

КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

*Биолого-почвенный факультет
Кафедра физиологии и биотехнологии растений*

**ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ РАСТЕНИЙ:
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ
Часть 2. Алкалоиды**

*Учебно-методическое пособие
к спецкурсу
“Вторичный метаболизм растений”*

КАЗАНЬ

2009

УДК 58

*Печатается по решению Редакционно-издательского совета ГОУ ВПО
«Казанский государственный университет им. В.И.Ульянова-Ленина»*

*учебно-методической комиссии биолого-почвенного факультета КГУ
Протокол № 3 от 14 мая 2009 г.*

Составитель

доцент кафедры физиологии и биотехнологии растений КГУ,
к.б.н. Абдрахимова Й.Р.

Научный редактор

заведующая кафедрой физиологии и биотехнологии растений КГУ,
профессор, д.б.н. Багаева Т.В.

Рецензент

доцент кафедры ботаники КГУ, к.б.н. Идрисова Г.И.

Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты. Часть 2. Алкалоиды: Учебно-методическое пособие / Й.Р.Абдрахимова. – Казань: Каз. гос. ун-т, 2009. - 40 с.

Пособие является продолжением цикла изданий КГУ (2001,2002), посвященных изучению вопросов вторичного метаболизма растений, которые представляют определенную сложность для усвоения студентами даже старших курсов. В нем даны основные современные представления о принципах классификации, особенностях строения и биосинтеза, разнообразии, физиологическом значении и применении важнейшего класса вторичных веществ - алкалоидов. Программа спецкурса «Вторичный метаболизм растений» и контрольные вопросы приведены для повышения эффективности самостоятельной работы студентов.

Пособие предназначено для студентов, аспирантов и преподавателей биологических факультетов университетов, медицинских, педагогических, сельскохозяйственных и ветеринарных вузов, а также преподавателей медицинских колледжей.

© Казанский государственный университет, 2009

© Абдрахимова Й.Р., 2009

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что растения синтезируют и накапливают огромное количество специфических соединений, которые, как принято считать, *прямо* не участвуют в основном (первичном) обмене веществ. Эти соединения были названы вторичными в противоположность первичным (нуклеиновые кислоты, белки, витамины, гормоны, большая часть углеводов, жиров и др.)(Kossel,1891, цит.по Bourgaud et al., 2001). На данный момент не существует строгих определений терминов «вторичный обмен» и «вторичные метаболиты», хотя совокупность характерных признаков в целом сформулирована (Таблица 1).

Таблица 1

Характерные признаки первичных и вторичных метаболитов

(Лукнер, 1979; Носов, 2005)

Первичные метаболиты	Вторичные метаболиты
1) непосредственно участвуют в процессах питания, деления, роста клеток; 2) в целом универсальны для живых организмов; 3) обязательные компоненты любой живой клетки; 4) имеют значение на уровне клетки.	1) прямо не участвуют в основном обмене веществ; 2) свойственны таксономически близким родам, видам или даже одному виду (хемоспецифичность); 3) в большей степени характерны дифференцированным или специализированным клеткам и тканям; 4) низкомолекулярные соединения (2-3 кДа), имеющие ограниченное число биосинтетических предшественников – первичных метаболитов; 5) обладают высокой биологической активностью; 6) образуются преимущественно у неподвижных организмов (растений, грибов, прокариот, губок и др.); 7) основное функциональное значение имеют на организменном и популяционном уровнях.

Многие соединения, несмотря на типичность структуры и путей биосинтеза, свойственные классам вторичных метаболитов, отнесены к первичным, например, фитогормоны (АБК, гиббереллины, брассиностероиды), фитостерины, каротиноиды, пласто- и убихиноны и др. Это свидетельствует об условности разделения веществ первичного и вторичного происхождения, с одной стороны, и о первостепенном значении функциональной роли данных соединений, с другой.

Вторичный метаболизм часто рассматривают как характерную особенность общего обмена со своим генетическим материалом и ферментами, присущую определенным органам растения и фазам его развития. В связи с

этим термины «специализированный обмен» и «специализированные соединения» лучше отражают классическое положение о том, что вторичный метаболизм свойствен в большей степени дифференцированным клеткам и тканям (Бутенко, 1986, 1999; Баширова и др., 1998; Пасешниченко, 2001).

Вплоть до середины XX в. вторичные вещества изучали преимущественно в прикладном аспекте как потенциальные лекарства, яды, полимеры, масла, воска и т.д.; в англоязычной литературе по отношению к ним используется термин «natural products» (Croteau et al., 2000). В настоящее время в западных странах с высокоразвитой химической промышленностью 25% соединений, используемых в фармацевтике, имеют растительное происхождение (Bourgau et al., 2001), а в восточных странах (КНР) они составляют более 70%. Несомненными преимуществами лекарств из растений, как известно, являются широкий спектр и комплексность биологической активности, минимизация нежелательных побочных эффектов даже при длительном применении и т.д. Именно высокая биологическая активность вторичных соединений обуславливает ценное лечебное действие лекарственных растений, а также повышенный интерес исследователей к их биохимическим и фармакологическим эффектам.

В последнее время широко обсуждается и важная физиологическая роль вторичных соединений в процессах жизнедеятельности растений, в первую очередь в экологических взаимоотношениях. Доказано адаптивное значение этих соединений в защите растений от фитофагов в качестве *антифидантов*, *репеллентов* и даже *инсектицидов*, от микробной инфекции – *фитоалексинов*, антибиотиков или *фитонцидов*, от неблагоприятных абиотических условий – *антиоксидантов*, для привлечения опылителей и распространителей семян – *аттрактантов*, для взаимоотношений между растениями фитоценозов – *аллелопатических агентов* и т.д. Однако на данный момент вопросы, касающиеся физиологических аспектов вторичного обмена, слабо представлены даже в последних учебниках по физиологии растений.

Современная классификация вторичных метаболитов на основе их биохимической природы и биогенетического принципа выделяет классы изопреноидов (терпеноидов), фенольных соединений и алкалоидов, а также минорные группы. Гликозиды не отнесены в отдельный класс, так как гликозилирование является универсальным способом перевода активной (функциональной) формы соединений в неактивную (запасную) (Носов, 2005). Поэтому гликозиды, подробно описанные ранее (Абдрахимова, 2001), по природе своего агликона (несахарной части) могут быть причислены к терпеноидам, растительным фенолам и минорным вторичным веществам.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЛКАЛОИДОВ

Алкалоиды – азотсодержащие природные соединения основного характера (Блинова и др., 1990). 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. 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» (Гаммерман, 1967) как нельзя лучше относится к алкалоидам.

К настоящему времени идентифицировано более 15000 алкалоидов, их содержат почти 20% сосудистых растений (Gershenzon, 2003). Алкалоиды найдены у бактерий, грибов, морских беспозвоночных (асцидии, губки и др.) (Попов, 2006), насекомых и даже млекопитающих, хотя численно представлены гораздо меньше, чем у растений. Считается, что богаты ими эволюционно продвинутые покрытосеменные (семейства пасленовые, маковые, маревные, 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 высокоалкалоидным. 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 *Catharantus roseus* (Кутровые) (Croteau et al., 2000). 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 новых 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 (С.30), обнаружены у 7 неродственных видов. Главный алкалоид рода *Nicotiana* (Пасленовые) – никотин - присутствует также в 13 других систематически далеких семействах (Ловкова, 1981).

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 локализируются 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 (Гудвин, Мерсер, 1986). Алкалоиды часто накапливаются в специализированных клетках – идиобластах таким образом, что происходит дегенерация протопласта, а клеточная стенка пропитывается веществами как бы «запечатывающими» алкалоиды внутри клеток, концентрация которых может в 70 раз превышать токсичную дозу для фитопатогенных грибов (Баширова и др., 1998).

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 *Hyoscyamus 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 двулетнем возрасте и в дальнейшем существенно не меняется (Баширова и др.,

1998). 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 (Гудвин, Мерсер, 1986). 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 - вежу 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. Эфедрин при произрастании в Европе почти теряет алкалоиды, тогда как в Средней Азии эти же виды являются высокоалкалоидными (Баширова и др., 1998);

- 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 ежовника 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 (Ловкова, 1981). Увеличение выхода алкалоидов из сырья может происходить и за счет повышения урожая свежей массы растений (Баширова и др., 1998). 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 (Бутенко, 1986, 1999; Bourgaud et al., 2001). Так, в культуре клеток *Rauwolfia serpentina* (Кутровые) накопление аймалина, алкалоида с антиаритмическим действием, увеличивалось в 10 раз по сравнению с дикорастущими растениями.

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*.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ АЛКАЛОИДОВ

Наиболее старая точка зрения (Пиктэ, 1905; цит. по Гаммерман, 1967) причислила 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 (Ловкова, 1981). Вместе с тем, как указывалось выше (С.6), 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 (Gershenzon, 2003).

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 (Croteau et al., 2000; Davies, 2003). Аналогично внесение другого стрессового фитогормона абсцизовой кислоты к каллусной культуре *R. serpentina* повышало содержание аймалиновых алкалоидов на 50-80% (Чечеткин и др., 2001). Был сделан вывод об их фитонцидной роли, поскольку инфицирование данной культуры *Botrytis cynerea* показало резкое транзитное увеличение аймалиновых алкалоидов у поверхностных клеток, непосредственно контактирующих с патогеном (Сиянова, Неуструева, 2008).

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, С.30-31). Личинки киноварного мотылька *Tyria jacobaea*, питаясь листьями крестовника *Senecio jacobaea* (Сложноцветные), накапливают пирролизидиновые алкалоиды (С.16) 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 (Croteau et al., 2000).

В последнее время неожиданное развитие получила выдвинутая в середине XX в. точка зрения (Юнусов, 1948; цит. по Гаммерман, 1967) 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» (Xu, Dong, 2005). 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 (Zhu et al., 2004). 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 (Ловкова, 1981). Алкалоиды могут выступать в качестве

фотосенсибилизаторов, которые усиливают чувствительность клеток к отдельным лучам спектра, ускоряя процессы роста и развития, в частности, плодоношения (Гаммерман, 1967). 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 (Гродзинский, 1991).

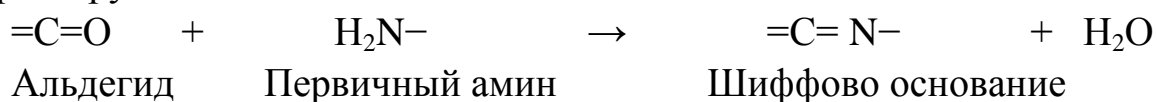
Алкалоиды участвуют в поддержании ионного баланса клеток благодаря хелатирующей способности и основным свойствам, что предполагает наличие корреляции между содержанием органических кислот и алкалоидов (Гудвин, Мерсер, 1986). Например, в *N. rustica* наряду со значительным количеством никотина содержание 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.

