

Громова О.А., Торшин И.Ю., Филимонова М.В.

Систематический анализ фундаментальных и клинических исследований лигнана 7-гидроксиматаирезинола

Абстракт

Систематический анализ исследований 7-гидроксиматаирезинола (7-ГМР) указал на высокую биоусвояемость (>50%) и низкую токсичность молекулы. В эксперименте не наблюдается никаких неблагоприятных эффектов при пероральном приёме 7-ГМР в дозе 160 мг/кг/сут; в дозе 2600 мг/кг/сут отмечено незначительное снижение массы тела. Показаны противовоспалительные свойства 7-ГМР, обусловленные ингибированием белка NF-κB, опосредующего провоспалительные эффекты ФНО-α, и повышением экспрессии ферментов антиоксидантной защиты супероксиддисмутазы и гемоксигеназы-1. Приём 7-ГМР в дозах 36 или 72 мг/сут сопровождался статистически достоверным снижением частоты приливов. Наиболее изученными являются противоопухолевые свойства 7-ГМР: в экспериментах показано, что 7-ГМР ингибирует рост гепатомы, опухолей молочной железы, матки, предстательной железы и аденоматозной полипозной кишечной неоплазии.

Ключевые слова: лигнаны ели, Лигнариус, противоопухолевое действие, противовоспалительное действие

Введение

Лигнан 7-гидроксиматерезинол (7-ГМР) был найден в составе экстрактов ели (*Picea abies*), пихты белой (*Abies alba*), дугласовой пихты (*Pseudotsuga menziesii*) и других хвойных деревьев. 7-ГМР также является основным лигнаном зерновых (пшеницы, овса, ячменя, проса), отрубей кукурузы и цельного зерна амаранта [1]. В норвежских хвойных деревьях содержание гидроксиматерезинола достигает 84% от общего количества лигнанов [2]. 7-ГМР и другие лигнаны растений (матаирезинол, сециолаларициретинол, ларициресинол, изоларициретинол, сингарезинол, медирезинол, пинорезинол, сезаминол, сезамолинол) показывают антиоксидантные [3], противовоспалительные, противомикробные и противоопухолевые свойства [4, 5].

Проведенные нами ранее хемореактомные оценки свойств молекулы 7-ГМР (действующее вещество препарата Лигнариус) в сравнении с контрольными молекулами (17-эстрадиол, фитоэстроген, β-ситостирол, эпигаллокатехин-3-галлат) позволили сформулировать молекулярные механизмы противовоспалительных (ингибирование 5-липоксигеназы, матриксной металлопротеиназы MMP2, митоген-активируемой киназы p38-альфа, рецептора лейкотриена b4, рецептора простаглицина), противоопухолевых (антиоксидантный эффект за счёт ингибирования гемоксигеназы-2, ингибирование циклин-зависимых киназ 3 и 4, фактора роста эпидермиса, белка mTOR), вазодилаторных (ингибирование адренорецепторов и ренина), антибактериальных и противовирусных (ингибирование вирусных протеаз 3С) свойств молекулы 7-ГМР [6].

Несмотря на широкий спектр возможных фармакологических эффектов 7-ГМР, полученных в результате хемореактомного анализа, по данным литературы были изучены лишь некоторые из этих эффектов. В базе данных EMBASE представлено более 200 публикаций по исследованиям 7-ГМР, в базе данных PUBMED – 57 публикаций. В настоящей работе представлены результаты систематического анализа всех имеющихся научных публикаций по исследованиям биологических и биомедицинских эффектов молекулы 7-гидроксиматаирезинола.

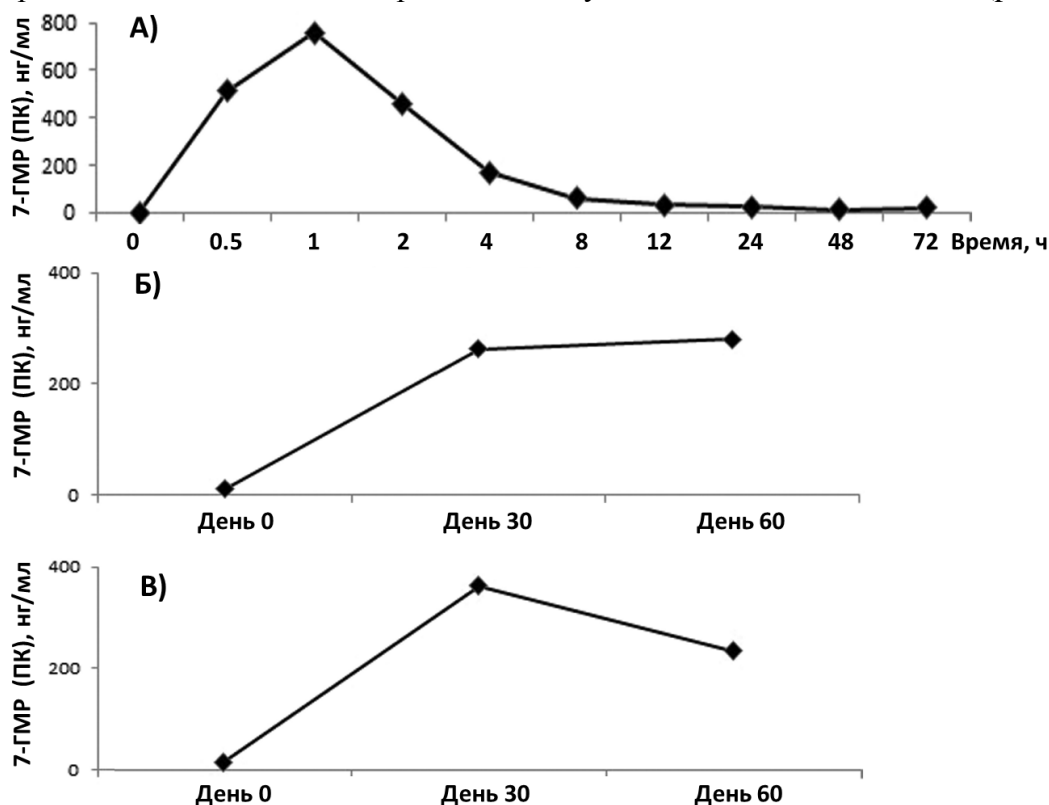
Далее, последовательно рассмотрены результаты экспериментальных и клинических исследований 7-гидроксиматаирезинола, в т. ч. фармакокинетика,

токсичность, противовоспалительные и противоопухолевые свойства 7-ГМР. Отдельно рассмотрен вопрос о потенциальных про-эстрогеновых свойствах молекулы.

