

Учреждение образования «Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»

Биологический факультет
Кафедра ботаники и физиологии растений

СОГЛАСОВАНО

Заведующий кафедрой

 Н.М. Дайнеко

«17» сентября 2020 г.

СОГЛАСОВАНО

Декан факультета

 В.С. Аверин

«18» сентября 2020 г.

ЭЛЕКТРОННЫЙ УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС
ПО УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ РАСТЕНИЙ

для специальности

1-31 80 01 Биология (профилизация Функциональная биология)

Составитель:

канд.биол.наук, доцент Храмченкова О.М.

Рассмотрено и утверждено на заседании
кафедры ботаники и физиологии растений
17.09.2020 г., протокол № 1.

Рассмотрено и утверждено на заседании
научно-методического совета

30.10.2020 протокол № 2

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

А.А. Дворник, заведующий лабораторией моделирования и минимизации антропогенных рисков ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», кандидат биологических наук;

Кафедра биологии УО «Гомельский государственный медицинский университет».

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

**Содержание электронного учебно-методического комплекса
по дисциплине «Вторичные метаболиты растений»
для специальности 1-31 80 01 Биология
(профилизация Функциональная биология)**

	Пояснительная записка.....	4
1	Теоретический раздел.....	7
1.1	Перечень теоретического материала.....	7
1.2	Материалы для обеспечения самостоятельной учебной работы магистрантов.....	9
2	Практический раздел.....	13
2.1	Перечень практических (семинарских) занятий и задания к ним.....	13
3	Контроль знаний.....	18
3.1	Перечень тем экзаменационных работ.....	18
4	Вспомогательный раздел.....	19
4.1	Учебная программа дисциплины.....	19
4.2	Перечень рекомендуемой литературы.....	19

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) по учебной дисциплине «Вторичные метаболиты растений» компонента учреждения высшего образования, модуля «Клеточная биология и молекулярно-генетические механизмы биосигнализации», создан в соответствии с требованиями Положения об учебно-методическом комплексе на уровне высшего образования и предназначен для магистрантов специальности 1-31 80 01 Биология (профилизация Функциональная биология). Содержание разделов УМК соответствует Образовательному стандарту высшего образования второй ступени (магистратура) ОСВО 1-31 80 012012, учебным планам ГГУ имени Ф. Скорины специальности 1-31 80 01 Биология, регистрационные номера G 310117/2М от 08.06.2017 и G 310117/2МЗФ от 08.06.2017. Главная цель ЭУМК – оказание методической помощи магистрантам в систематизации учебного материала при изучении дисциплины и в процессе подготовки к итоговой аттестации по курсу «Вторичные метаболиты растений».

Курс «Вторичные метаболиты растений» дает представление о многообразии физиологически активных веществ, присущих только растительным организмам. Подача учебного материала ведется в контексте взаимосвязи вторичного и основного обменов веществ в растительном организме; зависимости природы и количества синтезируемых вторичных метаболитов от генотипа растения, стадии онтогенеза, сочетания внешних и внутренних факторов, условий произрастания. В курсе используются знания химии, физики, морфологии анатомии, цитологии и физиологии растений, биохимии, молекулярной биологии, генетики, экологии, биотехнологии, растениеводства, агрохимии.

Цель курса «Вторичные метаболиты растений» – подготовить специалистов, обладающих фундаментальными знаниями об основных группах вторичных метаболитов, входящих в состав растений, их химическом строении и свойствах, путях биосинтеза, локализации синтеза и накопления в растениях, функциях, выделении и методах определения различных групп соединений вторичного происхождения из растительного сырья.

Основные задачи дисциплины – дать знания и целостные представления о веществах вторичного происхождения: биогенезе, метаболизме и функциях; научит обобщать фактический материал в области вторичных метаболитов растительного происхождения; ознакомить с научными достижениями в данной области биохимии растений.

Учебный материал сгруппирован в 6 разделов. Первый раздел является вводным, характеризующим взаимосвязь основного обмена и вторичного метаболизма. Разделы 2 – 5 посвящены характеристике основных групп вторичных метаболитов. В связи с растущим научным интересом во всем мире, мы сочли необходимым посвятить отдельную лекцию вторичным метаболитам лишайников, которые, строго говоря, растениями не являются,

но синтезируют около 12 000 различных биологически активных вторичных метаболитов, не встречающихся ни у каких других организмов. Последний раздел посвящен биохимии, физиологии и биотехнологии вторичных метаболитов, а также методам их обнаружения и анализа.

Наряду с лекциями, учебным планом специальности предусмотрены практические (семинарские) занятия, которые способствуют развитию у обучающихся таких необходимых навыков, как выбор и решение поставленной задачи, сбор и аналитический анализ опубликованных научных данных, умение выделять главное и делать обоснованное заключение. Такие занятия стимулируют регулярное изучение научной литературы, закрепляют знания, полученные на первой ступени высшего образования, прививают навыки самостоятельной работы. На практических (семинарских) занятиях используются методы интерактивного обучения, основанных на психологии человеческих взаимоотношений и взаимодействиях. Высокий уровень освоения дисциплины «Вторичные метаболиты растений» достигается не только в результате выполнения аудиторной работы на лекциях и практических (семинарских) занятиях, но и в ходе самостоятельной работы.

После изучения дисциплины обучающийся должен обладать компетенциями:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-2. Владеть системным и сравнительным анализом.

АК-4. Уметь работать самостоятельно.

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

СК-2. Быть способным использовать знания о молекулярных основах функционирования клеточных систем и механизмах биосигнализации в разработке актуальных вопросов физиологии животных и растений, биотехнологии, экологии, фармации, сельском и лесном хозяйстве

ПК-2. Осваивать новые модели, теории, методы исследования, участвовать в разработке новых методических подходов.

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-4. Готовить научные статьи, сообщения, рефераты, доклады и материалы к презентациям.

БПК-9. Знать сущность и механизмы жизненных процессов, протекающих в растениях и микроорганизмах, быть способным использовать эти процессы для повышения продуктивности и устойчивости растений.

В результате изучения дисциплины обучающийся должен **знать**:

- свойства веществ вторичного происхождения;
- механизм их действия;
- их роль в системах регуляции у многоклеточных растений;

уметь:

- использовать полученные знания в профессиональной деятельности;
- систематизировать полученные знания;
- грамотно излагать теоретический материал;

владеть навыками:

– использования вторичных метаболитов в своей практической деятельности;

– владеть методологическими основами современной науки.

Изучение данной учебной дисциплины предусмотрено магистрантами 1 курса специальности 1-31 80 01 Биология (профилизация Функциональная биология). Общее количество часов для магистрантов дневной формы обучения – 102 (3 зачетных единицы); аудиторных – 42, из них: лекции – 34, в том числе – УСР – 12, практические (семинарские) занятия – 8. Форма отчетности – экзамен в 1 семестре. Общее количество часов для магистрантов заочной формы обучения – 102 (3 зачетных единицы); аудиторных – 14, из них: лекции – 10, практические (семинарские) занятия – 4. Форма отчетности – экзамен в 1 семестре.

Структура УМК включает:

Учебно-методическое обеспечение дисциплины

1. Теоретический раздел (перечень материала для теоретического изучения дисциплины в объеме, установленном учебным планом по специальности).

2. Практический раздел (материалы для проведения практических (семинарских) занятий по дисциплине в соответствии с учебным планом).

3. Контроль самостоятельной работы магистрантов (материалы текущей и итоговой аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям образовательных стандартов высшего образования и учебно-программной документации, в том числе задания управляемой самостоятельной работы магистрантов, темы экзаменационных работ).

4. Вспомогательный раздел.

4.1. Учебно-программные материалы (учебная программа (рабочий вариант) для магистрантов дневной и заочной форм получения образования).

4.2. Информационно-аналитические материалы (список рекомендуемой литературы, перечень электронных образовательных ресурсов и их адреса и др.).

Работа с УМК должна включать ознакомление с тематическим планом дисциплины, представленным в учебной программе. С помощью учебной программы по дисциплине можно получить информацию о тематике лекций и практических (семинарских) занятий, перечнях рассматриваемых вопросов и рекомендуемой для их изучения литературы. Для подготовки к практическим (семинарским) занятиям и промежуточным контрольным мероприятиям необходимо использовать материалы, представленные в разделе учебно-методическое обеспечение дисциплины, а также материалы для текущего контроля самостоятельной работы.

1 ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

1.1 Перечень теоретического материала

Раздел 1 Общая характеристика вторичных метаболитов

Тема 1 Первичный и вторичный метаболизмы и их продукты

- 1 Обмен веществ и энергии в растительной клетке.
- 2 Дыхание и обмен веществ в растительной клетке.
- 3 Шикиматный и ацетатно-малонатный пути биосинтеза.

Тема 2 Общая характеристика вторичных метаболитов

- 1 Характерные особенности вторичных метаболитов.
- 2 Функции вторичных метаболитов.
- 3 Принципы классификации вторичных метаболитов.
- 4 Основные группы вторичных метаболитов, закономерности их строения.

Раздел 2 Терпеноиды

Тема 3 Общая характеристика терпеноидов

- 1 Общая характеристика терпеноидов
- 2 Биосинтез терпеноидов и их функции.
- 3 Гемитерпены и монотерпены.
- 4 Сексвитерпены и дитерпены.

Тема 4 Основные группы терпеноидов (три-, тетра- и политерпеноиды)

- 1 Три-, тетра- и политерпеноиды.
- 2 Ациклические и моно-, би-, трициклические группы терпеноидов.
- 3 Растительные смолы, гутта и каучук.

Раздел 3 Алкалоиды

Тема 5 Общая характеристика алкалоидов

- 1 Общая характеристика алкалоидов, их распространенность в растительном царстве
- 2 Функции алкалоидов в растениях, факторы, влияющие на их накопление.
- 3 Свойства алкалоидов и их применение.

Тема 6 Протоалкалоиды

- 1 Общая характеристика и классификация протоалкалоидов.
- 2 Свойства протоалкалоидов.

Тема 7 Истинные алкалоиды

- 1 Биосинтез алкалоидов.
2. Классификация алкалоидов, характерные представители, свойства.

Тема 8 Псевдоалкалоиды

- 1 Общая характеристика псевдоалкалоидов.
- 2 Соланидин и соланин в картофеле
- 3 Полиаминные и циклопептидные алкалоиды

Раздел 4 Растительные фенолы

Тема 9 Растительные фенолы. Часть 1

- 1 Классификация и функции растительных фенолов.

2 Фенольные соединения с одним ароматическим кольцом.

Тема 10 Растительные фенолы. Часть 2

1 Ксантоны, бензофеноны, стильбены и антрахиноны.

2 Флавоноиды, изофлавоноиды и неофлавоноиды.

3 Катехины и антоцианы.

4 Полимерные фенольные соединения.

Раздел 5 Разнообразие вторичных метаболитов

Тема 11 Растительные гликозиды

1 Общая характеристика гликозидов

2 Классификация гликозидов.

3 Образование гликозидов в растениях и их роль.

4 Характерные представители гликозидов.

Тема 12 Вторичные метаболиты лишайников

1 Физиология лишайников, образование вторичных метаболитов.

2 Роль вторичных метаболитов в жизни лишайников.

3 Биологическая активность и хозяйственное использование вторичных метаболитов лишайников.

Тема 13 Минорные группы вторичных метаболитов

1 Непротеиногенные аминокислоты.

2 Необычные липиды, серосодержащие, ацетиленовые и другие вторичные метаболиты.

Раздел 6 Биохимия и биотехнология вторичных метаболитов растений

Тема 14 Биохимия вторичного метаболизма

1 Предшественники биосинтеза вторичных метаболитов.

2 Пути биосинтеза основных классов вторичных метаболитов.

3 Модификации вторичных метаболитов (гликозилирование, гидроксилирование, метоксилирование, метилирование).

4 Энзимология вторичного метаболизма.

Тема 15 Физиология вторичного метаболизма

1 Клеточные аспекты выделительной деятельности растений.

2 Внутритканевая секреция.

3 Внешняя секреция.

4 Выделение вторичных метаболитов при экстремальных воздействиях.

Тема 16 Методы выделения и определения вторичных метаболитов

1 Общие представления о качественном и количественном анализе растительного материала.

2 Характеристика избранных методов, используемых при изучении вторичных метаболитов растений.

3 Определение основных групп вторичных метаболитов.

Тема 17 Биотехнология вторичных метаболитов растений

1 Типы культур клеток и тканей растений.

2 Использование культуры клеток и тканей для получения вторичных метаболитов.

3 Биотехнологии вторичных метаболитов на основе культур клеток и тканей растений.

1.2 Материалы для обеспечения самостоятельной учебной работы магистрантов. Для организации самостоятельной работы магистрантов по учебной дисциплине рекомендуется использовать современные информационные технологии: размещение в сетевом доступе комплекса учебных и учебно-методических материалов (программа учебной дисциплины, учебно-методический комплекс, методические указания к практическим (семинарским) занятиям, темы экзаменационных работ, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов и др.). Для общей оценки качества усвоения магистрантами учебного материала предлагается использование рейтинговой системы.

При изучении дисциплины «Вторичные метаболиты растений» 6 тем отводится на управляемую самостоятельную работу. Три темы посвящены характеристике определенных классов вторичных метаболитов, три другие – их биохимии, физиологии и аналитике.

РАЗДЕЛ 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ

Тема 1 Первичный и вторичный метаболизмы и их продукты

- 1 Обмен веществ и энергии в растительной клетке.
- 2 Дыхание и обмен веществ в растительной клетке.
- 3 Шикиматный и ацетатно-малонатный пути биосинтеза.

1 Обмен веществ и энергии в растительной клетке

Процессы, происходящие в клетке, подчиняются общим законам физики и химии. Согласно первому закону термодинамики энергия для клеточной работы не может создаваться из ничего и исчезать бесследно. Согласно второму закону термодинамики в клетке последовательно возрастает энтропия и происходит «разупорядочение» структуры. По сравнению с неживыми структурами скорость возрастания энтропии в живых системах минимальная.

Живые организмы представляют собой открытые системы, которые обмениваются с окружающей средой веществом, энергией и информацией.

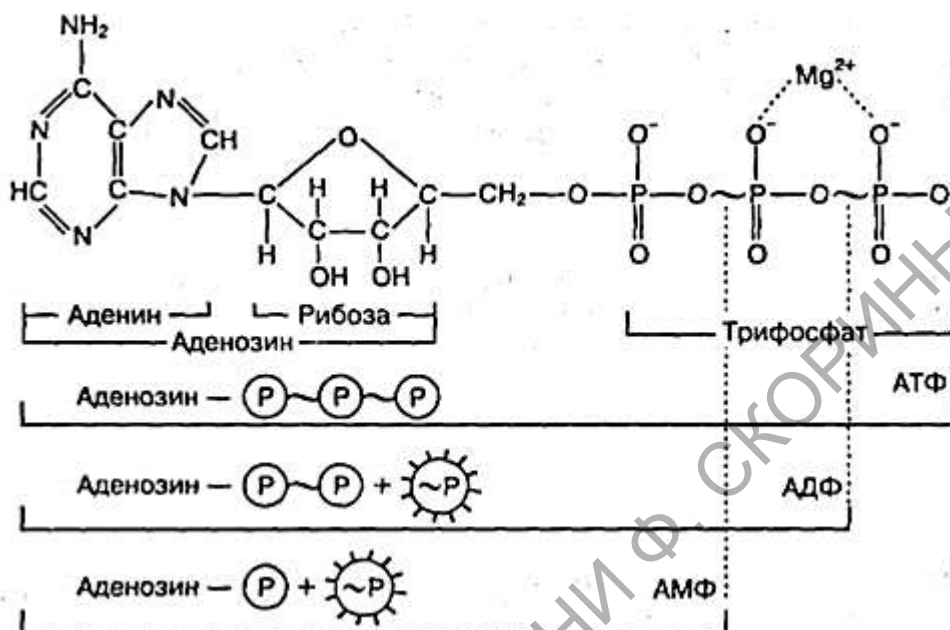
Обмен веществом включает процесс поглощения из окружающей среды диоксида углерода, воды, минеральных веществ, участвующих в клетке в многочисленных биохимических реакциях. В результате этих процессов клетка строит и поддерживает свои структуры, а продукты распада и отходы жизнедеятельности выходят в окружающую среду, где они подвергаются превращениям.

Энергетический обмен. Фотосинтезирующие клетки растений потребляют солнечную энергию и превращают ее в химическую форму. Универсальной клеточной «валютой» служат молекулы АТФ, обеспечивающие важнейшие процессы жизнедеятельности, прежде всего – биосинтезы.

АТФ представляет собой универсальное макроэргическое соединение, реакция гидролиза которого сопряжена со множеством энергозависимых процессов. Сопряжение осуществляется через образование общего для двух реакций промежуточного продукта: отщепляемый от АТФ фосфат временно переносится на молекулу одного из реагирующих веществ. В результате такого фосфорилирования энергия молекулы повышается, и это дает возможность пройти энергетически невыгодной реакции. Помимо АТФ в клетке есть и другие соединения с макроэргической связью и высокими значениями свободной энергии гидролиза, однако, именно АТФ является наиболее общим и прямым источником энергии в клетке.

Часть энергии АТФ затрачивается на механическую работу (например, движение цитоплазмы), другая часть идет на активный транспорт веществ против физико-химических градиентов. Большую роль играют в клетке механизмы, обеспечивающие сигналы о быстрых изменениях окружающей среды. При этом часть энергии АТФ превращается в электрическую (биопотенциалы) или световую (биохемилюминесценция), которые вновь высвобождаются в окружающую среду.

Образованные при фотосинтезе органические вещества участвуют в другом важнейшем процессе – **дыхании**. Окислительный распад дыхательных субстратов приводит к освобождению заключенной в них энергии – часть ее вновь локализуется в молекулах АТФ и может затем использоваться по перечисленным направлениям.



Более половины энергии окисления превращается в теплоту и в этой форме выделяется в окружающую среду. Таким образом осуществляется обмен энергией между клеткой и средой.

Обмен информацией начинается с восприятия клеткой сигналов от внешних раздражителей. Возникающее в клетке возбуждение приводит к изменению функциональной активности клетки. Сигналы о произошедших переменах клетка посылает в окружающую среду.

Клеточная энергетика. Все живые организмы не могут оставаться живыми и поддерживать высокий уровень организации без постоянного притока энергии извне. При этом они могут использовать только две формы внешней энергии – световую и химическую.

При всем разнообразии живых существ и условий среды, в которых они обитают, для получения энергии ими используются три основных процесса – *гликолиз, дыхание и фотосинтез*. При этом, несмотря на все различия в метаболизме растений, животных и бактерий, способы преобразования внешней энергии, будь то энергия света или энергия субстратов дыхания, в клеточные формы энергии базируются на общих фундаментальных принципах и подчиняются общим законам.

Вся поступающая в клетку энергия, будь то световая энергия или энергия субстратов дыхания, сначала преобразуется и запасается в форме универсальных энергетических и восстановительных эквивалентов. Универсальным энергетическим эквивалентом является: *трансмембранный градиент электрохимического потенциала ионов водорода*, или электрохимический протонный градиент $\Delta\mu_{H^+}$ и АТФ.

Важнейшими восстановительными эквивалентами являются НАДН и НАДФН. В фотосинтезе поглощение света сопровождается восстановлением НАДФН и синтезом АТФ в хлоропластах. В процессе дыхания, который имеет место в клетках растений и животных, восстановленный НАДН и АТФ образуются в митохондриях. В обоих случаях синтез АТФ опосредован образованием на тилакоидной или митохондриальной мембране электрохимического протонного градиента $\Delta\mu_{H^+}$.

Образование АТФ происходит путем фосфорилирования АДФ неорганическим фосфатом за счет энергии электрохимического потенциала ионов водорода на мембране. Мембранное фосфорилирование протекает во внутренней мембране митохондрий, в мембранах тилакоидов хлоропластов, в хроматофорах фотосинтезирующих бактерий, в цитоплазматической мембране бактерий. Эти мембраны, несущие ферменты переноса электронов и сопряженного с ним фосфорилирования, называются *сопрягающими мембранами*. Как правило, сопрягающая мембрана обогащена белком и биохимически отличается от других мембран клетки, так как содержит уникальный фосфолипид - кардиолипин, который делает мембрану более жидкой и более непроницаемой для ионов.

В основе трансформации энергии (будь то энергия света или субстратов дыхания) в энергию молекулы АТФ лежит общий и единый механизм, который получил название *хемиосмотического сопряжения*. Впервые *хемиосмотическая теория* была постулирована в 1960 г. английским биохимиком Питером Митчеллом. Однако идеи Митчелла были столь необычны, что стали общепризнанными лишь спустя некоторое время, когда получили неопровержимые экспериментальные подтверждения. Впоследствии П. Митчелл получил за свое открытие Нобелевскую премию (1978). Рассмотрим в общих чертах, в чем смысл хемиосмотического сопряжения и какие события лежат на пути преобразования энергии в клетке.

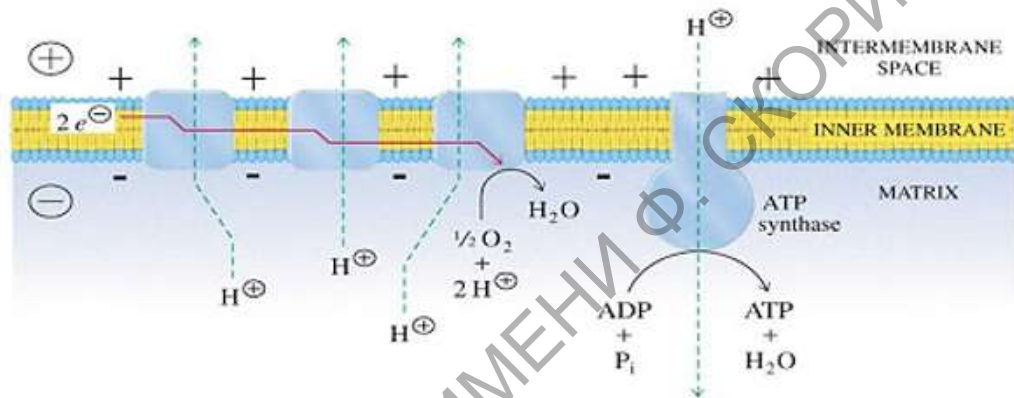
Энергопреобразующие мембраны содержат *ЭТЦ*. В процессах фотосинтеза и дыхания реализация энергии света или окисляемых субстратов в тилакоидной или митохондриальной мембране связана с возникновением *электронного транспорта в ЭТЦ*. Перенос электрона в фотосинтетической или дыхательной цепи неразрывно связан с векторной транслокацией иона H^+ через мембрану против сил электрического поля и в направлении большей концентрации. В фотосинтезе действие ЭТЦ сопряжено с накоплением протонов внутри тилакоидного пространства. Дыхательная цепь перекачивает протоны из матрикса в межмембранное пространство митохондрий. Процесс транслокации протона сопровождается *энергизацией* мембраны, т.е. возникновением на ней трансмембранной разности, или градиента электрохимического потенциала ионов водорода ($\Delta\mu_{H^+}$) или протондвижущей силы Δp . Генерируемый на мембране $\Delta\mu_{H^+}$ представляет собой форму энергии, запасенную на мембране. Он используется для синтеза АТФ в процессах *фотофосфорилирования* и *окислительного фосфорилирования*. Синтез АТФ катализируется ферментом АТФ-синтазой, также локализованным в сопрягающих мембранах хлоропластов, митохондрий или бактерий.

Таким образом, система трансформации энергии включает следующие основные компоненты:

- замкнутая сопрягающая мембрана;
- локализованная в мембране ЭТЦ;
- трансмембранный электрохимический протонный градиент $\Delta\mu_{H^+}$, генерируемый работой цепи;
- АТФ-синтаза, катализирующая синтез АТФ из АДФ и P_i за счет энергии $\Delta\mu_{H^+}$.

Так выглядит общая схема преобразования энергии на мембране.

Трансмембранный градиент электрохимического потенциала ионов водорода, или электрохимический протонный градиент $\Delta\mu_{H^+}$ и АТФ.



1. Необходима **интактная митохондриальная мембрана**
2. Транспорт электронов через ЭТЦ генерирует **протонный градиент**
3. **АТФ синтаза** катализирует фосфорилирование АДФ в реакции, которая обеспечивается прохождением H^+ через внутреннюю мембрану в матрикс

АТФ-синтазы разного происхождения – из митохондрий, хлоропластов или бактериальных мембран – имеют в целом схожее строение, что говорит о несомненно древнем эволюционном происхождении фермента. Фермент состоит из двух частей – двух белковых комплексов, которые обозначают как фактор F_1 и фактор F_0 (CF_1 и CF_0 – для АТФ-синтазы хлоропластов). Фактор, или комплекс, F_1 расположен вне мембраны и на снимках представляет собой «шляпку» гриба высотой 8 нм и шириной 10 нм. Этот гидрофильный сферический комплекс представляет собой каталитический центр, на котором осуществляется синтез АТФ. Гидрофобный F_0 -фактор интегрально встроен в мембрану и формирует канал, по которому ионы H^+ могут пересекать мембрану, двигаясь по градиенту своего потенциала.

Организация ЭТЦ в мембране. Электрон-транспортные цепи фотосинтеза и дыхания организованы в мембране сложным образом и представляют собой встроенные в нее суперкомплексы, состоящие из многих субъ-

единиц белка. В их составе обязательно присутствуют трансмембранные белки, закрепляющие весь комплекс в мембране. Каждый суперкомплекс содержит, как правило, несколько активных центров: на белках в качестве простетических групп или за счет нековалентных взаимодействий удерживаются соединения, которые участвуют в переносе электрона.



Связь между комплексами осуществляют подвижные переносчики, которые могут перемещаться либо в липидной фазе мембраны (хиноны), либо в водной фазе вблизи мембраны. Реакции в ЭТЦ идут с большими скоростями, измеряемыми в интервалах $10^{-4} - 10^{-9}$ с.

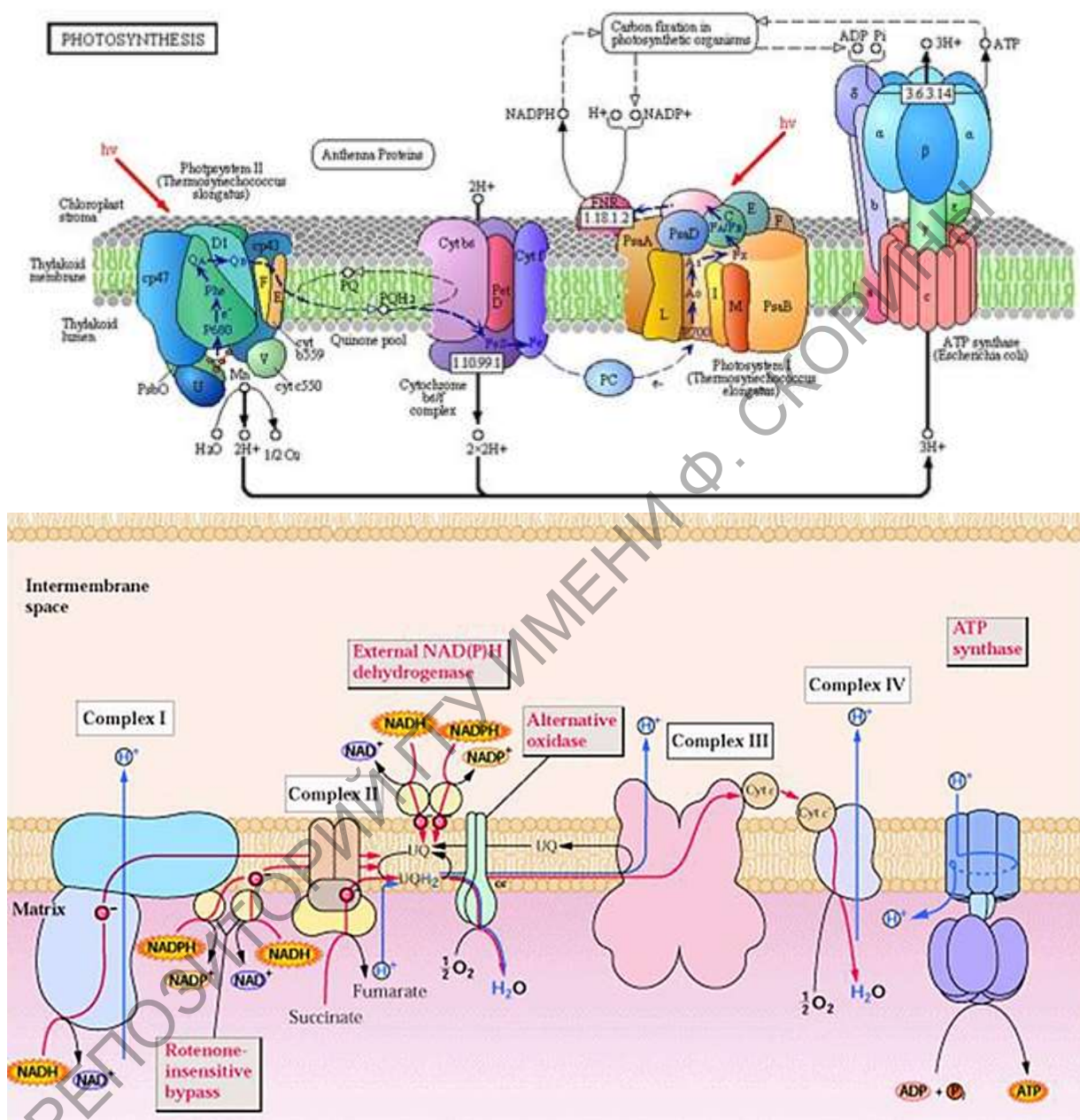
Организация электронного транспорта такова, что перенос электрона по цепи неразрывно связан с направленной транслокацией ионов H^+ через мембрану и генерацией $\Delta\mu_{H^+}$. В тилакоидной мембране протоны переносятся внутрь тилакоидного пространства, а в митохондриях – из матрикса в межмембранное пространство. Механизмы транслокации H^+ через мембрану могут быть разными и в ряде случаев пока остаются неясными. Общим случаем является перенос протона через мембрану при участии подвижных переносчиков - хинонов.

Если в процессе электронного транспорта на мембране возникает $\Delta\mu_{H^+}$, который используется на синтез АТФ, то транспорт называется *сопряженным*. Однако могут быть ситуации, когда работа цепи не сопряжена с генерацией $\Delta\mu_{H^+}$ и синтезом АТФ. Тогда электронный транспорт называется *разобщенным*. Разобщение имеет место в митохондриях животных и растений и представляет особый механизм регуляции метаболизма.

Некоторые переносчики электронов являются общими для ЭТЦ всех типов.

НАД(Н) и НАДФ(Н) – это близкие по структуре растворимые соединения, функциональной частью которых является ароматическое кольцо. НАД(Н) и НАДФ(Н) являются коферментами НАД (Ф)-зависимых *дегидрогеназ*. Эти ферменты катализируют реакции, связанные с отнятием или при-

соединением двух атомов водорода, при этом коферменты переносят гидрид-ион, а недостающий протон захватывается или отдается в водную фазу. Большая часть НАД(Н) и НАДФ(Н) растворена в водной фазе, так как их связи с ферментными белками непрочные и возникают только в момент ферментативной реакции.



Флавопротеиды – белки, содержащие в качестве прочно связанной простетической группы ФМН или ФАД. Функциональная часть этих соединений представлена системой ароматических колец, в состав которых входит остаток рибофлавина (витамина В₂). Окисление – восстановление флавопротеидов связано с переносом двух атомов водорода.

Цитохромы – железосодержащие белки, в составе которых присутствует гем. Основой структуры гема является порфириновое кольцо, образованное из четырех пиррольных колец, в центре которого расположен атом железа. В редокс-превращениях цитохромы функционируют как одноэлек-

тронные переносчики, при этом железо меняет свою валентность, переходя из состояния Fe^{2+} в состояние Fe^{3+} .

Железосерные белки, или Fe-S-белки, содержат так называемые Fe-S-кластеры, или центры. Центры состоят из двух или четырех атомов железа, комплексно связанных с атомами неорганической серы или серы в остатках цистеина в структуре белка. Различают 2Fe-2S- или 4Fe-4S-белки. В состав центра входят несколько атомов железа, но каждый из центров способен принимать или отдавать только один электрон.

В качестве подвижных переносчиков, действующих в липидной фазе мембраны, функционируют **хиноны**, обозначаемые буквой Q (от англ. quinon), **пластохинон** в ЭТЦ фотосинтеза и **убихинон** в ЭТЦ дыхания. Хиноны состоят из ароматического кольца и боковой липофильной цепи, в составе которой может содержаться 9 (пластохинон) или 10 (убихинон) изопреноидных остатков. Свободно диффундирующие в мембране хиноны осуществляют связь между белковыми комплексами и могут переносить два атома водорода.

2. Дыхание и обмен веществ в растительной клетке.

Восстановленные при распаде дыхательного субстрата коферменты включаются в ЭТЦ, окисляются, что приводит к синтезу АТФ. При окислении НАДН, НАДФН синтезируется три, а при окислении ФАДН₂ – две молекулы АТФ. Следовательно, всего при окислении молекулы глюкозы синтезируется 38 молекул АТФ: в результате гликолиза образуется 10 молекул (две расходуются на первоначальное активирование глюкозы), при окислительном карбоксилировании пирувата – шесть, в цикле Кребса – 24.

Приведенный расчет подчеркивает малую эффективность гликолиза как источника АТФ. Энергетическая эффективность гликолиза мала, так как его конечный продукт ПВК – восстановленное вещество, т.е. в нем еще остается большой запас энергии.

Зачем в таком случае гликолиз, возникший на первых этапах эволюции, сохраняется у высших растений? Это связано, во-первых, с тем, что он может действовать в качестве «аварийного» механизма в условиях временного анаэробноза как поставщик АТФ и НАДН для клеточных биосинтезов. Во-вторых, он является источником метаболитов для синтеза веществ.

В пентозофосфатном окислительном цикле восстанавливается 12 молекул НАДФ⁺; в результате их окисления синтезируется 36 молекул АТФ. Если в начале цикла была потрачена одна молекула АТФ на фосфорилирование глюкозы, то общий выход составляет 35 молекул АТФ.

При работе ЭТЦ в результате поглощения одного атома кислорода могут синтезироваться три молекулы АТФ. Однако в реальной обстановке количество синтезируемых молекул АТФ может быть меньше. Последнее определяется степенью сопряжения окисления и фосфорилирования. Любые воздействия, увеличивающие проницаемость мембран для протонов или нарушающие размещение компонентов электрон-транспортной цепи, приводят к уменьшению или прекращению синтеза АТФ. В качестве показателя,

характеризующего количество образованных молекул АТФ и степень сопряжения аэробного дыхания и фосфорилирования, используется соотношение $\Phi:O$ (Φ – количество молей неорганического фосфата, которое пошло на фосфорилирование АДФ, O – количество поглощенного кислорода).

При поглощении одного атома кислорода и переносе электронов от НАДН или НАДФН на кислород с образованием воды максимально могут синтезироваться три молекулы АТФ, поэтому $\Phi:O = 3$.

Когда электроны транспортируются от ФАДН₂, то $\Phi:O = 2$. Таким образом, величина $\Phi:O$ зависит от природы окисляемого вещества. При окислении α -кетоглутарата, кроме фосфорилирования, в дыхательной цепи при окислении НАДН происходит субстратное фосфорилирование и образуется еще одна молекула АТФ, поэтому $\Phi : O = 4$.

Зная, сколько синтезировалось молекул АТФ, можно подсчитать количество энергии, запасенной в макроэргических связях. Чем больше энергии запасается в клетке, тем лучше станет она работать, поэтому показатель $\Phi:O$ называют **физиологическим показателем эффективности дыхания**. При сопряжении окисления и фосфорилирования в макроэргических связях запасается 40 % энергии, которая освобождается при разрушении глюкозы в процессе гликолиза и цикле Кребса, таким образом, 60 % этой энергии выделяется в виде тепла. Когда сопряжение транспорта электронов и фосфорилирования нарушается, то еще больше энергии рассеивается в виде тепла.

Соотношение $\Phi:O$ меньше 3 в большинстве случаев указывает на нарушение сопряжения транспорта электронов с фосфорилированием. Это нарушение может быть вызвано разными причинами, например, температурой. Увеличение температуры до 45 °С практически не влияет на соотношение $\Phi : O$, но при 46-47 °С величина $\Phi:O$ быстро падает до нуля, т.е. происходит разъединение окисления и фосфорилирования. При этих температурах разрушаются кристы митохондрий, что и является причиной разобщения и резкого снижения величины $\Phi:O$.

В состоянии разобщения распадается дыхательный субстрат, клетка выделяет CO_2 , поглощает кислород, образуется вода, идет транспорт электронов, но не синтезируется АТФ. В результате вся энергия рассеивается в виде тепла. Может нарушаться и транспорт электронов по дыхательной цепи.

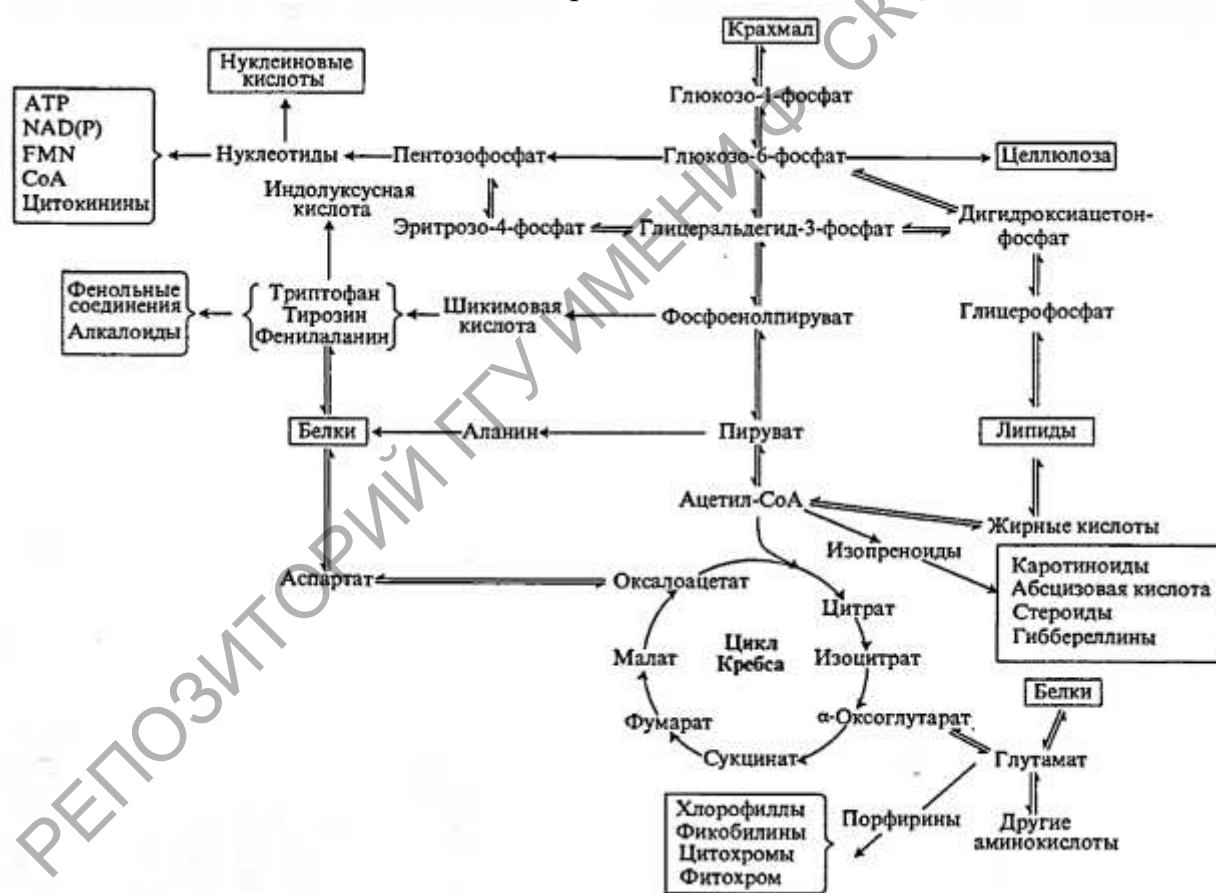
Величина $\Phi:O$ снижается как при обезвоживании, так и при набухании митохондрий. Вообще, при любых воздействиях, нарушающих внутреннюю мембрану митохондрий, размещение дыхательной цепи или расстояния между ними, показатель $\Phi:O$ уменьшается, так как нарушается сопряжение окисления и фосфорилирования.

В молодых тканях сопряжение этих процессов лучше, чем в старых. Вещества, увеличивающие проницаемость мембраны для протонов (например, динитрофенол), получили название **дыхательных ядов**. При их воздействии на клетку протоны, попавшие на наружную сторону внутренней мембраны митохондрий в результате функционирования ЭТЦ, возвращаются в матрикс органеллы, поэтому электрохимический потенциал на мембране не возникает и АТФ не синтезируется. Происходит разобщение окисления и

фосфорилирования, и величина $\Phi:O$ снижается до нуля. Величина показателя $\Phi:O$ увеличивается под воздействием стимуляторов роста, например, под воздействием ИУК.

Что происходит в энергетическом обмене веществ в незеленой клетке? Все процессы обмена, при которых освобождается энергия, делят на три основные фазы. На первой фазе большие молекулы органических веществ разрушаются на более мелкие: сложные углеводы преобразуются в гексозы и пентозы, белки – в аминокислоты, жиры – в глицерин и жирные кислоты. На этой фазе выделяется менее 1 % запаса энергии этих веществ.

На второй фазе сравнительно небольшие молекулы гексоз, аминокислот, глицерина и жирных кислот окисляются. Кроме воды и CO_2 , образуется ацетил- CoA , α -кетоглутарат и ЦУК. Ацетил- CoA образуется через пируват из гексоз и глицерина, а также из некоторых amino- и жирных кислот. Часть аминокислот преобразуется в α -кетоглутарат или ЦУК. Во время второй фазы освобождается от 15 до 30 % энергии, заключенной в этих веществах.



Ацетил- CoA , оксалоацетат и кетоглутарат полностью окисляются во время третьей фазы в результате разрушения веществ через цикл Кребса до CO_2 и воды. Цикл Кребса представляет собой окончательный путь окисления всех органических веществ. Во время третьей фазы освобождается 70-80 % энергии.

В зеленых же клетках источником АТФ служит и фотосинтез. Для характеристики дыхания как физиологического процесса, кроме величины $\Phi:O$, используют показатель интенсивности (скорость) дыхания и коэффициент

дыхания. Интенсивность дыхания – это количество кислорода, поглощенного за 1 час граммом сухой (или сырой) массы растительного материала. Ее можно измерить и количеством CO_2 , который выделяется за 1 час одним граммом растительной массы.

При одновременном учете количества выделяющегося CO_2 и поглощенного O_2 определяют дыхательный коэффициент (ДК). **Дыхательный коэффициент** – это соотношение количества выделенного CO_2 к количеству поглощенного кислорода $\text{ДК} = \text{CO}_2/\text{O}_2$.

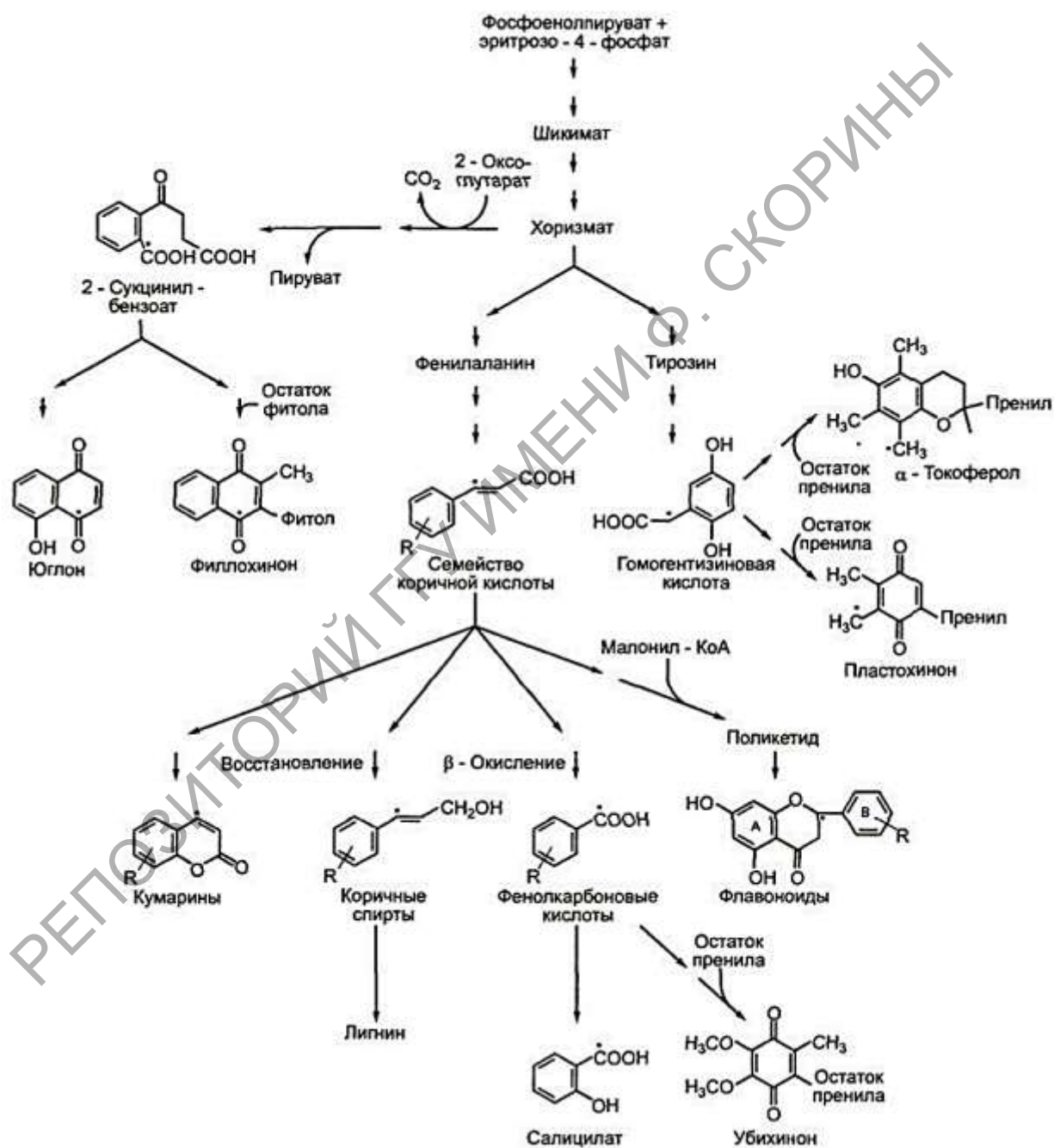
3 Шикиматный и ацетатно-малонатный пути биосинтеза.

Шикиматный путь – метаболический путь, промежуточным метаболитом которого является шикимовая кислота (шикимат). Шикиматный путь отмечается как специализированный путь биосинтеза бензоидных ароматических соединений (очень часто в этом качестве наряду с шикиматным путем отмечается также поликетидный (ацетатно-малонатный) механизм построения бензольных ядер – замыкание (zip-сборка) ароматических систем посредством внутримолекулярной конденсации по типу кротоновой). Шикиматным путем в природе синтезируются такие известные соединения, как фенилаланин, тирозин, триптофан, бензоат, салицилат. Шикиматный путь является источником ароматических предшественников терпеноидных хинонов (убихинонов, пластохинонов, менахинонов, филлохинонов), токоферолов, фолата, флавоноидов, лигнинов, суберинов, меланинов, танинов и огромного множества других соединений, играющих в природе различную роль.

Шикиматный путь – один из древнейших эволюционно консервативных метаболических путей; как источник фундаментальных составляющих (в первую очередь – трех протеиногенных аминокислот) живой материи фактически представляет собой часть первичного метаболизма. Значение шикиматного пути велико, так как этот путь является единственным установленным путем биосинтеза ряда важнейших природных соединений, в том числе значимых в плане их практического использования.

Шикиматный путь осуществляется в клетках прокариот (как бактерий, так и архей) и эукариот (грибов, растений, всевозможных протистов, но не животных). У растений реакции шикиматного пути проходят в цитозоле и, практически независимо, в пластидах (главным образом в хлоропластах), однако гены практически всех ферментов локализованы в ядре; при нормальных условиях роста около 20 % всего усваиваемого растением углерода протекает этим путем, в масштабе биосферы по некоторым оценкам это составляет около 7×10^{12} тонн в год. У организмов, клетки которых не содержат пластиды, шикиматный путь протекает в цитозоле. Многоклеточные животные (Metazoa) не имеют ферментной системы шикиматного пути, так как получают протеиногенные ароматические аминокислоты и прочие необходимые продукты шикиматного пути в достаточном количестве с пищей (или от симбионтов) и потому эволюцией освобождены от необходимости их биосинтеза *de novo*. С другой стороны, избавившись от «лишнего» еще на этапе своего эволюционного становления, животные попали в зависимость от ряда

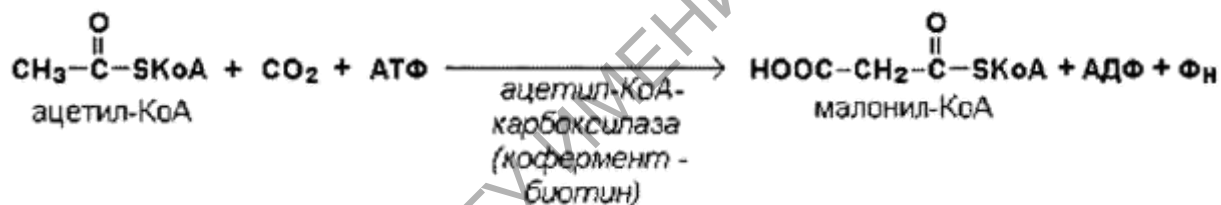
экзогенных соединений (незаменимые аминокислоты, значительная часть витаминов). Животные способны преобразовывать готовые ароматические продукты шикиматного пути, в частности, способны превращать незаменимую аминокислоту фенилаланин в тирозин, являющийся заменимой аминокислотой при условии достаточного поступления фенилаланина с пищей. Шикиматный путь частично или полностью утрачен также некоторыми микроорганизмами, живущими исключительно в богатых необходимыми веществами средах.



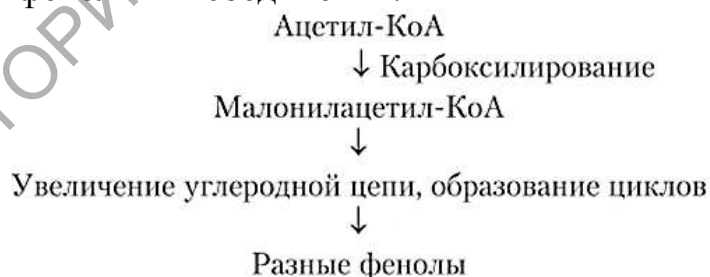
У бактерий три реакции, завершающие биосинтез фенилаланина, могут проходить как в цитозоле, так и в периплазматическом пространстве или экстрацеллюлярно.

Наиболее распространенным в органическом мире и первым изученным путем образования дегидрохинната является путь его биосинтеза из d-эритрозо-4-фосфата и фосфоенолпирувата. d-Эритрозо-4-фосфат образуется преимущественно в системе транскетолазных и трансальдолазных реакций окислительного и восстановительного пентозофосфатных путей, а также, у некоторых микроорганизмов, – при участии фосфокетолазы. Фосфоенолпируват образуется в процессе гликолитического распада углеводов и из оксалоацетата, а у ряда организмов – также одностадийно из пирувата. Сначала происходит взаимодействие по типу альдольной конденсации d-эритрозо-4-фосфата и фосфоенолпирувата с образованием семиуглеродного соединения 3-дезоксид-арабино-гепт-2-улозонат-7-фосфат (ДАГФ, англ. DAHP, множество синонимов). Далее ДАГФ претерпевает внутримолекулярную альдольную конденсацию (циклизацию), что дает дегидрохиннат.

Второй путь биосинтеза фенольных соединений (ацетатно-малонатный путь) связан с промежуточным синтезом поликетометиленовых предшественников. Исходный продукт – ацетил-КоА – образуется в результате гликолиза сахаров и содержит макроэргическую тиоэфирную связь. Ацетил-КоА при участии карбоксилазы и АТФ в присутствии ионов Mn^{2+} превращается в малонил-ацетил-КоА.



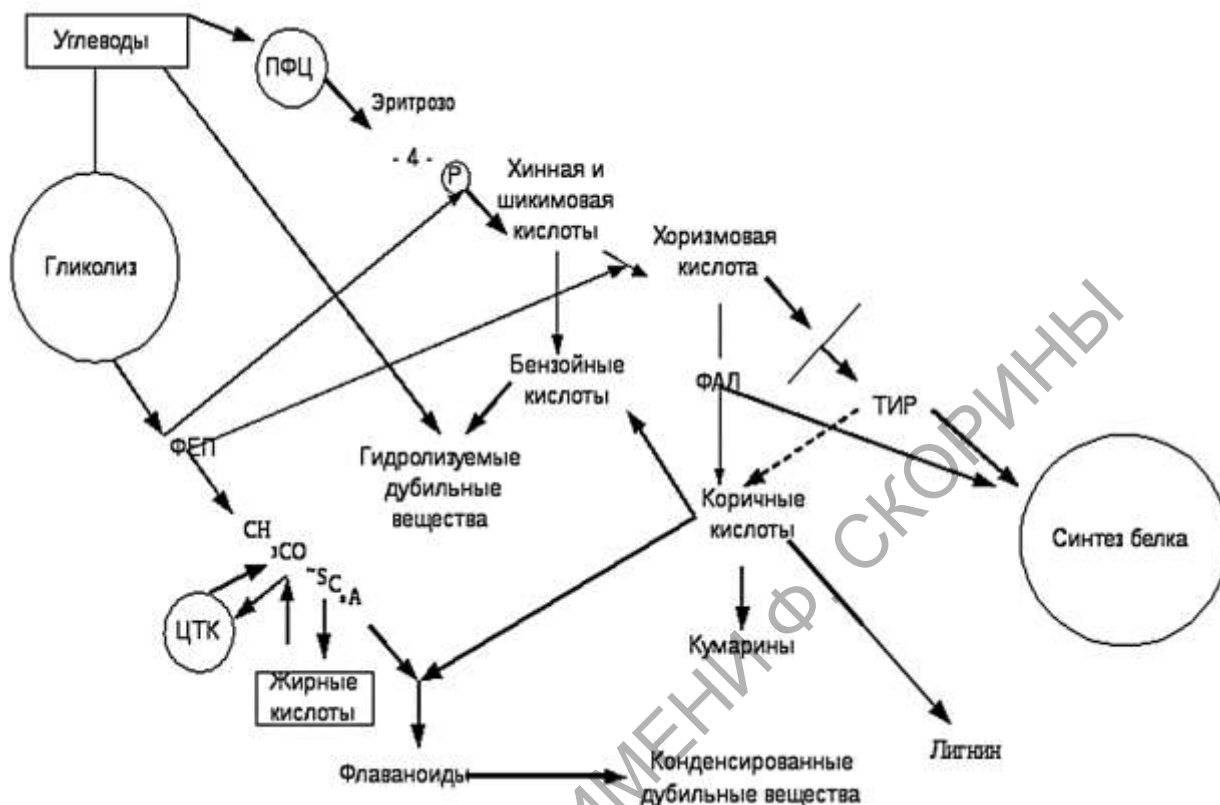
Таким путем при постепенном наращивании углеродной цепи возникает поли-3-кетометиленовая цепочка, циклизация которой приводит к образованию различных фенольных соединений.



Ацетатно-малонатный путь биосинтеза фенольных соединений широко распространен у грибов, лишайников и микроорганизмов. У высших растений он является минорным и, как правило, реализуется в сочетании с шикиматным путем в биосинтезе флавоноидов и антрахинонов. Синтез флавоноидных соединений – характерная особенность высших растений. Опыты с мечеными по углероду ^{14}C продуктами показали, что фенилпропановый скелет (кольцо В и трехуглеродный фрагмент) происходит от кумаровой кислоты, которая получается шикиматным путем. С другой стороны, кольцо А синтезируется по ацетатно-малонатному пути из 3 молекул малонил-КоА.

Основная масса фенольных соединений происходит из гидроксикоричных кислот, которые образуются из фенилаланина и тирозина. Кроме того,

источником фенолов являются промежуточные соединения, возникающие на пути образования фенилаланина и тирозина – хинная и шикимовая кислоты. Из этих кислот образуются фенольные кислоты и гидролизуемые танины.



Гидроксикоричные кислоты образуют кумарины, меланины, участвуют в образовании лигнина и В-кольца флавоноидов. А-кольцо флавоноидов синтезируется из ацетил-СоА (и малонил-СоА). Флавоноиды являются источником конденсированных таннинов. В образовании ряда фенольных соединений (гидролизуемых танинов) участвуют сахара и продукты распада углеводов и липидов – ацетил-СоА (малонил-СоА).

Тема 2 Общая характеристика вторичных метаболитов

- 1 Характерные особенности вторичных метаболитов.
- 2 Функции вторичных метаболитов.
- 3 Принципы классификации вторичных метаболитов.
- 4 Основные группы вторичных метаболитов.

1. Характерные особенности вторичных метаболитов

Помимо первичных метаболитов – углеводов, аминокислот, жирных кислот, хлорофиллов, цитохромов, нуклеотидов, а также соединений, являющихся интермедиатами различных метаболических реакций, растения содержат огромное количество веществ, которые не участвуют в основном обмене. Их принято называть вторичными метаболитами, или веществами вторичного происхождения.

В отличие от первичных метаболитов, присутствующих во всех растительных клетках, вторичные метаболиты могут быть специфичны для одного или нескольких видов растений. Термин «вещества вторичного происхождения» весьма условный, поскольку многие из этих веществ являются важнейшими физиологически активными соединениями, играющими первостепенную роль в процессах дыхания и фотосинтеза.

К настоящему времени на предмет присутствия вторичных метаболитов исследовано около 20–30 тыс. видов растений – примерно 10–15 % от всей флоры земли.

Наиболее многочисленными группами вторичных метаболитов являются: изопреноиды, фенольные соединения и алкалоиды. Каждая из этих групп подразделяется на многочисленные подгруппы.

Кроме этих основных групп, выделяют минорные классы вторичных соединений растительного происхождения: цианогенные гликозиды, серосодержащие гликозиды (тиогликозиды), растительные амины, небелковые аминокислоты, полиацетилены, беталаины, тиофены и др. Некоторые авторы к веществам вторичного метаболизма относят также органические кислоты алифатического ряда, фитогормоны.

В настоящее время известно более десятка групп (классов) вторичных метаболитов. При этом некоторые группы насчитывают по несколько тысяч индивидуальных соединений, некоторые – от единиц до нескольких сотен (минорные группы). Число идентифицированных веществ с каждым годом непрерывно пополняется новыми соединениями.

Вещества вторичного метаболизма разных групп в растительном мире распределены неравномерно. Например, фенольные соединения имеют всеобщее распространение в растениях, в то время как алкалоиды образуются лишь у 10–15 % сосудистых растений. Причем отдельные представители этого класса синтезируются у очень узкого круга растений. Беталаины обнаружены только у растений одного порядка, а серосодержащие и цианогенные гликозиды встречаются лишь в растениях нескольких семейств.

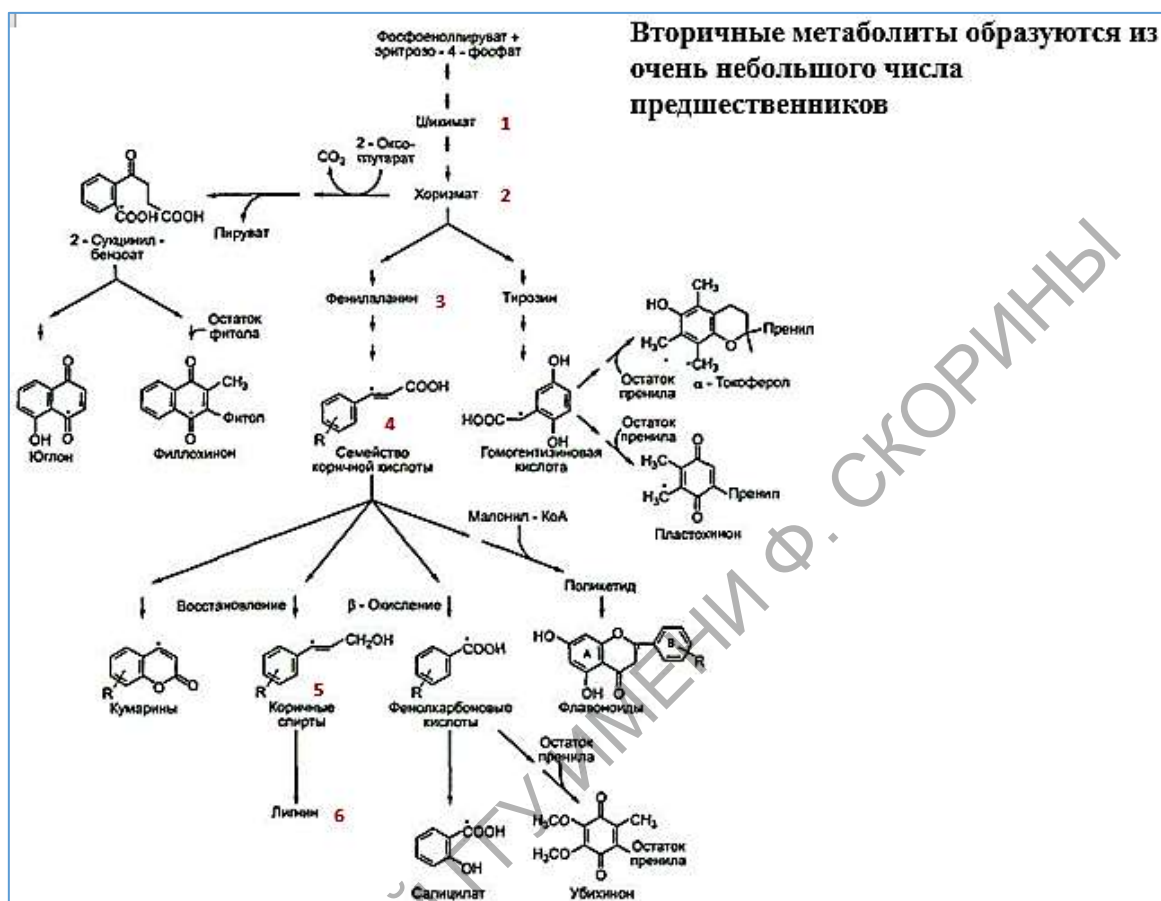
Существуют ли четкие критерии, позволяющие отнести то или иное вещество или группу веществ сходного строения к веществам первичного или вторичного метаболизма?

Принято выделять четыре основополагающих признака вторичных метаболитов:

- присутствие не во всех растениях;
- наличие биологической активности;
- относительно низкая молекулярная масса;
- небольшой набор исходных соединений для синтеза самых разнообразных вторичных метаболитов.

Каждый из этих признаков не является обязательным. Многие фенольные соединения и изопреноиды присутствуют у всех растений. Некоторые соединения вторичного обмена (например, каучук и гутта) имеют высокую молекулярную массу. Тем не менее совокупность этих критериев достаточно четко очерчивает круг вторичных метаболитов растений.

Установлено, что вторичные метаболиты образуются из очень небольшого числа предшественников: 5-6 аминокислот для алкалоидов, фенилаланин или тирозин для фенольных соединений, мевалоновая кислота или 5-оксисилулоза для изопреноидов.



Вещества вторичного метаболизма не имеют собственных путей синтеза, и для своего образования используют основные метаболические пути растений.

Их биосинтез происходит на ответвлениях метаболических путей белков, углеводов, липидов, где функционирует широкий спектр ферментов, обуславливающих способность растений синтезировать разнообразные вещества.

Вторичные метаболиты могут находиться в различных частях клетки, ткани, органа растения. Фенольные соединения образуются в каждом растении, и присутствуют в разных органах и тканях (корень, стебли, листья, цветы, плоды, семена) и в каждой растительной клетке. Алкалоиды чаще всего накапливаются не в тех тканях, в которых синтезируются. Например, никотин синтезируется в корнях табака, а затем переносится, и запасается в листьях.

Соединения вторичного обмена, как правило, распределены в тканях неравномерно. Часто они накапливаются в идиобластах, млечниках, специальных каналах и ходах. Для внутриклеточной локализации вторичных метаболитов характерно их накопление в «метаболически неактивных» компарт-

Поскольку вторичные метаболиты, как правило, отличаются высокой биологической активностью, а, следовательно, могут вызвать повреждения цитоплазмы, у растений должны существовать механизмы, обезвреживающие их. В растениях имеются два основных пути защиты от химически активных веществ: компартментация в пространственно разделенных клеточных органеллах и химическая модификация до относительно безвредных соединений.

Гипотезы о физиологической значимости вторичных метаболитов. В процессе изучения вторичных метаболитов было выдвинуто несколько гипотез о функциональной значимости этих соединений. Однако поразительное разнообразие вторичных метаболитов и практически полное отсутствие корректных подходов к доказательству выдвигаемых гипотез оставляют этот вопрос предметом острых дискуссий до настоящего времени.

Первой появилась *гипотеза об отсутствии какой-либо роли вторичных метаболитов в жизни растений*. Она существовала со времен А. Коссе-ля, который, собственно, и определил вторичные метаболиты как «нечаянно» синтезируемые растительной клеткой. Исходя из этой гипотезы, вторичные метаболиты считаются «отбросами» жизнедеятельности растений, «тупиками метаболизма», возможно, продуктами детоксикации ядовитых первичных метаболитов (например, свободных аминокислот). В настоящее время подобный взгляд на роль вторичных метаболитов не пользуется успехом и подвергается критике. Основные аргументы «против» – слишком большое количество вторичных метаболитов (растение «могло бы придумать» более рациональные способы утилизации отходов). Кроме того, процесс вторичного метаболизма слишком хорошо организован во времени и пространстве, чтобы быть «случайным».

Вторая гипотеза утверждала запасающую роль вторичных метаболитов. В ряде случаев концентрация вторичных метаболитов в органах может достигать значительного уровня. Показано, что многие из них действительно утилизируются клеткой: при определенных условиях алкалоиды могут служить источником азота, фенольные соединения – субстратами дыхания. По всей видимости, ряд вторичных метаболитов выполняет эту функцию, однако в большинстве случаев после образования они не реутилизируются, а накапливаются в клетках или специальных структурах, либо экскретируются.

Довольно своеобразной стала гипотеза относительно «первичности» всех вторичных метаболитов. Согласно этому представлению мы просто еще не знаем, в каких важных процессах они участвуют. Исходной точкой для такой идеи было открытие шикиматного пути синтеза ароматических соединений. С его открытием много «типично вторичных» соединений – например, хинная, дегидрохинная, шикимовая кислоты – автоматически перешли в разряд первичных. Очевидно, что если эта гипотеза и справедлива, то лишь для очень немногих веществ, так как основным признаком вторичных метаболитов – не обязательное присутствие в каждой растительной клетке – справедлив для большинства соединений.

Наибольшее признание в настоящее время получила *гипотеза о защитной роли вторичных соединений*. Систему защиты растения от биотических стрессов образно можно представить в виде «кругов обороны» и, в зависимости от опасности патогена, растение последовательно использует соответствующие «круги».

2 Функции вторичных метаболитов

Все защитные соединения растений можно разделить на три группы – конститутивные, полуиндуцибельные и индуцибельные.

Конститутивные соединения постоянно присутствуют в тканях и органах растения и относятся к «первому кругу» обороны. Они, как правило, обладают широким спектром активности (антимикробной, фунгицидной, инсектицидной), но уровень активности невысок. Эти соединения не могут накапливаться в больших количествах прежде всего из-за своей токсичности и часто локализуются в мертвых тканях (например, корке).

Полуиндуцибельные соединения находятся в тканях в виде неактивного предшественника и после соответствующего сигнала или воздействия быстро превращаются в активные вещества. Эти соединения часто работают на «втором круге» обороны, образуя соединения, как правило, более токсичные, чем конститутивные. Поскольку предшественник нетоксичен, его концентрация в тканях может быть достаточно высокой. Система получения активного соединения, как правило, основана на компартментации процесса. Неактивный предшественник обычно располагается в вакуоле клетки или периплазматическом пространстве, тогда как фермент, осуществляющий его перевод в активную форму, – в цитозоле. Возможна компартментация на уровне ткани. В этом случае предшественник может находиться в идиобластах, а ферменты его активации – в соседних клетках. При нарушении целостности клетки или ткани (за счет прямого повреждения «агрессором» либо в процессе патогенеза) субстрат становится доступным для фермента и быстро образуется токсичное соединение.

Наконец, *индуцибельные соединения* обычно участвуют в работе «третьего круга» обороны. Они характеризуются очень высокой токсичностью и формируются *de novo* в результате разворачивания процесса патогенеза. Их образование обычно запускается в результате работы сигнальных систем клетки, которые включают гены ферментов их синтеза. Многие вторичные метаболиты являются важнейшими участниками каждого из «кругов обороны» растения.

Конститутивные защитные соединения растений. Среди вторичных метаболитов практически любого класса можно обнаружить конститутивные защитные соединения. Например, монотерпены камфен и мирцен представляют собой инсектициды, ментол и α -пинен – репелленты. Многие дитерпеноиды, входящие в состав смол, обладают бактерицидной и фунгицидной активностью. Карденолиды и многие алкалоиды – мощные яды для травоядных животных. Экдистериоды относятся к инсектицидам. Гликоалкалоиды пасленовых обладают широким спектром активности.

Основная проблема для накопления ощутимых количеств ядовитых веществ – их токсичность для самого растения. Небелковые аминокислоты в этом аспекте – почти идеальные конститутивные защитные соединения («почти» – поскольку белоксинтезирующая система некоторых насекомых «научилась» различать белковые аминокислоты от их небелковых аналогов). Следовательно, для них растения, содержащие соответствующие небелковые аминокислоты, перестают быть ядовитыми. Более того, такие насекомые эффективно используют эти аминокислоты против своих врагов, поэтому питаются только такими растениями. Избежать токсичности конститутивных защитных соединений можно, например, если «хранить» их в специальных структурах либо выделять на поверхность растения или в окружающую среду. Видимо этим объясняется высокая концентрация вторичных соединений в идиобластах, смоляных ходах, масляных и камедиевых каналах, млечниках. Предельный случай – выделение летучих соединений, что характерно для эфирных масел. Большинство их компонентов обладает антимикробными, фунгицидными или репеллентными свойствами. Подобная стратегия позволяет создавать «защитный ореол» вокруг растения (эффективнее – вокруг группы близкорастущих растений, как в хвойном лесу) и «обезвреживать» патогены на «дальних подступах». Однако такой подход требует больших энергетических и конструктивных затрат.