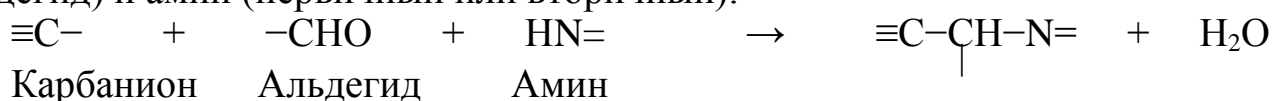
БИОСИНТЕЗ АЛКАЛОИДОВ

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, Таблица 2) 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:



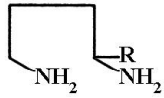
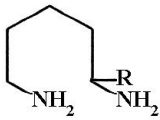
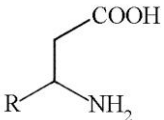
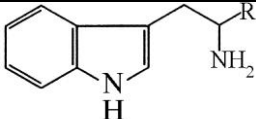
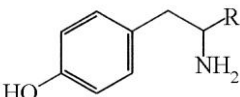
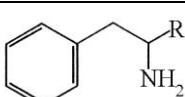
Вторая реакция - альдольной конденсации, названа реакцией Манниха, которая, как правило, приводит к образованию шиффова основания и циклизации молекулы. Она включает вещество, способное образовывать карбанион за счет отщепления кислотного водорода, карбонильное соединение (обычно альдегид) и амин (первичный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



Впервые в 1917 г. Т.Робинсон постулировал, что алкалоиды могут синтезироваться в результате конденсации Манниха из аминов и альдегидов; в последующем это было доказано с использованием изотопных меток.

Таблица 2

Аминокислоты и их амины, участвующие в биосинтезе N-гетероциклов алкалоидов (Лукнер, 1979; Гудвин, Мерсер, 1986)

Структура	Аминокислота (R=COOH)	Амин (R=H)
	Орнитин	Путресцин
	Лизин	Кадаверин
	Аспарагиновая кислота	β-аланин
	Триптофан	Триптамин
	Тирозин	Тирамин
	Фенилаланин	Фенилэтиламин

В третьей группе реакций происходит окислительное сочетание фенольных колец (Лукнер, 1979; Гудвин, Мерсер, 1986).

Далее следует модификация базовой структуры - при этом у алкалоидов особую роль играет метилирование в отличие от изопреноидов, для которых

более характерно гликозилирование с образованием гликозидов (Носов, 2005). Классическим примером служат псевдо- или гликоалкалоиды, которые были отнесены к данному классу вторичных метаболитов без знания терпеноидной природы происхождения углеродного скелета (С.30-31).

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 ($-\text{OCH}_3$), 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. Установлено, что при введении в растения экзогенных алкалоидов быстрее распадаются неметилованные аналоги. Распад алкалоидов может происходить до CO_2 с выделением энергии, но чаще всего - до образования аминокислот, из которых они синтезируются. Интересно, что к катаболизму алкалоидов способны даже безалкалоидные виды (Красильникова и др., 2004).

КЛАССИФИКАЦИЯ АЛКАЛОИДОВ

Классификация алкалоидов была впервые предложена А.П.Ореховым (1881-1939гг.), 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) (Блинова и др., 1990). Эта удобная классификация широко используется до сих пор (Таблица 3), 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 (цит.по Гудвину, Мерсеру, 1986) установить, что алкалоиды происходят из 7-8 аминокислот (Таблица 2). 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.).

Протоалкалоиды

Важнейшим представителем является эфедрин, впервые выделенный в 1887г. Н.Нагаи из растений рода эфедра (*Ephedra*), относящегося к голосеменным растениям. Лечебные свойства эфедры были описаны еще основателем фармакогнозии Диоскоридом в «Materia medica» (I в. н.э), а в китайской медицине она используется почти 5000 лет. Эфедрин является структурным аналогом адреналина и его миметиком, вызывая сходные эффекты. Входит в состав противоастматических препаратов, так как расширяет бронхи, возбуждает дыхательный центр и ЦНС, может вызывать пристрастие. Синтезируется эфедрин из фенилаланина путем декарбоксилирования в фенилэтиламин (Таблица 2), последующих окислений и метилирований боковой цепи (Рис.1).

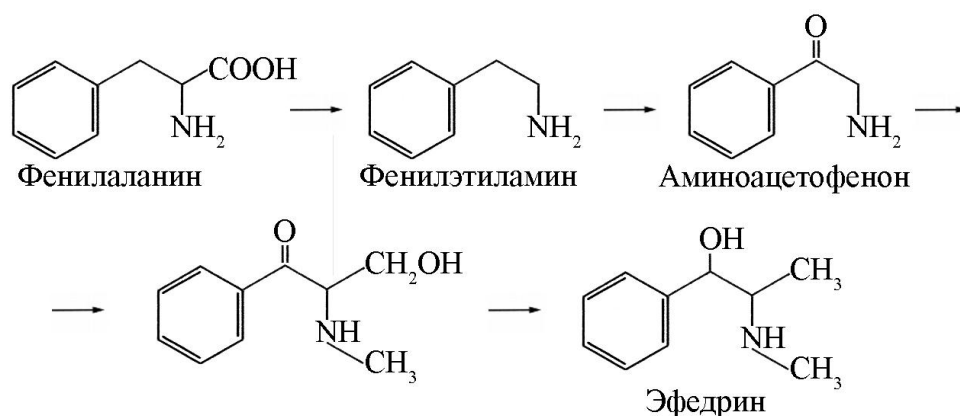


Рис.1. Предполагаемый путь биосинтеза эфедрина (Лукнер, 1979).

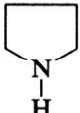
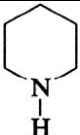
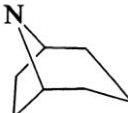
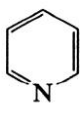
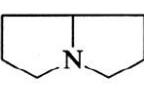
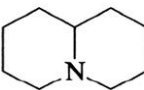
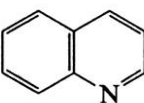
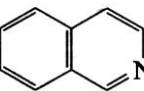
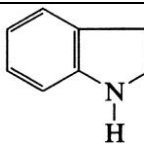
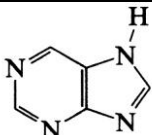
Из фенилаланина синтезируется и другой протоалкалоид – капса(и)цин, обуславливающий жгучий вкус стручкового перца *Capsicum annuum* (Пасленовые), который вызывает возбуждение аппетита и местное раздражение кожи, что используется при невралгиях, люмбаго, обморожениях.

Алкалоиды безвременников *Colchicum sp.* (Лилейные) были открыты в 1819г. Они имеют довольно необычное строение, состоящее из трех спаенных колец (ароматическое и два 7-членных) с четырьмя метоксильными (-O-CH₃) и одной аминогруппой - ацетилированной (-NH-CO-CH₃) у колхицина или метилированной (-NH-CH₃) у колхамина. Эти алкалоиды обладают выраженной антимиотической активностью за счет деполимеризации микротрубочек веретена деления и широко используются в селекции для получения полиплоидов. В настоящее время из-за высокой цитотоксичности в медицине применяются только наружно при раке кожи (в основном колхамин).

Истинные алкалоиды

Ниже приведены комбинированная характеристика групп истинных алкалоидов, сочетающая особенности их гетероциклической системы, предшественников и путей биосинтеза, а также краткая информация о физиологически и фармакологически наиболее важных представителях.

Основные группы, аминокислотные предшественники и важнейшие представители истинных алкалоидов

Тип алкалоида	Структура N-гетероцикла	Биосинтетический предшественник N-гетероцикла	Представители
Пирролидин		Орнитин	Стахидрин
Пиперидин		Лизин	Кониин, анабазин, сенеционин, седамин, лобелин
Тропан		Орнитин	Гиосциамин, скополамин, кокаин
Пиридин		Аспарагиновая кислота	Никотин
Пирролизидин		Орнитин	Сенеционин, платифиллин
Хинолизидин		Лизин	Термопсин, спартеин, лупинин
Хинолин		Триптофан	Хинин, цинхонин
Изохинолин		Тирозин	Морфин, кодеин, папаверин, берберин, сангвинарин, тубокурарин
Индол		Триптофан	Эргоалкалоиды, резерпин, аймалин, йохимбин, винбластин, винкамин, стрихнин
Пури́н		Аспарагиновая кислота, глицин, глутамин	Кофеин, теofilлин, теобромин

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 стахидрина непосредственно через метилирование пролина (Лукнер, 1979). Однако в других источниках образование этого N-гетероцикла рассматривают через декарбоксилирование аминокислоты орнитина (Таблица 2) с образованием симметричного промежуточного продукта диамина путресцина с последующей циклизацией (Гудвин, Мерсер, 1986). Через этот путь происходит биосинтез пирролидина, входящего в состав тропана и никотина (Рис.4). Являясь основным алкалоидом люцерны посевной *Medicago sativa* (Бобовые), обладающим выраженным аллелопатическим эффектом, стахидрин 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 (Гродзинский, 1991).

Из орнитина через путресцин образуются также **пирролизининовые** алкалоиды, состоящие из двух пятичленных гетероциклических колец; особенностью этого так называемого нецинового основания является наличие эфирной связи с разветвленными моно- или дикарбоновыми (нециновыми) кислотами (Рис.2). К таковым относятся алкалоиды растений рода крестовника *Senecio* (сенеционин, ретронектин, ретрорцин и др.). Они имеют важное экологическое значение благодаря своим быстрым структурным модификациям (Рис.2).



Рис.2. Структура окисленной (нетоксичной) и восстановленной (токсичной) форм пирролизининового алкалоида сенеционина (Gershenson, 2003).

В клетках растений алкалоиды представлены относительно нетоксичной гидрофильной NO-формой, которая в пищеварительном тракте неспециализированных фитофагов быстро переходит в гидрофобную, т.е. легко всасываемую токсичную форму. Это происходит за счет работы цитохром Р₄₅₀-монооксигеназы печени. Адаптированные же виды, например киноварный мотылек *Tyria jacobaea*, могут накапливать пирролизининовые алкалоиды в высоких концентрациях только благодаря поддержанию их в NO-форме. Бо-

лее того, как описывалось выше (С.10), они используют их в качестве феромонов и собственной защиты (Croteau et al., 2000).

Еще одним простым по строению является *пиперидиновый* алкалоид - конииин болиголова крапчатого (*C. maculatum*) (Таблица 3). Конииин в отличие от большинства алкалоидов летуч, с характерным мышинным запахом, поэтому даже нахождение рядом с зарослями этого растения вызывает головные боли и тошноту. Парализует окончания двигательных нервов, является высокотоксичным и смертельно ядовитым, как указывалось выше (С.7). Однако в сверхмалых дозах широко используется в гомеопатии (лечении по принципу подобия), будучи введенным в практику ее основателем С.Ганеманом (1755-1843). Пиперидиновый гетероцикл конииина синтезируется из четырех молекул ацетата, при этом происхождение атома азота остается неизвестным. Другие алкалоиды пиперидинового ряда – анабазин (*A. aphylla*, *Nicotiana sp.*), седамин из *Sedum sp.*, лобелин из *Lobelia sp.* и т.д. синтезируются из L-лизина через декарбоксилирование и образование диамина кадаверина (Таблица 2), окислительное дезаминирование которого дает 5-аминопентаналь, подвергающийся циклизации в пиперидеин (Лукнер, 1979; Гудвин, Мерсер, 1986). Боковые цепи алкалоидов типа седамина и лобелина происходят из фенилпропаноидных единиц при включении фенилаланина (Таблица 2) с потерей карбоксильных групп. Пиперидиновое кольцо также имеется в составе пиперина - носителя перечного вкуса хорошо известной пряности - семян тропической лианы перца черного *Piper nigrum* (Перечные), чем и обусловлено название соединений этого ряда.