Фармакокинетика и токсичность 7-ГМР

Фармакокинетика, биодоступность и влияние 7-гидроксиматерезинона на клинические симптомы в постменопаузе были исследованы у женщин, не получавших заместительную гормонотерапию (n=22). Участницы получали 36 мг/сут 7-ГМР (низкая доза), либо 72 мг/сут 7-ГМР (высокая доза) в течение 8 недель. Фармакокинетический анализ показал, что для 7-ГМР отмечена максимальная концентрация $C_{max}=757$ нг/мл за время $t_{max}=1$ час (Рис. 1А). К 8-й недели исследования уровни плазмы 7-ГМР достоверно увеличились при использовании и более низкой, и более высокой дозы 7-ГМР ($p<0.05$, Рис. 1 Б, В) [7].

Рис. 1. Результаты фармакокинетического исследования 7-ГМР. А) Фармакокинетический профиль плазмы 7-ГМР (нг/мл) после однократного приёма 36 мг 7-ГМР. Б) Уровень 7-ГМР в плазме крови (ПК) после приёма 36 мг/сут 7-ГМР в течение 8 недель ($p=0.006$). (В) Уровень 7-ГМР в ПК после приёма 72 мг/сут 7-ГМР в течение 8 недель ($p=0.004$).



Под воздействием кишечной флоры 7-гидроксиматерезинол трансформируется в энтеролактон – основной продукт биотрансформации растительных лигнанов в организме. При приёме 36 мг/сут или 72 мг/сут 7-ГМР в течение 8 недель уровни энтеролактона в плазме крови увеличивались в 1.5 раза в обеих группах, отмечалось снижение частоты приливов (см. далее). Дозы 7-ГМР до 72 мг/сут в течение 8 недель были безопасными и хорошо переносимыми [7].

Исследование хронической токсичности 7-ГМР в форме ацетата калия включило ежедневный приём 7-ГМР в дозах 160, 640 и 2600 мг/кг/сут в течение 13 недель. Воздействие 7-ГМР не оказывало существенного влияния на какие-либо внешние клинические симптомы, результаты офтальмоскопии или двигательную активность. В подгруппе самцов приём максимальной дозы был ассоциирован с некоторым уменьшением массы тела на протяжении всего исследования, увеличением

относительного веса почек. При высоких дозах было отмечено увеличение количества тромбоцитов (у самок) и количества лейкоцитов (у самцов). У самок также было отмечено некоторое удлинение менструального цикла. Триглицериды плазмы дозозависимо снижались при всех трёх дозировках. Таким образом, при хроническом приеме 7-ГМР не наблюдается никаких неблагоприятных эффектов в дозах 160 мг/кг/сут [8].

В исследовании с участием здоровых добровольцев-мужчин 7-ГМР давался однократно, в дозах до 1350 мг. В результате проведения исследования не было установлено каких-либо побочных эффектов от приёма 7-ГМР [9].

Токсикология 7-ГМР была исследована на беременных крысах, которым давались дозы 7-ГМР в дозах 140-180 мг/кг/сут, 460-740 мг/кг/сут и 1190-2930 мг/кг/сут в течение 0-21 суток гестации. У животных были изучены стандартные параметры репродуктивной функции (индексы плодовитости и беременности, наличие или отсутствие жёлтого тела, имплантации яйцеклетки, потери яйцеклетки до и после имплантации, количество ранних и поздних резорбций эмбрионов, количество живых и мертвых плодов, вес репродуктивных органов). У плодов были исследованы внешние, висцеральные и скелетные изменения. В результате исследования было показано, что 7-ГМР не влияет на репродуктивную функцию и не вызывает тератогенеза. Масса тела и потребление пищи уменьшались во всех группах лечения в течение первых трех дней периода беременности вследствие снижения вкусовой привлекательности корма, т.к. в 7-ГМР имеет характерный горьковатый вкус [10].

В исследованиях хронической токсичности 7-ГМР был, по существу, нетоксичным при назначении крысам (2000 мг/кг/сут, 28 сут) и собакам (665 мг/кг/сут, 28 сут), несмотря на то, что 7-ГМР хорошо всасывается (>50% дозы) и быстро элиминируется [9].

Противовоспалительные свойства 7-ГМР

Лигнан 7-гидроксиматерезинол проявляет выраженную противовоспалительную активность и является эффективным ингибитором специфических воспалительных реакций с участием клеток, регулирующих процессы воспаления - моноцитов и гранулоцитов. В моноцитах линии THP-1 лигнан 7-ГМР дозозависимо ингибировал синтез/секрецию ФНО- α , а в гранулоцитах – снижал уровни активных форм кислорода и провоспалительного интерлейкина IL-8 [11].

Эндотелиальное воспаление является преобладающим состоянием в патогенезе многих сердечнососудистых заболеваний. Показано, что в эндотелиальных клетках аорты 7-ГМР ингибирует ФНО- α -индуцированную экспрессию белков клеточной адгезии ICAM-1 и VCAM-1 (Рис. 2), что приводит к снижению ФНО-индуцированной адгезии моноцитов к эндотелиальным клеткам (Рис. 3) и к более низкой активации провоспалительного фактора транскрипции NF- κ B, значительно снижая ФНО- α -индуцированное фосфорилирование NF- κ B по аминокислотному остатку серин-536 (на 30...80%) [12].

Рис. 2. 7-ГМР ингибирует индуцированную ФНО-индуцированную экспрессию белка ICAM-1 (А) и VCAM-1 (Б) в эндотелиальных клетках аорты.