Полуиндуцибельные соединения. Достаточно часто вторичные метаболиты выступают в роли полуиндуцибельных соединений. В этой системе часто используются характерные модификации молекул вторичных метаболитов, связанные с изменением их биологической активности. Обычно неактивными предшественниками являются гликозилированные формы соединений. К полуиндуцибельным защитным веществам относятся, например, цианогенные гликозиды, глюкозинолаты, гликозиды *o*-коричных кислот. Для них характерно присутствие гликозида в вакуоле, а гидролизующего фермента – в цитоплазме или клеточной стенке. После нарушения целостности тонопласта происходит гидролиз и быстро образуется токсичное или активное соединение – синильная кислота, нитрил или кумарин.

В растениях встречается целая **система конститутивных и полуиндуцибельных защитных соединений**. Например, спиростаноловые стероидные гликозиды действуют как конститутивные защитные вещества; они нерастворимы в воде и обладают фунгицидной, антимикробной активностью, а также цитотоксическими свойствами. Фуростаноловые гликозиды растворимы в воде и не токсичны. Перевод фуростаноловых гликозидов в спиростаноловые осуществляется одностадийной реакцией – отщеплением глюкозного фрагмента при C₂₆ с участием специфичной β-гликозидазы. Стероидные гликозиды синтезируются в листьях растения в фуростаноловой форме. Затем они транспортируются по всему растению и накапливаются в идиобластах эпидермиса листьев и стеблей. Основная масса гликозидов транспортируется в корневище, где гликозидаза переводит их в спиростаноловую (активную) форму. В надземных органах фуростаноловые гликозиды находятся в идиобластах, а специфичная гликозидаза располагается поблизости (обыч-

но в мезофилле листа). При повреждении ткани очень быстро образуются спироستانоловые гликозиды. Этот пример иллюстрирует принцип пространственной дифференциации защитных механизмов: в корневище (органе вегетативного размножения) в большом количестве присутствует активная форма соединения, тогда как в надземных, активно работающих органах эффективнее оказывается стратегия с использованием полуиндуцибельных защитных соединений.

Индукцибельные соединения. Фитоалексины.

Вторичные метаболиты, участвующие в работе третьего «круга обороны», где происходит индукция синтеза мощных защитных веществ, носят название **фитоалексинов**. Их образование – важнейшая стадия реакции сверхчувствительности. Фитоалексины никогда не присутствуют в здоровом растении, и их синтез начинается только в ответ на инфекцию. Развивающиеся события можно представить следующим образом.

Любой организм, в том числе патоген, выделяет множество экзометаболитов – продуктов нормальной жизнедеятельности. На ряд экзометаболитов патогена (например, патогенного гриба) у растений в процессе коэволюции выработались специальные рецепторы. Такие экзометаболиты патогена получили название **элиситоров**. Они могут иметь разную химическую природу, но обязательно должны быть специфичными для данного патогена. К элиситорам относятся фрагменты клеточной стенки гриба, ферменты, выделяемые им для разрушения растительной клеточной стенки или кутикулы. Связывание элиситоров с соответствующими рецепторами запускает ряд сигнальных систем растительной клетки – прежде всего пероксидазную, НО-оксидазную и липоксигеназную. Их работа приводит к парадоксальному на первый взгляд эффекту – гибели клетки. Эта реакция получила название *реакции сверхчувствительности* (так как клетки погибают не от прямого воздействия патогена, а только при получении информации о его приближении). В результате гибели клеток разрушаются полимеры клеточных стенок, ряд образовавшихся фрагментов оказываются **олигосахаридами**, т.е. сигнальными молекулами. В частности, олигосахаридами являются фрагменты ксилоглюканов, содержащие 7-9 углеводных остатков, из которых один обязательно должен быть фукозой. Клетки, расположенные рядом с погибшими, имеют рецепторы к олигосахаридам. После связывания олигосахаридов с рецепторами в этих клетках также включаются сигнальные системы. Благодаря им активируются гены, отвечающие за синтез фитоалексинов. Однако фитоалексины в силу своей чрезвычайной токсичности не накапливаются в живых клетках, а сразу транспортируются в мертвые клетки очага сверхчувствительности. Таким образом, к «приходу» патогена в мертвых клетках должны накопиться высокие концентрации сильных ядов. Если растение успевает это сделать, гриб погибает. Таким образом, стратегия реакции сверхчувствительности – гибель части во имя целого – оказывается вполне целесообразной.

Фитоалексинами могут быть соединения различных классов вторичных метаболитов. К сесквитерпеноидным фитоалексинам относятся *пишиитин* и *любимин* (пасленовые, в частности картофель), *гемигоссипол* (мальвовые),

ипомеамарон (вьюнковые), к дитерпеноидным фитоалексинам – *касбен* (клещевина). Довольно часто фитоалексины представлены фенольными соединениями, такими как стильбены, изофлавоноиды. Последние почти исключительно используются в семействе Бобовые. Фитоалексинами являются ацетиленовые производные сложноцветных *сафинол* и *виероновая* кислота.

3 Принципы классификации вторичных метаболитов

Принципы классификации вторичных метаболитов, как и названия индивидуальных соединений, изменялись по мере их изучения. Сейчас можно встретить элементы по крайней мере четырех вариантов классификации.

Эмпирическая (тривиальная) классификация. Самый «древний» принцип классификации, основанный на определенных свойствах вторичных метаболитов. Например, алкалоиды – соединения, имеющие щелочные свойства; сапонины – вещества, образующие при встряхивании пену (от *Sapona-ria* – мыльнянка); горечи – соединения с горьким вкусом; эфирные масла – ароматные летучие вторичные метаболиты. Подобный принцип классификации имеет много недостатков, однако его элементы встречаются до сих пор в силу традиции и длительного употребления.

Вторичные метаболиты получали (и получают) свои названия, как правило, также эмпирически. Чаще всего названия происходят от растения, из которого впервые было выделено соединение. Например, алкалоиды папаверин (*Papaver* – мак), берберин (*Berberis* – барбарис), кокаин (*Erythroxylum coca* – кокаиновый куст). Довольно часто названия связаны с мифологией, историей, личностями и т.д. Например, алкалоид морфин получил свое название в честь бога сна Морфея, алкалоид тебаин – от египетского города Тебаис, рядом с которым в древности был центр по производству наркотиков, каучук в переводе с индейского – «слезы дерева».

Подобный способ классификации и формирования названий соединений часто приводит к недоразумениям. Например, биологически активные тритерпеновые гликозиды женьшеня практически одновременно начали изучать в Японии и в России. Японские исследователи предложили их называть гинзенозидами – по видовому названию женьшеня (*Panax ginseng*), тогда как русские исследователи – панаксозидами, т.е. по родовому названию. Позже, когда стало ясно, что одни и те же соединения называются по-разному, пришлось опубликовать «таблицы соответствия» гинзенозидов и панаксозидов.

Химическая классификация. Этот вариант классификации основан на признаках химической структуры вторичных метаболитов и на данный момент времени наиболее разработан и распространен. Однако и эта классификация не лишена недостатков. Например, алкалоиды по такой классификации – соединения, имеющие атом азота в гетероцикле. По этому признаку гликоалкалоиды картофеля или томатов – типичные алкалоиды, однако по способу синтеза, структуре и ряду свойств эти соединения являются изопреноидами.

Биохимическая классификация. Эта классификация базируется на способах биосинтеза вторичных метаболитов. Например, согласно этой классификации, упомянутые выше гликоалкалоиды относятся к тритерпеновым

псевдоалкалоидам, так как синтезируются, как и стероидные гликозиды, по изопреноидному пути. Это, по-видимому, наиболее объективный вариант классификации. Однако поскольку биохимия вторичного метаболизма еще недостаточно разработана, такая классификация находится в периоде становления.

Функциональная классификация. Основана на функциях вторичных метаболитов в интактном растении. Этот вариант принципиально отличается от предыдущих и должен существовать параллельно с ними. Согласно функциональной классификации в одну группу соединений могут попадать химически разные структуры. Например, фитоалексины (вторичные метаболиты, имеющие защитные функции и синтезирующиеся в ответ на атаку патогена) представлены в разных видах фенольными соединениями, изопреноидами, полиацетиленами и др. Разработка функциональной классификации вторичных метаболитов только начинается, но она имеет принципиальное значение для физиологии растений.

Наличие разных вариантов классификации вторичных метаболитов приводит к определенным сложностям. В частности, при использовании разных признаков, используемых при химической классификации, возможно «перекрывание» групп вторичных метаболитов. Например, в «фармакогнозии» в качестве действующих веществ многих лекарственных растений выделяют гликозиды (соединения, молекула которых состоит из агликона и углеводного фрагмента) в отдельную группу. В то же время по структуре агликона эти гликозиды могут быть отнесены к фенольным соединениям, изопреноидам или другим группам вторичных метаболитов. Еще больше проблем возникает, когда соединение содержит ряд признаков, характерных для разных групп вторичных метаболитов (например, пренилированные фенольные соединения). В ряде случаев появляющиеся проблемы можно снять, корректируя химическую классификацию биохимической.

4 Основные группы вторичных метаболитов, закономерности их строения

В настоящее время известно более десятка групп (классов) вторичных метаболитов. При этом некоторые группы насчитывают по несколько тысяч индивидуальных соединений, тогда как другие – лишь единицы. Так же неравномерно распределены группы в растительном мире. Например, изопреноиды и фенольные соединения присутствуют во всех видах растений, тогда как некоторые группы (например, тиофены или ацетогенины) характерны лишь для единичных видов.

Хорошо известны три самые большие группы вторичных метаболитов – алкалоиды, изопреноиды (терпеноиды) и фенольные соединения. Каждая из этих групп состоит из несколько тысяч соединений, и подразделяется на многочисленные подгруппы. Известно также около десятка менее многочисленных групп вторичных метаболитов: растительные амины, небелковые аминокислоты, цианогенные гликозиды, глюкозинолаты, полиацетилены, бе-

талаины, алкиламида, тиофены и др. Количество соединений, входящих в эти группы, колеблется от единиц до нескольких сотен.

Вторичные метаболиты в растении практически никогда не присутствуют в «чистом виде», они, как правило, входят в состав сложных смесей. Такие смеси в зависимости от их состава и нахождения в растении часто носят собственные, исторически сложившиеся названия.

Эфирные масла, как правило, представляют из себя смесь легко испаряющихся изопреноидов (моно- и сесквитерпенов).

Смолы представлены главным образом дитерпенами.

Камеди состоят преимущественно из полисахаридов, но в их состав часто входят алкалоиды, фенольные соединения. Камеди представляют собой растворимые в воде или набухающие в ней полимеры моносахаридов – глюкозы, галактозы, арабинозы, рамнозы, уроновых кислот. К камедям относят также полисахариды микроорганизмов – в частности, накапливаемые в культуральной жидкости производные, получаемые модификацией полисахаридов природного происхождения (например, целлюлозы, крахмала).

Слизи – это смесь водорастворимых олиго- и полисахаридов, сахаров, а также небольших количеств фенольных соединений, алкалоидов или изопреноидов.

При анализе структур вторичных метаболитов создается впечатление, что их огромное разнообразие происходит по определенной схеме. Как правило, имеется определенная «базовая» структура, на основе которой образуются многочисленные варианты. При этом можно отметить несколько способов возникновения таких вариантов.

- Модификации базовой структуры: обычно это либо присоединение, либо замена функциональных групп, изменение степени окисленности молекулы; в качестве функциональных групп часто используются гидроксильные, метильные либо метоксильные группы.

- Образование конъюгатов: присоединение к базовой структуре «унифицированных блоков»; чаще всего различных сахаров (моно- или олигосахариды), органических кислот или некоторых групп вторичных метаболитов.

- Конденсация: объединение нескольких одинаковых или различных базовых структур, например, образование пренилированных фенольных соединений или димерных индольных алкалоидов.

Для разных групп вторичных метаболитов характерны специфические изменения структуры. Например, для алкалоидов характерно метоксилирование, но не гликозилирование; для изопреноидов, наоборот, типично гликозилирование, но не метоксилирование; у фенольных соединений наблюдаются оба типа этих модификаций.

Определенные модификации молекул, по-видимому, имеют существенное функциональное значение. Многие из них (в частности, гликозилирование) значительно изменяют биологическую активность молекулы. Очень часто гликозилирование является универсальным способом перевода активной (функциональной) формы вторичного метаболита в неактивную (запас-

ную). По этой причине, видимо, нецелесообразно выделять все гликозиды в отдельную группу вторичных метаболитов.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

РАЗДЕЛ 2 ТЕРПЕНОИДЫ

Тема 3 Общая характеристика терпеноидов

- 1 Общая характеристика терпеноидов
- 2 Биосинтез терпеноидов и их функции.
- 3 Гемитерпены и монотерпены.
- 4 Сексвитерпены и дитерпены.

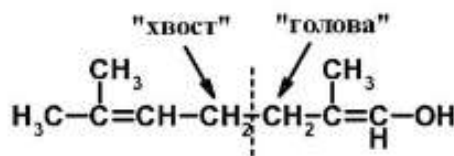
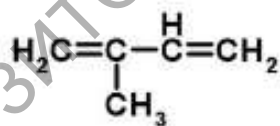
1 Общая характеристика терпеноидов

Изопреноиды – обширный класс природных соединений, образующихся в организмах из мевалоновой кислоты, которая в микросомах клеток превращается в «пятиуглеродные фрагменты» со скелетом изопрена. Биосинтез изопреноидов – процесс последовательного соединения таких пятиуглеродных единиц в цепи и циклы различного строения, что приводит к необычайному структурному разнообразию изопреноидов. К изопреноидам относятся: терпены и их производные, стерины, стероиды, каротиноиды, смоляные кислоты, а также полиизопреноиды – натуральный каучук и гуттаперча. Ряд изопреноидов имеет важное биологическое значение: многие гормоны животных, растений и низших организмов, некоторые витамины, антибиотики и др. являются изопреноидами. Помимо углерода, водорода и кислорода в их состав могут входить азот, сера или галогены, образующие самые разнообразные функциональные группы.

Терпены – углеводороды, молекулы которых построены из изопреновых звеньев C_5H_8 , т. е. имеют состав $(C_5H_8)_n$, где $n = 2, 3, 4, \dots$; относятся к обширному классу природных соединений – изопреноидов.

Терпены (от лат. «turpentine» — скипидар) — класс преимущественно ненасыщенных углеводородов состава $(C_5H_8)_n$, где $n \geq 2$.

Изопрен:



В зависимости от количества изопреновых остатков в молекуле выделяют следующие группы:

- Монотерпены (терпены), $C_{10}H_{16}$, 2 изопреновых блока;
- Сексвитерпены (полуторатерпены), $C_{15}H_{24}$, 3 изопреновых блока;
- Дитерпены, $C_{20}H_{32}$, $(C_{10}H_{16})_2$, 4 изопреновых блока;
- Тритерпены, $C_{30}H_{48}$, $(C_{10}H_{16})_3$, 6 изопреновых блоков;
- Тетратерпены, $C_{40}H_{60}$, $(C_{10}H_{16})_4$, 8 изопреновых блоков;
- Политерпены — соединения с большим числом $(C_{10}H_{16})_n$.

Терпеноиды – различные производные терпенов, обычно кислородсодержащие (спирты, окиси, альдегиды, кетоны, кислоты и их эфиры). В настоящее время к терпеноидам обычно применяют термин терпены.

Терпены являются обязательной составной частью почти всех эфирных масел и обнаружены практически во всех тканях растений.

Выделяемые в результате жизнедеятельности растений терпены – основной источник поступления органического вещества в атмосферу.

Развитие химии терпенов и терпеноидов всегда шло в русле общего развития идей и теоретических представлений органической химии. В свою очередь, знания, полученные при выделении, установлении структуры и особенно химических свойств терпенов постоянно совершенствовались и пополняли экспериментальный аппарат и теоретические основы органической химии. Сложный состав выделяемых из растительного сырья эфирных масел, практически всегда представляющих собой смесь изомерных веществ с близкими физическими свойствами, вызвал на первоначальном этапе развития химии терпенов огромные трудности в получении индивидуальных соединений, свободных от примесей других веществ.

Терпены и терпеноиды содержатся в самых различных объектах животного и растительного происхождения, например, в скипидаре и талловых продуктах, получаемых целлюлозно-бумажной промышленностью. Экстрактивные вещества, выделяемые из листьев, плодов и других частей растений экстракцией различными органическими растворителями, в значительной степени состоят из терпенов и терпеноидов. Особенно разнообразен состав терпеновых соединений, образуемых хвойными древесными породами. Понятие эфирные масла, примерами которых могут служить гераниевое и апельсиновое масла, относится в настоящее время лишь к продуктам, вырабатываемым в промышленном масштабе. Для получения эфирных масел могут применяться и другие, помимо экстракции, методы выделения, такие, как перегонка с водяным паром, отжим или поглощение твердыми жирами. Некоторые терпены вырабатываются не только растительными, но и животными организмами, к таким веществам относится тритерпеновый углеводород *скавален*. В растительных организмах он является биогенетическим предшественником различных тритерпеновых спиртов, например, *бетулина*, содержащегося в большом количестве в березовой коре, и *стеринов*. В животных организмах конечным продуктом метаболических превращений скавалена является очень важное биологически активное вещество – *холестерин*.

До недавнего времени терпены рассматривались как побочные или конечные продукты метаболизма растений, не имеющие специальной цели в общей схеме метаболизма. Сейчас установлено, что терпены могут являться исходными веществами для синтеза пигментов, сахаров, аминокислот. Они представляют собой промежуточные вещества при синтезе растительных стероидов, каротиноидов и хлорофилла. Ряд терпенов играет важную роль в физиологии и экологии растений, защищая их от поражения насекомыми.

Классификация терпенов. Терпены классифицируют:

1) по числу изопреновых звеньев в молекуле. По этому параметру они подразделяются на монотерпены (часто называемые просто терпенами), сесквитерпены, дитерпены, тритерпены и т. д. В природе наиболее распространены терпены, содержащие 2, 3, 4 и 6 изопреновых звеньев;

2) по строению углеродного скелета. В зависимости от строения углеродного скелета монотерпены подразделяют на три группы соединений. Это: ациклические, которые имеют открытую (нециклическую) углеродную цепь и содержат три двойных связи; моноциклические, содержащие один цикл и две двойные связи; бициклические, содержащие два цикла и одну двойную связь.



В основе номенклатуры терпенов лежат их исторически сложившиеся названия. Для ряда циклических структур эти названия приняты номенклатурой ИЮПАК. Приставка «нор» обозначает отсутствие метильной группы в скелете терпена, например, норборнан.

Многие из терпенов имеют асимметрический атом углерода и встречаются в природе в виде лево- и правовращающих стереоизомеров, обозначаемые как (-)- и (+)-формы, соответственно. В результате промышленной переработки получают, как правило, оптически недействительные (+/-)-формы терпенов и терпеноидов.

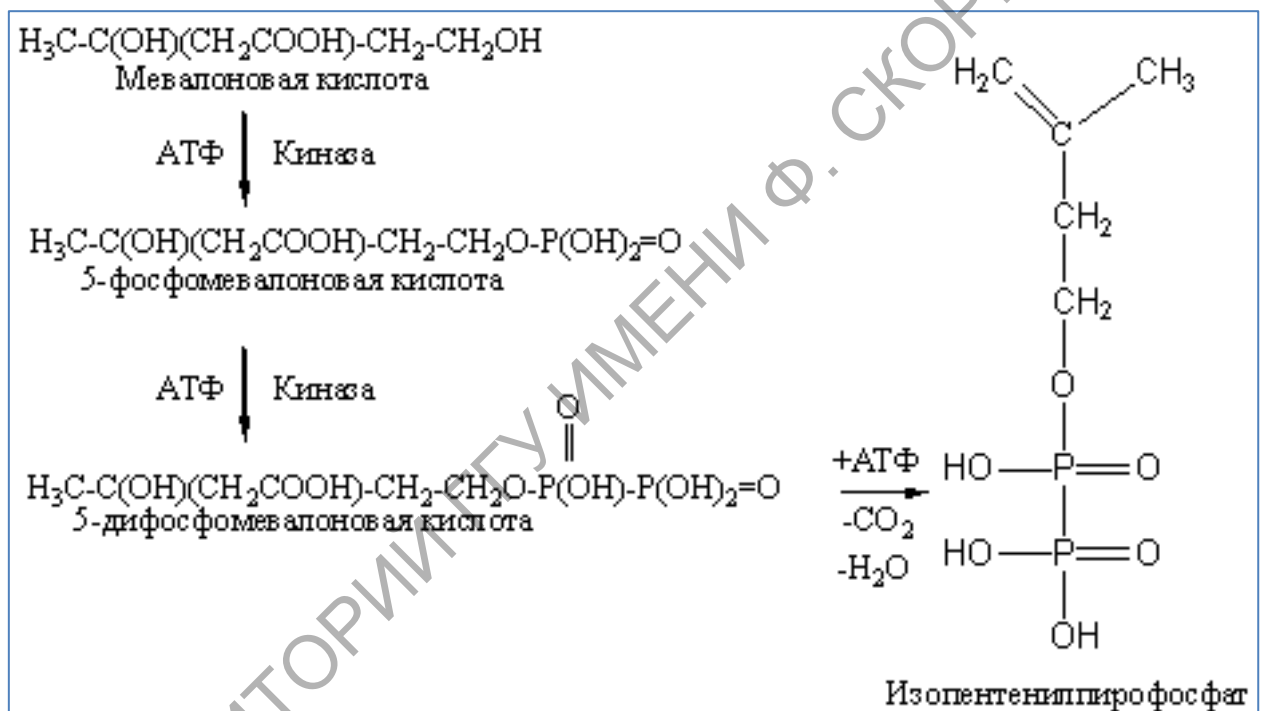
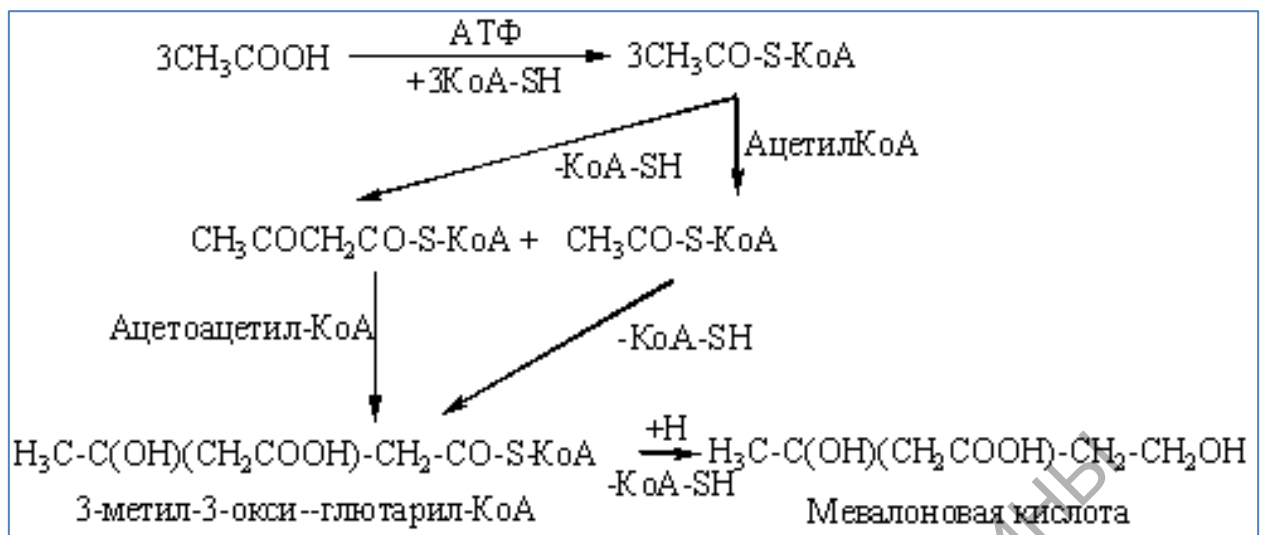
2 Биосинтез терпеноидов и их функции

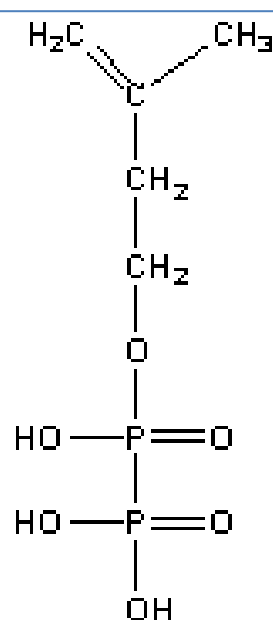
Биосинтез монотерпенов протекает в три стадии:

- 1-я – синтез мевалоновой кислоты;
- 2-я – образование изопренового интермедиата (геранилпирофосфата);
- 3-я – образование монотерпена.

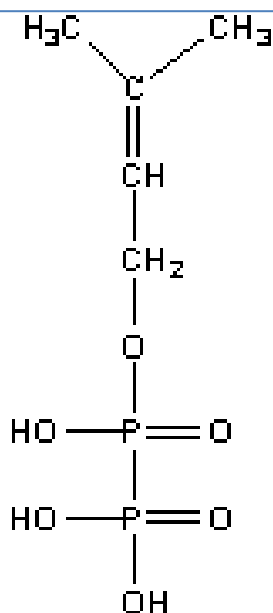
Биосинтез катализируется соответствующими ферментными системами. Энергия для биосинтеза обеспечивается АТФ.

Синтез мевалоновой кислоты. Уксусная кислота под влиянием кофермента КоА превращается в ацетил-КоА. При его участии происходит активирование уксусной кислоты и кислотных остатков – ацилов.

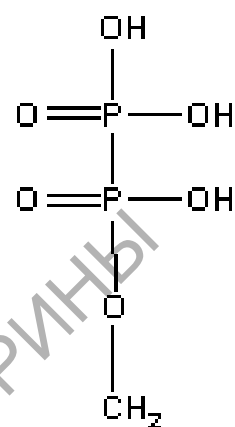




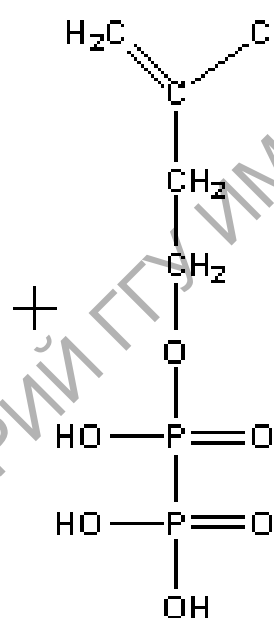
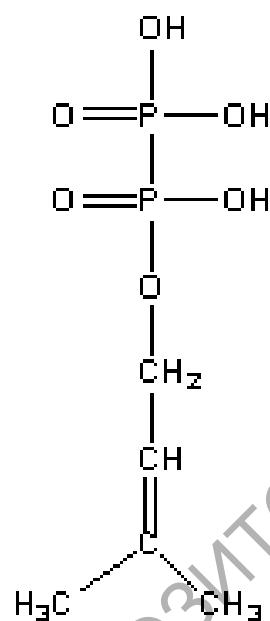
Изопентенилпирофосфат



Диметилаллилпирофосфат



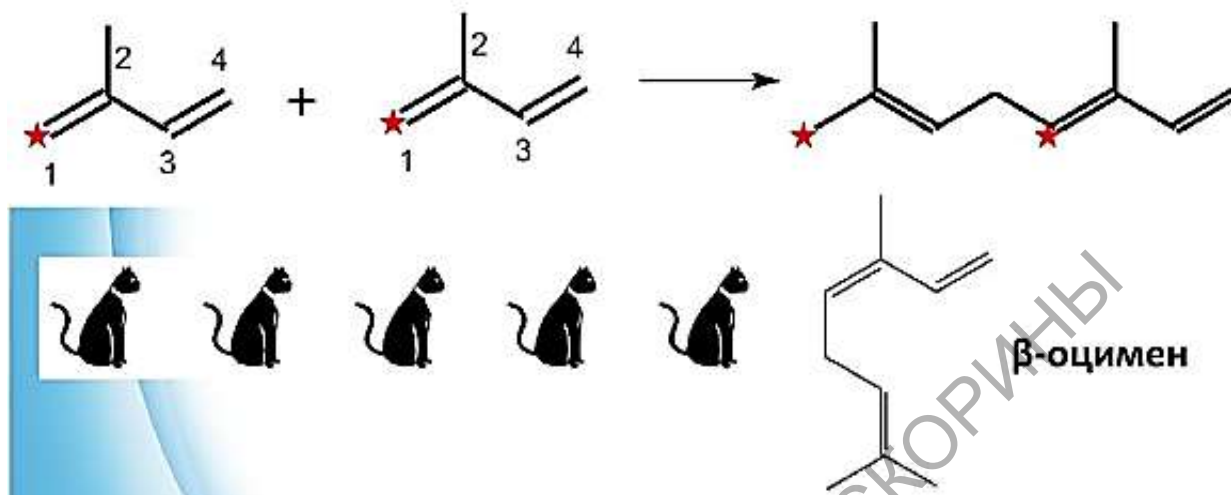
Геранилпирофосфат





Далее происходит конденсация двух молекул ацетил-КоА с образованием ацетоацетил-КоА и дальнейшие превращения приводят к образованию мевалоновой кислоты. Затем под влиянием фермента киназы и АТФ мевалоновая кислота превращается в 5-фосфомевалоновую кислоту, взаимодействием с АТФ получается новый эфир – 5-пирофосфомевалоновая кислота. Далее происходит образование изопентенилпирофосфата. На завершающей стадии происходит изомеризация изопентенилпирофосфата в диметилаллилпиро-

фосфат, а затем конденсация одной молекулы последнего с одной молекулой изопентенилпирофосфата (по типу «голова к хвосту») с образованием геранилпирофосфата.



Если реакционноспособная аллильная группа геранилпирофосфата атакует двойную связь другой молекулы изопентенилпирофосфата, то алифатическая цепь удлинится еще на один изопреновый остаток и по правилу «голова к хвосту» образуется ациклический сесквитерпен фарнезилпирофосфат.

Согласно «биогенетическому изопреновому правилу», терпеноидами являются соединения, изначально образованные комбинацией изопреновых фрагментов, в результате которых возникает гераниол, фарнезол, геранилгераниол, сквален и другие алифатические соединения этого типа. Прочие терпеноиды могут быть получены из этих алифатических предшественников путем обычных реакций циклизации, а в некоторых случаях путем циклизации с перегруппировкой.

Таким образом, универсальным биологическим предшественником всех терпенов является мевалоновая кислота.

Функции терпеноидов. Основная масса растительных терпенов, насчитывающая десятки тысяч соединений, образуется на конечных этапах специализированного (вторичного) обмена растений, и функции этих многочисленных терпеновых соединений до сих пор окончательно не выявлены. Считают, что главная роль этих соединений – экологическая, обеспечивающая выживание растений при неблагоприятных воздействиях окружающей среды и предохранении их от действия патогенных микробов, грибов, насекомых.

Терпеновые соединения являются активными участниками обменных процессов, протекающих в растительном организме, о чем свидетельствует их высокая реакционная способность. Некоторые терпены регулируют активность генов растений и обладают хроматофорной системой (хроматофоры – пигментсодержащие и светоотражающие клетки), могут, поглощая лучистую энергию, участвовать в фотохимических реакциях. Углеродные цепи отдельных терпеноидов являются ключевыми промежуточными продуктами

на пути биосинтеза таких биологически активных веществ, как стероидные гормоны, ферменты, антиокислители, витамины D, E, K, желчные кислоты.

Летучие терпеноиды защищают растение от излишнего испарения и солнечной радиации. Под влиянием обработки растений терпенами испарение воды у растений снижается.

В последнее время экспериментально доказана огромная роль терпенов во взаимоотношениях растений с насекомыми. Секреторные терпены выступают в качестве вкусовых или обонятельных аттрактантов для определенного вида насекомых-опылителей и отпугивают насекомых-фитофагов. Интересно, что скопление выделительных структур у растений приурочено в основном к молодым побегам, что защищает от поедания насекомыми в первую очередь почки и сохраняет образовательные центры. Поражение тканей растений насекомым может являться «спусковым крючком» для высвобождения летучих соединений, участвующих в привлечении природных врагов насекомых.

Многие гормоны, имеющие растительное происхождение, относятся к терпеноидам. Сквален – ациклический полиненасыщенный жидкий углеводород состава $C_{30}H_{50}$ с температурой кипения $242^{\circ}C$, растворимый во многих органических растворителях. Он является промежуточным продуктом в метаболизме тритерпеноидов и стероидов. Сквален вырабатывается не только растениями, но и животными организмами.

В животных организмах конечным продуктом метаболических превращений сквалена является очень важное биологически активное вещество – *холестерин*.

В растительных организмах сквален является биогенетическим предшественником различных тритерпеновых спиртов, например, бетулина, содержащегося в большом количестве в березовой коре, и стеринов.

Тритерпеновые кислоты встречаются в растениях в плодах и листьях клюквы, облепихи, брусники. Важные растительные пигменты – каротин (провитамин A) и ликопин (каротиноидный пигмент, определяющий окраску плодов томатов), которые являются тетратерпенами.

3 Гемитерпены и монотерпены

Гемитерпены (монопрены или монопренолы) – самый маленький класс самых маленьких изопреноидов, был выделен в качестве самостоятельного совсем недавно по причине их немногочисленности, сомнительности отнесения некоторых природных соединений к изопреноидам вообще, а также в связи с тем, что некоторые соединения такой структуры были найдены в природных источниках только в последнее время.

C_5H_8 – гемитерпены (полутерпены, изопрены);

$C_{10}H_{16}$ – монотерпеноиды (терпены):

1) **ациклические** (гераниол, цитраль, линалоол),

2) **циклические**:

а) – моноциклические (ментол, цинеол),

б) – бициклические (камфора),

в) – ароматические (тимол, анетол).

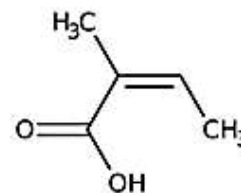
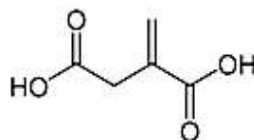
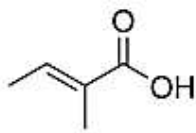
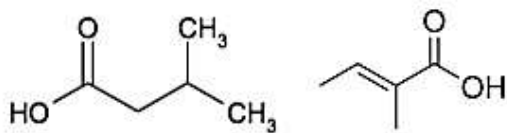
Простейший и фундаментальный представитель ряда гемитерпенов, а точнее сказать, корневое соединение изопреноидов вообще, изопрен – углеводород, производимый современной промышленностью в тысячах и тысячах тонн и составляющий основу современного производства каучуков, – в природных объектах был найден повсеместно, хотя и в очень малых дозах, с помощью высокоэффективной масс-спектрометрии. Но так как очень многие растения синтезируют его и синтезируют постоянно, то оказалось, что по массе это весьма значительное количество – порядка нескольких сотен миллионов тонн изопрена в год выделяется в атмосферу из всех природных источников (от 175 до 452×10^{12} г, по оценкам разных ученых). Это немало даже в масштабах Земли. Синтезируется и выделяется в атмосферу изопрен высшими растениями, гетеротрофными бактериями, плесневыми грибами, морским фитопланктоном, водорослями и животными. Для высших растений показана прямая зависимость количества продуцируемого изопрена в первую очередь от освещения и температуры. Выделения изопрена большими массами растений (лесов) ответственны за «легкую дымку» некоторых регионов, таких как «Smoky Mountains» или Горный Алтай, за что последний часто называют «Голубой Алтай».

В следовых же количествах и также во всех растениях, да и не только в растениях, присутствуют фосфорилированные монопренолы, изопентенилпирофосфат и диметилаллилпирофосфат – ключевые соединения в сценарии образования всех изопреноидов как мевалонового, так и мевалоннезависимого путей биосинтеза. В тех природных источниках, где эти вещества не обнаружены, но найдены изопреноиды более высокой степени конденсации (монотерпены, сесквитерпены и т.д.), будет законным подразумевать их присутствие в любых ничтожных концентрациях в качестве обязательных интермедиатов.

В растениях часто обнаруживают связанные **гемитерпены**, т.е. соединения другого класса, содержащие изо- C_5 -заместитель, это некоторые алкалоиды, пурины, пирановые гетероциклы. Во всех растениях присутствуют фосфорилированные гемитерпены – D^2 -изопентилпирофосфат и D^3 -изопентилпирофосфат, они являются ключевыми в биосинтезе всех терпенов.

Формально (т.е. на основании структуры углеродного скелета) к гемитерпенам могут быть отнесены часто встречаемые в природных объектах кислоты: изовалериановая, тиглиновая, ангелиновая, итаковая и другие, сле-

довательно, им присущи химические свойства карбоновых кислот: реакция с металлами или их основными гидроксидами, этерификация, образование амидов.



Изовалериановая, тиглиновая, итаконовая и ангеликовая кислоты

Изовалериановая кислота – одноосновная предельная разветвлённая карбоновая кислота, один из изомеров валериановой кислоты. Соли и эфиры называются изовалератами.

Содержится в корневищах валерианы лекарственной в свободном виде, в составе борнилизовалерианата, в виде валепотриатов – негликозидных иридоидных соединений со сложноэфирной связью. Также обнаружена в чайном дереве, хмеле, эфирных маслах ряда цитрусовых и др.

В числе других коротких карбоновых кислот (летучих кислот) вырабатывается анаэробными бактериями (*Propionibacterium*) в ходе реакций брожения белкового субстрата, обуславливая запах пота (точнее, потных стоп или несвежих носков), некоторых сортов сыра.

Используется для получения лекарственных препаратов седативного действия – валидола (раствор ментола в ментиловом эфире изовалериановой кислоты), бромурала (бромизовалериановая кислота), валокордина, валосердина, корвалола (содержат этиловый эфир α -бромизовалериановой кислоты).

Многие сложные эфиры изовалериановой кислоты обладают фруктовыми запахами и используются как ароматизаторы в пищевой и парфюмерной промышленности. Этиловый эфир имеет фруктово-винный запах, при разбавлении яблочный, изоамиловый – спелых яблок, гексиловый – недозревших фруктов или табачных листьев, бензиловый – фруктово-цветочный, фенилэтиловый – фруктовый с нотой розы.

Монотерпены – природные углеводороды, образованные сочетанием двух изопреновых фрагментов и, соответственно, общей формулой $C_{10}H_{16}$.

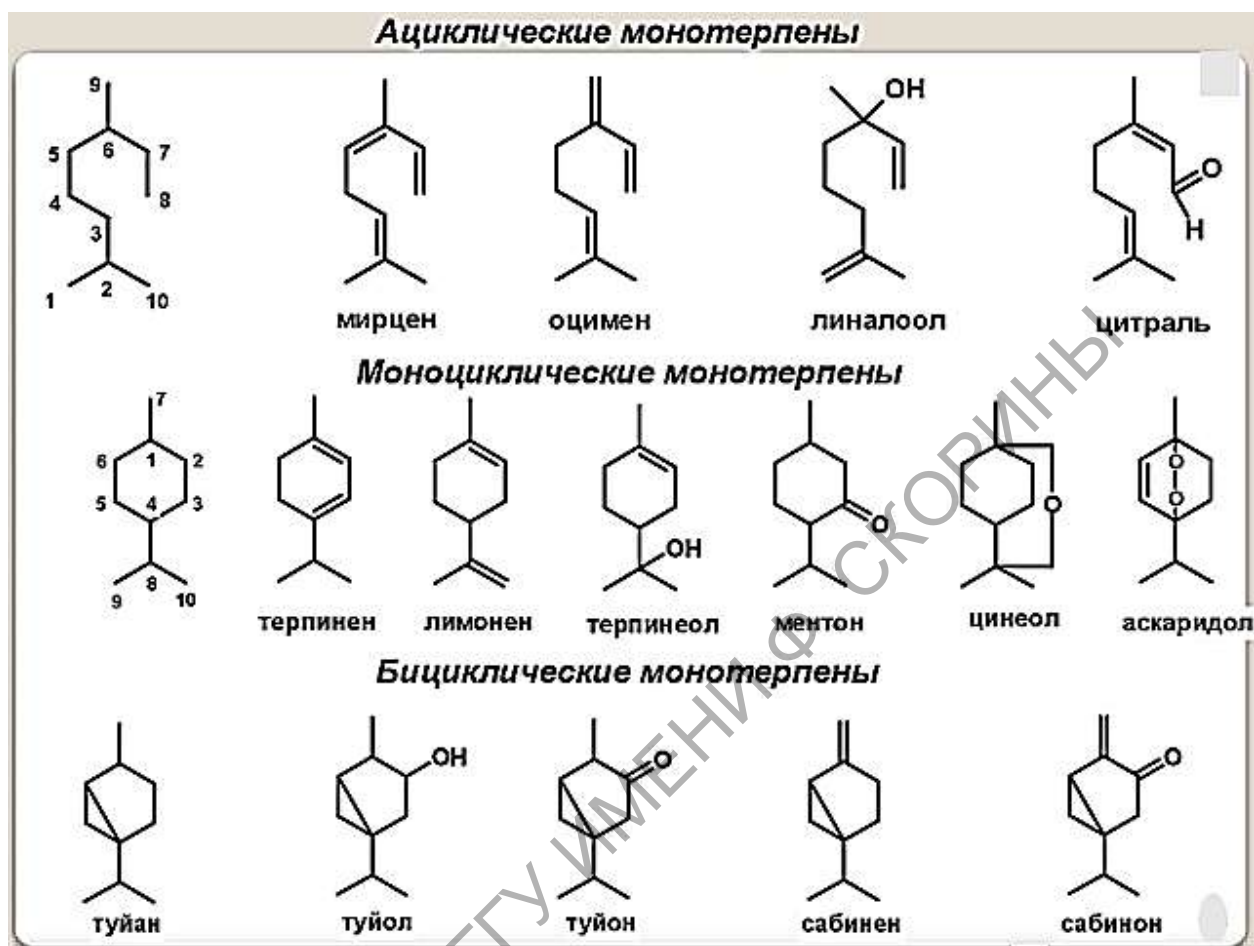
Терпеноиды – кислородные производные монотерпенов – называются монотерпеноидами.

Структура и свойства. По структуре монотерпены делятся на две большие группы: ациклические, с открытой углеродной цепью (например, мирцен, оцимен) и циклические, которые могут содержать как один цикл (лимонен), так и несколько (фенхены, пинены); некоторые бициклические монотерпены содержат циклопропановые циклы(сабинен).

Нахождение в природе. Монотерпены и монотерпеноиды являются основными компонентами многих эфирных масел, у хвойных монотерпены являются основными компонентами летучей фракции живицы – скипидара.

Среди них наиболее распространены пинены (скипидар из сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* содержит до 78 % пиненов) и лимонен (до 90 % в эфирных маслах цитрусовых). Они обладают антисептическим, болеутоляю-

щим и согревающим кожу действием, но при длительном использовании вызывают раздражение кожи и слизистых оболочек.



Монотерпены встречаются в очень многих эфирных маслах, например: камфен в масле можжевельника, петигрейн в масле сосны и др.; дипентен в масле бергамота, кориандра, сладкого укропа, лимона и др.; лимонен в масле бергамота, тмина, моркови, сладкого укропа, лимона, нероли, апельсина и др.; пинен в масле кориандра, кипариса, эвкалипта, сладкого укропа, сосны, розмарина и др.; силвестрен в масле кипариса, сосны и во многих других древесных маслах.

Мирцен содержится в эфирных маслах (особенно в масле хмеля - до 50%) и в скипидаре. Особенно много мирцена содержится в укропе, кориандре, багульнике. Мирцен используется в синтезе душистых веществ (линалоола, гераниола, мирценаля, флориона, циклоналя).

Линалоол выделяют из природных эфирных масел: кориандрол – из кориандра, ликареол – из масла мускатного шалфея, лавандового масла. (±)-Линалоол (мирценол) – гидролизом продукта присоединения хлороводорода к мирцену, гидрированием дегидролиналоола. Из линалоола получают линалацетат (сложный эфир линалоола и уксусной кислоты с запахом ландыша. Линалоол и его эфир используют для составления парфюмерных композиций, отдушек для мыла и косметических изделий. Линалоол, который содержится в шампунях, кондиционерах, мыле и моющих средствах, может вызы-

вать аллергию и экзему у значительно большей доли людей, чем считалось ранее.

Цитраль – бесцветная или светло-жёлтая вязкая жидкость с сильным запахом лимона. Цитраль существует в основном в виде двух изомеров – гераниала и нерала. Изоцитраль встречается в малых количествах. Цитраль содержится в эфирном масле лимонного сорго (лемонграссовом масле, до 85 %), масле кубебы (до 75 %), лимонном, эвкалиптовом и некоторых других эфирных маслах. Цитраль выделяют из эфирных масел: окислением кориандрового масла; взаимодействием геранилхлорида с уротропином. Цитраль используют как душистое вещество в парфюмерии и как ароматизатор в пищевой промышленности; как антисептик и противовоспалительное средство; как сырьё при получении витамина А; при получении многих душистых веществ (иононов, гераниола, цитронеллола и др.). Входит в состав лекарства для глаз, понижает кровяное давление. Несмотря на широкое использование цитраля в педиатрической практике при внутричерепных гипертензиях, для этого применения отсутствуют какие-либо научные обоснования.

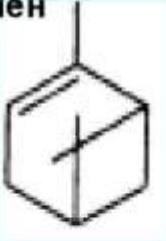
Пинен – бициклический терпен (монотерпен). Известны 3 изомера, отличающихся положением двойной связи. Название пиненов происходит от слова *Pinus* – сосна (лат.) – это важный компонент смолы хвойных деревьев, скипидара; эфирные масла многих растений содержат пинены. Пинены хорошо распознаются насекомыми и являются важным регулятором их химической коммуникации (см. хеморецепция). Пинены – важный компонент для синтеза камфоры и многих других веществ, часто трансформация пиненов производится с помощью окисления с применением селективных катализаторов.

Лимонен – углеводород группы терпенов. Существует в виде двух оптически активных форм – энантиомеров и в виде рацемической смеси, которую раньше считали одним веществом (дипентен). При нагревании до 300 °C оптически активные формы лимонена рацемизируются в дипентен, при высоких температурах (пропускание паров над раскалённой металлической поверхностью) разлагается с образованием изопрена.

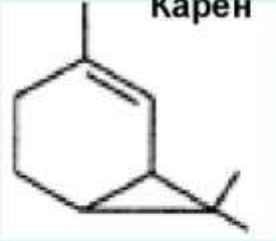
Лимонен окисляется по аллильному положению циклогексенового ядра до карвона, однако в промышленности карвон синтезируют из лимонена нитрозированием нитрозилхлоридом с последующим гидролизом образовавшегося оксима карвона. Дегидрирование лимонена в присутствии серы ведёт к образованию цимола. Лимонен образуется из геранилфосфата через циклизацию промежуточно образующегося карбокатиона. Содержится во многих эфирных маслах (в эфирных маслах цитрусовых до 90 % D-лимонена) и в скипидаре (4-6 % дипентена в скипидаре из живицы сосны обыкновенной. D-лимонен ((R)-энантиомер) обладает выраженным цитрусовым запахом и используется в качестве отдушки в парфюмерии и в производстве ароматизаторов. Запах L-лимонена напоминает запах хвои, этот энантиомер также используется в качестве отдушки. Обсуждаются его возможные канцерогенные свойства.

Терпинены являются бесцветными подвижными жидкостями с лимонным запахом, хорошо растворимы в органических неполярных растворителях и этаноле; нерастворимы в воде. В природе α- и γ-терпинены содержатся в укропном, кардамоновом, майорановом, кориандровом, тминном эфирных маслах.

Пинен
в)



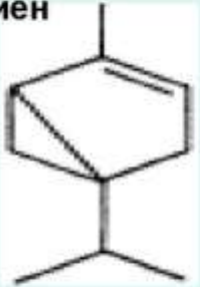
Карен



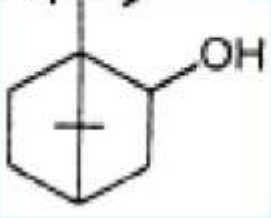
Фенхен



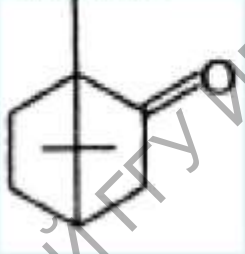
Туйен



Борнеол



Камфора



бициклические монотерпеноиды –

с двумя конденсированными неароматическими кольцами и одной двойной связью.

У терпенов этого класса выделяют 4 ряда: **пинена, карена, камфена (фенхена) и туйена.**

Кислородпроизводные бициклические терпеноиды очень разнообразны, но для нас наибольший интерес представляют **борнеол и камфора** – чрезвычайно широко используемые в фармации.

Туйон был найден в некоторых растениях, таких как туя (отсюда – название туйона), кипарис, можжевельник, пижма, шалфей и горькая полынь. Туйон является одним из двух важнейших действующих компонентов абсента наряду с этиловым спиртом. В последнее время наличие туйона в эфирных маслах и ароматизаторах рассматривается как нежелательное явление. Повышенную токсичность ряда эфирных масел связывают с наличием туйона, в связи с чем на такие масла введены ограничения на использование для пищевых целей и ароматерапии.

4 Сесквитерпены и дитерпены

Сесквитерпены (от сескви-, «полтора», также полутерпены) – обширная группа органических соединений класса терпенов, в состав которой входят углеводороды от $C_{15}H_{24}$ до $C_{30}H_{48}$, а также их кислородные производные – спирты, альдегиды, кетоны (последние обычно называются сесквитерпеноидами). Наиболее широко распространены в растениях из семейств Magnoliaceae, Rutaceae, Cornaceae и Asteraceae, также найдены и в секреторных выделениях насекомых.

Сесквитерпены классифицируются по степени циклизации углеродного скелета, однако из-за того, что число соединений и структурных вариантов в ряду сесквитерпенов большое количество, также учитывается и пространственная структура молекулы. Классификацию данной группы веществ обычно проводят по группам:

- алифатические сесквитерпены – имеют 4 двойные связи (соединения типа фарнезана, например, β -фарнезен, фарнезол, неролидол);
- моноциклические сесквитерпены – имеют 3 двойные связи (соединения групп: бисаболана, например, α - и β -бисаболены, куркумен; гумулана, например, α -гумулен; элемана, например, δ - и γ -элемены; гермакрана, например, гермакрен-D);
- бициклические сесквитерпены – 2 двойные связи (разделяются на группы: кадинана, например, α -, γ -, δ - и ϵ -кадинены; муролана, например, α -, γ - и ϵ -муролены; булгарана, например, ϵ -булагарен; аморфана, например α -аморфен; селинана, например α -селинен, сибирен; кариофиллана, например, кариофиллен);
- трициклические сесквитерпены – 1 двойная связь (делятся на группы: лонгифолана, например, лонгифолен, изолонгифолен, α -лонгипинен; илангана, например, α - и β -илангены; копана, например, α - и β -копаены).

Полуторатерпены представляют собой вязкие жидкости или легкоплавкие кристаллические вещества с запахом, который определяет растения, в которых они содержатся. Многие сесквитерпены и их производные биологически активны.

$C_{15}H_{24}$ – сесквитерпены

- 1) **ациклические** (фарнезол)
- 2) **моноциклические** (безаболен)
- 3) **бициклические** (азулен, сантонин)

$C_{20}H_{32}$ (или $(C_{10}H_{16})_2$) – дитерпеноиды
(хлорофилл, витамины группы К, смолы)

Основной способ получения сесквитерпенов из природного сырья – ректификация, газо-жидкостная и адсорбционная хроматография либо сочетание этих методов.

Применяются в парфюмерии как душистые вещества и фиксаторы запахов, а также в медицине, например, в качестве антигельминтных средств. Также используются в роли регуляторов роста растений, компонентов феромонов насекомых и как биохимические маркеры нефти для прогнозирования её запасов.

Сесквитерпены, как и монотерпены, могут быть алифатическими и циклическими. Среди сесквитерпенов известны хамазулен (основное действующее вещество эфирного масла ромашки), ледол (компонент эфирного масла багульника), неролидон (содержится в эфирном масле цветков апельсина и в перуанском бальзаме).

Дитерпены – органические соединения группы терпенов, состоящие из 4 изопреновых звеньев. Общая формула $C_{20}H_{32}$, $(C_{10}H_{16})_2$. Кислородсодержащие производные дитерпенов называют дитерпеноидами. Входят в состав смол хвойных растений, камедей, эфирных масел. Дитерпеноидом является ретинол (витамин А), содержащийся как в растительных, так и в животных организмах.

Нерастворимы в воде, растворимы в органических растворителях, особенно неполярных. Обладают большей молекулярной массой, чем моно- и сесквитерпены, поэтому имеют более высокую температуру кипения ($> 300^\circ C$) и труднее перегоняются с водяным паром.

Примеры дитерпенов: фитол, таксол, форбол, касбен (фитоалексин клещевины обыкновенной), каурен, абиетовая кислота, кафестрол, гибберелины.

Дитерпены и дитерпеноиды по числу углеродных колец подразделяются следующим образом: ациклические, моноциклические, бициклические, трициклические и тетрациклические.

Фитол (от др.-греч. φύτον – растение) – ациклическое алифатическое органическое химическое соединение с структурной формулой $C_{20}H_{40}O$, относится к однонасыщенным дитерпенам, основу которых составляют остатки изопрена. Входит в состав хлорофилла, витамина Е, витамина К1 как заместитель фитил. Служит стимулятором роста для молочнокислых бактерий.

Ретинол – моноциклический дитерпен, является жирорастворимым, поэтому для его усваивания пищевым трактом требуются жиры, а также минеральные вещества. В организме его запасы остаются достаточно долго, чтобы не пополнять их каждый день. Существует две формы этого витамина: это готовый витамин А (ретинол) и провитамин А (каротин), который в организме человека превращается в витамин А, поэтому его можно считать растительной формой витамина А. При недостатке витамина А на коже образуются трещины, секутся волосы и слоятся ногти. Витамин А имеет бледно-жёлтый цвет, который образуется из красного растительного пигмента бета-каротина.

Бициклические дитерпеноиды, в частности, обнаружены в плодах витекса священного.

Трициклические дитерпеноиды чаще всего содержатся в хвойных, в частности, производные абиетана (абиетиновая кислота) и таксана (в различных представителях рода тисовых).

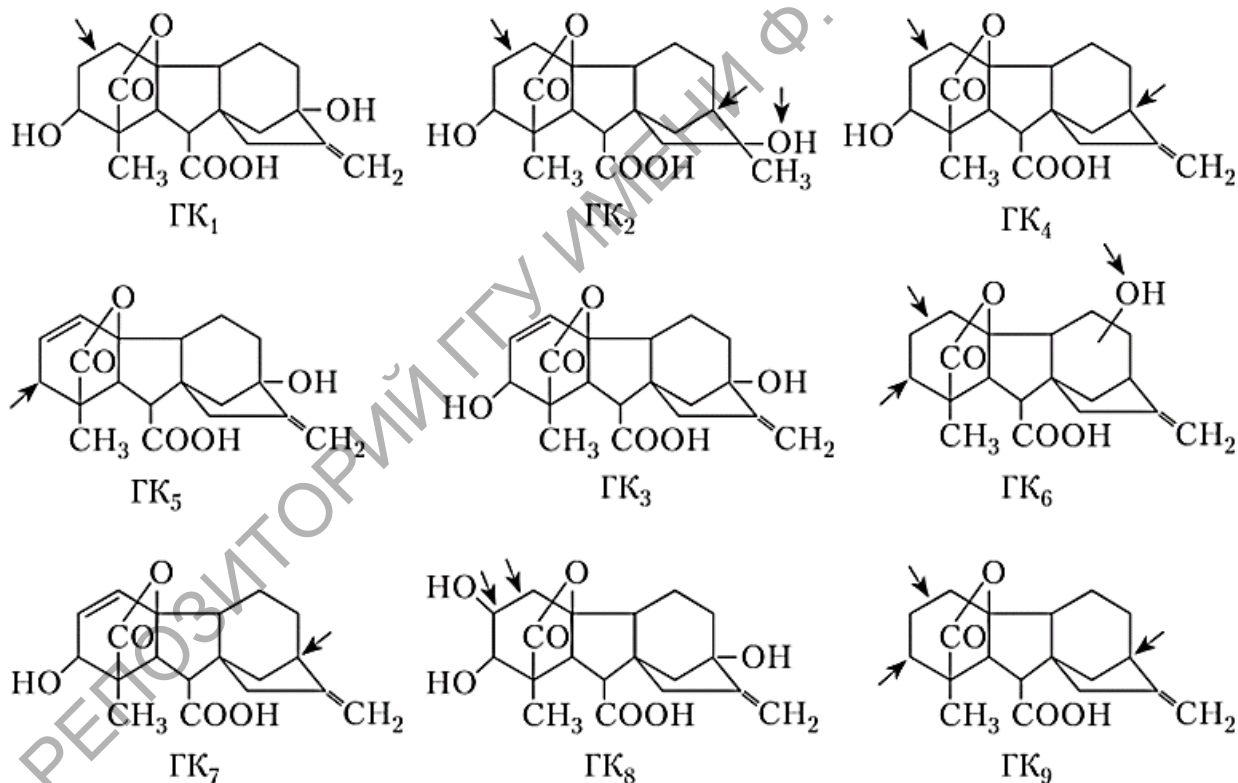
Род *Taxus* вызывает большой интерес из-за содержания в нем сложных дитерпенов – таксанов. особенно таксола (известного также как дженерик паклитаксел и зарегистрированного под торговой маркой таксол. Начиная с открытия таксола, большая часть усилий была направлена на увеличение его экстракции. Серьезным препятствием является низкая концентрация (0,001-0,05 %) таксола даже в наиболее продуктивных видах, *T. brevifolia*.

Необходимо взять 10000 кг коры *Taxus* или 3000 деревьев тиса для получения 1 кг препарата, а онкобольному необходимо примерно 2,5-3 г пакли-

таксела, для лечения каждого пациента требуется около восьми 60-летних деревьев тиса. Экстракция таксола из деревьев тиса требует сложных систем и специфических методов очистки с использованием современных и дорогих технологий. Альтернативным и экологичным источником таксола и его аналогов являются клеточные культуры растений. Этот метод предлагает несколько преимуществ: независимость от погоды, времени года или загрязнения, материал можно выращивать независимо от оригинала и отдаленно от места произрастания.

Тетрациклическими дитерпеноидами являются гиббереллины и андромедотоксин.

Гиббереллины – группа фитогормонов дитерпеновой природы, которые выполняют в растениях разнообразные функции, связанные с контролем удлинения гипокотилия, прорастания семян, зацветания и т. д. В контроле большинства морфогенетических процессов гиббереллины действуют в одном направлении с ауксинами и являются антагонистами цитокининов и абсцизовой кислоты (АБК).



У растений, грибов и бактерий найдено 136 различных, близких по строению, веществ, относимых к группе гиббереллинов. Таким образом, гиббереллины – самый обширный класс фитогормонов. Гиббереллины являются дитерпеноидами, они могут иметь тетра- или пентациклическую структуру (дополнительное пятичленное лактонное кольцо) и соответственно содержат 20 (C₂₀-гиббереллины, например, ГК₁₂) или 19 (C₁₉-гиббереллины) атомов углерода. Большинство гиббереллинов – кислоты и поэтому принято обозначение ГК (гибберелловая кислота) с индексом, означающим порядок откры-

тия, например, ГК1, ГК3. Индекс никаким образом не отражает близость химической структуры или положения в метаболических путях. Несмотря на многообразие гиббереллинов, значительной биологической активностью обладает несколько соединений (ГК4, ГК1, ГК7, ГК3), остальные являются предшественниками биосинтеза или неактивными формами. В экспериментальной работе наиболее часто используется ГК3. Гиббереллины неустойчивы и быстро разрушаются в кислой или щелочной среде.

Гиббереллины открыты японским учёным Е. Куросава (1926) при исследовании болезни риса (чрезмерном его росте), вызываемой грибом *Gibberella fujikuroi*, поражающего посевы риса и вызывающего специфическое заболевание, при котором растения имеют аномально удлиненные междоузлия и низкую продукцию семян. В 1935 г. японский учёный Т. Ябута выделил гиббереллины из этого гриба в кристаллическом виде и дал им существующее название.

Андромедотоксин, или Ацетиландромедол, или Родотоксин, – органическое соединение, фитотоксин, гликозид, присутствующий в вегетативных и генеративных частях многих растений семейства Вересковые (*Ericaceae*).

Андромедотоксин полигидроксилированный циклический дитерпен. Относится к нейротоксинам. Его токсичность обусловлена тем, что он нарушает работу клеточных рецепторов. Воздействие этого гликозида является двухфазным: сначала он возбуждает центральную нервную систему, а затем её угнетает, что может привести к летальному исходу.

Название «андромедотоксин» образовано от научного (латинского) названия рода *Andromeda* (Подбел); сейчас это монотипный род, ранее же в него включалось множество видов, согласно современным представлениям относимые к другим родам семейства Вересковые, – многие из них содержат этот гликозид.

Наиболее часто случаи отравления наблюдаются у животных (коз, овец, крупного рогатого скота), которые во время выпаса поедают растения, содержащие этот токсин: подбел обыкновенный (*Andromeda polifolia*), хамедафне обыкновенную (*Chamaedaphne calyculata*), различные виды рододендрона (*Rhododendron*), пиериса (*Pieris*) и др. Поскольку некоторые из этих растений используются как декоративные, отравления животных могут случаться и не только при выпасе. Следует также учитывать, что отравление может наступить и при поедании высушенных частей этих растений.

Поскольку андромедотоксин может присутствовать и в нектаре, выделяемом цветками растений, мёд также может содержать андромедотоксин, что иногда приводит и к отравлению людей.

Плиний Старший и позже Страбон в своих исторических сочинениях рассказывают об использовании жителями, обитавшими в окрестностях Чёрного моря, мёда, содержащего значительные дозы андромедотоксина, против вражеских армий: армии Ксенофонта в 401 г. до н. э. и армии Помпея в 69 г. до н. э. В Причерноморье растут два медоносных растения, от которых можно получить такой мёд: Рододендрон жёлтый (*Rhododendron luteum*) и Рододендрон понтийский (*Rhododendron ponticum*).

Тема 4 Основные группы терпеноидов (три, тетра и политерпеноиды)

- 1 Три-, тетра- и политерпеноиды.
- 2 Ациклические и моно-, би-, трициклические группы терпеноидов.
- 3 Растительные смолы, гутта и каучук.

1 Три-, тетра- и политерпеноиды.

Тритерпены – $C_{30}H_{48}$, $(C_{10}H_{16})_3$. Углеродный скелет тетратерпеноидов содержит 40 атомов углерода и построен соединением двух дитерпеновых фрагментов по типу 4-4.

К политерпенам относятся полипренолы, каучук и гуттаперча.

Тритерпеноиды отличаются от всех предыдущих групп изопреноидов, во-первых – меньшим разнообразием структурных типов, во-вторых – большим распространением в разнообразных организмах: их находят в растениях, в микроорганизмах, в животных, в морских организмах и в органических геологических сферах (нефть, осадочные породы). Следующая особенность этих

соединений – некоторые тритерпеноиды претерпевают деградацию углеродного скелета, причем иногда весьма существенную – от C_{30} до C_{18} . Эти деградированные тритерпены образуют группу соединений специфической и очень важной физиологической активности под общим названием стероиды, которые характерны, в основном, для высших животных и человека, в том числе.

Сквален – единственный ациклический тритерпен, он же основополагающий тритерпен всего класса тритерпеноидов. Этот изопреноид найден во многих растениях, микроорганизмах, животных (в том числе, морских). Сквален – бесцветная вязкая жидкость. Легко растворим в петролейном эфире, диэтиловом эфире, ацетоне. Плохо растворим в уксусной кислоте и этаноле. В воде нерастворим.

Сквален впервые обнаружен в 1916 г. в печени акулы. Впоследствии он был также найден в некоторых растительных маслах (оливковом, хлопковом, льняном, амарантовом, аргановом), масле из зародышей пшеницы, во многих растительных и животных тканях, в ряде микроорганизмов.

Биосинтез сквалена производится из мевалоновой кислоты. В процессе биосинтеза мевалоновая кислота превращается в фарнезилпирофосфат, который под действием скваленсинтетазы в присутствии тиаминина переходит в сквален.

Сквален является промежуточным соединением в биологическом синтезе стероидов, в том числе и холестерина (через ланостерол), и участвует в обмене веществ.

Растительные тритерпены, повсеместно встречающиеся в различных растениях, обычно накапливаются в последних в виде эфиров различных кислот или в виде гликозидов. В последнем случае они образуют так называ-

емые стероидные сапонины, а тритерпены, участвующие в этих образованиях, выделяют в группу сапогенинов.

Самое большое количество тритерпеновых сапогенинов приходится на тип олеонена – более 50 %. Достаточно часто встречается сапонины манестановой и даммарановой структуры.

Соответствующие сапонины образуются О-гликозидной связью своего спиртового гидроксила с самыми различными углеводами, моносахаридами и олигосахаридами; при наличии других гидроксильных групп (в том числе, карбоксильных) возможно гликозилирование тритерпеноида и с их участием.

Гликозиды тритерпеноидов, т.е. сапонины, являются поверхностно-активными веществами, образуют устойчивую мыльную пену, обладают гемолитическим действием, ядовиты для животных дышащих жабрами. Многие тритерпеновые гликозиды являются активными компонентами лекарственных растений восточной медицины, обеспечивая им противовоспалительный эффект, цитотоксическое действие и др.

Гопаноиды – пентациклические тритерпены. Соединения гопана впервые были выделены из смолы «даммара» (группа природных смол, продуцируемых деревьями семейства *Dipterocarpaceae*, произрастающих в Малайзии и Индонезии).

Название «гопан» происходит от названия рода растений *Norea*, из которых получалась смола, а он, в свою очередь, назван по имени шотландского ботаника Джона Хоупа. В дальнейшем гопаноиды были обнаружены в природе в большом количестве в различных бактериях и других примитивных организмах. Некоторые гопаноиды обнаруживаются в резервуарах с горючим, где они используются как биологические маркеры. Гопаноиды не обнаружены в составе архей.

Гопаноиды изменяют такие свойства клеточной мембраны, как вязкость и структура липидных микродоменов, изменяя проницаемость, жесткость и другие характеристики мембран у бактерий, аналогично тому, как стерины (например холестерин) изменяют свойства мембран эукариотов. У многих бактерий гопаноиды изменяют проницаемость клеточной мембраны в ответ на различные экстремальные внешние воздействия. Они образуются в гифах (спороносных структурах) почвенной бактерии *Streptomyces*, благодаря чему минимизируется утечка влаги в атмосферу. У актиномицеты *Frankia* гопаноиды в мембранах ограничивают поступление кислорода, увеличивая плотность липидного бислоя.

Гопаноиды, вероятно, наиболее часто встречающиеся природные продукты на земле, они присутствуют в органическом веществе всех осадков, независимо от их возраста, происхождения или природы и поэтому являются полезными биомаркерами различных окаменелостей в палеонтологии и геологии.

Гопаноиды, включая 2- α -метилгопан, из фотосинтетических бактерий (цианобактерий) были открыты Роджером Саммонсом и его сотрудниками в окаменелостях возрастом 2,7 млрд. лет в Австралии. Присутствие в этих породах большого количества 2- α -метилгопана свидетельствует о том, что кис-

лородный фотосинтез существовал уже 2,7 млрд. лет назад, задолго до «кислородной катастрофы».

Тетратерпены включают одну единственную структурную группу – каротиноиды.

Каротиноиды – природные пигменты от желтого до красно-оранжевого цвета, синтезируемые бактериями, водорослями, грибами, высшими растениями, некоторыми губками, кораллами и др. организмами; обуславливают окраску цветов и плодов.

Молекулы всех каротиноидов представляют собой полиеновые сопряженные системы, система сопряжения которых, как минимум, составляет девять олефиновых фрагментов, а чаще – десять или одиннадцать таких фрагментов, т.е. это мощная делокализованная π -система (исключение – фитоин и фитофлуин, имеющие три и пять сопряженных двойных связей соответственно).

Все каротиноиды можно разделить на три группы:

1. Каротиноиды ациклической структуры;
2. Дициклогексановые каротиноиды, молекулы которых на концах углеводородной цепочки имеют два циклогексановых фрагмента;
3. Моноциклогексановые каротиноиды, имеющие только на одном конце цепи циклогексановый фрагмент.

Ликопин – каротиноидный пигмент, определяющий окраску плодов некоторых растений, например томатов, гуавы, арбуза. Нерастворим в воде. Содержится во многих красно-оранжевых частях растений, это главный компонент, определяющий красный цвет плодов томатов. Ликопин является нециклическим изомером бета-каротина. Защищает части растения от солнечного света и окислительного стресса. В клетках растений ликопин выступает как предшественник всех остальных каротиноидов, включая бета-каротин.

Структурно ликопин представляет собой тетратерпен, собранный из восьми изопреновых единиц. Наличие 11 сопряженных двойных связей обуславливает светопоглощающее свойство ликопина и его способность к легкому окислению. При окислении ликопин дает эпоксиды различного состава. Ликопин поглощает все длины волн видимого света, кроме самых длинных, поэтому он имеет красную окраску.

В растениях и фотосинтетических бактериях ликопин синтезируется в виде полностью-транс-изомера, но в общей сложности возможно существование 72 геометрических стереоизомеров молекулы ликопина.

Виолаксантин – природный ксантофилл оранжевого цвета, который присутствует во всех растениях и водорослях. Участвует в виолаксантиновом цикле, выполняет антенную функцию. Синтезируется из зеаксантина при помощи фермента эпоксидазы в строме хлоропласта. Участвует в переносе энергии на хлорофилл а антенных комплексов. При низком освещении и ночью происходит синтез виолаксантина из зеаксантина через промежуточный продукт антераксантин. Таким образом, растение настраивает свой фотосинтетический аппарат для поглощения света низкой интенсивности, который преобладает в утренние часы.

Виолаксантин используется как пищевая добавка. Это пищевой краситель, запрещенный к использованию в евросоюзе или США, но разрешенный в Австралии и Новой Зеландии.

2 Эфирные масла и эфирномасличные растения.

Эфирные масла – летучие, с характерным сильным запахом и вкусом, маслоподобные (маслянистые), нерастворимые в воде, в основном бесцветные или слабо окрашенные жидкости. В отличие от настоящих жиров большинство эфирных масел, состоящих из легких фракций, не оставляют жирowych пятен на бумаге, потому что испаряются (улетучиваются) уже при комнатной температуре. Если на производстве оставляют тяжелые фракции политерпенов в эфирных маслах (которые обычно уходят в фармацевтическую промышленность), то масла будут испаряться лишь частично.

Эфирные масла образуются в растениях. Имеют чрезвычайно сильные физиологические и фармакологические свойства. В чистом виде их получают перегонкой с водяным паром, поглощая жирами, кое-где выжимают под прессом или же экстрагируют жидкой углекислотой и другими растворителями. В фитотерапии (ароматерапии и т. п.) их употребляют не только очищенными, например, для ингаляций, но и в настойках (эссенциях), которые делают на спирте, учитывая нерастворимость терпенов в воде, или в напарах, как скажем, это делают с листьями шалфея или эвкалипта для полоскания.