Спаенные кольца шестичленного пиперидина и пятичленного пирролидина образуют азабициклооктановое ядро тропана – основу алкалоидов *тропанового* ряда (Таблица 3). Синтез тропана происходит путем «надстройки» второго цикла из двух молекул ацетата к предсинтезированной молекуле метилпирролиния, образованной из L-орнитина, что сходно описанному ниже синтезу пирролидинового остатка никотина (Рис.4). Для ряда пасленовых, а именно красавки-белладонны *Atropa belladonna*, белены черной *H. niger*, дурмана *Datura sp.*, основным действующим веществом является левовращающий гиосциамин, при выделении переходящий в оптически неактивный рацемат атропин, биологическая активность которого сходна, но в 2 раза ниже, чем у первого. Свое название красавка получила потому, что с незапамятных времен используется женщинами для усиления блеска глаз (из-за расширения зрачка) и румянца на щеках; «белладонна» переводится как «прекрасная дама». А род был назван К.Линнеем по имени одной из богинь судьбы - Атропы, перерезающей нить жизни каждого смертного. Действительно, все перечисленные растения сильно ядовиты, а симптомы отравления ими напо-

минают безумие. Фармакологические эффекты атропина обусловлены блокированием холинорецепторов, т.е. антагонизмом с нейромедиатором ацетилхолином, что снижает тонус блуждающего нерва и расслабляет гладкую мускулатуру глаз, бронхов, органов брюшной полости. Алкалоиды красавки применяют при бронхиальной астме, паркинсонизме (дрожательном параличе), язвенных болезнях желудочно-кишечного тракта, брадикардии (замедленном сердцебиении), в офтальмологии и т.д. (Белодубровская и др., 2006).

Другим ценным, но менее распространенным в природе тропановым алкалоидом является скополамин, используемый для блокады холинергических рецепторов подкорки (при операциях) и рвотного центра головного мозга (при морской и воздушной болезнях). Проблема получения дефицитного скополамина была решена благодаря метаболической инженерии, начало которой было заложено успешными практическими разработками группы японских ученых (Yun et al., 1992). Они интродуцировали ген гиосциамин-6 β -гидроксилазы из белены черной в красавку-белладону и добились его сверхэкспрессии. В итоге трансгенные растения *A.belladonna* приобрели способность к усиленному синтезу и накоплению скополамина (Рис.3). Таким образом, с помощью молекулярно-генетических подходов метаболической инженерии появилась возможность коммерческого синтеза фармакологически важных соединений.



Рис.3. Реакции образования скополамина из гиосциамина за счет окисления тропанового цикла (Croteau et al., 2000).

К *тропановым* алкалоидом относится и кокаин, структура которого близка к атропину. Родиной кокаинового куста *Erythroxylon coca* являются Анды Южной Америки, где индейцы с незапамятных времен жуют листья коки вместе с золой лебеды, притупляя чувство голода, поддерживая мышечную энергию и хорошее самочувствие, особенно при переходах через горные перевалы. Анестезирующие свойства кокаина были открыты в 1880 г. русским фармакологом Анрепом; введенный впоследствии З.Фрейдом в медицинскую практику он оказался незаменимым в хирургии глаз из-за способности полностью их обездвиживать. Кокаин стал первым природным соединением с местноанестезирующей активностью, который блокирует возбуди-

мость нервных окончаний и ее проведение. Однако из-за психотропных свойств (наркотического привыкания) кокаина в настоящее время используются его синтетические аналоги - новокаин, ультракаин, лидокаин, дикаин и т.д. (Солдатенков и др., 2003).

Известным производным *пиридин-пирролидина* является бициклический никотин, пиридиновый гетероцикл которого происходит из L-аспарагиновой кислоты через образование хинолиновой и никотиновой кислот (Рис.4).

Глицеральдегид -
3-фосфат

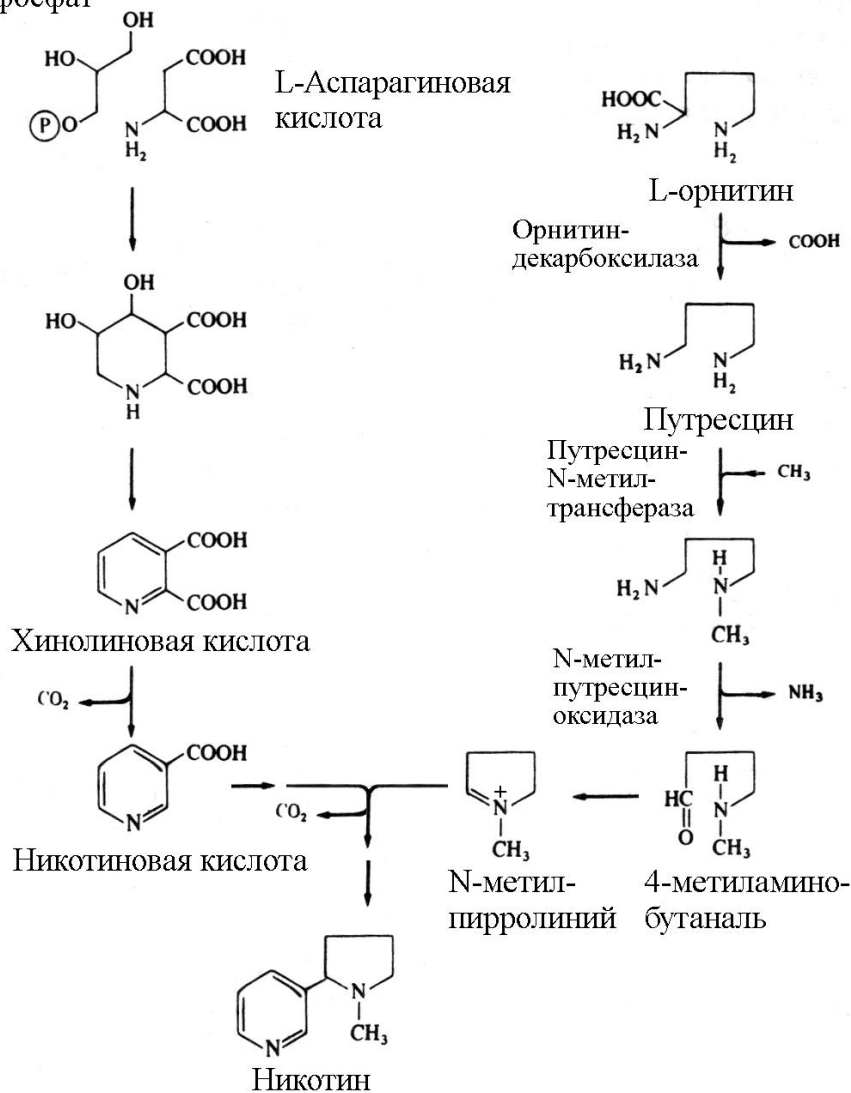


Рис.4. Основные этапы биосинтеза никотина (Гудвин, Мерсер, 1986).

Как указывалось выше (С.16), образование пирролидинового кольца из орнитина происходит путем образования симметричного промежуточного продукта – амина путресцина (Таблица 2) с последующим метилированием с помощью путресцин-N-метилтрансферазы в присутствии S-аденозил-метионина как источника метильной группировки. Далее происходит окислительное дезаминирование N-метилпутресцина в 4-метиламинобутаналь и эффективный предшественник никотина - N-метилпирролий. Связывание по-

следного и дигидропроизводного никотиновой кислоты в согласованном декарбоксилировании приводит к образованию никотина (Рис.4).

Методами метаболической инженерии выявлено, что даже сверхэкспрессия фермента табака путресцин-N-метилтрансферазы в красавке *A.belladonna* не приводит к синтезу никотина (Sato et al., 2001). Причиной этой неудачи по сравнению с более успешными предыдущими разработками (Yun et al., 1992) с гиосциамин-6 β -гидроксилазой (Рис.3) является нахождение последней ближе к конечному продукту, т.е. ниже «по течению» (downstream) в биосинтетическом пути (Bourgaud et al., 2001).

Никотин – основной алкалоид растений табака настоящего (*N. tabacum*) и махорки (*N. rustica*), имеющих южноамериканское происхождение. В Европе табак начали использовать после подношения семян послом Ж.Нико (отсюда название) лично королеве Франции (1560); в России до правления Петра 1 он был запрещен. Никотин - ядовитый доза-зависимый наркотик с сосудосуживающим действием: в малых дозах возбуждает ЦНС и дыхательный центр, в больших - угнетает, вплоть до паралича дыхания (смертельная доза – 0.05г.). Табакокурение, как любая наркотическая зависимость, вызывает привыкание и требует увеличения дозы для поддержания желаемого эффекта. Это приводит к патологическим изменениям важнейших органов, в первую очередь, сердечно-сосудистой системы, вследствие постоянного сужения сосудов и нарушения их трофики. Более того, продукты сгорания, содержащиеся в сигаретном дыме, - бензпирен, радиоактивный поллоний и т д., обладают ярко выраженным канцерогенным действием.

Вместе с тем сама никотиновая кислота (Рис.4), получившая название витамина PP (Pellagra Preventive) или ниацина, является простетической группой пиридиннуклеотидов, которые участвуют в окислительно-восстановительных процессах и регуляции редокс-потенциала клеток. В фармакологическом отношении никотиновая кислота обладает противоположным никотину сосудорасширяющим эффектом.

Производное **пиридин-пиперидина** анабазин был открыт и выделен А.П.Ореховым из среднеазиатского растения *A.aphylla*, но присутствует, как выяснилось позже, и в табаке. Анабазин широко используют в качестве инсектицида - более дешевого, чем никотин, а также как средство для отвыкания от курения (Машковский, 2002). Из листьев анабазиса и махорки получают никотиновую и лимонную кислоты.

Алкалоиды **хинолизидинового** ряда найдены у бобовых растений - лупинин, спартеин у разных видов люпина (*Lupinus sp.*), термопсин, цитизин и др. у термопсиса (*Thermopsis lanceolata*), а также ликоподин у плаунов *Lycopodium sp.* Хинолизидиновое кольцо (Таблица 3) наиболее простого лу-

пина происходит из L-лизина через декарбоксилирование и образование симметричного промежуточного продукта - диамина кадаверина (Таблица 2). Последний после окислительного дезаминирования превращается в 5-аминопентаналь, две ее молекулы конденсируются с образованием шиффова основания, которое после внутримолекулярных перегруппировок по типу реакции Манниха преобразуется в два спаянных шестичленных гетероциклических кольца. Открытие А.П.Ореховым термопсиса как источника 7 алкалоидов с отхаркивающим эффектом, а затем и введение в отечественную фармакопею растения со значительной сырьевой базой по всей Сибири и Южным районам Урала позволило заменить дорогостоящее лекарственное сырье - корни южноамериканской ипеакауаны *Sephaelis ipecacuanha* (Мареновые) (Гаммерман, 1967).