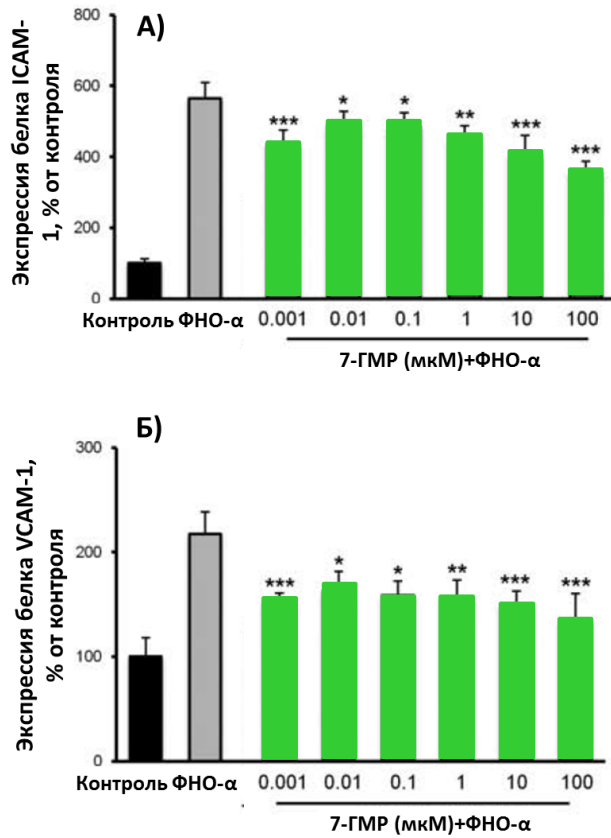
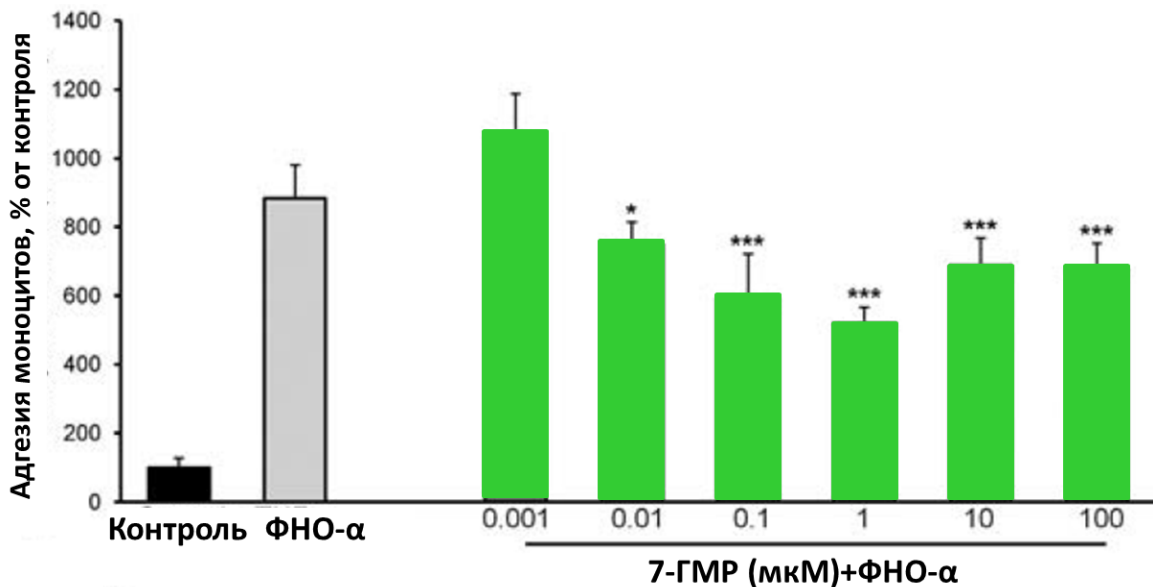
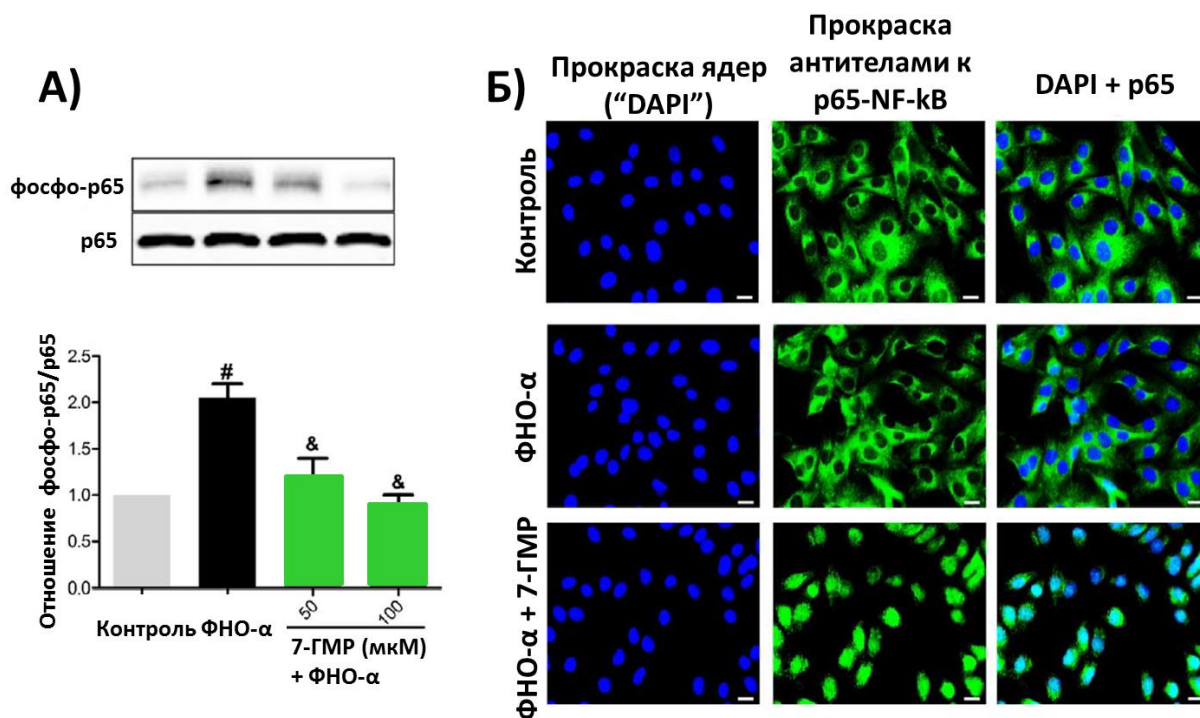


Рис. 3. 7-ГМР ингибирует индуцированную ФНО- α адгезию моноцитов к эндотелиальным клеткам аорты.



