



ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ *WITHANIA SOMNIFERA* ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИМ СПОСОБОМ

Михайлова Е.В.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Проспект октября 71, г. Уфа, Россия, 450054
E-mail: mikhele@list.ru

Резюме

Withania somnifera (L.) Dunal – Витания снотворная, называемая также ашвагандой или индийским женьшенем - растение, широко используемое в традиционной восточной медицине. Современные научные исследования подтверждают применимость витанолидов и других веществ, содержащихся в корнях витании, в лечении различных заболеваний. Однако огромные масштабы сбора *W. somnifera* для использования в традиционной медицине на данный момент ставят вид под угрозу вымирания. Поскольку это растение требовательно к климатическим условиям, наиболее перспективным представляется выращивание культуры "волосовидных корней" (hairy roots) *W. somnifera* в биореакторах. Несомненным преимуществом данного метода является получение биоматериала высокой степени чистоты, со стабильным содержанием биологически активных веществ. Было накоплено большое количество данных об оптимальных условиях культивирования корней *W. somnifera* как для ускоренного накопления биомассы, так и для повышения содержания витанолидов, а также о методах их экстракции. Совокупность научных данных позволяет говорить о перспективности производства из витании фармацевтических препаратов для лечения широкого спектра заболеваний.

Ключевые слова: *Withania somnifera*, волосовидные (бородатые) корни,

Цитирование: Михайлова Е.В. Перспективы использования лекарственного растения *Withania somnifera* для производства фармацевтических препаратов биотехнологическим способом // *Biomics*. 2022. Т.14(3). С. 192-208. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-14

© Автор

PROSPECTS FOR THE APPLICATION OF THE MEDICINAL PLANT *WITHANIA SOMNIFERA* FOR BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF PHARMACEUTICALS

Mikhaylova E.V.

Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, 71 Prospekt Oktyabrya, Ufa, 450054, Russia
E-mail: mikhele@list.ru

Resume

Withania somnifera (L.) Dunal, also known as ashwagandha or Indian ginseng, is widely used in traditional oriental medicine. Modern research confirms the applicability of withanolides and other compounds from withania roots in treatment of various diseases. However, the massive gathering of *W. somnifera* for the purposes of traditional medicine puts the species at risk of extinction. Since this plant is sensitive to climatic conditions, production of *W. somnifera* hairy root cultures in bioreactors is the most promising cultivation method. This method allows to produce biomaterial of high purity, with a

stable content of biologically active substances. A large amount of data has been obtained on the optimal conditions for accumulation of biomass, increasing the content of withanolides and their extraction from the roots of *W. somnifera*. The review of data suggests good prospects for the production of pharmaceuticals to treat a wide range of diseases.

Keywords: *Withania somnifera*, hairy roots

Citation: Mikhaylova E.V. Prospects for the application of the medicinal plant *Withania somnifera* for biotechnological production of pharmaceuticals. *Biomics*. 2022. Т.14(3). С. 192-208. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-14 (In Russian)

© Author

Введение

Лекарственное растение *W. somnifera* относится к семейству *Solanaceae*, роду *Withania*, включающему ещё 22 вида, в том числе еще одно лекарственное растение — *Withania coagulans*. Наиболее близкими родственниками витании являются растения рода *Physalis*, а один из синонимов видового названия витании — *Physalis somnifera* L. Растение высоко ценится в индийской традиционной медицине и включено в список важнейших лекарственных растений, нуждающихся в коммерциализации в связи с высоким спросом [Shasmita et al., 2018].

Основными действующими веществами *W. somnifera* являются алкалоиды и стероидные лактоны. В честь растения свое название получили витанолиды – полиоксистероиды (С-28) с лактонным кольцом. Они имеют структурное сходство с активными компонентами женьшеня - гинзенозидами [Kulkarni, Dhir, 2008].

Витания является популярным объектом исследования преимущественно в Индии [Owais et al., 2005; Shah et al., 2018; Johny et al., 2018; Thilip et al., 2019; Shasmita et al., 2018], единичные исследования проводятся и в Китае [Henley et al., 2017], Японии [Yu et al., 2019] и Иране [Yousefian et al., 2018], Пакистане [Aslam et al., 2017], а также исследователями, происходящих из этих стран [Palliyaguru et al., 2016; Kim et al., 2020; Naidoo et al., 2018]. Но высокая стоимость очищенных метаболитов витании приводит к тому, что преимущественно изучается биологическая активность экстрактов растения, а не очищенных метаболитов по отдельности. Также подобные исследования проводятся с использованием растений *W. somnifera*, изъятых из природы. Огромные масштабы сбора витании для нужд традиционной медицины ставят вид под угрозу вымирания. В таких странах как Пакистан серьезную проблему представляет также уничтожение местообитания витании местными жителями и даже

использование этого редкого растения для обогрева в зимний период [Aslam et al., 2017; Tata et al., 2019].

До последнего времени в европейской культуре это растение было, по всей видимости, малоизвестно, однако в последние годы внимание к нему со стороны научного сообщества резко возросло, что отразилось на увеличении количества публикаций. Всего на конец 2022 года их почти 47 тысяч. Тем не менее, резкое сокращение природных популяций может привести к тому, что ценное растение исчезнет прежде, чем сможет найти практическое применение.

Для решения этой проблемы активно разрабатываются методы биотехнологического производства культур тканей витании. Это растение хорошо поддается *in vitro* культивированию. Были получены культуры клеток, каллусов и адвентивных корней, а также «hairy roots» - «бородатых», «косматых», «волосовидных» корней [Dhar et al., 2015]. Выращивание культуры «hairy roots» в биореакторах успешно применяется в фармацевтической промышленности. Например, Республике Корея было налажено промышленное производство в биореакторах «hairy roots» женьшеня, содержащих не менее 60 мг/г сапонинов (<http://cbnbiotech.com>), тогда как из природных корней не удавалось выделить более 30 мг/г [Palaniyandi et al., 2017], 45 мг/г [Kwon et al., 2003], 55 мг/г [Cho et al., 2014].

Тем не менее, отечественной медицине витания и её метаболиты до сих пор неизвестны, а научная литература об этом растении на русском языке практически отсутствует.

В данном обзоре обобщаются наиболее актуальные данные о биотехнологическом производстве витанолидов и рассматриваются перспективы использования *W. somnifera* для создания фармацевтических препаратов.

Витания как биологический вид

W. somnifera- это небольшой обильно опушенный кустарник, имеющий длинные клубневидные корни. Цветы мелкие, обоеполые, зеленого цвета, имеют форму колокольчика. Цветение и плодоношение обычно происходит с октября по июль. Красные или оранжевые плоды с многочисленными желтыми семенами напоминают плоды физалиса [Aslam et al., 2017]. Сбор корней возможен на 150-180 день вегетации. Корни неразветвленные, обычно 10-17,5 см в длину и 6-12 мм в диаметре.

Витания предпочитает жаркий, засушливый климат, хорошо растет на красноземах при уровне осадков 500-750 мм и температурах 21-35 °С. Растение встречается на территории от Средиземноморья до Восточной Азии [Kulkarni, Dhir, 2008; Singh et al., 2015].

Для семян характерно состояние глубокого покоя [Pandey et al., 2017]. Всхожесть их крайне низкая и сохраняется не более одного года, а проростки подвержены грибным заболеваниям и хлорозу [Shasmita et al., 2018]. Витания также поражается вредителями, такими как *Oxyrachis tarandus*. Предпринимаются попытки решения этой проблемы. В частности, замачивание семян в растворе гипохлорита натрия с добавлением нитратов калия, аммония, кобальта и др. позволяло размягчить твердую оболочку семян и повысить их всхожесть [Khanna et al., 2013]. Стратификация при 15°C в темноте также положительно сказывалась на всхожести [Kumar et al., 2015]. Для проращивания семян предпочтительны температура 25 ± 2°C, фотопериод 16/8 и освещенность 3000 люкс [Kambizi et al., 2006]. Для размножения витании предпочтительно получать биоматериал в контролируемых условиях, в том числе теплицах [Kaur et al., 2018] и с использованием микроклонального размножения [Baba et al., 2013].

Биосинтез витанолидов

Всего у *W. somnifera* обнаружено 12 алкалоидов и 43 различных витанолидов [Palliyaguru et al., 2016; Trivedi et al., 2017]. Разнообразие витанолидов обеспечивается гидроксилированием, гликозилированием, формированием дополнительных колец и боковых цепей [Gupta et al., 2015]. Основными считаются витаферин А, витанолид А и витанолид D. Алкалоиды в составе растения разнообразны: анаферин, бета-систерол, анахигрин, сомниферин, сомнин, тропин, анаферин, анагидрин, тропин, тропанол, витананин, витанин и др. Некоторые соединения накапливаются только в определенных тканях витании. Так, хлорогеновая кислота и витаферин А обнаруживаются в листьях,

цистеин накапливается в плодах, ацилстерилглюкозиды и гликовитанолиды - в корнях [Aslam et al., 2017]. Витаферин А и витанон преимущественно обнаруживаются в листьях, тогда как витанолид А - в корнях. Интересно, что витанолид А в значительных количествах обнаруживается в *in vitro* культурах побегов, но при этом отсутствует в надземной части растений в природе [Singh et al., 2015].

На содержание биологически активных веществ могут оказывать влияние сорт и возраст растения, место произрастания, состояние почвы и условия окружающей среды [Dhar et al., 2013]. Например, в двух коммерческих сборах витании содержание витаферина А и витанолида А различалось от 168 и 224 нг/г до 157 и 253 нг/г, соответственно [Tomar et al., 2019]. В период вегетативного роста происходит накопление преимущественно витанолида А и витанона, тогда как максимальное количество витаферина А синтезируется при завязывании плодов. В начале плодоношения повышается содержание витанолидов, аланина, аспартата, холина, фосфохолина, сахарозы и кофейной кислоты, тогда как витанамидов и цитратов больше на стадии созревания плодов. Состав метаболитов различается и в зависимости от органа растения [Singh et al., 2015]. Биосинтез витанолидов не до конца изучен. Предположительно, предшественниками этих веществ являются изопреноиды, которые дальше претерпевают превращения в цитозоле и пластидах при участии мевалоновой кислоты и метилэритритолфосфата.