Большинство эфирных масел хорошо растворяются спиртом (растворимость эфирных масел в спирте сильно зависит от его крепости), бензином, эфиром, липидами и жирными маслами, восками и другими липофильными веществами, и в таких формах очень широко используются в парфюмерии. Эфирные масла находят также применение в пищевой промышленности – в пряностях и специях.

Эфирные масла различают и называют, исходя из растений, из которых их получают: мятное, лавандовое, розовое и прочие. Каждое из них представляет смесь нескольких (часто более) отдельных химических соединений – терпенов и их производных (терпеноидов). Терпены – углеводороды и характерны тем, что в молекулах у них много ненасыщенных углеродных связей, которые обуславливают высокую химическую активность этих веществ.

В состав эфирных масел входят терпены и терпеноиды, ароматические соединения, предельные и непредельные углеводороды, альдегиды, органические кислоты и спирты, их сложные эфиры, а также гетероциклические соединения, амины, фенолы, органические сульфиды, оксиды и др.

Состав эфирных масел зависит от вида растения, его хемотипа, погодных условий в год сбора, условий хранения сырья, способа извлечения эфирных масел, а также нередко от длительности и условий хранения.

Эфирные масла образуются во всех частях растений, но количественное распределение их по частям растения обычно неодинаково. Листья, цветы, почки, плоды, корни и корневища являются в большинстве случаев местом наибольшего накопления эфирных масел.

Содержание эфирных масел для различных растений может составлять от тысячных долей процента до 5-6 %, а для некоторых видов сырья, например, бутонов гвоздичного дерева – около 20 %.

В живых тканях растений эфирные масла могут быть рассеяны диффузно по всем клеткам ткани в растворенном или эмульгированном состоянии в цитоплазме или клеточном соке, однако чаще всего они накапливаются в особых образованиях, обнаруживаемых под микроскопом.

Различают экзогенные и эндогенные выделительные структуры.

Экзогенные образования развиваются в эпидермальной ткани и представляют собой железистые «пятна», железистые волоски и эфирномасличные железки. Железистые пятна — простейшие выделительные образования. Это мелкокапельные скопления эфирных масел сразу под кутикулой эпидермы, вызывающие отслаивание (вздутие) кутикулы. Эфирное масло вырабатывается отдельными группами выделительных клеток — «пятнами», — разбросанными в эпидермальной ткани. Такая локализация эфирных масел наблюдается в лепестках розы, ландыша, в листьях некоторых растений, в эпидермисе кроющих чешуй почек тополя и др.

Железистые волоски состоят из одноклеточной или чаще многоклеточной «ножки» и «головки» шаровидной или овальной формы, которая образована одной или несколькими выделительными клетками.

Эфиромасличные железки могут быть различного строения. Все они имеют очень короткую ножку и многоклеточные головки с разным количеством и расположением составляющих их железистых (выделительных) клеток. Так, например, у видов семейства Ясноткоцветных головка чаще всего образована восемью клетками, расположенными в виде розетки — «ромашки». По мере образования эфирного та общая кутикула этих клеток вздувается куполообразно, образуя резервуар с эфирным маслом. Железки растений семейства Астровых состоят из нескольких, чаще всего из четырех, вертикально расположенных рядов клеток, по две клетки в каждом, причем верхние клетки функционируют в качестве выделительных, а нижележащие содержат хлоропласты и являются ассимилирующими клетками. Эндогенные образования развиваются в паренхимных тканях. К ним относятся секреторные клетки, вместилища и эфиромасличные каналцы (ходы).

Секреторные клетки могут встречаться одиночно (клетки-идиобласты) или же образуют в паренхиме слои. Клеточные стенки склонны к опробковению. Одиночные клетки имеются, например, в корневище айры, в паренхиме которого в месте соприкосновения нескольких (3-4) клеток располагается одна секреторная клетка. Типичным примером являются корневища валерианы, в слое гиподермы которой локализуются секреторные клетки. В случае, если эфирное масло состоит из веществ, растворенных в клеточном соке или цитоплазме, эфиромасличность клеток может быть обнаружена только в ходе гистохимических реакций (судан III и другие реактивы).

Вместилища эфирных масел — специальные образования в различных органах растений, в которых накапливаются эфирные масла.

Вместилища представляют собой круглые или овальные полости, встречающиеся в мезофилле листа, коже плодов цитрусовых, в коре и древесине некоторых растений. Вместилища образуются двояким путем – схизогенным и схизолизигенным. При схизогенном формировании вместилища в межклетники «изливаются» выделения прилегающих продуцирующих клеток, которые тем самым становятся вместилищем и эфирного масла. Межклеточное пространство далее расширяется и увеличивается в объеме за счет «раздвигания» клеток. При схизолизигенном формировании вместилищ начальные этапы его образования сходны с описанными выше, но затем окружающие полость клетки разрушаются, в результате чего вся полость увеличивается в объеме. Функцию секреторных клеток взамен лизированных (растворенных) приобретают клетки, примыкающие к полости вместилища.

Вместилища, имеющие вытянутую форму, называются эфиромасличными каналцами, которые, как и типичные вместилища, образуются схизогенно или схизолизигенно.

Секреторные образования в некоторой степени могут служить систематическим признаком. У многих хвойных они представлены в виде ходов, расположенных во всех частях растения и выделяющих эфирные масла и смолу. Среди однодольных секреторные образования встречаются у семейств Ароидные, Ирисовые, Имбирные (секреторные клетки). Весьма разнообразно представлены выделительные структуры у двудольных. Существуют семейства, которые содержат только секреторные клетки (например, представители семейства Перечные). Вместилища, разные по происхождению, имеются у видов многих семейств – Рутовые, Миртовые, Зверобойные и др. Канальцы с эфирными маслами типичны для плодов Зонтичных. Ходы и вместилища встречаются у Зверобойных. Исключительно велико разнообразие железистых волосков и железок, которые порознь или при совместном сочетании могут характеризовать отдельные семейства, например, Ясноткоцветные, Астровые, Валериановые.

Характер секреторных образований, их количество и размеры неразрывно связаны с количеством образующихся в растениях эфирных масел. В сырье растений, имеющих экзогенные образования, большее количество эфирного масла получают из железок, а не из железистых волосков. Растения порядка Ясноткоцветные более богаты эфирным маслом, по сравнению с видами семейства Астровые, поскольку в первом случае эфирное масло продуцируется всеми 8 выделительными клетками, а во втором – из 8 клеток продуцирующими являются только 2 верхние.

Эфирные масла широко распространены в растительном мире, и их роль весьма велика. К важнейшим физиологическим функциям относятся следующие:

Эфирные масла являются активными метаболитами обменных процессов, протекающих в растительном организме. В пользу этого суждения свидетельствует высокая реакционная способность терпеноидных и ароматических соединений, являющихся основными компонентами эфирных масел.

Эфирные масла при испарении окутывают растение своеобразной «подушкой», уменьшая теплопроницаемость воздуха, что способствует предохранению растения от чрезмерного нагревания днем и переохлаждения ночью, а также регуляции транспирации.

Запахи растений служат для привлечения опылителей-насекомых, что способствует опылению цветков.

Эфирные масла могут препятствовать заражению патогенными грибами и бактериями, а также защищать растения от поедания животными.

Классификация эфирных масел по химическому составу:

Бескислородные или терпены (терпинное, лавандовое, можжевельное, айрное, розмариновое, померанцевое).

Содержащие кислород (анисовое, укропное, тминное, гвоздичное, мятное).

Содержащие серу (чесночное, горчичное, луковое).

Применение эфирных масел

- пищевые ароматизаторы (пищевые, вкусовые добавки);
- медицинские препараты, лекарственные средства;
- компоненты парфюмерных и косметических средств (косметология);
- ароматерапия;
- как растворители и др.

Эфирные масла применяются преимущественно для ароматизации пищевых продуктов, напитков, изделий бытовой химии/гигиены, в фармацевтической промышленности, в медицине и ароматерапии, а также как растворители (скипидар). Ароматерапия подразумевает не только лечение ароматами, но их применение в соответствии с правилами фармакотерапии, так же, как применение других лекарственных средств.

Наибольшее применение имеют эфирные масла цитрусовых, мятное эфирное масло, эфирное масло иланг-иланг и скипидары, полученные из хвойных деревьев.

Ароматерапия может быть полезна, чтобы вызвать расслабление, но нет достаточных доказательств того, что эфирные масла могут эффективно лечить любое состояние. Научные исследования показывают, что эфирные масла не могут лечить какие-либо хронические (и все прочие) заболевания.

Попадая в рот и раздражая нервные окончания, эфирные масла действуют через нервную систему на желудок, вызывая усиление секреции желудочного сока, секрета поджелудочной железы и желчи, то есть тех соков и ферментов, что в основном осуществляют процесс переваривания и усваивания пищи. Тем самым они действуют на аппетит, нормальное, здоровое потребление пищи, что и достигается вкусовыми приправами к блюдам, консервам и т. п. (укроп, петрушка, тмин, кориандр, и многие другие).

Эфирные масла действуют и на мочевыделительные органы. Объясняют это тем, что лекарства с чабрецом или чистый тимол (из масла тимьяна) или другие диуретические лекарства с эфирными маслами расширяют сосу-

ды фильтрующей системы почек (нефронов) и делают их легче проницаемыми. Важными лекарствами с таким действием являются «ягоды» можжевельника, корни петрушки, семян или листьев любистока.

В целом эфирные масла являются важными составляющими в лекарственных препаратах для очищения легких от мокроты, конкрементов почек, желчного пузыря и других патологических образований, проявляют спазмолитическое действие на мышцы кишечника, ускоряя пищеварение. Они также улучшают выделение молока у матерей-кормилиц. Некоторые эфирные масла, например, мятное, имеют четкое желчегонное действие и применяются при воспалениях желчного пузыря и при желтухах.

Вместе с тем злоупотреблять эфирными маслами нельзя. Они могут повлечь значительный вред при менструациях и беременности вследствие приливов крови (вплоть до аборта).

И, наконец, эфирные масла проявляют четкое статическое действие на бактерии, особенно на такие, что имеют пропитанную жироподобными веществами оболочку и потому очень устойчивые к другим дезинфекционным средствам (стафилококк). Окуривание эфирными маслами применяется для дезинфекции помещений, одежды и кожи. Поскольку эфирные масла в основном имеют приятный для человека запах, такое мероприятие способствует повышению самочувствия.

Эфирномасличные растения, или Эфиносы – растения, содержащие в особых клетках (эфиромасличных ходах) или в железистых волосках пахучие эфирные масла – летучие соединения, практически не растворимые в воде. Они представляют собой сложные смеси различных органических соединений: терпенов, спиртов, альдегидов, кетонов.

Эфиромасличными эти растения стали называть в XIX веке, когда из них стали получать промышленные количества пахучих веществ – прежде всего эфирных масел. Используются же они не одно тысячелетие. Клеопатра применяла ароматные притирания из пахучих трав. Авиценна ценил мяту, как средство борьбы с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Способность вырабатывать пахучие масла отмечены более чем у 3000 видов растений, относящихся к семействам зонтичных, яснотковых, рутовых, но промышленное значение имеют во всем мире около 200 видов.

Наибольшее количество эфирных масел содержится в цветках и плодах, меньше – в листьях, стеблях и подземных органах. Количество масел колеблется от едва заметных следов до 20-25 % на сухое вещество. Большинство эфиромасличных растений – до 44 % всех видов – произрастает в тропиках и субтропиках (цитрусовые, гвоздичное дерево, лавровое дерево, коричное дерево, имбирь). Имеются промышленные плантации этих культур. В зоне умеренного климата культивируют и собирают в дикорастущем виде в основном травянистые эфиромасличные — кориандр, шалфей, базилик, тмин, анис, пачули, укроп, аир. Самые ценные масла содержатся в эфиромасличных растениях семейств Имбирные, Санталовые, Лавровые, Розовые, Гераниевые, Рутовые.

Эфиромасличные растения используются в парфюмерии (розовое, жасминное, лавандовое масла), в мыловаренной, кондитерской, фармацевтической, ликеро-водочной и пищевой промышленности (вкусовые приправы и ароматизаторы).

К эфиромасличным растениям относятся большое количество лекарственных растений – эвкалипты, камфорное дерево, мята, петрушка, тимьян, розмарин, рута.

3 Растительные смолы, гутта и каучук.

Смолы – отвердевшие на воздухе продукты множества растений, образующиеся в результате нормальных или патологических процессов. Смолы являются большей частью в виде аморфных масс, при нагревании сплавляются, горят коптящим пламенем, растворимы в воде, большей частью легко растворимы в спирте, эфире, не прогорают, мылятся и представляют смеси разнообразных бесцветных или окрашенных, пахучих или не обладающих никаким запахом веществ.

По химическому составу чистые смолы богаты углеродом и водородом, бедны кислородом, не включают азота.

Смолы, в которых встречается камедь, образуют группу камедь-смола (гуммигут).

Если камедь-смолы содержат эфирное масло, то такие смолы называются масло-камедь-смолы. Например, ладан обыкновенный – благовонная смола, доставляемая африканским ладанным деревом *Boswellia papyrifera*, индийским ладанным деревом *Boswellia serrata* и разными видами *Cistus*, или ладанника; смирнский ладан, мирра; опопанакс.

Если же камедь отсутствует, а имеется лишь смесь масла и смолы, то такие смолы называют масло-смолы, а более жидкие – бальзамы, такие, как копайский бальзам, копал, аниме (курбариловая смола), сандарак, живица и др.

Если имеется чистая смола, то есть смесь сложных спиртов, эфиров, кислот и прочего, то по характеру кислот они подразделяются на собственно смолы, не обладающие запахом: бакаутовая, или гваяковая смола, даммара, канифоль, скаммоний, шеллак, янтарь, – и смолы с ароматическими кислотами: бензойной, коричной и т.п., например, росный ладан, или бензой, стиракс, перуанский бальзам, толутанский, или толуанский бальзам, причём вещества более жидкой консистенции известны под именем бальзамов.

Смолы горные: асфальт, озокерит.

Гуттаперча (англ. gutta-percha; от малайского «guttah» – «смола», «камедь»; «perscha» или «percha» – «остров», или «pertja» – название растения) – смола, добываемая из растения «pertja» (род *Palaquium*); высокомолекулярный углеводород, идентичный по химическому составу натуральному каучуку.

Химическая формула: $(C_5H_8)_n$ (полимер 1,4-изопрена); геометрический изомер (транс-форма) каучука, отличающийся значительно меньшей эластичностью.

Добывают из млечного сока гуттаперченосных растений, произрастающих на островах Малайского архипелага, Филиппинских островах. В России добывают из бересклета бородавчатого. Гуттаперча – кожеподобный продукт белого или желтоватого цвета. Она способна, как и каучук, вулканизоваться серой.

Природный каучук –цис-полимер изопрена; содержится в млечном соке (латексе) гевеи, кок-сагыза (и других каучуконосных растений. Растворим в углеводородах и их производных (бензине, бензоле, хлороформе, сероуглероде и т.д.). В воде, спирте, ацетоне натуральный каучук практически не набухает и не растворяется. Уже при комнатной температуре натуральный каучук присоединяет кислород, происходит окислительная деструкция (старение каучука), при этом уменьшается его прочность и эластичность. При взаимодействии натурального каучука с серой, хлористой серой, органическими пероксидами (вулканизация) происходит соединение через атомы серы длинных макромолекулярных связей с образованием сетчатых структур. Это придаёт каучуку высокую эластичность в широком интервале температур. Натуральный каучук перерабатывают в резину. В сыром виде применяют не более 1 % добываемого натурального каучука (резиновый клей). Каучук открыт де ла Кондамином в Кито (Эквадор) в 1751 году. Более 60 % натурального каучука используют для изготовления автомобильных шин. В промышленных масштабах натуральный каучук производится в Индонезии, Малайзии, Вьетнаме, Таиланде, Бразилии и КНР.

РАЗДЕЛ 3 АЛКАЛОИДЫ

Тема 5 Общая характеристика алкалоидов

- 1 Общая характеристика алкалоидов, их распространенность в растительном царстве
- 2 Функции алкалоидов в растениях, факторы, влияющие на их накопление.
- 3 Свойства алкалоидов и их применение.

1 Общая характеристика алкалоидов, их распространенность в растительном царстве.

Алкалоиды – азотсодержащие природные соединения основного характера. Название «алкалоид» было предложено в 1819г. К. Мейснером (от араб. *alqali* – щелочь и греч. *eidos* – подобный). До этого считалось, что в растениях образуются только кислые и нейтральные соединения, а в животных – щелочные.

При этом истинный алкалоид должен соответствовать четырем требованиям: атом азота является частью гетероциклической системы; сложная молекулярная структура соединения; значительная фармакологическая активность; растительное происхождение. В связи с открытием большого количества разнообразных по структуре веществ оказалось, что некоторые соединения, рассматриваемые большинством исследователей как алкалоиды, не отвечают всем требованиям. Например, пиперин не имеет основного характера, а колхицин и мескалин не являются гетероциклами.

В истории фитохимии вторичных соединений впервые в чистом виде были выделены именно алкалоиды. Таковым был морфин, названный в честь греческого бога сна Морфея и выделенный в кристаллическом виде в 1806г. немецким аптекарем Ф. Сертюрнером из опиума (от греч. *opos* – сок) – млечного сока мака снотворного (*Papaver somniferum*) – древнейшего лекарственного растения, использованию которого более 3000 лет. Хотя попытки получения действующих веществ лекарственных растений, предпринятые основателем фармакологии Парацельсом (1490-1541гг.) еще в XVIв., были безуспешными, «квинтэссенция» принципов его лечения и философии – «все есть яд, и все есть лекарство: одна только доза делает вещество ядом или лекарством» как нельзя лучше относится к алкалоидам.

Растения, содержащие алкалоиды, использовались человеком с древнейших времён как в лечебных, так и в рекреационных целях. Так, в Месопотамии лекарственные растения были известны уже за 2000 лет до н. э. В «Одиссее» Гомера упоминается подаренное Елене египетской царицей снадобье, дарящее «забвенье бедствий». Считается, что речь шла о средстве, содержащем опиум. В I–III веках до н.э. в Китае была написана «Книга домашних растений», в которой упоминалось медицинское использование эфедры и опийного мака. Листья коки использовались индейцами Южной Америки также с древних времён.

Экстракты растений, содержащие ядовитые алкалоиды, такие как аконитин и тубокурарин, использовались в древности для изготовления отравленных стрел.

Изучение алкалоидов началось в XIX веке. В 1804 году немецкий аптекарь Фридрих Сертюрнер выделил из опиума «снотворный принцип» (лат. *princīpiū somniferum*), который он назвал «морфием» в честь Морфея, древнегреческого бога сновидений (современное название «морфин» принадлежит французскому физику Гей-Люссаку).

Значительный вклад в химию алкалоидов на заре её развития внесли французские исследователи Пьер Пеллетье и Жозеф Каванту, открывшие, в частности, хинин (1820) и стрихнин (1818). Также в течение нескольких последующих десятилетий были выделены ксантин (1817), атропин (1819), кофеин (1820), кониин (1827), никотин (1828), колхицин (1833), спартеин (1851), кокаин (1860) и другие алкалоиды.

Полный синтез алкалоида впервые осуществлён в 1886 г. для кониина немецким химиком Альбертом Ладенбургом путём взаимодействия 2-метилпиридина с ацетальдегидом и восстановления получившегося 2-пропенилпиридина с помощью натрия.

Появление в XX веке спектроскопии и хроматографии послужило толчком к ускоренному развитию химии алкалоидов. К настоящему времени идентифицировано более 15000 алкалоидов, их содержат почти 20% сосудистых растений. Алкалоиды найдены у бактерий, грибов, морских беспозвоночных (асцидии, губки и др.), насекомых и даже млекопитающих, хотя численно представлены гораздо меньше, чем у растений. Считается, что богаты ими эволюционно продвинутые покрытосеменные (семейства пасленовые, маковые, мареновые, бобовые, лютиковые, кутровые, лилейные и др.). У голосеменных, хвощей и плаунов встречаются единичные представители, а у мхов и водорослей с их низким уровнем организации они полностью отсутствуют.

Концентрация алкалоидов в растениях обычно невелика – сотые и десятые доли процентов; при содержании 1-3% на сухую массу их относят к высоко алкалоидным. Рекордсменами являются выведенные селекцией сорта хинного дерева или цинхоны (*Cinchona* sp., 40 видов), содержащие в коре до 16-20% хинина напротив 2-2.5% у дикорастущих форм. Обычно в растении присутствует смесь алкалоидов, иногда более 100 как у барвинка розового. Они часто близки по своему строению, поэтому получили название эрголиновых, колхициновых и др.; среди них один или несколько основных алкалоидов содержатся в большем количестве, а остальные являются минорными производными. Для некоторых растений характерно наличие единственного алкалоида, например, рицинина в семенах клещевины *Ricinus communis* (Молочайные), обуславливающего их смертельную ядовитость и который удаляется при производстве касторового масла. Таксономически родственные виды часто содержат сходные алкалоиды, что используется в современной систематике (хемотаксономия) и на основании филогенетического принципа позволило успешно провести целенаправленный поиск и идентификацию но-

вых алкалоидов. Хемоспецифичность у близкородственных видов и родов имеет место, как правило, в случае сложных по строению соединений. Тогда как некоторые относительно простые алкалоиды, например, кофеин, обнаружены у 7 неродственных видов. Главный алкалоид рода *Nicotiana* (Пасленовые) – никотин – присутствует также в 13 других систематически далеких семействах.

В клетках алкалоиды содержатся в форме водорастворимых солей органических (яблочная, лимонная, винная и др.) и неорганических кислот клеточного сока, поэтому обнаруживаются только в вакуолизированных клетках и локализуются главным образом в активно растущих тканях, эпи- и гиподермальных клетках, обкладке сосудистых пучков, млечниках. Они редко присутствуют в омертвевших тканях, даже в коре хинного дерева находятся в живых клетках паренхимы. Алкалоиды часто накапливаются в специализированных клетках – идиобластах таким образом, что происходит дегенерация протопласта, а клеточная стенка пропитывается веществами как бы «запечатывающимися» алкалоиды внутри клеток, концентрация которых может в 70 раз превышать токсичную дозу для фитопатогенных грибов.

2 Функции алкалоидов в растениях, факторы, влияющие на их накопление

Наиболее старая точка зрения причисляла алкалоиды к «отбросам» жизнедеятельности, как конечным продуктам распада азотистых соединений по аналогии с мочевой кислотой и мочевиной у животных. Основным аргументом служили факты увеличения содержания и разнообразия алкалоидов с возрастом у некоторых растений. Хотя эта точка зрения не могла объяснить очевидное – почему «отбросы» имеют столь сложную структуру и не присутствуют у всех растений, поднятие вопроса о значении алкалоидов для самих растений было принципиально важным для развития фитохимии и физиологии.

Выдвинутое позже положение причислило алкалоиды к запасным и транспортным веществам, связанным, в первую очередь, с азотно-белковым обменом. Оно подтверждается фактами повышения содержания алкалоидов при усиленном азотном питании, а также транспорта в надземные органы из корней, где происходит их биосинтез и одновременно первичная ассимиляция азота. Отсюда алкалоиды рассматриваются как одна из форм обезвреживания аммиака и резервирования азота. Вместе с тем, как указывалось выше, среди запасных веществ семян у алкалоидоносных растений они часто отсутствуют.

Алкалоиды принято относить к важным конститутивным элементам химической защиты растений от поедания фитофагами и инфекций разной этиологии. Хорошо известно, что ядовитые для домашних животных высокоалкалоидные сорта люпина *Lupinus polyphyllus* (Бобовые) в отличие от выведенных «сладких» (безалкалоидных) устойчивы к фузариозу и мучнистой росе. В последнее время получены доказательства, что алкалоиды могут быть вовлечены и в систему индуцибельной защиты. Так, концентрация никотина

у табачных растений *N. tabacum* возрастает при патологиях (заражение вирусом табачной мозаики) и атаке насекомых почти в 10 раз, причем даже в интактных листьях синтезируется N-ацилникотин, к которому чувствительны никотин-резистентные фитофаги. На примере дикого табака *N. attenuata* показано усовершенствование отношений жертва-хищник в процессе химической коэволюции: растения не вырабатывают никотин при нападении именно никотин-устойчивых форм насекомых, а усиливают биосинтез летучих монотерпеноидов, привлекающих естественных врагов специализированных фитофагов. Детекция растением чувствительности к никотину вредителей, по видимому, определяется составом слюны путем образования конъюгатов жирных кислот с аминокислотами.

Показана индукция биосинтеза защитных вторичных метаболитов, в том числе алкалоидов разных групп, через увеличение пула стрессового фитогормона жасминовой кислоты и ее летучего производного – метилжасмоната, о чем свидетельствуют положительные результаты обработки *in vitro* экзогенным метилжасмонатом более чем 140 видов растений. Аналогично внесение другого стрессового фитогормона абсцизовой кислоты к каллусной культуре раувольфии змеиной повышало содержание алкалоидов на 50-80 %. Был сделан вывод об их фитонцидной роли, поскольку инфицирование данной культуры *Botrytis synerea* показало резкое транзитное увеличение алкалоидов у поверхностных клеток, непосредственно контактирующих с патогеном.

Интересным представляется распределение алкалоидов у *Coffea arabica*: в почках, когда листья полностью закрыты двумя прилистниками и восковым слоем, содержание кофеина низкое. При формировании листьев оно увеличивается с максимумом у развернутых листьев, а затем снижается с последующим накоплением в развивающихся плодах. Следовательно, при развитии листа механическая защита сменяется химической, а с возрастом более важным становится защита репродуктивных органов.

Однако накопление алкалоидов не является универсальной защитой от фитофагов. Известно, что козы охотно и без вреда для себя поедают листья табака, кролики – красавки и люпина, поскольку их слюна содержит вещества, связывающие определенные алкалоиды; хотя большинство домашних животных подвержено отравлениям, что необходимо учитывать при выпасе. Специализированные фитофаги, прежде всего насекомые, в процессе коэволюции научились использовать алкалоиды растений для собственной защиты. Например, колорадский жук, питающийся исключительно пасленовыми (картофель, томаты, баклажаны) широко распространился по всему земному шару, благодаря концентрированию в своем организме растительных антифидантов (стероидные алкалоиды). Личинки киноварного мотылька *Tyria jacobaea*, питаясь листьями крестовника *Senecio jacobaea* (Сложноцветные), накапливают пирролизидиновые алкалоиды и сохраняют их даже при метаморфозах. В специальных пахучих органах (коремата) у самцов бабочек они модифицируются в феромоны, используемые для аттракции самок. При этом коремата пропорциональна количеству алкалоидов, съеденных личинкой, и,

таким образом, определяет вероятность спаривания особей. У самцов другого вида не менее 50% пирролизидиновых алкалоидов изолируется в сперматофорах и «передается» самкам при спаривании, что затем обуславливает химическую защиту яиц.

В последнее время неожиданное развитие получила выдвинутая в середине XX в. точка зрения о корреляции содержания алкалоидов с NO. Так, обработка суспензионной культуры барвинка розового *C. roseus* источником NO нитропруссидом (10мМ/л) вызывала увеличение суммы индольных алкалоидов почти в 2 раза, чего не наблюдали в присутствии специфической NO-«ловушки». С другой стороны, опиатный алкалоид морфин (10^{-9} М) стимулировал высвобождение NO из мышечной ткани нематод, тогда как структурный антагонист налоксон (10^{-7} М) блокировал этот процесс. Логично предположить, что регуляция биосинтеза защитных соединений, в том числе алкалоидов, может осуществляться по принципу обратной положительной связи через усиление образования модулятора – NO.

Существует предположение о рострегулирующей, по меньшей мере в отдельные этапы жизненного цикла, функции алкалоидов. Так, удаление боковых цветочных почек у *N. tabacum* приводило к задержке роста корня, с одной стороны, и к резкому уменьшению содержания никотина в листьях, с другой. Интересно, что у клеток каллуса в присутствии кинетина метка экзогенного никотина обнаруживается во фракции белков, в его отсутствии – во фракции мембран и клеточных оболочек; при этом роль индуктора ризогенеза берет на себя никотин. Аналогичную ситуацию наблюдали в случае с никотином и ауксином. Алкалоиды могут выступать в качестве фотосенсибилизаторов, которые усиливают чувствительность клеток к отдельным лучам спектра, ускоряя процессы роста и развития, в частности, плодоношения. Возможно этим объясняется преимущественная локализация алкалоидов в эпи- и гиподермальных клетках, причем максимум их содержания чаще всего приходится на период цветения. Вместе с тем алкалоиды могут ингибировать прорастание семян, особенно других видов, то есть проявлять аллелопатические свойства, влияющие на взаимоотношения в фитоценозах.

Алкалоиды участвуют в поддержании ионного баланса клеток благодаря хелатирующей способности и основным свойствам, что предполагает наличие корреляции между содержанием органических кислот и алкалоидов. Например, в *N. rustica* наряду со значительным количеством никотина содержание лимонной кислоты достигает до 18% от сухого веса листьев, что используется для ее промышленного получения.

Следует отметить, что в зависимости от определенной ситуации алкалоиды могут выступать в качестве окислителей, стабилизаторов, метилирующих агентов, антиоксидантов и биокатализаторов биохимических процессов. Это и вышеизложенное предполагают полифункциональную роль алкалоидов в растениях.

Наблюдается значительная изменчивость содержания алкалоидов в зависимости от внешних и внутренних факторов:

- органоспецифичных и онтогенетических. Части лекарственных растений, максимально накапливающие физиологически активные вещества, служат лекарственным сырьем и являются видоспецифичными (Государственная фармакопея, 1990). Это справедливо и в отношении высокоалкалоидных растений. Например, у белены черной *Nyoscyamus niger* и дурмана *Datura stramonium* (Пасленовые) наиболее высокое содержание алкалоидов в семенах, тогда как у мака снотворного и барвинка розового – в зрелых семенах их практически нет. Установлено изменение спектра алкалоидов и в онтогенезе: у 2-недельных проростков мака обнаруживаются только наркотин, на 2-й месяц произрастания – кодеин, морфин, папаверин, к фазе опийной спелости в зеленых коробочках, когда достигается максимум содержания алкалоидов, появляются тебаин и нарцеин. Изучение чистотела большого *Chelidonium majus* (Маковые) показало, что наиболее высокое содержание алкалоидов (2,3%) наблюдается в самом начале вегетации, после выхода из-под снега, и осенью в конце цветения. При этом их накопление резко возрастает в двухлетнем возрасте и в дальнейшем существенно не меняется. Часто алкалоиды накапливаются не в тех органах, где были синтезированы. Так, никотин синтезируется в корнях табачного растения *Nicotiana tabacum*, откуда с пасокой поднимается в надземные органы и накапливается в компартментах клеток мезофилла листа (вакуоль, ЭПР, пластиды). Установлено, что циклическая система алкалоидов пасленовых формируется в корнях, а в листьях претерпевает значительные модификации. Колебания содержания алкалоидов в определенных органах могут быть также связаны:

с динамикой биосинтетических и транспортных процессов, в том числе суточных, что до настоящего времени остается слабо изученным;

- климатических. Хорошо известно, что наибольшее количество алкалоидоносных растений произрастает в субтропической и тропической зонах, тогда как в умеренной – их количество гораздо меньше. Еще Ч.Дарвин отмечал, что болиголов крапчатый (*Conium maculatum*), сильно ядовитое растение в привычных условиях произрастания, утрачивает способность к синтезу алкалоида кониина в горах. Кстати, сок этого растения, смешанный с опиумом, служил официальным ядом, использовавшимся для исполнения смертных приговоров в Древней Греции и Римской империи; им был отравлен философ Сократ (IV в. до н.э.), хотя в истории этот факт приписывается другому растению – веху ядовитому или цикуте (*Cicuta virosa*) из того же семейства зонтичных. Аналогично растения, использовавшиеся в качестве официального орудия смерти в Древнем Китае, - виды аконита или борца (*Aconitum* sp.), в Швеции содержат следы алкалоидов. Эфедра при произрастании в Европе почти теряет алкалоиды, тогда как в Средней Азии эти же виды являются высокоалкалоидными;

- сезонных. Обычно содержание алкалоидов повышается в надземных органах к фазе цветения, к осени оно постепенно снижается, а заморозки могут уменьшать до следовых количеств. Например, после осенних заморозков смертельно ядовитую чемерицу *Veratrum lobelianum* (Лилейные), которая используется в противопедикулезных средствах, домашние животные поедают

без вреда (уровень алкалоидов снижается до 0.01%), как и другой источник инсектицидов – пустынную траву ежевника или анабазиса безлистного *Anabasis aphylla* (Маревые);

- освещенности. Интенсивность солнечного света и продолжительность его действия, как правило, положительно влияют на накопление алкалоидов. Известно, что ультрафиолетовые лучи способствуют их биосинтезу, поэтому в условиях высокогорья (оптимум 1500-2000 м над уровнем моря) отмечается увеличение содержания алкалоидов у целого ряда видов (хинное дерево, красавка, крестовник и др.);

- почвенно-субстратных. Считается, что обеспеченность минеральными веществами, в первую очередь, азотом положительно влияет на содержание алкалоидов: увеличение в 2-10 раз отмечали в табаке, дурмане, люпине, ячмене и т.д. В то же время оно не выявлено для картофеля и барвинка. Увеличение выхода алкалоидов из сырья может происходить и за счет повышения урожая свежей массы растений. Большой объем экспериментального материала получен на культуре клеток и тканей разных видов лекарственных растений, где с помощью мутагенеза и варьирования условий культивирования штаммов – сверхпродуцентов удалось повысить содержание фармакологически ценных соединений.

Таким образом, содержание алкалоидов генетически детерминировано, находится под контролем развития организма и реализуется в зависимости от комплекса внутренних и внешних условий. Выявление эколого-физиологических особенностей накопления алкалоидов имеет не только важное теоретическое, но и практическое значение для оптимизации сбора лекарственного сырья, а также условий культивирования лекарственных растений, в том числе *in vitro*.

3 Свойства алкалоидов и их применение

Большинство кислородосодержащих алкалоидов – твердые кристаллические вещества без запаха, с горьким вкусом, бесцветные, лишь некоторые из них окрашены. Примером является алкалоид оранжевого цвета сангвинарин, который содержится в чистотеле большом (*Chelidonium majus*) и алкалоид желтого цвета берберин из барбариса обыкновенного (*Berberis vulgaris*). Алкалоиды, не содержащие кислорода, являются летучими жидкостями с неприятным запахом (кониин, пахикарпин, никотин, анабазин). Алкалоиды, имеющие ассиметрический атом углерода, как правило, оптически активны.

Алкалоиды – довольно слабые органические основания. Наиболее сильные основные свойства проявляет кодеин, наиболее слабые – кофеин. Алкалоиды хорошо растворимы в неполярных органических растворителях (спирт, эфир, бензол и др.), в редких случаях – в воде (кофеин, эфедрин и эргометрин).

Алкалоиды связаны в растениях в соли, образованные широко распространенными в растительном мире органическими кислотами (яблочной, винной, лимонной, щавелевой и т.п.). В некоторых случаях в образовании

солей участвуют специфические кислоты, например, в опийном маке – меконовая кислота, в хинном дереве – хинная кислота.

Соли алкалоидов – белые кристаллические вещества, растворимые в воде и, как правило, нерастворимые или малорастворимые в органических растворителях. Есть и исключения. Так, например, папаверина гидрохлорид растворим в хлороформе и спирте. В растениях соли алкалоидов содержатся в клеточном соке. Поэтому в растениях алкалоиды, как правило, накапливаются в вакуолях обычно в активно растущих тканях, в обкладках сосудисто-волокнистых пучков, в млечниках.

Применение алкалоидов. В настоящее время известно около 12000 индивидуальных алкалоидов, однако на алкалоидность исследовано всего лишь около 5 % всех видов растений.

Растения, содержащие алкалоиды, издавна использовались как яды и колдовские зелья. Широко применялись алкалоиды в обрядах. Шаманы ели мухоморы, чтобы общаться с духами, варяжские воины – для возбуждения боевого духа. Индейцы Южной Америки употребляли кактусы, в Азии курили гашиш и опиум.

Галлюциногенные свойства растений были известны еще в Средневековье, поэтому ведьмы и колдуны использовали для приготовления зелий такие растения, как дурман, белена и беладонна.

Тысячелетия насчитывает применение алкалоидов в качестве лекарств. Около 170 лет назад, когда были открыты первые алкалоиды, в медицине началась эра алкалоидов.

Ученый В.С. Соколов, подчеркивая значение алкалоидов для медицины, отметил, что «открытие алкалоидов для медицины означало то же, что и открытие железа для мировой культуры».

У алкалоидов много лечебных свойств.

1. У них слабее, чем у других лекарственных препаратов, выражено побочное действие.
2. Действие алкалоидов проявляется быстро, что очень важно при ряде заболеваний.
3. У алкалоидов отсутствует кумулятивный эффект.

Отмеченные свойства объясняют повышенный интерес химиков, криминалистов, фармакологов, врачей, физиологов и биохимиков к физиологической активности алкалоидов.

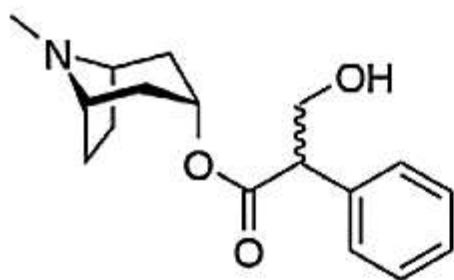
В XX в. алкалоидные растения – источники этих веществ, стали выращивать в специальных хозяйствах, а перед селекционерами была поставлена задача создания новых сортов мака, белены, паслена, беладонны.

К алкалоидным лекарственным препаратам относятся атропин, морфин, кодеин, кофеин, хинин, папаверин, резерпин, эфедрин, платифиллин, раунатин и др. и их синтетические аналоги: дибазол, но-шпа, новокаин, лидокаин, промедол и др.

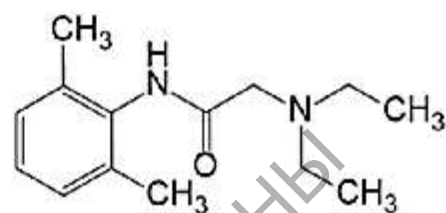
Среди них имеются обезболивающие (морфин, кодеин), противоопухолевые (винбластин, винкристин) средства, расширяющие (атропин, гиосциамин) и суживающие зрачок (физостигмин, пилокарпин), стимуляторы цен-

тральной нервной системы (стрихнин, бруцин) и седативные препараты (скополамин).

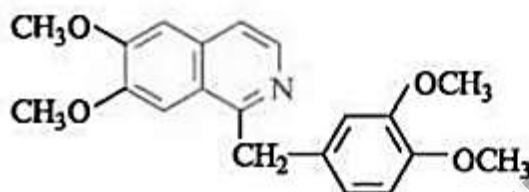
Некоторые алкалоиды стимулируют сердечную деятельность и повышают кровяное давление (эфедрин, эпинефрин), а другие – снижают кровяное давление (резерпин, протOVERATрин А).



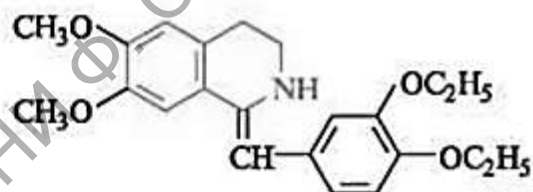
атропин



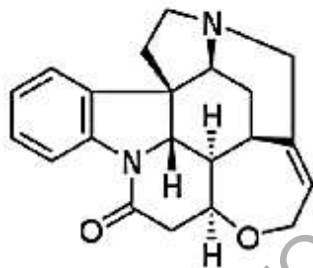
лидокаин



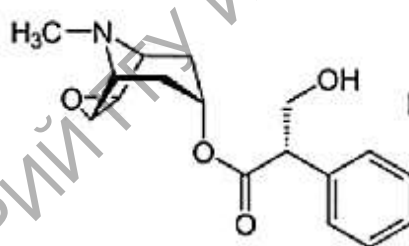
папаверин



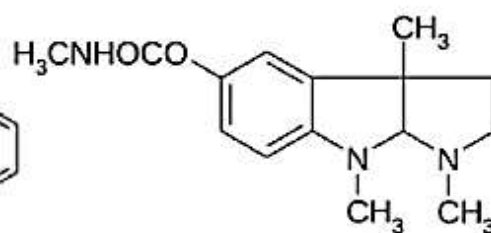
нифедипин



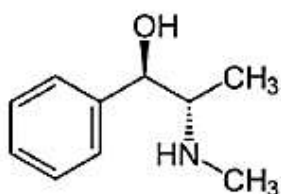
стрихнин



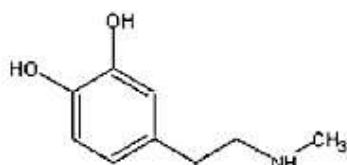
скополамин



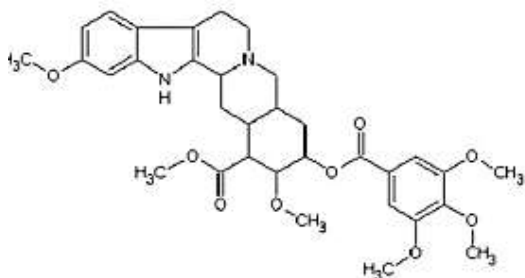
физостигмин



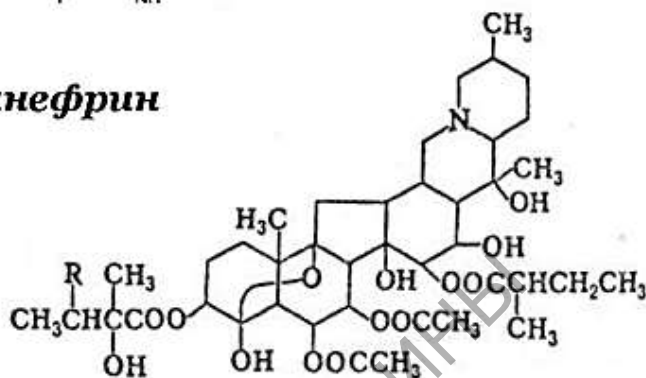
эфедрин



эпинефрин



резерпин



протOVERATрин A

Алкалоиды служат противоядиями, например, при отравлениях морфи-ем и фосфорорганическими инсектицидами используется атропин.

Выдающуюся роль сыграли препараты алкалоидов в борьбе с парази-тическими организмами.

Известным антигельминтным препаратом является пельтьерин. Хинин стал оружием против малярийного плазмодия.

Еще одно направление использования алкалоидов – приготовление стимулирующих напитков. Алкалоидные растения являются сырьем, из ко-торого изготавливают кофе, чай, какао, тонизирующие напитки (кока-кола, пепси-кола и др.).

Производство сигарет, папирос, сигар основано на использовании сы-рья, содержащего алкалоид никотин. Годовое производство листьев табака превышает 5 000 000 т.

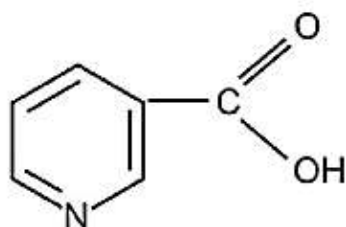
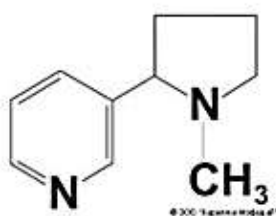
В сельском хозяйстве такие алкалоиды как никотин, анабазин и др. ис-пользуют для борьбы с вредителями различных культур.

Алкалоиды имеют ряд отрицательных свойств.

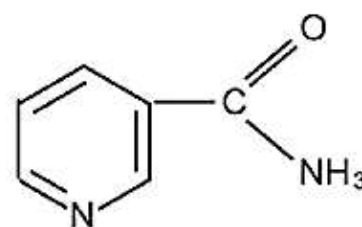
Многие алкалоиды – сильные яды, способные вызывать отравления с летальным исходом. При применении некоторых алкалоидов развивается пристрастие, лекарственная зависимость (наркомания). Впервые это было обнаружено при использовании морфина, а потом и на других алкалоидах (кодеин и др.).

Спектр биологического действия алкалоидов связан с их структурой. Незначительные изменения в химическом строении приводят к резкому раз-личию физиологических свойств.

Например, алкалоид табака (*Nicotiana tabacum*) никотин является ядо-витым веществом, сульфат никотина используется в сельском хозяйстве как инсектицид, никотиновая кислота широко распространена в природе и спо-собствует росту растений, а амид никотиновой кислоты является незаме-нимым веществом для человека, отсутствие его в пище приводит к пеллагре.



Никотиновая кислота



Никотинамид

Почти все алкалоиды образуются из аминокислот, и лишь немногие - другим образом. Если алкалоиды образуются не из аминокислот, их называют **псевдоалкалоидами**.

Азотсодержащие соединения (метиламин, триметиламин и другие простые амины), а также аминокислоты и продукты их превращений, хотя и обладают основными свойствами, к алкалоидам не относят.

Протеиногенные амины (тирамин др.) и бетаины (стахидрин, тригонеллин и др.) рассматриваются как переходные соединения. Из классификаций алкалоидов, для фармакогнозии по-видимому, наиболее приемлема та, которая предложена акад. А.П. Ореховым. В основе ее лежит положение N в молекуле и структура гетероцикла. Большинство алкалоидов - гетероциклические соединения (с N в цикле) - это **истинные алкалоиды**, или **эуалкалоиды**.

Но небольшое число алкалоидов содержат N в боковой цепи или даже вовсе являются ациклическими соединениями. Это - **протоалкалоиды**.

Тема 6 Протоалкалоиды

- 1 Общая характеристика и классификация протоалкалоидов.
- 2 Свойства протоалкалоидов

1 Общая характеристика и классификация протоалкалоидов.

Протоалкалоиды - низкомолекулярные относительно простые азотсодержащие соединения, имеющие, как правило, генетическую связь с аминокислотами. Они встречаются довольно часто в растениях разных семейств, но обычно не накапливаются в них.

Протоалкалоиды представляют собой сравнительно немногочисленную группу растительных оснований, но ее представители достаточно известны благодаря своим практически полезным свойствам. Наиболее широко известным является эфедрин, который применяется при лечении аллергических заболеваний (бронхиальная астма, вазомоторный насморк, крапивница и др.); колхамин используется при лечении некоторых видов раковых заболеваний; колхицин – хороший супрессант.

Инсектицидной активностью обладает алкалоид красного мухомор – мускарин. Кукоамин А обнаружил гипотензивную активность и сильное селективное ингибирование трипанотионредуктазы.

Основным структурным признаком этой группы алкалоидов является экзоциклическая аминная функция. Даже при наличии циклических фрагментов в молекулах таких алкалоидов, атом азота остается ациклическим.

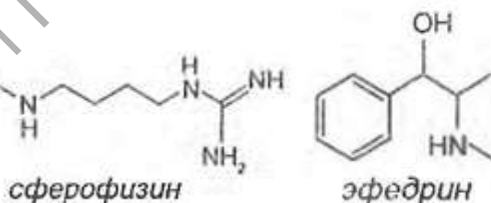
Протоалкалоиды делят на три группы:

1. Алифатические, включающие около 40 представителей и обнаруженные в 15 семействах. Пример – сферофизин из сферофизы солонцовой.
2. Фенилалкиламины, из которых самая большая группа – фенилэтиламиновые протоалкалоиды. Они имеют более 100 представителей и найдены в 37 семействах, например, эфедрин из эфедры хвощевой и капсаицин из перца однолетнего.
3. Колхициновые алкалоиды (колхамин и колхицин из безвременника великолепного). Довольно специфичная группа, включающая до 30 представителей. Пока обнаружены только в семействе лилейных и ирисовых

2 Свойства протоалкалоидов.

Алифатические протоалкалоиды

Сферофизин – алкалоид, выделенный из растения сферофиза солончаковая, семейства бобовые, произрастающего в Средней Азии, Сибири, на Алтае. Белый кристаллический порошок без запаха, горьковатого вкуса. Легко растворим в воде (1:2), спирте (1:3,5), растворах едких и углекислых щелочей. Обладает ганглиоблокирующей активностью, стимулирующим влиянием на мускулатуру матки. Применяют в акушерско-гинекологической практике при слабой родовой деятельности, кровотечениях в послеродовом периоде и атониях матки как средство, ускоряющее обратное развитие матки и способствующее прекращению кровотечений.



Эфедрин – психоактивный ядовитый алкалоид, содержащийся (наряду с псевдоэфедрином и N-метилэфедрином) в различных видах эфедры, в том числе в эфедре хвощевой (лат. *Ephedra equisetina*), растущих в горных районах Средней Азии и Западной Сибири, и лат. *Ephedra monosperma*, растущей в Забайкалье.

Эфедрин в своей естественной форме использовался в традиционной китайской медицине со времён империи Хань (206 г. до н. э. – 220 г. н. э.) в качестве противоастматического лекарственного средства и психостимулятора. Впервые эфедрин был выделен из хвойника двухколоскового в 1885 году японским химиком и фармакологом Нагаи Нагаёси, но только в 1929 году он его синтезировал. Промышленное производство эфедрина в Китае началось в 1920-е годы, когда Мерк и Ко начали продавать лекарство, известное как эфетонин.

Эфедрин в качестве средства системного действия и назального сосудосуживающего является устаревшим препаратом, во многих странах при-

знан малоэффективным и небезопасным, так как потенциально способен вызывать лекарственную зависимость, а также провоцировать заболевания сердечно-сосудистой системы.

На сегодняшний день применяется в качестве более длительно действующего заменителя адреналина, при анемизации и в составе анестезирующих препаратов местного действия.

По фармакологическому действию – симпатомиметик, стимулирует альфа- и бета-адренорецепторы. Действуя на варикозные утолщения эфферентных адренергических волокон, способствует выделению норадреналина в синаптическую щель. Кроме того, оказывает слабое стимулирующее влияние непосредственно на адренорецепторы. Вызывает вазоконстрикторное, бронходилатирующее и психостимулирующее действие. Повышает общее периферическое сосудистое сопротивление и системное артериальное давление, увеличивает минутный объем кровообращения, частоту сердечных сокращений и силу сердечных сокращений, повышает тонус скелетных мышц, концентрацию глюкозы в крови. Тормозит перистальтику кишечника, расширяет зрачок (не влияя на аккомодацию и внутриглазное давление). Стимулирует ЦНС, по психостимулирующему действию близок к амфетамину.

В большинстве стран вещество относится к группе наркотических средств и допингу, поэтому строго запрещено для приема спортсменами. Реализация и применение препаратов с содержанием активного вещества свыше 10% категорически запрещено на законодательном уровне.

Применение эфедрина в спорте обусловлено его воздействием на организм. Алкалоид усиливает силу и выносливость, повышает способность к физическим нагрузкам и помогает достичь поставленной цели. Активное вещество усиливает спортивные показатели.

Медикаменты, содержащие эфедрин, способствуют жиросжиганию и повышению энергетического потенциала. Благодаря данному свойству вещество активно применяется спортсменами в процессе сушки тела. Оно позволяет быстро сжечь подкожный жир, сделав мышцы более плотными, сухими и рельефными.

Эфедрин активизирует метаболизм и ускоряет выработку белка в мышцах. Он увеличивает выносливость и снижает утомляемость. Это позволяет сделать тренировку более интенсивной, продолжительной и результативной.

Несмотря на полезные свойства, алкалоид имеет ряд противопоказаний, способен вызвать опасные побочные действия и внесен в список запрещенных допинг-добавок.

Дополнительно алкалоид оказывает гипотензивное и антигистаминное действие. Это позволяет снизить проявление аллергической реакции: ринит, кашель и кожные высыпания.

Препарат, стимулируя нервную систему, улучшает настроение, повышает бодрость и помогает бороться с депрессией. Он активизирует умственную и физическую активность.

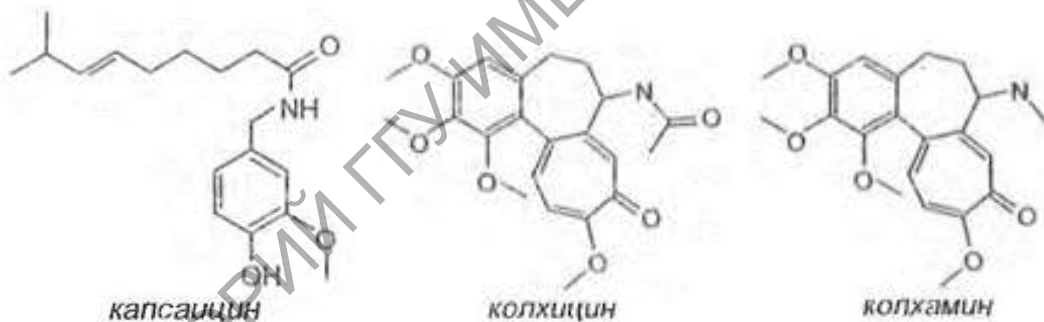
В Конвенции ООН о борьбе против незаконного оборота наркотических средств эфедрин входит в таблицу I – вещества, непосредственно используемые при изготовлении наркотиков.

Капсаицин – алкалоид, содержащийся в различных видах стручкового перца *Capsicum* (например, в плодах перца овощного его содержится около 0,03 %). Чистый капсаицин представляет собой бесцветное кристаллическое вещество со жгучим вкусом. Алкалоид практически нерастворим в водных растворах щелочей, но легко растворяется в органических растворителях, этиловом спирте и жирах. Обладает химической стойкостью.

Капсаицин принадлежит к фармакологической группе «Раздражающие средства природного происхождения». Он раздражает верхние дыхательные пути, кожу и слизистые оболочки. Переносимая концентрация 0,004 мг/л при экспозиции 2 мин. Является компонентом спиртовой настойки и медицинского пластыря, используемых как отвлекающее и обезболивающее средство, а также мази от обморожения.

Колхицин – алкалоид трополонового ряда, основной представитель семейства колхициновых алкалоидов (гомоморфинов).

Наиболее известный источник колхицина – безвременник осенний (*Colchicum autumnale* L.). Биосинтез колхицина в растениях идёт, подобно морфинановым алкалоидам, из фенилаланина и тирозина через гомоморфинандиены.



Популярный мутаген. Является сильным антимитотиком, связывающимся с белком тубулином, образующим микротрубочки, и, вследствие этого, блокирующим деление клеток на стадии метафазы. Применяется (наравне с колхамин – деацетилированным производным колхицина) для получения полиплоидных форм растений и кариотипирования.

После обработки колхицином образуются преимущественно миксоплоидные растения. Реже возникают переклинальные и секториальные химеры. Однако в процессе онтогенеза миксоплоидных растений мозаика химерности меняется, и в результате чаще всего обнаруживаются периклинальные химеры. В дальнейшем может происходить «расхимеривание». С 1970-х годов используется в селекции фаленопсисов и других орхидных.

Колхицин используют для лечения подагры (для уменьшения боли) и профилактики амилоидоза при семейной средиземноморской лихорадке.

К колхициновым алкалоидам относятся около 30 соединений, имеющих общую структуру и отличающихся заместителями в кольце А (гидроксильные, метокси- и метилendioксигруппы), кольце С (гидроксильные, ме-

токсигруппы), заместителями аминогруппы кольца В (без заместителей, метильная, ацетильная, формильная и иные группы).

Колхициновые алкалоиды находят в растениях семейства лилейных, в частности, в растениях родов безвременник (лат. *Colchicum*), мерендера (лат. *Merendera lamont*), глорियोла (лат. *Gloriosa*). В природе они образуются в основном из тирозина и фенилаланина через гомоморфинандиеновые основания. Их наличие обусловило использование безвременников как лекарственных растений с древнейших времён.

Колхицин и его салицилат используются для купирования приступов подагры и суставного ревматизма. Колхициновые алкалоиды являются митотическими ядами, что позволило использовать их как полиплоидирующие вещества в биологии (колхиплоидия). Колхамин применяется в медицине как противоопухолевое средство.

Мескалин – психоделик, энтеоген из группы фенилэтиламинов. (*Lophophora williamsii*) и Эхинопсис (*Echinopsis pachanoi*, *Echinopsis peruviana*); синтезируется искусственным путём из галловой кислоты, также может быть синтезирован из ванилина. В большинстве стран производство и распространение мескалина запрещено законом (в том числе в России).

О галлюциногенных свойствах некоторых кактусов издавна знали индейцы различных племён и употребляли эти растения во время религиозных церемоний.

Мескалин в Мексике и на территориях, которые сейчас являются Соединёнными Штатами Америки, активно использовался на протяжении веков. Шаманы коренных американцев применяли это вещество, чтобы проводить специальные лечебные ритуалы. Конечно же, сегодня всем ясно, что мескалин нельзя назвать лечебным средством. Но благодаря своим галлюциногенным свойствам, он мог снимать боль и давать людям ощущения, которые их отвлекали. Стоит отметить, что шаманы никогда не использовали мескалин для развлечения. Соответственно индейцев ни в коем случае нельзя называть наркоманами. У них все было под строгим контролем. Шаманы знали о свойствах мескалина, понимали, где он содержится, добывали его в нужных количествах и применяли лишь по мере необходимости.

Наверное, именно поэтому даже сегодня индейцы могут использовать галлюциногенное средство для своих ритуалов и это не карается законом.

Сан-Педро – это кактус, который растёт в Южной Америке. Там же можно найти и другой вид растения, содержащий мескалин – Перуанский факел. А на юго-западе Мексики и США есть ещё кактус-пейот. Из него тоже добывают мескалин. Стоит сразу же отметить, что хранение и перевозка этого вещества карается законом. Но это не мешает местным наркоторговцам находить способы добывать мескалин и транспортировать его не только в разные штаты, но в разные страны.

Галлюциногенные кактусы имеют так называемые пуговицы – то есть образования-выступы, которые есть на верхних частях растения. Эти выступы обрезают, чтобы потом их разжевывать или заваривать из них чай.

Стоит отметить, что помимо кактуса Сан Педро такой эффект галлюцинаций может дать и синтетически полученное вещество. Его добывают из галловой кислоты, которая есть в чае и дубовой коре. Также мескалин можно получить и из ванилина. Его выпускают в виде таблеток и капсул. Такие синтетические препараты могут негативно влиять на организм. Точнее, на человека негативно влияют любые виды наркотиков, но если они еще и являются синтетикой, то намного быстрее наносят вред органам.

Впервые мескалин был получен из кактуса пейот (*Lophophora williamsii*) 23 ноября 1897 немецким химиком Артуром Хеффером[1] (кроме пейота, мескалин содержится также в кактусах Сан-Педро *Echinopsis pachanoi*, которые более популярны, нежели пейот, так как вырастают быстрее последнего). Позднее, в 1919 году, Эрнст Шпет впервые синтезировал мескалин химическим путем.

В 1927 году в Германии был опубликован первый научный труд, посвященный эффектам мескалина «Der Meskalinrausch».

В мае 1953 года Олдос Хаксли впервые пробует мескалин в дозировке 400 мг и в 1954 году публикует эссе «Двери восприятия», описывающее его эксперимент.

Средняя дозировка для перорального применения у мескалина гидрохлорида составляет 300 мг. Эффект начинает проявляться через 45-60 минут после употребления. Пик активности длится около 4 часов, после чего происходит спад продолжительностью также 4 часа. Сульфат мескалина немного менее активен при той же дозе.

Психотропные эффекты: галлюцинации с открытыми глазами, галлюцинации с закрытыми глазами, изменение мыслительного процесса, эйфория, мистические переживания, иррациональность мыслительного процесса, ускоренность мыслительного процесса, заторможенность действий.

Мескалин – это достаточно мощный галлюциноген, который очень похож на ЛСД. Но таблетки – полностью синтетические, а значит и наносит больше вреда. А виды кактуса содержащих мескалин – природные источники, которые хотя бы не содержат химических примесей. Поэтому эффект от мескалина немного ниже и стоит он дороже.

Самая главная особенность этого вещества в том, что оно имеет действительно долгосрочный эффект. Например, те же грибы действуют два-три часа. И «приход» от них начинается через несколько минут после приема. А вот эти мощные галлюциногены начинают свое воздействие через один, а то и два часа. Кстати, если человек не знает про такую особенность, не почувствовав эффекта сразу же, он может принять вторую дозу. Это приведет к неприятным последствиям. В частности, психическим нарушениям.

Мескалин действует на организм около двенадцати часов. Из них где-то четыре-пять часов вещество находится на своем пике активности, а потом начинается медленное затухание, которое продолжается столько же времени.

Какой эффект от мескалина и что происходит с организмом? Этот вопрос всегда интересует тех, кто хочет попробовать и тех, кто столкнулся с человеком, употребляющим мескалин. Сразу же стоит отметить, что это ве-

щество, как и любой другой галлюциноген, нарушает восприятие происходящего. А это может привести к серьезным последствиям. Люди с чувствительной психикой могут видеть страшные вещи или настолько сильно «выпасть из реальности», что потом не смогут вернуться без помощи специалистов.

Побочные эффекты: головокружение, диспептические расстройства (рвота), тахикардия, расширение зрачков, чувство жары или холода, головная боль, чувство тревоги, сухость слизистых оболочек, сухость в ротовой полости, спутанность сознания.

Итак, что же чувствует человек, употребив кактусы с мескалином.

Очень усиливается сенсорное и перцептивное восприятие реальности. То есть, человек начинает видеть мир очень ярким, а даже тихие звуки кажутся ему невероятно громкими. Также все перцептивные переживания смешиваются. Происходит неврологический феномен, когда людям кажется, что они могут услышать цвет или рассмотреть звук.

Искажается восприятие времени. Появляется чувство, что все вокруг движется очень медленно, а значит и самому нужно замедлиться. Если человек идет по улице так, словно пытается ступить по тонкому льду, есть большой шанс на то, что он под мескалином. Кроме того, он перестает адекватно воспринимать пространство и объекты. Например, ему может казаться, что у какого-то предмета нет границ. Еще одно проявление влияния мескалина — это ощущение того, что тело стало чересчур легким или тяжелым.

Кактусы мескалина также вызывают изменения мышления. Это выражается через отсутствие сосредоточенности. То есть, человек пытается смотреть на какой-то предмет или сформулировать какую-то мысль, но у него не выходит, как он не старается. Вместо этого сознание постоянно «прыгает» от одного объекта к другому, из-за чего в голове образовывается «каша».

Кактус Сан Педро со своим мескалином (как, впрочем, и другие виды растения), может вызывать очень сильные перепады настроения. Причем часто они бывают критическими. То есть, в какой-то момент человек начинает ощущать чувство бесконечного счастья и радости, а уже через минуту он падает в пучины отчаяния и начинает считать, что в жизни нет ничего хорошего, а значит и жить не стоит. Также под мескалином люди могут вести себя очень обеспокоенно, паниковать из-за мелочей или совершенно обычных вещей, которые им просто не могут нанести вреда. Из-за этого поведение часто становится неадекватным и человек действительно может нанести вред себе и окружающим, но не из-за реальной проблемы, а из-за паники, вызванной мескалином.

Неадекватность суждений и невозможность решать проблемы. Употребляя вещество, многие говорят о том, что чувствуют, как расширяется их сознание. Но когда человека под мескалином просят рассказать о его мыслях и ощущениях, очень часто он ведет себя странно, не может собраться и сформулировать даже элементарные тезисы. Причем в глубине сознания он понимает, что действительно сказать, однако выразить этого не может.

Мескалин действует не только на психику, но и на физическое состояние человека. Именно поэтому наркотик категорически не рекомендуют людям, у которых имеются проблемы с давлением, сердечно-сосудистой системой. После приема мескалина может наблюдаться резкое повышение давления, ускорение пульса. Также поднимается температура, человек часто дышит, у него кружится голова, начинается озноб. Если человек употребил слишком большую дозу, скорее всего, у него начнется рвота и тошнота.

Мескалин находится в списке I наркотических средств, запрещённых в Российской Федерации. В США мескалин, как и пейот, находится в Списке I. Это значит, что продажа, покупка, хранение, владение и распространение этих веществ без лицензии Управления по борьбе с наркотиками запрещены. Другие кактусы, содержащие мескалин, такие как Сан Педро, тоже контролируются.

Мускарин – алкалоид, содержащийся в грибах. Название происходит от латинского названия красного мухомора. В мухоморах содержание мускарина не превышает 0,02 %. Мускарин также получают синтетическим путём.

Мускарин избирательно возбуждает холинергические рецепторы, расположенные на постсинаптических мембранах клеток различных органов у окончаний постганглионарных холинергических нервов. Именно поэтому такие рецепторы называют М-рецепторами, или мускариновыми рецепторами. Вещества, которые возбуждают такие рецепторы, называют мускариноподобными, или М-холиномиметиками, а вещества, подавляющие их активность – М-холиноблокаторами. В отличие от ацеклидина и пилокарпина, мускарин не проникает через гематоэнцефалический барьер, поскольку является четвертичным амином.

Мускарин не нашёл применения в медицинской практике. Он используется только в экспериментальных исследованиях при изучении строения и функции холинорецепторов и холинергических процессов.

Токсикологическое значение мускарина заключается прежде всего в отравлении грибами, которые его содержат. Для таких отравлений характерен так называемый мускариновый синдром: гиперсаливация (повышенное слюноотделение), потоотделение, рвота, понос, брадикардия, лёгкое сужение зрачков, нарушение зрения, усиление перистальтики. В тяжёлых случаях наступают коллапс, нарушения дыхания, отёк лёгких. Симптомы отравления возникают через 0,5-2 ч после приёма мускарина или мускариносодержащих грибов. Смертельная доза мускарина для человека – 0,525 грамма, которые содержатся в 4 килограммах свежих красных мухоморов. Регулярный приём может вызывать наркотическую зависимость.

Механизм действия мускарина почти тот же самый, как у ряда боевых отравляющих веществ, среди которых можно назвать Зарин: эти вещества являются ингибиторами холинэстеразы. Картина отравления также похожа. Главными антидотами являются вещества из одной группы (холиноблокаторы), что лишний раз подчёркивает тождество.

Тема 7. Истинные алкалоиды.

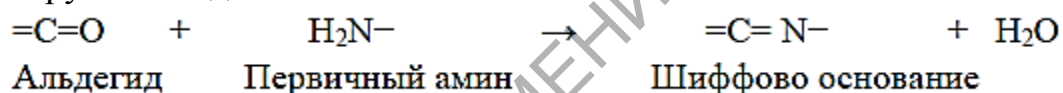
1 Биосинтез алкалоидов.

2. Классификация алкалоидов, характерные представители, свойства.

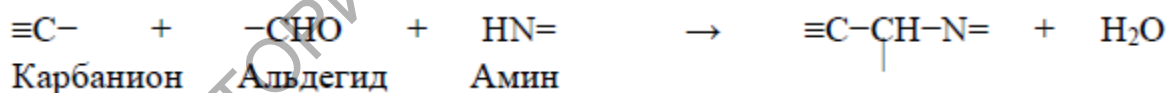
1 Биосинтез алкалоидов

Биосинтез алкалоидов требует формирования N-гетероциклической системы путем включения алифатически связанного азота аминокислот. На первоначальных этапах осуществляются реакции, характерные для обмена аминокислот – декарбоксилирование (ферменты – декарбоксилазы), окислительное дезаминирование (аминооксидазы) и переаминирование (аминотрансферазы). В результате образуются основные реагенты в биосинтезе алкалоидов – амины (при декарбоксилировании аминокислот) и альдегиды (при окислительном дезаминировании аминокислот).

Процессы циклизации и конденсации, в результате которых образуются C–N–, C=N–, C–C–связи базовой структуры гетероциклов, осуществляются с помощью трех групп реакций, первая из которых связана с образованием шиффовых оснований, причем соединения с карбонильными и аминогруппами реагируют иногда спонтанно:



Вторая реакция – альдольной конденсации, названа реакцией Манниха, которая, как правило, приводит к образованию шиффа основания и циклизации молекулы. Она включает вещество, способное образовывать карбанион за счет отщепления кислотного водорода, карбонильное соединение (обычно альдегид) и амин (первичный или вторичный):



В третьей группе реакций происходит окислительное сочетание фенольных колец.

Далее следует модификация базовой структуры – при этом у алкалоидов особую роль играет метилирование в отличие от терпеноидов, для которых более характерно гликозилирование с образованием гликозидов.

Метилирование алкалоидов часто происходит на стадии ациклического соединения, направляя циклизацию: донором метальной группировки, как правило, выступает метионин. Первым в молекуле метилируется кислород с образованием метоксильной группы, затем азот. Метильные группы переносятся с помощью ферментов метилтрансфераз. Кроме стабилизации молекулы алкалоидов, метилирование уменьшает их токсичность, увеличивает разнообразие модифицированных форм.

2 Классификация алкалоидов, характерные представители, свойства.

Классификация алкалоидов была впервые предложена А.П. Ореховым, основоположником отечественной школы химии алкалоидов. В ее основу положено строение азотсодержащих гетероциклов, было выделено 16 основных групп, в том числе растительных аминов (алкалоидов без гетероциклов). Эта удобная классификация широко используется до сих пор, но она не отражает биогенетических связей. Обширная работа с применением меченых предполагаемых предшественников позволило в 1950-ые гг. американским ученым Т. Робинсону и Р. Хегнауэру установить, что алкалоиды происходят из 7-8 аминокислот. Алкалоиды были разделены на три группы: истинные, прото- и псевдоалкалоиды. Истинные алкалоиды – N-гетероциклические соединения, тогда как протоалкалоиды имеют азот только боковой цепи. Псевдоалкалоиды имеют углеродный скелет изопреноидного происхождения с включением азота на последних этапах биосинтеза, причем необязательно с участием аминокислот.

Алкалоиды классифицируют также по филогенетическому признаку, объединяя в одну группу все соединения, выделенные из растений одного рода (алкалоиды хинного дерева, безвременника, красавки, опиаты и др.).

Далее приводится характеристика представителей некоторых групп истинных алкалоидов.

Производные пирролидина. Пирролидин (азолидин, тетрагидропиррол, тетраметиленимин) – циклический амин с четырьмя атомами углерода в цикле.

К производным пирролидина относят простой по своей структуре стахидрин – метилированное производное пролина, пролинбетаин. Бетаинами называют соединения, у которых азот в результате метилирования становится четвертичным. В литературе приводится путь биосинтеза стэхидрина непосредственно через метилирование пролина. Однако в других источниках образование этого N-гетероцикла рассматривают через декарбоксилирование аминокислоты орнитина с образованием симметричного промежуточного продукта диамина путресцина с последующей циклизацией.

Являясь основным алкалоидом люцерны посевной *Medicago sativa* (Бобовые), обладающим выраженным аллелопатическим эффектом, стэхидрин способствует угнетению конкурентов – растений других видов. Постепенно накапливаясь в ризосфере, он начинает негативно влиять и на собственные растения, что приводит к изреживанию многолетних посевов самой люцерны. Содержится также в траве пустырника сердечного.

Производные пиперидина. Пиперидин – шестичленный насыщенный цикл с одним атомом азота. Впервые пиперидин был выделен из черного перца. Токсичен как при попадании на кожу, так и при вдыхании паров.

Пиперин – алкалоид, находящийся в различных сортах перечных. Содержание пиперина колеблется от 1-2 % в длинном перце до 5-9 % в черном и белом перце.