В другом исследовании было подтверждено, что 7-ГМР тормозит ФНО- α -опосредованные воспалительные процессы именно за счёт ингибирования фосфорилирования провоспалительного фактора NF- κ B (ФНО- α -связанного ядерного фактора κ B, Рис. 4) и ингибирования транслокации белка NF- κ B внутрь клеточного ядра. В результате блокировки активности NF- κ B 7-ГМР подавлял экспрессию мРНК и белка провоспалительных медиаторов ФНО- α (молекулы адгезии сосудистых клеток-1, интерлейкина-6, индуцибельной синтазы оксида азота) [13].

Рис. 4. 7-ГМР ингибировал фосфорилирование и ядерную транслокацию фактора NF-κB p65 в эндотелиальных клетках. Клетки предварительно обрабатывали 7-ГМР (50, 100 мкМ) в течение 4 ч и затем стимулировали ФНО-α (20 нг/мл) в течение 2 часов. Лизаты клеток анализировали с использованием фосфоспецифических антител к NF-κB (p65). «#», $p < 0.05$ по сравнению с контролем; «&», $p < 0.05$ по сравнению с ФНО-α.

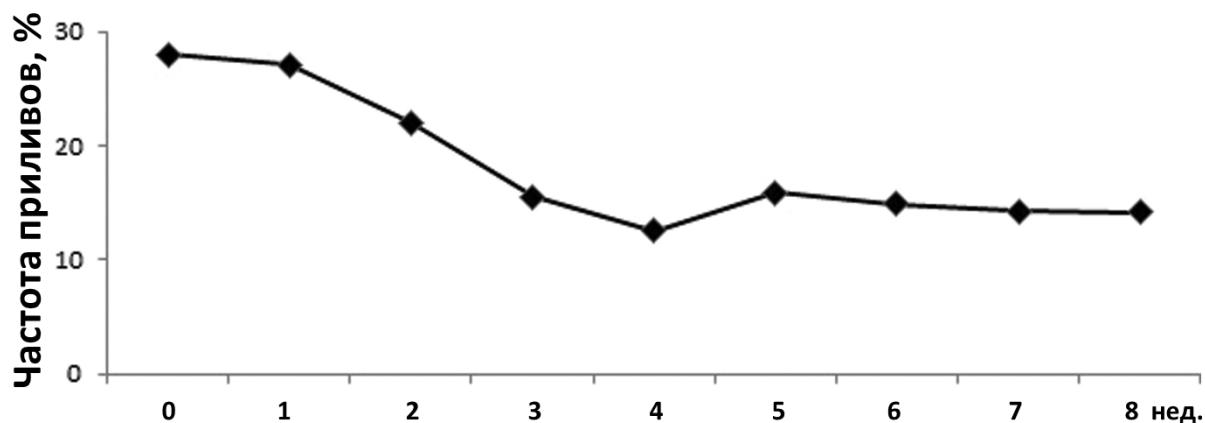


Кроме того, 7-ГМР дозозависимо тормозил ФНО-α-индуцированное фосфорилирование внеклеточной сигнально-регулируемой киназы 1/2 ERK (MAPK) и Akt, что важно для торможения роста опухолевых клеток, снижал уровни АФК за счёт индуцирования экспрессии ферментов антиоксидантной защиты супероксиддисмутазы и гемоксигеназы-1 и повышал экспрессию, эритроидного ядерного фактора-2 (Nrf2), который активирует экспрессию ферментов антиоксидантной защиты [13].

Потенциальные эстрогенные свойства 7-ГМР

Ответы на вопрос о возможности существования про- или анти-эстрогеновых эффектов 7-ГМР достаточно противоречивы. В цитируемом ранее клиническом исследовании здоровых женщин в постменопаузе 7-ГМР быстро абсорбировался и метаболизировался до энтеролактона микробиотой кишечника. Клинически, это сопровождалось статистически достоверным снижением частоты приливов на 50% от исходного уровней ($p=0.025$, 8 нед., Рис 5) [7]. На основании этого результата некоторые исследователи делают предположение о якобы «проэстрогеновом» действии 7-ГМР. Однако, данный вывод совершенно не обоснован. Рассмотрим более подробно патофизиологию приливов.

Рис. 5. Снижение частоты приливов при приёме 72 мг/сут 7-ГМР в течение 8 недель.



Приливы - вазомоторные симптомы, наиболее часто встречающиеся при менопаузе и при гормональных расстройствах репродуктивной системы. Более 80% менопаузальных пациенток испытывают приливы и более чем у 10% пациенток эти симптомы значительно понижают качество жизни. Считается, что заместительная гормональная терапия (ЗГТ) эстрогеновыми препаратами – одно из наиболее эффективных средств устранения приливов [14].

Хотя применение эстрогенов приводит к уменьшению остроты и частоты приливов у 80...90% женщин, следует соблюдать осторожность в отношении эстрогеновых препаратов всем женщинам, страдающим раком молочной железы, яичников [15], раком матки [16], венозной тромбозом или имеющим семейную историю рака груди [17]. Кроме того, эстрогеновая терапия приливов имеет негативные последствия, такие, как головная боль, избыточная задержка жидкости, болезненность молочных желез, маточные кровотечения и др. [18].

