnie związek ten nie posiadał aktywności synergistycznej czy antagonistycznej z giberelinami. Z kolei w teście wydłużeniowym hypokotyliu ogórka (*Cucumis sativus*), służącym do oznaczenia aktywności giberelin, 20-hydroksyekdyzon posiadał aktywność podobną do 24-epibrassinolidu — steroidowego hormonu roślinnego (DREIER i TOWERS 1988). Szczegółowe informacje



Ryc. 8. Metaboliczna konwersja egzogenego: A — ekdyzonu, B — 2-deoksy-20-hydroksyekdyzonu do fosforanowych pochodnych ekdyzonu oraz ich regulacyjny mechanizm na biosyntezę ekdysteroidów w szpinaku warzywnym (*Spinacia oleracea*) (według GREBENOKA i ADLERA 1993, GREBENOKA i współaut. 1994, ADLERA i GREBENOKA 1995).



Ryc. 9. Ogólny schemat reakcji metabolicznych ekdyzonu zachodzących w komórkach roślinnych (według LAFONTA i CONNATA 1989, LAFONTA i współaut. 1994, zmodyfikowany).

odnośnie aktywności antyekdyzonowej brasinosteroidów u owadów znajduje Czytelnik w artykule zamieszczonym na łamach KOSMOSU (BAJGUZ 1999).

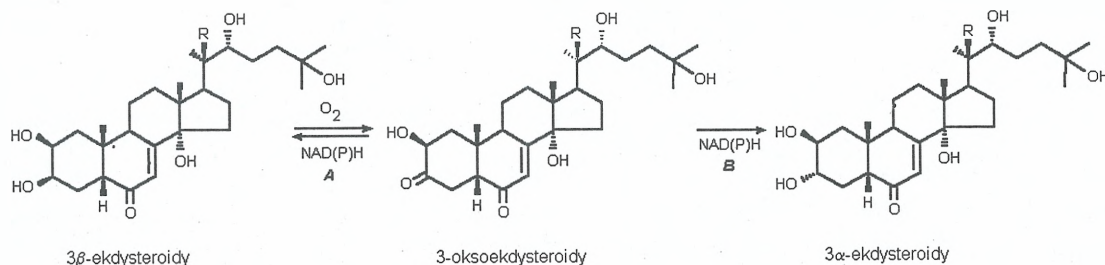
20-Hydroksyekdyzon nieznacznie stymuluje kwitnienie rzepnia pensylwańskiego (*Xanthium pennsylvanicum*) (JACOBS i SUTHERS 1971), podczas gdy działa hamująco na formowanie się kwiatów żeńskich dyni zwyczajnej (*Cucurbita pepo*) (FELIPPE 1980).

GRZYBEK (1983) stwierdził stymulujący wpływ fitoekdysteroidów na podziały mitotyczne w merystematycznych komórkach paprotki zwyczajnej. Ponadto ekdysteroidy nie wykazywały aktywności cytotoksycznej na rozwój eksperymentalnych nowotworów KB (*nasopharynx carcinoma*) i HeLa (*carcinoma cervicis uteri*) w hodowli *in vitro*. W badaniach przeciwgrzybiczej aktywności ekdysteroidów stwierdzono ich hamujący wpływ na rozwój *Candida guilliermondii*, *C. albicans*, *C. crusei*, *C. pseudotropicalis* oraz *C. tropicalis*. Również ekdysteroidy posiadały znaczną aktywność inhibicyjną na wzrost

Staphylococcus aureus sp., szczep oporny na wiele antybiotyków oraz na szczepy bakterii Gram-ujemnych. Uzyskane wyniki wskazują, że paprotka zwyczajna, zawierająca ekdysteroidy, jest potencjalnym źródłem substancji leczniczych o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych. Stymulacja podziałów mitotycznych przez ekdysteroidy może być wykorzystana w prowadzeniu roślinnych kultur tkankowych.