Витания находится в числе 100 Пасленовых, геномы которых будут полностью секвенированы. Уже были получены транскриптомы витании и установлено количество хромосом 2n=48 [Gupta et al., 2015]. Выявлено около 30 генов, задействованных в биосинтезе витанолидов, таких как Δ14-стерол редуктаза, стерол Δ7 редуктаза, С-5-стерол десатураза, геранил дифосфат синтаза, мевалонат киназа, сквален монооксигеназа/эпоксидаза, метилтрансфераза [Pandey et al., 2017; Gupta et al., 2015]. Важнейший регуляторный ген биосинтеза витанолидов кодирует сквален синтазу (*SQS*). Его сверхэкспрессия приводила к увеличению содержания витаферина А и витанолида А в листьях в 4-4,5 раза [Patel et al., 2015]. Сайленсинг же этого гена приводил к снижению аккумуляции фитостеролов [Pandey et al., 2017].

Сверхэкспрессия гена циклоартенол синтазы (*CAS*) увеличивала содержание витанолидов только в 1,06-1,66 раз [Mishra et al., 2016].

Трансгенные растения витании с повышенной экспрессией гена стеролгликозилтрансферазы *WsSGTL1* характеризовались ускоренным ростом,

устойчивостью к *Spodoptera litura* и холодовому стрессу, а также повышенным содержанием гликостеролов и гликовитанолидов. [Pandey et al., 2017]. Сайленсинг же генов *WsSGTL1*, *WsSGTL2* и *WsSGTL4* при помощи микро-РНК приводил к увеличению наработки витанолида А и витаферина А и снижению содержания гликовитанолидов, но при этом устойчивость растений к патогенам снижалась [Singh et al., 2016]. Сайленсинг гена стерол $\Delta 7$ редуктазы *WsDWF-5* приводил к снижению аккумуляции витанолидов [Pandey et al., 2017].

Интересно отметить, что грибные заболевания, в частности, *Alternaria alternata*, приводили к снижению биосинтеза витанолидов, тогда как эндофитные грибы *Aspergillus terreus*, *Penicillium oxalicum* и *Sarocladium kiliense*, напротив, способствовали накоплению витанолидов [Singh et al., 2027a; Kushwaha et al., 2019].

Различные факторы, такие как источники углеводов, неорганические соединения, экстракты водорослей, гормоны, элиситоры могут влиять на биосинтез витанолидов. Например, повышения продукции витанолидов удавалось добиться также путем обработки салициловой кислотой и метилжасмонатом, индолилмасляной и индолилуксусной кислотами, а также повышением pH среды с 5,8 до 6 [Pandey et al., 2018; Thorat et al., 2022; Sivanandhan et al., 2021].

Для выделения биологически активных веществ из витании большинством авторов рекомендуется использование *in vitro* культур [Johny et al., 2015; Singh et al., 2017]. Тем не менее, не во всех из них присутствуют ценные метаболиты - например, в каллусных культурах витанолиды отсутствовали [Roja et al., 1991].

Бородатые корни витании

Наиболее хорошо зарекомендовавшим себя альтернативным способом получения биологически активных веществ в лабораторных условиях являются культуры «hairy roots» [Guillon et al., 2006]. В данном методе используется естественная способность *Agrobacterium rhizogenes* стимулировать корнеобразование. В природе данные бактерии, попадая в поврежденные части растений, интегрируют в ядерный геном растений Т-ДНК своей мегаплазмиды, известной под названием Ri-плазида (root-inducing). Особый тип корней может расти на безгормональных питательных средах. Такие корни сохраняют в условиях *in vitro* генетическую стабильность и способность к синтезу корнеспецифичных для данного растения вторичных метаболитов, что кардинально отличает их от культур недифференцированно растущих клеток и тканей.

Культуры «hairy roots» *W. somnifera* многократно были получены разными научными группами и использованием разнообразных штаммов *A. rhizogenes*. Наиболее подвержены агробактериальной трансформации были листья [Sivanandhan et al., 2021]. Например, при использовании штамма R1601, «hairy roots» удалось получить только на 3,33% семядольных эксплантах и 40,3% листовых эксплантах. На листовых эксплантах корни появлялись через 2-4 дня, а на семядольных — через 32 дня после инокуляции. Стебли, корни, гипокотили и семядольные узлы *W. somnifera* некротировались, не давая корней [Murthy et al., 2008]. На гормональных средах при использовании штамма R1000 удавалось получать «hairy roots» из 64% черешковых эксплантов, тогда из междоузлий и листьев - 37,7% и 42,5% соответственно. У штамма 15834 в этой работе эффективность была несколько ниже: 29,7%, 16,6% и 23,4% [Saravanakumar et al., 2012]. В другом исследовании штамм 15834 показал эффективность 60% на листовых эксплантах, тогда как штамм А4 - 70% [Михайлова и др., 2017; Musin et al., 2021]. Еще в одном исследовании эффективность штамма 15834 составила 66,5% и 59,5 % для листовых эксплантов и кончиков побегов [Dehdashti et al., 2017]. В одном из наиболее ранних исследований по получению «hairy roots» витании, частота трансформации штаммами А4 и LBA 9402 составляла 90% и 70%, тогда как штамм LBA 9360 был неэффективен [Banerjee et al., 1994]. В еще одном исследовании лучшим штаммом оказался R1000, позволявший добиться 88% и 64% эффективности трансформации листовых и семядольных эксплантов витании. Для штамма А4 эти значения составили 79% и 38%, для штамма R1601 - 64% и 88%, штаммов МТСС 2364 и МТСС 532 - 20% [Ganeshan et al., 2014]. В другом исследовании эффективность трансформации семядольных и листовых эксплантов была ниже (3,33% и 40,3% для штамма А4) [Murthy et al., 2008].

Добавление ацетосирингона, а также пятидневное сокультивирование эксплантов с агробактериями повышало эффективность трансформации листовых и семядольных эксплантов [Ganeshan et al., 2014]. С использованием штамма R1000 эффективность трансформации с использованием ацетосирингона повысилась с 64% до 93,2% [Saravanakumar et al., 2012]. При использовании штамма R1000 наиболее высокая эффективность трансформации (93,3 %) наблюдалась в течение трех недель после обработки эксплантов ультразвуком в течение 15 секунд и выдерживания в течение 5 минут при температуре 41°C [Thilip et al., 2015]. Были получены и трансгенные «hairy roots» витании как с репортерными и селективными

генами [Dehdashti et al., 2017], так и с улучшенными свойствами. Сверхэкспрессирующие ген стерол гликозилтрансферазы корни аккумулировали больше витанолида А [Pandey et al., 2016]. Трансформация геном сквален синтазы Арабидопсиса *AtSQS1* способствовала ускоренному росту и повышению биосинтеза витаферина А в 1,5 раза [Yousefian et al., 2018]. Были также созданы «hairy roots» витании, синтезирующие рекомбинантный гормон адипонектин, который оказывает противовоспалительный и антиатерогенный эффекты [Dehdashti et al., 2020].

Культуры корней обычно нуждаются в большом количестве питательных веществ. Наиболее оптимальной для витании была среда Мурасиге-Скуга, содержащая 40 г/л сахарозы. В таких условиях биомасса «hairy roots» могла в 5 раз превышать биомассу обычных корней [Murthy et al., 2008]. Сахароза в качестве источника углерода была более предпочтительна, чем глюкоза, фруктоза и мальтоза [Sivanandhan et al., 2012].

По многочисленным данным, «hairy roots» витании превосходят интактные растения по содержанию ценных метаболитов. Например, в природных корнях витанолид А в среднем обнаруживается в количестве 0,01-5 мг/г сухой массы [Mirjalili et al., 2009a], тогда как в «hairy roots» путем оптимизации состава среды (в частности, при удвоении концентрации KNO_3) удавалось достичь концентрации 15,27 мг/г [Praveen et al., 2013]. Еще в одном исследовании было показано, что в обычных корнях в 2,7 раз меньше витанолида А - 0,057 мг/г сухой массы против 0,157 мг/г в «hairy roots» [Murthy et al., 2008]. Нарботка витанолида Д в «hairy roots» витании составляла 0,181 мг/г в день, тогда как в обычных корнях - всего 0,026 мг/г в день [Sivanandhan et al., 2021].

Витаферин А и вовсе содержится только в побегах растений в количестве около 15,23 мг/г и полностью отсутствует в природных корнях [Sabir et al., 2008], тогда как в «hairy roots» содержание этого компонента может достигать 72,3 мг/г [Saravanakumar et al., 2012]. Следует отметить, что каждая линия корней — это уникальный случай трансформации, и содержание биологически активных соединений в них может быть разным. Например, из двух исследованных линий «hairy roots» *W. somnifera*, полученных при помощи штамма A4 *A. rhizogenes*, одна продуцировала больше витанолида А (0,05 мг/г), а другая — витанолида В (0,05 мг/г) и 12-деоксивитастромонолида (0,18 мг/г). Выход витаферина А был одинаков в двух исследованных линиях корней и составлял 0,93-0,95 мг/г сухой массы, что в 28-34 раза превышало его содержание в обычных корнях [Johny et al., 2018].

На содержание метаболитов оказывает влияние и морфотип, а именно склонность той или иной линии корней к образованию каллусов. Показано, что корни с каллусами накапливали в два раза больше витанолида А, чем типичные «hairy roots». Тем не менее, последние характеризовались более быстрым ростом [Mirjalili et al., 2009].

Интересно, что метаболиты корней могут выделяться в питательную среду. Так, витаферин А обнаруживался в жидкой среде Мурасиге-Скуга, где в течение 10 недель культивировали «hairy roots» витании [Banerjee et al., 1994].

Следует отметить, что сравнение данных разных исследований по содержанию ценных метаболитов достаточно проблематично, поскольку на конечный результат в значительной степени влияет метод экстракции.

Экстракция витанолидов

На данный момент витания продается в основном в виде порошка из высушенных корней. Тем не менее, для медицинских целей необходимо использование чистых веществ в известной концентрации. Для разделения витанолидов использовались тонкослойная и высокоэффективная тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография и жидкостная хроматография с последующей масс-спектрометрией [Tomar et al., 2019]. Тем не менее, методы разделения других биологически активных вещества *W. somnifera*, разработаны в гораздо меньшей степени.

Несмотря на возможность достижения, довольно большого выхода биологически активных веществ, сложно определить наиболее эффективный способ их экстракции. Например, согласно патенту США № 10,166,266B2, наилучшим экстрагирующим агентом для витаферина А служил 60% водный метанол (удалось получить до 7,11 мг/г сухой массы побегов), тогда как при использовании 100% метанола выход был в 5 раз меньше. Однако в исследовании, где была обнаружена максимальная концентрация витаферина А - 72,3 мг/г сухой массы [Saravanakumar et al., 2012], использовался неразбавленный метанол.