Важно отметить, что устранение приливов при использовании 7-ГМР вовсе не является аргументом в пользу предполагаемого «проэстрогенового» действия 7-ГМР. Дело в том, что приливы возникают вследствие, по крайней мере, трёх патофизиологических механизмов: вегетативного (нарушения регуляции вегетативной нервной системы), абстинентного и гормонально-нейротрансмиттерного (воздействие на терморегуляторное ядро гипоталамуса) [19].

Действие эстрогенов на приливы связано, по всей видимости, именно с абстинентным механизмом (т.е. приливы суть проявление своеобразной «абстиненции» эстроген-чувствительных нейрональных систем, находившихся долгое время в условиях высокого содержания эстрогенов). В самом деле, существует определенная схожесть в симптоматике менопаузы и симптоматики, связанной с абстинентным синдромом в случае болезней зависимости. Фактом, косвенно подтверждающим возможность абстиненции к эстрогенам, является провокация приливов при использовании ЗГТ у пациенток с первичной аменореей [14].

В то же время, воздействие того или иного препарата на патофизиологию приливов может осуществляться и по другим механизмам. В медиальной преоптической области гипоталамуса содержится терморегуляторное ядро, активирующее механизмы для поддержания температуры тела в нормальном диапазоне, называемом терморегуляторной зоной. У женщин с приливами имеет место сужение границ терморегуляторной зоны по сравнению с женщинами, которые не имеют приливов, что обусловлено избытком катехоламинов и недостатком серотонина [19].

Например, молекула бета-аланин ни в коей мере не может считаться «проэстрогеновой», однако, бета-аланин, тем не менее, эффективен в терапии эстроген-зависимых приливов [20]. Бета-аланин и синтезируемый из него карнозин оказывают антигистаминное воздействие, тем самым облегчая симптоматику приливов [21]. Бета-

аланин необходим для синтеза ацилкоэнзима А – центрального кофермента биохимических путей, вовлеченных в метаболизм жиров, белков и углеводов. Биоинформационный и хемоинформационный анализы показали, что ингибирование бета-аланином активности глициновых и NMDA рецепторов может являться важным механизмом терапевтического воздействия препарата на патофизиологию приливов [19, 22]. Таким образом, воздействие на патофизиологию приливов, установленное в рамках того или иного клинического исследования, не может являться доказательством воздействия 7-ГМР на рецепторы эстрогенов.

Другой механизм возможного «проэстрогенового» действия 7-ГМР заключается в *воздействии на уровни эндогенных эстрогенов*. Предполагается, что растительные лигнаны оказывают благотворное влияние на метаболизм эстрогенов. Например, проведено клиническое исследование многокомпонентной добавки для профилактики опухолей молочной железы, содержащей 7-ГМР, индол-3-карбинол, глюкрат кальция, экстракты расторопши, крапивы. Приём такой смеси в течение 1 месяца значительно увеличивал концентрацию 2-гидроксиэстрогена в моче [23]. Однако, этот эффект не исследовался отдельно для 7-ГМР, так что вопрос остаётся открытым.

В целом, все имеющиеся аргументы в защиту предполагаемых «проэстрогенных» эффектов 7-ГМР являются косвенными. Опубликованных исследований, в которых было бы продемонстрировано непосредственное связывание лигнанов и рецепторов эстрогенов не было найдено. По причине отсутствия прямых данных о взаимодействии 7-ГМР и других растительных лигнанов с рецепторами эстрогенов, имеющиеся косвенные результаты достаточно противоречивы и весьма зависят от использованной методологии исследования.

Например, при использовании первичных гепатоцитов линий клеток RTH-149 и ZF-L для скрининга эстрогенной активности лигнановых экстрактов *in vitro* эстрогенную активность измеряли как секрецию белка вителлогенина (эстроген индуцирует секрецию вителлогенина дозозависимым образом). В результате эстрогеновая активность лигнана 7-ГМР не была подтверждена [24].

В другом исследовании, потенциальную «эстрогенность» 7-ГМР и энтеролактона оценивали по другой методологии: изучалось влияние различных веществ на рост и апоптотические маркеры в клеточной линии MCF-7, чувствительной к эстрогенам. Было найдено, что испытуемые вещества (7-ГМР, энтеролактон, эстрадиол) увеличивали процент клеток MCF-7 в S-фазе клеточного цикла, причём эффекты 7-ГМР и энтеролактона были снижены в присутствии антагониста рецептора эстрогена (тамоксифен) [25].

Выводы этого конкретного эксперимента, проведенного на культуре клеток, тем не менее, не достаточно обоснованы, поскольку (1) рост клеток линии MCF-7 может происходить не только из-за предполагаемых «проэстрогеновых» эффектов 7-ГМР, но и по многим другим механизмам, (2) тамоксифен может оказывать другое влияние на рост клеток, помимо взаимодействия с рецепторами эстрогенов (например, влиять на апоптоз белки Bcl-2, Вах и др), (3) не было получено прямых доказательств связывания 7-ГМР с рецепторами эстрогенов.

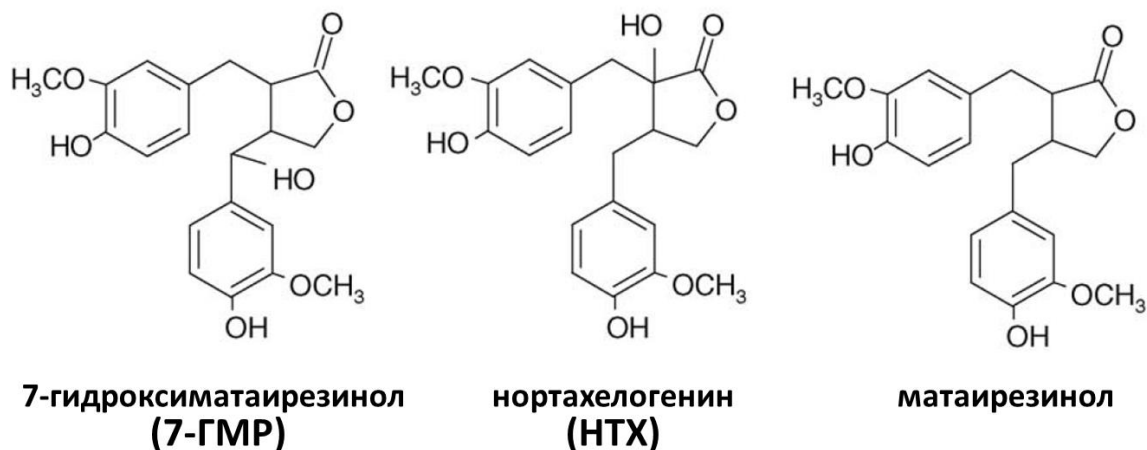
Следует отметить, что при анализе взаимодействий лигнана 7-ГМР со стероидными рецепторами *in vitro* в концентрациях менее 1,0 мкМ для 7-ГМР не было установлено никакой антиандрогенной, эстрогенной или антиэстрогенной активности [26]. Таким образом, молекулярные механизмы воздействия 7-ГМР на патофизиологию приливов требуют отдельного изучения.