Чёрный перец получают из незрелых плодов растения *Piper nigrum* – многолетнего вьющегося растения, вид рода Перец (*Piper*) семейства Перечные (*Piperaceae*). Для того чтобы их очистить и подготовить к сушке, плоды быстро обваривают в горячей воде. Тепловая обработка разрушает клеточную стенку перца, ускоряя работу энзимов, отвечающих за «побурение». Плоды затем сушат на солнце или при помощи машин в течение нескольких дней. За это время оболочка плода усушивается и темнеет вокруг семени, образуя тонкий сморщенный слой чёрного цвета. Высушенные таким образом плоды называются горошинами чёрного перца.

Белый перец представляет собой зрелые семена чёрного перца, лишённые околоплодника. Обычно для получения белого перца зрелые плоды замачивают в воде приблизительно на одну неделю. В результате замачивания оболочка плода разлагается и размягчается, после чего её отделяют и сушат оставшиеся семена. Существуют и альтернативные способы отделения оболочки от семян перца, в том числе механические, химические и биологические.

Белый перец имеет светло-серый цвет, обладает более тонким вкусом, благородным и сильным ароматом. Эта пряность имеет почти такое же применение, как и чёрный перец.

Зелёный перец, как и чёрный, получают из незрелых плодов. Засушенные зелёные горошины обрабатывают таким образом, чтобы сохранить зелёный цвет, например, с применением диоксида серы или путём лиофилизации (сухой сушки).

Незрелые, высушенные на солнце и вполне зрелые, вымоченные в воде, высушенные на солнце и освобождённые от мясистого околоплодника плоды перца чёрного изредка используют в медицине как средство, способствующее пищеварению.

Кониин – сильный яд нервно-паралитического действия, основной алкалоид и ядовитое начало болиголова пятнистого (*Conium maculatum*). Впервые выделен в 1826 году французскими фармацевтами Пеллетье и Каванту. В связи с высокой токсичностью кониина он не применяется в медицине. Токсические свойства болиголова были известны еще в глубокой древности. Согласно литературным данным, в Древней Греции для исполнения смертных приговоров применялся настой цикуты – зонтичного растения, внешне очень похожего на болиголов, но содержащего в своем составе другие ядовитые вещества. Однако, дошедшее до нас подробное описание казни Сократа (469-399 г. до н. э.), оставленное Платоном, свидетельствует о том, что в качестве средства отравления применялся именно содержащий кониин болиголов, а не цикута.

В настоящее время встречаются случайные отравления растениями, содержащими кониин. Это имеет место при употреблении в пищу корня болиголова (вместо хрена) или его листьев (вместо петрушки). Отмечены случаи отравления плодами болиголова при ошибочном применении их вместо плодов аниса. Также имели место случаи отравления скота свежей травой, в которой находились растения, содержащие кониин.

Кониин быстро всасывается в кровь из пищеварительного тракта. После всасывания он вызывает паралич окончаний чувствительных и двигательных нервов, а также поражает центральную нервную систему, сначала возбуждая, а затем парализуя её. После приема кониина усиливается слюноотечение, может появиться тошнота, рвота, понос, головокружение, расстройство зрения. Весьма характерен т. н. «восходящий» паралич, сопровождающийся полной потерей чувствительности и подвижности охваченных им частей тела. Он начинается со ступней и далее распространяющийся вверх на туловище, пока не достигнет диафрагмы, вследствие паралича которой и наступает смерть от удушья.

Лобелин – алкалоид, содержащийся в растении лобелия вздутая *Lobelia inflata*, сем. колокольчиковых (Campanulaceae). Трава лобелии содержит более 15 алкалоидов, сумма которых достигает 0,6 процентов. Основным алкалоидом является лобелин. В медицинской практике применялся в качестве аналептика, как стимулятор дыхания, в качестве вспомогательных средств для отвыкания от курения. Таблетки, содержащие лобелин, выпускаются для этой цели под названием «Лобесил». Каждая такая таблетка содержит 0,002 г (2 мг) лобелина гидрохлорида.

Производные тропана. Тропан – третичный амин, тропановое ядро входит в состав молекул тропановых растительных алкалоидов содержащихся в растениях семейств пасленовых, вьюнковых и эритроксиловых. Основные тропановые алкалоиды являются сложными эфирами спиртов, исходно содержащих по-разному ориентированную - эндо- или экзо-гидроксогруппу присоединённую к 3-му атому углерода в молекуле и являются производными тропина или псевдотропина.

Атропин – антихолинергический (м-холиноблокатор), растительный алкалоид, содержащийся в различных растениях семейства пасленовых: например, в красавке (*Atropa belladonna*), белене (*Hyoscyamus niger*), разных видах дурмана (*Datura stramonium*) и др. Средняя летальная доза 400 мг/кг. Применяют атропин при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, пилороспазме, холецистите, желчнокаменной болезни, при спазмах кишечника и мочевых путей, бронхиальной астме, для уменьшения секреции слюнных, желудочных и бронхиальных желез, при брадикардии, развившейся в результате повышения тонуса блуждающего нерва. В глазной практике атропин применяют для расширения зрачка с диагностической целью (при исследовании глазного дна, определении истинной рефракции и др.), а также для терапевтических целей при острых воспалительных заболеваниях (ирите, иридоциклите, кератите и др.) и травмах глаза; вызываемое атропином расслабление мышц глаза способствует его функциональному покою и ускоряет ликвидацию патологического процесса. В связи с влиянием, оказываемым атропином на холинергические системы мозга, было предложено использовать его в психиатрической практике для лечения психозов (аффективных, параноидных, кататонических и других состояний). Так называемая атропинокоматозная терапия предусматривает применение больших доз атропина.

Гиосциамин – алкалоид, изомерный с атропином, М-холиноблокатор, встречается в семенах и соке белены, в семенах белладонны и дурмана, в корневище *Scopolia japonica* и *Scopolia carniolica*. Содержание его в семенах достигает 0,5 %. В медицине употребляется чистый, кристаллический и аморфный, представляющий собой бурый остаток, после выделения кристаллического гиосциаминина. Его физиологическое действие на глаза и сердце очень сходно с действием атропина, на нервную систему влияет угнетающе, почему нередко употребляется в разных препаратах, как успокаивающее боли и в психиатрии. Гиосциамин, как и прочие алкалоиды атропинового ряда, является неселективным блокатором м-холинорецепторов. Снижает секрецию желез желудка, слюнных желез, желез слизистой оболочки глотки, трахеи, бронхов, потовых желез. Уменьшает тонус и моторику гладкой мускулатуры желудочно-кишечного тракта, понижает тонус бронхов, желчевыводящих путей, мочевыводящих путей. Повышает частоту сокращений сердца и сердечный выброс. Вызывает расширение зрачков, повышение внутриглазного давления, паралич аккомодации.

Кокаин – алкалоид тропанового ряда, широко распространённый наркотик. Обладает местным анестезирующим действием и мощным стимулирующим воздействием на центральную нервную систему человека, вызывая чувство эйфории. Наряду с другими алкалоидами содержится в растениях рода *Эритроксилюм* (*Erythroxylum*), прежде всего в кокаиновых кустах (*Erythroxylum coca*), распространённых в тропической зоне Южной Америки, в которых выполняет функцию инсектицида, препятствующего поеданию листьев.

Изначально широко применялся в медицинских целях, но к началу XX века был почти полностью вытеснен из медицинской практики более совершенными препаратами. В настоящее время является вторым по значимости после опиатов «проблемным наркотиком» – наркотическим веществом, злоупотребление которым представляет собой значительную социально-экономическую проблему. В связи с географической близостью районов культивирования кокаинового куста и производства преимущественно употребляется в Северной и Южной Америке, на долю которых приходится 70 % мирового потребления кокаина; на долю Западной Европы приходится 22 %.

Кокаин и листья коки относятся к Списку I Единой конвенции о наркотических средствах ООН, подразумевающему самый жёсткий контроль. Регулярное употребление кокаина вызывает психологическую зависимость. При длительном употреблении кокаина появляются отрицательные клинические эффекты, включающие нарушения сна, памяти и внимания, утомляемость, потерю веса, аритмию, стенокардию, депрессию и склонность к суициду, навязчивые идеи и галлюцинации; возможны церебральный инсульт и инфаркт миокарда.

История употребления кокаина насчитывает более пяти тысяч лет. В качестве психостимулятора листья коки задолго до прибытия испанцев использовались южноамериканскими индейцами, коренными жителями север-

ных Анд, в медицинских и религиозных целях, а также как средство для снятия усталости, уменьшения чувства голода и жажд и для поднятия настроения.

В империи инков коку специально культивировали. Жевание листьев коки было недоступно для простолюдинов, а распространено только среди жрецов, знати и в ряде государственных структур: инки не использовали верховых животных, и все срочные сообщения доставлялись гонцами, которые для преодоления усталости и повышения выносливости брали с собой сушёные листья коки; воинам перед длинными походами выдавались порции листьев коки, что ускоряло передвижение и позволяло преодолевать значительные расстояния.

Только пришедшие в Перу испанцы-энкомендеро начали давать коку индейцам, работавшим на плантациях и в рудниках, иногда целиком оплачивая ею рабский труд местных жителей, и сгонять индейцев в места произрастания коки для её сбора и заготовки, то есть именно с испанским завоеванием, развернувшимся в 1524 году, и началось массовое употребление коки среди местного населения.

Католическая церковь попыталась запретить индейцам употребление коки. Лимским Собором 1567 года жевание коки было признано языческим обрядом. Однако эти запреты натолкнулись на протесты местного населения, да и самих испанских поселенцев, поскольку кока являлась одним из важнейших источников дохода учреждённого в 1542 году вице-королевства Перу и, соответственно, Испанской империи. Начиная с 1575 года, европейцы полностью взяли торговлю листьями коки под свой контроль. 82 % европейцев в Перу оказались так или иначе заняты в этой сфере.

В XVI веке коку завезли в Европу и начали использовать в медицинских целях, в частности для лечения переломов и гноящихся ран.

Алкалоид коки впервые был выделен в 1855 году германским химиком Фридрихом Гедке, который назвал полученный алкалоид эритроксилином. Полный синтез кокаина удалось провести в 1897 году Рихарду Вильштеттеру.

С 1879 года начались исследования возможностей применения кокаина в анестезии. Карл Коллер положил начало использованию кокаина в офтальмологии, Генрих Квинке применил кокаин как анестетик при лечении позвоночника.

В 1859 году итальянский доктор Паоло Мантегацца опубликовал отчёт от экспериментов с кокаином. Описав ощущения, которые наступали при жевании листьев, автор предположил, что растение может использоваться в «борьбе против налёта на языке и газов, а также для отбеливания зубов». В 1863 году под впечатлением от публикации П. Мантегаццы химик Анжело Мариани начал производство вина, получившего название «вина Мариани» — настойки на листьях коки, в которой алкоголь служил растворителем, способствуя выделению кокаина из листьев.

В 1876 году листья коки сделались своего рода спортивным допингом: вплоть до 1885 года британские мастера спортивной ходьбы на ходу жевали листья, добиваясь таким образом улучшения результатов.

В 1883 году Теодор Ашенбрандт рекомендовал кокаин к употреблению военнослужащим баварской армии.

В 1884 году Фрейд приступил к исследованиям психостимулирующих свойств кокаина, на собственном опыте проверяя его клинические эффекты. Он издал статью («Über Coca»), в которой пропагандировал кокаин как лекарство от депрессии, различных неврозов, сифилиса, алкоголизма, морфийной наркомании, сексуальных расстройств, и начал активно применять кокаин в своей психотерапевтической практике. Также в 1885 году американская фирма Parke-Davis начала продажу кокаина в разных формах, включая раствор для внутривенных инъекций, к которому прилагалась игла.

В 1885 году на рынок поступило изобретение Джона Пембертона – газированный напиток Кока-Кола, содержащий кокаин. В состав этого напитка входили листья коки и орехи кола, чем и было обусловлено название напитка. В 1906 году после принятия в США федерального закона «О чистоте пищи и лекарств», из напитка кокаин был полностью выведен; в качестве стимулирующего ингредиента был оставлен лишь кофеин.

По всему побережью Миссисипи работники использовали кокаин в качестве стимулирующего средства, причём белые работодатели повсеместно поощряли чернокожих к его использованию.

В 1912 году кокаин рассматривался в числе других наркотических веществ на Опиумной Конвенции. Выяснилось, что это смертельно опасное вещество: только в США к этому времени было зафиксировано 5 тысяч смертельных случаев, связанных с его употреблением. В 1914 году в США закон Харрисона о налогах на наркотические средства наложил серьёзные ограничения на распространение кокаина. Он был официально объявлен наркотиком, а в 1922 году поставлен вне закона.

В 1963 году кока и кокаин по решению ООН были внесены в список запрещённых веществ. Тем не менее, употребление наркотика в разных его модификациях лишь росло.

Расстройство, связанное с употреблением кокаина, острое и хроническое, оказывает множество эффектов на все системы организма. Острое расстройство, характеризуется разрушительными клиническими симптомами, в первую очередь сужением сосудов и повышением кровяного давления.

В настоящее время в медицине кокаин практически не используется; существуют единичные работы, посвящённые его использованию в хирургии глаза и офтальмологии, но описанные в них методики не получили широкого распространения в связи с проблемами приобретения медицинских препаратов кокаина и существованием не менее эффективных препаратов, не вызывающих наркотической зависимости.

Производные пиридина, пирролизидина и хинолизидина

Пиридин – шестичленный ароматический гетероцикл с одним атомом азота, бесцветная жидкость с резким неприятным запахом; смешивается с водой и органическими растворителями.

Никотин – алкалоид пиридинового ряда, содержащийся в растениях семейства паслёновых (Solanaceae), преимущественно в листьях и стеблях табака (концентрация в сухом от 0,3 до 5 % по массе), махорки (2-14 %), в меньших количествах – в томатах, картофеле, баклажанах, зелёном перце. Никотиновые алкалоиды (анабазин и др.) также присутствуют в листьях коки. Биосинтез никотина происходит в корнях, а накопление никотина – в листьях. Никотин является ядовитым для некоторых насекомых; вследствие этого никотин раньше широко использовался как инсектицид, а в настоящее время в том же качестве продолжают использоваться производные никотина — такие, как, например, имидаклоприд.

Наименование «никотин» происходит от латинского названия табака *Nicotiana tabacum*, которое, в свою очередь, придумано в честь Жана Нико – посла Франции при португальском дворе, который в 1560 году отправил немало табака королеве Екатерине Медичи, порекомендовав его как средство от мигрени.

Никотин был издавна известен в неочищенном виде как наружное средство для лечения болезней кожи. В 1843 году Луи Мельсеном была найдена эмпирическая формула никотина. Первый синтез оптически активного (S)-никотина был проведён в 1982 году.

Как только никотин попадает в организм, он быстро распространяется по крови и может преодолевать гематоэнцефалический барьер. В среднем достаточно 7 секунд после вдыхания табачного дыма, чтобы никотин достиг мозга. Период полувыведения никотина из организма составляет около двух часов. Никотин, вдыхаемый с табачным дымом при курении, составляет малую долю никотина, содержащегося в табачных листьях (большая часть вещества сгорает). Количество никотина, абсорбируемого организмом при курении, зависит от множества факторов, включая вид табака, от того, вдыхается ли весь дым и используется ли фильтр. В случае с жевательным и нюхательным табаком, которые помещаются в рот и жуются или вдыхаются через нос, количество никотина, попадающего в организм, гораздо больше, чем при курении табака.

Исторически никотин часто использовался в медицинских целях. В настоящее время также разрабатывается использование никотина для лечения различных заболеваний. Наиболее распространённым направлением является доставка никотина в организм альтернативными путями для лечения никотиновой зависимости. Исследуется возможность применения никотина и в других областях, например, в качестве болеутоляющего, средства от синдрома дефицита внимания, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, колита, герпеса, туберкулёза и шизофрении.

В начале XX века никотин был основным инсектицидом, применяемым для защиты растений. Для этих целей использовали никотин в виде чистого вещества, его сульфат, табачную пыль, причём наибольшей активностью об-

ладало чистое вещество, которое также токсично для млекопитающих. Причина инсектицидного действия никотина та же, что и причина токсичности: при высоких дозах он блокирует никотиновые ацетилхолиновые рецепторы. Позже на смену никотину пришли его синтетические аналоги: имидаклоприд, ацетамиприд и другие.

Никотин чрезвычайно токсичен для холоднокровных животных. Действует как нейротоксин, вызывая паралич нервной системы (остановка дыхания, прекращение сердечной деятельности, смерть). Токсичен в высоких дозах и для теплокровных животных.

Многократное употребление никотина вызывает физическую и психическую зависимости.

Анабазин содержится в ежовнике безлистном (*Anabasis aphylla*), а также в табаке. По фармакологическим свойствам близок к никотину, цитизину и лобелину. Гидрохлорид анабазина – лекарственное средство, снижает влечение к курению. Сульфат анабазина применяется как инсектицид для опрыскивания плодовых и овощных культур. Анабазин – сырье для получения никотиновой кислоты. Анабазин присутствует в следовых количествах в табачном дыме и может быть использован как индикатор того, что человек был подвержен воздействию табачного дыма.

Пирролизидин – соединение, представляющее собой систему из двух пирролидиновых колец, имеющих общий атом азота. Представляет собой бесцветную маслянистую жидкость с аминным запахом.

Алкалоид платифиллин содержится в крестовнике широколистном. Крестовник широколистный (золотая трава) – *Senecio platyphyllus*. Семейство сложноцветные – *Compositae*. Листья крестовника широколистного содержат высокоактивные алкалоиды – платифиллин, сарацин, сенецифиллин и сенеционин, которые относятся к производным гелиотрида. Эти действующие вещества формируют основу химического состава крестовника широколистного (золотой травы). Наиболее известным фитопрепаратом, вырабатываемым из листьев крестовника, является платифиллин.

Алкалоиды, относящиеся к производным гелиотрида, обладают атропиноподобными свойствами и являются парасимпатиколитическими химическими веществами.

Платифиллин по своим периферическим м-холинолитическим свойствам уступает аналогичному действию атропина, однако отличается специфически выраженным ганглиоблокирующим влиянием и оказывает спазмолитический (миотропный) эффект. Платифиллин применяют в качестве спазмолитического и холинолитического средства при лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, кишечной колике, спастических колитах, холециститах, искинезии желчевыводящих путей, при печеночной и почечной коликах и др. Назначают его также при ранних стадиях гипертонической болезни, стенокардии, при спазмах сосудов головного мозга и для лечения бронхиальной астмы.

В глазной практике платифиллин применяют для расширения зрачка. Действие препарата на зрачок кратковременно и продолжается примерно 5–6

ч, поэтому платифиллин довольно редко используется при лечении глазных болезней.

При передозировке платифиллина появляются сухость во рту, расширение зрачков, нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы.

Хинолизидин – гетероциклическое соединение.

Люпинин – алкалоид, содержащийся в некоторых видах люпина. Наиболее богаты им семена. Легко растворим в воде, спирте, хлороформе, эфире. Хуже растворим в петролейном эфире, из которого кристаллизуется в виде крупных бесцветных призм. Сильное основание, вытесняет аммиак из его солей. Содержатся во всех частях растений люпина, но более всего в семенах, менее в зеленой массе. Алкалоиды термостабильны и хорошо растворимы в воде. Токсическая доза для крупного рогатого скота 20 мг/кг, смертельная 30 мг/кг. При остром отравлении алкалоид люпинин действует на центральную и вегетативную нервную систему, вызывая возбуждение с последующим угнетением, поражением центра дыхания и блокадой Н-холинорецепторов соматических нервов (курареподобное действие); обладает гепатотоксическим и фотосенсибилизирующим действием.

Хинин – основной алкалоид коры хинного дерева с сильным горьким вкусом, обладающий жаропонижающим и обезболивающим свойствами, а также выраженным действием против малярийных плазмодиев. Это позволило в течение длительного времени использовать хинин как основное средство лечения малярии. Сегодня с этой целью применяют более эффективные синтетические препараты, но по ряду причин хинин находит своё применение и в настоящее время.

Производные изхинолина, индола и пурина

Изохинолин – гетероциклическое соединение.

Морфин – главный алкалоид опиума, содержание которого в опиуме составляет в среднем 10 %, что значительно больше, чем других алкалоидов. Содержится в маке снотворном (*Papaver somniferum*) и в других видах мака. Морфин был первым алкалоидом, полученным в очищенном виде. Однако распространение морфин получил после изобретения инъекционной иглы в 1853 году. Он использовался (и продолжает использоваться под строгим контролем) для облегчения боли. Кроме того, его применяли в качестве лечения опиумной и алкогольной зависимости. Широкое применение морфина во время Американской гражданской войны, согласно предположениям, привело к возникновению «армейской болезни» (морфиновой зависимости) у более чем 400 тысяч человек. Но по возвращении домой более 90% прекратили приём морфина.

В 1874 году из морфина синтезировали диацетилморфин, более известный как героин. Морфиновая наркомания (морфинизм) появилась вскоре после того, как был изобретён метод применения морфия путём подкожного впрыскивания. В начале XX века многие врачи становились морфинистами. Во врачебной среде существовало мнение, что врач, понимающий пагубность морфинизма, способен при необходимости самостоятельно применить мор-

фий для себя, избегая пагубного пристрастия благодаря информированности. Практика показала, что мнение это было ошибочным.

Кодеин – 3-метилморфин, алкалоид опиума, используется как противокашлевое лекарственное средство центрального действия, обычно в сочетании с другими веществами, например, с терпингидратом. Обладает слабым наркотическим (опиатным) и болеутоляющим эффектом, в связи с чем используется также как компонент болеутоляющих лекарств (например, пенталгина). По характеру действия кодеин близок к морфину, но болеутоляющие свойства выражены слабее; сильно выражена способность уменьшать возбудимость кашлевого центра. В меньшей степени, чем морфин, угнетает дыхание. Меньше тормозит также деятельность желудочно-кишечного тракта. На некоторых людей оказывает наоборот, возбуждающее действие, с сильно выраженной бессонницей. При применении высоких доз подобно другим опиатам может вызывать эйфорию. Нередко при приёме большого количества таблеток некоторых кодеиносодержащих лекарств возможно серьёзное отравление. При регулярном применении кодеина наблюдается явление привыкания (подобное привыканию к героину и другим препаратам группы опиоидов).

Тебаин (параморфин) является опиумным алкалоидом. Содержание тебаина в опиуме: до 0,2 процента. Название возникло предположительно от Фиванского легиона. В терапевтических целях тебаин не используется из-за высокой токсичности. В ряду опиумных алкалоидов тебаин по физиологическому действию наиболее удален от морфина и является судорожным ядом, а не наркотиком.

Гидрастин – алкалоид, содержащийся в корнях травянистого растения желтокорень канадский *Hydrastis canadensis* L., и других растений семейства лютиковых (*Ranunculaceae*), растущих в Северной Америке. Выделен в 1851 году американским химиком Альфредом Дюраном. Гидролиз гидрастина приводит к образованию гидрастинина, который был запатентован Bayer как кровоостанавливающий препарат в 1910-х годах. Индейцы Северной Америки использовали корни гидрастиса для лечения самых разнообразных болезней – рака, лихорадки, пневмонии, туберкулёза, диспепсии, коклюша, болезней сердца, печени, уха, глаза. Корень растения обладает наркотическим действием, его настойка использовалась как тонизирующее средство. В Европе растение и гидрастин стали применяться только в конце 19 века. Особенно часто применялся в гинекологии, при маточных кровотечениях, при болезненных и неправильных менструациях и при болезнях яичников.

Ликорин (нарциссин, галантин) – алкалоид, содержащийся в ряде растений семейства Амариллисовых, особенно в растениях родов кливия, кринум, галантус, унгерния. Ликорин усиливает секрецию бронхиальных желез, обладает анальгезирующими, жаропонижающими, противовоспалительными свойствами. В малых дозах оказывает отхаркивающее действие, в больших – вызывает рвоту. Ликорин и его производные (дигидроликорин, диацетилликорин, диацетилдигидроликорин) обладают противоопухолевыми

свойствами. Ликорин является ингибитором роста и размножения клеток высших растений, морских водорослей и дрожжей.

Индольные алкалоиды – класс алкалоидов, содержащих в своей структуре ядро индола или его производных. Один из наиболее многочисленных классов алкалоидов (наряду с изохинолиновыми). Известно более 4100 индольных алкалоидов. Значительная часть индольных алкалоидов содержит также изопреноидные структурные элементы. Многие индольные алкалоиды обладают физиологической активностью, некоторые из них находят применение в медицине. Биогенетическим предшественником индольных алкалоидов является аминокислота триптофан.

Стрихнин – индоловый алкалоид, выделенный в 1818 г. Пеллетье и Кавенту из рвотных орешков – семян чилибухи (*Strychnos nux-vomica*). Чрезвычайно токсичен. Может использоваться в качестве пестицида. Главный алкалоид семян чилибухи, произрастающей в тропических районах Азии и Африки. Семя чилибухи – рвотный орех содержит наряду со стрихнином другие алкалоиды (бруцин и др.). Количество стрихнина и бруцина составляет не менее 2,5 %. Стрихнин и другие препараты чилибухи возбуждают ЦНС и в первую очередь повышают рефлекторную возбудимость. Под влиянием стрихнина рефлекторные реакции становятся более генерализованными, при больших дозах стрихнина различные раздражители вызывают появление сильных болезненных тетанических судорог.

Резерпин – алкалоид, выделенный из растения раувольфия змеиная *Rauvolfia serpentina*. Раувольфия змеиная – вечнозелёный кустарник семейства Кутровые (Аросупасеae), произрастающий в Индии, Мьянме, Индонезии, иногда культивируется. Видовой эпитет *serpentina* («змеиная») растение получило за то, что в Индии его издавна применяли при укусах змей, и у своих хижин крестьяне держали по 2-3 таких куста. Первоначально, до появления современных нейролептических средств, резерпин применяли для лечения психических заболеваний. В настоящее время резерпин как антипсихотическое средство применяют редко, в основном его используют как антигипертензивное средство для лечения артериальной гипертензии. Назначают чаще в сочетании с другими антигипертензивными средствами (диуретики и др.).

Под влиянием резерпина постепенно понижается систолическое и диастолическое давление при разных формах и стадиях гипертонической болезни. Лучший эффект наблюдается в ранних стадиях гипертонической болезни, при отсутствии выраженных органических изменений сердечно-сосудистой системы. Гипотензивный эффект относительно долго сохраняется после прекращения приёма резерпина.

Пурин – простейший представитель имидазо-пиримидинов.

Кофеин – алкалоид пуринового ряда, бесцветные или белые горькие кристаллы. Является психостимулятором, содержится в кофе, чае и многих прохладительных напитках.

Кофеин содержится в растениях, таких, как кофе, чай, какао, падуб парагвайский (мате), гуарана, кола и некоторых других. Он синтезируется рас-

тениями для защиты от насекомых, поедающих листья, стебли и зёрна, а также для поощрения опылителей.

У животных и человека он стимулирует центральную нервную систему, усиливает сердечную деятельность, ускоряет пульс, вызывает расширение кровеносных сосудов (преимущественно сосудов скелетных мышц, головного мозга, сердца, почек), усиливает мочеотделение, снижает агрегацию тромбоцитов (однако в некоторых случаях отмечаются противоположные эффекты). В медицине кофеин применяется в составе средств от головной боли, при мигрени, как стимулятор дыхания и сердечной деятельности при простудных заболеваниях, для повышения умственной и физической работоспособности, для устранения сонливости. В малых дозах оказывает стимулирующее воздействие на нервную систему. При длительном применении может вызывать слабую зависимость – теизм. В больших дозах вызывает истощение. Под воздействием кофеина ускоряется сердечная деятельность, поднимается кровяное давление, примерно на 40 минут улучшается настроение, за счёт высвобождения дофамина, но через 3-6 часов действие кофеина проходит: появляется усталость, вялость, снижение трудоспособности.

Теобромин (от лат. *Theobroma cacao* «какао») – алкалоид пуринового ряда, изомерен теофиллину. Бесцветные кристаллы горького вкуса, нерастворимые в воде. Впервые выделен А. А. Воскресенским в 1841 году из семян какао, или какао-бобов. Кроме какао, где теобромин (1,5 %) содержится вместе с кофеином, он находится также в небольших количествах в орехах кола и в некоторых видах падубовых.

В медицине препарат теобромин применяется для лечения бронхолегочных заболеваний. Также используют двойную соль теобромина с салициловокислым натрием, известную под названием диуретин.

Экспериментальные исследования показали, что теобромин, столь близкий по химическому составу к кофеину, имеет с последним аналогичное действие, вызывая в терапевтических дозах возбуждение сердечной мышцы и увеличивая количество мочи путём раздражения почечного эпителия.

Для добывания теобромина употребляются либо растёртые семена какао, освобождённые от жира, или спадающая на шоколадных фабриках пыль какао.

Количество теобромина, содержащегося в шоколаде, слишком мало, чтобы вызвать отравление у человека. Чтобы вызвать интоксикацию, его концентрация должна достигнуть минимум 1000 мг на килограмм веса (в 100 г молочного шоколада содержится 150-220 мг теобромина, то есть около 35 килограмм шоколада на человека весом 70 кг).

Но при грейпфрутовой диете возникает риск передозировки из-за замедления его метаболизации.

Однако животные, у которых метаболизация теобромина происходит медленнее, вполне могут отравиться шоколадом. Наиболее частыми жертвами отравления становятся собаки, с возможным летальным исходом (средняя летальная доза для них составляет 300 мг/кг). Кошки (и особенно котята) ещё более чувствительны к теобромину (средняя летальная доза - 200 мг/кг).

Теofilлин (Theophylline) - алкалоид, присутствующий в листьях чайного куста; оказывает на организм диуретическое (мочегонное) действие и расслабляет гладкую мускулатуру (особенно бронхов). Препараты, в состав которых входит теofilлин, применяются главным образом для лечения бронхиальной астмы. Торговые названия: лаема (Lasma), про-вент (Pro-Vent).

Тема 8 Псевдоалкалоиды

- 1 Общая характеристика псевдоалкалоидов.
- 2 Соланидин и соланин в картофеле
- 3 Полиаминные и циклопептидные алкалоиды

1 Общая характеристика псевдоалкалоидов

Алкалоиды часто делят на следующие большие группы:

1 Алкалоиды с атомом азота в гетероцикле, биогенетическими предшественниками которых являются аминокислоты. Называются также **истинными алкалоидами**. Примерами истинных алкалоидов являются атропин, никотин, морфин. К этой группе относят также некоторые алкалоиды, содержащие, кроме азотистых гетероциклов, терпеноидные фрагменты (как эвонин) или имеющие пептидную структуру (как эрготамин). Пиперидиновые алкалоиды конииин и коницеин часто относят также к этой группе, но их предшественники не являются аминокислотами.

2 Алкалоиды с атомом азота в боковой цепи, биогенетическими предшественниками которых являются аминокислоты. Называются также **протоалкалоидами**. Примерами являются мескалин, адреналин и эфедрин.

3 **Полиаминные алкалоиды** (производные путресцина, спермидина и спермина).

4 **Пептидные (циклопептидные) алкалоиды.**

5 **Псевдоалкалоиды** – соединения, похожие на алкалоиды, биогенетическими предшественниками которых не являются аминокислоты. К этой группе относятся, в первую очередь, терпеноидные и стероидные алкалоиды. Пуриновые алкалоиды, такие как кофеин, теобромин и теofilлин, иногда относят к псевдоалкалоидам в связи со спецификой их биосинтеза. Некоторые авторы относят к псевдоалкалоидам такие соединения, как эфедрин и катинон, которые, хотя и происходят от аминокислоты фенилаланина, но атом азота приобретают не от неё, а в результате реакции трансаминции.

Приставка «псевдо» в названии псевдоалкалоидов связана со спецификой их биосинтеза: он отличается от общего алкалоидного и ближе к изопреноидному. Обычно их подразделяют на две подгруппы: терпеноидные и стероидные алкалоиды.

В корневищах и корнях валерианы найдены алкалоиды валерин, хатинин. Обладают седативными свойствами.

Актинидин – производное пиридина, содержащееся в экстракте корня валерианы лекарственной и актинидии. Является феромоном для многих ви-

дов насекомых. Привлекает кошачьих из-за сходства его запаха с запахом непеталактона, содержащегося в котовнике кошачьем.

Алкалоиды кубышки жёлтой оказывают сильное протистоцидное действие. Нуфлеин – составная часть контрацептивных препаратов. Линимент лютенурина применяется при трихомонадном кольпите. Дендробин – алкалоид декоративной орхидеи Дендробиум благородный.

Аконитин – органическое соединение, чрезвычайно токсичный алкалоид растений рода аконит (борец), нейротоксин. Близкий ему по свойствам алкалоид зонгорин обладает сходными свойствами, но меньшей токсичностью. Растительный яд небелковой природы, содержащиеся в различных видах аконита (*Aconitum*), во всех его частях, особенно в листьях и корнях. Обладает судорожно-паралитическим действием, которое обусловлено стойким повышением натриевой проницаемости возбудимых (нервных и мышечных) мембран и их деполяризации вследствие этого. При нанесении на кожу вызывают зуд с последующей анестезией. Быстро поглощается через слизистые и кожу, очень быстро кишечником.

При приёме внутрь наблюдается: зуд в различных участках тела; парестетические ощущения; учащение и затем замедление дыхания; понижение температуры тела и озноб; обильное потовыделение, слюнотечение; боль в области сердца и аритмия (вплоть до фибрилляции желудочков); паралич скелетных мышц и прогрессирующая адинамия; расширение зрачков и нарушение цветовосприятия; головокружение; мышечные фибрилляции и судороги конечностей. Смерть наступает в результате остановки сердца и паралича дыхания.

Дельфинин – дитерпеновый (аконитовый) алкалоид. Первый алкалоид, выделенный из растений рода Живокость (*Delphinium*) французскими химиками Брандесом и Лассонье в 1819 г. Содержится во многих видах Живокости – *Delphinium staphisagria*, Живокость полевая (*Delphinium consolida*), Живокость высокая (*Delphinium elatum*). Ядовитое вещество. По действию походит на аконитин, угнетает периферическую нервную систему, но без влияния на зрение, вызывает покраснение кожи. Может стать причиной паралича сердечной мускулатуры.

Акронихия является родом из 50 видов растений семейства рутовых. Содержит алкалоид акроницин.

Стероидные алкалоиды содержат в молекуле скелет 3-метил-1,2-циклопентенофенантрена. Выделены из растений семейств лилейных, пасленовых, самшитовых. Включают около 270 представителей. Некоторые стероидные алкалоиды обладают гипотензивным, спазмолитическим, бронхорасширяющим, противовоспалительным, противогрибковым действием.

Часто различают четыре группы стероидных алкалоидов, которые выделяют из растений родов паслен (*Solanum*), чемерица (*Veratrum*), голаррена (*Holarthra*), фунтумия (*Funtumia*), самшит (*Buxus*). Наибольшее значение имеют алкалоиды чемерицы и паслена. Алкалоиды паслена представляют интерес как потенциальные источники стероидов. Некоторые из них проявляют фунгистатическую активность. Внутри этой группы различают алкало-

иды типа томатицина из диких томатов (*Solanum lycopersicum*) и алкалоиды типа соланидина, выделенные из растений рода паслен.

Чемерица отличается содержанием большого количества алкалоидов. В ней найдены: йервин, рубийервин, изорубийервин, псевдоервин, протовератридин, протовератрин, гермерин, термин. Алкалоиды откладываются преимущественно в корневище: общее количество алкалоидов в нем может достигать до 1%; содержание алкалоидов в наземных частях растений – стеблях, листьях, соцветиях, семенах – относительно меньше. Алкалоиды чемерицы, преимущественно протовератрин и йервин, первоначально возбуждают, а в последующем парализуют центральную нервную систему и окончания парасимпатических, чувствительных, секреторных нервов. Появляются дрожь, судорожные подергивания мышц, слюнотечение, рвота, понос, затруднение глотания, потеря чувствительности, нарушение дыхания и работы сердца. Протовератрин вызывает сильное сужение зрачка. На отравление алкалоидами типа вератрина особенно своеобразно реагирует поперечнополосатая мышца; это своеобразие заключается в сильном сокращении мышц и в значительном удлинении периода ее расслабления.

Самшит содержит алкалоид буксин (Faure, 1830). В токсических количествах буксин обуславливает появление рвоты, поносов, клонических судорог и смерть от остановки дыхания. В эксперименте 750 г листьев самшита оказались смертельными для лошади. Уже в античные времена самшит применялся в качестве лекарственного растения как средство против кашля, желудочно-кишечных болезней, а также хронических лихорадок, например, малярии. Как средство против малярии, якобы, сравним по действию с хинином. В наши дни препараты из самшита из-за своей токсичности используются редко, поскольку их весьма сложно точно дозировать. Передозировка может привести к рвоте, судорогам и даже приводит к летальному исходу. Гомеопаты и сейчас используют самшит как, якобы, средство против ревматизма.

Все части растения и особенно листья ядовиты. Самшит содержит около 70 алкалоидов, среди прочих циклобуксин D. В листьях и коре содержание алкалоидов составляет около 3 %. Смертельная доза циклобуксина D для собак составляет 0,1 мг на килограмм веса тела при пероральном приёме.

2 Соланидин и соланин в картофеле

Соланидин – это ядовитый стероидный алкалоид, встречающийся в растениях семейства пасленовых, таких как картофель и *Solanum americanum* (паслён). В организм человека соланидин также может попасть при употреблении гликоалкалоидов из картофеля, альфа-соланина и альфа-чаконина. При гидролизе сахаров этих гликоалкалоидов в организме выделяется часть соланидина. Соланидин содержится в сыворотке крови здоровых людей, употребляющих в пищу картофель. При прекращении потребления картофеля уровни соланидина в сыворотке заметно падают. Соланидин, поступающий из пищи, может храниться в организме человека довольно длительное время. Исследователи полагают, что он может высвобождаться в периоды метабо-

лического стресса с возможностью негативных последствий. Через ингибирование холинэстеразы соланидин вызывает нервно-мышечные симптомы.

Соланин – растительный гликозид (алкалоид). Является ядовитым органическим соединением. Химически родственен стероидам, содержится в растениях семейства паслён. Относится к контаминантам. Поступление в организм человека и животного большого количества соланина сопровождается отравлением. Агликон представлен стероидным алкалоидом соланидином, углеводная часть – остатками трёх моносахаридов (глюкозы, галактозы, рамнозы). Обладает горьким вкусом и наряду с другими алкалоидами предохраняет растения от поедания животными. Сходный по строению и токсичности гликозид растений рода паслён – чаконин (он же хаконин).

Содержится в любой части растения – в листьях, плодах, стеблях, клубнях и т. д. Наибольшее содержание соланина наблюдается в незрелых ягодах паслёна чёрного (*Solanum nigrum*) и во всех частях паслёна сладко-горького (*Solanum dulcamara*). В клубнях употребляемого в пищу картофеля содержится до 0,05 % соланина (в проросших, позеленевших клубнях уровень соланина значительно выше), причём наибольшая концентрация соланина наблюдается непосредственно в кожуре и в ростках. Соланин не содержится в томатах (помидорах), несмотря на то, что они тоже рода пасленовых растений. В томатах содержится томатин. Который схож с соланином, но в десятки раз менее токсичен, чем соланин.

Соланин обладает фунгицидными и инсектицидными свойствами, исполняя роль природной защиты растений. Соланин вызывает возбуждение, а затем угнетение нервной системы, разложение эритроцитов. Для человека и животных соланин может быть токсичен. Благодаря значительному уменьшению содержания соланина в современном картофеле интоксикации стали редки. После чистки в клубне остаются лишь 5-10 % от исходного соланина. Отравление соланином возможно после употребления нескольких килограммов нечищеного, термически необработанного, незрелого картофеля. Если в клубне есть позеленевшие области, то содержание соланина в них заметно выше, поэтому при чистке картофеля такие области лучше срезать.

Отравление соланином проявляется такими симптомами, как тошнота, рвота, боли в животе, головная боль, диарея, дезориентация, расширение зрачков и повышение температуры; в тяжёлых случаях наблюдаются делирий, кома и судороги.

α -Хаконин – стероидный гликоалкалоид, содержащийся в растениях семейства паслёновых (*Solanaceae*). Натуральный токсикант, вырабатываемый в зелёном картофеле и дающий картофелю горький вкус. Клубни вырабатывают этот гликоалкалоид в ответ на стресс, снабжая растение свойствами инсектицидов и фунгицидов.

Картофельные бунты в Российской империи – массовые выступления удельных (1834 год) и государственных (1840-1844 года) крестьян в России. Бунты были вызваны насильственным введением посадки картофеля по инициативе министра П. Д. Киселёва. Клубни картофеля имеют свойство зеленеть при хранении на свету, что является индикатором повышенного содер-

жания в них ядовитого соланина. Употребление в пищу одного позеленевшего клубня вместе с кожурой может привести к серьёзному отравлению. Вследствие невежества и отсутствия достоверной информации это приводило к гибели людей и общему протесту. Бунты были подавлены правительственными войсками.

Введение картофеля в сельское хозяйство Европы протекало медленно. Хотя европейцы познакомились с картофелем в Новом свете уже в 16 веке, только к концу 17 века он начинает занимать заметное место в сельском хозяйстве Англии, а в других странах появляется ещё позднее. Введение новой культуры сталкивалось с сопротивлением крестьянства. Особенно серьёзные проблемы возникали при попытках вводить посадки картофеля «сверху», административными методами. Так, в Пруссии в 1745 г., чтобы заставить крестьян сажать картофель, приходилось прибегать к наказаниям и военной силе. Однако это помогало мало, и введение новой культуры затянулось на десятилетия.

В 1834 г. Департамент уделов разослал предписание посеять картофель на казённых запашках как средство предотвращения голода в результате возможного неурожая зерновых. Данная мера встретила сопротивление крестьян, причём картофель зачастую уже был им известен, его самостоятельно сеяли на огородах, так что протесты были направлены именно против посадок картофеля на общественных запашках.

Отдельные исследователи отмечают также суеверия в отношении картофеля и связанные с этим эсхатологические настроения. Грубое вмешательство мелких местных властей в повседневную жизнь крестьянства, непонимание крестьянами сути проводившихся реформ, атмосфера слухов и недоверия, а также вскрывшиеся факты подлогов привели к волне бунтов. В 1843 принудительные общественные посевы картофеля были отменены, упор делался на пропаганду и премирование за разведение «сего овоща преимущественно на полях». В итоге картофель прочно вошёл в сельскохозяйственный обиход, особенно в регионах, где крестьянство не могло в полной мере обеспечить себя хлебом в силу малоземельности или плохих почв.

3 Полиаминные и циклопептидные алкалоиды

Полиаминные алкалоиды – производные путресцина, спермидин и спермин.

Путресцин – биогенный амин. В тканях организма путресцин – исходное соединение для синтеза двух физиологически активных полиаминов – спермидина и спермина. Эти вещества наряду с путресцином, кадаверином и другими диаминами входят в состав рибосом, участвуя в поддержании их структуры.

Спермин – химическое соединение класса алифатических полиаминов. Участвует в клеточном метаболизме, найден во всех эукариотических клетках, в живых организмах образуется из спермидина. Обнаружен в разнообразных тканях большого числа организмов, является фактором роста у некоторых бактерий. При физиологическом pH существует в виде поликатиона.

Спермин ассоциируется с нуклеиновыми кислотами и предположительно участвует в стабилизации их спиральной структуры, в частности, у вирусов.

Все живые организмы от бактерий до млекопитающих содержат в своем химическом составе алифатические амины путресцин, кадаверин, спермидин и спермин. Эти вещества давно привлекли к себе внимание науки. Эти метаболиты играют важную, но до конца не понятую, роль в регуляции основных биохимических и физиологических процессов. В частности, их обмен нарушается при злокачественном росте. В растительных тканях биосинтез полиаминов усиливается при дефиците калия. Биогенетическим предшественником их служит аминокислота аргинин.

Кроме повсеместно присутствующих соединений, некоторые растения синтезируют полиаминовые алкалоиды, представляющие собой алкилированные и ацилированные производные полиаминов. Отталкиваясь от особенностей химического строения, их можно подразделить на три структурных типа. К первому принадлежат нециклические ацильные и алкильные производные, из которых значительное внимание было уделено выделенному из некоторых видов пасленовых солапальметину. Он обладает достаточно высокой цитотоксической и противоопухолевой активностью, но, к сожалению, повреждают почки, что исключает их практическое применение.

Ацилированные амины также вырабатываются ядосекретирующих железас ос и пауков. Такую химическую структуру имеет, например, нейротоксический компонент осиногояда филлантотоксин. Спермидин и спермин, ацилированные непредельными кислотами, дают начало другому структурному типу полиаминовых алкалоидов. Он характеризуется тем, что из ацильных производных, благодаря внутримолекулярной реакции Михаэля и другим способам присоединения по двойной связи, образуются гетероциклические структуры. Например, превращение 17-18 лежит в основе биосинтеза алкалоида хвощей палюстрина и ингредиента конопли каннабисативена.

В листьях растения *Nomaliumpromyense* содержатся производные спермина, например хопромин, в образовании которых принимают участие две молекулы α,β -ненасыщенной кислоты. В этом же растении находятся аналоги, подобные хомалину, образованные с участием кислоты коричной. Алкалоидом с восьмичленным циклом является хомалин, полученный из листьев филиппинского дерева хомалиума пронийского *Nomaliumpromyense* Guillaumin (Флакуртиевые Flacourtiaceae) в 1999 году.

С участием циннаматов строятся также молекулы полиаминовых алкалоидов третьего структурного типа. К нему относятся мостиковые макроциклические соединения, такие как эфедранин из корней эфедры или хаенорпин из *Chaenorhinum minus*.

Зизифус настоящий – растение; вид рода Зизифус семейства Крушиновые (Rhamnaceae).

Пептидные алкалоиды содержат в молекуле остаток пептида, обычно циклический (поэтому часто их называют циклопептидными алкалоидами). Пептидные алкалоиды наиболее распространены в растениях семейства кру-

шиновых (Rhamnaceae). Содержатся в листьях, коре, корнях и других частях растений от 0,02 до 1 %. Включают более 70 представителей.

Различают пептидные алкалоиды, содержащие 13-, 14- и 15-членные кольца. Наиболее многочисленную группу алкалоидов с 14-членным кольцом делят на типы: 1) франгуланина; 2) интегеррина; 3) амфибина-Б. Для алкалоидов 1-го типа характерно наличие группировки простого эфира, образованного гидроксистириламином и гидроксиейцином. Аминокислоты, входящие в их состав, имеют, как правило, липофильный характер. Характерная черта алкалоидов 2-го типа наличие в их кольце остатка фенилсерина. Алкалоиды 3-го типа отличаются присутствием в их молекуле фрагмента транс-3-гидроксипролина.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

РАЗДЕЛ 4 РАСТИТЕЛЬНЫЕ ФЕНОЛЫ

Тема 9 Растительные фенолы. Часть 1.

- 1 Классификация и функции растительных фенолов.
- 2 Фенольные соединения с одним ароматическим кольцом

1 Классификация и функции растительных фенолов

К фенольным соединениям относят вещества, содержащие в своей молекуле бензольное кольцо, которое несет одну или несколько гидроксильных групп, называемых также «фенольными». Соединения, имеющие две и более фенольные гидроксигруппы, получили название полифенолов. И хотя растительные фенолы отнесены к веществам вторичного или специализированного метаболизма, которым по определению свойственна хемоспецифичность, многие из них, например, флавоноиды или лигнин, универсальны по своей распространенности в природе.

Фенольные соединения – химически активные вещества, у которых свободные электроны бензольного кольца и неспаренные электроны кислорода фенольной группировки взаимодействуют как представлено на схеме: Это смещает электроны кислорода, в результате чего электронная плотность кислорода снижается и появляется частично положительный заряд. Следовательно, разорвать связь между кислородом и водородом легче, чем между углеродом и кислородом, что объясняет кислую природу фенольных соединений, причем она повышается с увеличением гидроксильных группировок. Например, пикриновая кислота (2,4,6-тринитрофенол) является очень сильной кислотой, так как нитрогруппировки увеличивают поляризацию фенольной группы, а, соответственно, и кислотные свойства. Тот же самый эффект наблюдается в случае флавоноидов, имеющих γ -пироновое кольцо, где карбонильная группа ($=C=O$) оттягивает электроны с бензольного кольца на себя и тем самым увеличивает поляризацию фенольной группировки.

Фенольные соединения характеризуются способностью к образованию внутримолекулярных водородных связей, например, между гидроксильными группировками в орто-дифенолах, а также между гидроксильной группой и кислородом пиранового кольца во многих флавоноидах. Как видно из схемы, межмолекулярные водородные связи часто образуются между гидроксильной группировкой фенольной молекулы и пептидной связью белка или гидроксильной группировкой углеводов клеточной стенки:

Фенольные соединения образуют простые и сложные эфирные связи, что является одной из причин разнообразия данных вторичных метаболитов. Простые эфирные связи (метоксильные, гликозидные) более распространены, чем сложные. Сложноэфирные связи характерны для кумаринов, эллаговой кислоты, депсидов и др.

Другим важным свойством фенольных соединений является способность образовывать хелаты с металлами. Так, одной из причин разнообразия антоциановых пигментов является их комплексообразование с другими

группами флавоноидов, а также различными ионами металлов – M (Al^{3+} , Fe^{3+} , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}):

Важным и распространенным свойством фенольных соединений является их способность к окислению, что обуславливает большое природное разнообразие фенольных соединений, в том числе полимерных. Наиболее лабильные фенольные соединения окисляются в аэробных условиях при действии солнечного освещения. Следует отметить, что при этом значение имеет картина гидроксилирования бензольного ядра: мета-замещенные дифенолы окисляются значительно труднее, чем пара- и особенно орто-дифенолы. Окисление протекает через промежуточное образование фенокислых свободных радикалов, возникающих при отрыве атома водорода. Гидроксилирование является еще одним из способов окисления, участвующих в биосинтезе и превращениях фенольных соединений. В растениях обнаружены специфические ферменты, такие как фенолазы, которые окисляют монофенолы до дифенолов и хинонов.

В основу классификации природных фенолов положен биогенетический принцип, согласно которому группы располагают в порядке усложнения молекулярной структуры:

- 1) C_6 -ряда – простые фенолы;
- 2) C_6C_1 -ряда – производные бензойной кислоты (фенольные кислоты);
- 3) C_6C_2 -ряда – фенолоспирты и фенилуксусные кислоты;
- 4) C_6C_3 -ряда – производные фенилпропана (оксикоричные кислоты и спирты, кумарины);
- 5) C_6C_4 -ряда – нафтохиноны;
- 6) $C_6C_2C_6$ -ряда – антрахиноны и стильбены;
- 7) $C_6C_3-C_6$ -ряда – флавоноиды и изофлавоноиды;
- 8) $(C_6C_3)_2$ -ряда – лигнаны и неолигнаны;
- 9) полимерные фенольные соединения (лигнины, танины, меланины).

Фенольные соединения разнообразны как по своей структуре, так и по функциональным значениям, которые они выполняют в растительном организме. Практически все фенольные соединения играют важную роль в защитных реакциях растений. Хорошо установлено, что растительные клетки реагируют на механические повреждения или проникновения патогенов повышением активности фенилаланинаммиак-лиазы, 4-гидроксилазы транскоричной кислоты, пероксидазы и других ферментов. Это сопровождается «вспышкой» новообразования фенольных соединений. Связываясь с нефенольными полимерами клеточных стенок, лигнин и оксикоричные кислоты способствуют их упрочнению и таким образом препятствуют проникновению патогенов, а также неконтролируемой потере воды. Следует отметить, что усиление процессов лигнификации является одной из стратегий метаболической адаптации к действию стресс-факторов разной природы. Так, холодное закаливание растений пшеницы приводило к повышению содержания фенольных веществ в 2,5-3 раза, причем в молодых органах синтез их мономерных форм происходил достаточно интенсивно. При этом фенольные со-

единения, сходные, но не идентичные лигнину древесины, могут участвовать в индукции апоптоз-подобных процессов.

Среди защитных функций фенольных соединений выделяют фотопротекторную роль. Известно, что растения, произрастающие в тропических районах и альпийских зонах, содержат большее количество фенолов, чем растения умеренных широт. Пигментированные формы культурных растений с высоким содержанием антоцианов происходят в основном из горных районов, например, столовая свекла по сравнению со своим предшественником – листовой свеклой мангольд. Установлено, что эпидермальные клетки, пропуская видимый свет, поглощают до 95 % УФ лучей, благодаря повышенному содержанию фенольных соединений, в первую очередь, флавоноидов.

Считается, что флавоноиды, в частности, антоцианы, снижают риск фотоокислительных повреждений клеток за счет уменьшения количества активных форм кислорода. Кроме того, они могут связывать ионы тяжелых металлов в устойчивые комплексы. Установлено, что флавоноиды зеленого чая, красного винограда и вина, а также содержащийся у последних стильбен резвератрол обладают выраженными противораковыми свойствами именно благодаря своему антиоксидантному характеру действия.

Защитная функция фенольных соединений проявляется и в качестве так называемых детеррентов (от лат. deterreo – отпугивать) или антифидантов (от anti – против и англ. feed – питание) - соединений, снижающих привлекательность и пищевую ценность растительных тканей для фитофагов. Увеличение содержания лигнанов, таннинов, пирокатехола, феруловой кислоты и т.д., наблюдаемое в немолодых листьях, делает их малосъедобными для личинок и взрослых насекомых. Кроме того, прочные белково-танниновые комплексы труднопереваримы, поэтому многие млекопитающие избегают есть растения или их части, накапливающие таннины.

Для многих фенольных соединений характерна сигнальная функция в индукции pod-генов, ответственных за формирование клубеньков у бобовых растений. Салициловая кислота запускает процесс термогенеза у початков цветущих растений многих видов семейства Ароидные, а также реакцию сверхчувствительности при ранениях и атаке патогенов. Часто фенольные соединения определяют взаимоотношения между представителями растительного и животного царств, выполняя, таким образом, роль пищевых аттрактантов. Например, привлекающая насекомых и птиц окраска цветов, фруктов и семян обусловлена антоцианами, флавононами, флавонолами, нафтохинонами, меланинами и др.

Растительные фенолы являются своего рода модуляторами процессов роста и развития растений, оказывая при этом как стимулирующее, так и ингибирующее влияние.

Фенольные соединения, содержащие ортогидроксильную группировку, ингибируют активность ИУК-оксидазы, а монофенолы и мета-дифенолы, наоборот, ее стимулируют. Фенольные соединения наряду с фитогормоном АБК входят в состав так называемого β -ингибиторного комплекса, который ответственен за физиологический покой как семян, у которых он предотвра-

щает прорастание даже в сочных плодах (томаты, огурцы и т.д.), так и вегетирующих растений. На культуре зародышей бересклета показано, что паракумаровая кислота предотвращает выведение их из состояния покоя. Выявлена также прямая корреляция между увеличением количества фенольных соединений и образованием эмбриоидов в процессе соматического эмбриогенеза в культурах клеток разных растений.

Важная роль фенольных соединений в регуляции ростовых процессов тесно связана с их структурной функцией. Фенольные соединения могут ограничивать рост клеток растяжением посредством образования поперечных связей (преимущественно из диферуловой кислоты) со структурными полисахаридами и гидроксипролином белков первичной клеточной стенки. Более жесткий матрикс образуется при откладывании лигнина, что обуславливает необратимое торможение роста при формировании вторичной клеточной стенки.

Не вызывает сомнений значение фенольных соединений и как аллелопатических агентов, которые участвуют во взаимоотношениях между растениями. Следует отметить, что количественную оценку аллелопатической активности соединений, имеющих различную химическую природу, принято выражать в условных кумариновых единицах.

Кроме того, фенольные соединения являются резервными веществами. Экспериментально доказано, что в клетках высших растений за один день может подвергаться катаболизму, с разрывом бензольного кольца и дальнейшим окислением до углекислого газа, до 10-20% ранее образовавшихся флавонолгликозидов.

Хорошо известно, что фенольные соединения играют важную роль в окислительно-восстановительных реакциях, например, в качестве компонентов электрон-транспортных цепей дыхания и фотосинтеза (уби-, филло- и пластохиноны). Некоторые фенольные соединения служат, наоборот, разобщителями или ингибиторами дыхания (салициловая кислота, кумарин, рутенон, платанетин и др.), что широко используется в практике исследований.

2 Фенольные соединения с одним ароматическим кольцом

Простые фенолы относятся к соединениям C_6 -ряда и по числу гидроксильных групп делятся на одноатомные, двухатомные и трехатомные. Чаще всего они находятся в связанном виде в форме гликозидов и сложных эфиров или являются структурными элементами более сложных соединений, в том числе полимерных (дубильные вещества, меланины).

1) Сам фенол обнаружен в иглах и шишках *Pinus silvestris*, эфирных маслах листьев *Nicotiana tabacum*, *Ribes nigrum*, лишайниках.

2) Дигидроксипроизводные – двухатомные фенолы (дифенолы)

а) Пирокатехин (1,2-диоксибензол) найден в листьях эфедры, чешуе лука, плодах грейпфрута. Из диоксибензолов можно также отметить метиловый эфир пирокатехина (катехола) – гваякол, который содержится в дегте и используется в медицине и биологии. При введении в молекулу гваякола альдегидной группы получают ванилин.

б) резорцин (1,3-диоксибензол) является одним из основных натуральных фенолов, содержащихся в аргановом масле (изготавливаемое из плодов аргании колючей, юг Марокко).

в) Из диоксибензолов наиболее распространен гидрохинон (1,4-диоксибензол). Гидрохинон – один из немногих простых фенолов, который может присутствовать в растениях в несвязанном виде.

Гидрохинон легко окисляется до бензохинона, очень активного и токсического вещества, образуемого как защитное вещество против насекомых и микроорганизмов. Это свойство обусловило широкое применение листьев толокнянки обыкновенной (*Arctostaphylos uva-ursi*) и других представителей семейства Вересковые (*Ericaceae*) для лечения воспалительных процессов мочевого пузыря и мочевыводящих путей издревле.

Его гликозид арбутин, содержащийся в представителях семейств: *Ericaceae* (листьях толокнянки), *Vacciniaceae* (брусники), *Saxifragaceae* (бадана). Арбутин – β -глюкозид гидрохинона – стойкое соединение, переносящее кипячение и длительное хранение (до 5 лет), однако при изменении pH оно легко дегликозилируется с последующим окислением до бензохинона.

Наряду с арбутином в этих растениях присутствует метиларбутин. Агликоном его является метилгидрохинон

3)Трехатомные фенолы (трифенолы).

Существует три изомера трехатомных фенолов, производных бензола, с рядовым, симметричным и несимметричным расположением гидроксильных групп: пирогаллол, оксигидрохинон, флороглюцин.

Флороглюцин в природе входит в состав флавонов и катехинов в виде гликозидов. В частности, находится в составе флавоновых и антоциановых пигментов, придающих окраску цветкам. Название вещества обусловлено именно его распространённостью в растениях (*флоро*-) и сладким вкусом (*-глюцин*).

Изопренилированными производными резорцина являются тетрагидроканнабиолы – галлоциногенные и обезболивающие вещества растений рода *Cannabis*, вызывающие наркотическое пристрастие. Из триоксибензолов интересен ацилфлороглюцинол из корневищ щитовника мужского *Dryopteris filix-mas*, которые издавна используются как антигельминтное средство.

Фенольные кислоты (фенолокислоты, **C₆C₁-ряд**) – производные бензойной кислоты, содержащие одну или несколько гидроксильных групп. Сама бензойная кислота – хороший антисептик, поэтому содержащие его ягоды (брусника, клюква, калина) при хранении долго не портятся, а также оказывают выраженное противомикробное действие. Бензойная кислота (E210), бензоат натрия (E211) или калия (E212) широко используется в пищевой промышленности как относительно безопасные консерванты. Однако из-за их взаимодействия с аскорбиновой (E300) и/или лимонной (E330) кислотами, которые используются как регуляторы кислотности, может образоваться «чистый» бензол, канцерогенный эффект которого хорошо установлен. Именно по этой причине, по данным ВОЗ, возможно многократное превышение предельной концентрации бензола в газированных напитках, особенно при нарушении температурного режима хранения.

В зависимости от положения гидроксильной группы относительно карбоксильной различают *пара*- и *орто*-оксибензойные кислоты.

Салициловая кислота (СК), получила название от лат. *Salix* – ива. Кора ив издавна используется в народных медицинах для лечения воспаления суставов и была источником выделения салицина (глюкозида салицилового спирта) в 1838 г. Позднее была синтезирована ацетилсалициловая кислота и ее водорастворимая лекарственная форма, названная компанией Bayer аспирином (1898г.), отрицающим природное происхождение из соцветий спиреи (*Spiraea*). Аспирин обладает широким спектром лечебного действия – противовоспалительного, болеутоляющего, особенно эффективного при ревматоидном артрите, противомикробного, а также в предотвращении тромбообразования, уменьшении вязкости крови, рассасывании мозолей и др. Аспирин был назван лекарством XX века: объемы его производства в мире превышают 100 тыс.т/год, только в США закупается более 16 тыс.т/год на сумму 2 млрд. долларов. Множественное действие салицилатов на организм человека до конца не изучено. Предполагается, что одним из механизмов действия является блокирование индуцируемого воспалением синтеза простагландинов из арахидоновой кислоты. Кроме того, салицилаты могут разрушать клеточные взаимодействия, предотвращая активацию нейтрофилов и других клеток, вовлеченных в первую стадию воспаления.

В растениях СК играет важную защитную роль, участвуя в реакции сверхчувствительности и индуцируя синтез многих PR-белков (от англ. *pathogenesis related* – связанных с патогенезом), таких как глюканазы, хитиназы и др. Кроме того, СК может ингибировать синтез этилена, индуцировать цветение (у рясовых и ароидных), образование адвентивных корней, регулировать устьичные движения и др. Большинство исследователей относят СК к новому классу фитогормонов, однако его внутриклеточные концентрации при патогенезе могут достигать 1мМ, что на два-три порядка выше верхней границы диапазона физиологических концентраций классических фитогормонов.

Наиболее полно механизм действия СК расшифрован при развитии уникального для растительного царства явления термогенеза, впервые описанного еще в 1778 г. Ж.Б.Ламарком для растений семейства Ароидные (*Araceae*). Оно заключается в том, что во время цветения придатки початка (осмофор) нагреваются на 15-20 °С выше температуры окружающей среды, в результате чего низкомолекулярные соединения начинают расщепляться до летучих аминов и индолов, запах которых привлекает опыляющих насекомых и делает процесс опыления максимально независимым от неблагоприятных условий среды, в первую очередь пониженных температур. Роль СК как сигнального вещества состоит в индукции биогенеза новой популяции митохондрий с такими структурно-функциональными особенностями, которые обеспечивают значительное усиление интенсивности дыхания. Скорость дыхания увеличивается на порядок и полностью теряет чувствительность к дыхательному яду цианистому калию. Отсюда перенос электронов по альтернативному, цианид-резистентному пути дыхательной цепи происходит не с запасанием энергии, а с ее диссипацией, то есть рассеиванием в виде тепла.

Полиоксibenзойные кислоты, содержащие две или три ОН-группы, широко распространены в природе и имеют важное практическое значение. Одним из таких является ванилин, альдегид ванилиновой кислоты, содержащийся в плодах тропической лианы ванили душистой (*Vanilla planifolia*) в виде гликозида глюкованилина. В процессе длительного созревания собранных стручков высвобождается ванилин, имеющий характерный ароматный запах, благодаря которому он используется в кулинарии и кондитерской промышленности. Букет старого коньяка обусловлен наличием именно ванилина, которого в нем в 15 раз больше, чем в молодом коньяке вследствие более длительного «высвобождения» ванилина из кониферилового спирта древесины дубовых бочек.

Галловая кислота была открыта Шееле в вытяжках из чернильных орешков. Сложные эфиры галловой кислоты содержатся в дубильных веществах и танине, которые находятся в чернильных орешках, листьях чая и суша, в дубовой коре, гвоздике, в почках берёзы. **Чернильные орешки** – частный вид галлов, образуемых личинками ряда насекомых на молодых ветвях и листьях некоторых видов дуба. Чернильные орешки получили своё название потому, что в старину из них изготавливали чернила для письма. С солями железа танины образуют комплекс, окрашенный в чёрный цвет, – на этом и было основано получение чернил. Чернильные орешки были известны и использовались в производстве чернил по крайней мере со времён Римской империи. Долгое время, начиная со Средних веков, данные чернила были стандартны для применения в письме. На Руси переписчики рукописей также использовали «чернить дубом с железинью» – «железные» чернила, которые готовили из железного купороса путём добавления в него отвара из чернильных орешков с дубовых листьев.

Сиреневая кислота встречается в разных частях многих растений, в том числе винограде, сливе, груше, различных цитрусовых, некоторых папоротниках, а также грибах и дрожжах. Широко применяется в органическом синтезе, парфюмерии и медицине. Антиоксидант. Обладает слабым антибактериальным и противогрибковым действием, может использоваться для местной анестезии. Ингибитор α -глюкозидазы, способный регулировать уровень сахара в крови.

Леканоровая кислота встречается в лишаях из родов *Lecanora* и *Vario-laria*, отсюда извлекается эфиром. Депсид орселлиновой кислоты – леканоровая кислота (от лат. *Lecanora* – род накипных лишайников) является специфическим лишайниковым метаболитом, обуславливающим их бактерицидное и антиоксидантное действие. Депсид – это тип полифенольного соединения, состоящего из двух или более моноциклических ароматических единиц, связанных эфирной связью. Депсиды чаще всего встречаются в лишайниках, но также были выделены из высших растений, включая виды *Ericaceae*, *Lamiaceae*, *Papaveraceae* и *Myrtaceae*.

Фенолоспирты и фенилуксусные кислоты включают соединения C_6C_2 -ряда. Наиболее известным фенолоспиртом является *n*-оксифенилэтанол, агликон гликозида салидрозид, являющегося одним из основных действующих веществ родиолы розовой *Rhodiola rosea* семейства

Толстянковые (*Crassulaceae*). Корень родиолы, или золотой корень долгое время оставался легендарным средством, так как коренное население Горного Алтая тщательно скрывало места его произрастания, которые были обнаружены лишь в 1961 г. экспедицией во главе с проф. Г.В.Крыловым. Золотой корень обладает прежде всего выраженным стимулирующим действием, т.е. положительным влиянием на качество и количество выполняемой человеком умственной или физической работы, что приближает его к фармакологическим эффектам растений семейства Аралиевые (женьшень, элеутерококк и др.).

Фенилпропаноиды (C_6C_3 -ряд) – класс растительных органических соединений ароматического ряда, которые синтезируются шикиматным путём, преимущественно через аминокислоту фенилаланин. Характерным структурным фрагментом является бензольное кольцо с присоединённой к нему неразветвлённой трёхуглеродной цепью. Включает оксикоричные кислоты, оксикоричные спирты, кумарины и др. В растениях часто встречаются сложные эфиры оксикоричных кислот и гидроароматических кислот (хинной, шикимовой), а также – комплекс оксикоричных кислот с полиоксижирными кислотами (суберин).

Оксикоричные кислоты – *n*-кумаровая или *n*-оксикоричная и кофейная, и их метилированные производные феруловая и синаповая образуются из коричной кислоты и обычно находятся в связанном состоянии за исключением кофейной кислоты, которая более распространена в свободном виде. Так, в плодах кофе *Coffea arabica* сем. Мареновые она достигает до 9%. Производными *n*-кумаровой, феруловой и синаповой кислот являются соответственно кумаровый, кониферилловый и синаповый спирты – непосредственные предшественники лигнина. Следовательно, оксикоричные кислоты и их производные в основном локализуются в клеточной стенке, играя существенную роль в регуляции ее физико-химических свойств. Они связываются с молекулами полисахаридов и/или лигнина простыми и сложными эфирными связями, образуя множество поперечных связей между полимерными молекулами клеточных стенок, сшивая в одну огромную структуру и снижая их растяжимость. Следует отметить, что число эфиров оксикоричных кислот превосходит число эфиров любых других растительных фенолов.

Характерной особенностью оксикоричных кислот является индуцируемая УФ-светом *транс*→*цис*-изомерия. При освещении *транс*-оксикоричные кислоты преобразуются в более богатые энергией *цис*-формы. При спонтанном обратном переходе в *транс*-форму в темноте происходит преобразование поглощенной энергии, которая может быть использована на физиологические процессы. Предполагается, что *цис*-формы могут действовать как рецепторы УФ и контролировать фототропические реакции. Кроме того, *цис*→*транс*-изомерия является важным этапом образования кумаринов.

Фенилпропаноидные лактоны или кумарины – летучие вещества с приятным запахом свежего сена, усиливающимся по мере высушивания. Сам кумарин в свободном виде обнаруживается редко, среди исключений можно отметить листья донника лекарственного (*Melilotus officinalis*), где его содержание достигает до 0,9%. Чаще кумарин образуется при повреждении тканей,

когда происходит отщепление глюкозы от гликозида *орто*-оксикоричной кислоты с последующей ее изомеризацией и циклизацией. Благодаря леучим свойствам кумарины обладают как фитонцидными и репеллентными свойствами, так и высокой физиологической активностью, ингибируя прорастание семян, процессы роста и развития. Предполагается, что его неспецифическое действие на метаболизм растений осуществляется за счет подавления активности многих ферментов, синтеза хлорофилла, антоцианов и др. Как отмечалось выше, аллелопатическую активность разных видов растений принято выражать в условных кумариновых единицах.

Кумарины широко распространены в растительном мире: насчитывается около 1500 производных у 800 видов растений разных семейств. Наиболее известные представители – эскулетин, скополетин и умбеллиферон образуются из *n*-кумаровой, кофейной и феруловой кислот, соответственно. Умбеллиферон, часто встречающийся у видов зонтичных, получил свое название от латинского названия семейства *Umbelliferae*. Диоксикумарин эскулетин (, выделенный из околоплодников семян конского каштана *Aesculus hippocastanum*, входит во многие коммерческие препараты, предназначенные для профилактики и лечения варикозной болезни благодаря специфическому антикоагуляционному действию. Кумарин и его производные являются антагонистами витамина К₁, необходимого для синтеза факторов свертывания крови, и вместе со снижением количества протромбина уменьшают содержание протоконвертина, замедляют рекальцификацию плазмы. При этом содержащийся в крови протромбин постепенно разрушается, а его образование *de novo* подавляется угнетением соответствующих биохимических систем печени. Учитывая тот факт, что за последние 50 лет вязкость крови у людей увеличилась в 2-3 раза, следует отметить важное значение данных соединений в профилактике и лечении заболеваний, связанных с нарушением периферического кровообращения, особенно нижних конечностей, а также при тромбозах коронарных сосудов и стенокардии.

Димерные соединения оксикумарина – дикумарин или дикумарол – препятствуют свертыванию крови в 1000-5000 раз сильнее, чем сами кумарины. Дикумаролы образуются, в частности, при активации нежелательных микробиологических процессов при неправильном хранении сена из бобовых растений и могут вызывать при длительном применении у домашних животных внутренние кровотечения вплоть до смертельного исхода. На геморрагическом эффекте основано и их широкое практическое использование как современных средств борьбы с грызунами (зоокумарины).