Согласно некоторым данным, хлороформ был более эффективен, чем метанол, для экстракции витанолидов и фенолоксидов [Tomar et al., 2019]. Для экстракции фенольных соединений, витаферина А, 12-деоксивитастромонолида и витанолида А хлороформ и этилацетат оказались более эффективны, чем гексан и метанол [Kumar et al. 2018]. Однако в других работах метанол показал себя лучшим экстрактом, чем вода, ацетон, этилацетат и хлороформ [Ganguly et al., 2018; Yadava et al., 2011].

В работе, где в качестве экстрактантов использовались вода, этанол и смесь воды с этанолом (9:1), преимущество имел чистый этанол, с использованием которого выход витанолидов составил 4,79 мкг/мг, из которых 3,57 мкг приходились на витанолид А, а общее количество выделенных фенольных соединений составило 35,93 мг/г. Использование ультразвука практически двукратно повышало выход витанолидов при снижении содержания в спиртовом экстракте фенольных соединений, но не влияло на эффективность других экстрактантов. Микроволны незначительно улучшали экстракцию витанолидов этанолом, при этом даже снижая эффективность других экстрактантов [Dhanani et al., 2017]. Экстракция витанолидов, витанозидов и стероидных лактонов была более эффективной при использовании субкритической воды, под давлением нагретой до 200 °С, в течение 30 минут, нежели при использовании микроволн, мацерации и экстрактора Сокслета [Nile et al., 2019]. Тем не менее, с помощью этанола удавалось экстрагировать больше фенольных соединений, чем при использовании субкритической воды [Kashyap et al., 2022].

В целом, данные об оптимальном методе экстракции витанолидов достаточно разрознены, а однозначный выбор экстрактанта на основе литературных данных не представляется возможным.

Применение витанолидов

Имеются сообщения о наличии у витании множества полезных свойств. Наиболее хорошо изучены витанолид А и витаферин А, исследуются также свойства витанолида В, витанона, сомнина, сомниферина, псевдо-витанина, тропина, витанина и 12-деоксивитастронолида [Shasmita et al., 2018; Johnny et al., 2018]. Многие из этих соединений обладают одновременно противораковой, противовоспалительной, противовирусной, антимикробной и нейропротекторной активностью [Halder et al., 2017; Pavan Kumar Achar et al., 2018; Garg et al., 2020; Dar et al., 2017; Khanchandani et al., 2019].

Наибольшее количество данных накоплено о противораковой активности метаболитов витании [Dar et al., 2019; Naidoo et al., 2018; Prakash et al., 2002; Setty Balakrishnan et al., 2017; Kim et al., 2020; Yadav et al., 2010]. Считается, что витанолид Е и витаферин А могут обладать иммуномодулирующими и противоопухолевыми свойствами, воздействуя на В и Т-лимфоциты, а также ингибируя ангиогенез. Применение витаферина А, витанона и витанолида А способствовало дифференцировке клеток опухолей мозга - глиомы и нейробластомы - благодаря активации молекулы адгезии нервных клеток и

подавления ее полисиалилированной формы и матричных металлопротеаз. В целом, витанолиды вызывают окислительный стресс в раковых клетках, что приводит к остановке их роста либо апоптозу [Singh et al., 2015]. Экстракты корней витании ингибировали липогенез в клетках рака простаты и снижали содержание ферментов биосинтеза жирных кислот, превосходя по эффекту церуленин и этомоксир [Kim et al., 2020]. Экстракты листьев витании подавляли рост клеточных культур различных опухолей на 39-98% [Yadav et al., 2010; Prakash et al., 2002]. Противораковая активность также была обнаружена у белка WSPF, обнаруживаемого в корнях витании. Наибольшую активность вещество проявляло в клетках рака груди [Dar et al., 2019].

Противовоспалительный эффект стероидов, содержащихся в составе растения, в первую очередь витаферина А, по сути является иммуносупрессивным и сравним с эффектом гидрокортизона натрия сульфата [Rasool et al., 2006; Giri et al., 2006]. Порошок корней витании уменьшал симптомы артрита у мышей за счет снижения количества воспалительных цитокинов, а экстракт корней уменьшал содержание оксида азота в коленных хрящах человека *in vitro* [Gupta et al., 2014; Khan et al., 2019; Sumantran et al., 2008]. Экстракт листьев витании препятствовал глиозу, снижал выработку воспалительных цитокинов и экспрессию ферментов нитрозирующего стресса у крыс, что говорит о возможности применения витании для лечения нейродегенеративных заболеваний [Gupta et al., 2018].

Благодаря способности модулировать дофаминергическую систему, витания может использоваться при болезни Паркинсона [Ahmad et al., 2005]. Благодаря способности ингибировать ацетилхолинэстеразу и бутилхолинэстеразу и служить антагонистами кальция, витанолиды могут использоваться и при болезни Альцгеймера [Choudhary et al., 2005]. Экстракты корней витании увеличивали содержание в печени белка, подобного рецептору липопротеинов низкой плотности, что приводило к снижению количества бета-амилоидов в мозге мышей [Sehgal et al., 2012].

Интерес представляют и отдельные витанолиды. Например, витанозид IV индуцировал рост отростков нервных клеток (нейритов) в культуре нейронов коры головного мозга крыс. Витанолид А не только способствовал регенерации аксонов и дендритов, но и реконструкции пре- и постсинапсов в нейронах. Витанон не только избирательно токсичен для раковых клеток, но и способен защищать клетки мозга от амнезии и глутаматового стресса [Gupta et al., 2019; Jain et al., 2011; Kuboyama et al., 2006; Zhao

et al., 2002]. Своими антиоксидантными свойствами витания была сравнима с депренилом, вызывая увеличение концентрации супероксиддисмутаза, каталазы и глутатион пероксидазы в мозге мышей. *W. somnifera* может использоваться в качестве антиконвульсанта, поскольку может модулировать ГАМК-опосредованную и холинергическую нейротрансмиссию, играющую роль в ряде заболеваний центральной нервной системы [Kulkarni, Dhir, 2008]. Так, метанольный экстракт витании ингибировал связывание 3Н-ГАМК и 35S-трет-бутилбидифосфоротионата в оболочке коры головного мозга мышей, что приводило к повышению концентрации ГАМК в мозгу. Таким образом, витания может оказывать противотревожное и ингибирующее нервную систему действие [Kulkarni, Dhir, 2008]. Витания может также действовать в качестве антидепрессанта, подобно имипрамину [Kulkarni, Dhir, 2008] и при ишемии головного мозга [Kulkarni, Dhir, 2008].

Отмечаются также антибактериальная, противовирусная и фунгицидная активность *W. somnifera* [Aslam et al., 2017]. В 1956 году было впервые показано, что экстракты витании эффективны против *Salmonella aureus* [Halder et al., 2017; Pavan Kumar Achar et al., 2018], позднее данные были подтверждены в экспериментах на мышцах [Owais et al., 2005] и клеточных культурах, причем активностью обладали как спиртовые, так и водные экстракты. Важно отметить, что они не вредили живым клеткам в отличие от синтетических антибиотиков, таких как хлорамфеникол.

Показана эффективность витанолидов в отношении COVID-19 [Khanal et al., 2022; Saggam et al., 2021]. Витанозид V обладает сильной аффинностью связывания с активным центром протеазы коронавируса и вероятно способен к ее ингибированию [Tripathi et al., 2021; Shree et al., 2022]. Экстракты корней витании были также эффективны для борьбы с вредителем зерновых, *Tribolium castaneum*. Они действовали подобно гормонам, нарушая развитие насекомых [Gauret et al., 2020]. Оценка эффективности метаболитов витании проводится как на клеточных культурах [Naidoo et al., 2018; Henley et al., 2017; Yadav et al., 2010], так и на животных [Prakash et al., 2002], при этом установлено, что экстракты витании не токсичны для здоровых клеток [Henley et al., 2017; Yu et al., 2019; Kulkarni, Dhir, 2008; Singh et al., 2015]. В отличие от женьшеня, употребление которого в количестве более 3 г в сутки может приводить к побочным эффектам, таким как повышенное давление и бессонница, витания считается относительно безопасной [Andall et al., 2000] Полулетальная доза витании (LD50) составляет

465 мг/кг для крыс и 432 мг/кг для мышей [Malhotra et al., 1965].

Тем не менее, эффективность применения витании для лечения широкого спектра заболеваний у человека еще не была установлена.

Заключение

Хотя о ценных метаболитах *W. somnifera* и возможности их наработки уже накоплен значительный объем данных, внедрение в медицинскую практику требует большого количества дополнительных исследований. Это делает промышленное производство «hairy roots» витании и поиск оптимальных методов экстракции и очистки витанолидов актуальной задачей. Хотя такие корни получены рядом научных групп, технология до сих пор не была коммерциализирована. При этом увеличение доступности и снижение стоимости витанолидов позволило бы интенсифицировать их исследования, и в том числе провести клинические испытания и начать производство фармацевтических препаратов биотехнологическим способом.