Противоопухолевые свойства 7-ГМР

В то же время, 7-ГМР характеризуется выраженными противоопухолевыми свойствами (профилактика образования опухолей, замедление роста уже имеющихся опухолей). 7-ГМР и его метаболит энтеролактон ингибируют рост модели *опухоли*

молочной железы [27], индуцированной 7,12-диметилбензантраценом (ДМБА). Противоопухолевый эффект 7-ГМР наблюдается уже при использовании достаточно низкой дозы в 4,7 мг/кг/сут [28]. Важно отметить, что противоопухолевый эффект характерен именно для 7-гидроксиматаирезинола и матаирезинола, но не для весьма схожей молекулы – нортахелогенина (НТХ, Рис. 6). В отличие от 7-ГМР, НТХ не ингибировал рост ДМБА-индуцированных опухолей молочной железы и не метаболизировался до энтеролактона [27]. Данный результат представляет существенный интерес для установления потенциальных молекулярных механизмов противоопухолевого воздействия 7-ГМР.

Рис. 6. Химические структуры 7-ГМР, матаирезинола и нортахелогенина.



В эксперименте 7-ГМР и его метаболит энтеролактон уменьшают рост и метастазы клеток *опухоли печени*, привитых подкожно крысам (клеток гепатомы линии АН109А). Значение показателя IC₅₀ (50%-ая ингибирующая концентрация) для пролиферации клеток гепатомы составило 200 мкМ, а значение IC₅₀ для инвазии клеток гепатомы - 144 мкМ. 7-ГМР и энтеролактон подавляли пролиферацию клеток гепатомы, удлинняя время деления клеток гепатомы и увеличивая скорость апоптоза [29].

Противоопухолевые эффекты 7-ГМР были показаны на модели рака *предстательной железы* (ксенотрансплантаты онкоклеток у мышей с резекцией тимуса). Спустя 3 дня после инъекций опухолевых клеток назначали стандартную диету (контроль) или стандартную диету, дополненную 7-ГМР (0.15% от общей массы), затем в течение 9 недель наблюдали скорость роста опухоли. По сравнению с контролем, приём 7-ГМР соответствовал меньшему объему опухолей, меньшему темпу роста опухолей и большей интенсивности апоптоза опухолевых клеток [30].

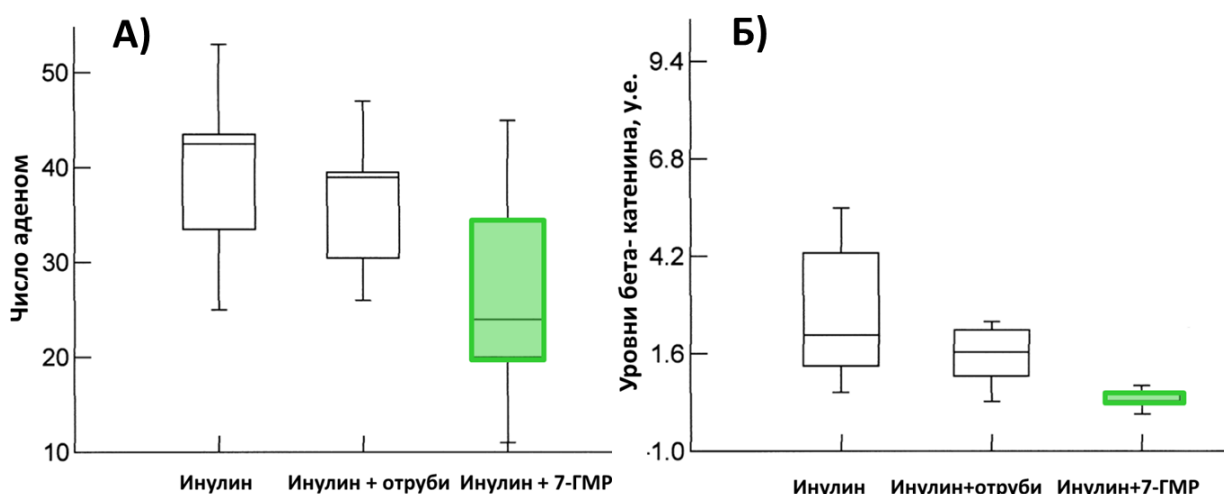
В эксперименте показано, что 7-ГМР позволяет осуществлять эффективную профилактику *опухолей матки*, вызванных однократным воздействием канцерогена N-этил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина на крыс в 11-недельном возрасте. После воздействия канцерогена осуществлялись дотации 7-ГМР (200 или 600 мг/кг в составе соевой диеты) до возраста в 15 месяцев. Заболеваемость аденокарциномой матки была значительно снижена уже при приёме 200 мг/кг 7-ГМР (11%) (контрольная группа - 50%, P < 0.05). 7-ГМР метаболизировался, главным образом, в энтеролактон и гидроксиэнтеролактон [31].

Приём 30 мг/кг/сут 7-ГМР имел статистически значимое ингибирующее воздействие на рост *опухоли молочной железы* крыс, индуцированной диметилбензатраценом (ДМБА). 7-ГМР уменьшал образование полипов и предотвращал накопление бета-катенина в ядре (патофизиологическая метка образования полипов) [9].