Хинолиновые алкалоиды (Таблица 3), такие как хинин и цинхонин из коры хинного дерева *Cinchona sp.* встречаются в большинстве случаев со сложными индольными алкалоидами типа *Corynanthe*, от которых ведут свое начало (С.28). Хинин и цинхонин, а также их синтетические аналоги имели первостепенное значение в борьбе человечества с малярией. По данным ВОЗ, малярия занимает 1 место по смертности в мире: в XX в. от нее погибло больше людей, чем во всех войнах; на начало XXI в. ею болеют 50 млн. человек. В связи с глобальным потеплением климата прогнозируют распространение этого заболевания в зону умеренных широт. Лечение малярии хинином применяется с XVII в., оно дешево (10 центов на лечение 1 человека), но к нему появились устойчивые формы плазмодий. Недавно было установлено, что в единственном экземпляре малярийного комара может содержаться до 70 генетических штаммов паразита, свидетельствующие о быстроте их эволюции (Солдатенков и др., 2003). Однако альтернатива – сесквитерпеноид артемизинин полыни однолетней (*Artemisia annua*), которую использовали как антималярийное средство в древнекитайской медицине еще с II в. до н.э., для большинства больных пока остается недоступным из-за низкого содержания в лекарственном сырье – 0.06% от сухой массы листьев, а также ограниченного ареала произрастания данного вида (Croteau et al., 2000; Песяк и др., 2008).

Изохинолиновые алкалоиды (Таблица 3) занимают 2 место по своей численности, уступая в этом отношении только индольным. Первым алкалоидом, чьи биосинтетические ферменты были полностью идентифицированы, выделены и охарактеризованы был берберин суспензионной культуры барбариса *Berberis sp.* (Барбарисовые). Далее - через 190 лет после открытия морфина (С.5) - были расшифрованы практически все этапы и ферменты биосинтеза опийных алкалоидов (Croteau et al., 2000). Биосинтез этих алкалоидов начинается в цитозоле клеток из двух молекул L-тирозина, одна из которых де-

карбоксилируются в тирамин (Таблица 2), вторая - гидрокселируются в ДОФА (дигидроксифенилаланин) с помощью фенолоксидазы (Рис.5). Далее образуется дофамин за счет декарбоксилирования ДОФА или гидрокселирования тирамина фенолоксидазой (Рис.5); такая альтернативность объясняется присутствием в растительных экстрактах одновременно активных ферментов обоих путей образования дофамина.

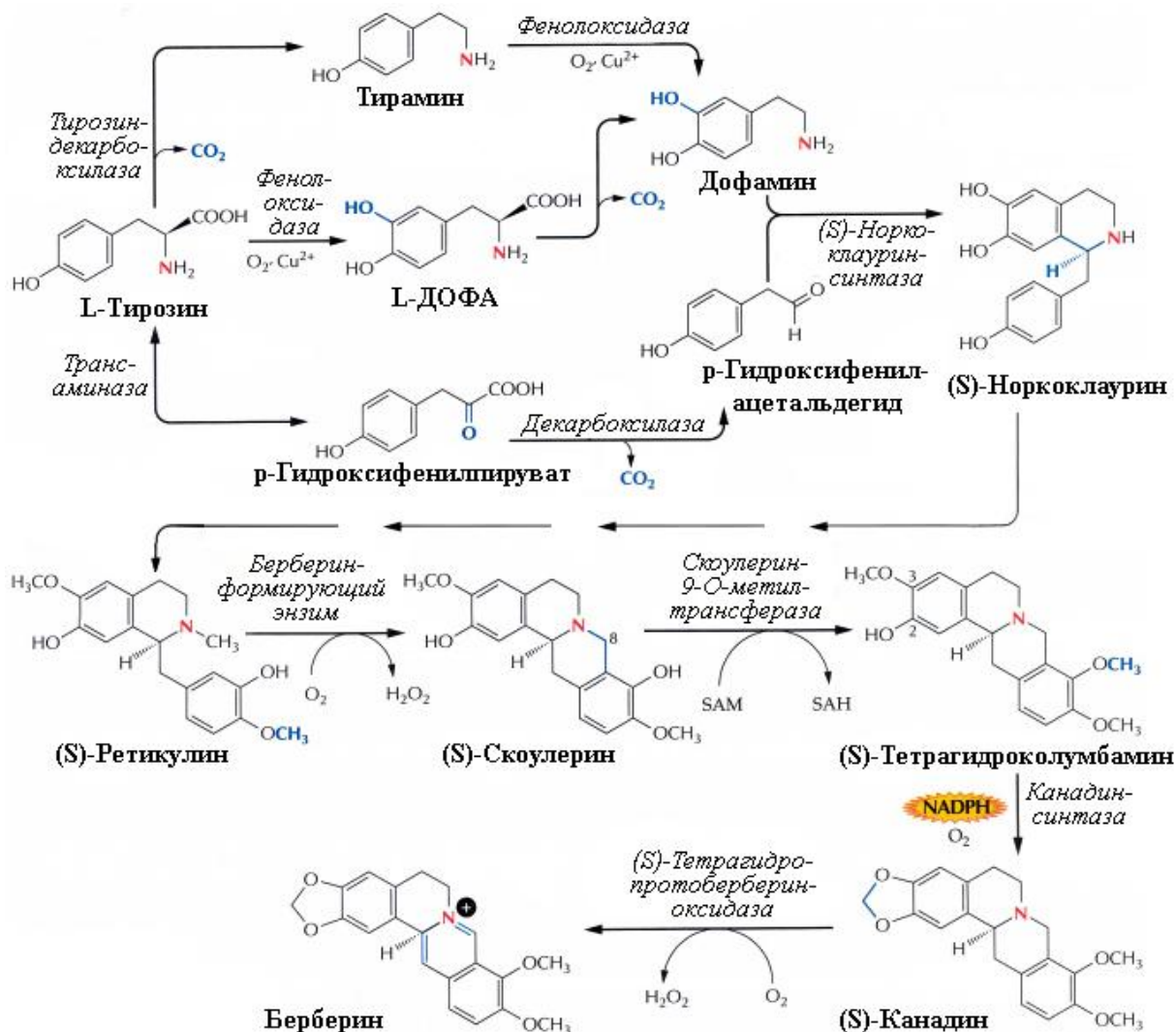


Рис.5. Некоторые этапы биосинтеза берберина, ферменты которого полностью идентифицированы (Croteau et al., 2000).

SAM, S-аденозилметионин; SAN, S-аденозилгомоцистеин.

В конденсации по типу реакции Манниха участвует также производное второй молекулы тирозина – гидроксифенилацетальдегид, что приводит к формированию первого бензилизохинолинового алкалоида – норкоклаурина. Затем серия O- и N-метилований (в схеме пропущено) ведет к образованию ретикулина - ключевого интермедиата биосинтеза ди- и тетрагидроксибензилизохинолиновых алкалоидов (Рис. 5,6). Следующие этапы включают различные пути молекулярных и внутримолекулярных модификаций, приводящие к большому разнообразию видоспецифичных алкалоидов этой группы (Рис.6). Последний этап синтеза берберина связан с образованием 2 дополнительных

колец: одного – путем окисления N-метильной группы и включением его углерода в C-8 скоулерина и второго – за счет появления метилендиоксидного моста между C-2 и C-3 у канадина (Рис.5). Это осуществляется в гладком эндоплазматическом ретикулуме с помощью микросомальной цитохром P₄₅₀-зависимой оксидазы. Конечный продукт, образование которого связано с выделением эквимольного количества H₂O₂, накапливается в вакуолях. В связи с этим интересно отметить, что Sato et al. (2001) добились сверхэкспрессии гена скоулерин 9-O-метилтрансферазы (Рис.5), в результате чего в трансгенных клетках *Coptis japonica* содержание бербериона увеличилось на 20%. Это произошло благодаря торможению образования сангвинарина (Рис.6) в конкурентном биосинтетическом пути, использующем те же предшественники.

Мак снотворный (*P.somniferum*) сем. Маковые – древнейшее культурное растение, использование которого датируется более I тыс. лет до н.э. Содержание опиума в нем достигает 20%, который, свою очередь, состоит на 25% из 26-50 видов алкалоидов (Белодубровская и др., 2006). Основным алкалоидом опиума (более 50% от общего содержания) – морфин, как отмечалось выше (С.5), был получен в чистом виде первым среди действующих веществ лекарственных растений в 1806г., что послужило началом эры фитохимии. Морфин – наркотический анальгетик с сильным болеутоляющим (противошоковым) эффектом, блокирующий передачу болевых импульсов к коре головного мозга, что угнетает таламические центры болевой чувствительности; равных ему по силе действия синтетических аналогов нет. Одновременно он угнетает основной обмен (понижение температуры тела) и дыхательный центр; токсические дозы вызывают остановку дыхания (Машковский, 2002). Следует отметить, что хотя химический синтез морфина был осуществлен в 1952г., сложность методов не позволяет использовать его для получения медицинских препаратов (Солдатенков и др., 2003). Общечеловеческая проблема наркомании усложняется еще тем обстоятельством, что не удалось осуществить биотехнологический синтез морфинановой группы алкалоидов (морфин, кодеин, тебаин). Исследования сотрудников отдела биологии клетки и биотехнологии ИФР РАН (г.Москва) под руководством Р.Г. Бутенко показали, что в культуре *Papaver* доминируют алкалоиды протопинового, протоберберинового и сангвинаринового типа (Рис.6), нехарактерные для сформировавшихся растений данного рода. Так, в каллусных тканях содержание сангвинарина достигало 2%, причем у целых растений он выявлялся только в ювенильном возрасте. Тогда как морфинановый алкалоид тебаин, наоборот, присутствовал во всех частях растений на протяжении всего времени наблюдения (2 года) и отсутствовал в каллусе. Кардинальные изменения спектра синтезируемых алка-

лоидов были обусловлены, в первую очередь, низким уровнем дифференцировки каллусных тканей (Рабинович, Смирнов, 1986).