Литература

- 1 Михайлова Е.В., Кулуев Б.Р., Ясыбаева Г.Р., Чемерис А.В. Создание культур бородатых корней *Withania somnifera* и оценка параметров их роста при выращивании на твердых и жидких питательных средах // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. 2017. Т. 13. №2. С. 40-46.
- 2 Ahmad M, Saleem S, Ahmad AS, Ansari MA, Yousuf S, Hoda MN, et al. Neuroprotective effects of *Withania somnifera* on 6-hydroxydopamine induced Parkinsonism in rats. Hum Exp Toxicol 2005;24: 137–47
- 3 Andallu, B. and Radhika, B. (2000) Hypoglycemic, Diuretic and Hypcholesterolemic Effect of Winter Cherry (*Withania somnifera*) Root. Indian Journal of Experimental Biology, 38, 607-609.
- 4 Aslam S. et al. Current Status of *Withania somnifera* (L.) Dunal: An Endangered Medicinal Plant from Himalaya // AJPS. 2017. Vol. 08, № 05. P. 1159–1169. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.85076>
- 5 Baba I. A. et al. In vitro propagation of *Withania Somnifera* (L.) Dunal (Ashwagandha) an endangered medicinal plant //International Journal of Pharmaceutical Science Invention. – 2013. – Т. 2. – №. 3. – С. 6-11.
- 6 Banerjee S., Naqvi A.A., Mandal S., Ahuja P.S. Transformation of *Withania somnifera* (L.) Dunal by *Agrobacterium rhizogenes*: Infectivity and phytochemical studies // Phytother. Res. 1994. Vol. 8, № 8. P. 452–455. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650080803>
- 7 Cho C.-W., Kim Y.-C., Rhee Y.K., Lee Y.-C., Kim K.-T., Hong H.-D. Chemical composition

- characteristics of Korean straight ginseng products // *Journal of Ethnic Foods*. 2014. V. 1(1). P. 24–28. <https://doi.org/10.1016/j.jef.2014.11.007>
- 8 Choudhary MI, Nawaz SA, ul-Haq Z, Lodhi MA, Ghayur MN, Jalil S, et al. Withanolides a new class of natural cholinesterase inhibitors with calcium antagonistic properties // *Biochem Biophys Res Commun* 2005. V.334. P.276–287.
- 9 Dar N.J., Bhat J.A., Satti N.K., Sharma P.R., Hamid A., Ahmad M. Withanone, an Active Constituent from *Withania somnifera*, Affords Protection Against NMDA-Induced Excitotoxicity in Neuron-Like Cells // *Mol Neurobiol*. 2017. V. 54(7). P. 5061–5073. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0044-7>
- 10 Dar P.A., Mir S.A., Bhat J.A., Hamid A., Singh L.R., Malik F., Dar T.A. An anti-cancerous protein fraction from *Withania somnifera* induces ROS-dependent mitochondria-mediated apoptosis in human MDA-MB-231 breast cancer cells // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. V. 135. P. 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.120>
- 11 Dehdashti S.M., Acharjee S., Kianamiri S., Deka M. An efficient Agrobacterium rhizogenes-mediated transformation protocol of *Withania somnifera* // *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 2017. V. 128(1). P. 55–65. <https://doi.org/10.1007/s11240-016-1081-7>
- 12 Dehdashti S.M., Acharjee S., Noman A., Deka M. Production of pharmaceutical active recombinant globular adiponectin as a secretory protein in *Withania Somnifera* hairy root culture // *Journal of Biotechnology*. 2020. V. 323. P. 302–312. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.07.012>
- 13 Dhanani T., Shah S., Gajbhiye N.A., Kumar S. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera* // *Arabian Journal of Chemistry*. 2017. V. 10. P. S1193–S1199. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015>
- 14 Dhar N. et al. Dynamics of withanolide biosynthesis in relation to temporal expression pattern of metabolic genes in *Withania somnifera* (L.) Dunal: a comparative study in two morpho-chemovariants // *Mol Biol Rep*. 2013. V. 40(12). P. 7007–7016. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2820-z>
- 15 Dhar N., Razdan S., Rana S., Bhat W.W., Vishwakarma R., Lattoo S.K. A Decade of Molecular Understanding of Withanolide Biosynthesis and In vitro Studies in *Withania somnifera* (L.) Dunal: Prospects and Perspectives for Pathway Engineering // *Front. Plant Sci*. 2015. V. 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01031>
- 16 Ganguly B., Kumar N., Ahmad A.H., Rastogi S.K. Influence of phytochemical composition on in vitro antioxidant and reducing activities of Indian ginseng [*Withania somnifera* (L.) Dunal] root extracts // *Journal of Ginseng Research*. 2018. V. 42(4). P. 463–469. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2017.05.002>
- 17 Ganeshan S., Natesan S., Andy G., Markandan M. An efficient hairy root culture system for *Withania somnifera* (L.) Dunal // *Afr. J. Biotechnol*. 2014. V. 13(43). P. 4141–4147. <https://doi.org/10.5897/AJB2014.14128>
- 18 Garg S., Huifu H., Kumari A., Sundar D., Kaul S.C., Wadhwa R. Induction of Senescence in Cancer Cells by a Novel Combination of Cucurbitacin B and Withanone: Molecular Mechanism and Therapeutic Potential // *The Journals of Gerontology: Series A* / ed. Anderson R. 2020. V. 75(6). P. 1031–1041. <https://doi.org/10.1093/gerona/glz077>
- 19 Gaur S.K., Kumar K. Toxicity and insect growth regulatory effects of root extract from the medicinal plant, *Withania somnifera* (Linnaeus) against red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) // *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 2020. V. 53(17–18). P. 856–875. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1802566>
- 20 Giri K. R. Comparative study of anti-inflammatory activity of *Withania somnifera* (Ashwagandha) with hydrocortisone in experimental animals (Albino rats) // *J Med Plants Studies*. 2016. V. 4. P. 78-83.
- 21 Guillon S., Trémouillaux-Guiller J., Pati P.K., Rideau M., Gantet P. Harnessing the potential of hairy roots: dawn of a new era // *Trends in Biotechnology*. 2006. V. 24(9). P. 403–409. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.07.002>
- 22 Gupta P., Goel R., Agarwal A.V., Asif M.H., Sangwan N.S., Sangwan R.S., Trivedi P.K. Comparative transcriptome analysis of different chemotypes elucidates withanolide biosynthesis pathway from medicinal plant *Withania somnifera* // *Sci Rep*. 2015. V. 5(1). P. 18611. <https://doi.org/10.1038/srep18611>
- 23 Gupta M., Kaur G. *Withania somnifera* as a Potential Anxiolytic and Anti-inflammatory Candidate Against Systemic Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation // *Neuromol Med*. 2018. V. 20(3). P. 343–362. <https://doi.org/10.1007/s12017-018-8497-7>
- 24 Gupta M., Kaur G. *Withania somnifera* (L.) Dunal ameliorates neurodegeneration and cognitive impairments associated with systemic inflammation // *BMC Complement Altern Med*. 2019. V. 19(1). P. 217. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2635-0>
- 25 Gupta A., Singh S. Evaluation of anti-inflammatory effect of *Withania somnifera* root on collagen-induced arthritis in rats // *Pharmaceutical Biology*. 2014. V. 52(3). P. 308–320. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.835325>
- 26 Halder B., Thakur S.S. *Withania somnifera* Has Potential to Treat Cancer // *Science of Ashwagandha: Preventive and Therapeutic Potentials* / ed. Kaul S.C.,

- Wadhwa R. Cham: Springer International Publishing, 2017. P. 213–226. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59192-6_10
- 27 Henley A.B., Yang L., Chuang K.-L., Sahuri-Arisoylu M., Wu L.-H., Bligh S.W.A., Bell J.D. *Withania somnifera* Root Extract Enhances Chemotherapy through ‘Priming’ // PLoS ONE 2017. V. 12(1). P. e0170917. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170917>
- 28 Jain S., Shukla S.D., Sharma K., Bhatnagar M. Neuroprotective Effects of *Withania somnifera* Dunn. in Hippocampal Sub-regions of Female Albino Rat // *Phytother. Res.* 2001. V. 15(6). P. 544–548. <https://doi.org/10.1002/ptr.802>
- 29 Johny L., Conlan X.A., Adholeya A., Cahill D.M. Growth kinetics and withanolide production in novel transformed roots of *Withania somnifera* and measurement of their antioxidant potential using chemiluminescence // *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2018. V. 132(3). P. 479–495. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1344-y>
- 30 Johny L., Conlan X., Cahill D., Adholeya A. In vitro and in situ screening systems for morphological and phytochemical analysis of *Withania somnifera* germplasms // *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2015. V. 120, P.1191–1202. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0673-3>
- 31 Kambizi L., Adebola P.O., Afolayan A.J. Effects of temperature, pre-chilling and light on seed germination of *Withania somnifera*; a high value medicinal plant // *South African Journal of Botany.* 2006. V. 72(1). P. 11–14. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2005.03.001>
- 32 Kashyap S., Agarwal G., Kumar M., Kant Awasthi K. Extraction of bioactive compounds from *Withania somnifera* using hydrothermal technique // *Materials Today: Proceedings.* 2022. P. S2214785322055304. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.08.385>
- 33 Kaur A. et al. Organic cultivation of Ashwagandha with improved biomass and high content of active Withanolides: Use of Vermicompost // PLoS ONE / ed. Sundar D. 2018. V. 13(4). P. e0194314. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194314>
- 34 Khan M.A., Ahmed R.S., Chandra N., Arora V.K., Ali A. In vivo, Extract from *Withania somnifera* Root Ameliorates Arthritis via Regulation of Key Immune Mediators of Inflammation in Experimental Model of Arthritis // *AIAAMC.* 2019. V. 18(1). P. 55–70. <https://doi.org/10.2174/1871523017666181116092934>
- 35 Khanal P. et al. Withanolides from *Withania somnifera* as an immunity booster and their therapeutic options against COVID-19 // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics.* 2022. V. 40(12). P. 5295–5308. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1869588>
- 36 Khanchandani N., Shah P., Kalwani T., Ardesna A., Dharajiyi D. Antibacterial and Antifungal Activity of Ashwagandha (*Withania somnifera* L.): A review // *J. Drug Delivery Ther.* 2019. V. 9(5-s). P. 154–161. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i5-s.3573>
- 37 Khanna P.K., Kumar A., Chandra R., Verma V. Germination behaviour of seeds of *Withania somnifera* (L.) Dunal: a high value medicinal plant // *Physiol Mol Biol Plants.* 2013. V. 19(3). P. 449–454. <https://doi.org/10.1007/s12298-013-0169-3>
- 38 Kim S.-H., Singh K.B., Hahm E.-R., Lokeshwar B.L., Singh S.V. *Withania somnifera* root extract inhibits fatty acid synthesis in prostate cancer cells // *Journal of Traditional and Complementary Medicine.* 2020. V. 10. P. 188–197. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2020.02.002>
- 39 Kuboyama T., Tohda C., Komatsu K. Withanoside IV and its active metabolite, sominone, attenuate A β (25-35)-induced neurodegeneration: Neuroregeneration by withanoside IV and its metabolite, sominone // *European Journal of Neuroscience.* 2006. V. 23(6). P. 1417–1426. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04664.x>
- 40 Kulkarni S.K., Dhir A. *Withania somnifera*: An Indian ginseng // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* 2008. V. 32(5). P. 1093–1105. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.09.011>
- 41 Kumar B., Yadav R., Singh S.C., Singh H.P. Seed Germination Behavior of *Withania* spp. under Different Temperature Regimes // *Journal of Crop Improvement.* 2016. V. 30(3). P. 287–292. <https://doi.org/10.1080/15427528.2016.1151849>
- 42 Kumar S., Singh R., Gajbhiye N., Dhanani T. Extraction Optimization for Phenolic- and Withanolide-Rich Fractions from *Withania somnifera* Roots: Identification and Quantification of Withaferin A, 12-Deoxywithastromonolide, and Withanolide A in Plant Materials and Marketed Formulations Using a Reversed-Phase HPLC–Photodiode Array Detection Method // *Journal of AOAC INTERNATIONAL.* 2018. V. 101(6). P. 1773–1780. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0081>
- 43 Kushwaha R.K., Singh S., Pandey S.S., Kalra A., Babu C.S.V. Fungal endophytes attune withanolide biosynthesis in *Withania somnifera*, prime to enhanced withanolide A content in leaves and roots // *World J Microbiol Biotechnol.* 2019. V. 35(2). P. 20. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2593-1>
- 44 Kwon J.-H., Lee G.-D., Belanger J.M.R., Jocelyn Pare J.R. Effect of ethanol concentration on the efficiency of extraction of ginseng saponins when using a microwave-assisted process (MAPtm) // *Int J Food Sci Tech.* 2003. V. 38(5). P. 615–622. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00688.x>
- 45 Malhotra CL, Mehta VL, Das PK, Dhalla NS. Studies on *Withania-ashwagandha* Kaul V The effect of total alkaloids (ashwagandholine) on the central nervous system. *Indian J Physiol Pharmacol* 1965. V.9. P.127–136.