Кстати, одно из самых ядовитых растений нашей зоны – волчник, или волчегородник обыкновенный (*Daphne mezereum*, от лат. *mezereum* – смертельный), обязан своему названию и действию содержащимся в ягодах дикумаролам.

Важное практическое значение имеют и **фурокумарины** или фуранокумарины, представляющие собой изопренилированные кумарины с дополнительным фурановым кольцом. Они обладают выраженными коронарорасширяющим, спазмолитическим, противосудорожным, противоопухолевым и антисептическим эффектами. Благодаря способности линейных фуро-

кумаринов – псораленов увеличивать чувствительность кожи к УФ (фотосенсибилизирующий эффект), они интенсивно изучаются в связи с перспективой использования в фотохимиотерапии раковых заболеваний. Специфически связываясь с пиримидиновыми основаниями (цитозином и тиминном) ДНК, они блокируют процессы транскрипции, а при действии УФ в области 320-400 нм становятся цитотоксичными. Было также установлено, что при действии света фуранокумарины способны модифицировать биологические молекулы, вызывая в конечном счете стимуляцию работы иммунной системы.

Фурукумарины содержатся в ряде пряных растений семейства Зонтичные (пастернак, борщевик, любисток, сельдерей, петрушка), руте душистой, инжире, цитрусовых и др. Не рекомендуется использовать содержащие их продукты перед контактом с солнечными лучами, поскольку это может привести к фотофитодерматитам. Особенно болезненные, длительно незаживающие ожоги появляются при контакте кожи с видами пастернака и борщевика (*Heracleum sosnowskyi*). Оксифурукумарин бергаптол является компонентом бергамотового эфирного масла, который может служить причиной фотодерматитов даже в составе духов. Вместе с тем метоксифурукумарин бергаптен из плодов пастернака посевного (*Pastinaca sativa*) в малых дозах используют для повышения пигментации кожи при лечении витилиго («географическая болезнь»).

Витилиго (песь) (лат. vitiligo – «накожная болезнь» от vitium) – нарушение пигментации, выражающееся в исчезновении пигмента меланина на отдельных участках кожи. Возникает на коже, предположительно, в результате действия некоторых лекарственных и химических веществ, нервно-трофических, нейроэндокринных и аутоиммунных факторов меланогенеза, а также после воспалительных и некротических процессов на коже. Предрасположенность к витилиго может наследоваться. Природа заболевания до конца не изучена.

Нафтохиноны (C₆C₄-ряд) являются хиноидными пигментами растений и часто выделяются в форме окрашенных продуктов. Производные 1,4-нафтохинона могут содержать гидроксильные, метильные, пренильные и другие группировки.

При окислении фенолов образуются хиноны (бензохиноны). В свободном состоянии хиноны в растениях практически не встречаются, зато распространены их производные. Всего известно более 100 этих веществ. Например, производными бензохинонов являются пластохинон и убихинон.

Пластохинон содержит длинную изопреноидную боковую цепь, имеющую от 6 до 10 изопреновых звеньев, является компонентом фотосинтетической системы переноса электронов в хлоропластах, выполняя роль «челнока» между двумя фотосистемами.

Убихинон применяется в медицине в качестве антиоксиданта. Препараты на его основе рекомендованы для повышения работоспособности при нагрузках и в неблагоприятных климатических условиях, при умственном и физическом перенапряжении, а также при хронических заболеваниях легких, недостаточности кровообращения и других заболеваниях, сопровождающихся гипоксией. К производным бензохинона относится красный пигмент му-

хомора красного – мускаруфин, проявляющий антибиотическое и противоопухолевое действие и входящий в состав некоторых лекарственных средств. Бензохинон примин – жгучее вещество некоторых видов примулы (*Primula obconica*), вызывающее аллергические реакции при контакте с растением.

Нафтохиноны относятся к более редким ФС. Это вещества C₆-C₄-ряда, у которых к ароматическому кольцу присоединены четыре дополнительных атома углерода. Свободные нафтохиноны встречаются в составе ядерной древесины деревьев часто в виде ди-, три- и тетрамеров. При экстрагировании нафтохиноны часто окисляются и выделяются в виде окрашенных продуктов. Нафтохиноны – пигменты растений, которые найдены в различных органах (в корнях, древесине, коре, листьях, плодах и реже в цветках). Обычно эти соединения встречаются в восстановленной и гликозилированной форме.

Природными нафтохинонами являются филлохинон и менахинон, относящиеся к витаминам группы К и участвующие в процессе передачи электронов при фотосинтезе. Филлохинон – это первичный акцептор электрона в фотосистеме I, менахинон – переносчик протонов и электронов в фотосистеме II. Филлохинон (витамин К₁) обладает кровоостанавливающим действием; способствует нормальному свертыванию крови, катализируя образование белка протромбина. Филлохинон содержится в листьях люцерны, шпината, цветной капусте, плодах шиповника, хвое сосны и зеленых томатах. В растениях обнаружены и другие нафтохиноны.

Известными темноокрашенными пигментами нафтохинонового происхождения являются юглон и его предшественник гидроюглон, содержащиеся в листьях и околоплодниках разных видов рода *Juglans*. Фитонцидные и аллелопатические свойства юглона настолько сильны, что вокруг орехового дерева подавляется почвенная микрофлора и прорастание семян.

Среди наиболее известных можно привести лавсон из лавсонии неколючей (*Lawsonia alba*), юглон из оболочек ореха черного (*Juglans nigra*) и производное юглона гидроюглон, содержащийся в листьях грецкого ореха (*Juglans regia*). Для растений юглон имеет защитное значение. Образуюсь в опавших листьях ореха, юглон ингибирует прорастание семян других видов, подавляет почвенную микрофлору. Антибактериальное и противовирусное действие юглона используется в медицине. Препараты из околоплодников и листьев грецкого ореха обладают бактерицидным, общеукрепляющим, кровоостанавливающим, противовоспалительным, ранозаживляющим действием. В косметике юглон используется как краситель для волос.

Еще в Древнем Египте применяли желто-коричневую краску хну, основной компонент которой – лавсон – получил свое название от растительного источника – *Lawsonia alba* семейства Дербенниковые, а также красный пигмент алканин из корней растений семейства Бурачниковые. Остальная листва перерабатывается в краску для волос. Из стеблей получают бесцветную хну. Хна укрепляет волосы, препятствуя их выпадению, поэтому при длительном использовании хны волосы становятся, крепкими и блестящими. Красящим веществом хны является нафтохинон лавсон. Красный пигмент алканин и его оптический изомер шиконин выделяют из корней некоторых

представителей семейства Бурачниковые, в т.ч. алканна красильная (*Alkanna tinctoria*), воробейник краснокорневой (*Lithospermum erythrorhizon*), синяк (*Echium vulgare*), оносма (*Onosma*). лавсон алканин (шиконин)/

В настоящее время оптический изомер алканина шиконин получают из культуры клеток воробейника краснокорневого (*Lithospermum erythrorhizon*), который обладает антибактериальными, противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами, а также используется как пищевой краситель.

Так, из корня алканны можно получить красивую красную краску. В Египте обнаружены окрашенные алканной ткани, которые датируются XIV в. до н.э. Спиртовой настой корней алканны, содержащий алканин, употребляют в микроскопии в качестве реактива на масла и жиры, иногда применяют для окраски вин и пищевых продуктов, а также как краситель для шерсти и шелка. На основе клеточной культуры воробейника получают препарат «Масло шикониновое», являющийся нестероидным противовоспалительным средством.

Тема 10 Растительные фенолы. Часть 2.

- 1 Ксантоны, бензофеноны, стильбены и антрахиноны.
- 2 Флавоноиды, изофлавоноиды и неофлавоноиды.
- 3 Катехины и антоцианы.
- 4 Полимерные фенольные соединения.

1 Ксантоны, бензофеноны, стильбены и антрахиноны.

Ксантоны содержат два ароматических кольца, соединенных мостиком из одного углеродного атома (соединения $C_6-C_1-C_6$ -ряда). Известно около 70 ксантонов. Эти вещества представлены в основном в растениях семейств горечавковые и камеденосные. У растений широко распространен мангиферин, который встречается даже у папоротников. Из листьев многолетних травянистых растений семейства Бобовые – копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum*) и копеечника желтеющего (*H. flavescens*), получен препарат алпизарин, в состав которого входит ксантон мангиферин. Алпизарин применяют при лечении герпеса и других кожных заболеваний.

Ксантоном является гентизеин, выделенный из горечавки желтой (*Gentiana lutea*) – травянистого многолетника семейства горечавковые. Из корней горечавки получают желтый краситель гентизин, который обуславливает окраску корневищ растения. Лекарственные препараты горечавки желтой улучшают функциональную деятельность практически всех органов пищеварения – возбуждают аппетит, стимулируют секрецию желудочных желез, усиливают моторику пищеварительного тракта.

Особенностью бензофенонов, которые, как и ксантоны, являются соединениями $C_6-C_1-C_6$ -ряда, является способность поглощать УФ-лучи. Это определяет их применение во многих косметических средствах (кремы, лосьоны, мази для загара, шампуни, губная помада, лаки для ногтей и т.д.) в каче-

стве солнцезащитных фильтров. Некоторые из бензофенонов обладают противомикробной активностью и могут использоваться как консерванты.

Стильбены и антрахиноны содержат два ароматических кольца, соединенных мостиком из двух углеродных атомов (соединения $C_6-C_2-C_6$ -ряда). Стильбены – это сравнительно небольшая группа веществ, которые встречаются в основном в древесине различных видов сосны, ели, эвкалиптов и являются структурными элементами таннидов. Так, у сосны (*Pinus*) обнаружен пиносильвин, у эвкалипта (*Eucalyptus*) – ресвератрол.

Ресвератрол – один из самых мощных природных антиоксидантов. Он содержится в кожце красных сортов винограда, блокирует свободнорадикальные реакции в организме человека, снижая вероятность сердечно-сосудистых заболеваний. Ресвератрол в больших количествах встречается в красном вине. Наиболее распространенным стильбеном является лунуларовая кислота, которая у печеночных мхов и водорослей выполняет функции ингибитора роста, подобно абсцизовой кислоте.

Антрахиноны являются производными антрацена. Антраценопроизводные – это группа природных соединений желтой, оранжевой или красной окраски, в основе строения которых лежит антрацен разной степени окисления. В растениях, грибах и лишайниках выделено более 200 антрахинонов. Они встречаются как в свободном виде, так и в виде гликозидов главным образом в коре, древесине и корнях цветковых растений. В зависимости от степени окисления антрацена антраценопроизводные делятся на две группы – окисленные (производные антрахинона) и восстановленные (производные антрона, антранола и др.).

Большинство природных антраценопроизводных относится к антрахиноновому типу, т.к. антрон и антранол лабильны и легко окисляются кислородом воздуха до антрахинонов. Антраценопроизводные – кристаллические вещества желтого или оранжево-желтого цвета. Агликоны их хорошо растворимы в этиловом эфире, хлороформе, бензоле и др. неполярных органических растворителях, а также в водных растворах щелочей, образуя окрашенные феноляты. Значительно хуже агликоны растворяются в воде. Гликозиды, напротив, хорошо растворимы в воде и в полярных органических растворителях.

Присутствие антраценопроизводных легко обнаружить по характерной оранжевой окраске корней и коры. Растения, содержащие антраценопроизводные, принадлежат к семействам крушиновые, гречишные, цезальпиниевые, лилейные, мареновые, зверобойные. Источниками сырья, содержащего производные антрацена, служат дикорастущие виды: зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum*), крушина ольховидная (*Frangula alnus*), крушина слабительная, или жостер, (*Rhamnus cathartica*), а также культивируемые растения: кассия остролистная, или сенна, (*Cassia acutifolia*), алоэ древовидное (*Aloe arborescens*), ревень тангутский (*Rheum palmatum*), марена красильная (*Rubia tinctorum*).

Накапливаются антраценопроизводные в различных органах, поэтому растительным сырьем являются листья (алоэ и кассия), надземная часть рас-

тений (зверобой продырявленный), корни и корневища (речень тангутский, марена красильная), кора (крушина ольховидная), плоды (крушина слабительная). В лекарственное сырье обычно входит смесь антраценопроизводных. Многие антраценопроизводные усиливают перистальтику толстых кишок, поэтому лекарственное растительное сырье, их содержащее, применяют в качестве слабительных средств (сенна, крушина ольховидная, жостер, речень) в форме настоев, сухих экстрактов и различных комплексных препаратов.

Алоэ древовидное (*Aloe arborescens*) – многолетний листовый суккулент семейства асфodelовые. Это сильно ветвящееся дерево высотой 2-3 м или кустарник. Родиной является южная и тропическая Африка. В комнатной культуре алоэ известно под названием столетник. Кроме того, антраценосодержащие растения используются при заболеваниях почек и печени (марена красильная) как антисептические, противовоспалительные средства (зверобой продырявленный).

Сгущенный при нагревании в твердую массу сок из листьев различных видов алоэ, известный под названием сабур, с древних времен широко использовался как лекарственное средство. В трудах арабского путешественника и географа Ирдиси упоминается о том, что остров Сокотра был завоеван войском Александра Македонского из-за производства целебного сухого сока алоэ, который высоко ценился как лекарство. В настоящее время из различных видов алоэ (*Aloe arborescens*, *Aloe barbadensis* и др.) получают лекарственные препараты и биологически активные добавки, используют в медицине, ветеринарии, косметологии, пищевой промышленности.

Крушина ольховидная (*Frangula alnus*) и крушина слабительная, или жостер, (*Rhamnus cathartica*) относятся к разным родам семейства крушиновые. Сырьем крушины ольховидной, или ломкой, которая широко произрастает в Европе, является кора, которую заготавливают ранней весной до появления листьев и применяют после хранения в течение года. Отвар незрелых плодов даст желтую окраску, спелых – зеленую. Крушина слабительная, или жостер, (*Rhamnus cathartica*) распространена в тех же районах, что и крушина ломкая, но является менее холодостойкой. Сырьем являются зрелые плоды (костянки), которые заготавливают осенью.

Из плодов получают краску (желтую – из незрелых, зеленую – из зрелых), которую используют для окрашивания тканей и в живописи. Краску извлекают и из коры: из свежей – ярко-желтую, из высушенной – коричневую. Кассия остролистная, или сенна, (*Cassia acutifoli*) – полукустарник семейства цезальпиниевые. Родина растения Африка. Поскольку листья сенны раньше вывозили на мировой рынок через порт Александрию, сырье получило другое название – александрийский лист. Кроме листа используются плоды сенны (александрийский стручок).

Реже антраценопроизводные содержатся в растениях в виде производных 1,2-дигидрокси-9,10-антрахинона, или ализарина. В античные времена ализарин был самым распространенным красителем. Этот антрахиноновый краситель до сих пор не потерял свое промышленное значение. Для краше-

ния ализарином ткань сначала пропитывают раствором соли сульфированного касторового масла, затем раствором квасцов (алюминиевых – для красного цвета, хромовых – для фиолетово-черного цвета). Таким образом, сульфокислота закрепляется на ткани и превращается в нерастворимую соль трехвалентного металла.

Затем протравленную таким образом ткань кипятят с ализарином, который образует с трехвалентным металлом окрашенный нерастворимый лак. Ализарин содержится в корнях и корневищах марены красильной (*Rubia tinctorum*) – многолетнего травянистого растения семейства мареновые. Видовое название растения связано с использованием марены до искусственного получения ализарина из каменноугольного дегтя (1868 г.) в качестве основного источника получения красной краски (марена, кумач), отличающейся большой прочностью. Толченый корень марены носил название крапп.

Еще в древнем Египте крапп использовали для получения красок разных цветов. Содержащийся в краппе ализарин давал с железной протравой фиолетовые и черные краски, с алюминиевой – ярко-красные и розовые, а с оловянной – огненно-красные. В настоящее время краску из марены в незначительном количестве получают для окрашивания ковров и тканей. Именно красителем, изготовленным на основе ализарина, и окрашивают знаменитые краповые береты военнослужащих Внутренних войск МВД России. Из сырья марены изготавливают таблетки, жидкий и сухой экстракты, комплексный препарат цистенал. Препараты марены способствуют выведению солей из организма (фосфатов, оксалатов, уратов), поэтому применяются при почечных заболеваниях, подагре, желчнокаменной болезни.

Антрахиноны обуславливают окраску некоторых насекомых, морских лилий, многощетинковых червей. Вещества хиноновой природы издавна употреблялись как красители. Наиболее известным античным красителем, приготовляемым из насекомых, является кармин, который в больших количествах получали из червецов (*Kermococcus ilicis*). Красящую основу кармина составляет кермезиновая кислота, являющаяся антрахиноном.

Активное начало другого красителя – кошенили составляет карминовая кислота, которую получали из другого насекомого отряда равнокрылые (*Dactylopius coccus*). В начале XIX в. во многих странах был широко распространен кошенильный кактус нопалея кошениленосная (*Nopalea cochenillefera*), на котором в огромных количествах размножалась тля кошениль. Из высушенных насекомых получали алую краску, которую использовали для шелка и сукна, а также как пищевой краситель.

2 Флавоноиды, изофлавоноиды и неофлавоноиды.

Флавоноиды – фенольные соединения, в основе структуры которых лежит скелет, состоящий из $C_6-C_3-C_6$ -углеродных единиц. Свое название флавоноиды получили от латинского «flavus», что означает «желтый», т.к. впервые выделенное Шевроле в 1814 г. из коры одного из видов дуба вещество флавоноидной природы, впоследствии названное кверцетином, было желтой окраски. Большую работу по изучению антоцианов провел Р. Вильш-

теттер. Исследованиями катехинов занимались А.Л. Курсанов, М.Н. Запрометов, К. Фрейденберг и др. Интерес к флавоноидным соединениям особенно возрос в 40-е годы XX в.

Флавоноиды привлекают внимание ученых биологической активностью, низкой токсичностью и высокой избирательностью действия на человеческий организм. Это одна из наиболее распространенных групп ФС. К концу XX в. число выделенных из растений и идентифицированных флавоноидов составляло около 5000 соединений. Разнообразие достигается за счет различной природы и расположения заместителей в ароматических кольцах, наличия асимметрических атомов углерода, способности образовывать гликозиды с различными сахарами. Флавоноиды объединяет общность путей биосинтеза в растениях.

Флавоноиды – кристаллические соединения, бесцветные (изофлавоны, катехины, флавононы, флавононолы), желтые (флавоны, флавонолы, халконы и др.), красные или синие (антоцианы). Флавоноиды обладают оптической активностью, способны к кислотному и ферментативному гидролизу, под влиянием света и щелочей легко окисляются. При нагревании до температуры 200 °С эти соединения возгоняются, а при более высокой температуре разрушаются.

Флавоноиды широко распространены в растительном мире. Они обнаружены у мхов, зеленых водорослей, папоротникообразных, голосеменных, покрытосеменных растений. Наиболее богаты флавоноидами семейства цитрусовые, гречишные, яснотковые, розовые, бобовые, сложноцветные и др. Локализуются флавоноиды в основном в надземной части: листьях (горец перечный, горец почечуйный, горец птичий, сушеница топяная, череда, зверобой); цветках (пижма, бессмертник песчаный, василек синий); плодах (софора японская, рябина черноплодная, цитрусовые). Реже они накапливаются в стеблях и корнях (солодка, шлемник байкальский).

В растениях флавоноиды содержатся в свободном состоянии и в виде гликозидов. Большинство флавоноидов обнаруживается в клеточном соке, но небольшие количества могут присутствовать в хлоропластах высших растений. Содержание флавоноидов в растениях в среднем составляет 0,5-5 %, но иногда достигает 20 % (в цветках софоры японской). На биосинтез флавоноидов существенное влияние оказывают внешние факторы. Накоплению флавоноидов способствуют умеренная влажность и температура, обеспеченность азотом, калием, фосфором. Свет стимулирует синтез флавоноидов, особенно антоцианов, влияя, главным образом, на активность ферментов, участвующих в этом процессе.

В надземной части максимальное накопление флавоноидов отмечается в период бутонизации и цветения, в подземных органах – в период плодоношения. Однако проявляются и индивидуальные различия. Установлено, что максимальное содержание флавоноидов в соцветиях пижмы наблюдается в период бутонизации, в листьях вахты трехлистной – в период плодоношения. В хвоще полевом выделяют два периода максимального накопления флаво-

ноидов: в фазу активного роста и в конце вегетации. Динамику накопления флавоноидов учитывают при сборе лекарственного сырья.

Так, в фазу цветения собирают цветки василька синего, пижмы, бессмертника; траву сушеницы, горцев. Траву череды собирают в период бутонизации. В молодых тканях содержится больше флавоноидов, чем в зрелых, поэтому молодые побеги и листья приобретают красную окраску в отличие от зеленых зрелых листьев. Примером является темно-красная окраска стеблей и листьев у первых весенних побегов розы. Ранней весной часто можно наблюдать красно-зеленую окраску проростков злаков. Можно предположить, что антоциановые пигменты отражают яркие солнечные лучи, предохраняя растение от чрезмерного перегрева.

Биологическая роль флавоноидов выяснена недостаточно. Предполагается, что их функции связаны с процессами размножения, участием в процессах фотосинтеза и окислительного фосфорилирования, о чем свидетельствует высокая интенсивность дыхания у антоциан-содержащих растений. Флавоноиды играют роль фильтров в растениях, предохраняя ткани от вредного воздействия УФ-лучей, выполняют защитную функцию в отношении сопротивляемости болезням. Еще Ч. Дарвин заметил, что мутанты диких видов, у которых отсутствует антоцианы, бывают не жизнестойкими, подвергаясь различным заболеваниям, вызываемым грибами.

Флавоноиды отличаются широким спектром действия на организм человека. Они имеют Р-витаминную активность, уменьшают хрупкость кровеносных капилляров, оказывают успокаивающее, кардиотоническое и спазмолитическое действие. Флавоноиды используются как противовоспалительные, противоязвенные, диуретические средства. Этим объясняется применение растений, накапливающих флавоноиды, в медицине. Некоторые обладают кровоостанавливающими свойствами (горец перечный, горец почечуйный), служат хорошими желчегонными средствами (бессмертник, пижма).

В последние годы установлено противоопухолевое и противолучевое действие флавоноидов. Они связывают и выводят из организма радионуклиды. Обычно флавоноиды находятся в растениях в комплексе с другими биологически активными веществами и используются суммарно. Изучение флавоноидов *in vitro* показало, что они являются мощными антиоксидантами, защищают клетки от свободно-радикального окисления. К числу важнейших биологических свойств флавоноидов относится их антимикробное и антивирусное действие. Показано, что катехины обладают антивирусным действием по отношению к гриппу и герпесу.

Изофлавоноиды – класс фенольных соединений флавоноидов, многие из которых являются биологически активными веществами. Изофлавоноиды и их производные иногда называют фитоэстрогенами, поскольку многие из них оказывают свой биологический эффект через взаимодействие с рецептором эстрогена. В медицине изофлавоноиды и их производные используются в биологических добавках, хотя медицинское и научное сообщество в целом относится к этому скептически. Недавно, было обнаружено, что некоторые природные изофлавоноиды являются токсинами.

3 Катехины и антоцианы

Катехины – это наиболее восстановленная группа флавоноидных соединений, сходных по химической структуре с общей формулой: Среди катехинов наиболее известны катехин и галлокатехин. Катехин впервые был выделен из древесины акации катеху (*Acacia catechu*), отсюда и название этой группы веществ. Катехины найдены у более чем 200 видов растений. Они содержатся во многих плодах (яблоки, груши, вишня, айва, персики, сливы, абрикосы, ежевика, земляника, брусника, смородина, виноград), в коре и древесине деревьев (ива, дуб, сосна, пихта, кипарис, акация, эвкалипт).

Особенно много катехинов в листьях и молодых побегах чая (до 30 %). К числу катехинов чайного листа относятся эпикатехин (R -H, R 1 -H), эпигаллокатехин (R -H, R 1 -OH), эпикатехингаллат (R – остаток галловой кислоты, R 1 -H) и эпигаллокатехингаллат (R – остаток галловой кислоты, R 1 -OH). Катехины, как правило, существуют в свободном состоянии, но могут образовывать эфиры с галловой кислотой (катехингаллаты и галлокатехингаллаты). Катехины не имеют окраски, но могут давать начало окрашенным продуктам. Так, коричнево-красный цвет настоя черного чая обусловлен продуктами, образующимися из катехинов в процессе ферментации листьев чайного дерева.

Катехины играют важную роль в производстве какао, виноделии и чайной промышленности. Это связано с тем, что продукты окисления катехинов обладают характерной окраской и приятным слабо-вяжущим вкусом. Это определяет цвет и вкусовые качества конечного продукта. При этом катехины обладают высокой Р-витаминной активностью, укрепляют капилляры и нормализуют проницаемость стенок сосудов. Такой же активностью обладают и димеры катехинов в чае. Катехины в качестве мономеров входят в состав конденсированных дубильных веществ.

Антоцианы (от греческого *antos* – цветок и *kyanos* – синий) являются основными красящими веществами растений. Именно антоцианы обеспечивают растительным организмам многообразие окраски цветов, плодов и листьев широкого спектра оттенков – от розового до черно-фиолетового. Строение антоцианов установлено в 1913-1916 гг. немецким химиком и биохимиком Р. Вильштеттером. Антоцианы содержат в гетероциклическом ядре оксониевый кислород. Благодаря такой структуре антоцианы легко образуют прочные твердые интенсивно окрашенные соли.

Антоцианы поглощают лучи, малодоступные для хлорофилла. Спектр поглощения имеет два максимума в областях 250-300 нм и 500-550 нм. Антоцианы растворимы в воде и находятся в клеточном соке. Все антоцианы – гликозиды, соответствующие им агликоны носят название антоцианидины. В настоящее время известно более 20 антоцианидинов. Название антоцианов, как правило, дается по названию цветка, из которого они были выделены впервые. Установлена корреляция между окраской цветков и структурой антоцианов, которые в них содержатся.

Большинство красно-оранжевых цветков содержат пеларгонидин, красно-вишневых – цианидин, а пурпурно-синих – дельфинидин. Пеларгонин содержится в цветках герани розовой (*Geranium roseum*), васильков (*C. entaurea*), георгин (*Dahlia*), астр (*Aster*), в плодах земляники (*Fragaria vesca*). Малиновый цианидин обнаружен в цветках тюльпанов (*Tulipa*), львиного зева (*Antirrhinum*), в плодах брусники (*Vaccinium vitis-idaea*), смородины (*Ribes*), рябины (*Sorbus*), ежевики (*Rubus*), вишни (*Cerasus*). Розово-лиловый дельфинидин встречается в ягодах черники (*Vaccinium myrtillus*) и винограда (*Vitis*), в кожуре баклажана синего (*Solanum melongena*), в соке плодов гранатового дерева (*Punica granatum*), в цветках петунии (*Petunia*), пролески (*Scilla*) и садового гиацинта восточного (*Hyacinthus orientalis*).

Разные антоцианы могут присутствовать одновременно в одном и том же растении, но в разных его частях. Так, у настурции в лепестках обнаружен пеларгонидин, в коробочках – цианидин, в листьях – дельфинидин. Более распространенным является присутствие в растениях только одного антоциана.

Содержание антоцианов в клеточном соке колеблется в широких пределах – от 0,01 до 15 %. В лепестках георгина найдено 15-24 % красящего вещества, в цветках сине-фиолетовых анютиных глазок – до 33 % антоциана, у пеларгонии – до 7 %. Антоцианы могут синтезироваться и накапливаться в различных частях растений – в листьях, древесине, корнях, плодах, семенах, во всех частях цветков, главным образом в лепестках. Окрашенными благодаря присутствию антоцианов могут быть листья (краснокочанная капуста, колеус), стебли (ревень), коренья (свекла). Антоциановая окраска характерна для многих красных плодов, таких как земляника, малина, вишня, яблоки, в которых наличие антоцианов является признаком зрелости.

В плодах антоцианы находятся, прежде всего, в эпидермальном слое. У некоторых сортов вишни и черешни они встречаются только в эпидермисе, у других – и в мякоти, причем в эпидермисе их больше. Окраска антоцианов зависит от ряда факторов, не случайно М.С. Цвет называл их «растительными хамелеонами».

Во-первых, от концентрации антоцианов. В васильке синем содержится 0,05 % цианина, а в темно-пурпурном – 13-14 %. Большинство «черных» плодов (ежевика, черный виноград и др.) на самом деле окрашены в интенсивный красный или пурпурный цвет благодаря присутствию антоцианов в чрезвычайно высоких концентрациях. Эта подтверждается тем фактом, что черный виноград даст красное вино, в котором содержание антоцианов значительно ниже.

Во-вторых, от значения pH клеточного сока. Все антоцианы – кислотно-основные индикаторы. В кислой среде их окраска сдвигается в сторону красных оттенков, а в щелочной – в сторону синих (или сине-зеленых) оттенков, в нейтральной среде окраска является фиолетовой. При значении pH меньше 6 окраска карминово-красная, 6 – фиолетовая, 8 – синяя, 10 – зеленая. Таким образом, один и тот же антоциан может являться причиной окраски как синих, так и красных цветков. Кислая почвенная среда вызывает из-

менение окраски, при этом, например, у герани скальной с синими цветками появляются розовые лепестки.

Некоторые розовые и красные цветы при завядании синеют, что указывает на изменение значения pH в отмирающих клетках. У таких растений, как медуница (*Pulmonaria*), окопник (*Symphytum*), синяк (*Echium*) после опыления окраска цветов изменяется от розовой до синей, что связано с реакцией клеточного сока. Изменения в окраске антоцианов можно наблюдать, добавляя кислоту или щелочь к окрашенному соку смородины, вишни, свеклы или краснокочанной капусты. Если красную розу некоторое время подержать в парах аммиака, ее окраска меняется на синюю.

В-третьих, от комплексообразования антоцианов с катионами. В лепестках василька и розы содержится цианин, который в свободном виде присутствует в лепестках красной розы и обуславливает красную окраску. В лепестках синего василька цианин образует комплекс с железом (4 молекулы цианина связаны с одним атомом Fe). Mg - и Ca -соли придают антоцианам синюю окраску, а K-соли – пурпурную. У гортензий дельфинидин присутствует как в розовых, так и в синих цветках, однако в синих дельфинидин образует комплексы с ионами аммония и молибдена. Обогащение питательной среды соответствующими ионами металлов приводит к изменению окраски цветков. Так, если гортензию (*Hydrangea*) с розовыми цветками выращивать на минеральной среде с добавлением алюминия и молибдена, то цветки приобретают синюю окраску.

В-четвертых, окраска зависит от смеси антоцианов и присутствия в клеточном соке других веществ фенольной природы – копигментация. В растениях чаще всего встречаются несколько антоцианов, определенная комбинация которых и обеспечивает характерную окраску. Например, в цветках и клубнях картофеля обнаружено 10 антоцианов. Окраска плодов черники обусловлена копигментацией дельфинина и мальвина. На окраску влияет также копигментация антоцианов с другими веществами, например, с дубильными веществами, флавонами, флавонолами.

Так, пурпурные и темно-красные розы содержат один и тот же цианин, но у темно-красных он копигментирован с большим количеством танина. Окраска цветков синего ириса обусловлена присутствием дельфинидина, стабилизированного флавоном путем копигментации. И наконец, окраска антоцианов зависит от содержания в одном из ароматических колец групп -ОН и -ОСН₃. Увеличение количества групп -ОН в молекуле антоциана усиливает интенсивность синей окраски, а групп -ОСН₃ – красной. Различная окраска антоцианов связана также с сочетанием с пигментами, содержащимися в пластидах. Так, при сочетании синих антоцианов клеточного сока и желто-оранжевых каротиноидов хромопластов получается коричневая окраска лепестков некоторых цветков.

4 Полимерные фенольные соединения

К полимерным фенольным соединениям относятся дубильные вещества, лигнины и меланины.

Дубильные вещества. Термин «дубильные вещества» был введен в конце XVIII в. Сегеном для обозначения веществ, способных осуществлять процесс дубления, т.е. дубить (модифицировать) невыделанную шкуру животных, превращая ее в кожу.

Под влиянием этих веществ шкура животного становилась эластичной, гидрофобной, устойчивой к внешним воздействиям, прочной и приобретала способность длительное время противостоять гниению.

Поскольку для обработки шкур использовалась кора и все части дуба, особенно «дубильные орешки» - галловые образования на листьях дуба, то процесс обработки получил название дубления, а вещества – дубильными. Дубильными (чаще пищевыми дубильными) называют также более низкомолекулярные вещества, обладающие вяжущим вкусом, но не способные к настоящему дублению. Они присутствуют во многих плодах (айва, яблоки, хурма, виноград), в листьях чая. Дубильные вещества, или таннины, – растительные высокомолекулярные фенольные соединения, способные кроме белков осаждать и алкалоиды. По химической структуре таннины представляют собой глюкозу, ацилированную остатками м - галлоилгалловой кислоты.

Главное практическое свойство таннинов – способность связываться с белками, модифицировать их, осаждать белки из раствора, т.е. «дубить». Дубление основано на взаимодействии дубильных веществ с белком кожи коллагеном, что приводит к образованию устойчивой структуры. Процесс обработки кож включает несколько стадий. На первом этапе производят удаление всех побочных продуктов, которые заполняют промежутки между волокнами коллагена путем выщелачивания или вымачивания в растворе золы. Только после этого для скрепления коллагеновых волокон используют дубильные вещества.

Дубильные вещества широко встречаются у водорослей, грибов, лишайников, в плаунах, хвощах, папоротниках, у представителей покрытосеменных и голосеменных растений. Особенно их много у двудольных растений. Значительное количество дубильных веществ содержат представители семейств ивовые, гречишные, вересковые, буковые, сумаховые. У представителей некоторых семейств, например, розовые, бобовые, миртовые их содержание достигает до 20-30 % и более. Вместе с тем, у растений семейств пасленовые, мальвовые дубильные вещества не обнаружены.

Наибольшее количество дубильных веществ используется в кожевенной промышленности. Начало применения растительных дубителей для обработки шкур теряется в глубокой древности. Так, в северной Германии дубленые кожи найдены в раскопках поселений человека, жившего за 10 000 лет до н.э. Отмечая важную роль растительных дубителей, нельзя не отметить изменения в их потреблении. В XIX в. в мире наиболее распространенными были дубители, получаемые из дуба.

В России первый завод по выделке сафьяна (тонкой и мягкой кожи из шкур коз и овец), грубых кож и крашеного шелка был организован «по указу царскому» под Москвой во второй половине XVII в. (слобода Кожевники). Но поскольку завод работал исключительно на привозном сырье, он был за-

крыт, т.к. привозимый товар стоил дешевле отечественного. Однако в XVIII в. русские кожи (особенно прочная и мягкая юфть) экспортировались за границу. Дубильная промышленность России получила развитие в XIX в. после того, как стали применяться дубильные экстракты, которые впервые были получены в 1853 г. из коры ели.

Использование таннинов в виноделии связано с их ингибирующим действием на ферменты и микроорганизмы, что предотвращает помутнение вин и улучшает их качество. С помощью чайного таннина стабилизируют бетацианин – пищевой красный краситель, получаемый из столовой свеклы. В медицинской практике дубильные вещества применяют как вяжущие, обволакивающие и антацидные средства. Водный раствор таннина при нанесении на слизистые оболочки или на раневую, обожженную поверхность вызывает частичное связывание ядовитых белковых продуктов распада тканей и способствует заживлению ожоговых ран.

В качестве фармацевтических средств используют дубильные вещества из листьев скумпии и сумаха (танальбин), коры дуба, травы зверобоя и череды, корневища змеевика, лапчатки (калгана) и кровохлебки, соплодия ольхи, плоды черники и черемухи, листья шалфея (сальвин), цветки ромашки (рекутан, рокотан).

Существует несколько классификаций дубильных веществ. Одна из них основана на способности дубильных веществ разлагаться при нагревании с образованием пирокатехина или пирогаллола. Согласно классификации К. Фрейденберга, дубильные вещества подразделяют на: гидролизуемые, распадающиеся в условиях кислотного или ферментатического гидролиза на более простые соединения фенольной и нефенольной природы; конденсированные, не распадающиеся под действием кислот, а образующие продукты конденсации – флобафены.

Гидролизуемые дубильные вещества при нагревании с разбавленными кислотами распадаются на фенольные кислоты и сахара. К этой группе относятся галлотаннины, эллаготаннины и несахаридные эфиры карбоновых кислот. Галлотаннины – сложные эфиры сахара и галловой кислоты. В растениях встречаются моно-, ди-, три-, тетра-, пента- и полигаллоильные эфиры. Дубильные вещества, экстрагируемые из некоторых растительных тканей, например, из коры дуба, представляют собой производные депсидов. Примером простейшей структуры моногаллоильного производного глюкозы может служить глюкогаллин, обнаруженный в корнях ревеня.

Конденсированные дубильные вещества, в отличие от гидролизуемых, при нагревании с разбавленными кислотами подвергаются дальнейшему уплотнению с образованием аморфных, нерастворимых в воде полимерных соединений – флобафенов, которые имеют коричнево-красную окраску. Они являются линейными высокомолекулярными полимерами катехинов или лейкоантоцианов, или их сополимерами. Оксистильбены могут конденсироваться, образуя при этом сополимеры флаванов и оксистильбенов.

Лигнин входит в состав клеточных оболочек. В древесине содержится около 25 % лигнина. Он откладывается между микрофибриллами целлюлозы,

что придаст клеточным оболочкам твердость и прочность. При этом нарушается связь между клетками, что приводит к отмиранию содержимого, поэтому лигнификация является заключительным этапом онтогенеза клетки. Хотя про пути биосинтеза лигнина известно многое, окончательно они еще не выяснены.

Меланины – полимеры фенольной природы, которые широко распространены в растительных и животных организмах как пигменты, ответственные за большинство природных окрасок черного цвета. Черные пигменты животных называют эумеланинами, а черные пигменты растений – алломе- ланинами. Меланины имеют черный или коричнево-черный цвет и у растений обуславливают окраску оболочек семян и плодов. Меланины обнаружены в семенах подсолнечника, арбуза, в оболочках конских бобов и люпина. На цветках иногда можно заметить черные пятна, полосы и другие метки, которые служат указателями направления для насекомых, их опыляющих.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРНИЦЫ

РАЗДЕЛ 5 РАЗНООБРАЗИЕ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ

Тема 11 Растительные гликозиды

- 1 Общая характеристика гликозидов
- 2 Классификация гликозидов.
- 3 Образование гликозидов в растениях и их роль.
- 4 Характерные представители гликозидов.

1 Общая характеристика гликозидов

Гликозиды – органические соединения, молекулы которых состоят из двух частей: углеводного (пиранозидного или фуранозидного) остатка и неуглеводного фрагмента (т. н. агликона). В качестве гликозидов в более общем смысле могут рассматриваться и углеводы, состоящие из двух или более моносахаридных остатков. Преимущественно кристаллические, реже аморфные вещества, хорошо растворимые в воде и спирте.

Гликозиды представляют собой обширную группу органических веществ, встречающихся в растительном (реже в животном) мире и/или получаемых синтетическим путём. При кислотном, щелочном, ферментативном гидролизе они расщепляются на два или несколько компонентов – агликон и углевод (или несколько углеводов). Многие из гликозидов токсичны или обладают сильным физиологическим действием, например, гликозиды наперстянки, строфанта и другие.

Свое название гликозиды получили от греческих слов *glykys* – сладкий и *eidos* – вид, поскольку они при гидролизе распадаются на сахаристую и несахаристую компоненты. Чаще всего гликозиды встречаются в листьях и цветках растений, реже в других органах. В состав гликозидов входят углерод, водород, кислород, реже азот (амигдалин) и только некоторые содержат серу (синальбин, мирозин).

Растения, содержащие гликозиды, привлекали к себе внимание ещё со времён глубокой древности. Так, египтяне и римляне применяли морской лук (*Drimia maritima*) для возбуждения сердечной деятельности. Препараты из семян и коры строфанта (*Strophantus hispidus*) использовались не только для возбуждения сердечной деятельности, но и для отравления стрел. Применение наперстянки (*Digitalis purpurea*) для лечения водянки было известно уже в 1785 году, когда В. Уитеринг впервые внедрил её в практическую медицину.

Первые попытки изучения веществ, выделенных из листьев наперстянки, относятся к 1809 году. В 1841 году из той же наперстянки была выделена смесь веществ, названная дигиталином; ещё ранее из миндаля П. Робике (1830 г.) выделил амигдалин.

В 1869 г. Нативелл выделил из наперстянки достаточно чистый дигитоксин. В 1889-1892 гг. Е. А. Шацкий опубликовал ряд работ, относящихся к гликозидам и алкалоидам. Особое развитие химия гликозидов, однако, получила с 1915 г., когда были опубликованы исследования Виндауса, Джекобса,

Штоля и Чеше и др. в области сердечных гликозидов. Из российских работ известны исследования Н. Н. Зинина о масле горьких миндалей (горьких гликозидах), Лемана о периплоцине, Куррота о ряде гликозидов, А. Е. Чичибабина, впервые получившего в 1913 г. синтетический амигдалин.

Химические и физические свойства. С химической стороны гликозиды представляют собой эфиры сахаров, не дающие карбонильных реакций, из чего следует, что карбонильная группа сахаров у них связана с агликоном, аналогично алкилгликозидам синтетических гликозидов.

В молекулах гликозидов остатки сахаров связаны с агликоном, который является фармакологически активной частью гликозида, через атом О, N или S.

В состав агликонов входят большей частью гидроксильные производные алифатического или ароматического рядов. Строение многих природных гликозидов недостаточно изучено.

При взаимодействии сахаров со спиртами, меркаптанами, фенолами и другими веществами в присутствии соляной кислоты получены синтетические гликозиды. Такого рода соединения особенно легко образуются при взаимодействии гидроксильных или иных производных с ацетохлор- или ацетобромглюкозой.

В том случае, когда при гидролизе гликозидов образуется глюкоза, такие соединения принято называть глюкозидами, при образовании других сахаров – гликозидами.

Гликозиды представляют собой твёрдые, не летучие, большей частью хорошо кристаллизующиеся, реже аморфные вещества, легко растворимые в воде и в спирте. Водные растворы гликозидов имеют нейтральную реакцию.

Хотя расщепление их на сахара и агликоны происходит очень легко, известны и такие гликозиды (сапонины), которые не разлагаются даже разбавленными кислотами (H_2SO_4) при длительном нагревании. При расщеплении гликозидов ферментами наблюдается известная избирательность; только определённый фермент способен разлагать тот или иной гликозид. Реже один фермент расщепляет несколько гликозидов, например, эмульсин расщепляет не только амигдалин, но и салицин, эскулин, кониферин и некоторые другие гликозиды, но не расщепляет синигрина. Фермент дрожжей расщепляет амигдалин до прунозина, напротив, эмульсин разлагает его до бензальдегидциангидрина.

Гидролизующее действие ферментов тесно связано со строением молекулы гликозида и асимметрией углеродных атомов сахаров. Так, например, правовращающий α -метилглюкозид расщепляется инвертином, в то время как его левовращающий изомер при этом не изменяется, напротив, β -метилглюкозид расщепляется эмульсином, не действуя на α -изомер. Природные гликозиды, расщепляемые эмульсином, обладают левым вращением.

Частичное расщепление гликозидов происходит отчасти в самом растении, поскольку энзим, находящийся в нём (хотя и в разных клетках), приходит иногда с ним в контакт. То же, при известных обстоятельствах, происходит при высушивании растений или изолировании из них гликозидов. По-

этому часто гликозиды, полученные из высушенных растений, резко отличаются от гликозидов, находящихся в свежем растении. В высушенном растении ферменты обычно не проявляют своего гидролитического действия, но при увлажнении водой, особенно при 35-50 °С, происходит интенсивная реакция гидролиза. При низкой температуре, в присутствии влаги, действие ферментов замедляется, а при 0 °С почти не обнаруживается. Выше 70 °С, напротив, происходит инактивация и разрушение ферментов.

В близкой связи с глюкозидами, то есть эфирами глюкозы, находятся пентозиды или рамнозиды, которые при гидролизе, наряду с агликонами, образуют рамнозу (например, франгулин, кверцетин), рамноглюкозиды, которые при гидролизе образуют рамнозу, глюкозу и другие сахара (например, рутин, гесперидин).

2 Классификация гликозидов.

Ранее весьма распространённая ботаническая классификация используется в настоящее время лишь для гликозидов неуставленного строения. Фармакологическая классификация, основанная на биологическом действии гликозидов, также не удержалась. Наиболее целесообразна химическая классификация, основанная на химическом строении агликонов или сахаров, образующихся при гидролизе гликозидов. В этом случае гликозиды получают название сахаров с прибавлением суффикса «ид». Так, гликозиды, отщепляющие пентозу, называются пентозидами, отщепляющие гексозу – гексозидами. Последние, в свою очередь, делятся на подгруппы, например, отщепляющие глюкозу называются глюкозидами, отщепляющие фруктозу или галактозу – фруктозидами, галактозидами и так далее.

Химическая классификация, основанная на природе наиболее характерных группировок агликонов:

1. Цианогенные или цианофорные гликозиды – образующие при гидролизе цианистоводородную кислоту; например, амигдалин, пруназин.
2. Фенолгликозиды – содержащие фенольную группу или образующие её при гидролизе.
3. Гликозиды группы кумарина. Гликозиды эти широко распространены в природе; к ним относятся, к примеру, кумариновый гликозид, скиммин, эскулин, дафнин, фраксин. Все они при гидролизе распадаются на кумарин и сахар.
4. Оксиантрахиноновые гликозиды – широко распространены в природе; они большей частью окрашены в красный или жёлтый цвета. К ним относятся многие слабительные, например, ревень, сенна, крушина, алоэ, содержащие производные оксиантрахинона. При гидролизе они распадаются на ди-, триоксиантрахиноны и сахар.
5. Гликоцинапиды – гликозиды, содержащие серу. Большой частью они встречаются среди крестоцветных. При гидролизе они при участии фермента мирозина образуют горчичное (эфирное) масло.
6. Сердечные гликозиды, содержащие в агликоне пергидроциклопентанофенантроновую структуру и характерный для данных гликозидов пяти-

членный (лактонный) цикл, наряду с ангулярной метильной или альдегидной группой при C₁₀.

7. Цереброзиды, получаемые из мозгов животных; они являются d-галактозидами сфингозина.

8. Фитостеролины – являющиеся гликозидами стеринов (они широко распространены в природе, но мало исследованы).

Согласно другой классификации, в зависимости от природы атомов, формирующих связь с агликоном, различают:

- О-гликозиды: -O-НН-O-C₆H₁₁O₅
- С-гликозиды: -С-НН-O-C₆H₁₁O₅
- N-гликозиды: -N-НН-O-C₆H₁₁O₅
- S-гликозиды: -S-НН-O-C₆H₁₁O₅

В зависимости от химической природы агликона лекарственные О-гликозиды делятся на группы:

Цианогенные гликозиды

Сердечные гликозиды

Сапонины (тритерпеновые и стероидные соединения)

Антрагликозиды (антрацен)

Гликозиды-горечи

3 Образование гликозидов в растениях и их роль.

Роль и значение гликозидов в растениях выяснена недостаточно. Хотя гликозиды обладают различным химическим составом, соединения с меньшим молекулярным весом значительно чаще встречаются в природе. Так, например, фазеолюнатин (или лимарин), содержащийся в фасоли, найден среди семейств лютиковых, лилейных, молочайных.

Ещё более распространены в природе гликозиды ароматической природы, являющиеся фенолами или эфирами фенолов, например, арбутин, метиларбутин, кониферин. Близок кониферину и гесперидин, который можно рассматривать как халкон, «родственно» связанный с антоцианами и флавонами. Образование простейшего халкона можно рассматривать как конденсацию ацетофенона с бензальдегидом.

Под влиянием окислителей халкон способен циклизироваться с потерей двух атомов водорода и образованием флавонов. Последние в виде соединений с d-глюкозой или рамнозой встречаются в клеточном соке многих растений; они способны поглощать ультрафиолетовые лучи и предохранять хлорофилл в клетках растений от разрушения.

Из других классов органических соединений известны производные ализарина, образующие с двумя частицами глюкозы руберитриновую кислоту, являющуюся красящим веществом марены. Сюда же относится и франгулин (рамнозид), являющийся производным аглюкона эмолина (1,6,8-триокси-3-метилантрахинона).

Что касается других гликозидов, то за исключением стероидных (сердечных гликозидов) их роль выяснена недостаточно. Среди однодольных найдены представители, обладающие токсическим действием, например,

авенеин, акорин; среди двудольных – гликозиды перца, водяного перца, некоторые из них, как, например, сем. Leguminosae, обладают токсическим действием.

Некоторые гликозиды, например, семейства Loganiaceae, содержат азот и представляют как бы переход к алкалоидам. В их состав входят пуриновые и пиримидиновые производные, играющие важную роль во внутритканевых дыхательных процессах; к ним относится и d-рибозид гуанина, известный под названием вернина. Он обнаружен в ростках различных растений, в соке сахарной свеклы, в пыльце лесного ореха и сосны.

Гликозиды не рассеяны беспорядочно, а подобно алкалоидам или эфирным маслам играют важную роль в жизнедеятельности растений. Исследование флавонов с этой точки зрения показало, что они ускоряют реакцию между перекисью водорода, пероксидазой и аскорбиновой кислотой, превращая последнюю в дегидроаскорбиновую кислоту.

Найдено, что флавоны катализируют реакцию окисления в 50–100 раз энергичнее, нежели пирокатехин.

Выделяющаяся при дыхании растений энергия потребляется в различных эндотермических процессах синтеза; за счёт этой энергии и происходит синтез органических кислот у суккулентов.

Что касается стероидных гликозидов, то, по мнению Розенгейма, они образуются из углеводов. Виланд, напротив, считает, что материнским веществом стероидов является олеиновая кислота, которая при биологических процессах превращается в цибетон, окисляющийся и одновременно формирующийся в диметилгексагидроцибетон. Робинзон связывает стероиды со скваленом, который близок терпенам и каротиноидам. Нейберг допускает образование стероидов из углеводов; при биохимических расщеплениях из них выделен ликопин и продукты его моно- и бициклической конденсации. Поскольку асафрон, образующийся при расщеплении каротина при циклизации и гидрировании превращается в тетрациклическую кислоту, родственную холановой, можно допустить, что стероиды действительно образуются из углеводов.

Методы выделения гликозидов из растений весьма разнообразны и зависят от природы гликозидов и их отношения к растворителям. Часто выделение связано с большими трудностями ввиду их лёгкой разлагаемости. Обычно при выделении гликозидов исключают применение кислот и щелочей, а также ферментов, разлагающих гликозиды. Для этой цели растение подвергают обработке спиртом в присутствии щелочных агентов (сода, поташа и др.) и затем извлечению подходящими растворителями (водой, спиртом, эфиром, хлороформом, дихлорэтаном, этилацетатом и др.) при соответствующей температуре. Иногда гликозиды переводят в нерастворимые, легко поддающиеся очистке соединения и затем их разлагают с целью выделения в чистом виде.

Измельченный растительный материал подвергают экстракции в диффузорах (перколяторах) и затем очистке, с целью удаления дубильных, кра-

сящих, слизистых, белковых и других веществ, получивших название «балластных».

Ввиду обычно малого содержания гликозидов в растениях, часто ограничиваются выделением не индивидуальных веществ, а их смесей в виде водных растворов, стандартизованных по биологическому действию на животных. Такие препараты получили название неогаленовых или новогаленовых. Обычно в 1 мл такого раствора содержится определённое количество гликозидов, выраженных в единицах действия (ЕД). Так, например, активность гликозидов сердечной группы выражают в лягушечьих (ЛЕД) или кошачьих (КЕД) единицах, характеризующих наименьшее количество вещества, проявляющее биологическое действие на животных. Естественно, в случае возможности выражения активности гликозидов в весовых единицах последние выражаются в граммах (или миллиграммах).

Особенно большие трудности возникают при исследовании растений с целью поисков гликозидов. При этом используют два основных направления: «свинцовый метод» или дифференциальную последовательную экстракцию. «Свинцовый метод» основан на выделении составных частей растения в виде свинцовых солей и разделении последних по их различной растворимости в тех или иных растворителях.

При дифференциальной экстракции производят последовательное извлечение растительного материала различными растворителями и химикатами и изучение каждого из экстрактов.

Качественные реакции гликозидов. Гликозиды различно относятся к химическим агентам. В отличие от алкалоидов они обычно не дают специфических реакций; они не восстанавливают ни раствора Фелинга, ни аммиачного раствора окиси серебра. Исключение составляют те гликозиды, агликоны которых содержат редуцирующие группы. После гидролиза гликозида кипячением водного раствора с разбавленным раствором серной кислоты образующийся сахар обнаруживают по редуцирующей способности раствором Фелинга.

Более общим является ферментативное расщепление, позволяющее не только установить присутствие гликозида, но и доказать идентичность его сравнением с заведомо известным. Чаще всего это производят с помощью фермента эмульсина. Все такие гликозиды обладают в водных растворах левым вращением, в то время как глюкоза, образующаяся в результате гидролиза, обладает правым вращением. На основании этих двух положений каждый гликозид характеризуют свойственным ему энзимолитическим индексом восстановления. Под этим индексом подразумевают содержание глюкозы, выраженное в миллиграммах в 100 мл испытуемого раствора, образующейся при расщеплении гликозида в количестве, требуемом для изменения вращения вправо на 1° в трубке длиной 20 см.

Цветные реакции гликозидов обычно пригодны лишь при отсутствии свободных сахаров. Так, многие гликозиды с очищенной бычьей желчью и серной кислотой дают красное окрашивание, равным образом спиртовой 20%-ный раствор α -нафтола с концентрированной серной кислотой даёт си-

нее, фиолетовое или красное окрашивание. Подобная окраска возникает и в случае применения β -нафтола или резорцина. Гликозиды, содержащие в качестве агликона фенол или соединения с фенольным гидроксильным, дают окраску с хлорным железом. С некоторыми гликозидами реакция протекает более отчётливо при применении спиртовых растворов реактива.

Гликозиды, агликоны которых содержат карбонильную группу, идентифицируют в виде гидразонов, семикарбазонов или оксимов. При осторожном ацетилировании уксусным ангидридом многие глюкозиды дают характерные ацетильные производные. Действие ацетилирующей смеси иногда используют и для открытия глюкозы как сахарного компонента гликозида. Открытие её основано на превращении полученной при ацетилировании пентаацетилглюкозы в пентаацетилглюкозил-п-толуидид при действии п-толуидина. Это соединение не растворимо в спирте, имеет левое вращение и обладает резкой температурой плавления.

Методы количественного определения гликозидов.

Количественное определение гликозидов имеет значение при исследовании растительного материала и главным образом лекарственного сырья.

Определение гликозидов весовым путём после извлечения его растворителями весьма затруднительно, так как необходимо предварительное его выделение из растительного материала в достаточно чистом виде. Поэтому в ряде случаев целесообразно определение количества агликона, образующегося при гидролизе. Так, количество синигрина в горчице или горчичниках определяется аргентометрически или йодометрически по количеству отщепленного и отогнанного аллилгорчичного масла.

Гликозиды, содержащие цианистый водород, также могут быть определены по количеству последнего после расщепления и отгонки.

Во многих случаях количество гликозида может быть определено на основании изменения угла вращения после ферментативного расщепления.

В некоторых случаях определяют флуоресценцию, характерную для того или иного гликозида, путём сравнения с заведомо известным гликозидом.

4 Характерные представители гликозидов.

Сапонины – сложные безазотистые органические соединения из гликозидов растительного происхождения с поверхностно-активными свойствами. Растворы сапонинов при взбалтывании образуют густую стойкую пену. Название происходит от латинского *sapo* (род. падеж *saponis*) – мыло. Широко распространены в природе, встречаются в различных частях растений – листьях, стеблях, корнях, цветах, плодах. Содержат агликон (сапогенин) и углеводную часть.

В зависимости от химического строения агликона все сапонины классифицируют на стероидные и тритерпеновые. Стероидные сапонины синтезируются из холестерина и содержат 27 атомов углерода. Тритерпеновые сапонины синтезируются напрямую из сквалена, при этом во время их цикли-

зации не происходит потерь атомов углерода, они содержат по 30 атомов углерода.

Стероидные сапонины в качестве сапогенинов содержат обычно производные спиростана или фуростана.

Стероидные гликозиды – способ защиты растений от патогенов. Фураностаноловые гликозиды повышают всхожесть, скорость прорастания растений и устойчивость их к биотическим и абиотическим стрессам, изменяют состав каротиноидных пигментов фотосинтеза.

Стероидные гликозиды синтезируются в листьях растений в фураностаноловой форме. Затем они транспортируются по всему растению и накапливаются в идиобластах (специализированных клетках) эпидермиса листьев и стеблей. Основная масса гликозидов транспортируется в корневище (орган вегетативного размножения), где гликозидаза переводит их в спиростаноловую (активную) форму. В надземных органах гликозидаза располагается поблизости от идиобластов (в мезофилле). При повреждении ткани быстро образуются спиростаноловые гликозиды. Таким образом, при защите от патогенов в надземных органах работает стратегия полуиндуцибельных защитных соединений.

Стероидные гликозиды могут применяться как основа для синтеза лекарственных стероидных гормонов, как гербициды, антигрибные и антидрожжевые препараты (а также консерванты пищевых продуктов, содержащих грибы), эмульгаторы и пенообразователи.

Тритерпеновые сапонины содержат 30 атомов углерода и отличаются большим разнообразием химических структур (среди тритерпеноидов выделяют не менее 30 групп. В зависимости от количества пяти- и шестичленных колец в структуре агликона их можно разделить на 2 группы:

- а) тетрациклические – содержат в структуре агликона 4 углеродных кольца;
- б) пентациклические – содержат в структуре агликона 5 углеродных колец.

Физиологическое действие.

Гемолитическая активность. Исследования сапонинов класса естественных продуктов показали их комплексообразование с холестерином, с формированием поры в двойных слоях мембраны клетки, например, в мембране эритроцита. Такое комплексообразование приводит к гемолизу при внутривенной инъекции. Оболочка из полупроницаемой становится проницаемой. Гемоглобин свободно поступает в плазму крови и растворяется в ней. На проницаемость мембран и гемолитическую способность влияет структура сапонины, количество и строение активных групп. Усиливают проникновение белков и других макромолекул через клеточные мембраны.

Гемолитической активностью обладают только гликозиды. При попадании в кровь сапонины токсичны, поскольку вызывают гемолиз эритроцитов. При приеме внутрь, как правило, менее токсичны вследствие гидролиза гликозидов; однако сапонины мыльного дерева (*Sapindus*) при проглатывании могут вызвать у некоторых людей крапивницу.

Сапонины высокотоксичны для животных, дышащих жабрами. Они нарушают функцию жабр, которые являются не только органом дыхания, но и регулятором солевого обмена и осмотического давления в организме. Сапонины парализуют или вызывают гибель холоднокровных животных даже в больших разведениях (1:1 000 000). Агликоны сапонинов для холоднокровных животных не токсичны. Рыба, отравленная сапонидами, остается съедобной. Эсцин и прочие сапонины конского каштана не токсичны для рыб.

Сапонины могут оказывать влияние на проницаемость растительных клеток. Определённые концентрации сапонинов ускоряют прорастание семян, рост и развитие растений, а в увеличенных концентрациях могут их тормозить. Особую роль выполняют в растениях фриделиновые тритерпены (фриделин, церин), поскольку они содержатся в лубе растений.

Благодаря способности сапонинов образовывать обильную пену, они находят некоторое применение в качестве детергентов и пенообразующих агентов в огнетушителях. Эмульгирующие свойства сапонинов широко используются для стабилизации разных дисперсных систем (эмульсий, суспензий). Их используют при приготовлении халвы и других кондитерских изделий, пива и иных шипучих напитков. Благодаря эмульгирующим свойствам сапонины оказывают моющее действие, но их отличает от анионных мыл отсутствие щелочной реакции.

Сапонины производятся коммерчески как пищевые и диетические добавки. В терапевтической практике используются как отхаркивающие, мочегонные, тонизирующие, седативные средства, применяются как вспомогательные средства в вакцинах. При этом токсичность, связанная с комплексобразованием стерола (стерина), остаётся главной проблемой. Необходима большая осторожность в оценке терапевтической пользы при употреблении натуральных продуктов, содержащих сапонин-разновидности.

Сердечные гликозиды – группа лекарственных средств растительного происхождения, оказывающих в терапевтических дозах кардиотоническое и антиаритмическое действие, использующихся для лечения сердечной недостаточности разной этиологии. Они повышают работоспособность миокарда, обеспечивая экономную и вместе с тем эффективную деятельность сердца человека. В больших дозах эти вещества являются сердечными ядами.

Сердечные гликозиды состоят из несахаристой части (агликона или генина) и сахаров (гликона). Основой агликона является стероидная (циклопентанпергидрофенантроновая) структура, связанная у большинства гликозидов с ненасыщенным лактонным кольцом. Гликон может быть представлен разными сахарами: D-дигитоксозой, D-глюкозой, D-цимарозой, D-рамнозой и др. Иногда к сахаристой части присоединён остаток уксусной кислоты. Кардиотонический эффект сердечных гликозидов связан с агликоновой частью молекулы. Сахаристая часть отвечает за растворимость и удержание молекулы в тканях. Гликон также влияет на активность и токсичность соединений.

Сердечные гликозиды легко подвергаются ферментативному, кислотному и щелочному гидролизу. Ферменты, расщепляющие сердечные глико-

зиды, находятся в растениях, из-за чего возможно расщепление первичных (генуинных) гликозидов в лекарственном сырье во время хранения, транспортировки и подготовки к обработке. Для предотвращения этого процесса ферменты можно ингибировать.

Сердечные гликозиды получают: из наперстянки пурпуровой (*Digitalis purpurea*): дигитоксин, кордигит; наперстянки шерстистой (*Digitalis lanata*): дигоксин, ацетилдигитоксин и др.); строфанта Комбе (*Strophanthus Kombe*): строфантин К; ландыш майский (*Convallaria majalis*): коргликон, настойка ландыша; горицвета весеннего (*Adonis vernalis*): настоек травы горицвета, экстракт горицвета сухой, адонизид, адонис-бром.

Некоторые растения, содержащие так называемые **горькие гликозиды**, используются в медицине как горечи для повышения аппетита у больных. Горькие гликозиды содержатся в полыни, горечавке, одуванчике, золототысячнике и др. Горечи усиливают перистальтику желудка и увеличивают выделение желудочного сока, что способствует лучшему усвоению пищи. Горькие гликозиды содержатся в следующих видах растений.

Довольно широкое применение в медицинской практике получили гликозиды, оказывающие слабительное действие, так называемые антрагликозиды, содержащиеся в крушине, ревене, кассии, алоэ и других растениях. Антрагликозиды малотоксичны, стойки при хранении, большинство из них окрашено в красно-оранжевый цвет. Антрапенопроизводные – большая группа природных соединений, в основе которых лежит ядро антрацена различной степени окисленности (по среднему кольцу – кольцо В). Растения, содержащие производные антрацена, широко распространены в природе. Они обнаружены в основном в высших растениях (около 100 соединений), найдены в лишайниках, грибах, некоторых насекомых и морских организмах. Растения этой группы встречаются в диком виде и возделываются в совхозах. Они принадлежат к различным семействам: крушиновые (жостер слабительный, крушина ольховидная); гречишные (ревень, щавель конский); бобовые (сенна); лилейные (различные виды алоэ); зверобойные (зверобой продырявленный). Встречаются в других семействах.

Тема 12 Вторичные метаболиты лишайников

- 1 Физиология лишайников, образование вторичных метаболитов
- 2 Роль вторичных метаболитов в жизни лишайников.
- 3 Биологическая активность и хозяйственное использование вторичных метаболитов лишайников

1 Физиология лишайников, образование вторичных метаболитов

Лишайники содержат большое количество органических соединений, так называемых лишайниковых веществ, которые более или менее характерны для этой группы организмов. Сюда входят разные классы соединений: производные аминокислот, сахароспирты, алифатические кислоты, различные лактоны, моноциклические ароматические соединения, хиноны, хромоны, ксантоны, дибензофураны, депсиды, депсидоны, депсоны, терпеноиды, стероиды и каротиноиды. Уже на ранних этапах развития органической химии лишайниковые вещества активно изучались. Еще в 1831 году Bebert выделил вульпиновую кислоту, в 1832 году Alms – пикролихеновую кислоту, в 1844 году Кнор – усниновую кислоту. Первый обзор лишайниковых веществ опубликовал Gmelin в 1858 году.

Классический период химии лишайников связан с двумя именами В. Зопфа и О. Гессе. В. Зопф опубликовал серию работ по лишайниковым веществам, которые он обобщил в монографии, опубликованной в 1907 году. О. Гессе в период между 1861 и 1905 опубликовал 18 работ по лишайниковым веществам и написал обобщающую статью о них в 1912 году.

Впервые структура лишайниковых веществ была установлена для вульпиновой (Spiegel 1883) и леканоровой (Hesse 1900) кислот. Структура большинства лишайниковых веществ оставалась неизвестной до начала выдающихся исследований японских химиков Я. Асахина и С. Шибата в 1954 году опубликовали ставшую классической книгу «Химия лишайниковых веществ». В ней была описана не только структура многих соединений, но и их синтез, а также способ определения лишайниковых веществ путем микрокристаллизации (по виду и структуре кристаллов). Это было очень прогрессивно, так как тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии еще не существовало. Другая важная работа по химии лишайниковых веществ была проделана Роллером, Пфау, Робинсоном и Шопфом в период между 1920 и 1940 годами.

Важной вехой в области веществ-лишайников стала публикация в 1969 году книги «Culberson's Chemical and Botanical Guide to Lichen Products». Этот трехтомник суммировал данные о примерно 430 лишайниковых веществах, известных к 1976 года. С внедрением тонкослойной хроматографии в 1960-х годах и позднее высокоэффективной жидкостной хроматографии химический анализ лишайников стал рутинным, а современные методы исследований (УФ, ИК, изотопный анализ, ЯМР, рентгеноструктурный анализ и др.) позволили выявить структуру соединений, присутствующих в лишайниках в миллиграммовых количествах.

В течение последующих лет во многих лабораториях мира работали над химией лишайников. опубликованы сотни книг и тысячи статей. Вместе с тем, по настоящее время лишайники остаются самыми изучаемыми и самыми неизученными организмами.

Многие аспекты физиологии лишайников невероятно сложны и до сих пор слабо изучены. В самом деле, организм, состоящий не менее чем из двух компонентов, функционирует как единое целое: растет, размножается, обладает специфическим обменом веществ. Рассмотрим очень кратко лишь несколько основных физиологических процессов, происходящих в лишайнике.

Фотосинтез. Источником связанного углерода для лишайников служит процесс фотосинтеза, осуществляемый фотобионтом. Синтезированные углеводы являются источником энергии для всех жизненных функций организма, включая рост и размножение.

Фотобионт способен «прокормить» и себя, и партнера. Более 80 % синтезированных углеводов поступают из фотобионта в микобионт. У видов, фотобионтом которых является цианобактерия, в микобионт поступает глюкоза; а зеленые водоросли транспортируют в микобионт сахароспирты (рибит, сорбит, эритрит).

В грибе эти углеводы накапливаются в виде многоатомного сахароспирта маннита, который является и запасным веществом, и осмолитом. Высокая концентрация маннита способствует адсорбции большого количества воды. Очень важно, чтобы потребность гриба не превышала продуктивности водоросли, поэтому фотосинтез, дыхание, экспорт и импорт различных веществ строго регулируются. Разделение партнеров и культивирование фотобионта в среде очень быстро приводит к прекращению транспорта сахаров из водоросли. Механизмы регулирования этого транспорта изучены слабо.

Дыхание. Темновое дыхание присуще всем живым организмам. При дыхании «сгорают» углеводы, а выделившаяся энергия запасается в макроэнергетических связях АТФ. Эта энергия расходуется затем на рост, адаптацию, репродукцию и пр. Дыхание может быть анаэробным и аэробным, в последнем случае для него необходим кислород. Лишайники являются аэробными организмами, следовательно, при их дыхании поглощается кислород и расщепляются углеводы. В результате выделяется углекислый газ, образуется вода и запасается энергия.

Дыхание присуще обоим партнерам лишайника, но поскольку гриб преобладает в талломе, вклад фотобионта в этот процесс несущественен. Несколько упрощая ситуацию, часто говорят: «Фотобионт фотосинтезирует, а микобионт дышит», существует термин «грибное дыхание». Поскольку при дыхании расщепляются те углеводы, которые были синтезированы в процессе фотосинтеза, для обеспечения жизнедеятельности необходимо, чтобы скорость фотосинтеза была выше скорости дыхания. Этот баланс определяется самыми разными биотическими и абиотическими факторами.

Азотфиксация. Азот входит в состав нуклеиновых кислот и аминокислот, он необходим всем живым организмам. Однако молекулярный азот воздуха эукариоты не усваивают. Лишайники, содержащие цианобактерии, спо-

способны усваивать атмосферный азот и трансформировать его в формы, доступные растению.

Этот процесс называется азотфиксацией. Поглощение газообразного азота из воздуха и превращение его в аммоний в клетках цианобактерий осуществляет сложный ферментный комплекс – нитрогеназа. Нитрогеназа локализована в гетероцистах (специализированных клетках) цианобактерии. В трехкомпонентных лишайниках находящиеся в цефалодиях цианобактерии специализированы, в основном на фиксации азота, а фотосинтез осуществляют зеленые водоросли альгальной зоны. Поэтому в трехкомпонентных лишайниках цианобактерии содержат примерно в 10 раз больше гетероцист, чем в двухкомпонентных, в которых фотобионтом являются цианобактерии.

Лишайники с зелеными водорослями поглощают неорганические соединения азота из естественного субстрата или из воды.

Некоторые виды приспособлены к росту на сильно нитрофицированных субстратах, например, на камнях «птичьих базаров».

Минеральное питание. Лишайники сорбируют воду и растворенные в ней минеральные соли всей поверхностью таллома. В различных участках таллома эти вещества накапливаются и концентрируются. Содержание неорганических элементов и их соединений в лишайнике, как правило, значительно превышает их содержание в субстрате или в воздухе. Такая способность лишайников одновременно позитивна и негативна. Возможность использовать необходимые минеральные элементы из осадков, разумеется, позитивна. Негативно то, что поглощенные вещества (окислы, металлы, радионуклиды и пр.) могут быть токсичны и могут вызывать повреждение и гибель лишайника.

Вторичные метаболиты. Все химические соединения, содержащиеся в лишайниках, подразделяются на первичные (внутриклеточные) и вторичные (внеклеточные) метаболиты. К внутриклеточным метаболитам относят вещества основного метаболизма, синтезируемые как грибом, так и водорослью. Первичные метаболиты не являются специфичными для лишайников веществами и могут быть обнаружены у свободноживущих грибов, водорослей и высших растений. **Вторичные, или внеклеточные метаболиты синтезируются микобионтом. Они не растворимы в воде, откладываются на поверхности клеточных стенок гриба, и могут быть экстрагированы только органическими растворителями.**

К настоящему времени вторичные метаболиты изучены для более 5 000 видов лишайников, что составляет 33 % от всего биоразнообразия. Не все лишайниковые вещества являются специфичными: из около 700 известных вторичных метаболитов около 60 отмечены у свободноживущих грибов и даже высших растений. Например, антрахинон париедин, оранжевый пигмент, характерный для представителей порядка *Teloschistales*, отмечен для грибов родов *Achaetomium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Dermocybe*, *Penicillium*, а также для высших сосудистых растений родов *Rheum*, *Rumex* и *Ventilago*. С другой стороны, у лишайников обнаружены вещества, типичные для высших растений, например, брассикастерол.