TAKASAKI i współaut. (1999) podjęli prace nad izolacją naturalnych roślinnych czynników antynowotworowych z dąbrowki (*Ajuga decumbens*). Kwitnące rośliny dąbrowki używane są w chińskiej i japońskiej medycynie ludowej jako środek przeciwzapalny, przeciwkaszlowy oraz wyksztusny. Wyizolowane fitoekdysteroidy, to znaczy cyjasteron i polipodin B wykazują silnie hamujący wpływ na indukcję wczesnego antygenu wirusa Epsteina-Barr powodującego rozwój komórek nowotworowych skóry u myszy. W badaniach *in vitro* nowotworowych komórek naskórka myszy cyjasteron powodował zahamowanie procesu karcenogenezy zainicjowanego przez 7,12-dimetylobenzantracen i 13-octan 12-O-tetradekanoiloforbolu. U ludzi infekcje wirusem Epsteina-Barr prowadzą do powstawania nowotworów typu chłoniaków, na przykład chłoniak Burkitta. Prawdopodobnie ekstrakty z kwitnącej *Ajuga decumbens* mogą służyć jako środki stosowane do chemoterapii antynowotworowej.

Fitoekdysteroidy charakteryzują się znacznie większą aktywnością biologiczną od zoekdysteroidów syntezowanych przez owady i niektóre skorupiaki. Fitoekdysteroidy po przedostaniu się z pokarmu do organizmów stawonogów nie ulegają inaktywacji bądź degradacji (GRZYBEK 1976). Przyczyną tego jest szkodliwe działanie ekdysteroidów roślinnych na rozwój owadów. Ekdysteroidy wprowadzone w nadmiarze, w odpowiednim momencie cyklu metamorfozy, do organizmów owadów wywołują śmiertelne zaburzenia w procesie metamorfozy. W wyniku przyspieszenia wzrostu i rozwoju



Ryc. 10. Reakcje utleniania ekdysteroidów w pozycji C-3 (R = H, ekdyzon, R = OH, 20-hydroksyekdyzon, A — 3β-reduktaza 3-oksoekdysteroidowa, B — 3α-reduktaza 3-oksoekdysteroidowa) (według WEIRICHA 1989).

form larwalnych owadów powstają gigantyczne osobniki, które są niezdolne do życia. Niekiedy gąsienice przepoczwarczają się, lecz nie wytwarzają wtedy kokonów. Oprócz hamującego wpływu fitoekdysteroidów na procesy metamorfozy wykazano także toksyczny efekt na dorosłe formy owadów. Ekdyzon występujący w komórkach roślinnych ulega 50% inaktywacji po 7 godzinach od momentu spożycia rośliny przez owada. Okazało się, że stanowi on swoisty chemosterylant, gdyż hamuje rozwój jajników muchy domowej (*Musca domestica*) zmniejszając tym samym jej rozrodczość. Z kolei cyjasteron ulega 50% inaktywacji dopiero po 32 godzinach. Do owadów najbardziej podatnych na

szkodliwe działanie fitoekdysteroidów należą: gąsienice jedwabnika morwowego, bielinka kapustnika (*Pieris brassicae*), larwy much tse-tse (*Glossina morsitans*). Aktywność biologiczna fitoekdysteroidów u owadów, zależy nie tylko od ich struktury chemicznej, ale także od ich miejsca przenikania do wnętrza organizmu. Najmniej efektywnie na organizm stawonoga działają fitoekdysteroidy przedostające się z pożywienia w układzie pokarmowym, ponieważ część z nich ulega dezaktywacji, zazwyczaj poprzez odłączenie łańcucha bocznego lub odwodowanie w pozycjach C-3 i C-4 (GRZYBEK 1976, CYMBOROWSKI 1984, ZABZA 1989).