- 46 Mishra S., Bansal S., Mishra B., Sangwan R.S., Asha, Jadaun J.S., Sangwan N.S. RNAi and Homologous Over-Expression Based Functional Approaches Reveal Triterpenoid Synthase Gene-Cycloartenol Synthase Is Involved in Downstream Withanolide Biosynthesis in *Withania somnifera* // PLoS ONE. 2016. V. 11(2). P. e0149691. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149691>
- 47 Mirjalili H.M., Fakhr-Tabatabaei S.M., Bonfill M., Alizadeh H., Cusido R.M., Ghassempour A., Palazon J. Morphology and withanolide production of *Withania coagulans* hairy root cultures // Eng. Life Sci. 2009. V. 9, P. 197–204. <https://doi.org/10.1002/elsc.200800081>
- 48 Mirjalili M., Moyano E., Bonfill M., Cusido R., Palazón J. Steroidal Lactones from *Withania somnifera*, an Ancient Plant for Novel Medicine // Molecules. 2009. V. 14(7). P. 2373–2393. <https://doi.org/10.3390/molecules14072373>
- 49 Murthy H.N. et al. Establishment of *Withania somnifera* Hairy Root Cultures for the Production of Withanolide A // Journal of Integrative Plant Biology. 2008. V. 50(8). P. 975–981. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00680.x>
- 50 Musin Kh.G., Gumerova G.R., Gorte E., Baimukhametova E.A., Mikhaylova E.V., Kuluev B.R. Using stress factors for storage of *Withania somnifera* L. hairy roots without passages // Russian Journal of Plant Physiology. 2021. V. 68. P. 536–544. <https://doi.org/10.1134/S1021443721030146>
- 51 Naidoo D.B., Chuturgoon A.A., Phulukdaree A., Guruprasad K.P., Satyamoorthy K., Sewram V. *Withania somnifera* modulates cancer cachexia associated inflammatory cytokines and cell death in leukaemic THP-1 cells and peripheral blood mononuclear cells (PBMC's) // BMC Complement Altern Med. 2018. V. 18(1). P. 126. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2192-y>
- 52 Nile S.H., Nile A., Gansukh E., Baskar V., Kai G. Subcritical water extraction of withanosides and withanolides from ashwagandha (*Withania somnifera* L) and their biological activities // Food and Chemical Toxicology. 2019. V. 132. P. 110659. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110659>
- 53 Owais M., Sharad K.S., Shehbaz A., Saleemuddin M. Antibacterial efficacy of *Withania somnifera* (ashwagandha) an indigenous medicinal plant against experimental murine salmonellosis // Phytomedicine. 2005. V. 12(3). P. 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.07.012>
- 54 Palaniyandi S., Suh J.-W., Yang S. Preparation of ginseng extract with enhanced levels of ginsenosides Rg1 and Rb1 using high hydrostatic pressure and polysaccharide hydrolases // Phcog Mag. 2017. V. 13(49). P. 142. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.203992>
- 55 Palliyaguru D.L., Singh S.V., Kensler T.W. *Withania somnifera*: From prevention to treatment of cancer // Mol. Nutr. Food Res. 2016. V. 60(6). P. 1342–1353. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500756>
- 56 Pandey V., Srivastava R., Akhtar N., Mishra J., Mishra P., Verma P.C. Expression of *Withania somnifera* Steroidal Glucosyltransferase gene Enhances Withanolide Content in Hairy Roots // Plant Mol Biol Rep. 2016. V. 34(3). P. 681–689. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0955-x>
- 57 Pandey V., Ansari W.A., Misra P., Atri N. *Withania somnifera*: Advances and Implementation of Molecular and Tissue Culture Techniques to Enhance Its Application // Front. Plant Sci. 2017. V. 8. P. 1390. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01390>
- 58 Pandey S.S. et al. Endophytes of *Withania somnifera* modulate in planta content and the site of withanolide biosynthesis // Sci Rep. 2018. V. 8. P. 5450. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23716-5>
- 59 Patel N., Patel P., Kendurkar S.V., Thulasiram H.V., Khan B.M. Overexpression of squalene synthase in *Withania somnifera* leads to enhanced withanolide biosynthesis // Plant Cell Tiss Organ Cult. 2015. V. 122, P. 409–420. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0778-3>
- 60 Pavan Kumar Achar G.S., Prabhakar B.T., Rao S., George T., Abraham S., Sequeira N., Baliga M.S. Scientific Validation of the Usefulness of *Withania somnifera* Dunal in the Prevention and Treatment of Cancer // Anticancer plants: Properties and Application / ed. Akhtar M.S., Swamy M.K. Singapore: Springer Singapore, 2018. P. 285–301. https://doi.org/10.1007/978-981-10-8548-2_12
- 61 Prakash J., Gupta S.K., Dinda A.K. *Withania somnifera* Root Extract Prevents DMBA-Induced Squamous Cell Carcinoma of Skin in Swiss Albino Mice // Nutrition and Cancer. 2002. V. 42(1). P. 91–97. https://doi.org/10.1207/S15327914NC421_12
- 62 Praveen N., Murthy H.N. Withanolide A production from *Withania somnifera* hairy root cultures with improved growth by altering the concentrations of macro elements and nitrogen source in the medium // Acta Physiol Plant. 2013. V. 35(3). P. 811–816. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1125-5>
- 63 Rasool M., Varalakshmi P. Immunomodulatory role of *Withania somnifera* root powder on experimental induced inflammation: An in vivo and in vitro study // Vascular Pharmacology. 2006. V. 44(6). P. 406–410. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2006.01.015>
- 64 Roja G., Heble M.R., Sipahimalani A.T. Tissue cultures of *Withania somnifera*: Morphogenesis and withanolide synthesis // Phytother. Res. 1991. V. 5(4). P. 185–187. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650050411>
- 65 Sabir F., Sangwan N.S., Chaurasiya N.D., Misra L.N., Sangwan R.S. In vitro Withanolide Production by *Withania somnifera* L. Cultures // Zeitschrift für Naturforschung C. 2008. V. 63(5-6). P. 409–412. <https://doi.org/10.1515/znc-2008-5-616>

- 66 Saggam A., Limgaokar K., Borse S., Chavan-Gautam P., Dixit S., Tillu G., Patwardhan B. *Withania somnifera* (L.) Dunal: Opportunity for Clinical Repurposing in COVID-19 Management // *Front. Pharmacol.* 2021. V. 12. P. 623795. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.623795>
- 67 Saravanakumar A., Aslam A., Shajahan A. Development and optimization of hairy root culture systems in *Withania somnifera* (L.) Dunal for withaferin-A production // *African journal of Biotechnology*. 2012. V. 11(98). DOI: 10.5897/AJB11.3867
- 68 Sehgal N. et al. *Withania somnifera* reverses Alzheimer's disease pathology by enhancing low-density lipoprotein receptor-related protein in liver // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012. V. 109(9). P. 3510–3515. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112209109>
- 69 Setty Balakrishnan A., Nathan A.A., Kumar M., Ramamoorthy S., Ramia Mothilal S.K. *Withania somnifera* targets interleukin-8 and cyclooxygenase-2 in human prostate cancer progression // *Prostate International*. 2017. V. 5(2). P. 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.prn.2017.03.002>
- 70 Shah D.D., Palaskar S.J., Pawar R., Punse R.R. *Withania Somnifera*: A New Approach To Cancer // *AABS*. 2018. V. 5(1). P. R1-8. <https://doi.org/10.21276/AABS.1838>
- 71 Shree P., Mishra P., Selvaraj C., Singh S.K., Chaube R., Garg N., Tripathi Y.B. Targeting COVID-19 (SARS-CoV-2) main protease through active phytochemicals of ayurvedic medicinal plants – *Withania somnifera* (Ashwagandha), *Tinospora cordifolia* (Giloy) and *Ocimum sanctum* (Tulsi) – a molecular docking study // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2022. V. 40(1). P. 190–203. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1810778>
- 72 Sivanandhan G. et al. Optimization of Carbon Source for Hairy Root Growth and Withaferin A and Withanone Production in *Withania somnifera* // *Natural Product Communications*. 2012. V. 7(10). P. 1934578X1200701. <https://doi.org/10.1177/1934578X1200701005>
- 73 Shasmita, Rai M.K., Naik S.K. Exploring plant tissue culture in *Withania somnifera* (L.) Dunal: *in vitro* propagation and secondary metabolite production // *Critical Reviews in Biotechnology*. 2018. V. 38(6). P. 836–850. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1416453>
- 74 Singh P. et al. Biotechnological interventions in *Withania somnifera* (L.) Dunal // *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. 2015. V. 31(1–2). P. 1–20. <https://doi.org/10.1080/02648725.2015.1020467>
- 75 Singh G., Tiwari M., Singh S.P., Singh S., Trivedi P.K., Misra P. Silencing of sterol glycosyltransferases modulates the withanolide biosynthesis and leads to compromised basal immunity of *Withania somnifera* // *Sci Rep*. 2016. V. 6(1). P. 25562. <https://doi.org/10.1038/srep25562>
- 76 Singh P. et al. Addressing Challenges to Enhance the Bioactives of *Withania somnifera* through Organ, Tissue, and Cell Culture Based Approaches // *BioMed Research International*. 2017. V. 2017. P. 1–15. <https://doi.org/10.1155/2017/32784941>
- 77 Singh V. et al. Leaf spot disease adversely affects human health-promoting constituents and withanolide biosynthesis in *Withania somnifera* (L.) Dunal // *J Appl Microbiol*. 2017. V. 122(1). P. 153–165. <https://doi.org/10.1111/jam.13314>
- 78 Sivanandhan G., Selvaraj N., Ganapathi A., Lim Y.P. Withanolide Production in Hairy Root Culture of *Withania somnifera* (L.) Dunal: A Review // *Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites* / ed. Ramawat K.G., Ekiert H.M., Goyal S. Cham: Springer International Publishing, 2021. P. 607–624. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30185-9_26
- 79 Sumantran V.N., Chandwaskar R., Joshi A.K., Boddul S., Patwardhan B., Chopra A., Wagh U.V. The relationship between chondroprotective and antiinflammatory effects of *Withania somnifera* root and glucosamine sulphate on human osteoarthritic cartilage *in vitro* // *Phytother. Res*. 2008. V. 22(10). P. 1342–1348. <https://doi.org/10.1002/ptr.2498>
- 80 Tata S.S., Jyothirmayee G., Kumar O.A. In vitro Plant Regeneration from Mature Seed Explants of *Withania somnifera* (L.) Dunal, an Important, Rare and Endangered Medicinal Plant // *Not Sci Biol*. 2019. V. 11, P. 387–391. <https://doi.org/10.15835/nsb11410512>
- 81 Thilip C., Mehaboob V.M., Varutharaju K., Faizal K., Raja P., Aslam A., Shajahan A. Elicitation of withaferin-A in hairy root culture of *Withania somnifera* (L.) Dunal using natural polysaccharides // *Biologia*. 2019. V. 74(8). P. 961–968. <https://doi.org/10.2478/s11756-019-00236-9>
- 82 Thilip C., Soundar Raju C., Varutharaju K., Aslam A., Shajahan A. Improved Agrobacterium rhizogenes-mediated hairy root culture system of *Withania somnifera* (L.) Dunal using sonication and heat treatment // *3 Biotech*. 2015. V. 5(6). P. 949–956. <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0297-2>
- 83 Thorat S.A. et al. Differential Gene Expression and Withanolides Biosynthesis During *in vitro* and *ex vitro* Growth of *Withania somnifera* (L.) Dunal // *Front. Plant Sci*. 2022. V. 13. P. 917770. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.917770>
- 84 Tomar V., Beuerle T., Sircar D. A validated HPTLC method for the simultaneous quantifications of three phenolic acids and three withanolides from *Withania somnifera* plants and its herbal products // *Journal of Chromatography B*. 2019. V. 1124. P. 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.06.009>