О путях биосинтеза лишайниковых веществ в лишайниках известно немного. Как правило, представления об их синтезе основаны на исследованиях аналогичных веществ, характерных для свободноживущих грибов. Считается, что большинство вторичных метаболитов образуется в ацетат-полималонатном пути, некоторые – в шикиматном и мевалонатном путях. Установлено, что пара-депсиды играют ключевую роль как предшественники мета-депсидов, депсонов, дифениловых эфиров, депсидонов и дибензофуранов.

Среди продуктов ацетат-полималонатного пути широко представлены ароматические соединения. Большинство формируются соединением двух или трех фенольных колец орцинольного или β -орцинольного типа через эфирные, сложноэфирные и простые углеродные связи. Считается, что продукты ацетат-полималонатного пути свойственны только лишайникам, в частности, такие вещества как депсиды, депсидоны, дибензофураны, усниновая кислота и депсоны.

Вторичные метаболиты неравномерно распределены в слоевище лишайника. Некоторые лишайниковые вещества, например, красные и оранжевые антрахиноны и их производные, а также усниновая кислота, содержатся в верхнем коровом слое. Бесцветные депсиды и депсидоны откладываются в сердцевине лишайникового слоевища. Разные лишайниковые вещества могут содержаться в различных участках слоевища.

Вторичные метаболиты, локализованные в верхнем коровом слое лишайников, особенно произрастающих в местах с высокой инсоляцией, выполняют светопоглощающую функцию. Считается, что именно регулирование интенсивности светового потока, достигающего водорослевой зоны, являлось первичной функцией многих лишайниковых веществ. Дополнительной функцией вторичных метаболитов коры является защита таллома от чрезмерного ультрафиолетового излучения.

Вторичные метаболиты сердцевины широко используются при идентификации видов лишайников. Возможность использования вторичных метаболитов для определения лишайников подтверждается постоянным химическим составом представителей большинства видов вне зависимости от их географического распространения и субстратной приуроченности. В пределах комплекса морфологически схожих видов выделяют, как правило, три типа химических вариаций: отличия основных веществ, отличия хемосиндромов и отличия сопутствующих метаболитов.

Если популяции морфологически идентичны, но имеют строгие отличия химического состава вследствие замены одних метаболитов на другие, их считают отличающимися по содержанию основного вещества. Классическим примером является вид *Pseudevernia furfuracea*, имеющий три химические расы. Популяции первого типа содержат оливеторовую кислоту и распространены в Северной Европе. Популяции второго типа содержат физидовую кислоту и произрастают в Южной Европе и северной части Африки. Популяции третьей химической расы содержат леканоровую кислоту и произрастают в Северной Америке. Популяции первых двух рас биогенетически связа-

ны, поскольку оливеторовая и физодовая кислоты могут быть получены одна из другой посредством простого химического превращения. Третья раса считается отдаленной, потому что леканоровая кислота биосинтетически не связана с предыдущими двумя веществами. На основании химической и географической разобщенности Североамериканские представители были выделены в самостоятельный вид *Pseudevernia consocians*. Представителей первых двух химических рас считают одним биологическим видом с двумя химическими вариациями.

Большинство вторичных метаболитов лишайников образуются в ацетил-полималонатном пути, но некоторые из них происходят из шикиматного или мевалонатного путей. Признанной является ключевая роль парадепсидов в качестве потенциальных прекурсоров (или биосинтетических интермедиатов) для метадепсидов, депсонов, дифениловых эфиров, депсидонов и дибензофуранов.

Поликетиды строятся в основном из сочетаний ацетатных (ацетил-КоА) и малонатных (малонил-КоА). Эти путем образуется большинство вторичных метаболитов лишайников – антрахиноны, ксантоны, хромоны, дибензо-фураны, депсоны, депсиды, депсидоны, моциклические фенолы и другие группы соединений. Шикиматный путь образует ароматические соединения, некоторые хиноны, а также производные пульвиновой кислоты. Мевалонатный путь из изопреновых единиц образует стероиды, каротиноиды, а также огромный ряд терпеноидов – монотерпены, дитерпены, сексвитерпены и др. Последнее служит основанием для более пристального изучения продуктов мевалонатного пути биосинтеза лишайниковых веществ как потенциальных источников субстанций для парфюмерной промышленности.

2 Роль вторичных метаболитов в жизни лишайников.

Значение лишайниковых веществ для функционирования самих лишайников не до конца изучено. Вполне определенно можно утверждать следующее:

1. Ряд ароматических лишайниковых веществ, например, усниновая кислота, пигменты (ксантоны, атранорин, париедин, скитонемин и пр.), являются экранами, защищающими фотобионт от ультрафиолетового излучения. Они локализованы в основном в кортексе.

2. Депсиды, депсидоны и жирные кислоты обладают гидрофобными свойствами. Эти вещества локализованы в медулле, покрывают ее гифы нерастворимыми кристаллами, что облегчает газообмен, препятствуя связыванию воды сердцевинной.

3. Лишайниковые вещества влияют на проводимость клеточной стенки фотобионта, стимулируют транспорт углеводов из микобионта в фотобионт и играют важную роль в поддержании равновесия между симбионтами.

4. Алифатические и ароматические лишайниковые кислоты являются сильными хелатирующими агентами, связывающими ионы металлов при росте талломов на субстратах, содержащих высокие (токсичные) концентрации металлов.

5. Некоторые лишайниковые вещества обладают антибиотическими свойствами и ингибируют рост почвенных грибов и даже прорастание семян сосудистых растений, повышая тем самым конкурентоспособность медленно растущих лишайников.

6. Лишайники часто становятся «малосъедобными» для насекомых и других животных благодаря наличию лишайниковых веществ в талломах.

3 Биологическая активность и хозяйственное использование вторичных метаболитов лишайников

Выделяют следующие аспекты биологической активности лишайников и лишайниковых веществ.

Антибиотическая активность. Депсиды, депсидоны и усниновая кислота активны в отношении грамположительных микроорганизмов. В России в качестве лекарственного средства использовали натриевую соль усниновой кислоты язв, отита, мастита и монилиаза. Водно-спиртовые экстракты лишайников оказывают антибактериальное действие, в том числе и на *Mycobacterium tuberculosis*, вызывающих туберкулез у человека и некоторых животных.

Противоопухолевое и антимуtagenное действие. Следующие лишайниковые вещества обладают противоопухолевой и антимуtagenной активностью: (-) - усниновая кислота, протолихестериновая и нефростерановая кислоты, полипоровая кислота и производные, физодоловая кислота, лишайниковые глюканы и производные лихенина.

Активность против вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Частично ацетилованный глюкан из лишайника *Umbilicaria esculenta* ингибировал цитопатическое действие вируса *in vitro*.

Аллергенная активность. Многочисленные лишайниковые вещества, такие как атранорин, барбатова, дифрактовая, эверновая, фумарпроцетровая, лобаровая, физодовая, физодоловая, протолихестериновая, стиктовая и усниновая кислоты являются аллергенами.

Ингибирующая активность в отношении роста растений. Многие лишайниковые вещества влияют на рост высших растений: атранорин, эверновая кислота, псоромовая кислота, (-) - усниновая кислота, вульпиновая кислота, леканорная кислота, барбатова кислота, орселлиновая кислота.

Ингибирующая активность в отношении ферментов. Следующие лишайниковые вещества оказались ингибиторами ферментов: леканорная кислота (гистидиндекарбоксилаза, (-) - усниновая кислота (уреаза), экстракты из *Vulpicida juniperinus*, *Hypogymnia physodes* и *Letharia vulpina* (тирозилаза).

Многие вторичные вещества лишайников (например, канарион, тамноловая кислота, скваматиновая кислота, вермикулярин, норстиковая кислота, баеомицезическая кислота, леканориновая кислота, барбатиновая кислота, усниновая кислота) обладают сильными гиполипидемическими и антиоксидантными свойствами, так как, благодаря своей фенольной природе, способны связывать токсичные свободные радикалы.

Другие активности. Дилактон пульвиновой кислоты обладает выраженной кардиотонической, вульпиновая кислота обладает противовоспалительной активностью. Усниновая и дифрактовая кислоты обладают анальгетической и жаропонижающей активностью, сравнимой с аминафеназоном, фенилбутазоном и гидрокортизоном гемисукцинатом.

Лишайники использовались в народной медицине во многих странах. Хорошо известно применение *Cetraria islandica* против кашля и *Lobaria pulmonaria* против заболеваний легких. В настоящее время медицинское использование лишайников устарело, особенно потому, что испытания атомной бомбы в атмосфере и авария на Чернобыльской АЭС в 1986 году увеличили концентрации опасных радионуклидов в сотни и тысячи раз по сравнению с концентрациями в растениях.

Как было показано, лишайники синтезируют большое количество метаболитов с различной структурой и потенциальной биологической активностью. Не удивительно, что крупные фармацевтические компании начали программы по применению этих метаболитов (и их производных) в медицине и защите растений множеством современных биотестов. Можно ожидать, что ближайшие годы принесут новые и интересные результаты в этой области.

Впервые вторичные лишайниковые вещества обнаружил Пфaff в 1826 г. Но наибольшее изучение метаболитов в лишайниках началось после открытия пенициллина. Одна из проблем лихенологии – это неспособность микобионтов, изолированных из слоевища лишайников, синтезировать в культуре те химические соединения, которые они синтезируют с водорослью. Факты доказывают, что биосинтез лишайниковых веществ является результатом совместных усилий лишайниковых партнеров.

Применение лишайников в медицине основано на содержании в них уникальных и достаточно разнообразных биологически активных веществ в основном антимикробного действия.

Cetraria islandica (цетрария исландская). Наибольшую известность в медицинской практике получил так называемый «исландский мох». Издавна применялась цетрария исландская при чахотке, хронических бронхитах, поносах, как питательное и укрепляющее средство. В XIX веке этот лишайник считался также прекрасным кормом для оленей и свиней, в голодные годы его использовали для выпечки хлеба. Цетрария исландская широко применялась исландцами на протяжении около 200 лет. Врачи давали ее больным, истощенным тяжелыми болезнями.

Цетрария исландская входит в список лекарственных растений Беларуси. Лекарственные формы – настой и сборы, а также растворы уснината натрия. Применение основано на слизиобразующем, бактерицидном, противопотном и противорвотном действии.

Лишайниковые кислоты (усниновая, протолихестериновая, протоцетраровая и др., 3 - 5 %) угнетают рост грамположительных микроорганизмов и туберкулезной палочки человека. Применяют цетрарию исландскую при острых респираторных заболеваниях верхних дыхательных путей, воспалении горла и ротовой полости, заболеваниях желудка, язвенной болезни же-

лудка и 12-перстной кишки, пониженной кислотности, слабом пищеварении и усвоении, общем исхудании и слабости, а также после перенесенных тяжелых заболеваний или операций.

Цетрарию исландскую используют также для лечения гриппа и простудных заболеваний.

Parmelia reticulata (пармелия блуждающая). Главная роль в комплексе биологически активных веществ пармелии блуждающей отводится усниновой кислоте. Усниновую кислоту экстрагируют из пармелии блуждающей путем кипячения в смеси ацетона и этанола (выход 0,17 %). Разработан модифицированный метод получения усниновой кислоты, который отличается простотой и экономичностью (выход 2,5 %).

Evernia prunastri (эверния сливовая) является ценным продуктом для парфюмерной и фармацевтической промышленности. В середине XX века немецкий исследователь Клоза разработал очень эффективный препарат против стафилококков и стрептококков – эвозин. Источником получения эвозина являлась главным образом эверния сливовая. Эвозин представляет собой смесь эверновой и усниновой кислот с некоторыми индифферентными к микроорганизмам веществами. Недавно установили противогрибковую активность ацетоновых экстрактов из лишайников, в том числе из эвернии сливовой.

Таким образом, в настоящее время в ряде стран мира (Россия, Чехия, Германия, Израиль, США, Япония, Канада, Бразилия, Австралия, Новая Зеландия и др.) лишайниковые вещества являются объектом детальных исследований. Эти вещества лежат в основе хемотаксономии лишайников (т.е. их классификации по химическим признакам), а также представляют интерес как природные антибиотики. Познание структуры и свойств уникальных лишайниковых антибиотиков открывает пути к поиску их синтетических аналогов.

Лишайники как сырье для красителей

Карл Линней упоминал в своём «*Plantae tinctoriae*» («Растения красящие») шесть лишайников-красителей. Изобретение синтетических красителей в середине 19 века принесло конец производству красок из лишайников.

Долгое время из лишайников рода *Roccella* и вида *Pertusaria corallina* получали ценный пурпурный краситель, а также лакмус.

Лишайники были одним из источников получения пурпурной краски, и эта краска была даже более привлекательна, чем знаменитый тирский пурпур, получаемый из моллюсков. Гай Плиний Старший пишет, что пурпур начали смешивать с красителями сухопутного происхождения: материю, окрашенную кермесом, перекрашивали пурпуром, чтобы получить *hisginum* (греческая краска растительного происхождения). Лишайниковый пурпур был известен древним египтянам, финикийцам, грекам, римлянам. Его получали из лишайника Рочеллы красильной (*Roccella tinctoria*), растущего на прибрежных средиземноморских скалах.

Красную краску получают из лишайника Охролехии виннокаменной (*Ochrolechia tartarea*).

Лишайники, использовавшиеся для получения коричневой краски, были листоватыми видами, принадлежащими к роду Пармелия (*Parmelia*) и их было легко собирать с камней во влажную осеннюю погоду. Такая лишайниковая краска никогда не производилась в больших промышленных масштабах, а только отдельными фермерами в небольшом количестве. Наиболее часто используемым видом была Пармелия пупковидная.

Лакмус представляет собой сложную смесь пигментов, выделенных в основном из разных видов *Roccella*. Лишайники обрабатывали аммиаком (или мочой) и воздухом с добавлением извести, карбоната калия и гипса. *Evernia* и *Parmelia* применяются в Шотландии и Скандинавии для окрашивания шерсти и ткани, с их помощью могут быть достигнуты особенно приятные жёлтые и коричневые тона.

До шотландского восстания 1745 года, после которого особенно стали популярны шотландские юбочки, узоры которых обозначали принадлежность к определенному клану, окраска шотландской одежды зависела в основном от той краски, которую можно было отыскать поблизости. И лишайники, использовавшиеся для получения краски, имели большое значение. Лишайниковая краска дает наиболее ценные цвета в шотландской одежде, такие как желто-коричневые и красно-пурпурные оттенки. Полный же спектр оттенков можно получить, смешивая одни цвета с другими. Так, смешивая желтую лишайниковую краску с синим индиго, получали зеленый цвет.

Также интересно применение лишайника *Xanthoparmelia camtschadalis* (жителями Нижнего Поволжья для окрашивания пасхальных яиц).

Ряд лишайников используется в парфюмерии как фиксаторы запахов, например, *Evernia prunastri*.

Лишайники используются в пищу человеком, особенно в Китае и Японии. Предполагают, что библейская манна небесная есть не что иное, как сорванные ветром талломы накипного лишайника, растущего в горах, аспидии съедобная (*Aspicilia esculenta*). Этот лишайник составлял значительную часть рациона племен, населявших пустыни. Есть сведения об использовании лишайников в пищу египтянами, индейцами, жителями северных стран.

Лишайниковые кислоты – группа органических соединений, содержащихся в лишайниках. Встречаются у представителей многих родов лишайников (*Ramalina*, *Evernia*, *Cladonia*, *Anzia* т.д.). Обычно для каждого вида лишайников характерны несколько определенных кислот, может служить систематическим признаком. Водные экстракты из лишайников издавна применялись в народной медицине, так как для большинства лишайниковых кислот характерна антибиотическая активность. Для химического строения всех лишайниковых кислот характерно наличие двух остатков полизамещенных фенолов или фенолкарбоновых кислот, связанных друг с другом в различных комбинациях.

Различают несколько типов лишайниковых кислот. К структурам типа *депсидов* относятся антибиотики сферородин, леканоровая, анациевая, рамалиновая и другие кислоты. Простой представитель лишайниковых кислот структурного типа депсидонов – антибиотик физодовая кислота. К структу-

рам типа дибензофураны относится широко распространенная в лишайниках усниновая кислота – эффективный антибиотик, используемый при лечении кожных заболеваний и столбняка. К четвертому типу структур лишайниковых кислот относятся ядовитые вульпиновая, хризопетраровая и лепраровая кислоты, а также эпанорин и ризокарповая кислота.

Бесспорными «рекордсменами» по количеству известных вторичных метаболитов являются растения – идентифицировано свыше 100 000 соединений вторичного метаболизма. Лишайники, в силу недостаточной изученности их физиологии и биохимии, являются организмами, для которых перечень идентифицированных вторичных метаболитов постоянно расширяется. В настоящее время известно свыше 1 100 вторичных метаболитов лишайников, более 90 % из которых не встречаются у других организмов. Таким образом, вторичными метаболитами лишайников можно назвать физиологически активные, относительно низкомолекулярные вещества, синтезируемые клетками микобионта только в симбиозе с соответствующим фотобионтом.

Основные функции вторичных метаболитов лишайников в настоящее время сводятся к нескольким основным положениям. Кортикальным метаболитам отводится фотозащитная функция – они защищают клетки фотобионта от действия чрезмерной инсоляции и ультрафиолетового излучения. Медуллярные метаболиты обеспечивают гидрофобность клеточных стенок микобионта, участвуют в регуляции газообмена, влияют на транспорт продуктов фотосинтеза от фотобионта к микобионту. В зонах высокого загрязнения тяжелыми металлами вторичные метаболиты в талломах лишайников хелатируют ионы, снижая их токсическое действие. Вторичные метаболиты способны подавлять рост соседствующих с ними бактерий, грибов и даже проростков высших растений, что позволяет крайне медленно растущим лишайникам если не конкурировать в фитоценозе, то, по крайней мере, обеспечивать для себя некоторое жизненное пространство. Лишайниковые вещества вредны для многих видов беспозвоночных и позвоночных видов животных, что ограничивает их поедаемость.

Тема 13 Минорные группы вторичных метаболитов

- 1 Непротеиногенные аминокислоты
- 2 Необычные липиды, серосодержащие, ацетиленовые и другие вторичные метаболиты

Минорными называют физиологически активные вещества, образующиеся в тканях растений в малых количествах. К минорным вторичным метаболитам растений относят: непротеиногенные аминокислоты, растительные амины, беталаины, необычные жирные кислоты, производные ацетилена и др.

1 Непротеиногенные аминокислоты

Под термином «непротеиногенные» (небелковые) аминокислоты подразумевают природные аминокислоты, их амиды, иминокислоты, которые, как правило, не входят в состав белков.

Большинство непротеиногенных аминокислот в высших растениях находятся в свободном состоянии или в конденсированном виде с другими низкомолекулярными соединениями (глутаминовой, щавелевой, уксусной кислотами). Некоторые из непротеиногенных аминокислот, например, гидроксипролин или гомосерин, встречаются в составе растительных белков. Однако подобные случаи достаточно редки, при этом белки с такими аминокислотами выполняют, как правило, специфические функции (например, гидроксипролин-обогащенные белки в клеточных стенках). К тому же образование непротеиногенных аминокислот в подобных белках происходит чаще всего путем посттрансляционной модификации протеиногенных аминокислот (например, гидроксипролин образуется путем гидроксилирования пролина).

К настоящему времени известно более 400 непротеиногенных аминокислот. Многие из них можно рассматривать как модифицированные белковые аминокислоты. При этом наиболее обычными вариациями являются:

- удлинение или сокращение углеродной цепи;
- гидрирование и дегидрирование;
- гидроксилирование;
- аминирование.

Фитохимическую классификацию непротеиногенных аминокислот обычно связывают со структурой «исходных» протеиногенных аминокислот. при этом различают:

- нейтральные алифатические аминокислоты;
- серосодержащие аминокислоты;
- ароматические аминокислоты;
- гетероциклические аминокислоты;
- дикарбоновые аминокислоты и амиды;
- щелочные (основные) аминокислоты;
- иминокислоты.

Другая классификация непротеиногенных аминокислот основана на характере сходства с протеиногенными. Выделяют три основные группы.

1 Сходство по изомерии. Некоторые непротеиногенные аминокислоты являются изомерами протеиногенных. например, α -аланин – протеиногенная аминокислота, а ее изомер, β -аланин), не входит в состав белка, а содержится в пуле свободных аминокислот. Он входит в состав пантотеновой кислоты, а, следовательно, коэнзима А.

2 Сходство по гомологии. Ряд непротеиногенных аминокислот гомологичен протеиногенным. например, гомосерин содержит в углеродной цепочке на один углеродный атом больше, чем соответствующая протеиногенная аминокислота – серин.

3 Сходство по аналогии. В некоторых случаях в молекуле протеиногенной аминокислоты один атом водорода замещен какой-нибудь группой, в

- непротеиногенные аминокислоты могут выполнять разнообразные защитные функции. Орнитин и цитруллин участвуют в обезвреживании аммиака в орнитиновом цикле. При наступлении неблагоприятных условий образуется ряд непротеиногенных аминокислот, которые связывают аммиак, накапливающийся при распаде белков (диаминомасляная кислота). В неблагоприятных условиях организм способен синтезировать и накапливать в печени

гоприятных условиях накапливается «стрессовый» фитогормон этилен. Его источником служит метионин, а промежуточным продуктом биосинтеза является пепроотеиногенная аминокислота аминокислота аминоцикло-пропилкарбоновая. Она же служит транспортной формой этилена.

Растительные амины. Амины можно рассматривать как производные аммония. Различают четыре основные группы аминов: первичные, вторичные, третичные и четвертичные.

Следует отметить, что достаточно сложно четко разделить растительные амины от других классов вторичных соединений, прежде всего алкалоидов. Многие амины считаются типичными алкалоидами, например, мескалин. Четких критериев отличия биогенных аминов от протоалкалоидов нет. Часто к алкалоидам относят сложные соединения с относительно большой молекулярной массой. Некоторые авторы предлагают считать биогенными аминами только первичные или первичные и вторичные амины, оставив для протоалкалоидов соответственно соединения с третичными или вторичными и третичными атомами азота. В группу биогенных аминов обычно не включают соединения с карбоксильными группами, а также пурины и пиримидины.

В высших растениях присутствует большое количество аминов. Многие из аминов структурно представляют собой декарбоксилированные аминокислоты, причем как протеиногенные, так и непротеиногенные. Растительные амины обычно разделяют на моноамины (с одной аминогруппой), диамины (с двумя аминогруппами) и полиамины (более двух аминогрупп).

Амины – ядовитые вещества, которые могут вызывать отравления как животных, так и растений. Они в малых количествах обнаружены в грибах (рожки спорыньи, мухоморы, дрожжи) и в растениях (дурман, белена, омела, соя). Содержание аминов может возрастать при неблагоприятных условиях выращивания.

Амины могут образовываться из аминокислот путем их декарбоксилирования (при участии декарбоксилаз, коферментом которых является пиридоксальфосфат – производное витамина В₆). При декарбоксилировании лизина образуется кадаверин, триптофана – триптамин, гистидина – гистамин, орнитина – путресцин. Путресцин и кадаверин обнаружены в рожках спорыньи, боровиках, мухоморах, белене, белладонне и дурмане; в этиолированных проростках сои найден кадаверин, в спорынье и побегах омелы – тирамин, в томатах и шпинате – гистамин. Во многих цветах содержится изоамиламин, образующийся при декарбоксилировании лейцина, и изобутиламин, получающийся при декарбоксилировании валина.

Амины, образующиеся при декарбоксилировании аминокислот, обычно в растениях не накапливаются, а претерпевают различные превращения и вовлекаются в обмен веществ.

Из диаминов в растениях синтезируются различные гетероциклы, а из них – гетероциклические соединения, например, алкалоиды. Из путресцина образуется гетероцикл пирролидин, а из него пирролидиновые алкалоиды; из кадаверина – гетероцикл пиперидин и пиперидиновые алкалоиды.

Мескалин – психоделик из группы фенилэтиламинов. Психоделиками называют класс психоактивных веществ, изменяющих восприятие и влияющих на эмоциональное состояние и многие психические процессы. Психоделики могут вводить человека в изменённые состояния сознания, но в целом они, как правило, считаются неопасными в плане возникновения зависимости. Психоделики имеют долгую историю традиционного использования в народной медицине и религиозных практиках. Их способность воздействия на восприятие использовалась для физического и духовного лечения. Психоделики использовались людьми в шаманских и религиозных ритуалах, начиная с доисторических времен. В настоящее время в религиозных целях эндемичные психоактивные вещества используются, например, индейцами Южной Америки. В большинстве стран употребление и распространение психоделиков преследуется по закону. Однако в последнее время проводятся исследования применимости психоделиков для избавления зависимости от табака и алкоголя и психологической помощи больным онкологическими заболеваниями.

В небольших количествах содержится в кактусах рода Лофофора и Эхинопсис, синтезируется искусственным путём из галловой кислоты, также может быть синтезирован из ванилина. В большинстве стран производство и распространение мескалина запрещено законом (в том числе в России). О галлюциногенных свойствах некоторых кактусов издавна знали индейцы различных племён и употребляли эти растения во время религиозных церемоний.

Путресцин вместе с кадаверином впервые были описаны в 1885 году берлинским врачом Людвигом Бригером в продуктах гнилостного распада белков.

Тирамин найден в спорынье, гниющих тканях, сыре. Отсюда и его название (от греч. τυρος – сыр). Физиологически активен (в связи с сосудосуживающим действием повышает кровяное давление, влияет на процессы возбуждения и торможения в нервной системе) и токсичен. Образуется из аминокислоты тирозина под действием бактериальных декарбоксилаз, в частности при гнилостных процессах в кишечнике млекопитающих животных и человека.

Гистамин, также имидазолил-2-этиламин – органическое соединение, биогенный амин, медиатор аллергических реакций немедленного типа, также является регулятором многих физиологических процессов.

Беталаины – класс пигментов производных индола. Беталаины имеют красную, жёлтую окраску и характерны для растений порядка Гвоздичноцветные. У данной группы растений беталаины заменяют антоцианы. Беталаины также встречаются у некоторых высших грибов. Чаще всего беталаины накапливаются в лепестках цветков, но могут окрашивать плоды, листья, стебли и корни растений. К беталаинам, в частности, относят пигменты, найденные в свекле.

Название «беталаины» происходит от латинского названия свеклы обыкновенной (*Beta vulgaris*), растения, из которого впервые данные соеди-

нения были выделены. Глубокий красный цвет свеклы, бугенвиллии, амаранта и многих кактусов обусловлен присутствием беталаинов. Беталаины могут обуславливать окрашивание частей растения в различные оттенки красного, пурпурного, оранжевого и жёлтого. При этом окраска существенно отличается от окраски, обусловленной наличием антоцианов, характерных для большинства растений.

Выделяют две группы беталаинов:

Бетацианины объединяют красные и фиолетовые пигменты из группы беталаинов. К числу бетацианинов, присутствующих в растениях, относят: бетанин, изобетанин, пробетанин и необетанин.

Бетаксантины – пигменты группы беталаинов, обуславливающие жёлтую или оранжевую окраску. К числу бетаксантинов растений относят вульгаксантин, мираксантин, портулаксантин и индиксантин.

Физиологи растений не уверены, какую функцию выполняют беталаины в растениях. Есть некоторые предварительные доказательства того, что они могут иметь фунгицидные свойства.

Когда-то считалось, что беталаины химически родственны антоцианам (красные пигменты большинства растений). Как беталаины, так и антоцианы являются водорастворимыми пигментами, накапливающимися в вакуолях растительных клеток. Тем не менее, сейчас установлено, что беталаины структурно не похожи на антоцианы, кроме того эти две группы пигментов никогда не обнаруживаются в одном растении вместе. Одной из существенных структурных особенностей беталаинов является наличие атома азота, тогда как антоцианы азота не содержат.

В настоящее время известно, что беталаины являются производными ароматического гетероцикла – индола. Предшественником биосинтеза беталаинов служит аминокислота – тирозин. Антоцианы же относят к группе флавоноидов. Беталаины являются гликозидами и состоят из углеводной и обуславливающей окраску ароматической части. Синтезу беталаинов в надземных частях способствует свет.

Наиболее изученным беталаином является бетанин (свекольный красный), который можно легко экстрагировать из корнеплода и корней красной свеклы. Бетанин является глюкозидом и гидролизуетсся с образованием глюкозы и бетанидина. Бетанин используется в качестве пищевого красителя, его окраска чувствительна к pH среды.

Другими важными бетацианинами являются амарантин и изоамарантин, из различных видов амаранта.

Беталаины встречаются у растений порядка Гвоздичноцветные (Caryophyllales) и у некоторых грибов базидиомицетов. Например, беталаины могут быть найдены у гигроцибе (Hygrophoraceae, восковые капсулы). У грибов беталаины могут встречаться одновременно с антоксантинами (жёлтые или оранжевые флавоноиды), у растений же беталаины никогда не встречаются одновременно с антоцианами.

Среди цветковых растений порядка Гвоздичноцветные (Caryophyllales) большинство представителей вырабатывают беталаины и не имеют антоциа-

нов. Из всех семейств в гвоздичноцветных только семейство Гвоздичные и семейство Моллюгиновые (Molluginaceae) синтезируют антоцианы вместо беталаинов. Ограниченное распределение беталаинов среди растений является синапоморфией для порядка Caryophyllales; утрата способности к их биосинтезу в двух вышеобозначенных семействах считается вторичным признаком.

Бетанин коммерчески используется в качестве натурального пищевого красителя. Это может вызывать бетурию (красная окраска мочи) и красную окраску кала у людей, не способных катаболизировать данный пигмент.

Интерес пищевой промышленности к беталаинам возрос, поскольку методами *in vitro* было установлено, что они являются антиоксидантами и могут защищать от окисления липопротеинов низкой плотности. Липопротеины низкой плотности – класс липопротеинов крови, являющийся наиболее атерогенным. Этот класс липопротеинов является одним из основных переносчиков холестерина в крови. Холестерин ЛПНП часто именуется «плохим холестерином» из-за его связи с риском атеросклероза.

2 Необычные липиды, серосодержащие, ацетиленовые и другие вторичные метаболиты

Необычные жирные кислоты отличаются от «обычных» длиной углеродной цепи, необычным расположением и количеством двойных связей, наличием дополнительных функциональных групп и циклов. В углеродных алифатических цепях могут находиться заместители различной химической природы, такие как металльные, гидроксильные, карбонильные группы, оксо- и оксигруппы, циклопропановые или цикlopентановые группировки. В эту же группу включены жирные кислоты с тройными связями, конъюгированными двойными связями, с разветвленной углеродной цепочкой, с двойными связями в транс-форме. Чаще всего необычные жирные кислоты обнаруживаются в масле семян.

Примером «коротких» насыщенных жирных кислот может служить каприевая кислота, имеющая 12 углеродных атомов и обнаруженная в представителях семейств Ulmaceae, Lauraceae, Lythraceae. Длинноцепочечная насыщенная жирная кислота с 24 атомами углерода – лигноцериновая – найдена в растениях семейств Leguminosae и Sapindaceae.

Из дополнительных функциональных групп в жирных кислотах чаще всего присутствуют гидроксилы. В масле семян ряда растений гидроксильированные жирные кислоты могут составлять до 90 % от общего содержания жирных кислот. Кроме того, гидроксильированные жирные кислоты входят в состав кутина и суберина. В качестве примера свободной гидроксильированной кислоты можно привести мононенасыщенную рициноловую кислоту, обнаруженную в клещевине *Ricinus communis*.

Отдельной группой ненасыщенных жирных кислот являются соединения с конъюгированными двойными связями. Обычно такие кислоты содержат три или более конъюгированных двойных связей, причем, как минимум, одна из них находится в трансконфигурации. Примером подобных кислот

может служить паринаровая кислота, найденная в растениях семейств розовых Rosaceae и бальзаминовых Balsaminaceae.

Масло из плодов тунгового дерева содержит до 80 % олеостеариновой кислоты, которая является изомером линоленовой, но имеет своеобразную конфигурацию: две ее двойные связи находятся в транс-, а одна двойная связь – в цис- положении. Причем двойные связи не разделены метиленовыми группами. Благодаря такому строению олеостеариновая кислота придает тунговому маслу специфические свойства – способность к полимеризации и затвердеванию при температуре выше 282 °С, что делает его ценным сырьем для лакокрасочной промышленности

Тунг, или Масляное дерево – небольшой род деревьев семейства Молочайные, распространенных в тропических и субтропических районах Азии и Южной Америки, а также на островах Тихого океана. Семена видов тунга – источник ценного технического масла, обладающего свойством быстро высыхать на воздухе. Благодаря этому свойству оно широко применяется для производства лаков и красок. Тунговое масло также растворимо в большинстве органических растворителей. Оно относительно токсично и обладает неприятным запахом, поэтому в пищевых целях не используется.

Необычные жирные кислоты характерны для той или иной небольшой группы растений. Однако в данной группе они могут содержаться в больших количествах. Например, масла семян растений из семейства крестоцветных (рапс, горчица) содержат от 42 до 55 % эруковой кислоты. Эруковая кислота – ненасыщенная жирная кислота, имеющая 22 углеродных атома и одну двойную связь. С помощью клеточной селекции были получены варианты растений (например, рапса *Brassica napus* или *Brassica campestris*), полностью свободные от эруковой кислоты.

В масле некоторых тропических деревьев и кустарников из семейства Flacourtiaceae содержатся циклические жирные кислоты, с присутствием которых связывают лечебные свойства масла указанных растений.

К серосодержащим вторичным метаболитам, кроме тиогликозидов, относятся аллицины. Аллицины содержатся в чесноке (*Allium sativum*) и луке (*Allium cepa*), за что и получили название, поскольку определяют специфический чесночный или луковый вкус и запах.

Сам аллицин в свободном состоянии в чесноке не встречается.

Однако при чистке чеснока фермент аллииназа воздействует на аминокислоту аллиин, превращая ее в аллицин. Антимикробные (фитоцидные) свойства этих растений также обусловлены присутствием аллицинов. Аллицины синтезируются в растениях из серосодержащей аминокислоты цистеина.

Тиофен – ароматический пятичленный гетероцикл, содержащий один атом серы в цикле. Производные тиофена широко распространены в живой природе: грибах и некоторых высших растениях. Например, грибок *Daedelia juniperina* и корни *Echinops spaeoccephalus* содержат непредельные соединения тиофена.

Производные ацетилена. У многих видов высших растений при изучении липидного спектра были обнаружены соединения с одной или несколькими тройными связями. Такие соединения получили название ацетиленовых производных. Первый природный ацетилен – тарариновая кислота (24) – был выделен из масла семян *Piscamnia*. Она содержит одну тройную связь. Изановая кислота, имеющая две тройные и одну двойную связь, найдена в представителях семейства Olacaceae. Олаксовые (лат. Olacaceae) – семейство двудольных растений, входящее в порядок Санталоцветные, включающее в себя 16 родов. Роды семейства распространены в тропических и отчасти субтропических областях Африки, муссонной Азии, Австралии и Южной Америки.

Ацетиленовые производные распространены очень широко: они обнаружены у растений, животных и микроорганизмов. Их можно разделить на длинноцепочечные моноацетилены и полиацетилены. Полиацетиленовые производные более разнообразны в структурном плане, поэтому получили более широкое распространение. В отличие от необычных жирных кислот, которые, как правило, присутствуют только в масле семян и восках, ацетиленовые производные могут находиться во всех органах и частях растения. Известно несколько типов природных ацетиленов и полиацетиленов. Некоторые из них представляют собой алифатические соединения, другие имеют ароматический характер; одни из них представляют собой углеводороды, другие же обладают теми или иными функциональными группами. Длина цепей, а также степень ненасыщенности сильно варьируют даже в пределах одного типа. Ненасыщенные фрагменты ацетиленов могут быть и сопряженными и разделенными метиленовыми группами. Отдельные вещества содержат наряду с ацетиленовыми также этиленовые группы. Соединения с двойной связью встречаются в виде цис- или транс-изомеров. В структуре этих соединений часто присутствуют другие функциональные группы: спиртовые, карбонильные, карбоксильные, эфирные и др. Некоторые вещества имеют тиофеновые или фурановые группировки. Ацетиленовые производные тиофена представляют собой одну из самых крупных групп природных ацетиленов.

Многие полиацетилены являются физиологически активными веществами. В частности, некоторые из них обладают антибиотической активностью. Для многих природных полиацетиленов характерна высокая цитотоксическая активность по отношению к опухолевым клеткам. Из растения *Artemisia capillaris*, известного в китайской медицине своей противовоспалительной и диуретической активностью, было выделено более десяти фенилацетиленов под общим названием «капилларидины».

Полынь волосовидная – многолетнее травянистое растение или полукустарник высотой до 1 м. Произрастает в Северо-Восточном Китае, Корее и некоторых районах Японии, в России встречается только на юге Приморского края. В Китае препараты травы включены в состав комплексных средств, используемых при инфекционном гепатите, энцефалите, уролитиазе, анкилостомозе, филяриозе, аскаридозе желчного протока. Корни применяются менее широко. Сообщалось об их использовании при туберкулезе. Применение

препаратов полыни волосовидной требует осторожности: превышение дозы в 2 раза вызывает отравление.

Отдельные представители ацетиленовых являются токсичными. например, из растения *Cicuta virosa* был выделен цикутотоксин, производное ацетилена. как известно, при его попадании в организм начинаются судороги и наступает смерть.

Соединения ацетилена синтезируются у многих представителей сложноцветных и зонтичных. Полиацетилены обнаруживаются у них преимущественно в составе эфирных масел. Из растений семейства сложноцветных было выделено несколько ацетиленовых спиртов. Среди грибов способностью к образованию полиацетиленов обладают только высшие грибы, относящиеся к классу базидиомицетов. За счет наличия тройных связей ацетиленовые производные химически активны и являются предшественниками целого ряда других вторичных метаболитов.

Воска. Эпидермис различных органов высших растений, как правило, покрыт кутикулой, на которой обычно имеется восковой налет различной толщины. Этот восковой слой носит название кутикулярного воска. Растительные воска имеют сложный состав. Кутикулярный воск представляет собой многокомпонентную смесь, которая состоит из относительно простых углеводов (прежде всего, алканов), восковых эфиров, а также жирных кислот, спиртов и кетонов. Обязательными компонентами кутикулярного воска являются углеводороды, причем у многих высших растений они выступают главной его частью. Обычно углеводороды воска представлены алканами с длиной углеводородной цепочки около 30 атомов – C_{29} – C_{31} . Алканы обычно содержат нечетное количество атомов углерода ($n = 27, 29, 31$), что обусловлено их образованием из соответствующих карбоновых кислот.

Во многих восках найдены ненасыщенные углеводороды – алкены со структурами, похожими на структуру соответствующих алканов.

Алканы и алкены кутикулярных восков синтезируются в эпидермальном слое клеток и затем выводятся на поверхность кутикулы. Восковые эфиры являются специфичными компонентами кутикулярного воска. Они представляют собой сложные эфиры длинноцепочечных насыщенных жирных кислот и спиртов жирного ряда. обычно длина углеродной цепочки как спиртов, так и кислот составляет 24, 26 или 28 атомов. В ряде случаев обнаружены внутримолекулярные эфиры, в результате чего образуются кольцевые структуры.

В кутикулярных восках одновременно с углеводородами присутствуют гомологичные им спирты, кетоны и жирные кислоты, имеющие, как правило, длинные углеводородные цепочки.

Растительный воск по физическим свойствам напоминает пчелиный и потому употребляется в качестве суррогата его; по химическому составу имеет, однако, с ним мало общего. Растительный воск принадлежит, скорее всего, к группе жиров, причем из жирных кислот больше всего содержит пальмитиновой кислоты; кроме нее в меньшем количестве найдены стеариновая, олеиновая и миристиновая. Кислоты находятся частью в соединении с

глицерином, частью в свободном состоянии. Почти всегда растительный. воск содержит, кроме того, небольшие количества красящих, пахучих и смолистых веществ. Растительный воск – вещество, очень распространенное в растениях. Обыкновенно он покрывает тончайшим слоем наружную (кроющую) ткань растения – эпидерму; реже встречается внутри клеток (*Rhus succedanea*). Под микроскопом этот "восковой налет" (знакомый каждому хотя бы по тому тончайшему налету, который одевает зрелые сливы) никогда не бывает однородным, а состоит из различных зернышек, палочек или листочков.

В тех случаях, когда отложение воска достигает значительной величины, им пользуются для добывания этого продукта. Таковы экзотические деревья *Copernicia cerifera*, *Ceroxylon andicola*, *Ficus ceriflua* и др. Способ добывания при поверхностном отложении очень прост: корки снимают механическим путем, сплавляют и или прямо пускают в продажу, или предварительно очищают. При отложении воска внутри клеток его добывают, подобно маслу, дроблением и прессованием растения. В продаже известны главным образом следующие сорта:

1) Карнаубский воск, добываемый с карнаубской пальмы *Copernicia cerifera* в Бразилии (Pernambuco, Rio grande); неочищенный грязно-желтовато-зеленого цвета и содержит много обрывков тканей (эпидермы); после очистки – светлого желто-зеленого цвета, хрупок, тверд, без запаха и вкуса. Уд. вес 0,999; темп. плавл. различными исследователями указывается от 84° до 97°, что зависит, конечно, от неоднородности этого продукта; легко растворяется в горячем алкоголе и в эфире. Карнаубский воск – самый твердый и тугоплавкий (температура плавления +83...+91 °C) из восков растительного и животного происхождения. Он не токсичен, поэтому широко применяется для создания глянцевых покрытий в автомобильном воске, лаке для обуви, зубных нитях, пищевых продуктах, таких как конфеты, яблоки (которые выглядят как отполированные), средствах для полировки, воске и лаке для деревянного пола, мебели и др. Он является основным ингредиентом в сочетании с кокосовым маслом в воске для серфинга. Из-за своих гипоаллергенных и смягчающих свойств, а также своего блеска, карнаубский воск применяется в качестве ингредиента для многих косметических составов, где он используется в качестве загустителя в губной помаде, подводке для глаз, туши, тенях, различных препаратах по уходу за кожей и волосами и т. д. Также используется в медицине, как покрытие лекарственных препаратов в форме таблеток.

2) Пальмовый воск получается с *Ceroxylon andicola*, растущего в Кордильерах Новой Гранады. На стволах и листьях этого растения восковой налет образует корки до 6 мм толщиной; с каждого дерева получают около 25 фун. воска. Желтовато-белого цвета, темп. плавл. 72°. В торговле реже предыдущего.

По внешнему виду пальмовый воск похож на карнаубский и состоит в основном из сложных эфиров пальмитиновой кислоты и церилового и мирицилового спиртов. Пальмовый воск отделяется от листьев восковой пальмы. Чистый воск – светло-желтое вещество, подобное пчелиному воску, которое

плавится при 72°C . Факт, что пальмовый воск представляет собой смесь восков и смол, дает основание предполагать, что и в предыдущие геологические эпохи высшие растения выделяли подобные смеси с различным соотношением воска и смолы. Это предположение позволяет понять большое разнообразие в химическом составе битумов в некоторых бурых углях. Установлено, что эти угли образованы различными пальмами. В Южной Америке произрастают пальмы, стволы которых покрыты желтоватой массой – так называемым пальмовым воском. Его добывают соскабливанием со стволов или вывариванием срубленных стволов. С одного дерева получают 10–15 кг воска.

3) Японский воск добывается преимущественно из семян двух видов *Rhus* – *R. vernicifera* и *R. succedanea*, растущих в Японии, Китае и культивируемых в Ост-Индии. Наиболее важный продукт в торговле, идущий в большом количестве из Японии и Сингапура. Добывается дроблением и прессованием семян, в которых отложен главным образом в семядолях. Японский воск при комнатной температуре представляет собой твердое вещество желтовато-зеленоватой окраски со смолистым запахом. При длительном хранении на воздухе воск окисляется, принимает желто-коричневую окраску. При низкой температуре он хрупкий, при нагревании обладает высокой липкостью. Удельный вес его 0,999, температура плавления $52\text{--}53^{\circ}$, размягчается при температуре $34\text{--}36^{\circ}$. Из химических элементов в состав японского воска входят жирные кислоты: пальмитиновая, стеариновая, масляная и глицерин.

РАЗДЕЛ 6 БИОХИМИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ РАСТЕНИЙ

Тема 14 Биохимия вторичного метаболизма

- 1 Предшественники биосинтеза вторичных метаболитов.
- 2 Пути биосинтеза основных классов вторичных метаболитов.
- 3 Модификации вторичных метаболитов (гликозилирование, гидроксилирование, метоксилирование, метилирование).
- 4 Энзимология вторичного метаболизма

1 Предшественники биосинтеза вторичных метаболитов.

Пути синтеза большинства вторичных метаболитов установлены достаточно хорошо. В настоящее время интенсивно изучается энзимология вторичного метаболизма. На основании имеющейся информации можно сформулировать некоторые закономерности биосинтеза этих соединений. Предшественниками синтеза служит относительно небольшое количество первичных метаболитов. Многие группы вторичных метаболитов могут синтезироваться несколькими путями.



Биогенетические предшественники большинства алкалоидов — это аминокислоты орнитин, лизин, фенилаланин, тирозин, триптофан и другие. Все они, кроме антраниловой кислоты, являются протеиногенными. Никотиновая кислота синтезируется из триптофана или аспарагиновой кислоты.

The diagram illustrates the metabolic pathways of phenylalanine and tyrosine, which are precursors for various secondary metabolites. The pathways are as follows:

- Phenylalanine (3) Pathway:**
 - Phenylalanine (3) is converted to **Trans-cinnamic acid (4)** (Семейство коричной кислоты).
 - Trans-cinnamic acid (4)** can undergo:
 - Reduction:** Leads to **Cinnamyl alcohols (5)** (Коричные спирты), which are further converted to **Lignin (6)** (Лигнин).
 - β-Oxidation:** Leads to **Phenylcarboxylic acids** (Фенолкарбоновые кислоты).
 - Phenylcarboxylic acids** can be converted to **Phenols** (Фенолы) or **Hydroxybenzoic acids** (Гидроксибензойные кислоты).
- Tyrosine Pathway:**
 - Tyrosine is converted to **Homogentisinic acid** (Гомогентизимовая кислота).
 - Homogentisinic acid** can be converted to:
 - Prenylated Homogentisinic acid:** Leads to **α-Tocopherol** (α-Токоферол) and **Plastoquinone** (Пластохинон).
 - Prenylated Homogentisinic acid:** Leads to **Flavonoids** (Флавоноиды).
 - Flavonoids** can be converted to **Anthraquinones** (Антрахиноны) or **Polycyclic compounds** (Полициклические соединения).

The diagram also shows the structure of **Prenyl** (Пренил) groups, which are common in many of these metabolites. The structures of **Quinone** (Кинон) and **Anthraquinone** (Антрахинон) are also shown.

Синтез колоссального числа изопреноидов происходит из единственного предшественника – изопентенилдифосфата. Под действием фермента изопентенилдифосфатизомеразы, которая сдвигает двойную связь, ИПДФ превращается в диметилаллилдифосфат (ДМАДФ).

The diagram illustrates the metabolic pathways of carbohydrates, starting from **Углеводы** (Carbohydrates) and **Гликолиз** (Glycolysis). Key components include:

- Углеводы** (Carbohydrates) and **Гликолиз** (Glycolysis) are the starting points.
- ПФЦ** (Phosphoenolpyruvate) is formed from **Углеводы** and enters the **Эритрозо** (Erythrose) cycle.
- ФЕП** (Phosphoenolpyruvate) is a central intermediate that branches into:
 - Хинная и шикимовая кислоты** (Quinic and Shikimic acids) via a **-4-P** step.
 - Бензойные кислоты** (Benzoic acids).
 - Гидролизуемые дубильные вещества** (Hydrolyzable tannins).
 - ЦТК** (Citric Acid Cycle) via **СН₃СО** and **-5С.А** (5-carbon acids).
 - Жирные кислоты** (Fatty acids).
- Хинная и шикимовая кислоты** lead to **Хоризмовая кислота** (Homocinnic acid), which then leads to **ФАЛ** (Ferulic acid).
- ФАЛ** leads to **Коричные кислоты** (Cinnamic acids), which further lead to **Кумарины** (Coumarins) and **Лигнин** (Lignin).
- Коричные кислоты** also lead to **Конденсированные дубильные вещества** (Condensed tannins).
- Синтез белка** (Protein synthesis) is shown as a final outcome, influenced by **Тир** (Tyrosine) and **Коричные кислоты**.

2 Пути биосинтеза основных классов вторичных метаболитов.

Образовавшиеся биогенные амины подвергаются окислительному дезаминированию с участием аминоксидаз. Полученные в результате аминоальдегиды или аминокетоны в результате серии последовательных реакций образуют ключевые гетероциклические соединения. Затем происходит модификация базовой структуры с участием разнообразных реакций – гидроксирования, метилирования и др. В формировании окончательной структуры алкалоида могут принимать участие дополнительные углеродные единицы, например ацетат (в виде ацетил-CoA) или монотерпеновая единица

(для сложных индольных алкалоидов). В зависимости от сложности алкалоида его биосинтез включает от трех-четырех до десяти-пятнадцати реакций. Для целого ряда алкалоидов не только установлена схема синтеза, но охарактеризованы и выделены ферменты. Оказалось, что некоторые ферменты синтеза не очень специфичны (в качестве субстратов могут использовать различные соединения), однако в цепочке синтеза обязательно присутствуют высокоспецифичные ферменты, которые используют только один субстрат (или ряд очень близких субстратов) и выполняют очень специфичную реакцию. Например, при синтезе изохинолинов гидроксирование базовой структуры по каждому положению выполняют разные ферменты. По мере продвижения к заключительным этапам синтеза сродство ферментов к субстрату обычно повышается.



Если при синтезе алкалоидов сходная цепочка превращений используется для различных исходных соединений (аминокислот), то синтез колоссального числа изопреноидов происходит из единственного предшественника – изопентенилдифосфата (ИПДФ). Под действием фермента изопентенилдифосфатизомеразы, которая сдвигает двойную связь, ИПДФ превращается в диметилаллилдифосфат (ДМАДФ). Далее ИПДФ присоединяется к ДМАДФ по двойной связи и образуется C₁₀-соединение – геранилдифосфат. Он служит источником всех монотерпеноидов.

Затем к геранилдифосфату присоединяется еще один ИПДФ и образуется C₁₅-соединение фарнезилдифосфат – исходное вещество для синтеза сесквитерпеноидов. Далее фарнезилдифосфат может либо присоединить еще одну молекулу ИПДФ с образованием геранилгеранилдифосфата (C₂₀-

соединение – источник дитерпеноидов), либо димеризоваться с образованием сквалена (C_{30} -соединение – исходное соединение для всех тритерпеноидов).

Наконец, геранилгеранилдифосфат может димеризоваться с образованием фитоина – C_{40} -соединения, источник тетратерпеноидов. Кроме того, к геранилгеранилдифосфату может последовательно присоединиться большое количество ИПДФ, формируя в конечном итоге полиизопреноиды – каучук и гуттаперчу. В результате описанных реакций образуется полный гомологический ряд C_5 -соединений разной длины.

Далее эти алифатические молекулы могут «свернуться» в циклические структуры, причем количество циклов, их размер и типы сочленения могут быть самыми разными.

Синтез базовых изопреноидных структур осуществляют всего два типа ферментов – пренилтрансферазы, которые «наращивают» длину изопреноидов, и циклазы, которые формируют соответствующий циклический скелет молекулы. При этом каждый тип структуры формирует специфическая циклаза. Так как типов циклических структур изопреноидов довольно много, то и количество циклаз должно быть внушительным. К настоящему времени их известно более ста. После формирования базовой структуры (или одновременно с этим), происходит ее модификация и «оснащение» функциональными группами.

Долгое время считалось, что во всех организмах исходное соединение для образования изопреноидов – ИПДФ – формируется единственным способом, а именно из мевалоновой кислоты, которая в свою очередь синтезируется из трех молекул ацетил- CoA .

Недавно было установлено, что разные организмы используют различные способы синтеза ИПДФ. В клетках животных и грибов все изопреноиды синтезируются по «классическому» мевалонатному пути. Целый ряд микроорганизмов, в том числе многие цианобактерии и зеленые водоросли, используют другой вариант образования ИПДФ. В этом случае его предшественником является 1-дезоксисилулозо-5-фосфат, который синтезируется из пирувата и глицеральдегид-3-фосфата. Такой путь синтеза был назван «альтернативным», или «немевалонатным». Оказалось, что растения используют оба варианта образования изопреноидов: в цитозоле синтез идет по классическому пути, а в пластидах – по альтернативному. При этом возможно не только дублирование синтеза изопреноидов в разных компартментах клетки, но и разделение по типу синтезируемых структур.

Тритерпеноиды (включая стероиды) синтезируются в цитозоле из мевалоната, тогда как дитерпеноиды (включая фитол хлорофилла) и тетратерпеноиды (прежде всего каротиноиды) – в пластидах по альтернативному пути.

Моно- и сесквитерпены, вероятно, могут образовываться разными вариантами в зависимости от структуры молекулы и вида растения. α -гидроксинитрил. На последнем этапе синтеза образуется цианогенный гликозид за счет гликозилирования α -гидроксинитрила при помощи УДФ-глюкозы. Синтез обычно осуществляет комплекс ферментов: например, для

дуррина этот комплекс состоит из четырех ферментов. Гены ферментов клонированы. Трансгенное по двум генам растение арабидопсиса приобрело способность к синтезу цианогенных гликозидов.

Синтез беталаинов начинается от тирозина, который гидроксилируется и образуется диоксифенилаланин (ДОФА). ДОФА служит источником для двух фрагментов молекулы бетацианинов – беталамовой кислоты и цикло-ДОФА. Объединение этих двух соединений приводит к формированию бетацианинов. При синтезе бетаксантинов беталамовая кислота конденсируется с пропионом.

Серосодержащие вторичные метаболиты обычно синтезируются из серосодержащих аминокислот.

Шикимовая кислота почти всегда служит предшественником при биосинтезе производных нафтохинона. Вторым компонентом в этом биосинтезе является α -кетоглутаровая кислота, а важным промежуточным продуктом ее конденсации с шикимовой кислотой – о-сукцинилбензойная кислота. Далее следует циклизация с образованием уже типичных нафтохиноновых структур, где ароматическое кольцо построено на базе шикимовой кислоты, хиноидная же часть молекулы – из некарбоксильных С-атомов α -кетоглутаровой кислоты. У представителей семейства Rubiaceae сходным путем образуются и антрахиноновые производные. Дополнительное шестичленное углеродное кольцо их молекулы синтезируется путем конденсации нафтохинонового производного с диметилаллильной формой «активированного изопрена» – изопентенилдифосфата. Продукт конденсации, подвергаясь окислительной циклизации, превращается в антрахинон.

Ацетатно-малонатный путь синтеза фенольных соединений широко распространен у грибов, лишайников и микроорганизмов. У растений он является минорным. При синтезе соединений по этому пути ацетил-СоА карбоксилируется с образованием малонилацетил-СоА. Затем происходит каскад аналогичных реакций, в результате наращивается углеродная цепь и возникает поли- β -кетометиленовая цепочка. Циклизация поликетидной цепи приводит к образованию различных фенольных соединений. Таким способом синтезируются флороглюцин и его производные, некоторые антрахиноны.

В структуре флавоноидов кольцо В формируется по шикиматному пути (из оксикоричной кислоты), тогда как кольцо А – по ацетатно-малонатному. В клетке работают два шикиматных пути синтеза флавоноидов – один в пластидах, другой в цитозоле. В этих компартментах находится полный набор изоферментов шикиматного пути, а также ферментов фенольного метаболизма, в том числе ФАЛ и халконсинтазы.

Таким образом, в растительной клетке существует две параллельные цепочки синтеза фенольных соединений (аналогично изопреноидам. К настоящему времени известно два пути образования фенольных соединений – шикиматный (через шикимовую кислоту) и ацетатно-малонатный.

Основной путь шикиматный, это практически единственный способ формирования ароматического кольца. В качестве исходных соединений для синтеза выступают фосфоенолпируват (ФЕП) и эритрозо-4-фосфат. При их

конденсации возникает семиуглеродная кислота (2-кето-3-дезоксид-7-фосфоарабогептановая), которая затем циклизуется в 5-дегидрохинную кислоту. Из дегидрохинной кислоты образуется шикимовая кислота, которая имеет шестичленное кольцо, одну двойную связь, и ее легко перевести в соединения ароматического ряда. Из шикимовой кислоты возможно образование оксибензойных кислот – п-оксибензойной, протокатеховой, галловой. Однако основным путем использования шикимовой кислоты – образование через префеновую кислоту ароматических аминокислот фенилаланина и тирозина. Фенилаланин (возможно, в ряде случаев и тирозин) – основной предшественник синтеза фенольных соединений.

Дезаминирование фенилаланина осуществляет фермент фенилаланинаммиаклиаза (ФАЛ). В результате образуется коричная кислота, гидроксилирование которой приводит к образованию пара-кумаровой (оксикоричной) кислоты.

После дополнительного гидроксилирования и последующего метилирования из нее образуются остальные оксикоричные кислоты. Оксикоричные кислоты представляют центральное звено синтеза всех фенольных соединений клетки. Орто-кумаровая кислота является предшественником кумаринов. После ряда реакций укорочения алифатической части молекулы образуются C_6-C_2 - и C_6-C_1 – соединения – это второй путь образования оксибензойных кислот (первый – непосредственно из шикимовой кислоты). Оксикоричные кислоты могут образовывать различные конъюгаты, прежде всего с сахарами, однако основная масса оксикоричных кислот активируется путем взаимодействия с СоА. Два магистральных пути использования СоА-эфиров оксикоричных кислот – синтез лигнинов и синтез флавоноидов. Для синтеза лигнинов СоА-эфиры оксикоричных кислот восстанавливаются до спиртов, которые выступают в качестве мономеров синтеза. При синтезе флавоноидов СоА-производное оксикоричной кислоты взаимодействует с тремя молекулами малонил-СоА с образованием халкона. Реакцию катализирует фермент халконсинтаза.

3 Модификации вторичных метаболитов (гликозилирование, гидроксилирование, метоксилирование, метилирование).

Анализ химической структуры вторичных метаболитов дает возможность выделить в большинстве случаев определенную «базовую» структуру, на основе которой образуются многочисленные варианты. Наибольшее распространение получили следующие пути возникновения различных вариантов:

- модификации базовой структуры: присоединение либо замена функциональных групп, изменение степени окисленности молекулы. В качестве функциональных групп обычно используются гидроксильные, метильные либо метоксильные группы;

- образование конъюгатов – присоединение к базовой структуре «унифицированных блоков». В качестве последних чаще всего выступают раз-

личные сахара (моно- или олигосахариды), органические кислоты или некоторые группы вторичных метаболитов;

– конденсация нескольких одинаковых или различных базовых структур (например, образование пренилированных фенольных соединений).

Для разных групп вторичных метаболитов характерны разные типы изменения структуры. Например, для алкалоидов характерно метоксилирование, но не гликозилирование; для изопреноидов, наоборот, типично гликозилирование, но не метоксилирование; у фенольных соединений наблюдаются оба типа этих модификаций.

Многие модификации (в частности, гликозилирование) значительно изменяют биологическую активность молекулы. Очень часто гликозилирование является универсальным способом перевода активной (функциональной) формы вторичного метаболита в неактивную (запасную).

Поскольку вторичные метаболиты, как правило, отличаются высокой биологической активностью, а, следовательно, могут вызвать повреждения цитоплазмы, у растений должны существовать механизмы, обезвреживающие их. В растениях имеются два основных пути защиты от химически активных веществ: компартментация в пространственно разделенных клеточных органеллах и химическая модификация до относительно безвредных соединений.

Модификации вторичных метаболитов происходят при их синтезе. Для фенольных соединений характерно образование гликозидов, метилирование и метоксилирование. За счет гидроксильных и карбоксильных групп фенольные соединения могут связываться с сахарами, органическими кислотами, растительными аминами, алкалоидами.

Основными реакциями при биосинтезе подавляющего числа алкалоидов являются декарбоксилирование и окислительное дезаминирование или переаминирование аминокислот и диаминов, первичное метилирование, трансметилирование, а также циклизация алифатических соединений-предшественников до гетероциклических структур.

Особую роль в образовании алкалоидов играют реакции метилирования. Оно часто происходит на стадии ациклического соединения и предшествует циклизации, направляя ее. Метильные группы, введенные в молекулу алкалоида, стабилизируют ее. Кроме того, метилированные аналоги менее токсичны, чем алкалоиды, не имеющие метильных групп. В молекулах алкалоидов метилироваться могут кислород и азот, образуя группы ($-\text{OCH}_3$) и ($=\text{N}-\text{CH}_3$). Метильные группы переносятся с помощью ферментов метилтрансфераз.

Первым в молекуле метилируется кислород с образованием метоксильной группы ($-\text{OCH}_3$), затем азот ($=\text{N}-\text{CH}_3$). Метильные группы переносятся с помощью ферментов метилтрансфераз, донором метильных групп выступает S-аденозилметионин. Кроме стабилизации молекулы алкалоидов, метилирование уменьшает их токсичность, увеличивает разнообразие модифицированных форм.

Гликозилирование – ферментативный процесс, в ходе которого происходит присоединение остатков сахаров к органическим молекулам. В процессе гликозилирования образуются гликозиды.

Многие модификации (в частности, гликозилирование) значительно изменяют биологическую активность молекулы. Очень часто гликозилирование является универсальным способом перевода активной (функциональной) формы вторичного метаболита в неактивную (запасную).

Углеводная (гликозильная) часть молекулы, или гликон, является циклической формой сахаров, а неуглеводная часть носит название агликон, или генин.

Агликоны и сахара соединены между собой гликозидной связью.

По размеру цикла углеводного остатка гликозиды делятся на пиранозиды (шестичленный или пирановый гликозильный цикл) и фуранозиды (пятичленный или фурановый гликозильный цикл).

Сахарные компоненты, входящие в состав гликозидов, в основном, относятся к моносахаридам.

Чаще всего встречаются глюкоза, рамноза и галактоза. Группа гликозидов, содержащих глюкозу, называется глюкозидами.

Стероидные алкалоиды, как правило, находятся в растениях в виде гликозидов, что послужило причиной их второго названия –гликоалкалоиды. Разнообразие строения гликоалкалоидов обусловлено прежде всего вариациями углеводной части соединения.

Метилирование – это введение в органические соединения метильной группы $-CH_3$ вместо атома водорода, металла или галогена. Частный случай алкирования. Метилирование в терминальном положении приводит к удлинению углеродной цепи в молекуле на 1 атом.

Метилирование алкалоидов часто происходит на стадии ациклического соединения, направляя циклизацию; донором метильной группировки, как правило, выступает метионин. Первым в молекуле метилируется кислород с образованием метоксильной группы ($-OCH_3$), затем азот ($=N-CH_3$). Метильные группы переносятся с помощью ферментов метилтрансфераз, донором метильных групп выступает S-аденозилметионин. Кроме стабилизации молекулы алкалоидов, метилирование уменьшает их токсичность, увеличивает разнообразие модифицированных форм.

4 Энзимология вторичного метаболизма

Изучение энзимологии вторичного метаболизма привело к открытию удивительно большого количества различных ферментов, участвующих в этом процессе.

Модификация вторичных метаболитов – источник их поразительного разнообразия. Модификация происходит прежде всего в реакциях замещения (их осуществляют ацилтрансферазы), метилирования, гликозилирования. В геноме арабидопсиса обнаружены гены 43 различных ацилтрансфераз. Несколько структурно близких ацилтрансфераз используют в качестве субстратов ацил-СоА, в их активном центре содержится консервативный гистидин.

Гены ацилтрансфераз в геноме собраны в кластеры. Метилтрансферазы представляют собой суперсемейство ферментов, в которое входят О-, С-, N-, S-метилтрансферазы.

Они используют в качестве метилирующего субстрата S-аденозинметионин (SAM) и осуществляют метилирование фенолпропаноидов, флавоноидов, алкалоидов, поликетидов, сахаров. С-, N-, S-метилтрансферазы структурно (и, видимо, эволюционно) не связаны, тогда как О-метилтрансферазы имеют сходную первичную структуру и консервативный SAM-связывающий мотив.

Гликозилирование осуществляют гликозилтрансферазы, причем существуют три типа ферментов: О-, С-, S-гликозилтрансферазы. Гликозилирование существенно изменяет свойства молекулы, прежде всего увеличивает ее растворимость и снижает токсичность.

Окислительно-восстановительные превращения кардинально изменяют свойства молекулы. Эти реакции катализируют окислительно-восстановительные (редокс) ферменты вторичного метаболизма – «метаболические волшебные палочки». У растений обнаружили более 300 цитохром-Р450-оксигеназ и более 100 диоксигеназ; при этом следует учесть, что диоксигеназы обычно мультисубстратны и образуют несколько продуктов.

Тема 15 Физиология вторичного метаболизма.

- 1 Клеточные аспекты выделительной деятельности растений.
- 2 Внутритканевая секреция.
- 3 Внешняя секреция.
- 4 Выделение вторичных метаболитов при экстремальных воздействиях.

1 Клеточные аспекты выделительной деятельности растений.

Основные физиологические функции клетки сосредоточены в цитоплазме с включенными в нее органеллами. Эта активная часть клетки отграничена от оболочки плазмалеммой, а от вакуоли – тонопластом. Если в процессе метаболизма возникает избыток какого-либо соединения (который может привести к нарушениям нормально протекающих реакций), то избыточные метаболиты эвакуируются путем диффузии или активного механизма через плазмалемму или тонопласт. В первом случае секретируемое соединение попадает в свободное (лежащее вне объема, ограниченного плазмалеммой) пространство клетки, во втором – в вакуоль.

Таким образом, из сферы активного метаболизма выводятся вещества, которые могли бы нарушить клеточный гомеостаз. Внутриклеточная секреция – эволюционно обусловленный путь удаления избытка метаболитов. Она возникла, по-видимому, в связи с развитием наземного образа жизни, приведшего к появлению массивных форм растений, что ограничило способность клеток выделять продукты обмена в окружающую среду.

Появилась тенденция к сохранению побочных продуктов внутри самих клеток – в вакуолях или в свободном пространстве клетки.

Выделяемые в секреторном процессе вещества разнообразны по своей химической природе. Это – прежде всего продукты первичного обмена – углеводы, белки, гормоны, необходимые для роста и развития. Кроме того, в цитоплазме и органеллах синтезируются продукты вторичного обмена, которые, как полагают, возникают в результате разбалансированного роста, приводящего к появлению избыточного количества интермедиатов, на накопление которых организм отвечает превращением их до вторичных соединений.

Вторичные метаболиты представлены в растениях огромным количеством индивидуальных соединений, хотя они образуются на немногих путях обмена веществ и их биогенетическими предшественниками является небольшое число веществ – шикимат, мевалонат, ацетил-КоА, коричная кислота и аминокислоты.

В растениях имеются два основных пути защиты от химически активных веществ. Один из них – компартментация в физически разделенных специфических органеллах. Другой путь состоит в химической модификации до относительно безвредных соединений (что также не исключает изолирование образующихся модифицированных веществ в определенных компартментах клетки). Продуктами внутриклеточной секреции в большинстве случаев являются соединения, образованные в процессе фотосинтеза, и основное место их синтеза – мембраны хлоропластов, хотя некоторые из вторичных метаболитов образуются и в других органеллах: эндоплазматическом ретикулюме, аппарате Гольджи и его везикулах, микросомах, лейкопластах. Основным компартментом растворимых в воде соединений является вакуоль, а для газообразных и липофильных экскретов такую же функцию выполняет свободное пространство клетки.

Прежде чем выделиться из цитоплазмы, секретируемые вещества преодолевают цитоплазматические мембраны – плазмалемму, если вещество выделяется в свободное пространство клетки, или тонопласт при транспорте в вакуоль. Чаще всего выделение осуществляется особой формой транспорта – **экзоцитозом**, который относится к активным формам выделения.

В растениях путем экзоцитоза выделяются частицы и макромолекулы, которым трудно преодолеть барьер, создаваемый плазмалеммой или тонопластом.

Различают внешнюю (экстраклеточную) и внутреннюю секрецию. Внутренняя секреция осуществляется в свободное пространство клетки (пространство между плазмалеммой и клеточной оболочкой) или в вакуоль (через тонопласт).

При экстраклеточной секреции в зависимости от специализации возможны три вида секреции: мерокриновая, апокриновая и голокриновая.

Секреция в свободное пространство клетки. Свободным пространством клетки обычно считают часть клетки вне объема, ограниченного плазмалеммой. Однако оболочка и плазмалемма являются единым комплексом и с трудом отделяются друг от друга. Поэтому выведение веществ через плаз-

малемму есть по сути дела секреция в свободное пространство – между клеточной стенкой и плазмалеммой. Некоторое расстояние между клеточной стенкой и плазмалеммой (периплазматическое пространство) реально появляется только в результате секреторной деятельности клетки, когда за плазмалемму изливается содержимое пузырьков Гольджи, и в этих случаях действительно плазмалемму от оболочки отделяет иногда значительное пространство, занятое секретом.

Секреция в свободное пространство является первый этапом выведения секрета из любой клетки. Этот процесс особенно заметен у специализированных секреторных клеток.

Примером секреции специализированными клетками в свободное пространство может служить процесс выделения монотерпенов. Синтез этих веществ осуществляется в больших лейкопластах амебоидной структуры, которые имеют только несколько внутренних мембран и их строма лишена рибосом. Вокруг лейкопластов имеется обертка из эндоплазматического ретикулума, связанная с мембранами лейкопластов, что позволяет терпеноидам переходить из мест их синтеза – пластидной наружной оболочки – к месту их аккумуляции – свободному пространству клетки. Фенолы также секретируются в свободное пространство клетки.

Секреция в вакуоль. Вакуоль является местом накопления водорастворимых соединений, которые попадают в нее из цитоплазмы. Мембрана дает избирательной проницаемостью, и в вакуоли концентрируются вещества только определенного типа. С физиологической точки зрения вещества, заполняющие вакуоль, принадлежат к двум разным категориям. С одной стороны – это вещества, ценные для растения, которые сохраняются и могут вновь включаться в процесс обмена веществ.

С другой стороны, в вакуолярном соке содержатся и вторичные продукты обмена – флавоноиды, алкалоиды и др., накопление которых обусловлено ограниченной способностью клетки выделять их наружу. Таким образом, центральная вакуоль клетки является своеобразной секреторной системой, в которую выводятся из сферы активных превращений вещества различной химической природы. Состав веществ, секретируемых цитоплазмой в вакуоль, сильно изменяется в зависимости от видовых особенностей растений, фазы развития и местонахождения клеток (корень, лист и другие органы).