ECDYSTEROIDS IN PLANTS

Summary

Ecdysteroids, the moulting hormones of arthropods, are found in many plant species. Phytoecdysteroids belong to a large family of ecdysteroids that comprises more than 250 representative. So far, phytoecdysteroids have been found in most embryophytes (mainly ferns, gymnosperms and angiosperms). Ecdysteroids accumulate in various plant organs, including fruits, seeds, flowers, anthers, leaves, and roots, during various phases of their growth. Ecdysteroid concentrations in plants may be very large, i.e. several orders of magnitude higher than in most arthropods.

The chemical structure of phytoecdysteroids is very varied. Plants may contain C₂₇, C₂₈ or C₂₉ type of ecdysteroids either in the free form or as various polar or apolar conjugates. They may also contain C₂₄, C₂₁ or C₁₉ compounds resulting from various side-chain cleavage reactions.

Plants are capable of synthesising ecdysteroids from mevalonate acid. Recent studies have demonstrated that active biosynthesis of phytoecdysteroids takes place in young developing tissues. In spinach (*Spinacia oleracea*), lathosterol is the precursor to ecdysone and 20-hydroxyecdysone.

Phosphorylated ecdysteroid intermediates, particularly ecdysone-3-phosphate, are required during biosynthesis. Polyphosphorylated forms of ecdysteroids are putative regulatory components of the pathway. They could act as negative feedback regulators of ecdysteroid biosynthesis in spinach. The presence of ecdysteroids and their conjugates in plants has been suggested to be a factor which could lead to development of nonphytoecdysteroid-adapted insect species. Hence, in the future, these compounds may prove to be useful to control predation of insects herbivorous on agriculturally important plants.

The function of ecdysteroids in plants is still unknown. In a bioassay phytoecdysteroids showed a gibberellin-like activity. They also had no significant effect on flowering of *Xanthium pennsylvanicum*, but inhibited formation of female flowers of *Cucurbita pepo*. Phytoecdysteroids from *Ajuga decumbens* showed a strong inhibitory effect on Epstein-Barr virus early induction and potent antitumor activity on mouse skin. This suggests that *Ajuga* may be valuable as a potential source of a cancer preventive chemical agent. Phytoecdysteroids have also an antibacterial and antifungal activity.

LITERATURA

- ADLER J. H., GREBENOK R. J., 1995. *Biosynthesis and distribution of insect-moulting hormones in plants — a review*. *Lipids* 30, 257–262.
- BAJGUZ A., 1999. *Działanie brassinosteroidów na wzrost i rozwój roślin*. *Kosmos* 48, 75–85.
- BANDARA B. M. R., JAYASINGHE L., KARUNARATNE V., WANNIGAMA G. P., BOKEL M., KRAUS W., SOTHEESWARAN S., 1989. *Ecdysterone from stem of Diploclisia glaucescens*. *Phytochemistry* 28, 1073–1075.
- COOK I. F., LLOYD-JONES J. G., REES H. H., GOODWIN T. W., 1973. *The stereochemistry of hydrogen elimination from C-7 during biosynthesis of ecdysones in insects and plants*. *Biochem. J.* 136, 135–145.
- CYMBOROWSKI B., 1984. *Endokrynologia owadów*. PWN, Warszawa.
- CZERPAK R., 1993. *Występowanie i aktywność biologiczna hormonów zwierzęcych i związków pokrewnych u roślin*. *Kosmos* 42, 613–636.
- DAVIES T. G., LOCKLEY W. J. S., BOID R., REES H. H., GOODWIN T. W., 1980. *Mechanism of formation of the A/B cis ring junction of ecdysteroids in Polypodium vulgare*. *Biochem. J.* 190, 537–544.
- DE SOUZA N. J., GHISALBERTI E. L., REES H. H., GOODWIN T. W., 1969. *Studies on insect moulting hormones: biosynthesis of ponasterone A and ecdysterone from [2-¹⁴C] mevalonate in Taxus baccata*. *Biochem. J.* 114, 895–896.
- DE SOUZA N. J., GHISALBERTI E. L., REES H. H., GOODWIN T. W., 1970. *Studies on insect moulting hormones: biosynthesis of ecdysone, ecdysterone and 5-hydroxyecdysterone in Polypodium vulgare*. *Phytochemistry* 9, 1247–1252.
- DINAN L., 1998. *A strategy towards the elucidation of the contribution made by phytoecdysteroids to the deterrence of invertebrate predators on plants*. *Russ. J. Plant Physiol.* 45, 347–359.
- DREIER S. I., TOWERS G. H. N., 1988. *Activity of ecdysone in selected plant growth bioassays*. *J. Plant Physiol.* 132, 509–512.
- FELIPPE G. M., 1980. *Insect growth hormones and their effects on some plants*. *Ciencia e Cultura* 32, 1384–1390.