- 85 Tripathi M.K., Singh P., Sharma S., Singh T.P., Ethayathulla A.S., Kaur P. Identification of bioactive molecule from *Withania somnifera* (Ashwagandha) as SARS-CoV-2 main protease inhibitor // *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2021. V. 39(15). P. 5668–5681. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1790425>
- 86 Trivedi M.K., Panda P., Sethi K.K., Jana S. Metabolite Profiling in *Withania somnifera* Roots Hydroalcoholic Extract Using LC/MS, GC/MS and NMR Spectroscopy // *Chem. Biodiversity*. 2017. V. 14(3). P. e1600280. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600280>
- 87 Yadav B., Bajaj A., Saxena M., Saxena A. In Vitro anticancer activity of the root, stem and leaves of *Withania Somnifera* against various human cancer cell lines // *Indian J Pharm Sci*. 2010. V. 72(5). P. 659. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.78543>
- 88 Yadava S. A. et al. Antioxidant activity of *Withania somnifera* (L.) Dunal by different solvent extraction methods // *J Pharm Res*. 2011. V. 4(5). P. 1428-1430.
- 89 Yousefian Z., Hosseini B., Rezadoost H., Palazón J., Mirjalili M.H. Production of the Anticancer Compound Withaferin A from Genetically Transformed Hairy Root Cultures of *Withania Somnifera* // *Natural Product Communications*. 2018. V. 13(8). P. 1934578X1801300. <https://doi.org/10.1177/1934578X1801300806>
- 90 Yu Y., Wang J., Kaul S.C., Wadhwa R., Miyako E. Folic Acid Receptor-Mediated Targeting Enhances the Cytotoxicity, Efficacy, and Selectivity of *Withania somnifera* Leaf Extract: In vitro and in vivo Evidence // *Front. Oncol*. 2019. V. 9. P. 602. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00602>
- 91 Zhao J., Nakamura N., Hattori M., Kuboyama T., Tohda C., Komatsu K. Withanolide Derivatives from the Roots of *Withania somnifera* and Their Neurite Outgrowth Activities. // *Chem. Pharm. Bull*. 2002. V. 50(6). P. 760–765. <https://doi.org/10.1248/cpb.50.760>
1. Ahmad M, Saleem S, Ahmad AS, Ansari MA, Yousuf S, Hoda MN, et al. Neuroprotective effects of *Withania somnifera* on 6-hydroxydopamine induced Parkinsonism in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2005. V.24. P. 137–147.
2. Andallu, B. and Radhika, B. (2000) Hypoglycemic, Diuretic and Hypocholesterolemic Effect of Winter Cherry (*Withaniasomnifera*) Root. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2000. V.38, 607–609.
3. Aslam S. et al. Current Status of *Withania somnifera* (L.) Dunal: An Endangered Medicinal Plant from Himalaya // *AJPS*. 2017. V. 8(5). P. 1159–1169. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.85076>
4. Baba I. A. et al. In vitro propagation of *Withania Somnifera* (L.) Dunal (Ashwagandha) an endangered medicinal plant. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. 2013. V.2(3). P.6-11.
5. Banerjee S., Naqvi A.A., Mandal S., Ahuja P.S. Transformation of *Withania somnifera* (L.) Dunal by *Agrobacterium rhizogenes*: Infectivity and phytochemical studies. *Phytother. Res*. 1994. V. 8(8). P. 452–455. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650080803>
6. Cho C.-W., Kim Y.-C., Rhee Y.K., Lee Y.-C., Kim K.-T., Hong H.-D. Chemical composition characteristics of Korean straight ginseng products. *Journal of Ethnic Foods*. 2014. V(1). P. 24–28. <https://doi.org/10.1016/j.jef.2014.11.007>
7. Choudhary MI, Nawaz SA, ul-Haq Z, Lodhi MA, Ghayur MN, Jalil S, et al. Withanolides a new class of natural cholinesterase inhibitors with calcium antagonistic properties. *Biochem Biophys Res Commun* 2005. V.334. P.276–287.
8. Dar N.J., Bhat J.A., Satti N.K., Sharma P.R., Hamid A., Ahmad M. Withanone, an Active Constituent from *Withania somnifera*, Affords Protection Against NMDA-Induced Excitotoxicity in Neuron-Like Cells. *Mol Neurobiol*. 2017. V. 54(7). P. 5061–5073. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0044-7>
9. Dar P.A., Mir S.A., Bhat J.A., Hamid A., Singh L.R., Malik F., Dar T.A. An anti-cancerous protein fraction from *Withania somnifera* induces ROS-dependent mitochondria-mediated apoptosis in human MDA-MB-231 breast cancer cells. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. V. 135. P. 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.120>
10. Dehdashti S.M., Acharjee S., Kianamiri S., Deka M. An efficient *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation protocol of *Withania somnifera*. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 2017. V. 128(1). P. 55–65. <https://doi.org/10.1007/s11240-016-1081-7>
11. Dehdashti S.M., Acharjee S., Nomani A., Deka M. Production of pharmaceutical active recombinant globular adiponectin as a secretory protein in *Withania Somnifera* hairy root culture. *Journal of Biotechnology*. 2020. V. 323. P. 302–312. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.07.012>
12. Dhanani T., Shah S., Gajbhiye N.A., Kumar S. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017. V. 10. P. S1193–S1199. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015>
13. Dhar N., Rana S., Bhat W.W. et al. Dynamics of withanolide biosynthesis in relation to temporal expression pattern of metabolic genes in *Withania somnifera* (L.) Dunal: a comparative study in two morpho-chemovariants. *Mol Biol Rep*. 2013. V. 40(12).