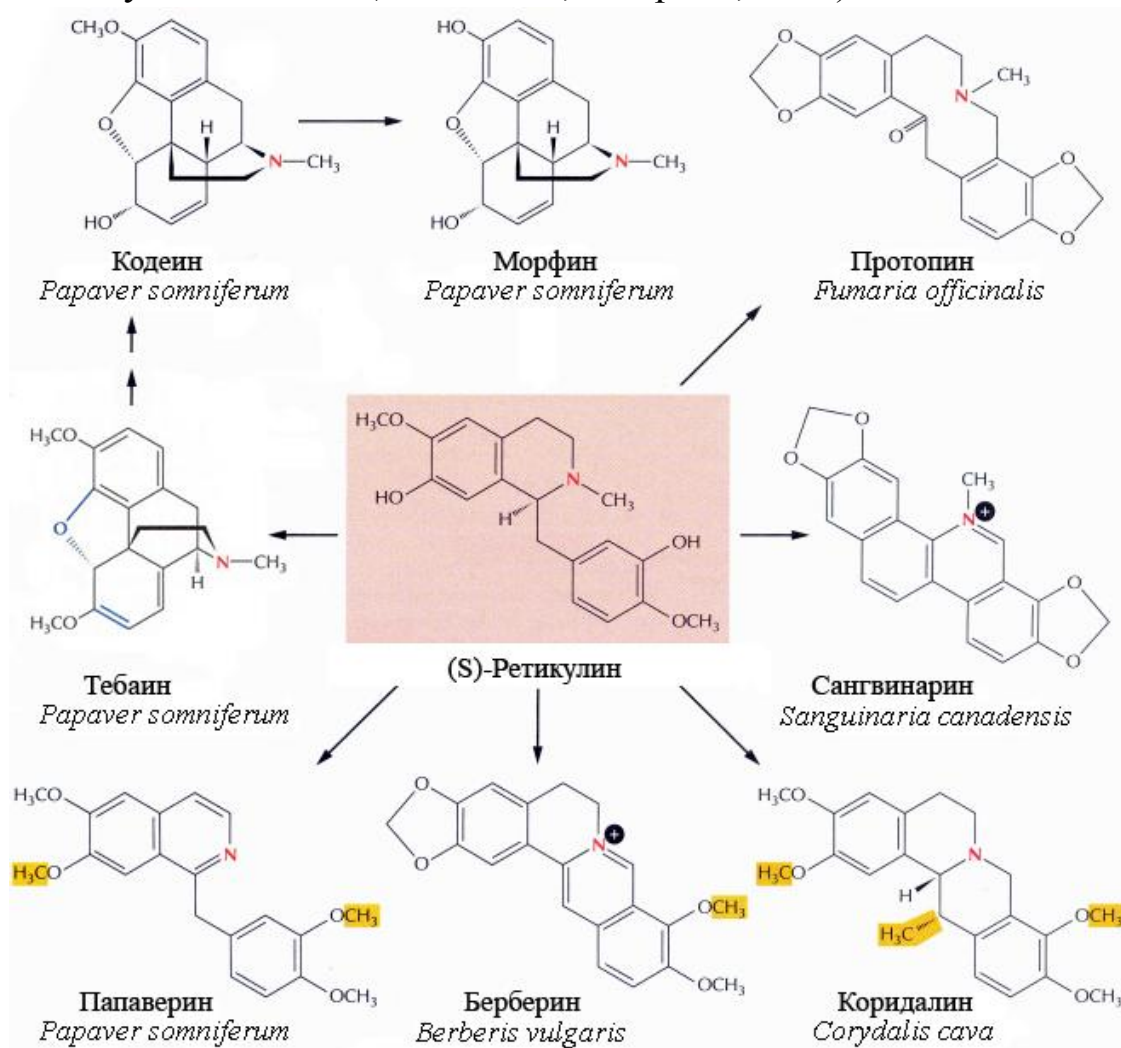


Рис.6. Структуры ключевого интермедиата ретикулина и некоторых его производных. Ретикулин назван химическим хамелеоном, так как характер «изгиба» молекулы до ее энзиматического окисления обуславливает структурное разнообразие дериватов (Croteau et al., 2000).

В 1975 г. было установлено, что в мозге млекопитающих имеются опиатные рецепторы, которые прочно взаимодействуют с эндогенными пентапептидами, имитируя морфиноподобную активность. В печени млекопитающих найдено большинство ферментов биосинтеза морфина, что, как считают, имело значение для эволюционного становления системы опиатных рецепторов (Croteau et al., 2000). Известно, что «эндогенные опиаты», названные эндорфинами (энкефалинами) или «гормонами удовольствия», не только снимают болевые ощущения, но и сильно влияют на настроение и психику человека. Последняя необратимо нарушается при введении топографически сходных экзогенных наркотиков, что является одной из причин развития тяжелой формы психической и физической зависимости (наркомания), ведущей к полной деградации личности. Особенно это касается диацетилированного произ-

водного морфина – героина, использование которого запрещено законодательствами всех стран (Солдатенков и др., 2003).

Метилированный непосредственный предшественник морфина – кодеин (Рис.6) используется в медицине для купирования изнуряющего кашля, так как способен уменьшать возбудимость кашлевого центра без сильного угнетения дыхательного центра (Машковский, 2002). Морфин и кодеин, как конечные продукты биосинтеза бензилизохинолинов, встречаются не у всех видов рода *Papaver*. Например, они отсутствуют у несодержащего млечный сок мака восточного *P.orientale*, что компенсируется избытком их биогенетического предшественника – наиболее ядовитого алкалоида тебаина (Рис.6) (Баширова и др., 1990). К сожалению, данный факт остается малоизвестным, что препятствует культивированию этого красивого декоративного растения.

Еще один широко используемый в медицинской практике опиатный алкалоид папаверин имеет более простую, чем предыдущие соединения структуру, так как синтезируется на первом этапе - после конденсации двух производных ДОФА с последующим метилированием гидроксильных групп ароматических колец с образованием 4 метоксильных (Рис.6). Биохимический эффект папаверина связан с ингибированием активности фосфодиэстеразы, расщепляющей цАМФ, накопление которого, в свою очередь, тормозит образование актомиозинового комплекса. Это приводит к уменьшению сократительной активности гладкой мускулатуры, в том числе кровеносных сосудов, оказывая миотропное спазмолитическое и сосудорасширяющее действие. В настоящее время папаверин получают синтетическим путем, также как и его эффективный аналог но-шпу (Солдатенков и др., 2003).

Близкими к опиатным алкалоидам являются таковые (до 14 видов) чистотела большого *Chelidonium majus* (Маковые), млечный сок которого в отличие от опиума окрашен в желтый цвет из-за содержащегося в нем берберина. Берберин – самый распространенный в растительном мире алкалоид, все этапы и ферменты биосинтеза которого были расшифрованы, как указывалось выше (Рис.5), первыми в алкалоидологии. Он содержится у 90 видов растений из 7 семейств, в том числе разных видов барбариса *Berberis*, ягоды которого использовали еще в Древней Индии и Вавилоне как кровеочистительное средство, а в настоящее время всем частям растения приписывают желчегонное, гипотензивное, сердечное, а иногда и противоопухолевое действие.

Следует отметить, что чистотел из-за присутствия в своем составе сильно токсичного алкалоида гомохелидонина в официальной отечественной медицине используется только как наружное бактерицидное и фунгистатичное средство (Машковский, 2002). Согласно нашим данным, для чистотела были характерны наибольшие дисмутагенная и мутагенная активности среди ряда

изученных комнатных (*Aloe arborescens*, *Callisia fragrans*) и дикорастущих (*Aegopodium podagraria*, *Plantago major*, *Tussilago farfara*) лекарственных растений, что, по-видимому, было обусловлено высоким содержанием веществ с противоположным типом действия – флавоноидов и алкалоидов, соответственно (Parkhimovich et al., 2009).

Бисбензилизохинолиновые производные, к которым принадлежат кураровые алкалоиды тубокурарин и токсиферин, образуются при окислительной конденсации двух бензилизохинолиновых молекул, катализируемой фенолоксидазами. Кураре – старинный стрельный яд индейцев, используемый для обездвиживания животных на охоте; добывается из ядовитых тропических растений. В медицине используется как миорелаксант, вызывающий расслабление скелетной мускулатуры, например при операциях под наркозом. Поиск заменителей дефицитного кураре выявил, что алкалоиды некоторых видов живокости *Delphinium sp.* (Лютиковые) обладают курареподобным действием.

Алкалоиды – производные **индола** - занимают первое место по своему разнообразию. К ним относятся эрголиновые алкалоиды (с франц. «эрго» - спорынья), впервые выделенные в 1875г. Ш.Танрэ. Спорынья, или маточные рожки, представляет собой склероции (покоящаяся стадия) сумчатых грибов-аскомицетов рода *Claviceps*, паразитирующих на зерновках ржи и некоторых дикорастущих злаков. В начале XXв. спорынья в России встречалась повсеместно, так как рожь была основной сельскохозяйственной культурой на фоне слабого уровня развития агротехники. Длительное потребление муки, полученной из зараженного спорыньей зерна, вызывало тяжелое заболевание (эрготизм). В настоящее время эргоалкалоиды в основном получают из сапрофитной культуры спорыньи, экстрагируя из мицелия и культуральной жидкости. Эрголиновые алкалоиды найдены и у высших растений семейства вьюнковых (Ловкова, 1981), а также в семенах тропических растений рода *Rivea* и *Ipromoea*, обладающих галлюциногенным действием, что используется, например, в ритуалах народов Мексики (Гудвин, Мерсер, 1986).

В основе эрголиновых алкалоидов лежит лизергиновая кислота, состоящая из спаенных колец индола и хинолина, которые образуются за счет конденсации L-триптофана с производным мевалоновой кислоты - гемитерпеном диметилаллилпирофосфатом. Следовательно, индольное кольцо переходит неизменным от триптофана, а хинолиновое – образуется *de novo* из производного мевалоновой кислоты - гемитерпена диметилаллилпирофосфата за счет 2 поэтапных циклизаций через N-метилирование (Рис.7). Диэтиламид лизергиновой кислоты – наркотик LSD₂₅, вызывающий в дозе 0.5-1 мкг/кг зрительные и слуховые галлюцинации. Несмотря на токсичность, эрголиновые алкалоиды широко применяются в медицине - действие у них сложное и разнообразное.

разное, часто даже противоположное. Например, у эрготамина и эрготоксина прямое сосудосуживающее действие, а у дигидроэрготамина – спазмолитическое, расширяющее сосуды головного мозга. Пара эргометрин-эрготамин является аналогом гормона окситоцина («tocus» с латинского языка «роды»), что обусловило применение спорыньи для усиления сокращений матки при родах и остановки маточных кровотечений, откуда происходит название «маточные рожки».

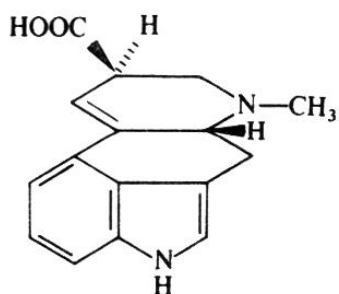


Рис. 7. Строение лизергиновой кислоты – структурной основы эргоалкалоидов.

Биосинтез более 1800 монотерпеноидных *индольных* алкалоидов начинается с декарбоксилирования L-триптофана триптофандекарбоксилазой до триптамина. Затем триптамин стереоспецифично конденсируется с иридоидом секологанином с образованием стриктозида (раньше винкозид)(Рис.8).



Рис.8. Биосинтез стриктозида (винкозид) – ключевого предшественника многих индольных алкалоидов. Glc – глюкоза.

Иридоиды являются горькими гликозидами, для которых характерно наличие гликолизированного лактонного кольца. Секологанин, в свою очередь, происходит от алифатического геранилпирофосфата (C₁₀), из которого образуется большинство монотерпеноидов (см. Абдрахимова, 2001, С.12-14). Стриктозидин, по аналогии с ретикулином (Рис.6), является биогенетическим предшественником многих алкалоидов (Рис.9).

Целый комплекс ценных индольных алкалоидов (Рис.9) содержится в раувольфии змеиной *Rauwolfia serpentina* (Кутровые) - эндемике тропиков Индии, которую издревле использовали при укусах змей и скорпионов, что отражено в видовом названии; родовое название происходит от фамилии немецкого врача, впервые описавшего ее в XVIв. В настоящее время, как указывалось выше (С. 8), раувольфия змеиная успешно культивируется в усло-

виях *in vitro*: созданы клеточные культуры - сверхпродуценты с накоплением фармакологически важных продуктов выше по сравнению с дикорастущими растениями в 10 и более раз (Бутенко, 1986, 1999). Большая экспериментальная работа по оптимизации условий выращивания и выяснению регуляторных механизмов действия целого ряда факторов, в том числе стрессовых, с целью повышения содержания алкалоидов в каллусе *R. serpentina* была проведена в лаборатории культуры клеток растений кафедры биохимии КГУ под руководством проф. В.Г. Винтера (Чечеткин и др., 2001; Козлова, 2007; Сянова, Неуструева, 2008; и др.).