- GALBRAITH M. N., HORN D. H. S., 1966. An insect-moulting hormone from a plant. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 905-906.
- GREBENOK R. J., ADLER J. H., 1991. Ecdysteroid distribution during development of spinach. *Phytochemistry* 30, 2905-2910.
- GREBENOK R. J., ADLER J. H., 1993. Ecdysteroid biosynthesis during the ontogeny of spinach leaves. *Phytochemistry* 33, 341-347.
- GREBENOK R. J., VENKATACHARI S., ADLER J. H., 1994. Biosynthesis of ecdysone and ecdysone phosphate in spinach. *Phytochemistry* 36, 1399-1408.
- GREBENOK R. J., GALBRAITH D. W., BENVENISTE I., FEYEREISEN R., 1996. Ecdysone 20-monooxygenase, a cytochrome P450 enzyme from spinach, *Spinacia oleracea*. *Phytochemistry* 42, 927-933.
- GRZELAK K., 1994. Ekdysteroidy owadzie — biosynteza, metabolizm i funkcje. *Post. Bioch.* 40, 181-190.
- GRZYBEK J., 1976. Fito- i zooekdysony. *Farm. Pol.* 32, 411-415.
- GRZYBEK J., 1983. Fitochemiczne i biologiczne badania krajowego gatunku *Polypodium vulgare* L. *Acta Polon. Pharm.* 40, 259-263.
- HIKINO H., KOHAMA T., TAKEMOTO T., 1970. Biosynthesis of ponasterone A and ecdysterone from cholesterol in *Podocarpus macrophyllus*. *Phytochemistry* 9, 367-369.
- HOFFMEISTER H., HEINRICH G., STAAL G. B., VAN DER BURG W. J., 1967. Über das vorkommen von ecdysterone in eiben. *Naturwissenschaften* 54, 471.
- HORN D.H. S., 1989. Historical introduction. [W:] *Ecdysone: from chemistry to mode of action*. KOOLMAN J. (red.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, str. 8-19.
- JACOBS W. P., SUTHERS H. B., 1971. The culture of apical buds of *Xanthium* and their use as bioassays for flowering activity of ecdysterone. *Amer. J. Bot.* 58, 836-843.
- JIZBA J., HEROUT V., SORM F., 1967. Isolation of ecdysterone (crustecdysone) from *Polypodium vulgare* L. rhizomes. *Tetrahedron Lett.* 1689-1691.
- JOLY R. A., SVAHN C. M., BENNETT R. D., HEFTMANN E., 1969. Investigation of intermediate steps in the biosynthesis of ecdysterone from cholesterol in *Podocarpus elata*. *Phytochemistry* 8, 1917-1920.
- KAPPLER C., HETRU C., DURST F., HOFFMANN J., 1989. Enzymes involved in ecdysone biosynthesis. [W:] *Ecdysone: from chemistry to mode of action*. KOOLMAN J. (red.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, str. 161-166.
- LAFONT R., 1997. Ecdysteroids and related molecules in animals and plants. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35, 3-20.
- LAFONT R., 1998. Phytoecdysteroids in world flora: diversity, distribution, biosynthesis and evolution. *Russ. J. Plant Physiol.* 45, 276-295.
- LAFONT R., CONNAT J.-L., 1989. Pathways of ecdysone metabolism. [W:] *Ecdysone: from chemistry to mode of action*. KOOLMAN J. (red.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, str. 167-173.