Вакуоль выполняет ряд функций (осморегуляция, поддержание тургора, запасаание ассимилятов и секреция). Секреторная функция становится преобладающей в зрелой клетке, когда в вакуоли накапливаются нереализованные продукты обмена. Транспорт секретируемых веществ через тонопласт осуществляется с помощью активных механизмов – экзоцитоза и пиноцитоза.

Фенольные соединения, по-видимому, могут синтезироваться и в вакуоли и в хлоропластах. При попадании в вакуоль происходит их гликозилирование за счет присоединения сахарного остатка, с помощью которого ослабляется токсичность фенольных соединений. Кроме того, переход агликона в

гликозид повышает растворимость фенольных соединений в воде и одновременно снижает их растворимость в липидах биомембран, затрудняя обратный выход фенольных соединений из вакуоли через тонопласт.

Кроме фенолов, в пластидах (хлоропластах и лейкопластах) синтезируются алкалоиды, терпены, некоторые углеводороды, многие из которых также могут накапливаться в вакуоли.

Хотя большинство вторичных продуктов запасается в нецитоплазматических компартментах живых клеток, липофильные вещества могут образовывать капли липидов внутри цитоплазмы. В них могут аккумулироваться каротиноиды, смолы и эфирные масла. В таких каплях могут быть растворены и другие липофильные вещества, например, алкалоиды. Подобные капли часто есть и в вакуолях.

Секреторная функция свойственна любой растительной клетке. Однако в растениях имеются и специализированные клетки (**идиобласты**), в которых секреторная функция становится основной. В специализированных секреторных клетках накапливаются минеральные соли, эфирные масла, смолы, таннины и другие соединения. По внешнему виду и расположению в тканях идиобласты могут быть пигментированными (содержат фенолы или алкалоиды), склереидными, кристалл-содержащими.

Идиобласты могут быть заполнены разнообразными органическими веществами. Такие клетки включают слизи или масла, обогащены фенолами (таннинами, антоцианами, флавоноидами), алкалоидами, белками, терпеноидами и др.

Обычными типами секреторных клеток являются идиобласты, накапливающие производные фенолов (танины, антоцианы, флавоноиды). В масляных идиобластах обычно присутствуют различные терпены в смеси с другими соединениями, чаще всего с углеводородами, спиртами, кетонами и комплексом веществ в виде смол. Особенно широко распространены идиобласты, содержащие эфирные масла.

Масляные идиобласты отличаются от несекретирующих клеток крупным ядром, сильно развитым агранулярным эндоплазматическим ретикуломом, который принимает участие в биосинтезе терпенов. В терпеноидных клетках много митохондрий, снабжающих энергией процессы синтеза и выделения секрета в вакуоль. Для таких клеток также характерно развитие пластидного аппарата, состоящего из многочисленных лейкопластов.

Для некоторых групп растений характерно накопление в идиобластах алкалоидов; идиобласты являются также местом накопления стероидных гликозидов, которые широко распространены в растениях.

Идиобласты, содержащие полиизопрен гутту, часто встречаются в коре стебля *Euscommia ulmoides*. Эти структуры образуются из меристематических клеток коры. Частицы гутты синтезируются и аккумулируются в цитоплазме, где одновременно с этим деградируют органеллы.

Из других видов секреторных клеток известны идиобласты, содержащие сесквитерпеновые лактоны, которые особенно распространены в растениях из семейства *Magnoliaceae*.

2 Внутритканевая секреция.

К внутренним секреторным структурам относятся внутритканевые вместилища и ходы (каналы – вместилища, принимающие вытянутую форму). Внутритканевые каналы являются вместилищами разнообразных секретов. В зависимости от происхождения их делят на схизогенные и лизигенные. Схизогенные вместилища представляют собой межклеточники, заполненные выделившимся веществом и окруженные живыми эпителиальными клетками. К ним относятся смоляные ходы.

Лизигенные структуры возникают на месте группы клеток, которые распадаются после накопления веществ, например, вместилища эфирных масел. Развитие секреторных каналов идет различными путями у разных растений или даже у различных органов одного и того же растения. В некоторых тканях секреторные каналы развиваются сначала схизогенно, потом, на поздних стадиях, – лизигенно, тогда как в других тканях только лизигенно или только схизогенно.

Внутренними секреторными структурами являются и млечники, которые представляют собой живые клетки, содержащие в вакуолях млечный сок. Следует отметить, что в одних и тех же растениях, за исключением семейства *Anacardiaceae*, структуры и млечных и смоляных ходов не встречаются.

Секреция смол. Смолы встречаются млечниках и в смоляных ходах различных частей растений. Смоляные ходы широко распространены в семействах *Umbelliferae*, *Araliaceae*, *Compositae*, *Coniferae*, *Anacardiaceae*. Они появляются как нормальный элемент древесины у родов *Pinus*, *Picea*, *Larix*, *Pseudotsuga* или развиваются только в результате повреждения (роды *Abies*, *Cedrus*, *Tsuga*, *Pseudolarix*). У хвойных смоляные ходы располагаются в древесине и коре ствола, ветвей, хвое и чешуек шишек. В древесине вертикальные и горизонтальные ходы соединяются между собой, образуя переплетающуюся сеть.

Заполняющие смоляные хода секреты представляют собой слаболетучие продукты растений, нерастворимые в воде, но растворимые в органических растворителях. Они стабильны, инертны, аморфны и являются сложными смесями главным образом терпеноидов, флавоноидов и липидов. Особенно широко распространены в смолах производные дитерпенов – циклические кислоты, получившие название смоляных кислот.

В составе смол присутствуют также флавоноиды, которые могут превращаться в лигнаны. Часто в смолах присутствуют жирные кислоты, некоторые из которых напоминают воска. В составе смол найдены соединения, которые характерны только для отдельных семейств. Так в смоляных ходах растений семейства *Asteraceae* обнаружены бензопираны и бензофураны, соотношение между которыми (бензопиран/бензофуран) варьирует от 1:1 до 1:10. Некоторые из этих соединений биологически активны и являются репеллентами благодаря токсичности для травоядных насекомых. Основой этого действия являются пиран и фуран, а также ароматические кольца. Другие компоненты смол, например, трахилобановая и кауреновая кислоты, способ-

ны уничтожать личинки различных насекомых, или подобно производным пирана и фурана защищать растения от поедания травоядными животными.

Смола синтезируется в эпителиальных клетках, окружающих смоляной ход. Секреторные полости смоляных каналов должны быть хорошо изолированы от путей газовой диффузии, поскольку у некоторых видов в секрете есть терпены, способные легко окисляться, если внутренность листа открыта.

Вопрос о месте синтеза смол внутри секреторных клеток не может считаться окончательно решенным. Предполагается, что смолы синтезируются в лейкопластах, окруженных эндоплазматическим ретикулюмом, от которого отходят капли. Однако есть сведения, что на ранних стадиях развития смоляного хода осмофильные капли, свидетельствующие о синтезе смолы, наблюдаются не только в пластидах, но и в эндоплазматической сети, пузырьках Гольджи, митохондриях, на ядерной мембране и в цитоплазме.

Образовавшийся секрет – смола транспортируется к плазмалемме в везикулах аппарата Гольджи и эндоплазматического ретикулюма с последующим экзоцитозом (гранулокриновая секреция). Возможны также и другие пути секреции. Смола в канале смоляного хода находится под большим напором (до 10 атм и более), обусловленным секреторным давлением, которое, очевидно, вызывает выделение терпенов из каналов, вскрываемых при механическом повреждении.

Млечный сок. В отличие от смоляных ходов вместилища млечного сока представляют собой живые клетки. Млечники обнаружены у 12 500 видов растений, принадлежащих к 900 родам и 20 семействам, в основном класса двудольных. Присутствие млечников в природных условиях легко распознается по вытеканию латекса при повреждении ткани растения. Латекс в млечниках находится под давлением, которое, например, у *Hevea brasiliensis* достигает 10 атм., что и обуславливает его интенсивное истечение.

Млечная клетка приобретает секреторную функцию с самого начала своего образования. Продолжительность функционирования млечников у разных видов растений разная, но, как правило, короче, чем жизнь самого растения.

Млечный сок, который вытекает при перерезке млечников, является эмульсией.

Дисперсионной средой служит вода (50-82 %), а дисперсионной фазой – глобулы веществ, нерастворимых в воде – полиизопреновые углеводороды, тритерпенолы и стеролы, жирные и ароматические кислоты, каротиноиды, фосфолипиды, белки и другие вещества. Глобулы этих веществ взвешены в клеточном соке, поэтому эмульсия похожа на молоко.

Основу латекса у семейства *Euphorbiaceae* составляют многочисленные терпеноиды. Кроме того, в млечном соке часто встречаются тритерпены, такие как эуфол и ситостерол. Среди полиизопреновых углеводородов латекса часто встречаются смолы, каучук, гутта.

Секретция камеди и эфирных масел. Внутритканевая секретия камеди и эфирных масел представляет важный аспект функционирования многих растений и часто определяется как защитное приспособление.

Всего камедь найдена в 40 родах из 30 семейств покрытосеменных, и есть примеры среди голосеменных растений. Камеденосные каналы образуются разными способами у разных видов. Они бывают схизогенными или лизигенными, иногда развиваются сначала схизигенно, потом на поздних стадиях лизигенно.

Камеди, заполняющие протоки, представляют собой сложные природные продукты, которые часто видоспецифичны. Чаще всего это – комплекс из полисахаридов и терпенов или смесь флавоноидов, терпенов и жирных кислот. Особенностью таких комплексов является их способность набухать в воде, образуя гели и (или) коллоидные растворы.

У большинства растений, как считают, камеди образуются в результате физиологических нарушений или различных болезней, при которых наступает разрушение оболочек и клеточного содержимого (главным образом крахмала, а также углеводов, встречающихся в клеточных оболочках). Это явление называется также гуммозом. Камедь может скапливаться не только в камедевых ходах, но и клетках ксилемы. На воздухе камеди густеют и забивают рану, предотвращая обезвоживание и препятствуя проникновению патогенов.

Эфирные масла. Масляные протоки характерны для семейств Calycanthaceae, Lauraceae, Magnoliaceae, Simarubaceae, Winteraceae. Они развиваются в листьях, как, например, у *Eremophila*, где эти протоки могут занимать до 13 % среза листа, или других частях растений.

Кроме обычных терпенов, в составе эфирного масла встречаются соединения, относящиеся к другим группам химических соединений, а иногда и редкие видоспецифические вещества. Количество индивидуальных соединений бывает высоко и достигает нескольких десятков. Особенно часто в секретах встречаются кумарины, которые растворены в эфирных маслах.

О биологическом значении секрета масляных протоков известно очень мало. Считают, что эфирные масла с растворенными в них соединениями обладают аллелопатическим действием и подавляют прорастание семян других видов растений, тем увеличивая конкурентноспособность семян эфиромасличных растений.

3 Внешняя секретия.

Внешняя секретия осуществляется специализированными секреторными клетками, которые располагаются на поверхности растения. К ним относятся железистые волоски, солевые железки, железки насекомоядных растений, осмофоры и гидатоды. Секреторные клетки осуществляют биосинтез и выделение эфирных масел, терпеноидов, флавоноидов, жирных кислот, слизей и других соединений и часто экскретируют их смеси. Кроме того, они могут выделять различные водные растворы. Морфология железистых клеток зависит от продуктов, которые они аккумулируют.

Выделение эфирных масел. К внешним секреторным структурам, осуществляющим синтез и выделение эфирных масел, относятся железистый эпидермис и железистые волоски разной степени сложности. Кроме того, синтез компонентов эфирных масел может происходить, очевидно, и в клетках, не входящих в состав специализированных структур.

Железистые волоски располагаются только на надземной части растения. Железистая поверхность, выделяющая терпены, характерна для некоторых соцветий и рыльца пестика многих цветков. Количество эфиромасляных железок, находящихся на листе, является наследственно обусловленным признаком. Возникнув при дифференциации трихом листа количество желез затем не меняется. Однако на дифференцировку трихом влияет ряд условий и среди них баланс гормонов.

Продуцируемый железистыми клетками секрет – эфирное масло – представляет собой смесь веществ. Всего из эфирных масел выделено около 1000 органических соединений. Среди них насыщенные, и ненасыщенные, ароматические терпеновые, сесквитерпеновые моно- и бициклические углеводороды и их кислородные производные – спирты, альдегиды, кетоны, простые и сложные эфиры, кислоты, лактоны, а также гетероциклические соединения.

Большинство исследователей считают, что все этапы биосинтеза терпенов протекают в самих секреторных клетках. Внутриклеточная компартментация синтеза терпенов может осуществляться в разных участках клетки. Предполагается, что этот биосинтез осуществляется на мембранах агранулярного ретикулума, который обеспечивает необходимую поверхность для размещения ферментов биосинтеза. При этом допускается участие гиалоплазмы и матрикса органелл. Получены также данные о синтезе терпенов в специализированных пластидах, где обнаружен фермент фитоенсинтетаза. Такими пластидами являются большие лейкопласты амебоидной структуры, которые имеют только несколько внутренних мембран и их строма лишена рибосом.

Поскольку мембрана лейкопласта связана с эндоплазматическим ретикуломом, терпеноиды могут проходить из мест их синтеза – наружной пластидной оболочки – к месту их аккумуляции – экстраплазматическому пространству, расположенному между целлюлозной оболочкой и кутикулой.

Синтезированные компоненты эфирного масла выделяются из секреторных клеток через плазмалемму и оболочку. Проникновение через плазмалемму происходит по эккриновому типу путем мономолекулярного транспорта, или, как полагают, оно может происходить по гранулокриновому типу. Из периплазматического пространства эфирное масло удаляется при разрыве кутикулы, после чего может образоваться новая кутикула и накапливается новая капля секрета. При благоприятной температуре эфирные масла через клеточную оболочку и кутикулу диффундируют в газообразной форме. Для испарения в воздух летучих низкомолекулярных терпенов, способных проникать сквозь пропитанные водой стенки клеток, ни целлюлозные клеточные стенки, ни кутикула не являются препятствием. Об этом свидетель-

ствует не только испускание цветками ароматов, но и воздействие паров эфирных масел некоторых растений на сопутствующие им организмы.

Секреция смол. Смолы представляют собой смеси веществ, включая терпеноиды, флавоноиды и жирные вещества. От эфирных масел они отличаются составом терпеноидов. Если в эфирных маслах содержатся низкомолекулярные терпеноиды (главным образом монотерпены C_{10} и сесквитерпены C_{15}), то в смолах присутствуют как летучие, так и нелетучие высокомолекулярные терпеноиды (главным образом, C_{20}). Смолы образуются в специализированных железистых волосках или на внутренней поверхности смоляных каналов. Смолистые вещества, содержащие флавоноиды, также выделяются железками почек древесных растений. Показано, что смолы синтезируются в пластидах.

Секреция фенолов. Хотя изопреноиды и составляют основные метаболиты трихом цветковых растений, но существуют и другие вторичные соединения, которые присутствуют в железистых волосках некоторых растений. К их числу относятся фенольные вещества. Информации о них меньше, чем о терпенах, хотя фенолы, возможно, самые обычные компоненты желез.

Фенолы находятся в трихомах в виде водорастворимых гликозидов в клеточном соке, но липофильные их агликоны могут экскретироваться железистыми волосками в составе смолистых и масляных секретов в наружную среду. В этом случае они аккумулируются на поверхности растения в виде компонентов листовых смол или тонких мелких кристаллов. Фенольные соединения часто обнаруживают в выделениях корней, чему посвящена специальная литература, поскольку обсуждается их роль в аллелопатических взаимоотношений растений в фитоценозе.

Секреция алкалоидов. Алкалоиды обычно накапливаются в клеточном соке растений, где образуют соли с определенными органическими кислотами, такими, как троповая, атроповая и тигликовая кислоты, или этерифицируются спиртами (тропин, нортропин, скопин). В ряде случаев алкалоиды аккумулируются в железистых волосках и выделяются из них в окружающее пространство.

Экскреция алкалоидов растениями может иметь значение как одна из форм удаления избытка токсичных азотистых веществ- продуктов обмена. Кроме того, общеизвестна функция секретлируемых алкалоидов как репеллентов и аттрактантов. Экскреция алкалоидов важна для защиты растений от атаки насекомых.

4 Выделение вторичных метаболитов при экстремальных воздействиях.

Выделительная деятельность растений в экстремальных условиях происходит при различных повреждениях организма, если сила внешнего фактора превышает порог нормальной адаптации или изменения внешнего фактора слишком резкие, чтобы осуществлялись механизмы, поддерживающие гомеостаз. Среди множества описанных процессов фитостресса имеет место растением выделение вторичных метаболитов.

Ранение, инфекция и другие экстремальные воздействия часто нарушают нормальный синтез терпеноидов. Деградация растительных клеток приводит к изменению качественного и количественного состава этих соединений. Они могут стимулировать заживление раны или повышать устойчивость к заболеванию. Озон, как и повышенная концентрация CO_2 , усиливает выделение летучих терпенов.

В растительном мире одним из значительных источников летучих терпеновых соединений является живица хвойных. Ранения, которые часто наблюдаются в естественных условиях под действием повреждающих факторов, но которые особенно значительны при подсочке, вызывают обильное выделение этих веществ. Например, смоляные монотерпеновые и дитерпеновые кислоты образуются у сосны при ее поранении или инокуляции грибами. В условиях стресса в смоле изменяется содержание α - и β -пиненов, каурена, фелландрена, мирцена, абиетиновой кислоты. Количество и состав выделяющихся терпенов является показателем устойчивости растений к стрессам. В смоле смоляных ходов хвой *Picea abies* L, поврежденных в результате загрязнения воздуха, изменяется содержание монотерпеновых и сесквитерпеновых углеводородов, спиртов, кетонов. Особенно резко изменяется отношение α -пинен/ β -пинен. В поврежденной хвое содержание β -пинена увеличивается примерно в 4 раза.

В физиологически активных тканях высших растений фенольные соединения находятся в вакуолях в виде гликозидов. Если растительная клетка подвергается действию факторов, вызывающих стресс, то разрушение или увеличение проницаемости тонопласта приводит к выходу фенольных соединений в цитоплазму, где они окисляются до соответствующих хинонов. В окислении принимает участие фенолаза – медьсодержащий фермент. Он может окислять, например, хлорогеновую, кофейную кислоты, катехол, р-кумариновую кислоту, тирозин. Образующиеся хиноны – очень сильные окисляющие агенты, которые реагируют с α -амино- и тиоловыми группировками белков. Кроме того, они могут подвергаться полимеризации с образованием коричневых и черных продуктов. Реакция полимеризации может протекать и неэнзиматически.

Стрессовые условия не только способствуют освобождению и преобразованию уже имеющихся в клетке фенольных соединений, но и стимулируют фенольный метаболизм, при котором увеличивается синтез производных кофейной и хинной кислот. Среди них – коричная (циннамовая), хлорогеновая, изохлорогеновая кислоты. Эти соединения присутствуют и в интактных тканях, но их накопление стимулируется стрессами. Засуха в комбинации с другими стрессами может значительно увеличить концентрацию хлорогеновой и изохлорогеновой кислот в растениях.

Поскольку в настоящее время алкалоиды более не рассматриваются как отбросы растений, и признается существование тесной связи между обменом белков и аминокислот, с одной стороны, и образованием алкалоидов – с другой, изменение количества алкалоидов при стрессах является показателем изменения азотного обмена растений. Действие стрессовых факторов на

накопление и выделение алкалоидов было экспериментально проверено рядом авторов. Механическое повреждение ткани способствует освобождению алкалоидов, которые могут оказывать сильное физиологическое действие на живые организмы, будь то животные, микробы или растения.

Среди азотсодержащих продуктов стрессовых выделений растений встречаются сульфоксиды аминокислот и белки. При повреждении тканей лука *Allium cepa* и чеснока *Allium sativum* появляются характерные для этих видов запахи, обусловленные летучими цистеин-сульфоксидами, которые обладают фунгицидной и бактерицидной активностью.

К группе стрессовых метаболитов относятся фитоалексины – соединения, которые аккумулируются в ответ на разнообразные травмы растительной ткани и играют ведущую роль в устойчивости растений к болезням.

Тема 16. Методы выделения и определения вторичных метаболитов

1 Общие представления о качественном и количественном анализе растительного материала.

2 Характеристика избранных методов, используемых при изучении вторичных метаболитов растений.

3 Определение основных групп вторичных метаболитов.

1 Общие представления о качественном и количественном анализе растительного материала.

При изучении вторичных метаболитов в растительном материале используют как качественный, так и количественный анализ.

Качественный анализ позволяет установить присутствие того или иного компонента или группы компонентов в исследуемом материале. Такой анализ всегда предшествует количественному определению, и его результаты являются ориентировочными. В качественном анализе могут применяться как групповые реакции, так и реакции на индивидуальные соединения. Первые позволяют обнаружить группу химически близких веществ, например, алкалоиды в целом, вторые – конкретное искомое вещество. Групповых реагентов известно значительно больше, чем индивидуальных. Реакции с применением групповых реагентов могут давать ложноположительные результаты. Групповые реагенты имеют разную степень чувствительности к исследуемым веществам. Поэтому при качественном анализе растительного сырья необходимо применять несколько групповых реагентов, чтобы уменьшить вероятность ложноположительных и избежать ложноотрицательных результатов.

Качественный анализ может быть применен в качестве экспресс-теста для приблизительной оценки содержания искомого вещества, что бывает необходимо в токсикологии или селекции растений. Кроме того, качествен-

ные реакции применяются для гистохимического определения локализации искомых веществ в клетках и тканях растений.

Качественный анализ не требует сложного и дорогостоящего оборудования, проводится на часовых стеклах в капле раствора или с применением специальных индикаторных бумаг. В основе качественного анализа лежат реакции образования окрашенных соединений или осаджения.

Количественный анализ – это совокупность физических, химических и физико-химических методов исследования, позволяющих с требуемой точностью определять в анализируемом образце содержание отдельных компонентов.

При использовании физических методов анализа содержание вещества определяют по присущим ему физическим свойствам (например, определение сахарозы рефрактометрическим методом или определение глюкозы поляриметрическим методом).

При использовании химических методов анализа количество вещества определяют после его химического превращения. Детекция результата производится визуально (например, объемные методы анализа).

Физико-химические методы направлены на определение содержания веществ после их химической модификации с помощью соответствующего оборудования (например, спектрофотометрия или газовая хроматография).

Количественный анализ основан на точном измерении массы и объема определяемых веществ, продуктов их химических превращений или расходуемых реактивов, вступающих в реакции с определяемыми веществами. Методы количественного анализа позволяют определить точное содержание искомого вещества в растительном материале, а не только установить факт его присутствия.

В количественном анализе химического состава растительного материала применяют те же методы, что и в аналитической химии. Условно их можно разделить на две группы – классические методы химического анализа и современные физико-химические методы.

К первой группе можно отнести титриметрические (объемные), гравиметрические и колориметрические методы анализа.

Ко второй группе относятся газовая хроматография (ГХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), масс-спектрометрия (МС) и их комбинации (ВЭЖХ – МС, ГЖХ – МС), метод ядерного, протонного магнитного резонанса (ЯМР и ПМР) и электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).

Классические методы анализа являются более дешевыми, но, как правило, обладают меньшей чувствительностью, чем современные физико-химические методы. Поэтому в последние годы все более широкое применение находят физические и физико-химические методы, обладающие многими преимуществами по сравнению с химическими методами. Возникновение новых методов анализа и идентификации веществ позволило выявить тысячи различных метаболитов вторичного происхождения и установить их химическую структуру.

2 Характеристика избранных методов, используемых при изучении вторичных метаболитов растений

Тонкослойная хроматография (ТСХ). Метод основан на способности веществ с разной силой связываться с сорбентом. При этом разделение происходит в очень тонком слое сорбента, нанесенного на нейтральный носитель. В качестве сорбента чаще всего используют силикагель, оксид алюминия или микрокристаллическую целлюлозу, в качестве подложки – стекло, алюминиевую фольгу или полимерную пленку.

Достоинствами данного метода являются: относительная дешевизна, простота в исполнении, быстрота разделения. При проведении ТСХ не требуется такого сложного и дорогостоящего оборудования, как для некоторых других видов хроматографии.

Метод служит не только для качественного определения состава исследуемых смесей, но и для количественного определения веществ. Содержание компонентов в пробе может быть определено как по площади пятна, так и после элюирования веществ из области пятна.

Идентификация индивидуального вещества проводится по значению R_f (коэффициент распределения), специфичной флуоресценции или после специфичного окрашивания.

Коэффициент распределения – это величина, характеризующая степень связывания компонентов разделяемой смеси с носителем. Экспериментально ее вычисляют как отношение расстояния от линии старта до середины пятна исследуемого вещества к расстоянию, пройденному фронтом растворителя. Этот коэффициент индивидуален для каждого вещества в определенной системе растворителей и для конкретного сорбента. Он может зависеть от температуры и влажности воздуха, поэтому ориентироваться только на R_f при идентификации веществ нельзя. Обязательным является использование вещества (так называемого свидетеля) и сравнение R_f , полученного для свидетеля опытным путем, с табличным. При необходимости для веществ, определяемых на хроматограмме, вносят поправки.

При применении пластин, обработанных флуоресцентным красителем, вещества, которые не флуоресцируют в ультрафиолетовом (УФ) свете, могут быть обнаружены в виде темных пятен на светящемся фоне.

Газовая хроматография (ГХ) – метод разделения летучих, термостабильных соединений. Подвижной фазой служит инертный газ (газ-носитель), протекающий через неподвижную фазу, имеющую большую поверхность. В качестве подвижной фазы можно использовать водород, гелий, азот, аргон и углекислый газ. Наиболее часто используют азот как более доступный и дешевый. Газ-носитель обеспечивает перенос разделяемых компонентов по хроматографической колонке и не взаимодействует ни с разделяемыми веществами, ни с неподвижной фазой.

Различают два варианта метода: газо-адсорбционную. Когда неподвижной фазой служит твердый носитель, и газо-жидкостную хроматографию, когда неподвижной фазой является вязкая, нелетучая жидкость, нане-

сенная на инертный носитель. В качестве детектора чаще всего используют пламенно-фотометрический детектор (ПФД) или масс-спектрометрический детектор (МС).

Можно отметить достоинства газовой хроматографии:

- широкие границы применимости;
- возможность определения анализируемых соединений с высокой точностью;
- быстрота анализа;
- широкий выбор сорбентов и неподвижных фаз;
- возможности для варьирования условий разделения.

Высокоэффективная жидкостная хроматография

Жидкостная хроматография (ЖХ) – метод, в котором в качестве подвижной фазы для разделения веществ используется жидкость.

В результате комбинации ограниченного числа сорбентов и неограниченного числа различных по составу подвижных фаз возможно решение чрезвычайно большого количества возникающих на практике задач. Метод ЖХ применим для разделения значительно более широкого круга веществ, чем газовая хроматография, поскольку многие вещества не обладают летучестью или неустойчивы при высоких температурах. Таким образом, с помощью ЖХ можно разделять и те вещества, которые делят с помощью ГХ, и другие, для которых ГХ не подходит. В ЖХ разделение обычно происходит при комнатной температуре, однако при работе с белками хроматографию проводят при низких положительных температурах.

Система для **ВЭЖХ** состоит из нескольких блоков: насоса дозатора колонки, детектора и регистрирующего устройства. Наиболее распространенным детектором в адсорбционной ВЭЖХ является спектрофотометрический. В процессе элюирования веществ в микрокювете измеряется оптическая плотность элюата при заранее выбранной длине волны, соответствующей максимуму поглощения определяемых веществ. Такие детекторы измеряют поглощение света в ультрафиолетовой или видимой областях спектра.

Кроме спектрофотометрического детектора широкое распространение получило применение флуориметрического детектора. Принцип его действия заключается в измерении флуоресцентного излучения, испускаемого веществом после поглощения возбуждающего света. Флуориметрические детекторы обладают очень высокой чувствительностью и селективностью. Многие соединения способны флуоресцировать при облучении ультрафиолетовым светом, например, флавоноиды. Однако наиболее важной областью применения флуориметрического детектора является идентификация ароматических полициклических углеводородов.

Масс-спектрометрия является исключительно важным аналитическим методом для идентификации молекул. Он основан на том, что для ионизации молекул используют ионный удар (химическую ионизацию). При ионизации молекулы в вакууме образуются группа характеристических ионов, число которых пропорционально количеству поступающего вещества. Одновременно с записью хроматограммы в любой ее точке, обычно на вершине хромато-

графического пика, может быть зарегистрирован масс-спектр (зависимость интенсивности ионного тока от массы иона). Масс-спектрометр, в отличие от других спектроскопических детекторов, регистрирует не излучение или поглощение энергии молекулами или атомами вещества, а позволяет определить отношение массы молекул к заряду.

Схема устройства масс-спектрометра включает в себя инжектор (дозатор) проб, ионизатор, анализатор масс и детектор ионов. Сначала проба впрыскивается в ионизатор, где молекулы образца ионизируются. Затем ионы образца анализируются и регистрируются. Чтобы предотвратить столкновение с молекулами газа, ионизатор, анализатор масс и детектор ионов обычно работают в вакууме.

Масс-спектрометрия в настоящее время редко используется как самостоятельный метод анализа. Чаше этот метод используется для идентификации результатов жидкостной или газовой хроматографии. Сочетание ГХ или ВЭЖХ и масс-спектрометрии – один из наиболее эффективных методов анализа сложных смесей в объектах окружающей среды.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРНИЦЫ

3 Определение основных групп вторичных метаболитов.

Определение монотерпенов, дитерпенов и сесквитерпенов.

Выделение. Монотерпены и дитерпены являются душистой основой эфирных масел. Для выделения эфирных масел из растительного сырья применяют перегонку с водяным паром или экстракцию в этанол с последующей отгонкой этанола.

Качественный анализ. Состав эфирных масел определяют органолептически (по специфическому аромату). Кроме того, эфирные масла можно отличить от жирных масел, нанеся каплю исследуемого соединения на фильтровальную бумагу. Эфирные масла высыхают, не оставляя следов. С помощью данной пробы устанавливают примесь липидов в эфирных маслах.

Качество эфирного масла можно оценить растворением его пробы в избытке 70 % этанола. Чистое эфирное масло полностью в нем растворимо. Примесь углеводов в нем проявляется в виде плавающих на поверхности капель, а примесь жирных масел – в виде нерастворимой фазы на дне пробирки.

Количественный анализ. Количество эфирных масел в растительном материале определяют гравиметрическим методом после их перегонки с водяным паром и осушения безводным хлоридом кальция. Недостатком данного метода является его длительность и потребность в большом количестве растительного материала (примерно 1 кг сырья).

Химический состав монотерпенов и дитерпенов, входящих в состав эфирных масел, определяют с применением методов газовой хроматографии или в сочетании газовой хроматографии с масс-спектрометрией.

Определение каротиноидов.

Пробоподготовка. Выделение каротиноидов. Каротиноиды являются липофильными соединениями, поэтому их экстракцию проводят в метанол, этанол, ацетон, хлороформ, гексан, петролейный эфир. Однако вместе с каротиноидами в экстракт переходят липиды и хлорофиллы, мешающие определению каротиноидов. Для устранения мешающих соединений необходимо провести омыление хлорофиллов и липидов добавлением в этанольный экстракт спиртового раствора КОН. Омыление проводят при нагревании на водяной бане. При таких условиях омыления может произойти частичное окисление каротиноидов, поэтому реакцию проводят в атмосфере азота, добавляя аскорбиновую кислоту для предотвращения их окисления.

Суммарное содержание каротиноидов в экстракте легко определить спектрофотометрическим методом по поглощению в синей области спектра. При этом невозможно определить качественный состав извлеченных веществ.

Спектрофотометрические методики являются достаточно простыми и быстрыми. Одно из главных их достоинств состоит в том, что присутствие хлорофиллов не мешает определению каротиноидов.

Качественный состав компонентов можно оценить, снимая спектры поглощения экстракта и идентифицируя компоненты по максимуму поглощения.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) – наиболее быстрый и дешевый способ определения индивидуальных компонентов в смеси каротиноидов и полуколичественной оценки их соотношения.

Хроматографию проводят на пластинках с силикагелем в разных системах растворителей. Если проводится ТСХ суммарной фракции пигментов без предварительного омыления, то хроматографию проводят в двух направлениях. В первой системе растворителей отделяют каротиноиды от хлорофиллов. Часто в этом случае в качестве растворителя используют бензин, бензол или петролейный эфир. После первого разделения проводят второе, в перпендикулярном направлении. В этом случае используют другую систему растворителей – смесь гексана с диэтиловым эфиром или ацетоном, что приводит к хорошему разделению каротиноидов.

Качественный состав каротиноидов и их количество определяют после элюирования пятен с пластин и их спектрофотометрии. При этом по максимумам поглощения определяют принадлежность пятна к конкретному соединению, а по поглощению света с длиной волны 440 нм – относительное или абсолютное (после пересчета по формулам) содержание компонента.

ВЭЖХ каротиноидов. Данный метод позволяет надежно определять качественный и количественный состав каротиноидов. Однако при его использовании необходимо тщательно освободить экстракт от хлорофиллов, так как они вызывают загрязнение и порчу хроматографических колонок. Желательно перед ВЭЖХ каротиноидов провести очистку препарата на предколонке с обращенной фазой.

Определение стеринов. Стерины входят в состав неомыляемого компонента липидной фракции, а также могут встречаться в гликозилированной форме. Для выделения стеринов используют следующий алгоритм: общую липидную фракцию экстрагируют смесью хлороформ:метанол (3 :1), после чего к экстракту добавляют дистиллированную воду, что приводит к разделению экстракта на хлороформную и водно-спиртовую фракцию. В водно-спиртовой фракции находятся гликозиды стеринов. Для выделения агликонов необходимо провести их экстракцию из водной фракции в водонасыщенный н-бутанол. Далее бутанол выпаривают, а остаток растворяют в 1 Н растворе соляной кислоты в 80 % этаноле. Раствор гидролизуют при температуре не выше 40 °С без доступа воздуха. После окончания гидролиза кислоту нейтрализуют, разводят смесь водой и экстрагируют агликоны стеринов в диэтиловый эфир.

Для выделения свободных стеринов из липидной фракции используют хлороформную фазу, которую высушивают, после чего растворяют в 10 % растворе КОН в 70 % этаноле, добавляют аскорбат и омыляют на водяной бане. После окончания омыления экстракт разводят водой, нейтрализуют щелочь разбавленной соляной кислотой и экстрагируют стерины в диэтиловый эфир.

Эфирную фракцию высушивают и хранят без доступа воздуха в эксикаторе на холоду. Перед анализом ее растворяют в хлороформе.

Для спектрофотометрического определения суммы стерина используют несколько реакций:

а) реакция с реактивом Либермана-Бурхарда. Хлороформный раствор неомыляемой фракции липидов смешивают с равным объемом реактива, состоящего из уксусного ангидрида с добавлением концентрированной серной кислоты. При этом развивается окрашивание от зеленого до голубого, в зависимости от типа стерина. Концентрацию стерина определяют спектрофотометрическим или колориметрическим методом.

Недостатком данного метода является то, что в экстракте могут находиться мешающие компоненты, которые дают ложно-положительную реакцию. Для избавления от данных артефактов рекомендуется перед проведением реакции провести разделение компонентов с помощью ТСХ и элюировать зону, соответствующую стандарту стерина. Обычно каротиноиды перемещаются с фронтом растворителя, нестероидные компоненты, реагирующие с реактивом, остаются на старте, а стерин находится в средней части хроматограммы;

б) реакция стерина с формальдегидом и серной кислотой. В данной реакции развивается окрашивание вишневого цвета. Концентрацию стерина определяют спектрофотометрически;

в) определение концентрации стерина по поглощению в УФ-спектре. Данный метод дает ненадежные результаты, так как имеется множество соединений, которые также поглощают свет в УФ-области и мешают анализу.

Газо-жидкостная хроматография стерина. Метод является наиболее точным и распространенным при анализе стерина. Однако стерин обладает низкой летучестью, поэтому для эффективной газо-жидкостной хроматографии этих липидов необходимо провести их модификацию путем метилирования диазометаном или борирования.

Определение простых фенолов. Фенолы обладают достаточно высокой растворимостью в воде, однако для полного их извлечения необходимо использовать водно-спиртовые растворы. Сначала проводят экстракцию 70 % этанолом или метанолом. После этого экстракт упаривают в атмосфере азота до водной фракции. Водную фракцию подкисляют 1 М соляной или фосфорной кислотой до pH 3. Далее прибавляют диэтиловый эфир. В кислой среде фенолы переходят в протонированную форму и в таком виде лучше растворяются в эфире, чем в воде. Вместе с фенолами в эфирную фракцию переходят пигменты и липиды. Отбирают эфирную фракцию и добавляют к ней 5 % раствор гидрокарбоната натрия. Фенолы переходят в натриевые соли – феноляты, которые не растворимы в эфире, но растворимы в воде. В эфирной фракции остаются мешающие компоненты (пигменты и липиды). Эту фракцию отбрасывают. Далее раствор гидрокарбоната натрия подкисляют до прекращения выделения пузырьков углекислого газа. В кислой среде феноляты вновь протонируются до свободных фенолов. Затем к раствору добавляют новую порцию эфира. В эфир переходят свободные фенолы, а в растворе остаются примеси, включая ионы натрия. Эфирную фракцию отбирают и вы-

сушат. Сухой остаток растворяют в этаноле или в воде и используют в дальнейшей работе.

Спектрофотометрическое определение фенолов. К спиртовому или водному раствору добавляют последовательно реактив Фолина-Чокальтеу и 20 % раствор карбоната натрия. Через час развивается синяя окраска. Оптическую плотность раствора определяют спектрофотометрически при 725 нм. В некоторых случаях происходит помутнение раствора. Тогда необходимо провести центрифугирование образца, а потом – спектрофотометрию.

Хроматография на бумаге является одним из распространенных способов хроматографического разделения веществ. в том числе фенолов.

Для определения индивидуальных фенолов на хроматограмме ее высушивают, просматривают в УФ-свете. При этом фенолы флуоресцируют пятнами различного цвета, чаще всего синего и голубого. Далее хроматограмму выдерживают над 25 % раствором аммиака. При этом может наблюдаться изменение цвета флуоресценции и появление новых пятен. На заключительном этапе хроматограмму обрабатывают спиртовым раствором хлорида алюминия или хлорида железа (III). Фенолы проявляются в виде серо-зеленых пятен на белом фоне или синих и красных пятен на желтом фоне. Идентификацию проводят по значениям R_f , флуоресценции и цвету пятна после обработки реактивом. Пятна, соответствующие отдельным фенолам, можно элюировать с хроматограммы и провести количественное определение с реактивом Фолина-Чокальтеу.

Определение кумаринов. Экстракцию кумаринов проводят так же, как при выделении простых фенолов.

Качественной реакцией на кумарины является реакция взаимодействия с гидроксидом натрия. К исследуемой пробе добавляют раствор гидроксида натрия, нагревают, оценивают развитие окраски в пробе. В присутствии кумаринов развивается желтая окраска.

Количественное определение кумаринов основано на спектрофотометрическом анализе окрашенного продукта взаимодействия кумаринов с п-нитроанилином, диазотированной сульфаниловой кислотой. В данной реакции образуется продукт вишнево-красного цвета.

Определение флавоноидов. Сухой растительный материал обрабатывают четыреххлористым углеродом или низкокипящим петролейным эфиром. Данная операция приводит к удалению восков и смол, что облегчает экстрагирование флавоноидов. Далее проводят экстракцию этиловым или метиловым спиртом.

Для получения чистых препаратов флавоноидов к экстракту добавляют раствор основного или среднего ацетата свинца. При этом выпадает осадок от ярко-желтого до красного цвета. Осадок центрифугируют, промывают, ресуспендируют в этаноле. Свинец в пробе осаждают пропусканием экстракта через раствор сероводорода. При этом образуется чистый препарат флавоноидов, которые можно перекристаллизовать.

Спектрофотометрическое определение суммы флавоноидов. Метод основан на батохромном сдвиге: в результате реакции растворы приобретают

более яркую желтую или зеленоватую окраску. Наиболее часто для спектрофотометрического определения флавоноидов используют спиртовой раствор хлорида алюминия, или борно-лимонный реактив. Особое внимание следует обратить на то, что растворы флавоноидов окрашены сами по себе и могут менять интенсивность окраски в зависимости от pH. Поэтому при спектрофотометрировании в качестве раствора сравнения надо использовать исходный раствор образца при том же значении pH, что и исследуемый образец после реакции.

Наличие бледно-желтой окраски дает возможность определения содержания флавоноидов по поглощению в ультрафиолетовой области спектра. Кроме того, возможно определение их качественного состава путем сравнения спектров поглощения в УФ-области.

Хроматографическое разделение флавоноидов и идентификация функциональных групп. Для разделения смеси флавоноидов и их идентификации может быть применима как хроматография на бумаге, так и ТСХ на силикагеле. Рекомендуется использовать систему растворителей н-бутанол:уксусная кислота : вода (в соотношении 4:1:5). Пятна флавоноидов обнаруживаются в ультрафиолетовом свете.

Известен ряд реактивов для обработки хроматограмм и определения состава флавоноидов:

- реактив Вильсона (раствор борной и безводной лимонной кислоты в безводном метаноле). После обработки реактивом хроматограмму просушивают при 110 °С. Зелено-желтая флуоресценция в УФ-свете показывает наличие 5-оксифлавонов, 5-окси- и 5-метоксифлавонолов. Желтая флуоресценция говорит о присутствии 5-окси- и 5-метоксихалконов:

- реактив Мартини-Беттолло (раствор пятихлористой сурьмы в четыреххлористом углероде). Желтая и оранжевая окраска указывает на наличие флавонов, изофлавонов, флавонолов, флавононов. Красная и фиолетовая окраска говорит о присутствии халконов.

Определение антоцианов. Антоцианы легко экстрагируются 70-80 % этанолом или метанолом. При этом экстрагируются как свободные антоцианы, так и их гликозиды. В том случае, когда нет необходимости в изучении гликозидированных форм, экстракцию проводят в спирт содержащий 0,1 М соляную кислоту. Некоторые авторы советуют экстрагировать антоцианы подкисленным спиртом при нагревании на водяной бане для полного гидролиза гликозидов. После этой процедуры необходимо развести раствор водой и провести переэкстракцию антоцианов в изоамиловый спирт. При этом достигается не только более высокая чистота препарата, но и происходит концентрирование антоцианов.

Спектрофотометрическое определение антоцианов. Концентрацию антоцианов определяют по поглощению в видимом свете. Иногда бывает достаточно произвести экстракцию водным раствором соляной кислоты. Если концентрация антоцианов низкая, то их можно сконцентрировать переэкстракцией с использованием изо амилового спирта.

Спектрофотометрия в кислой среде является обязательным условием, так как при этом большинство антоцианов имеет близкие максимумы поглощения.

Качественный состав антоцианов может быть определен путем сравнения максимумов поглощения отдельных компонентов экстракта после хроматографического разделения.

Хроматографию антоцианов проводят в тех же условиях, что и хроматографию других флавоноидов. При этом антоцианы обнаруживают по собственному окрашиванию.

Самым эффективным и точным методом определения антоцианов в настоящее время является ВЭЖХ – МС.

Определение дубильных веществ. Для определения дубильных веществ используют качественные реакции:

- реакция Стиасни – с 40 % раствором формальдегида и концентрированной HCl. Конденсированные дубильные вещества образуют осадок кирпично-красного цвета;

- реакция с бромной водой. К 2-3 мл испытуемого раствора прибавляют по каплям бромную воду до появления в растворе запаха брома. В присутствии конденсированных дубильных веществ образуется оранжевый или желтый осадок;

- при окрашивании солями трехвалентного железа или железо-аммонийными квасцами дубильные вещества гидролизуемой группы, являющиеся производными пирогаллола, дают черно-синий цвет, а дубильные вещества конденсированной группы, являющиеся производными пирокатехина, – черно-зеленый цвет;

- с раствором желатина дубильные вещества дают осадок, растворимый в избытке желатина:

- катехины дают красное окрашивание с ванилином (в присутствии концентрированной HCl или 70 % H_2SO_4 ;

- свободная эллаговая кислота дает красно-фиолетовую окраску при добавлении нескольких кристаллов нитрита натрия и трех-четырех капель уксусной кислоты:

- реакция с 10 % раствором среднего ацетата свинца (одновременно добавляют 10 % раствор уксусной кислоты) – образуется белый осадок. Осадок, не растворимый в уксусной кислоте, дают дубильные вещества гидролизуемой группы, а растворимый в уксусной кислоте – дубильные вещества конденсированной группы.

Для количественного определения дубильных веществ используют гравиметрический, титриметрический и спектрофотометрический методы.

Гравиметрический метод основан на способности желатина осаждать дубильные вещества из раствора. Существенным недостатком данного метода является возможность растворения осадка при избытке желатина. Этот эффект используется в другом методе определения дубильных веществ – титриметрическом (желатиновом).

Определение алкалоидов. Поскольку алкалоиды представляют в большей мере разнородную по химической природе группу, то нет универсальной методики их экстракции из растительного сырья и очистки. Чаще всего при экстракции алкалоидов используют их основные (базофильные) свойства. На первом этапе растительное сырье замачивают и растирают в растворе уксусной, лимонной или соляной кислот. При этом алкалоиды переходят в растворимые в воде соли. В раствор также переходят углеводы и минеральные вещества. После фильтрования раствор нейтрализуют аммиаком (сильные основания использовать не рекомендуется, так как это приводит к образованию фенолятов, мешающих дальнейшей очистке алкалоидов). В слабощелочной среде алкалоиды переходят из солей в свободную форму. Из раствора их экстрагируют диэтиловым эфиром, хлороформом или бензолом. Органический экстракт упаривают. сухой остаток используют для дальнейших определений.

Качественные реакции на алкалоиды. Как уже было отмечено, алкалоиды – это сборная группа вторичных веществ, включающая соединения с разными функциональными группами. Поэтому не существует общих методов качественного и количественного анализа алкалоидов. В качественном анализе применяют от 5 до 10 общих реакций на алкалоиды. В количественном анализе применяют те же реагенты, что и в качественном. Алкалоиды определяют в виде их нерастворимых соединений гравиметрическим методом либо в форме окрашенных производных.

Йод-калий йодид (реактив Вагнера) образует с алкалоидами осадки от светло-коричневого до темно-бурого цвета.

Висмут-йодид с йодидом калия (реактив Драгендорфа) с алкалоидами в солянокислой или сернокислой среде дает аморфные осадки оранжево-красного цвета (теобромин образует кристаллический осадок).

Фосфорно-молибденовая кислота (реактив Зонненшейна) вызывает образование осадка уже в очень разбавленных (нейтральных или кислых) растворах солей алкалоидов и является одним из самых чувствительных реагентов. Осадки окрашены в светло-желтый или буро-желтый цвет и часто изменяют окраску на синюю или зеленую в результате восстановления молибденовой кислоты. Некоторые из осадков растворяются в растворе аммиака, иногда с характерной синей окраской, например, в присутствии берберина и кониина, и зеленой – в присутствии бруцина и кодеина.

Калий-йод-меркурат (реактив Майера) дает с большинством солей алкалоидов в нейтральной или слабокислой среде беловатые или желто-белые осадки: не осаждает колхицин, кофеин и соланин.

10 % раствор таннина (свежеприготовленный) с большинством солей алкалоидов образует в нейтральной и в слабокислой среде желтоватые осадки, растворимые в спирте, уксусной кислоте и растворах аммонийных солей.

1 % водный раствор пикриновой кислоты осаждает большинство солей алкалоидов в виде пикратов желтого цвета в аморфном или кристаллическом состоянии. Большинство алкалоидов осаждается из разведенных сернокис-

лых растворов. Аконитин, атропин, кокаин и гиосциамин частично осаждаются только из более концентрированных серноокислых растворов.

Тема 17. Биотехнология вторичных метаболитов растений

- 1 Типы культур клеток и тканей растений.
- 2 Использование культуры клеток и тканей для получения вторичных метаболитов.
- 3 Биотехнологии вторичных метаболитов на основе культур клеток и тканей растений.

1 Типы культур клеток и тканей растений.

Термин «культура клеток, тканей и органов растений» применяется к следующим асептически выращиваемым частям растения: изолированным зародышам, изолированным органам (кончики корней, меристемы побегов, листовые примордии, части молодых цветков и плодов), каллусной ткани, суспензионной культуре, культуре протопластов.

Эксплант (лат. *explantum* – вырываю что-нибудь, растущее с корнем) – группа клеток, отделенная от материнского организма. У двудольных растений, эксплантами могут являться, например, части гипокотилей, стеблей, корней, семядоли, пыльники и прочее. При культивировании эксплантов на питательных средах различного состава, можно наблюдать каллусогенез или органоогенез (образование корней, побегов и пр.)

Набор объектов растительного происхождения, которые можно перевести в культуру *in vitro*, достаточно широк. Как правило, большинство исследований проводится с эксплантами разных органов, тканей и клеток семенных растений. Это можно объяснить большой ролью в жизни человечества покрыто- и голосеменных растений. Среди них наиболее удобными объектами для культивирования являются двудольные травянистые растения, затем следуют однодольные травянистые виды и зерновые культуры. Труднее создать условия для стабильных *in vitro* культур древесных растений, особенно голосеменных.

В качестве объектов, используемых для культивирования *in vitro*, также могут выступать мхи, лишайники и папоротники. Многоклеточные водоросли трудны для поддержания их в культуре, хотя они, несомненно, перспективны в качестве источников фитопродуктов для медицины, пищевой промышленности и других биотехнологий. Большое внимание биологи отводят выращиванию микроводорослей.

В настоящее время нет такого высшего растения, из которого нельзя получить культивируемые клетки и ткани. Однако выращиваемые поверхностным способом на агаризованной питательной среде каллусные ткани и растущие в жидкой питательной среде суспензионные клеточные культуры требуют создания разных условий для роста в случае различных таксонов.

В основе метода культуры клеток и тканей растений лежит уникальное свойство растительной клетки – *тотипотентность*.

Тотипотентность – это способность клетки реализовывать генетическую информацию, обеспечивающую ее дифференцировку и развитие до целого организма.

В отличие от животных в природных условиях у растений тотипотентность могут проявлять и специализированные клетки, например, при заживлении ран. В этом случае на раневой поверхности растения в результате неорганизованной пролиферации клеток происходит развитие *каллуса* (лат. «мозоль»). Образование каллуса можно наблюдать при прививках в местах срастания привоя и подвоя. Каллус первоначально состоит из недифференцированных клеток.

Однако в природных условиях растения ряда систематических групп тотипотентность не проявляют. Ввиду высокой специализации клеток многие однодольные растения утратили способность к раневой реакции и вегетативному размножению.

Метод культуры клеток и тканей растений в настоящее время широко используется для решения ряда теоретических и практических задач биологии. Это обусловлено тем, что данный метод имеет следующие преимущества:

- простота клеточных моделей;
- отсутствие коррелятивных взаимодействий и контроля со стороны других тканей, органов, целого организма, что позволяет проследить состояние клетки на уровне первичных элементарных процессов в ответ на любые воздействия;
- возможность быстро получать достаточную массу в асептических условиях;
- контролируемые по многим параметрам условия выращивания.

2 Использование культуры клеток и тканей для получения вторичных метаболитов.

Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения. Растения отличаются от бактерий и особенно животных поразительным многообразием синтетических процессов. Количество биологически активных соединений, синтезируемых растениями, огромно. Все они, как правило, относятся к продуктам вторичного (специализированного) обмена. Вторичные метаболиты характеризуются таксономической специфичностью. Основное их назначение заключается в обеспечении биохимической адаптации растений к существованию в биоценозах. Так, среди вторичных метаболитов обнаружены соединения с аллелопатическими, инсектицидными, фунгицидными, бактерицидными свойствами, а также фитоалексины и вещества, подобные гормонам животных.

Особый интерес для человека представляют те биологически активные соединения, которые могут быть использованы в медицине, технике, пищевой и парфюмерной промышленности, сельском хозяйстве.

Если для получения ценных БАВ традиционно использовались целые организмы (микроорганизмы, растения, животные), то современная биотехнология нацелена на клеточные технологии, основанные на культивировании свободных и иммобилизованных клеток.

Как альтернативные источники БАВ растительного происхождения клеточные культуры обладают следующими преимуществами:

- получение экологически чистых продуктов независимо от климата, сезона, погоды;
- создание клеточных линий-сверхпродуцентов путем генетических манипуляций;
- сохранение пула генов редких и исчезающих растений-продуцентов;
- возможность оптимизировать и стандартизировать условия выращивания;
- возможность автоматизации процессов.

На рисунке показаны основные аспекты применения культур клеток растений в качестве продуцентов БАВ.



Благодаря усилиям многих исследователей накоплено немало ценной информации о способности культивируемых растительных клеток синтезировать многие традиционные экономически важные продукты: терпеноиды, гликозиды, полифенолы, полисахариды, эфирные масла, необычные пептиды и специализированные белки, натуральные красители, стероиды, пряности, инсектициды, воски, витамины. Также доказана возможность культур клеток осуществлять биотрансформацию, то есть синтезировать некоторые БАВ из

дешевых и доступных их предшественников. Эти «полупродукты» вторичных метаболитов не могут быть преобразованы химическим или микробиологическим путем, и только благодаря активности ферментов клеток растений в культуре происходит их превращение в ценный конечный продукт.

Перевод клеток в условия *in vitro* может также приводить к синтезу совершенно новых соединений с принципиально другим механизмом действия. Например, японские исследователи добились успехов в получении таких новых БАВ, как необычные пептиды, антиканцерогенные соединения, убихинон-10 и др.

Популяциям культивируемых *in vitro* растительных клеток присущи определенные особенности протекания процессов вторичного метаболизма.

Важной их характеристикой является степень стабильности в отношении синтеза, транспорта и депонирования физиологически активных соединений. Высокая биосинтетическая способность может сохраняться в течение всего времени существования популяции. Однако известны примеры постепенного (в течение нескольких лет) увеличения числа клеток со сниженным синтезом метаболитов. В случае полной «нестабильности» клетки в популяции очень быстро теряют способность к синтезу вторичных метаболитов, что связано с прекращением *in vitro* экспрессии генов, участвующих в образовании БАВ.

В растительном организме синтез метаболитов, их транспорт и отложение в запас зачастую разделены во времени и осуществляются в разных органах растения. Например, алкалоид никотин, который синтезируется в корнях табака, а уже оттуда поступает в листья, где и накапливается. В условиях *in vitro* все стадии вторичного метаболизма – от синтеза до депонирования – обычно проходят в одной клетке.

Эпибласты и млечники, в которых может осуществляться отложение различных веществ, являются редкими структурами в каллусных культурах.

Одной из особенностей популяций культивируемых растительных клеток является различная степень корреляции синтеза вторичных метаболитов с процессами дифференцировки. В организме растения вторичный метаболизм присущ только дифференцированным клеткам, специализированным органам и протекает только на определенных этапах их развития. Каллусные культуры зачастую характеризуются низким содержанием искомого вещества, что, по-видимому, вызвано отсутствием дифференциации ткани. Однако это неабсолютное правило.

Появляется все больше данных, что органогенез в культуре не является необходимым условием для биосинтеза вторичных метаболитов *in vitro*. Например, органогенез иногда сопровождается снижением содержания продуктов вторичного обмена веществ. Также неоднозначны данные о взаимосвязи их накопления с фазами ростового цикла клеточных культур. У многих видов при периодическом режиме выращивания вторичные метаболиты накапливаются в значительных количествах лишь при замедлении или остановке роста. Предполагается, что механизмы и условия, блокирующие деление клеток и активный рост, могут одновременно являться и механизмами

активации, обеспечивающими синтез ферментов вторичного метаболизма. Однако известны такие культуры, у которых синтез продукта способствует росту клеток. В любом случае, на первом этапе культивирования стараются создать оптимальные условия для роста, то есть накопления биомассы, а затем исследуют влияние этих условий на биосинтез вторичных метаболитов.

3 Биотехнологии вторичных метаболитов на основе культур клеток и тканей растений.

Накопление вторичных метаболитов в культуре клеток растений зависит от ряда факторов. Во-первых, выход продукта определяется генотипом донорного растения, правильным выбором его ткани или органа для введения в культуру. В большинстве случаев это главное условие, определяющее качество получаемого продукта. Как правило, высокий выход продукта наблюдается в культурах, инициированных из высокопродуктивных растений. Выбор органа также имеет немаловажное значение. Например, содержание стероида диосгенина в культуре клеток *Dioscorea floribunda*, полученной из клубня, было на порядок выше, чем в культуре клеток, полученной из побега.

Во-вторых, на выход продукта влияет гетерогенность культивируемых клеток по способности к синтезу вторичных метаболитов. Как отмечалось ранее, у культивируемых *in vitro* клеток могут происходить значительные изменения вторичного метаболизма по сравнению с интактными растениями. Одной из причин изменения интенсивности вторичного метаболизма в культуре клеток выступает генетическая их гетерогенность. Вместе с тем гетерогенность клеточной популяции может играть положительную роль, позволяя отбирать линии клеток с повышенным синтезом искомого продукта или синтезирующие совершенно новые вещества.

В-третьих, в качестве факторов, оказывающих влияние на накопление вторичных метаболитов в культуре клеток растений, выступают состав питательной среды и физические условия культивирования.

Важнейшими компонентами питательных сред, эффективно регулирующими и первичный, и вторичный обмен клеток, являются фитогормоны. Показано, что характер влияния фитогормонов зависит от вида растения, природы вторичного соединения, клеточного штамма и т.д. Поэтому результаты экспериментов по выяснению воздействия фитогормонов на синтез вторичных метаболитов крайне противоречивы. При изучении влияния 146 соединений с ауксиновой активностью на рост и образование антрахинонов в культуре клеток моринды лимоннолистной было установлено, что многие регуляторы поддерживали хороший рост клеток, но только два: НУК и 2,3,6-трихлорбензойная кислота, наряду со стимуляцией роста, способствовали образованию антрахинонов.

Увеличение выхода вторичных метаболитов во многих случаях наблюдается при повышении концентрации сахарозы в питательной среде. Вместе с тем высокое ее содержание приводит к возрастанию осмотического потенциала, что может оказывать неблагоприятное влияние на метаболизм культивируемых клеток. Нельзя не учитывать, что увеличение содержания сахарозы

в среде удорожает производство, поэтому поиск дешевых углеводных добавок остается актуальным.

Среди других компонентов питательной среды регулирующее воздействие на накопление вторичных метаболитов могут оказывать источники азота, фосфора и калия. Однако характер их влияния значительно различается в зависимости от вида растения и синтезируемого соединения. Так, если у одних культур присутствие органических форм азота в среде тормозит накопление вторичных метаболитов, то у других – повышает их синтез. Установлено, что недостаток фосфора в среде стимулирует синтез многих БАВ, хотя очень низкие его концентрации будут подавлять процессы энергетического метаболизма и, следовательно, снижать накопление вторичных метаболитов.

Положительный эффект на биосинтез вторичных веществ оказывает наличие в среде некоторых предшественников самих искомым соединений. Это могут быть аминокислоты (глутамат, фенилаланин, лейцин, орнитин и др.) и органические кислоты (ацетат, сукцинат, шикимовая и др.). Однако не всегда их внесение вызывает увеличение выхода продукта. Отсутствие желаемого эффекта можно объяснить разными причинами: предшественники не поглощаются клетками, происходит их распад в процессе приготовления и стерилизации сред или же они переходят в другие физиологически неактивные формы. Не исключено, что некоторые предшественники могут оказывать побочные эффекты на рост культуры, в частности, ингибировать его.

Во многих случаях буферная емкость питательных сред является достаточно низкой, поэтому величина исходного pH при культивировании быстро сдвигается на несколько единиц, а это, в свою очередь, сказывается на биосинтетических свойствах культивируемых клеток. Например, в культуре клеток *Ipomea*, которая биотрансформирует триптофан в различные метаболиты индольной природы, выход такого продукта как триптанол значительно увеличивается при pH 6,3 и полностью подавляется при pH 4,8. Поэтому поддержание кислотности питательной среды на определенном уровне также является важным фактором, от которого зависит образование БАВ в культуре. Следует отметить, что оптимизация состава питательной среды является ключевым условием для повышения выхода продукта. В результате подобных исследований разрабатываются так называемые продукционные среды, на которых культивируемые клетки синтезируют значительное количество вторичных метаболитов.

Физическими факторами, влияющими на накопление БАВ клетками, являются освещенность, температура, аэрация и режим перемешивания в случае суспензии, а также состав газов в колбах. Стимулирующее действие света на образование вторичных соединений в культуре клеток показано на примере каротиноидов, эфирных масел, коричных масел, флавоноидов, пластохинонов, антоцианов, катехинов, алкалоидов, витаминов. При этом имеет значение и качество света. Однако в некоторых случаях свет оказывал ингибирующее действие, подавляя синтез вторичных метаболитов.

Данных о влиянии температуры на рост и процессы биосинтеза в клеточных культурах очень мало, но поскольку температура влияет на вторич-

ный метаболизм интактных растений, исследования в этом направлении являются достаточно необходимыми. Тем более, что оптимумы температуры для роста культуры клеток и процессов биосинтеза БАВ не всегда совпадают.

Для получения вторичных метаболитов из суспензионных культур важны также аэрация и скорость перемешивания. Так, в культуре клеток табака увеличение скорости перемешивания приводило к повышению выхода никотина.

В целом следует отметить, что накопление клетками продуктов вторичного метаболизма является результатом динамического равновесия между биосинтетическим, биотрансформационным и биodeградационным процессами. Влияние внешних и внутренних факторов на каждый из этих процессов имеет сложный характер, и зачастую из-за отсутствия фундаментальных знаний с трудом поддается прогнозированию. Поэтому следует признать оправданным тот эмпирический подход при изучении влияния факторов культивирования на накопление вторичных веществ, который продолжает использоваться и в настоящее время.

Биотехнологическое производство вторичных метаболитов растений осуществляется преимущественно при культивировании клеточных суспензий. Очень большое значение для их роста и образования целевых продуктов имеют технические характеристики систем культивирования.

Длительное время для создания технологий промышленного выращивания суспензионных культур применялась аппаратура, разработанная для микробиологической промышленности. Однако исследования последних лет показали, что растительные клетки в силу своих специфических особенностей требуют особых сосудов для культивирования. Клетки растений в десятки, сотни раз крупнее клеток бактерий и грибов, кроме того, их размеры меняются в процессе онтогенеза. Если в начале экспоненциальной фазы роста они мелкие и плотные, то в стационарной фазе роста они сильно увеличиваются в размерах и вакуолизируются. Чем крупнее становится клетка, тем больше возрастает опасность ее механического повреждения. В то же время клетки растений крупные и тяжелые требуют эффективного перемешивания.

В зависимости от принципа перемешивания культуральной жидкости биореакторы подразделяются на два больших типа по своей конструкции.

В биореакторах первого типа перемешивание осуществляется только путем аэрирования воздухом. При этом в барботажных биореакторах – за счет поднимающихся пузырьков воздуха, а в аэролифтных – с применением специальной конструкции с внутренним цилиндром, создающей градиент плотности суспензии (рисунок).

Для биореакторов второго типа характерно наличие механических перемешивающих устройств.

- Использование биореакторов для исследования популяций растительных клеточных имеет следующие преимущества:
- большой объем культивационного сосуда позволяет, не внося существенных возмущений, отбирать пробы большого объема, что очень важно

при анализе вторичных метаболитов, часто содержащихся в очень низких концентрациях;

- возможность управления процессом культивирования по определенному алгоритму на основе показаний датчиков, установленных в биореакторах.

Вместе с тем культивирование клеточных суспензий в биореакторах связано и с некоторыми проблемами:

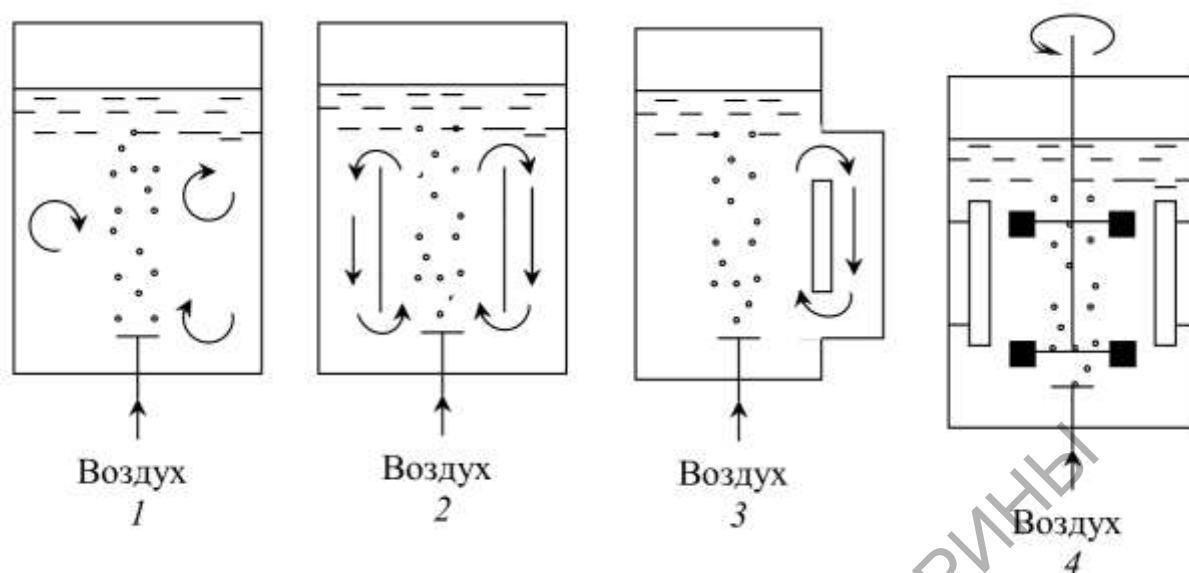
- оседанием клеток вследствие недостаточного перемешивания, что приводит к появлению «мертвых» зон в сосудах, в которых происходит быстрое накопление и старение клеток;

- увеличением вязкости суспензии вследствие роста биомассы, приводящим к адгезии – прилипанию клеток друг к другу, поверхности культурального сосуда, погруженных в него мешалок и датчиков;

- образованием в верхней части сосуда «корки» или «безе», состоящей из полисахаридов, белков, слипшихся клеток и снижающей эффективность перемешивания, что в конце концов может привести культуру к гибели.

В настоящее время наиболее приемлемым способом получения больших количеств вторичных метаболитов растений является двустадийное культивирование. Его первая стадия связана с образованием больших количеств биомассы культивируемой суспензии, а вторая предполагает создание условий для активного биосинтеза необходимых продуктов. Обеспечив благоприятные условия культивирования на обеих стадиях *in vitro* можно добиться получения выхода вторичного метаболита в количестве, синтезируемом *in vivo*, а иногда и выше.

Большой интерес представляет также развитие методов иммобилизации культивируемых клеток и биотрансформации ими метаболитов. Суть иммобилизации состоит в заключении живых клеток в определенный носитель. Затем через носитель с клетками пропускают питательную среду. При этом клетки прекращают рост, но могут достаточно долго оставаться живыми и продуцировать необходимые вещества.



Принципиальные схемы биореакторов, наиболее часто применяемых для культивирования суспензионных культур:

- 1 – барботажный биореактор; 2 – аэролифтный биореактор;
- 3 – биореактор с вынесенной циркуляционной петлей; 4 – биореактор с механическим перемешивающим устройством.

Клетки могут быть иммобилизованы 4 способами:

- иммобилизация в инертном субстрате, т.е. обволакивание клеток одной из различных цементирующих сред (альгинат, агар, полиакриламид, коллаген или комбинация гелей);
- адсорбция клеток на инертный субстрат;
- адсорбция клеток на инертном субстрате с помощью биологических макромолекул;
- ковалентное связывание клеток с каким-либо инертным субстратом типа карбоксилметилцеллюлозы.

Вокруг физически неподвижных иммобилизованных клеток могут циркулировать большие объемы питательной среды, регулируя состав которой, замедляют рост клеток и тем самым повышают выход вторичных продуктов.

Поскольку клетки в иммобилизованном виде культивируются длительное время, то для этого используются клетки, которые сами, естественным путем, секретируют необходимые метаболиты в питательную среду или могут быть индуцированы к такой секреции какими-либо приемами, например, воздействием низких температур и растворителей. Клетки, которые накапливают искомый продукт внутри, например, в вакуолях или пластидах, не пригодны для иммобилизации.

Иммобилизованные клетки могут быть использованы не только для синтеза, но и для биотрансформации различных соединений. Очень часто растения или культуры клеток растений не доводят синтез метаболита до наиболее важного продукта, и тогда можно использовать процесс биотрансформации. В качестве примера можно привести использование суспензии клеток наперстянки, синтезирующей дигитоксин, тогда как для медицинских

целей нужен дигоксин. Сердечный гликозид дигоксин обладает большим терапевтическим эффектом по сравнению с дигитоксином, которого в растениях содержится значительно больше. Дигоксин отличается от дигитоксина лишь по наличию дополнительной гидроксильной группы. Недифференцированные культуры клеток наперстянки шерстистой не образуют сердечных гликозидов, но могут осуществлять определенную реакцию биотрансформации субстратов, добавленных в питательную среду.

Биотрансформация необходима для гликозилирования фенольных продуктов корня женьшеня *in vitro*. Культура клеток женьшеня корневого происхождения активно трансформирует фенольные вещества (гликозилирует и гептозилирует), модифицирует ароматические карбокислоты.

Другим примером служит биотрансформация монотерпеновых соединений (компонентов эфирных масел) культурами клеток разных видов мяты. Путем биотрансформации можно значительно изменить качественный состав компонентов эфирного масла мяты. В частности, эффективна биотрансформация пулегона в более ценные компоненты (ментол) в культуре клеток *Mentha canadensis*.

Таким образом, использование суспензионных культур для синтеза вторичных метаболитов в промышленных масштабах имеет большие перспективы. Работа по созданию клеточных технологий для получения вторичных метаболитов в настоящее время включает следующие этапы:

1. Экономически обоснованный выбор объекта. Растения, выбранные для введения в культуру, должны содержать значительные количества экономически важных вторичных соединений. Особенно это относится к исчезающим видам растений.

2. Первичное введение тканей в культуру. Для этих целей отбираются отдельные растения, обладающие наибольшим содержанием искомого вещества. Обычно вначале получают каллусы на твердой среде.

3. Биохимическое изучение биомассы по качественному и количественному составу вторичных метаболитов. Определение очень низких концентраций метаболитов в медленно растущих клетках представляет большую трудность. Поэтому в качестве экспресс-методов оценки продуктивности каллусных культур в последнее время применяют радиоиммунохимический и иммуноферментный методы. Последний имеет преимущества благодаря более высокой скорости проведения анализов и возможности их автоматизации.

4. Оптимизация сред и параметров выращивания. Для реализации генетической информации, детерминирующей вторичный обмен, требуются специфические условия. Поскольку нет твердой уверенности в том, что используемые питательные среды полностью отвечают потребностям клеток, в каждом конкретном случае приходится подбирать состав среды и определять влияние других факторов, опираясь на имеющийся опыт. Эта задача еще более усложняется при переводе культуры в жидкую среду, так как при этом следует учитывать влияние факторов аэрации и перемешивания.