Химиопрофилактическая активность 7-ГМР также была показана на модели *аденоматозной полипозной кишечной неоплазии* у мышей. Среднее число аденом в тонком кишечнике при приёме 7-ГМР было значительно ниже (26,6±11,0, P < 0.05) по сравнению с

мышами, которые получали плацебо (инулин, $39,6 \pm 8,9$, Рис. 7). 7-ГМР приводит к нормализации уровня бета-катенина в ткани аденомы, что указывает на то, что 7-ГМР опосредует свой химиопрофилактический эффект через β -катениновый сигнальный путь. Заметим, что приём 7-ГМР позволил восстановить внутриядерный уровень бета-катенина в ткани аденомы ($0,41 \pm 0,25$ у.е.) до уровня, обнаруженного в неизменённых клетках окружающей слизистой оболочки ($0,36 \pm 0,28$ у.е.) [32].

Рис. 7. Химиопрофилактическая активность 7-ГМР в модели аденоматозной полипозной кишечной неоплазии у мышей. (А) Общее количество аденом мышей, питавшихся в течение 5 недель диетой с высоким содержанием жиров, с добавлением 2,5% инулина, 2,5% инулина и 10% ржаных отрубей или 2,5% инулина и 0.02% 7-ГМР. (Б) Внутриядерный уровень бета-катенина в ткани аденомы.



Заключение

В перименопаузе отмечается нестабильность темпа деления клеток репродуктивной системы, возрастает риск опухолей молочной железы, яичников, рака толстого кишечника, лёгких и т.д.; повышается уровень неспецифического системного воспаления, не только с опухолями, но и с сердечнососудистой и цереброваскулярной патологией. Гиперпролиферативный потенциал эстрогенов и их производных, используемых при проведении ЗГТ в климактерический период, усугубляет риск возникновения опухолевых заболеваний и тромбоэмболических состояний. При анамнезе, отягощённом по опухолевым заболеваниям, тромбоэмболии, системному воспалению эффективная и безопасная профилактика жизненно важна. Приём лигнанов растительного происхождения, характеризующихся крайне низкой токсичностью *per os*, является перспективным направлением проведения такой профилактики.

Результаты систематического анализа исследований лигнана 7-ГМР (препарат Лигнариус) указали на специфические противовоспалительные (ингибирование белка NF- κ B, повышение экспрессии ферментов антиоксидантной защиты супероксиддисмутазы и гемоксигеназы-1) и противоопухолевые свойства 7-ГМР (ингибирование роста гепатомы, опухолей молочной железы, матки, предстательной железы и аденоматозной полипозной кишечной неоплазии), обусловленные нормализацией темпа деления клеток. Таким образом, 7-ГМР является перспективным препаратом для химиопрофилактики рака в перименопаузе и для адъювантного сопровождения терапии эстроген-содержащими препаратами на основе эстрадиола (например, Дивигель, Эстрогель, Эстримакс, Эстрофем, Климара), эстрадиола валерата (Прогинова), эстриола (Овестин, Овипол Клио, Эльвагин, Эстровагин и др.), этинилэстрадиола (Мирелль), гексэстрола, полиэстрадиола фосфата, фосфэстрола и, особенно, конъюгированных эстрогенов (Рис. 8).

Рис. 8. Возможная схема профилактического назначения 7-ГМР в составе препарата Лигнариус в периклимактерии.



Литература

1. Smeds AI, Eklund PC, Sjöholm RE, Willfor SM, Nishibe S, Deyama T, Holmbom BR. Quantification of a broad spectrum of lignans in cereals, oilseeds, and nuts. *J Agric Food Chem.* 2007;55(4):1337-46 Epub 2007 J.
2. Hovelstad H, Leirset I, Oyaas K, Fiksdahl A. Screening analyses of pinosylvin stilbenes, resin acids and lignans in Norwegian conifers. *Molecules.* 2006;11(1):103-114.
3. Yamauchi S, Sugahara T, Nakashima Y, Okada A, Akiyama K, Kishida T, Maruyama M, Masuda T. Radical and superoxide scavenging activities of matairesinol and oxidized matairesinol. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2006;70(8):1934-1940.
4. Smeds AI, Eklund PC, Willfor SM. Chemical characterization of high-molar-mass fractions in a Norway spruce knotwood ethanol extract. *Phytochemistry.* 2016;130:207-17 doi.
5. Gerstenmeyer E, Reimer S, Berghofer E, Schwartz H, Sontag G. Effect of thermal heating on some lignans in flax seeds, sesame seeds and rye. *Food Chem.* 2013;138(2-3):1847-55 doi.
6. Торшин И.Ю., Громова О.А., Федотова Л.Э. Хемореактомный анализ 7-гидроксиматаирезинола указал на молекулярные механизмы осуществления фармакологических эффектов молекулы.
7. Udani JK, Brown DJ, Tan MO, Hardy M. Pharmacokinetics and bioavailability of plant lignan 7-hydroxymatairesinol and effects on serum enterolactone and clinical symptoms in postmenopausal women: a single-blinded, parallel, dose-comparison study. *J Am Coll Nutr.* 2013;32(6):428-35 doi.
8. Lina B, Korte H, Nyman L, Unkila M. A thirteen week dietary toxicity study with 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMRLignan) in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2005;41(1):28-38 Epub 2004 Dec.
9. Kangas L, Saarinen N, Mutanen M, Ahotupa M, Hirsinummi R, Unkila M, Perala M, Soinen P, Laatikainen R, Korte H, Santti R. Antioxidant and antitumor effects of hydroxymatairesinol