- P. 7007–7016. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2820-z>
14. Dhar N., Razdan S., Rana S., Bhat W.W., Vishwakarma R., Lattoo S.K. A Decade of Molecular Understanding of Withanolide Biosynthesis and In vitro Studies in *Withania somnifera* (L.) Dunal: Prospects and Perspectives for Pathway Engineering. *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. P. 1031. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01031>
 15. Ganguly B., Kumar N., Ahmad A.H., Rastogi S.K. Influence of phytochemical composition on in vitro antioxidant and reducing activities of Indian ginseng [*Withania somnifera* (L.) Dunal] root extracts. *Journal of Ginseng Research.* 2018. V. 42(4). P. 463–469. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2017.05.002>
 16. Ganeshan S., Natesan S., Andy G., Markandan M. An efficient hairy root culture system for *Withania somnifera* (L.) Dunal. *Afr. J. Biotechnol.* 2014. V. 13(43). P. 4141–4147. <https://doi.org/10.5897/AJB2014.14128>
 17. Garg S., Huifu H., Kumari A., Sundar D., Kaul S.C., Wadhwa R. Induction of Senescence in Cancer Cells by a Novel Combination of Cucurbitacin B and Withanone: Molecular Mechanism and Therapeutic Potential. *The Journals of Gerontology: Series A* / ed. Anderson R. 2020. V. 75(6). P. 1031–1041. <https://doi.org/10.1093/gerona/glz077>
 18. Gaur S.K., Kumar K. Toxicity and insect growth regulatory effects of root extract from the medicinal plant, *Withania somnifera* (Linnaeus) against red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection.* 2020. V. 53(17–18). P. 856–875. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1802566>
 19. Giri K. R. Comparative study of anti-inflammatory activity of *Withania somnifera* (Ashwagandha) with hydrocortisone in experimental animals (Albino rats) // *J Med Plants Studies.* 2016. V. 4.P. 78-83.
 20. Guillon S., Trémouillaux-Guiller J., Pati P.K., Rideau M., Gantet P. Harnessing the potential of hairy roots: dawn of a new era. *Trends in Biotechnology.* 2006. V. 24(9). P. 403–409. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.07.002>
 21. Gupta P., Goel R., Agarwal A.V., Asif M.H., Sangwan N.S., Sangwan R.S., Trivedi P.K. Comparative transcriptome analysis of different chemotypes elucidates withanolide biosynthesis pathway from medicinal plant *Withania somnifera*. *Sci Rep.* 2015. V. 5(1). P. 18611. <https://doi.org/10.1038/srep18611>
 22. Gupta M., Kaur G. *Withania somnifera* as a Potential Anxiolytic and Anti-inflammatory Candidate Against Systemic Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation. *Neuromol Med.* 2018. V. 20(3). P. 343–362. <https://doi.org/10.1007/s12017-018-8497-7>
 23. Gupta M., Kaur G. *Withania somnifera* (L.) Dunal ameliorates neurodegeneration and cognitive impairments associated with systemic inflammation. *BMC Complement Altern Med.* 2019. V. 19(1). P. 217. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2635-0>
 24. Gupta A., Singh S. Evaluation of anti-inflammatory effect of *Withania somnifera* root on collagen-induced arthritis in rats. *Pharmaceutical Biology.* 2014. V. 52(3). P. 308–320. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.835325>
 25. Halder B., Thakur S.S. *Withania somnifera* Has Potential to Treat Cancer. *Science of Ashwagandha: Preventive and Therapeutic Potentials* / ed. Kaul S.C., Wadhwa R. Cham: Springer International Publishing, 2017. P. 213–226. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59192-6_10
 26. Henley A.B., Yang L., Chuang K.-L., Sahuri-Arisoylu M., Wu L.-H., Bligh S.W.A., Bell J.D. *Withania somnifera* Root Extract Enhances Chemotherapy through ‘Priming’. *PLoS ONE* / 2017. V. 12(1). P. e0170917. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170917>
 27. Jain S., Shukla S.D., Sharma K., Bhatnagar M. Neuroprotective Effects of *Withania somnifera* Dunn. in Hippocampal Sub-regions of Female Albino Rat. *Phytother. Res.* 2001. V. 15(6). P. 544–548. <https://doi.org/10.1002/ptr.802>
 28. Johny L., Conlan X.A., Adholeya A., Cahill D.M. Growth kinetics and withanolide production in novel transformed roots of *Withania somnifera* and measurement of their antioxidant potential using chemiluminescence. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2018. V. 132(3). P. 479–495. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1344-y>
 29. Johny L., Conlan X., Cahill D., Adholeya A. In vitro and in situ screening systems for morphological and phytochemical analysis of *Withania somnifera* germplasms. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2015. V. 120(3). P. 1191–1202. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0673-3>
 30. Kambizi L., Adebola P.O., Afolayan A.J. Effects of temperature, pre-chilling and light on seed germination of *Withania somnifera*; a high value medicinal plant. *South African Journal of Botany.* 2006. V. 72(1). P. 11–14. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2005.03.001>
 31. Kashyap S., Agarwal G., Kumar M., Kant Awasthi K. Extraction of bioactive compounds from *Withania somnifera* using hydrothermal technique. *Materials Today: Proceedings.* 2022. P. S2214785322055304. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.08.385>
 32. Kaur A. et al. Organic cultivation of Ashwagandha with improved biomass and high content of active Withanolides: Use of Vermicompost. *PLoS*

- ONE. 2018. V. 13(4). P. e0194314. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194314>
33. Khan M.A., Ahmed R.S., Chandra N., Arora V.K., Ali A. In vivo, Extract from *Withania somnifera* Root Ameliorates Arthritis via Regulation of Key Immune Mediators of Inflammation in Experimental Model of Arthritis. *AIAAMC*. 2019. V. 18(1). P. 55–70. <https://doi.org/10.2174/1871523017666181116092934>
34. Khanal P. et al. Withanolides from *Withania somnifera* as an immunity booster and their therapeutic options against COVID-19. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2022. V. 40(12). P. 5295–5308. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1869588>
35. Khanchandani N., Shah P., Kalwani T., Ardeshta A., Dharajiya D. Antibacterial and Antifungal Activity of Ashwagandha (*Withania somnifera* L.): A review. *J. Drug Delivery Ther*. 2019. V. 9(5-s). P. 154–161. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i5-s.3573>
36. Khanna P.K., Kumar A., Chandra R., Verma V. Germination behaviour of seeds of *Withania somnifera* (L.) Dunal: a high value medicinal plant. *Physiol Mol Biol Plants*. 2013. V. 19(3). P. 449–454. <https://doi.org/10.1007/s12298-013-0169-3>
37. Kim S.-H., Singh K.B., Hahm E.-R., Lokeshwar B.L., Singh S.V. *Withania somnifera* root extract inhibits fatty acid synthesis in prostate cancer cells. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2020. V. 10(3). P. 188–197. <https://doi.org/10.1016/j.jtcm.2020.02.002>
38. Kuboyama T., Tohda C., Komatsu K. Withanoside IV and its active metabolite, sominone, attenuate A β (25–35)-induced neurodegeneration: Neuroregeneration by withanoside IV and its metabolite, sominone. *European Journal of Neuroscience*. 2006. V. 23(6). P. 1417–1426. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04664.x>
39. Kulkarni S.K., Dhir A. *Withania somnifera*: An Indian ginseng. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2008. V. 32(5). P. 1093–1105. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.09.011>
40. Kumar B., Yadav R., Singh S.C., Singh H.P. Seed Germination Behavior of *Withania* spp. under Different Temperature Regimes. *Journal of Crop Improvement*. 2016. V. 30(3). P. 287–292. <https://doi.org/10.1080/15427528.2016.1151849>
41. Kumar S., Singh R., Gajbhiye N., Dhanani T. Extraction Optimization for Phenolic- and Withanolide-Rich Fractions from *Withania somnifera* Roots: Identification and Quantification of Withaferin A, 12-Deoxywithastromonolide, and Withanolide A in Plant Materials and Marketed Formulations Using a Reversed-Phase HPLC–Photodiode Array Detection Method. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*. 2018. V. 101(6). P. 1773–1780. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0081>
42. Kushwaha R.K., Singh S., Pandey S.S., Kalra A., Babu C.S.V. Fungal endophytes attune withanolide biosynthesis in *Withania somnifera*, prime to enhanced withanolide A content in leaves and roots. *World J Microbiol Biotechnol*. 2019. V. 35(2). P. 20. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2593-1>
43. Kwon J.-H., Lee G.-D., Belanger J.M.R., Jocelyn Pare J.R. Effect of ethanol concentration on the efficiency of extraction of ginseng saponins when using a microwave-assisted process (MAPtm). *Int J Food Sci Tech*. 2003. V. 38(5). P. 615–622. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00688.x>
44. Malhotra CL, Mehta VL, Das PK, Dhalla NS. Studies on *Withania-ashwagandha* Kaul V The effect of total alkaloids (ashwagandholine) on the central nervous system. *Indian J Physiol Pharmacol* 1965. V.9. P.127–136.
45. Mihaylova E.V., Kuluev B.R., Yasybaeva G.R., Chemeris A.V. Sozдание kul'tur borodatyh kornej *Withania somnifera* i ocenka parametrov ih rosta pri vyrashhivanii na tverdyh i zhidkih pitatel'nyh sredah. *Vestnik biotekhnologii i fiziko-himicheskoy biologii imeni Ju.A. Ovchinnikova*. 2017. V. 13(2). S. 40–46. [Creation of cultures of bearded roots of *Withania somnifera* and evaluation of their growth parameters when grown on solid and liquid nutrient media] (In Russian)
46. Mishra S., Bansal S., Mishra B., Sangwan R.S., Asha, Jadaun J.S., Sangwan N.S. RNAi and Homologous Over-Expression Based Functional Approaches Reveal Triterpenoid Synthase Gene-Cycloartenol Synthase Is Involved in Downstream Withanolide Biosynthesis in *Withania somnifera*. *PLoS ONE*. 2016. V. 11(2). P. e0149691. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149691>
47. Mirjalili H.M., Fakhri-Tabatabaei S.M., Bonfill M., Alizadeh H., Cusido R.M., Ghassempour A., Palazon J. Morphology and withanolide production of *Withania coagulans* hairy root cultures // *Eng. Life Sci*. 2009. Vol. 9, № 3. P. 197–204. <https://doi.org/10.1002/elsc.200800081>
48. Mirjalili M., Moyano E., Bonfill M., Cusido R., Palazón J. Steroidal Lactones from *Withania somnifera*, an Ancient Plant for Novel Medicine. *Molecules*. 2009. V. 14(7). P. 2373–2393. <https://doi.org/10.3390/molecules14072373>
49. Murthy H.N. et al. Establishment of *Withania somnifera* Hairy Root Cultures for the Production of Withanolide A. *Journal of Integrative Plant Biology*. 2008. V. 50(8). P. 975–981. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00680.x>
50. Musin Kh.G., Gumerova G.R., Gorte E., Baimukhametova E.A., Mikhaylova E.V., Kuluev B.R. Using stress factors for storage of *Withania somnifera* L. hairy roots without passages. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2021. V. 68. P. 536–544. <https://doi.org/10.1134/S1021443721030146>