5. Создание продуктивных штаммов клеток. Получение гомогенной популяции клеток с высоким содержанием тех или иных вторичных веществ – сложная задача, так как популяции длительно культивируемых клеток даже полученные клонированием одной высокопродуктивной клетки, могут терять способность к синтезу ценного соединения. Для поддержания на высоком уровне способности культуры к видоспецифическим биосинтезам, помимо оптимизации условий выращивания, требуются значительные усилия, включая проведение с ней генетических манипуляций и клеточную селекцию. Для организации рентабельного крупномасштабного производства на основе клеточной технологии нужны мутанты, синтезирующие гормоны, нетребовательные к питательным средам, а также устойчивые к осмотическому и механическому стрессу. Наиболее эффективным приемом создания продуктивных штаммов является искусственное конструирование клеток методами клеточной и генной инженерии, которым принадлежит будущее.

6. Первичное использование лучших штаммов в суспензионной культуре. Каллусные клетки, первоначально полученные на твердой среде, переводят в жидкую среду. Изменение режима культивирования не должно приводить к потере штаммом своих положительных качеств, т.е. штамм должен быть устойчив к стрессовым условиям культивирования. Особенно это касается момента переноса клеток из условий лабораторного эксперимента в небольших колбах в ферментеры крупных размеров.

7. Выращивание продуктивной и устойчивой культуры в условиях, приближающихся к производственным, в ферментерах с последующим увеличением их емкости. Если в таких полупромышленных условиях культивируемые клетки сохраняют высокие скорости роста и биосинтеза искомого вещества, накапливают его без деградации и в значительных количествах выделяют в среду, то такой штамм пригоден для организации крупномасштабного производства. Кроме того, важным качеством штамма является его генетическая стабильность.

8. Составление технического регламента на производство биомассы клеточной суспензии и его оценка. Производственная технология требует соответствующей аппаратуры, которой располагает, в частности, Япония. Так, в 20 000-литровом ферментере в непрерывной культуре в течение трех месяцев выращивались клетки табака, продуцировавшие убихинон с продуктивностью по биомассе 5,582 г/л в день. Там также налажено крупномасштабное производство и других вторичных метаболитов.

В настоящее время в разных странах для получения экономически важных веществ используются культуры клеток около ста видов растений, среди которых – женьшень, раувольфия змеиная, наперстянка шерстистая и пурпурная, диоскорея дельтовидная, воробейник, беладонна, паслен дольчатый, дурман обыкновенный, ландыш майский, клещевина, агава, амми зубная, мак снотворный и др.

УСР № 1. Основные группы терпеноидов (три, тетра и политерпеноиды)

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Три-, тетра- и политерпеноиды: структура, свойства и распространение.

2 Ациклические и моно-, би-, трициклические группы терпеноидов: структура, свойства и распространение.

3 Растительные смолы, гутта и каучук.

Форма работы – индивидуальная.

Форма контроля выполнения заданий: проверка конспектов.

Учебно-методическое обеспечение:

1 Кузнецов, Вл.В. Физиология растений. В 2 т. Т. 2: учебник для академического бакалавриата / Вл.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М.: Юрайт, 2019. – 459 с.

2 Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты: учебно-методическое пособие к спецкурсу «Вторичный метаболизм растений» / [сост. к.б.н. Й.Р. Абдрахимова]. – Казань: КазГУ, 2009. – 21 с.

3 Физиология растений: учебник для вузов/ Н.Д. Алехина [и др.]; под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

4 Козюкина, Ж.Т. Биохимия вторичных продуктов обмена веществ растительного организма: учебное пособие / Ж.Т. Козюкина. – Днепропетровск: ДГУ, 1987. – 44 с.

5 Пономарев, Д.А. Основы химии терпенов: учебное пособие / Д.А. Пономарев, Э.И. Федорова. – Сыктывкар: СЛИ, 2014. – 56 с.

6 База научных данных в области биомедицинских наук – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed>.

УСР № 2. Протоалкалоиды

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Общая характеристика и классификация протоалкалоидов. Характерные представители.

2 Колхициновые протоалкалоиды. Применение колхицина для получения полиплоидных форм растений.

3 Мескалин: психотропные эффекты; эфедрин: стимулирующие свойства.

Учебно-методическое обеспечение:

1 Медведев, С.С. Физиология растений: учебник для вузов / С.С. Медведев. – СПб: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. – 336 с.

2 Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты: учебно-методическое пособие к спецкурсу «Вторичный метаболизм растений» / [сост. к.б.н. Й.Р. Абдрахимова]. – Казань: КазГУ, 2009. – 21 с.

3 Физиология растений: учебник для вузов/ Н.Д. Алехина [и др.]; под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

4 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.

5 Козюкина, Ж.Т. Биохимия вторичных продуктов обмена веществ растительного организма: учебное пособие / Ж.Т. Козюкина. – Днепропетровск: ДГУ, 1987. – 44 с.

6 Энциклопедия: Фонд знаний – Ломоносов – lomonosov-fund.ru?enc/ru/encyclopedia:0132746.

УСР № 3. Псевдоалкалоиды

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Общая характеристика псевдоалкалоидов. Характерные представители.

2 Соланидин и соланин в картофеле. «Картофельные бунты».

3 Полиаминные и циклопептидные алкалоиды

Учебно-методическое обеспечение:

1 Медведев, С.С. Физиология растений: учебник для вузов / С.С. Медведев. – СПб: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. – 336 с.

2 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.

3 Биохимия растений / [Л.А. Красильникова, О.А. Авксентьева, Ю.А. Жмурко и др.]; под ред. к.б.н. Л.А. Красильниковой. – Харьков: Феникс, 2004. – 224 с.

4 Муравьева Д.А. Фармакогнозия / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. – М.: Медицина, 2002. – 656 с.

5 База научных данных в области биомедицинских наук – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed>.

6 Энциклопедия: Фонд знаний – Ломоносов – lomonosov-fund.ru?enc/ru/encyclopedia:0132746.

УСР № 4. Биохимия вторичного метаболизма

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Предшественники биосинтеза вторичных метаболитов.

2 Пути биосинтеза основных классов вторичных метаболитов.

3 Модификации вторичных метаболитов (гликозилирование, гидроксилирование, метоксилирование, метилирование) - примеры.

Учебно-методическое обеспечение:

1 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.

2 Биохимия сельскохозяйственных растений / Б.П. Плешков. – М.: Агропромиздат, 2007. - 494 с.

3 Биохимия растений / [Л.А. Красильникова, О.А. Авксентьева, Ю.А. Жмурко и др.]; под ред. к.б.н. Л.А. Красильниковой. – Харьков: Феникс, 2004. – 224 с.

4 Кретович, В.Л. Биохимия растений: учеб. для студ. биол. спец. ун-тов / В.Л. Кретович. – М.: Высш. шк., 1986. – 503с.

5 Журнал – Физиология растений – <http://www.rusplant.ru>.

6 Физиология растений – Онлайн-энциклопедия – <http://www.fizrast.ru>.

УСР № 5. Физиология вторичного метаболизма

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Клеточные аспекты выделительной деятельности растений.

2 Внутритканевая и внешняя секреция вторичных метаболитов.

3 Выделение вторичных метаболитов при экстремальных воздействиях.
Учебно-методическое обеспечение:

1 Кузнецов, Вл.В. Физиология растений. В 2 т. Т. 2: учебник для академического бакалавриата / Вл.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М.: Юрайт, 2019. – 459 с.

2 Медведев, С.С. Физиология растений: учебник для вузов / С.С. Медведев. – СПб: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. – 336 с.

3 Физиология растений: учебник для вузов/ Н.Д. Алехина [и др.]; под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

4 Журнал – Физиология растений – <http://www.rusplant.ru>.

5 Физиология растений – <http://www.maik.ru>.

6 Физиология растений – Онлайн-энциклопедия – <http://www.fizrast.ru>.

УСР № 6. Методы выделения и определения вторичных метаболитов

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Общие представления о качественном и количественном анализе растительного материала.

2 Характеристика избранных методов, используемых при изучении вторичных метаболитов растений.

3 Определение основных групп вторичных метаболитов.

Учебно-методическое обеспечение:

1 Кузнецов, Вл.В. Физиология растений. В 2 т. Т. 2: учебник для академического бакалавриата / Вл.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М.: Юрайт, 2019. – 459 с.

2 Физиология растений: учебник для вузов/ Н.Д. Алехина [и др.]; под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

3 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. – 471 с.

4 Основы биохимии вторичного обмена растений: учебно-методическое пособие / Г.Г. Борисова, А.А. Ермошин, М.Г. Малева, Н.В. Чукина; под общ. ред. Г.Г. Борисовой. – Екатеринбург: Изд-во Урал, ун-та. 2014. – 128 с.

5 База научных данных в области биомедицинских наук – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed>.

2 ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

2.1 Перечень практических (семинарских) занятий и задания к ним

По дисциплине «Вторичные метаболиты растений» предусмотрены практические (семинарские) занятия, которые способствуют развитию у магистрантов таких необходимых навыков, как выбор и решение поставленной задачи, сбор и аналитический анализ опубликованных данных, умение выделять главное и делать обоснованное заключение. Они стимулируют регулярное изучение магистрантами актуальной научной литературы, закрепляют знания, полученные при прослушивании лекций, прививают навыки самостоятельной работы, способствуют выработке навыков научной полемики. Практические (семинарские) занятия нацелены на пробуждение научного интереса, стимуляцию накопления научных знаний, формулирование выводов. Проведение практических (семинарских) занятий способствуют более глубокому усвоению широкого круга специальных биологических понятий, повышают познавательные возможности обучающихся. Практические (семинарские) занятия проводятся согласно графика учебного процесса и самостоятельной работы. Темы практических (семинарских) занятий приведены в таблице.

	Раздел дисциплины	Тема занятия
1	Терпеноиды	Эфирные масла – смеси летучих терпеноидов
2	Алкалоиды	Наркотики и психоделики растительного происхождения
3	Растительные фенолы	Флавоноиды – крупнейший класс растительных полифенолов
4	Разнообразие вторичных метаболитов	Растительные гликозиды – основа фармакогнозии

Практические (семинарские) занятия проводятся один раз в неделю, продолжительность занятий – два академических часа. Подготовка к семинару сводится к следующему плану:

1. Выбор темы, определение задач.
2. Подбор основной и дополнительной литературы.
3. Подготовка вопросов для обсуждения.
4. Распределение заданий и тем для сообщений.
5. Организация предварительной работы, консультации.
6. Определение критериев оценки выступлений.
7. Выбор методов и приемов проведения.
8. Подбор средств наглядности.
9. Составление плана проведения практических занятий.

Практические занятия организуются с целью расширения и обобщения знаний магистрантов по теме или разделу и сводятся к следующей структуре:

1. Вводное слово преподавателя: формулировка задач, постановка проблемы, знакомство с планом проведения семинара.

2. Выступления магистрантов (сообщения по заданным вопросам).
3. Обсуждение вопросов семинара в процессе беседы.
4. Подведение итогов (анализ сообщений, оценка их выступлений).

Структура практического (семинарского) занятия может быть различной, она зависит от сложности обсуждаемых вопросов, дидактических задач и может проводиться в виде:

- развернутой беседы,
- докладов,
- обсуждение рефератов,
- семинаров-диспутов,
- мини-конференций.

На практических (семинарских) занятиях используются методы интерактивного обучения. Учебный процесс, опирающийся на использование интерактивных методов обучения, организуется с учетом включенности в процесс познания всех магистрантов группы без исключения. Совместная деятельность означает, что каждый вносит свой особый индивидуальный вклад, в ходе работы идет обмен знаниями, идеями, способами деятельности. Организуются индивидуальная, парная и групповая работа, используется проектная работа, осуществляется работа с различными источниками информации. Интерактивные методы основаны на принципах взаимодействия, активности обучаемых, обязательной обратной связи. Создается среда образовательного общения, которая характеризуется открытостью, взаимодействием участников, равенством их аргументов, накоплением совместного знания, возможностью взаимной оценки и контроля.

ЗАНЯТИЕ 1 ЭФИРНЫЕ МАСЛА – СМЕСИ ЛЕТУЧИХ ТЕРПЕНОИДОВ

Рассматриваемые вопросы:

1 Основные компоненты эфирных масел (терпены, терпеноиды, ароматические соединения, предельные и непредельные углеводороды, альдегиды, органические кислоты и спирты, их сложные эфиры, а также гетероциклические соединения, амины, фенолы, органические сульфиды, оксиды и др.).

2 Растения-сырьё для производства эфирных масел. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырьё, содержащие: ациклические и алифатические монотерпеноиды; моноциклические монотерпеноиды; бициклические монотерпеноиды; сесквитерпеноиды; ароматические соединения.

3 Биосинтез эфирных масел. Локализация эфирных масел в растениях и растительном сырье. Физиологическое значение эфирных масел для растений.

4 Производство эфирных масел: перегонка с водой; перегонка с водяным паром; холодное прессование; мацерация или анфлераж; экстракция селективными растворителями. Стандартизация эфирных масел.

5 Применение эфирных масел: в качестве пищевых ароматизаторов (пищевые, вкусовые добавки); как медицинские препараты и лекарственные средства; как компоненты парфюмерных и косметических средств (косметология); в ароматерапии; в качестве растворителей и др.

6 Меры безопасности при использовании эфирных масел и работе с ними. Сведения о токсичности эфирных масел меры безопасности: в промышленности; в продуктах питания и лекарственных средствах; в быту.

ЗАНЯТИЕ 2 НАРКОТИКИ И ПСИХОДЕЛИКИ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Рассматриваемые вопросы:

1 Растительные наркотики: опиоиды (морфин, кодеин, героин); канабиноиды (марихуана, гашиш); кокаин (крэк); псилобицин и др. Химическая природа, пути биосинтеза, растения – источники наркотических веществ.

2 Формы употребления растительных наркотиков. Основные эффекты растительных наркотиков. Симптомы наркотической зависимости. Механизмы биохимических и тканевых изменений в организме человека под действием растительных наркотиков. Отдаленные последствия употребления растительных наркотиков.

3 Понятие психоделических веществ, их отличие от других психоактивных веществ и наркотиков. Классификация психоделиков по химическому составу Воздействие психоделиков на человека. Основные эффекты психоделических веществ.

4 Психоделические грибы: содержащие псилоцибин и псилоцин; содержащие иботеновую кислоту (мускимол и мусказон) и мускарин. Химическая природа наркотических веществ, механизмы клеточных и тканевых эффектов в организме человека. Использование психоделических грибов в различных культах и народной медицине. Зачем викинги ели мухоморы перед походом?

5 Растения-психоделики. Галюциногенные растения. Психоактивные лишайники. Химическая природа наркотических веществ, механизмы клеточных и тканевых эффектов в организме человека. Использование в различных культах и народной медицине.

6 Значение психоделических веществ в общественной жизни стран Западной Европы и США в 50 – 70-е годы XX столетия. Молодежные субкультуры, движение хиппи. Психоделическая музыка и живопись. Психоделический дизайн одежды и интерьеров.

ЗАНЯТИЕ 3 ФЛАВОНОИДЫ – КРУПНЕЙШИЙ КЛАСС РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ

Рассматриваемые вопросы:

1 Соединения $C_6-C_3-C_6$ -ряда. Флавоноиды, изофлавоноиды и неофлавоноиды. Растительные флавоноиды: история изучения, строение молекулы, современная классификация. Физиологические функции флавоноидов в растениях.

2 Флавонолы и флавоны. Фотопротекторные свойства. Окраска лепестков. Роль в прорастании пыльцы. Кверцетин: применение в медицине и ветеринарии. Флаваноны. Гесперидин и нарингин. Применение в медицине.

3 Антоцианы и антоцианидины: соотношение понятий. «Растительные хамелеоны». Зависимость окраски от структуры молекулы, концентрации и pH. Копигментация. Хелатирование металлов.

4 Катехины – производные флавана. Распространение в растениях. Р-витаминная активность, радиопротекторные свойства. Лейкоантоцианины и лейкоцианидины. Распространение в растениях. Противоопухолевая и радиозащитная активность, антиоксидантные свойства.

5 Пищевые источники растительных флавоноидов. Антиоксидантная и противовоспалительная активность флавоноидов в составе продуктов питания и напитков. Флавоноиды как биологически активные добавки.

6 Биофлавоноиды в косметике и косметологии. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие флавоноиды.

ЗАНЯТИЕ 4 РАСТИТЕЛЬНЫЕ ГЛИКОЗИДЫ – ОСНОВА ФАРМАКОГНОЗИИ

Рассматриваемые вопросы:

1 Гликозиды, содержащие серу, растительные горечи. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие тиогликозиды, ароматические горечи, чистые горечи и слизесодержащие горечи. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие тиогликозиды и различные горечи.

2 Фенольные гликозиды: классификация, основные представители. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие фенольные гликозиды.

3 Сердечные гликозиды, образование в растениях. Зависимость функциональной активности кардиогликозидов от особенностей структуры их молекул. Классификация, физико-химические свойства кардиогликозидов. Биофармакологические принципы использования сердечных гликозидов. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие кардиогликозиды.

4 Сапонины: химическая структура и классификация. Стероидные сапонины, фитоэкдизоны, тритерпеновые сапонины. Биологические свойства и фармакологическое действие. Основные лекарственные растения, содержащие сапонины.

5 Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие: стероидные сапонины, фитоэкдизоны, тритерпеноидные пентациклические и тритерпеноидные тетрациклические сапонины.

6 Кумарины, хромоны и кантоны. Строение молекул и классификация. Связь строения молекул с биологической активностью веществ. Физико-химические свойства, распространение в растениях. Биологическая и фармакологическая активность. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие кумарины, хромоны и кантоны.

Для участия в занятии каждый магистрант готовит сообщение на одну из обозначенных тем. При подготовке сообщения рекомендуется обратить особое внимание на поиск и изучение обзорных статей по теме сообщения, опубликованных в научных журналах в последние 10 – 15 лет. Более старые обзоры следует использовать осторожно, так как содержащиеся в них трактовки и обобщения научных данных могут оказаться устаревшими, или пересмотренными в связи со стремительным развитием методов исследования и возрастанием объема публикуемых научных данных. Сообщение состоит из текста и презентации. Оно должно быть рассчитано на 10 – 15 минут доклада (3-4 страницы текста) + 35-40 слайдов презентации. Выступление на каждом занятии оценивается. Остальные члены группы готовят проблемные вопросы для дискуссии.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

3 КОНТРОЛЬ ЗНАНИЙ

3.1 Перечень тем экзаменационных работ

По дисциплине «Вторичные метаболиты растений» предусмотрено написание экзаменационной работы на одну из заданных тем.

Примерная тематика экзаменационных работ:

- 1 Алкалоиды, синтезирующиеся из L-орнитина и L-лизина.
- 2 Алкалоиды, синтезирующиеся из L-триптофана и L-фенилаланина.
- 3 Алкалоиды, синтезирующиеся из L-тирозина и L-гистидина.
- 4 Бензохиноны, фенолокислоты, фенолоспирты и фенилуксусные кислоты.
- 5 Фенилпропаноиды: оксикоричные кислоты, оксикоричные спирты, фенилпропены, кумарины, изокумарины, хромоны, лигнаны.
- 6 Гидролизуемые и конденсированные дубильные вещества.
- 7 Основные ферменты биосинтеза алкалоидов, изопреноидов и фенольных соединений, их характеристика.
- 8 Изопреноиды (терпеноиды). Основные группы изопреноидов (моно-, сескви-, ди-, три-, тетра- и политерпеноиды). Распространение и основные представители.
- 9 Пространственная организация синтеза и накопления вторичных метаболитов в растении. Принцип разделения синтеза и накопления вторичных метаболитов.
- 10 Состав и характеристика смол, слизей, камеди, латекса.

Экзаменационная работа выполняется в электронном виде, включает титульный лист, основное содержание и список использованных источников информации (книги, статьи, интернет-источники). Объем экзаменационной работы – не менее 20 страниц основного текста. Источников информации – не менее 15.

Оформление страницы: поля: верхнее и нижнее – 2 см; левое – 3 см; правое – 1 см. Шрифт Times New Roman, 14 pt. Абзацный отступ – 1,25 см; выравнивание по ширине, междустрочный интервал – одинарный, автоматический перенос слов.

Отдельными страницами являются титульный лист и список использованных источников.

Текст освещается по плану, снабжается цветными иллюстрациями с подписями.

Титульный лист и список использованных источников оформляется по СТП.

Учреждение образования
«Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины»

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ГГУ имени Ф. Скорины

И.В.Семченко

(подпись)

(дата утверждения)

Регистрационный № УД- 17-1479-66 /уч.

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ РАСТЕНИЙ

Учебная программа учреждения высшего образования
по учебной дисциплине для специальности 1-31 80 01 Биология
(профилизация Функциональная биология)

Учебная программа составлена на основе Образовательного стандарта высшего образования второй ступени (магистратура) ОСВО 1-31 80 012012, учебных планов ГГУ имени Ф. Скорины специальности 131 80 01 Биология, регистрационные номера G 31-2-01/д-19, G 31-2-01/з-19 от 09.04.2019.

Составитель:

О.М. Храмченкова, доцент кафедры ботаники и физиологии растений учреждения образования «Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины», кандидат биологических наук, доцент

Рецензенты:

Н.И. Тимохина, заместитель директора по научной работе государственного научного учреждения «Институт радиобиологии НАН Беларуси», кандидат биологических наук

Н.И. Дроздова, заведующая кафедрой химии учреждения образования «Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины», кандидат химических наук, доцент

Рекомендована к утверждению:

Кафедрой ботаники и физиологии растений

протокол № 10 от 18.04. 2019

Научно-методическим советом УО «Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины»

протокол № 8 от 17.05.2019

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная дисциплина «Вторичные метаболиты растений» относится к компоненту учреждения высшего образования, модулю «Клеточная биология и молекулярно-генетические механизмы биосигнализации» типового учебного плана специальности 1-31 80 01 Биология (профилизация Функциональная биология).

Курс «Вторичные метаболиты растений» дает представление об особенностях растительного организма, о биологической роли веществ вторичного происхождения, о взаимосвязи «вторичного» и основного обменов, протекающих в растении. В курсе используются знания ботаники, химии, цитологии, физиологии растений, молекулярной биологии, генетики, экологии, биотехнологии, растениеводства, агрохимии.

Цель курса «Вторичные метаболиты растений» – подготовить специалистов, обладающих фундаментальными знаниями об основных группах вторичных метаболитов, входящих в состав растений, их химическом строении и свойствах, путях биосинтеза, локализации синтеза и накопления в растениях, функциях, выделении и методах определения различных групп соединений вторичного происхождения из растительного сырья.

Основные задачи дисциплины – дать знания и целостные представления о веществах вторичного происхождения: биогенезе, метаболизме и функциях; научит обобщать фактический материал в области вторичных метаболитов растительного происхождения; ознакомить с научными достижениями в данной области биохимии растений.

В преподавании данной дисциплины, наряду с лекциями, учебным планом предусмотрены практические (семинарские) занятия, которые способствуют развитию у обучающихся таких необходимых навыков, как выбор и решение поставленной задачи, сбор и аналитический анализ опубликованных данных, умение выделять главное и делать обоснованное заключение. Такие занятия стимулируют регулярное изучение научной литературы, закрепляют знания, полученные на первой ступени высшего образования, прививают навыки самостоятельной работы. На практических (семинарских) занятиях используются методы интерактивного обучения, основанных на психологии человеческих взаимоотношений и взаимодействиях. Высокий уровень освоения дисциплины «Вторичные метаболиты растений» достигается не только в результате выполнения аудиторной работы на лекциях и практических (семинарских) занятиях, но и в ходе самостоятельной работы.

После изучения дисциплины обучающийся должен обладать компетенциями:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-2. Владеть системным и сравнительным анализом.

АК-4. Уметь работать самостоятельно.

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

СК-2. Быть способным использовать знания о молекулярных основах функционирования клеточных систем и механизмах биосигнализации в разработке актуальных вопросов физиологии животных и растений, биотехнологии, экологии, фармации, сельском и лесном хозяйстве

ПК-2. Осваивать новые модели, теории, методы исследования, участвовать в разработке новых методических подходов.

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-4. Готовить научные статьи, сообщения, рефераты, доклады и материалы к презентациям.

БПК-9. Знать сущность и механизмы жизненных процессов, протекающих в растениях и микроорганизмах, быть способным использовать эти процессы для повышения продуктивности и устойчивости растений.

В результате изучения дисциплины обучающийся должен **знать:**

- свойства веществ вторичного происхождения;
- механизм их действия;
- их роль в системах регуляции у многоклеточных растений;

уметь:

- использовать полученные знания в профессиональной деятельности;
- систематизировать полученные знания;
- грамотно излагать теоретический материал;

владеть навыками:

- использования вторичных метаболитов в своей практической деятельности;
- владеть методологическими основами современной науки.

Изучение данной учебной дисциплины предусмотрено магистрантами 1 курса специальности 1-31 80 01 Биология (профилизация Функциональная биология). Общее количество часов для магистрантов дневной формы обучения – 102 (3 зачетных единицы); аудиторных – 42, из них: лекции – 34, в том числе – УСП – 12, практические (семинарские) занятия – 8. Форма отчетности – экзамен в 1 семестре. Общее количество часов для магистрантов заочной формы обучения – 102 (3 зачетных единицы); аудиторных – 14, из них: лекции – 10, практические (семинарские) занятия – 4. Форма отчетности – экзамен в 1 семестре.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

РАЗДЕЛ 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ

Модуль 1 (М1). Общая характеристика вторичных метаболитов

Тема 1. Первичный и вторичный метаболизмы и их продукты.

Обмен веществ и энергии в растительной клетке. Первичный и вторичный метаболизмы растительных организмов и их продукты. Дыхание и обмен веществ в растительной клетке. Вторичный метаболизм – отличительное свойство растительного организма. Шикиматный и ацетатно-малонатный пути биосинтеза.

Тема 2. Общая характеристика вторичных метаболитов.

Признаки вторичных метаболитов, их характерные особенности. Локализация синтеза и накопления вторичных метаболитов в растительном организме. Функции вторичных метаболитов в растении. Фитоалексины. Классификация вторичных метаболитов: эмпирическая (тривиальная), химическая, биохимическая и функциональная. Основные группы вторичных метаболитов. Закономерности строения вторичных метаболитов.

Модуль контроля 1 (МК₂). Контроль усвоения раздела «Общая характеристика вторичных метаболитов»

Модуль обеспечивает контроль основных понятий, знаний и умений, освоенных магистрантами в результате изучения раздела «Общая характеристика вторичных метаболитов». Контроль осуществляется в форме контрольной работы или тестирования с разноуровневыми заданиями (уровень узнавания; воспроизведение по памяти; воспроизведение на уровне понимания и применения знаний в знакомой ситуации; применение знаний в незнакомой ситуации; творческая деятельность).

РАЗДЕЛ 2 ТЕРПЕНОИДЫ

Модуль 2 (М2). Терпеноиды

Тема 3. Общая характеристика терпеноидов.

Понятия «терпены» и «терпеноиды». Почему терпеноиды являются изопреноидами. Биосинтез терпеноидов и их физиологические функции. Химическая классификация терпеноидов и некоторые характерные представители. Геми-, моно-, сескви-, дитерпеноиды: структура, свойства и распространение. Примеры растений, используемых для получения и/или использования содержащихся в них терпеноидов.

Тема 4. Основные группы терпеноидов (три, тетра и политерпеноиды).

Три, тетра и политерпеноиды. Распространение и основные представители. Ациклические и моно-, би-, трициклические группы терпеноидов. Эфирные масла и эфирномасличные растения: химический состав, свойства, распространение, локализация и физиологическая роль. Растительные смолы, гутта и каучук. Биосинтез, локализация в растениях, физиологические функции. Камедесмолы. Ладан, мирра, опопонакс. Масло-смолы и бальзамы копайский бальзам, копал, аниме (курбарилловая смола), сандарак, живица, гваяковая смола, даммара, канифоль, scammonium, шеллак, янтарь, стиракс, перуанский и толуанский бальзам, причём вещества более жидкой консистенции известны под именем бальзамы. Смолы горные: асфальт (иудейская смола), озокерит.

Модуль контроля 2 (МК₂). Контроль усвоения раздела «Терпеноиды»

Модуль обеспечивает контроль основных понятий, знаний и умений, освоенных магистрантами в результате изучения раздела «Терпеноиды». Контроль осуществляется в форме контрольной работы или тестирования с разноуровневыми заданиями (уровень узнавания; воспроизведение по памяти; воспроизведение на уровне понимания и применения знаний в знакомой ситуации; применение знаний в незнакомой ситуации; творческая деятельность). Также магистранты выполняют задания УСР № 1 по теме «Три-, тетра- и политерпеноиды».

РАЗДЕЛ 3 АЛКАЛОИДЫ

Модуль 3 (МЗ). Алкалоиды

Тема 5. Общая характеристика алкалоидов.

Понятие алкалоидов. История применения и изучения алкалоидов. Распространенность алкалоидов в растительном царстве. Функции алкалоидов в растениях. Факторы, влияющие на накопление алкалоидов. Свойства алкалоидов и их применение. Общая классификация алкалоидов.

Тема 6. Протоалкалоиды.

Общая характеристика протоалкалоидов Классификация протоалкалоидов. Алифатические протоалкалоиды. Фенилалкиламины. Колхициновые протоалкалоиды. Мескалин: психотропные эффекты; эфедрин – стимулирующие свойства. Психоделические свойства фенилалкиламинов. Применение колхицина для получения полиплоидных форм растений.

Тема 7. Истинные алкалоиды.

Биосинтез алкалоидов. Образование оснований Шиффа. Реакция Манниха. Классификация алкалоидов, характерные представители, свойства. Общая характеристика истинных алкалоидов Названия отдельных алкалоидов.

История изучения. Свойства. Распространение в природе. Применение: в медицине, сельском хозяйстве, психостимулирующее и наркотическое использование.

Тема 8. Псевдоалкалоиды.

Общая характеристика псевдоалкалоидов История изучения. Классификация. Свойства. Распространение в природе. Извлечение. Биосинтез. Биологическая роль. Соланидин и соланин в картофеле. «Картофельные бунты». Примеры растений, используемых для получения и/или использования содержащихся в них псевдоалкалоидов.

Модуль контроля 3 (МК₃). Контроль усвоения раздела «Алкалоиды»

Модуль обеспечивает контроль основных понятий, знаний и умений, освоенных магистрантами в результате изучения раздела «Алкалоиды». Контроль осуществляется в форме контрольной работы или тестирования с разноуровневыми заданиями (уровень узнавания; воспроизведение по памяти; воспроизведение на уровне понимания и применения знаний в знакомой ситуации; применение знаний в незнакомой ситуации; творческая деятельность). Также магистранты выполняют задания УСР № 2 и № 3 по темам «Протоалкалоиды» и «Псевдоалкалоиды».

РАЗДЕЛ 4 РАСТИТЕЛЬНЫЕ ФЕНОЛЫ

Модуль 4 (М4). Растительные фенолы

Тема 9. Растительные фенолы. Часть 1.

Классификация и функции растительных фенолов. Свойства и методы идентификации фенолов. Классификация фенольных соединений растений. Фенольные соединения с одним ароматическим кольцом. Простые фенолы. Фенольные кислоты. Фенилпропаноиды. Кумарины. Нафтохиноны.

Тема 10. Растительные фенолы. Часть 2.

Общая характеристика дифенолов. Бензофеноны, ксантоны, стильбены, антрахиноны, флавоноиды, изофлавоноиды и неофлавоноиды. Примеры растений, используемых для получения и/или использования содержащихся в них дифенолов.

Модуль контроля 4 (МК₄). Контроль усвоения раздела «Растительные фенолы»

Модуль обеспечивает контроль основных понятий, знаний и умений, освоенных магистрантами в результате изучения раздела «Растительные фенолы». Контроль осуществляется в форме контрольной работы или тестирования с разноуровневыми заданиями (уровень узнавания; воспроизведение по памяти; воспроизведение на уровне понимания и

применения знаний в знакомой ситуации; применение знаний в незнакомой ситуации; творческая деятельность).

РАЗДЕЛ 5 РАЗНООБРАЗИЕ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ

Модуль 5 (М5). Разнообразие вторичных метаболитов

Тема 11. Растительные гликозиды.

Общая характеристика гликозидов. История изучения. Химические и физические свойства. Классификация гликозидов. Образование гликозидов в растениях и их роль. Выделение гликозидов из растений. Качественные реакции гликозидов. Методы количественного определения гликозидов. Примеры растений, используемых для получения и/или использования содержащихся в них гликозидов.

Тема 12. Вторичные метаболиты лишайников.

История изучения. Химические и физические свойства. Классификация. Образование в лишайниках и их роль. Выделение гликозидов из растений. Качественные реакции. Методы количественного определения. Основные вторичные метаболиты лишайников лесов Беларуси. Примеры лишайников, используемых для получения и/или использования содержащихся в них вторичных метаболитов.

Тема 13. Минорные группы вторичных метаболитов.

Основные минорные группы вторичных метаболитов: растительные амины, беталаины (бетацианины и бетаксантины), цианогенные гликозиды, небелковые аминокислоты, необычные липиды («необычные» жирные кислоты и цианолипиды), серосодержащие вторичные метаболиты (S-гликозиды и аллицины). Распространение и основные представители. Примеры растений, используемых для получения и/или использования содержащихся в них вторичных метаболитов минорных групп.

Модуль контроля 5 (МК₅). Контроль усвоения раздела «Разнообразие вторичных метаболитов»

Модуль обеспечивает контроль основных понятий, знаний и умений, освоенных магистрантами в результате изучения раздела «Разнообразие вторичных метаболитов». Контроль осуществляется в форме контрольной работы или тестирования с разноуровневыми заданиями (уровень узнавания; воспроизведение по памяти; воспроизведение на уровне понимания и применения знаний в знакомой ситуации; применение знаний в незнакомой ситуации; творческая деятельность).

РАЗДЕЛ 6 БИОХИМИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ РАСТЕНИЙ

Модуль 6 (М6). Биохимия и биотехнология вторичных метаболитов растений

Тема 14. Биохимия вторичного метаболизма.

Предшественники биосинтеза вторичных метаболитов. Точки «ответвления» вторичного метаболизма от первичного. Пути биосинтеза основных классов вторичных метаболитов – алкалоидов, изопреноидов, фенольных соединений, минорных классов вторичных метаболитов. Модификации вторичных метаболитов (аминирование, гликозилирование, гидроксилирование, метоксилирование, метилирование).

Тема 15. Физиология вторичного метаболизма.

Пространственная организация синтеза и накопления вторичных метаболитов в растении. Принцип разделения синтеза и накопления вторичных метаболитов. Локализация синтеза и накопления вторичных метаболитов на уровне клетки, ткани, органа, целого растения. Специализированные органы секреции. Выделение вторичных метаболитов при экстремальных воздействиях.

Тема 16. Методы выделения и определения вторичных метаболитов.

Общие представления о качественном и количественном анализе растительного материала. Характеристика избранных методов, используемых при изучении вторичных метаболитов растений. Тонкослойная хроматография (ТСХ). Газовая хроматография (ГХ). Жидкостная хроматография (ЖХ). ВЭЖХ. Масс-спектрометрия. Определение основных групп вторичных метаболитов. Выделение и определение монотерпенов, дитерпенов и сесквитерпенов. Определение каротиноидов, стероидов, простых фенолов, кумаринов, флавоноидов, дубильных веществ, алкалоидов.

Тема 17. Биотехнология вторичных метаболитов растений.

Производство вторичных метаболитов на основе культуры клеток и органов растений. Преимущества использования клеточных культур в качестве продуцентов БАВ по сравнению с интактными растениями. Тенденции развития биотехнологий лекарственных растений в производстве фармацевтически важных продуктов. Особенности вторичного метаболизма в культурах клеток и тканей растений. Способы повышения выхода целевых продуктов. Морфологические и биохимические особенности генетически трансформированных корней. Системы культивирования клеток для получения вторичных метаболитов. Этапы создания промышленных технологий для производства БАВ.

Модуль контроля 6 (МК₆). Контроль усвоения раздела «Биохимия и биотехнология вторичных метаболитов растений»

Модуль обеспечивает контроль основных понятий, знаний и умений, освоенных магистрантами в результате изучения раздела «Биохимия и биотехнология вторичных метаболитов растений». Контроль осуществляется в форме контрольной работы или тестирования с разноуровневыми заданиями (уровень узнавания; воспроизведение по памяти; воспроизведение на уровне понимания и применения знаний в знакомой ситуации; применение знаний в незнакомой ситуации; творческая деятельность). Также магистранты выполняют задание УСР № 4, № 5 и № 6 по темам «Биохимия вторичного метаболизма», «Физиология вторичного метаболизма» и «Внешняя секреция вторичных метаболитов».

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРНИЦЫ

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА ДЛЯ ОЧНОЙ ФОРМЫ ОБУЧЕНИЯ

Номер раздела, модуля, темы	Название раздела, модуля, темы; перечень изучаемых вопросов	Количество часов				Материальное обеспечение занятия (наглядные, методические пособия и др.)	Литература	Формы контроля знаний
		лекции	практические (семинарские) занятия	лабораторные занятия	управляемая самостоятельная работа			
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Раздел 1	Общая характеристика вторичных метаболитов	4						
М1	<i>Общая характеристика вторичных метаболитов</i>	4						
Тема 1	Первичный и вторичный метаболизм и их продукты 1 Обмен веществ и энергии в растительной клетке. 2 Дыхание и обмен веществ в растительной клетке. 3 Шикиматный и ацетатно-малонатный пути биосинтеза.	2				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Тема 2	Общая характеристика вторичных метаболитов 1 Характерные особенности вторичных метаболитов. 2 Функции вторичных метаболитов. 3 Принципы классификации вторичных метаболитов. 4 Основные группы вторичных метаболитов, закономерности их строения.	2				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Раздел 2	Терпеноиды	2	2		2			
М2	<i>Терпеноиды</i>	2	2		2			
Тема 3	Общая характеристика терпеноидов 1 Общая характеристика терпеноидов 2 Биосинтез терпеноидов и их функции. 3 Гемитерпены и монотерпены. 4 Сексвитерпены и дитерпены.	2	2			Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	Текст УСР и презентация
Тема 4	Основные группы терпеноидов (три, тетра и политерпеноиды) 1 Три-, тетра- и политерпеноиды. 2 Ациклические и моно-, би-, трициклические группы терпеноидов. 3 Растительные смолы, гутта и каучук.				2	Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	Творческие задания для малых групп

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Раздел 3	Алкалоиды	4	2		4			
М3	<i>Алкалоиды</i>	4	2		4			
Тема 5	Общая характеристика алкалоидов 1 Общая характеристика алкалоидов, их распространенность в растительном царстве 2 Функции алкалоидов в растениях, факторы, влияющие на их накопление. 3 Свойства алкалоидов и их применение.	2				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]]	Текст УСР и презентация
Тема 6	Протоалкалоиды 1 Общая характеристика и классификация протоалкалоидов. 2 Свойства протоалкалоидов.		2		2	Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	Творческие задания для малых групп
Тема 7	Истинные алкалоиды 1 Биосинтез алкалоидов. 2. Классификация алкалоидов, характерные представители, свойства.	2				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Тема 8	Псевдоалкалоиды 1 Общая характеристика псевдоалкалоидов. 2 Соланидин и соланин в картофеле 3 Полиаминные и циклопептидные алкалоиды				2	Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	Текст УСР и презентация
Раздел 4	Растительные фенолы	4	2					
М4	<i>Растительные фенолы</i>	4	2					
Тема 9	Растительные фенолы. Часть 1 1 Классификация и функции растительных фенолов. 2 Фенольные соединения с одним ароматическим кольцом.	2				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Тема 10	Растительные фенолы. Часть 2 1 Ксантоны, бензофеноны, стильбены и антрахиноны. 2 Флавоноиды, изофлавоноиды и неофлавоноиды. 3 Катехины и антоцианы. 4 Полимерные фенольные соединения.	2	2			Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	Творческие задания для малых групп
Раздел 5	Разнообразие вторичных метаболитов	6	2					
М5	<i>Разнообразие вторичных метаболитов</i>	6	2					
Тема 11	Растительные гликозиды 1 Общая характеристика гликозидов 2 Классификация гликозидов. 3 Образование гликозидов в растениях и их роль. 4 Характерные представители гликозидов.	2	2			Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	Творческие задания для малых групп

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Тема 12	Вторичные метаболиты лишайников 1 Физиология лишайников, образование вторичных метаболитов. 2 Роль вторичных метаболитов в жизни лишайников. 3 Биологическая активность и хозяйственное использование вторичных метаболитов лишайников.	2				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Тема 13	Минорные группы вторичных метаболитов 1 Непротеиногенные аминокислоты. 2 Необычные липиды, серосодержащие, ацетиленовые и другие вторичные метаболиты.	2				Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	
Раздел 6	Биохимия и биотехнология вторичных метаболитов растений	2			6			
М6	Биохимия и биотехнология вторичных метаболитов растений	2			6			
Тема 14	Биохимия вторичного метаболизма 1 Предшественники биосинтеза вторичных метаболитов. 2 Пути биосинтеза основных классов вторичных метаболитов. 3 Модификации вторичных метаболитов (гликозилирование, гидроксилирование, метоксилирование, метилирование). 4 Энзимология вторичного метаболизма.				2	Курс лекций, презентация	[2-5, 8-10, 12-14]	Текст УСР и презентация
Тема 15	Физиология вторичного метаболизма 1 Клеточные аспекты выделительной деятельности растений. 2 Внутритканевая секреция. 3 Внешняя секреция. 4 Выделение вторичных метаболитов при экстремальных воздействиях.				2	Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	Текст УСР и презентация
Тема 16	Методы выделения и определения вторичных метаболитов 1 Общие представления о качественном и количественном анализе растительного материала. 2 Характеристика избранных методов, используемых при изучении вторичных метаболитов растений. 3 Определение основных групп вторичных метаболитов.				2	Курс лекций, презентация	[2-5, 8-10, 12-14]	Текст УСР и презентация
Тема 17	Биотехнология вторичных метаболитов растений 1 Типы культур клеток и тканей растений. 2 Использование культуры клеток и тканей для получения вторичных метаболитов. 3 Биотехнологии вторичных метаболитов на основе культур клеток и тканей растений.	2				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
	Всего часов	22	8		12			Экзамен в 1 семестре

Доцент кафедры ботаники и физиологии растений, к.б.н.

О. М. Храмченкова

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА ДЛЯ ЗАОЧНОЙ ФОРМЫ ОБУЧЕНИЯ

Номер раздела, модуля, темы	Название раздела, модуля, темы; перечень изучаемых вопросов	Количество часов				Материальное обеспечение занятия (наглядные, методические пособия и др.)	Литература	Формы контроля знаний
		лекции	практические (семинарские) занятия	лабораторные занятия	управляемая самостоятельная работа			
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Раздел 1	Общая характеристика вторичных метаболитов	2						
М1	<i>Общая характеристика вторичных метаболитов</i>	2						
Тема 1	Первичный и вторичный метаболизм и их продукты 1 Обмен веществ и энергии в растительной клетке. 2 Дыхание и обмен веществ в растительной клетке. 3 Шикиматный и ацетатно-малонатный пути биосинтеза.	Самостоятельное изучение				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Тема 2	Общая характеристика вторичных метаболитов 1 Характерные особенности вторичных метаболитов. 2 Функции вторичных метаболитов. 3 Принципы классификации вторичных метаболитов. 4 Основные группы вторичных метаболитов, закономерности их строения.	2				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Раздел 2	Терпеноиды	2	2					
М2	<i>Терпеноиды</i>	2	2					
Тема 3	Общая характеристика терпеноидов 1 Общая характеристика терпеноидов 2 Биосинтез терпеноидов и их функции. 3 Гемитерпены и монотерпены. 4 Сексвитерпены и дитерпены.	2	2			Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	
Тема 4	Основные группы терпеноидов (три, тетра и политерпеноиды) 1 Три-, тетра- и политерпеноиды. 2 Ациклические и моно-, би-, трициклические группы терпеноидов. 3 Растительные смолы, гутта и каучук.					Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	Творческие задания для малых групп

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Раздел 3	Алкалоиды	2	2					
М3	<i>Алкалоиды</i>	2	2					
Тема 5	Общая характеристика алкалоидов 1 Общая характеристика алкалоидов, их распространенность в растительном царстве 2 Функции алкалоидов в растениях, факторы, влияющие на их накопление. 3 Свойства алкалоидов и их применение.	2				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]]	
Тема 6	Протоалкалоиды 1 Общая характеристика и классификация протоалкалоидов. 2 Свойства протоалкалоидов.	Самостоятельное изучение				Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	
Тема 7	Истинные алкалоиды 1 Биосинтез алкалоидов. 2. Классификация алкалоидов, характерные представители, свойства.	2	2			Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Тема 8	Псевдоалкалоиды 1 Общая характеристика псевдоалкалоидов. 2 Соланидин и соланин в картофеле 3 Полиаминные и циклопептидные алкалоиды	Самостоятельное изучение				Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	
Раздел 4	Растительные фенолы							
М4	<i>Растительные фенолы</i>							
Тема 9	Растительные фенолы. Часть 1 1 Классификация и функции растительных фенолов. 2 Фенольные соединения с одним ароматическим кольцом.	Самостоятельное изучение				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Тема 10	Растительные фенолы. Часть 2 1 Ксантоны, бензофеноны, стильбены и антрахиноны. 2 Флавоноиды, изофлавоноиды и неофлавоноиды. 3 Катехины и антоцианы. 4 Полимерные фенольные соединения.	Самостоятельное изучение				Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	
Раздел 5	Разнообразие вторичных метаболитов	2						
М5	<i>Разнообразие вторичных метаболитов</i>	2						
Тема 11	Растительные гликозиды 1 Общая характеристика гликозидов 2 Классификация гликозидов. 3 Образование гликозидов в растениях и их роль. 4 Характерные представители гликозидов.	Самостоятельное изучение				Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Тема 12	Вторичные метаболиты лишайников 1 Физиология лишайников, образование вторичных метаболитов. 2 Роль вторичных метаболитов в жизни лишайников. 3 Биологическая активность и хозяйственное использование вторичных метаболитов лишайников.	Самостоятельное изучение				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Тема 13	Минорные группы вторичных метаболитов 1 Непротеиногенные аминокислоты. 2 Необычные липиды, серосодержащие, ацетиленовые и другие вторичные метаболиты.	2				Курс лекций, презентация	[2-5, 8-11, 13-15]	
Раздел 6	Биохимия и биотехнология вторичных метаболитов растений	2						
М6	Биохимия и биотехнология вторичных метаболитов растений	2						
Тема 14	Биохимия вторичного метаболизма 1 Предшественники биосинтеза вторичных метаболитов. 2 Пути биосинтеза основных классов вторичных метаболитов. 3 Модификации вторичных метаболитов (гликозилирование, гидроксилирование, метоксилирование, метилирование). 4 Энзимология вторичного метаболизма.	Самостоятельное изучение				Курс лекций, презентация	[2-5, 8-10, 12-14]	
Тема 15	Физиология вторичного метаболизма 1 Клеточные аспекты выделительной деятельности растений. 2 Внутритканевая секреция. 3 Внешняя секреция. 4 Выделение вторичных метаболитов при экстремальных воздействиях.	Самостоятельное изучение				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
Тема 16	Методы выделения и определения вторичных метаболитов 1 Общие представления о качественном и количественном анализе растительного материала. 2 Характеристика избранных методов, используемых при изучении вторичных метаболитов растений. 3 Определение основных групп вторичных метаболитов.	Самостоятельное изучение				Курс лекций, презентация	[2-5, 8-10, 12-14]	
Тема 17	Биотехнология вторичных метаболитов растений 1 Типы культур клеток и тканей растений. 2 Использование культуры клеток и тканей для получения вторичных метаболитов. 3 Биотехнологии вторичных метаболитов на основе культур клеток и тканей растений.	2				Курс лекций, презентация	[1-3, 6-10, 13-15]	
	Всего часов	10	4					Экзамен в 1 семестре

Доцент кафедры ботаники и физиологии растений, к.б.н.

О. М. Храменкова

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

I ЛИТЕРАТУРА

Основная

1 Кузнецов, Вл.В. Физиология растений. В 2 т. Т. 2: учебник для академического бакалавриата / Вл.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М.: Издательство Юрайт, 2019. – 459 с.

2 Медведев, С.С. Физиология растений: учебник для вузов / С.С. Медведев. – СПб: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. – 336 с.

3 Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты: учебно-методическое пособие к спецкурсу «Вторичный метаболизм растений» / [сост. к.б.н. Й.Р. Абдрахимова]. – Казань: КазГУ, 2009. – 21 с.

4 Физиология растений: учебник для вузов/ Н.Д. Алехина [и др.]; под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

5 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.

6 Биохимия сельскохозяйственных растений / Б.П. Плешков. – М.: Агропромиздат, 2007. - 494 с.

Дополнительная

7 Биохимия растений / [Л.А. Красильникова, О.А. Авксентьева, Ю.А. Жмурко и др.]; под ред. к.б.н. Л.А. Красильниковой. – Харьков: Феникс, 2004. – 224 с.

8 Козюкина, Ж.Т. Биохимия вторичных продуктов обмена веществ растительного организма: учебное пособие / Ж.Т. Козюкина. – Днепропетровск: ДГУ, 1987. – 44 с.

9 Кретович, В.Л. Биохимия растений: учеб. для студ. биол. спец. ун-тов / В.Л. Кретович. – М.: Высш. шк., 1986. – 503с.

10 Муравьева Д.А. Фармакогнозия / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. – М.: Медицина, 2002. – 656 с.

Интернет-ресурсы

11 База научных данных в области биомедицинских наук – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed>.

12 Журнал – Физиология растений – <http://www.rusplant.ru>.

13 Физиология растений – <http://www.maik.ru>.

14 Физиология растений – Онлайн-энциклопедия – <http://www.fizrast.ru>.

15 Энциклопедия: Фонд знаний – Ломоносов – lomonosov-fund.ru?enc/ru/encyclopedia:0132746.

II ПЕРЕЧЕНЬ КОНТРОЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ И МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ МАГИСТРАНТОВ

Для организации самостоятельной работы магистрантов по учебной дисциплине рекомендуется использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа учебной дисциплины, учебно-методический комплекс, методические указания к лабораторным занятиям, задания в тестовой форме, темы рефератов, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов и др.). Для общей оценки качества усвоения магистрантами учебного материала предлагается использование рейтинговой системы.

УСР № 1. Основные группы терпеноидов (три, тетра и политерпеноиды)

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Три-, тетра- и политерпеноиды: структура, свойства и распространение.

2 Ациклические и моно-, би-, трициклические группы терпеноидов: структура, свойства и распространение.

3 Растительные смолы, гутта и каучук.

Форма работы – индивидуальная.

Форма контроля выполнения заданий: проверка конспектов.

Учебно-методическое обеспечение:

1 Кузнецов, Вл.В. Физиология растений. В 2 т. Т. 2: учебник для академического бакалавриата / Вл.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М.: Издательство Юрайт, 2019. – 459 с.

2 Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты: учебно-методическое пособие к спецкурсу «Вторичный метаболизм растений» / [сост. к.б.н. Й.Р. Абдрахимова]. – Казань: КазГУ, 2009. – 21 с.

3 Физиология растений: учебник для вузов/ Н.Д. Алехина [и др.]; под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

4 Козюкина, Ж.Т. Биохимия вторичных продуктов обмена веществ растительного организма: учебное пособие / Ж.Т. Козюкина. – Днепропетровск: ДГУ, 1987. – 44 с.

5 База научных данных в области биомедицинских наук – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed>.

УСР № 2. Протоалкалоиды

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Общая характеристика и классификация протоалкалоидов. Характерные представители.

2 Колхициновые протоалкалоиды. Применение колхицина для получения полиплоидных форм растений.

3 Мескалин: психотропные эффекты; эфедрин: стимулирующие свойства.

Учебно-методическое обеспечение:

1 Медведев, С.С. Физиология растений: учебник для вузов / С.С. Медведев. – СПб: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. – 336 с.

2 Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты: учебно-методическое пособие к спецкурсу «Вторичный метаболизм растений» / [сост. к.б.н. И.Р. Абдрахимова]. – Казань: КазГУ, 2009. – 21 с.

3 Физиология растений: учебник для вузов/ Н.Д. Алехина [и др.]; под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

4 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.

5 Козюкина, Ж.Т. Биохимия вторичных продуктов обмена веществ растительного организма: учебное пособие / Ж.Т. Козюкина. – Днепропетровск: ДГУ, 1987. – 44 с.

6 Энциклопедия: Фонд знаний – Ломоносов – lomonosov-fund.ru?enc/ru/encyclopedia:0132746.

УСР № 3. Псевдоалкалоиды

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Общая характеристика псевдоалкалоидов. Характерные представители.

2 Соланидин и соланин в картофеле. «Картофельные бунты».

3 Полиаминные и циклопептидные алкалоиды

Учебно-методическое обеспечение:

1 Медведев, С.С. Физиология растений: учебник для вузов / С.С. Медведев. – СПб: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. – 336 с.

2 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.

3 Биохимия растений / [Л.А. Красильникова, О.А. Авксентьева, Ю.А. Жмурко и др.]; под ред. к.б.н. Л.А. Красильниковой. – Харьков: Феникс, 2004. – 224 с.

4 Муравьева Д.А. Фармакогнозия / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. – М.: Медицина, 2002. – 656 с.

5 База научных данных в области биомедицинских наук – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed>.

6 Энциклопедия: Фонд знаний – Ломоносов – lomonosov-fund.ru?enc/ru/encyclopedia:0132746.

УСР № 4. Биохимия вторичного метаболизма

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

- 1 Предшественники биосинтеза вторичных метаболитов.
- 2 Пути биосинтеза основных классов вторичных метаболитов.
- 3 Модификации вторичных метаболитов (гликозилирование, гидроксилирование, метоксилирование, метилирование) - примеры.

Учебно-методическое обеспечение:

- 1 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.
- 2 Биохимия сельскохозяйственных растений / Б.П. Плешков. – М.: Агропромиздат, 2007. - 494 с.
- 3 Биохимия растений / [Л.А. Красильникова, О.А. Авксентьева, Ю.А. Жмурко и др.]; под ред. к.б.н. Л.А. Красильниковой. – Харьков: Феникс, 2004. – 224 с.
- 4 Кретович, В.Л. Биохимия растений: учеб. для студ. биол. спец. ун-тов / В.Л. Кретович. – М.: Высш. шк., 1986. – 503с.
- 5 Журнал – Физиология растений – <http://www.rusplant.ru>.
- 6 Физиология растений – Онлайн-энциклопедия – <http://www.fizrast.ru>.

УСР № 5. Физиология вторичного метаболизма

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

- 1 Клеточные аспекты выделительной деятельности растений.
 - 2 Внутритканевая и внешняя секреция вторичных метаболитов.
 - 3 Выделение вторичных метаболитов при экстремальных воздействиях.
- Учебно-методическое обеспечение:*
- 1 Кузнецов, Вл.В. Физиология растений. В 2 т. Т. 2: учебник для академического бакалавриата / Вл.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М.: Издательство Юрайт, 2019. – 459 с.
 - 2 Медведев, С.С. Физиология растений: учебник для вузов / С.С. Медведев. – СПб: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. – 336 с.
 - 3 Физиология растений: учебник для вузов/ Н.Д. Алехина [и др.]; под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.
 - 4 Журнал – Физиология растений – <http://www.rusplant.ru>.
 - 5 Физиология растений – <http://www.maik.ru>.

УСР № 6. Методы выделения и определения вторичных метаболитов

Форма выполнения заданий: конспектирование темы по вопросам, составление презентации.

Перечень изучаемых вопросов:

1 Общие представления о качественном и количественном анализе растительного материала.

2 Характеристика избранных методов, используемых при изучении вторичных метаболитов растений.

3 Определение основных групп вторичных метаболитов.

Учебно-методическое обеспечение:

1 Кузнецов, Вл.В. Физиология растений. В 2 т. Т. 2: учебник для академического бакалавриата / Вл.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М.: Издательство Юрайт, 2019. – 459 с.

2 Медведев, С.С. Физиология растений: учебник для вузов / С.С. Медведев. – СПб: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. – 336 с.

3 Физиология растений: учебник для вузов/ Н.Д. Алехина [и др.]; под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.

4 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.

5 База научных данных в области биомедицинских наук – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed>.

III ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ РЕЗУЛЬТАТОВ УЧЕБНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МАГИСТРАНТОВ

В качестве формы итогового контроля по дисциплине рекомендован экзамен. Оценка учебных достижений магистранта осуществляется на экзамене и производится по десятибалльной шкале. Для текущего контроля и самоконтроля знаний и умений магистрантов по данной дисциплине можно использовать следующий диагностический инструментарий:

- оценка участие в интерактивных лекциях;
- подготовка презентаций на заданную тему;
- устные опросы;
- письменные контрольные работы по отдельным темам курса.

IV ПЕРЕЧЕНЬ ПРАКТИЧЕСКИХ (СЕМИНАРСКИХ) ЗАНЯТИЙ

Очная форма получения образования, 2 часа каждое

Занятие 1. Эфирные масла – смеси летучих терпеноидов.

Творческие задания для малых групп. Коучинг.

Рассматриваемые вопросы. Основные компоненты эфирных масел (терпены, терпеноиды, ароматические соединения, предельные и непредельные углеводороды, альдегиды, органические кислоты и спирты, их сложные эфиры, а также гетероциклические соединения, амины, фенолы, органические сульфиды, оксиды и др.). Растения-сырьё для производства эфирных масел. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырьё, содержащие: ациклические и алифатические монотерпеноиды; моноциклические монотерпеноиды; бициклические монотерпеноиды; сесквитерпеноиды; ароматические соединения. Биосинтез эфирных масел. Локализация эфирных масел в растениях и растительном сырье. Физиологическое значение эфирных масел для растений. Производство эфирных масел: перегонка с водой; перегонка с водяным паром; холодное прессование; мацерация или анфлераж; экстракция селективными растворителями. Стандартизация эфирных масел. Применение эфирных масел: в качестве пищевых ароматизаторов (пищевые, вкусовые добавки); как медицинские препараты и лекарственные средства; как компоненты парфюмерных и косметических средств (косметология); в ароматерапии; в качестве растворителей и др. Меры безопасности при использовании эфирных масел и работе с ними. Сведения о токсичности эфирных масел меры безопасности: в промышленности; в продуктах питания и лекарственных средствах; в быту.

Занятие 2. Наркотики и психоделики растительного происхождения.

Интерактивная лекция.

Рассматриваемые вопросы. Растительные наркотики: опиоиды (морфин, кодеин, героин); канабиноиды (марижуана, гашиш); кокаин (крэк); псилобицин и др. Химическая природа, пути биосинтеза, растения – источники наркотических веществ. Формы употребления растительных наркотиков. Основные эффекты растительных наркотиков. Симптомы наркотической зависимости. Механизмы биохимических и тканевых изменений в организме человека под действием растительных наркотиков. Отдаленные последствия употребления растительных наркотиков. Понятие психоделических веществ, их отличие от других психоактивных веществ и наркотиков. Классификация психоделиков по химическому составу Воздействие психоделиков на человека. Основные эффекты психоделических веществ. Психоделические грибы: содержащие псилоцибин и псилоцин; содержащие иботеновую кислоту (мускимол и мусказон) и мускарин.

Химическая природа наркотических веществ, механизмы клеточных и тканевых эффектов в организме человека. Использование психоделических грибов в различных культах и народной медицине. Растения-психоделики. Галлюциногенные растения. Психоактивные лишайники. Химическая природа наркотических веществ, механизмы клеточных и тканевых эффектов в организме человека. Использование в различных культах и народной медицине. Значение психоделических веществ в общественной жизни стран Западной Европы и США в 50 – 70-е годы XX столетия. Молодежные субкультуры, движение хиппи. Психоделическая музыка и живопись. Психоделический дизайн одежды и интерьеров.

Занятие 3. Флавоноиды – крупнейший класс растительных полифенолов.

Построение карты метаболизма. Коучинг.

Рассматриваемые вопросы. Соединения $C_6-C_3-C_6$ -ряда. Флавоноиды, изофлавоноиды и неофлавоноиды. Растительные флавоноиды: история изучения, строение молекулы, современная классификация. Физиологические функции флавоноидов в растениях. Флавонолы и флавоны. Фотопротекторные свойства. Окраска лепестков. Роль в прорастании пыльцы. Кверцетин: применение в медицине и ветеринарии. Флаваноны. Гесперидин и нарингин. Применение в медицине. Антоцианы и антоцианидины: соотношение понятий. «Растительные хамелеоны». Зависимость окраски от структуры молекулы, концентрации и pH. Копигментация. Хелатирование металлов. Катехины – производные флавана. Распространение в растениях. Р-витаминная активность, радиопротекторные свойства. Лейкоантоцианины и лейкоцианидины. Распространение в растениях. Противоопухолевая и радиозащитная активность, антиоксидантные свойства. Пищевые источники растительных флавоноидов. Антиоксидантная и противовоспалительная активность флавоноидов в составе продуктов питания и напитков. Флавоноиды как биологически активные добавки. Биофлавоноиды в косметике и косметологии. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие флавоноиды.

Занятие 4. Растительные гликозиды – основа фармакогнозии.

Интерактивная лекция.

Рассматриваемые вопросы. Гликозиды, содержащие серу, растительные горечи. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие тиогликозиды, ароматические горечи, чистые горечи и слизесодержащие горечи. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие тиогликозиды и различные горечи. Фенольные гликозиды: классификация, основные представители. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие фенольные гликозиды. Сердечные гликозиды, образование в растениях.

Зависимость функциональной активности кардиогликозидов от особенностей структуры их молекул. Классификация, физико-химические свойства кардиогликозидов. Биофармакологические принципы использования сердечных гликозидов. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие кардиогликозиды. Сапонины: химическая структура и классификация. Стероидные сапонины, фитоэкдизоны, тритерпеновые сапонины. Биологические свойства и фармакологическое действие. Основные лекарственные растения, содержащие сапонины. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие: стероидные сапонины, фитоэкдизоны, тритерпеноидные пентациклические и тритерпеноидные тетрациклические сапонины. Кумарины, хромоны и кантоны. Строение молекул и классификация. Связь строения молекул с биологической активностью веществ. Физико-химические свойства, распространение в растениях. Биологическая и фармакологическая активность. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие кумарины, хромоны и кантоны.

Заочная форма получения образования, 2 часа каждое

Занятие 1. Эфирные масла – смеси летучих терпеноидов.

Творческие задания для малых групп. Коучинг.

Рассматриваемые вопросы. Основные компоненты эфирных масел (терпены, терпеноиды, ароматические соединения, предельные и непредельные углеводороды, альдегиды, органические кислоты и спирты, их сложные эфиры, а также гетероциклические соединения, амины, фенолы, органические сульфиды, оксиды и др.). Растения-сырьё для производства эфирных масел. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие: ациклические и алифатические монотерпеноиды; моноциклические монотерпеноиды; бициклические монотерпеноиды; сесквитерпеноиды; ароматические соединения. Биосинтез эфирных масел. Локализация эфирных масел в растениях и растительном сырье. Физиологическое значение эфирных масел для растений. Производство эфирных масел: перегонка с водой; перегонка с водяным паром; холодное прессование; мацерация или анфлераж; экстракция селективными растворителями. Стандартизация эфирных масел. Применение эфирных масел: в качестве пищевых ароматизаторов (пищевые, вкусовые добавки); как медицинские препараты и лекарственные средства; как компоненты парфюмерных и косметических средств (косметология); в ароматерапии; в качестве растворителей и др. Меры безопасности при использовании эфирных масел и работе с ними. Сведения о токсичности эфирных масел меры безопасности: в промышленности; в продуктах питания и лекарственных средствах; в быту.

Занятие 2. Наркотики и психоделики растительного происхождения.

Интерактивная лекция.

Рассматриваемые вопросы. Растительные наркотики: опиоиды (морфин, кодеин, героин); канабиноиды (марижуана, гашиш); кокаин (крэк); псилобицин и др. Химическая природа, пути биосинтеза, растения – источники наркотических веществ. Формы употребления растительных наркотиков. Основные эффекты растительных наркотиков. Симптомы наркотической зависимости. Механизмы биохимических и тканевых изменений в организме человека под действием растительных наркотиков. Отдаленные последствия употребления растительных наркотиков. Понятие психоделических веществ, их отличие от других психоактивных веществ и наркотиков. Классификация психоделиков по химическому составу. Воздействие психоделиков на человека. Основные эффекты психоделических веществ. Психоделические грибы: содержащие псилоцибин и псилоцин; содержащие иботеновую кислоту (мускимол и мусказон) и мускарин. Химическая природа наркотических веществ, механизмы клеточных и тканевых эффектов в организме человека. Использование психоделических грибов в различных культах и народной медицине. Растения-психоделики. Галлюциногенные растения. Психоактивные лишайники. Химическая природа наркотических веществ, механизмы клеточных и тканевых эффектов в организме человека. Использование в различных культах и народной медицине. Значение психоделических веществ в общественной жизни стран Западной Европы и США в 50 – 70-е годы XX столетия. Молодежные субкультуры, движение хиппи. Психоделическая музыка и живопись. Психоделический дизайн одежды и интерьеров.

V ИТОГОВАЯ АТТЕСТАЦИЯ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

По дисциплине «Вторичные метаболиты растений» предусмотрено написание экзаменационной работы. Экзаменационная работа выполняется в электронном виде, включает титульный лист, основное содержание и список использованных источников информации (книги, статьи, интернет-источники). Объем экзаменационной работы – не менее 20 страниц основного текста. Источников информации – не менее 15.

Оформление страницы: поля: верхнее и нижнее – 2 см; левое – 3 см; правое – 1 см. Шрифт Times New Roman, 14 pt. Абзацный отступ – 1,25 см; выравнивание по ширине, междустрочный интервал – одинарный.

Отдельные страницы: титульный лист и список использованных источников.

Текст освещается по плану, снабжается цветными иллюстрациями с подписями.

Титульный лист и список использованных источников оформляется по СТП.

Примерная тематика экзаменационных работ:

- 1 Алкалоиды, синтезирующиеся из L-орнитина и L-лизина.
- 2 Алкалоиды, синтезирующиеся из L-триптофана и L-фенилаланина.
- 3 Алкалоиды, синтезирующиеся из L-тирозина и L-гистидина.
- 4 Бензохиноны, фенолокислоты, фенолоспирты и фенилуксусные кислоты.
- 5 Фенилпропаноиды: оксикоричные кислоты, оксикоричные спирты, фенилпропены, кумарины, изокумарины, хромоны, лигнаны.
- 6 Гидролизуемые и конденсированные дубильные вещества.
- 7 Основные ферменты биосинтеза алкалоидов, изопреноидов и фенольных соединений, их характеристика.
- 8 Изопреноиды (терпеноиды). Основные группы изопреноидов (моно-, сескви-, ди-, три-, тетра- и политерпеноиды). Распространение и основные представители.
- 9 Пространственная организация синтеза и накопления вторичных метаболитов в растении. Принцип разделения синтеза и накопления вторичных метаболитов.
- 10 Состав и характеристика смол, слизей, камеди, латекса.

VI СТРУКТУРА РЕЙТИНГОВОЙ ОЦЕНКИ ЗНАНИЙ

Итоговая оценка по дисциплине (минимум 4, максимум 10 баллов) на основании данных ведомостей модульно-рейтинговой системы оценки знаний определяется по формуле:

$$\text{Итоговая оценка} = A \times 0,4 + B \times 0,6$$

где A – средний балл текущей успеваемости, B – экзаменационный балл.

Итоговая оценка выставляется только в случае успешной сдачи экзамена (4 балла и выше).

Балл текущей успеваемости определяется по формуле:

$$A = (C + D) / 2$$

где C – средний балл за 4 интерактивных практических (семинарских) занятия;

D – среднее арифметическое оценок по 6 контрольным работам УСР.

**ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ
ДИСЦИПЛИНЫ «ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ РАСТЕНИЙ С
ДРУГИМИ ДИСЦИПЛИНАМИ СПЕЦИАЛЬНОСТИ**

1 31 80 01 Биология (профилизация Функциональная биология)

Название дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы по изучаемой учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)
Методы клеточной биологии	Химии	Содержание учебной программы одобрить	Рекомендовать к утверждению учебную программу в представленном варианте протокол № 10 от <u>18.04.</u> 2019 г.
Геномика и эпигенетика	Зоологии, физиологии и генетики	Содержание учебной программы одобрить	Рекомендовать к утверждению учебную программу в представленном варианте протокол № 10 от <u>18.04.</u> 2019 г.

**ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ
ПО ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ**

на ____/____ учебный год

№ п/п	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры ботаники и физиологии растений
(протокол № ____ от _____ 20__ г.)

Заведующий кафедрой химии _____ Н.М. Дайнеко

УТВЕРЖДАЮ

Декан биологического факультета

УО «ГГУ им. Ф. Скорины», д.б.н. _____ В.С. Аверин

4 ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

4.1 Учебная программа дисциплины

Файл прилагается.

4.2 Перечень рекомендуемой литературы

Основная

- 1 Кузнецов, Вл.В. Физиология растений. В 2 т. Т. 2: учебник для академического бакалавриата / Вл.В. Кузнецов, Г.А. Дмитриева. – М.: Издательство Юрайт, 2019. – 459 с.
- 2 Медведев, С.С. Физиология растений: учебник для вузов / С.С. Медведев. – СПб: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. – 336 с.
- 3 Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты: учебно-методическое пособие к спецкурсу «Вторичный метаболизм растений» / [сост. к.б.н. И.Р. Абдрахимова]. – Казань: КазГУ, 2009. – 21 с.
- 4 Физиология растений: учебник для вузов/ Н.Д. Алехина [и др.]; под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2005. – 640 с.
- 5 Биохимия растений / Б. Хельд. - М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. - 471 с.
- 6 Биохимия сельскохозяйственных растений / Б.П. Плешков. – М.: Агропромиздат, 2007. - 494 с.

Дополнительная

- 7 Биохимия растений / [Л.А. Красильникова, О.А. Авксентьева, Ю.А. Жмурко и др.]; под ред. к.б.н. Л.А. Красильниковой. – Харьков: Феникс, 2004. – 224 с.
- 8 Козюкина, Ж.Т. Биохимия вторичных продуктов обмена веществ растительного организма: учебное пособие / Ж.Т. Козюкина. – Днепрпетровск: ДГУ, 1987. – 44 с.
- 9 Кретович, В.Л. Биохимия растений: учеб. для студ. биол. спец. ун-тов / В.Л. Кретович. – М.: Высш. шк., 1986. – 503с.
- 10 Муравьева Д.А. Фармакогнозия / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. – М.: Медицина, 2002. – 656 с.

Интернет-ресурсы

- 11 База научных данных в области биомедицинских наук – <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed>.
- 12 Журнал – Физиология растений – <http://www.rusplant.ru>.
- 13 Физиология растений – <http://www.maik.ru>.
- 14 Физиология растений – Онлайн-энциклопедия – <http://www.fizrast.ru>.
- 15 Энциклопедия: Фонд знаний – Ломоносов – lomonosov-fund.ru?enc/ru/encyclopedia:0132746.