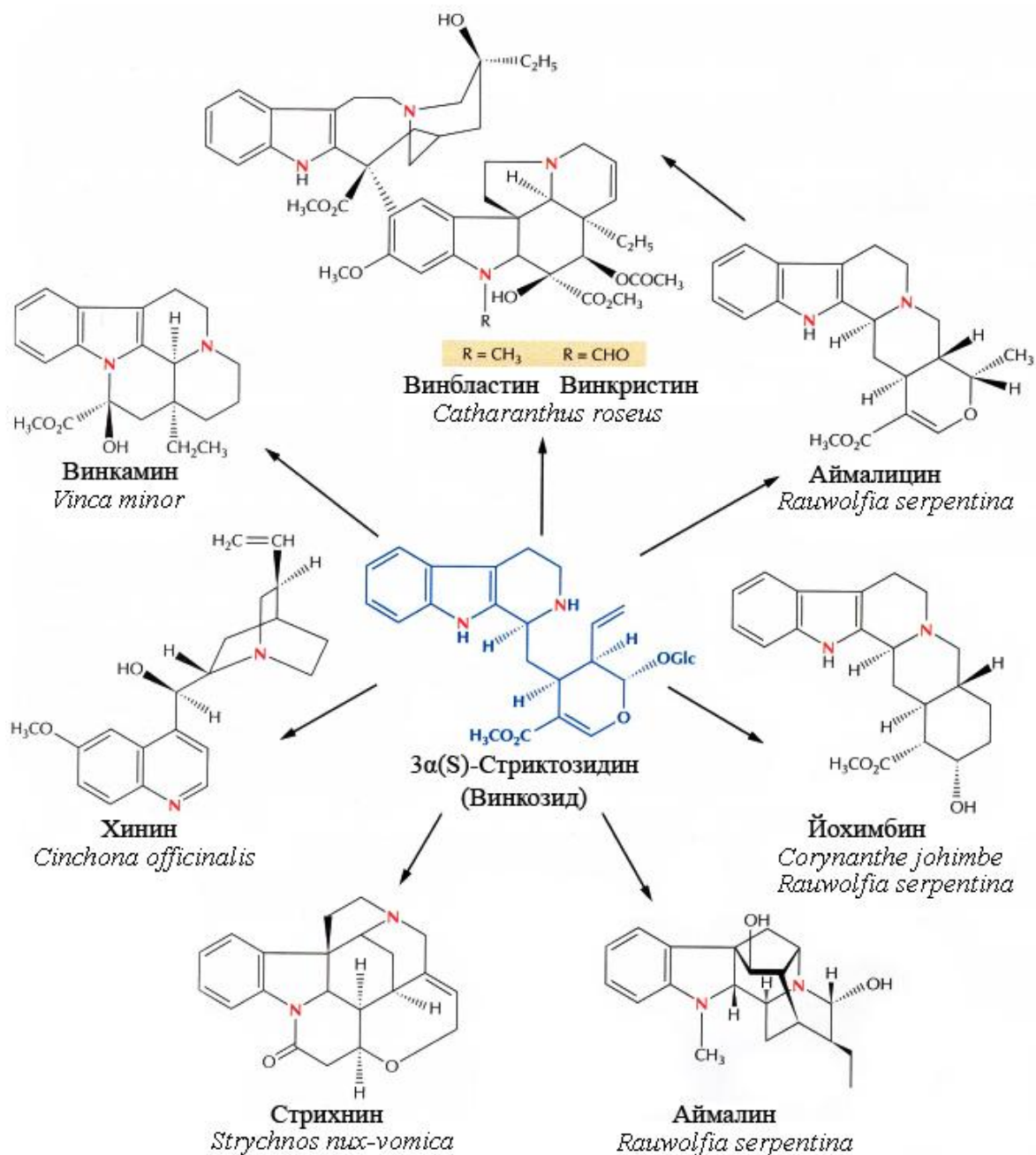


Рис.9. Структура стриктозида (винкозида) и его производных – видоспецифичных алкалоидов (Croteau et al., 2000). Glc – глюкоза.

Одним из основных алкалоидов раувольфии является резерпин с гипотензивным и седативным типом действия вследствие блокирования им транс-

порта к нервным окончаниям катехоламинов - предшественников адреналина. При этом желательное использование сумма алкалоидов, а не чистый резерпин, имеющий побочное угнетающее действие на психику. Это преимущество растительного сырья перед чистыми веществами обсуждалось ранее (Абдрахимова, 2001, С.5-6). Раувольфия содержит ценные алкалоиды аймалиновой группы - аймалин и аймалицин, оказывающие антиаритмическое действие, а также йохимбин, повышающий потенцию (Рис.9). Эти алкалоиды названы типом *Corynanthe*, поскольку содержатся в коре африканского дерева йохимбе *Corynanthe yohimba* (Мареновые). Интересно, что алкалоиды типа *Corynanthe* за счет внутримолекулярных перегруппировок дают начало хинолиновым алкалоидам хинину (Рис.9) и цинхонину коры хинного дерева *Cinchona sp.*, принадлежащего к тому же семейству мареновых. Димеризация аймалицина ведет к образованию алкалоидов-димеров барвинка розового (*C.roseus*) - винбластин и винкрестин с выраженным противоопухолевым действием, которые широко применяются в химиотерапии онкологических больных. Алкалоид барвинка малого *Vinca minor* – винкамин (Рис.9) относят к заменителям алкалоидов раувольфии, причем для него характерно избирательное цереброваскулярное (на сосуды головного мозга) действие. Использование семян тропического растения чилибухи *Strychnos nux-vomica* (Логаниновые), содержащих стрихнин (Рис.9) и бруцин, пришло из восточных медийн. Они обостряют органы чувств, стимулируют ЦНС через повышение рефлекторной возбудимости спинного мозга, но из-за опасности передозировки, которая может приводить к тетаническим судорогам и смерти, применяются ограничено (Машковский, 2002).

Общей особенностью **пуриновых** алкалоидов является их психостимулирующий эффект, состоящий в повышении умственной и физической активности организма, снятии сонливости и усталости. Пурин представляет собой спаянные ядра 6-членного (пиримидин) и 5-членного (имидазол) N-гетероциклов и образуется при окислении аденина. Кофеин является триметильным производным ксантина (диоксипурин), теобромин и теобромин – диметильными (Рис.10).

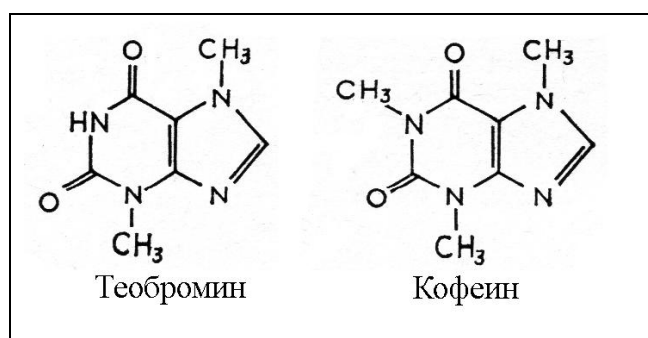


Рис.10. Строение пуриновых алкалоидов.

Преимуществом кофеина и содержащих его продуктов является нормализация артериального давления, усиление диуреза и обменных процессов в тканях за счет ингибирования фермента фосфодиэстеразы, расщепляющей ц-АМФ, что приводит к уменьшению сократительной активности гладкой мускулатуры, в том числе кровеносных сосудов, улучшению обменных процессов в тканях. Особенности действия кофеина на ЦНС были изучены еще И.П.Павловым (цит. по Гаммерман, 1967), показавшим, что в определенной дозе он усиливает процессы возбуждения в коре головного мозга, усиливая условные рефлексы и повышая работоспособность организма. Считается, что кофеин может конкурентно связываться с аденозиновыми рецепторами мозга из-за структурного сходства с аденозином - фактором, вызывающим торможение возбуждения, поэтому его замещение приводит к стимулирующему эффекту. Однако при длительном использовании происходит образование новых аденозиновых рецепторов, что уменьшает действие кофеина и требует повышения его дозы.

Кофеин, как указывалось выше (С.6), содержится в разных органах таксономически неродственных растений - чая китайского *Thea sinensis* (Чайные), падуба парагвайского или мате *Ilex paraguariensis* (Падубовые), кофе *Coffea arabica* (Мареновые), колы *Cola vera* и какао *Theobroma cacao* (Стеркулиевые) и др. По содержанию кофеина чай и кофе сходны (1-2%), тогда как в какао больше теобромона с выраженным цереброваскулярным эффектом (1-2% напротив 0.3% кофеина). В чашке свежего крепкого чая содержится 0.02-0.1г кофеина, однако настаивание его свыше 20-30 минут приводит к повышению концентрации дубильных веществ (особенно в черных сортах), которые связывают кофеин и другие важные компоненты, в первую очередь, флавоноиды. Последние могут составлять до 30% от сухого веса листьев, обуславливая полезные свойства чая (антиоксидантные, капилляроукрепляющие, гепатопротекторные, спазмолитические и пр.).

Псевдо- или гликоалкалоиды

Эта группа алкалоидов содержит C_{27} -холестановый скелет, который к тетрациклическому холестеринному скелету имеет дополнительный бициклический N-гетероцикл, источником которого предположительно выступает L-аргинин (Гудвин, Мерсер, 1986). Псевдоалкалоиды в природе встречаются в гликозидной форме, а наличие гидрофобного агликона и гидрофильной гликозидной части (Рис.11) по аналогии с сапонинами (Абдрахимова, 2001, С.33-34) делает их детергентами и придает гемолитические и антифидантные свойства.

Гликоалкалоиды характерны для представителей семейства пасленовых: соланины (агликон соланидин) – для зеленых частей картофеля (*Solanum tuberosum*), томатины (агликон томатидин) - томатов (*Lycopersicon esculentum*), высокое содержание которых препятствует их поеданию.

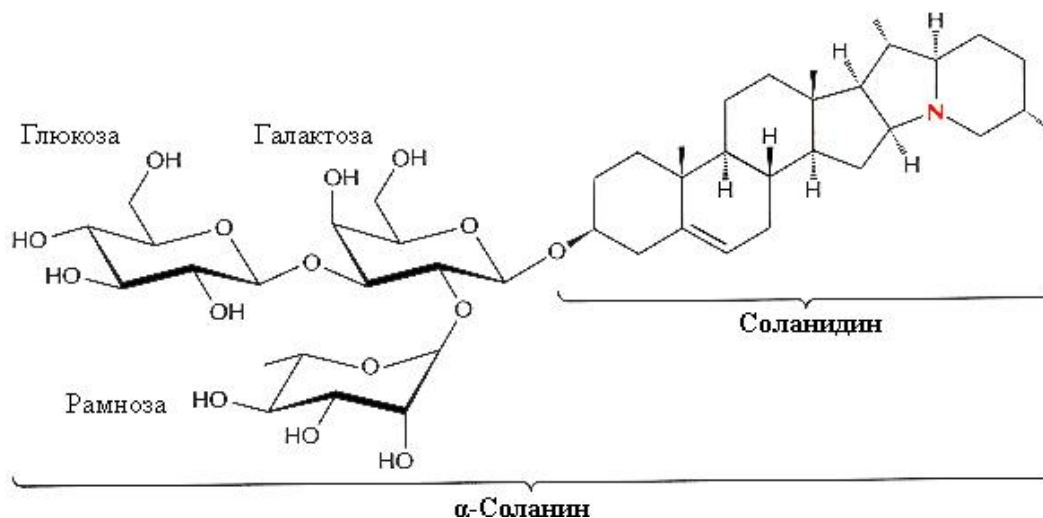


Рис.11. Структура стероидного алкалоида соланина (Croteau et al., 2000).