- (HM-3000, HMR), a lignan isolated from the knots of spruce. *Eur J Cancer Prev.* 2002;11 Suppl 2:S48-S57.
10. Wolterbeek AP, Roberts A, Korte H, Unkila M, Waalkens-Berendsen DH. Prenatal developmental toxicity study with 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMRlignan) in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2004;40(1):1-8.
 11. Cosentino M, Marino F, Maio RC, Delle Canne MG, Luzzani M, Paracchini S, Lecchini S. Immunomodulatory activity of the lignan 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMR/lignan) extracted from the heartwood of Norway spruce (*Picea abies*). *Int Immunopharmacol.* 2010;10(3):339-43 doi.
 12. Spilioti E, Holmbom B, Papavassiliou AG, Moutsatsou P. Lignans 7-hydroxymatairesinol and 7-hydroxymatairesinol 2 exhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Mol Nutr Food Res.* 2014;58(4):749-59 doi.
 13. Yang D, Xiao CX, Su ZH, Huang MW, Qin M, Wu WJ, Jia WW, Zhu YZ, Hu JF, Liu XH. (-)-7(S)-hydroxymatairesinol protects against tumor necrosis factor-alpha-mediated inflammation response in endothelial cells by blocking the MAPK/NF-kappaB and activating Nrf2/HO-1. *Phytomedicine.* 2017;32:15-23 doi.
 14. Сметник В.П., Приливы: загадка климактерия. «Климактерий», 2009, № 1, с.25-33.
 15. Lacey J.V., Mink P.J., Lubin J.H. et al. Menopausal hormone replacement therapy and risk of ovarian cancer. *JAMA;* 2002 Jul 17 ; 288(3):334-41.
 16. Coughlin S.S., Giustozzi A., Smith S.J., Lee N.C. A meta-analysis of estrogen replacement therapy and risk of epithelial ovarian cancer. *J Clin Epidemiol;* 2000 Apr ; 53(4):367-75.
 17. Rossouw J.E., Anderson G.L., Prentice R.L., LaCroix A.Z., WHI Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA;* 2002 Jul 17 ; 288(3):321-33.
 18. Reynolds R.F., Obermeyer C.M., Walker A.M. et al. Side effects and sociobehavioral factors associated with the discontinuation of hormone therapy in a Massachusetts health maintenance organization. *Menopause;* 2001 May-Jun ; 8(3):189-99.
 19. Громова О.А., Торшин И.Ю., Лиманова О.А., Никонов А.А. Патофизиология вегетативно-сосудистых пароксизмов (приливы) у женщин в период менопаузы и механизм действия бета-аланина. *Гинекология.* 2010. Т. 12. № 2. С. 29-36.
 20. Зароченцева Н.В., Джиджихия Л.К. Возможности применения клималанина при вазомоторных пароксизмах у женщин в климактерическом периоде. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2012. Т. 12. № 3. С. 92-97.
 21. Pawlyk AC, Cosmi S, Alfinito PD, Maswood N, Deecher DC. Effects of the 5-HT2A antagonist mirtazapine in rat models of thermoregulation. *Brain Res.* 2006 Dec 6;1123(1):135-44.
 22. Торшин И.Ю., Громова О.А., Лиманова О.А. «Быстрый эффект» б-аланина при приливах: сравнительное исследование взаимодействий б-аланина, таурина и глицина с глициновыми рецепторами. *Гинекология.* 2012. Т. 14. № 2. С. 65-69.
 23. Laidlaw M, Cockerline CA, Sepkovic DW. Effects of a breast-health herbal formula supplement on estrogen metabolism in pre- and post-menopausal women not taking hormonal contraceptives or supplements: a randomized controlled trial. *Breast Cancer (Auckl).* 2010;4:85-95.
 24. Christianson-Heiska I, Isomaa B. The use of primary hepatocytes from brown trout (*Salmo trutta lacustris*) and the fish cell lines RTH-149 and ZF-L for in vitro screening of (anti)estrogenic activity of wood extractives. *Toxicol In Vitro.* 2008;22(3):589-97 doi.
 25. Cosentino M, Marino F, Ferrari M, Rasini E, Bombelli R, Luini A, Legnaro M, Delle Canne MG, Luzzani M, Crema F, Paracchini S, Lecchini S. Estrogenic activity of 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMR/lignan) from Norway spruce (*Picea abies*) knots and of its active metabolite enterolactone in MCF-7 cells. *Pharmacol Res.* 2007;56(2):140-7 Epub 2007 May.

26. Saarinen NM, Warri A, Makela SI, Eckerman C, Reunanen M, Ahotupa M, Salmi SM, Franke AA, Kangas L, Santti R. Hydroxymatairesinol, a novel enterolactone precursor with antitumor properties from coniferous tree (*Picea abies*). *Nutr Cancer*. 2000;36(2):207-216.
27. Saarinen NM, Penttinen PE, Smeds AI, Hurmerinta TT, Makela SI. Structural determinants of plant lignans for growth of mammary tumors and hormonal responses in vivo. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;93(2-5):209-19 Epub 2005 Fe.
28. Saarinen NM, Huovinen R, Warri A, Makela SI, Valentin-Blasini L, Needham L, Eckerman C, Collan YU, Santti R. Uptake and metabolism of hydroxymatairesinol in relation to its anticarcinogenicity in DMBA-induced rat mammary carcinoma model. *Nutr Cancer*. 2001;41(1-2):82-90.
29. Miura D, Saarinen NM, Miura Y, Santti R, Yagasaki K. Hydroxymatairesinol and its mammalian metabolite enterolactone reduce the growth and metastasis of subcutaneous AH109A hepatomas in rats. *Nutr Cancer*. 2007;58(1):49-59.
30. Bylund A, Saarinen N, Zhang JX, Bergh A, Widmark A, Johansson A, Lundin E, Adlercreutz H, Hallmans G, Stattin P, Makela S. Anticancer effects of a plant lignan 7-hydroxymatairesinol on a prostate cancer model in vivo. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2005;230(3):217-223.
31. Katsuda S, Yoshida M, Saarinen N, Smeds A, Nakae D, Santti R, Maekawa A. Chemopreventive effects of hydroxymatairesinol on uterine carcinogenesis in Donryu rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2004;229(5):417-424.
32. Oikarinen SI, Pajari A, Mutanen M. Chemopreventive activity of crude hydroxymatairesinol (HMR) extract in Apc(Min) mice. *Cancer Lett*. 2000;161(2):253-258.