- LAFONT R., HORN D. H. S., 1989. Phytoecdysteroids: structure and occurrence. [W:] *Ecdysone: from chemistry to mode of action*. KOOLMAN J. (red.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, str. 39-64.
- LAFONT R., KAOUADJI N., MORGAN E. D., WILSON I. D., 1994. Selectivity in the high-performance liquid chromatography of ecdysteroids. *J. Chromatogr. A* 658, 55-67.
- LLOYD-JONES J. G., REES H. H., GOODWIN T. W., 1973. Biosynthesis of ecdysterone from cholesterol in *Taxus baccata*. *Phytochemistry* 12, 569-572.
- MACHÁČKOVÁ I., VÁGNER M., SLÁMAČ K., 1995. Comparison between the effects of 20-hydroxyecdysone and phytohormones on growth and development in plants. *Eur. J. Entomol.* 92, 309-316.
- MATSUOKA T., IMAI S., SAKAI M., KAMADA M., 1969. Studies on phytoecdysones — a review of our works. *Ann. Rep. Takeda Res. Lab.* 28, 221-271.
- MILLER R. W., CLARDY J., KOZŁOWSKI J., MIKOLAJCZAK K. L., PLATTNER R. D., POWELL R. G., SMITH C. R., WEINLEDER D., ZHENG Q. T., 1985. Phytoecdysteroids of *Diploclisia glaucescens* seeds. *Planta Med.* 47, 40-42.
- NAKANISHI K., KOREEDA M., SASAKI S., CHANG M. L., HSU H. Y., 1966. Insect hormones: the structure of ponasterone A, an insect moulting hormone from the leaves of *Podocarpus nakaïi* Hay. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 915-917.
- RIMPLER H., 1969. Pterosteron, polypodin B und ein neues ecdysonartiges steroid (viticosteron E) aus *Vitex megapotamica* (Verbenaceae). *Tetrahedron Lett.* 329-333.
- RIPA P. V., MARTIN E. A., COCCIOLONE S. M., ADLER J. H., 1990. Fluctuation of phytoecdysteroids in developing shoots of *Taxus cuspidata*. *Phytochemistry* 29, 425-427.
- SAUER H. H., BENNETT R. D., HEFTMANN E., 1968. Ecdysterone biosynthesis in *Podocarpus elata*. *Phytochemistry* 7, 2027-2030.
- SUKSAMRARN A., WILKIE J. S., HORN D. H. S., 1986. Blechnoside A and B: ecdysteroid glycosides from *Blechnum minus*. *Phytochemistry* 25, 1301-1304.
- TAKASAKI M., TOKUDA H., NISHINO H., KONOSHIMA T., 1999. Cancer chemopreventive agents (antitumor-promoters) from *Ajuga decumbens*. *J. Nat. Prod.* 62, 972-975.
- TAKEMOTO T., ARIHARA S., HIKINO K., 1968. Structure of ponasteroside A, a novel glycoside of insect-moulting substances from *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. *Tetrahedron Lett.* 4199-4202.
- TAKEMOTO T., OGAWA S., NISHIMOTO N., 1967. Isolation of the moulting hormones of insects from *Achyranthes radix*. *Yakugaku Zasshi* 87, 325-327.
- TOMÁS J., CAMPS F., COLL J., MELÉ E., MESSEGUER J., 1993. Phytoecdysteroid production by *Ajuga reptans* tissue cultures. *Phytochemistry* 32, 317-324.
- WEIRICH G. F., 1989. Enzymes involved in ecdysone metabolism. [W:] *Ecdysone: from chemistry to mode of action*. KOOLMAN J. (red.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, str. 174-180.
- ZABŻA A., 1989. Chemiczne podstawy oddziaływania roślin-owad. *Kosmos* 38, 155-177.