Однако специализированные фитофаги, например колорадский жук, используют накопленные гликоалкалоиды в качестве своих антифидантов и практически не имеют естественных врагов. Позеленение клубней картофеля при яровизации, которая резко увеличивает содержание соланина, повышает их устойчивость к грибковым заболеваниям (фитофторозам), что свидетельствует о защитной роли этих соединений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интерес специалистов смежных дисциплин биологии, химии и медицины к алкалоидам, несмотря на более 200 лет со времени их открытия, не ослабевает – настолько они недостаточно исследованы и важны в практическом отношении. Выяснение структурных особенностей, этапов и ферментов биосинтеза алкалоидов затруднялись сложностью их строения и химизма, а также низкими скоростями процессов вторичного метаболизма. Так, потребовалось 150 лет для расшифровки структуры морфина после его выделения в чистом виде (1806 г.) и еще почти 50 лет для идентификации ферментов его биосинтеза. Даже когда растения обрабатывали мечеными предшественниками, очень низкие скорости их включения не давали однозначно интерпретируемых результатов. Поэтому к 80-ым годам XX в. были развиты лишь общие представления о путях биосинтеза алкалоидов, но ни один из них полностью не выяснен, поскольку ферменты (или фермент), принимающие участие на отдельных стадиях, не были выделены и изучены (Гудвин, Мерсер, 1986). Однако к 2000 г. были расшифрованы пути биосинтеза берберина и опийных алкалоидов, открыты новые 80 ферментов, катализирующих этапы биосинтеза

индольных, изохинолиновых, тропановых, пирролизидиновых и пуриновых алкалоидов, а также идентифицированы и клонированы ДНК 20 ферментов (Croteau et al., 2000). Такой прогресс в понимании биохимии алкалоидов наметился благодаря введению в практику экспериментов культуры тканей и клеток, которая значительно ускорила процессы биосинтеза не только алкалоидов, но и всех классов вторичных метаболитов. Это открывает новые перспективы для изучения путей биогенеза и регуляции метаболизма вторичных веществ, а также создания мутантных, вариантных, гибридных и трансгенных клеточных линий. Фундаментальные исследования в данном направлении продиктованы необходимостью ускорения внедрения в практику разработок и технологий получения вторичных веществ, в которых остро нуждается человечество, а альтернативное культивирование клеток и органов, в том числе трансгенных, в контролируемых условиях закрытых биореакторов должно до минимума снизить возможный экологический риск (Бутенко, 1999). Следует отметить, что к настоящему времени природные источники многих ценных лекарственных растений, целебное действие которых обусловлено высокой биологической активностью вторичных соединений, практически исчерпаны. Попытки их плантационного культивирования не всегда успешны из-за строгой приуроченности к определенным климатическим зонам и/или экотопам, а также часто наблюдаемого резкого снижения содержания БАВ. В связи с этим культивирование *in vitro* и метаболическая инженерия лекарственных растений может стать основой фармацевтической биотехнологии будущего.

В настоящее время усилия исследователей направлены на выяснение механизмов регуляции накопления алкалоидов через изменение гормонального статуса культуры, внесение абиотических и биотических элиситоров, проведение генетических манипуляций и т.д. Их расшифровка имеет существенное значение не только для понимания многообразной роли этого важнейшего класса вторичных веществ в жизнедеятельности растений, но и для решения актуальных проблем защиты растений от фитофагов и инфекций различной этиологии, регуляции процессов роста, развития и адаптации.

В заключение следует подчеркнуть, что в силу ограниченного объема спецкурса и данного учебно-методического пособия вне внимания остались многие интересные факты, в том числе касающиеся исторических аспектов изучения алкалоидов, их природного многообразия и практического использования. В данном отношении можно рекомендовать недавно опубликованное учебное пособие Е.Ю. Бахтенко и П.Б.Курапова (2008).

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Абдрахимова Й.Р. Биологически активные вещества растений: физиологические и биохимические аспекты (Часть 1. Терпеноиды, гликозиды): учебно-методическое пособие. - Казань: Регентъ, 2001. 42 с.
2. Бахтенко Е.Ю., Курапов П.Б. Многообразие вторичных метаболитов высших растений: учебное пособие. - Вологда, 2008. 266 с.
3. Баширова Р.М., Усманов И.Ю., Ломаченко Н.В. Вещества специализированного обмена растений (Классификация. Функции): учебное пособие. - Уфа: Башкирский университет, 1998. 160 с.
4. Белодубровская Г.А., Березина В.С., Блинова К.Ф., и др. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия: учебное пособие/Под ред. Г.П.Яковлева. – СПб.: СпецЛит, 2006. 845 с.
5. Блинова К.Ф., Борисова Н.А., Гортинский Г.Б. Ботанико-фармакогностический словарь: справочное пособие. - М.: Высшая школа, 1990. 272 с.
6. Бутенко Р.Г. Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения /Культура клеток растений и биотехнология/ Под ред. Р.Г.Бутенко. - М.:Наука, 1986. С.3-20.
7. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учебное пособие. - М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
8. Гаммерман А.Ф. Курс фармакогнозии. - Л.: Медицина, 1967. 703 с.
9. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – 11-ое изд. - М.: Медицина, 1990. 400 с.
10. Гродзинский А.М. Аллелопатия растений и почвоутомление. - Киев: Наукова думка, 1991. 432 с.
11. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. - М.: Мир, 1986. Т.2. 312 с.
12. Козлова Р.Ю. Особенности действия мелафена в сверхмалых дозах на синтез алкалоидов культурой ткани раувольфии змеиной при его длительном применении/ Тезисы докладов IV Международного симпозиума «Механизмы действия сверхмалых доз», 2008. С. 53 – 54.
13. Красильникова Л.А., Авксентьева О.А., Жмурко В.В., Садовниченко Ю.А. Биохимия растений: учебное пособие.- Ростов-на-Дону: Феникс, 2004. 224с.
14. Ловкова М.Я. Биосинтез и метаболизм алкалоидов в растениях. - М.: Наука, 1981. 171 с.
15. Лукнер М. Вторичный метаболизм у микроорганизмов, растений и животных. - М.: Мир, 1979. 550 с.
16. Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Новая Волна, 2002. Ч. 1. - 539 с. Ч. 2. - 608 с.
17. Носов А.М. Вторичный метаболизм/ Физиология растений/ Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. и др./Под ред. И.П.Ермакова. - М.: Академия, 2005. 640 с.
18. Пасешниченко В.А. Растения – продуценты биологически активных ве-

ществ/ Соросовский образовательный журнал, 2001. Т.7. № 8. С.13-19.

19. Песяк С.В., Комлева Е.В., Карначук Р.А. Оптимизация условий культивирования каллусной культуры полыни однолетней/Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология. - М.: ИД ФБК-ПРЕСС, 2008. С.294.

20. Попов А.М. Противоопухолевая активность вторичных метаболитов морских беспозвоночных/Вестник ДВО РАН. 2006. № 5. С. 81-90.

21. Рабинович С.А., Смирнов А.М. Алкалоиды каллусных тканей *Papaver bracteatum* Lindl /Культура клеток растений и биотехнология/ Под ред. Р.Г.Бутенко. - М.: Наука, 1986. С.63-66.

22. Сиянова Н.С, Неуструева С.Н. Оптимизация условий выращивания культуры ткани раувольфии змеиной/ Ученые записки Казанского государственного университета, 2008. Т.105, кн.2. С.201 – 223.

23. Солдатенков А.Т., Колядина Н.М., Шендрик И.В. Основы органической химии лекарственных веществ. - М.: Мир, 2003. 192 с.

24. Чечеткин И.Р., Неуструева С.Н., Сиянова Н.С., Винтер В.Г. Влияние экстремальных факторов на накопление алкалоидов в культуре ткани *Rauwolfia serpentina* Benth./Растительные ресурсы. 2001.Т.37, вып.2. С.90-95.

25. Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E. Production of Plant Secondary Metabolites: a Historical Perspective/ Plant Science. 2001. V.161. PP.839-851.

26. Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. Natural Products (Secondary Metabolites). In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, Buchanan B., Gruissem W., Jones R, Eds. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, 2000. PP.1251-1317.

27. Davies K. Transcriptional Regulation of Secondary Metabolism /Functional Plant Biology. 2003. V. 30. PP. 913-925.

28. Gershenzon J. Plant Defenses: Surface Protectants and Secondary Metabolites. In *Plant Physiology*, 3rd ed., L.Taiz and E.Zeiger, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 2003. PP. 347-376.

29. Parkhimovich I.V., Fatykhova D.G., Abdrakhimova Y.R., Ilinskaya O.N. Antimutagenic Activities of Cellular Juices from Various Medicinal Plants/Abstracts of the 13th Symposium for Biology Students of Europe «SymBioSE 2009» «Biology: Expansion of Borders», Kazan, 2009. P.91.

30. Sato F., Hashimoto T., Hachiya A., et al. Metabolic Engineering of Plant Alkaloid Biosynthesis/ Proceed. of the National Academy Science USA. 2001. V.98. PP. 367-372.

31. Yun D.J., Hashimoto T., Yamada Y. Metabolic Engineering of Medicinal Plants: Transgenic *Atropa belladonna* with an Improved Alkaloid Composition// Proceed. of the National Academy Science USA. 1992. V.89. PP. 11799-11803.

32. Xu M.J., Dong J.F. Nitric Oxide stimulates Indole Alkaloid Production in *Catharanthus roseus* Cell Suspension Cultures through a Protein Kinase-dependent Signal Pathway / Enzyme and Microbial Technology. 2005. V.37, iss.1. PP. 49-53.

33. Zhu W., Pryor S., Putnam J. et al. Opiate Alkaloids and Nitric Oxide Production in the Nematode *Ascaris suum* /J. of Parasitology. 2004. V.90, iss.1. PP.15-22.

Программа дисциплины «Вторичный метаболизм растений»

Программа дисциплины включает рассмотрение основных аспектов вторичного метаболизма растений (физиология, биохимия и фитохимия), а именно характеристику принципов классификации, строения, распространения в природе основных групп вторичных метаболитов. Особое внимание уделяется их роли в жизнедеятельности растений, биохимическим механизмам действия и практическому применению важнейших представителей.