51. Naidoo D.B., Chaturgoon A.A., Phulukdaree A., Guruprasad K.P., Satyamoorthy K., Sewram V. *Withania somnifera* modulates cancer cachexia associated inflammatory cytokines and cell death in leukaemic THP-1 cells and peripheral blood mononuclear cells (PBMC's). *BMC Complement Altern Med.* 2018. V. 18(1). P. 126. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2192-y>
52. Nile S.H., Nile A., Gansukh E., Baskar V., Kai G. Subcritical water extraction of withanosides and withanolides from ashwagandha (*Withania somnifera* L) and their biological activities. *Food and Chemical Toxicology.* 2019. V. 132. P. 110659. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110659>
53. Owais M., Sharad K.S., Shehbaz A., Saleemuddin M. Antibacterial efficacy of *Withania somnifera* (ashwagandha) an indigenous medicinal plant against experimental murine salmonellosis. *Phytomedicine.* 2005. V. 12(3). P. 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.07.012>
54. Palaniyandi S., Suh J.-W., Yang S. Preparation of ginseng extract with enhanced levels of ginsenosides Rg1 and Rb1 using high hydrostatic pressure and polysaccharide hydrolases. *Phycog Mag.* 2017. V. 13(49). P. 142. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.203992>
55. Palliyaguru D.L., Singh S.V., Kensler T.W. *Withania somnifera*: From prevention to treatment of cancer. *Mol. Nutr. Food Res.* 2016. V. 60(6). P. 1342–1353. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500756>
56. Pandey V., Srivastava R., Akhtar N., Mishra J., Mishra P., Verma P.C. Expression of *Withania somnifera* Steroidal Glucosyltransferase gene Enhances Withanolide Content in Hairy Roots // *Plant Mol Biol Rep.* 2016. Vol. 34, № 3. P. 681–689. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0955-x>
57. Pandey V., Ansari W.A., Misra P., Atri N. *Withania somnifera*: Advances and Implementation of Molecular and Tissue Culture Techniques to Enhance Its Application. *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 1390. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01390>
58. Pandey S.S. et al. Endophytes of *Withania somnifera* modulate in planta content and the site of withanolide biosynthesis. *Sci Rep.* 2018. V. 8(1). P. 5450. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23716-5>
59. Patel N., Patel P., Kendurkar S.V., Thulasiram H.V., Khan B.M. Overexpression of squalene synthase in *Withania somnifera* leads to enhanced withanolide biosynthesis. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2015. V. 122(2). P. 409–420. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0778-3>
60. Pavan Kumar Achar G.S., Prabhakar B.T., Rao S., George T., Abraham S., Sequeira N., Baliga M.S. Scientific Validation of the Usefulness of *Withania somnifera* Dunal in the Prevention and Treatment of Cancer. *Anticancer plants: Properties and Application / ed. Akhtar M.S., Swamy M.K.* Singapore: Springer Singapore, 2018. P. 285–301. https://doi.org/10.1007/978-981-10-8548-2_12
61. Prakash J., Gupta S.K., Dinda A.K. *Withania somnifera* Root Extract Prevents DMBA-Induced Squamous Cell Carcinoma of Skin in Swiss Albino Mice. *Nutrition and Cancer.* 2002. V. 42(1). P. 91–97. https://doi.org/10.1207/S15327914NC421_12
62. Praveen N., Murthy H.N. Withanolide A production from *Withania somnifera* hairy root cultures with improved growth by altering the concentrations of macro elements and nitrogen source in the medium. *Acta Physiol Plant.* 2013. V. 35(3). P. 811–816. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1125-5>
63. Rasool M., Varalakshmi P. Immunomodulatory role of *Withania somnifera* root powder on experimental induced inflammation: An in vivo and in vitro study. *Vascular Pharmacology.* 2006. V. 44(6). P. 406–410. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2006.01.015>
64. Roja G., Heble M.R., Sipahimalani A.T. Tissue cultures of *Withania somnifera*: Morphogenesis and withanolide synthesis. *Phytother. Res.* 1991. V. 5(4). P. 185–187. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650050411>
65. Sabir F., Sangwan N.S., Chaurasiya N.D., Misra L.N., Sangwan R.S. In vitro Withanolide Production by *Withania somnifera* L. Cultures. *Zeitschrift für Naturforschung C.* 2008. V. 63(5–6). P. 409–412. <https://doi.org/10.1515/znc-2008-5-616>
66. Saggam A., Limgaokar K., Borse S., Chavan-Gautam P., Dixit S., Tillu G., Patwardhan B. *Withania somnifera* (L.) Dunal: Opportunity for Clinical Repurposing in COVID-19 Management. *Front. Pharmacol.* 2021. V. 12. P. 623795. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.623795>
67. Saravanakumar A., Aslam A., Shajahan A. Development and optimization of hairy root culture systems in *Withania somnifera* (L.) Dunal for withaferin-A production. *African Journal of Biotechnology.* 2012. V. 11. P. 98. DOI: 10.5897/AJB11.3867
68. Sehgal N. et al. *Withania somnifera* reverses Alzheimer's disease pathology by enhancing low-density lipoprotein receptor-related protein in liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012. V. 109(9). P. 3510–3515. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112209109>
69. Setty Balakrishnan A., Nathan A.A., Kumar M., Ramamoorthy S., Ramia Mothilal S.K. *Withania somnifera* targets interleukin-8 and cyclooxygenase-2 in human prostate cancer progression. *Prostate International.* 2017. V. 5(2). P. 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.prn.2017.03.002>
70. Shah D.D., Palaskar S.J., Pawar R., Punse R.R. *Withania Somnifera*: A New Approach To Cancer. *AABS.* 2018. V. 5(1). P. R1-8. <https://doi.org/10.21276/AABS.1838>

71. Shree P., Mishra P., Selvaraj C., Singh S.K., Chaube R., Garg N., Tripathi Y.B. Targeting COVID-19 (SARS-CoV-2) main protease through active phytochemicals of ayurvedic medicinal plants – *Withania somnifera* (Ashwagandha), *Tinospora cordifolia* (Giloy) and *Ocimum sanctum* (Tulsi) – a molecular docking study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2022. V. 40(1). P. 190–203. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1810778>
72. Sivanandhan G. et al. Optimization of Carbon Source for Hairy Root Growth and Withaferin A and Withanone Production in *Withania somnifera*. *Natural Product Communications*. 2012. V. 7(10). P. 1934578X1200701. <https://doi.org/10.1177/1934578X1200701005>
73. Shasmita, Rai M.K., Naik S.K. Exploring plant tissue culture in *Withania somnifera* (L.) Dunal: *in vitro* propagation and secondary metabolite production. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2018. V. 38(6). P. 836–850. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1416453>
74. Singh P. et al. Biotechnological interventions in *Withania somnifera* (L.) Dunal. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. 2015. V. 31(1–2). P. 1–20. <https://doi.org/10.1080/02648725.2015.1020467>
75. Singh G., Tiwari M., Singh S.P., Singh S., Trivedi P.K., Misra P. Silencing of sterol glycosyltransferases modulates the withanolide biosynthesis and leads to compromised basal immunity of *Withania somnifera*. *Sci Rep*. 2016. V. 6(1). P. 25562. <https://doi.org/10.1038/srep25562>
76. Singh P. et al. Addressing Challenges to Enhance the Bioactives of *Withania somnifera* through Organ, Tissue, and Cell Culture Based Approaches. *BioMed Research International*. 2017. V. 2017. P. 1–15. <https://doi.org/10.1155/2017/32784941>
77. Singh V. et al. Leaf spot disease adversely affects human health-promoting constituents and withanolide biosynthesis in *Withania somnifera* (L.) Dunal. *J Appl Microbiol*. 2017. V. 122(1). P. 153–165. <https://doi.org/10.1111/jam.13314>
78. Sivanandhan G., Selvaraj N., Ganapathi A., Lim Y.P. Withanolide Production in Hairy Root Culture of *Withania somnifera* (L.) Dunal: A Review. *Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites* / ed. Ramawat K.G., Ekiert H.M., Goyal S. Cham: Springer International Publishing, 2021. P. 607–624. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30185-9_26
79. Sumantran V.N., Chandwaskar R., Joshi A.K., Boddul S., Patwardhan B., Chopra A., Wagh U.V. The relationship between chondroprotective and antiinflammatory effects of *Withania somnifera* root and glucosamine sulphate on human osteoarthritic cartilage *in vitro*. *Phytother. Res*. 2008. V. 22(10). P. 1342–1348. <https://doi.org/10.1002/ptr.2498>
80. Tata S.S., Jyothirmayee G., Kumar O.A. In vitro Plant Regeneration from Mature Seed Explants of *Withania somnifera* (L.) Dunal, an Important, Rare and Endangered Medicinal Plant. *Not Sci Biol*. 2019. V. 11(4). P. 387–391. <https://doi.org/10.15835/nsb11410512>
81. Thilip C., Mehaboob V.M., Varutharaju K., Faizal K., Raja P., Aslam A., Shajahan A. Elicitation of withaferin-A in hairy root culture of *Withania somnifera* (L.) Dunal using natural polysaccharides. *Biologia*. 2019. V. 74(8). P. 961–968. <https://doi.org/10.2478/s11756-019-00236-9>
82. Thilip C., Soundar Raju C., Varutharaju K., Aslam A., Shajahan A. Improved Agrobacterium rhizogenes-mediated hairy root culture system of *Withania somnifera* (L.) Dunal using sonication and heat treatment. *3 Biotech*. 2015. V. 5(6). P. 949–956. <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0297-2>
83. Thorat S.A. et al. Differential Gene Expression and Withanolides Biosynthesis During *in vitro* and *ex vitro* Growth of *Withania somnifera* (L.) Dunal. *Front. Plant Sci*. 2022. V. 13. P. 917770. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.917770>
84. Tomar V., Buerle T., Sircar D. A validated HPTLC method for the simultaneous quantifications of three phenolic acids and three withanolides from *Withania somnifera* plants and its herbal products. *Journal of Chromatography B*. 2019. V. 1124. P. 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.06.009>
85. Tripathi M.K., Singh P., Sharma S., Singh T.P., Ethayathulla A.S., Kaur P. Identification of bioactive molecule from *Withania somnifera* (Ashwagandha) as SARS-CoV-2 main protease inhibitor. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2021. V. 39(15). P. 5668–5681. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1790425>
86. Trivedi M.K., Panda P., Sethi K.K., Jana S. Metabolite Profiling in *Withania somnifera* Roots Hydroalcoholic Extract Using LC/MS, GC/MS and NMR Spectroscopy. *Chem. Biodiversity*. 2017. V. 14(3). P. e1600280. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600280>
87. Yadav B., Bajaj A., Saxena M., Saxena A. In Vitro anticancer activity of the root, stem and leaves of *Withania Somnifera* against various human cancer cell lines. *Indian J Pharm Sci*. 2010. V. 72(5). P. 659. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.78543>
88. Yadava S. A. et al. Antioxidant activity of *Withania somnifera* (L.) Dunal by different solvent extraction methods. *J Pharm Res*. 2011. V. 4(5). P. 1428–1430.
89. Yousefian Z., Hosseini B., Rezadoost H., Palazón J., Mirjalili M.H. Production of the Anticancer Compound Withaferin A from Genetically Transformed Hairy Root Cultures of *Withania Somnifera*. *Natural Product Communications*. 2018. V. 13(8). P.

1934578X1801300.

<https://doi.org/10.1177/1934578X1801300806>

90. Yu Y., Wang J., Kaul S.C., Wadhwa R., Miyako E. Folic Acid Receptor-Mediated Targeting Enhances the Cytotoxicity, Efficacy, and Selectivity of *Withania somnifera* Leaf Extract: In vitro and in vivo Evidence.

Front. Oncol. 2019. V. 9. P. 602.

<https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00602>

91. Zhao J., Nakamura N., Hattori M., Kuboyama T., Tohda C., Komatsu K. Withanolide Derivatives from the Roots of *Withania somnifera* and Their Neurite Outgrowth Activities. *Chem. Pharm. Bull.* 2002. V. 50(6). P. 760–765. <https://doi.org/10.1248/cpb.50.760>