№ п/п	Название темы и ее содержание
1	Понятия о первичных и вторичных метаболитах; условность их разделения. Общая характеристика и признаки вторичных метаболитов. Особенности вторичного метаболизма у растений. Принципы и основные типы классификации вторичных веществ – эмпирическая, химическая, биохимическая, функциональная.
2	Физиологическая роль вторичных метаболитов; факторы, влияющие на их содержание. Внутриклеточная и тканевая локализация; методы их идентификации.
3	Группа изопреноидов: особенности строения, разнообразие и важнейшие представители геми-, моно-, сескви-, ди-, тритерпеноидов. Ациклические и моно-, би-, трициклические терпеноиды. Политерпеноиды. Биосинтез изопреноидов: мевалонатный и альтернативные пути, их локализация и продукты.
4	Эфирные масла: химический состав, свойства, распространение, локализация и физиологическая роль. Основные способы получения эфирных масел и практическое использование. Фитонциды и защитные силы растений и организма человека (учение Б.П.Токина). Разнообразие химического состава фитонцидов; летучие и нелетучие фитонциды. Фитонциды и их роль в явлении аллелопатии. Смолы: состав, свойства, получение, применение.
5	Растительные стероиды и их производные: фитостерины, фитоэкдизоны, псевдоалкалоиды, агликаны сердечных гликозидов и сапонинов. Циклопентанпергидрофенантроновое ядро, холестериновые и холестановые скелеты. Гликозилирование как способ изменения биологической активности молекул. Сердечные гликозиды: особенности строения и биохимического действия. Сапонины: строение, классификация, уникальные свойства, применение, сырьевая база. Биотехнологические способы культивирования женьшеня и других источников сапонинов.

6	Алкалоиды: открытие, химические свойства, распространенность в растительном царстве. Факторы, влияющие на содержание алкалоидов в растениях (таксономические, климатические, почвенные, сезонные, возрастные, органоспецифичные, внутривидовые и др.). Гипотезы физиологической роли алкалоидов.
7	Классификации алкалоидов по структуре N-гетероцикла (А.П. Орехов). Протоалкалоиды и истинные алкалоиды (производные пирролидина, пиридина, пиперидина, хинолизидина, хинолина, изохинолина, индола, пурина и др.): строение, важнейшие представители, молекулярно-биохимические механизмы действия и практическое применение. Особенности псевдоалкалоидов. Классификация алкалоидов по предшественнику (Т.Робинсон). Основные типы реакций при биосинтезе и модификациях молекул алкалоидов.
8	Строение, природное разнообразие, физиологическая роль, биохимические механизмы действия и практическое использование растительных фенолов. Физиолого-биохимические аспекты метаболизма растительных фенолов. Основные пути биосинтеза растительных фенолов. Шикиматный путь как особенность метаболизма растений: значение и факторы активации. Биогенетическое родство фенольных соединений.
9	Классификация природных фенолов по биогенетическому принципу - соединения C_6- , C_6-C_1- , C_6-C_3- , C_6-C_4- , $C_6-C_2-C_6-$, $C_6-C_3-C_6-$, $C_6-C_3-C_3-C_6-$, $(C_6-C_3)_n-$, $(C_6)_n-$, $(C_6-C_3-C_6)_n$ - ряда. Простые фенолы и фенолоспирты. Особая роль салициловой кислоты в метаболизме растений. Группы и физиологическое значение фенилпропаноидов и их производных. Особенности биосинтеза, классификация и разнообразие флавоноидов. Флавоноиды как антиоксиданты и пигменты растений. Группы полимерных фенольных веществ, их мономеры. Танины: природа, распространение, биохимическое действие, применение, классификация.
10	Минорные группы вторичных метаболитов: общая характеристика, классификация, природное разнообразие. Серосодержащие (тиогликозиды или глюкозинолаты и аллицины) и цианогенные гликозиды. Минорные (небелковые) аминокислоты, липиды и др. Перспективы получения физиологически активных соединений вторичного происхождения биотехнологическими и генно-инженерными методами.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Что является предметом изучения в курсе «Вторичный метаболизм растений»?
2. Кто впервые предложил термины «первичные» и «вторичные метаболиты»? В чем заключается условность такого деления?
3. Какое вторичное вещество было выделено первым в истории фитохимии?
4. Назвать характерные признаки и определение вторичных метаболитов.
5. В чем заключаются особенности вторичного метаболизма у растений?
6. Какие методы используются для идентификации вторичных соединений?
7. Какие существуют принципы классификаций вторичных соединений? В чем их преимущества и недостатки?
8. Назовите основные классы вторичных соединений. Почему из них исключен класс гликозидов?
9. Дать общую характеристику изопреноидов и их классификации.
10. Как происходит биосинтез терпеноидов? Правило Валлаха и Ружички.
11. Какие соединения являются исходными и промежуточными в биосинтезе терпеноидов? Какие основные ферменты участвуют?
12. Чем различаются классический и альтернативный пути биосинтеза терпеноидов?
13. Дайте определение эфирных масел. Какие соединения входят в их состав?
14. Перечислите физические и химические свойства эфирных масел.
15. Почему название «эфирные масла» является неверным?
16. Каковы функции и локализация в растениях эфирных масел?
17. Расскажите о способах получения эфирных масел. На чем они основаны?
18. Назовите основные эфирномасличные растения и их применение.
19. Перечислите распространенные в природе терпеноиды – компоненты эфирных масел.
20. Назовите основные положения учения о фитонцидах.
21. Какие важные соединения относятся к группе сескви- и дитерпеноидов?
22. Что является общим для большинства тритерпеноидов?
23. Назовите основные классы и значение тритерпеноидных производных.
24. Что представляют собой сапонины и в чем их уникальные свойства?
25. Назовите основные виды лекарственного сырья - источников сапонинов.
26. Какие источники сапонинов в основном культивируемые *in vitro*?
27. Чем характеризуется структура агликона сердечных гликозидов?
28. Перечислите физиолого-биохимические механизмы действия карденолидов. В чем заключается их кумулятивный эффект?
29. Какие соединения относятся к политерпенам? Назовите их физиологическую роль и использование.

30. Дайте определение алкалоидов.
31. Какие растения относят к высокоалкалоидным - рекордсменам по содержанию алкалоидов? Привести примеры.
32. В каком виде и где алкалоиды содержатся в клетке?
33. Каковы основные этапы и группы реакций в биосинтезе алкалоидов?
34. Перечислите соединения – предшественники алкалоидов.
35. Назовите факторы, влияющие на накопление алкалоидов.
36. Каковы физиологические функции алкалоидов? Привести примеры.
37. Какие факты свидетельствуют в пользу коэволюции алкалоидных растений и специализированных фитофагов?
38. На каких принципах основаны разные классификации алкалоидов?
39. В чем состоят особенности строения и биосинтеза протоалкалоидов?
40. Назовите важнейших представители протоалкалоидов и их применение.
41. На чем основан механизм действия колхицина?
42. Проведите сравнительный анализ никотина и анабазина по источникам, строению, механизмам действия и использованию.
43. В чем сходство и различия тропановых алкалоидов?
44. В чем заключаются биохимические и фармакологические эффекты тропановых алкалоидов?
45. Каково значение для человечества алкалоидов – производных хинолина?
46. Какие алкалоиды относятся к опиным (опиатным)?
47. Дайте характеристику механизмов действия, применения и встречаемости в природе опиатных алкалоидов.
48. Расскажите об основных реакциях и ферментах биосинтеза изохинолиновых алкалоидов.
49. Перечислите фармакологически важные производные ретикулина.
50. В чем причина наркомании и сложности решения этой проблемы?
51. Что такое кураре? На чем основывается его применение?
52. Какие алкалоиды относятся к индольным?
53. В чем состоят особенности синтеза индольных алкалоидов?
54. Назовите алкалоиды раувольфии змеиной. В чем их ценность?
55. Каково значение для медицины и пути биосинтеза алкалоидов-димеров барвинка розового?
56. Что представляет собой «маточные рожки»? Как они культивируются?
57. Какова структурная основа эргоалкалоидов и механизмов их действия?
58. В каких растениях содержатся производные пурина?
59. В чем заключаются особенности действия кофеина и привыкания к нему?
60. Какие соединения и почему отнесены к псевдоалкалоидам?
61. Каково значение биотехнологии в алкалоидологии?

62. Дайте общую характеристику фенольных соединений.
63. Каковы основные пути биосинтеза фенольных соединений? Чем в этом отношении отличаются растительные клетки от животных?
64. Какими факторами индуцируется биосинтез растительных фенолов?
65. На чем основана классификация растительных фенолов?
66. Назовите представителей и значение простых фенолов и фенолоксилов.
67. На чем основана физиологическая роль салициловой кислоты?
68. Перечислите важнейшие производные гидроксикоричных кислот.
69. Как образуются кумарины и дикумарины?
70. В чем заключается специфика строения и фармакологического действия фурукумаринов?
71. В чем состоят особенности строения и биосинтеза флавоноидов?
72. На чем основана классификация флавоноидов?
73. Назовите биологические эффекты и основных представителей флавоноидов. Какие группы флавоноидов являются наиболее восстановленными?
74. От чего зависит окраска антоцианов?
75. К какой группе фенольных веществ относятся лигнаны?
76. Какие фенольные соединения являются полимерными? Что служит их мономерами?
77. Что представляет собой лигнин и его значение в жизнедеятельности и эволюции растений?
78. Чем растительные меланины отличаются от животных?
79. Охарактеризуйте дубильные вещества и их основные классы.
80. Что представляет собой процесс дубления кожи?
81. Расскажите о физиологическом значении, распространении в природе и практическом применении дубильных веществ.
82. Перечислите основные группы минорных вторичных метаболитов.
83. Какие серосодержащие вторичные соединения являются наиболее известными? В чем заключаются механизмы их действия?
84. Назовите особенности строения и метаболизма цианогенные гликозидов.
85. В чем заключается токсичность большинства небелковых аминокислот?
86. Расскажите о перспективах получения основных групп вторичных метаболитов биотехнологическим способом.
87. Каковы преимущества и недостатки биотехнологического метода перед традиционным культивированием лекарственных растений?
88. Что представляет собой метаболическая инженерия и каковы ее возможности? Расскажите об успешных разработках в данном направлении.
89. Какие виды лекарственного сырья и почему в настоящее время получают преимущественно биотехнологическим путем?

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЛКАЛОИДОВ	5
ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ АЛКАЛОИДОВ	8
БИОСИНТЕЗ АЛКАЛОИДОВ	11
КЛАССИФИКАЦИЯ АЛКАЛОИДОВ	13
Протоалкалоиды	14
Истинные алкалоиды	14
Псевдоалкалоиды	30
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	31
ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА	33
Программа дисциплины «Вторичный метаболизм растений»	35
КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ	37
СОДЕРЖАНИЕ	40

Хочу выразить признательность всем ускорившим издание этого пособия - Правительству и Министерству образования и науки РТ за предоставление гранта на стажировку в Московском госуниверситете и Институте физиологии растений РАН (Москва, 2009); профессору МГУ, заведующему отделом биологии клетки и биотехнологии ИФР РАН, д.б.н. Носову Александру Михайловичу – за результативное кураторство стажировкой и дальнейшее сотрудничество; заведующему группой регуляции дыхания растений ИФР РАН, д.б.н. Шугаеву Александру Григорьевичу - за постоянную поддержку и помощь в реализации научных поисков; н.с. лаборатории культуры клеток растений кафедры биохимии КГУ Козловой Регине Юрьевне - за ценные замечания и предложения, а также программисту «ТатАИСЭнерго» Абдрахимовой Дильбар Фаритовне - за неоценимую помощь в компьютерной обработке иллюстраций.