

Министерство образования Республики Беларусь
Белорусский государственный университет
Факультет биологический
Кафедра биохимии

СОГЛАСОВАНО

Заведующий кафедрой

_____ Семак И.В.

«30» декабря 2024 г.

СОГЛАСОВАНО

Декан факультета

_____ Хрусталеv В.В.

«16» января 2025 г.

М.П.

Биохимия лекарственных растений

Электронный учебно-методический комплекс с креативным компонентом
для специальности

6-05-0511-02 «Биохимия»,

Профилизация: «Аналитическая и фармацевтическая биохимия»

Регистрационный № 2.4.2-24 / 596

Автор:

Шапчиц М.П. канд. биол. наук, доцент

Рассмотрено и утверждено на заседании Научно-методического совета БГУ
20.02.2025 г., протокол № 7.

Минск 2025

УДК 581.19:633.88(075.8)+615.322(075.8)

Ш 248

Утверждено на заседании Научно-методического совета БГУ.
Протокол № 7 от 20.02.2025 г.

Решение о депонировании вынес
Совет биологического факультета.
Протокол № 6 от 16.01.2025 г.

Автор:

Шапчиц Мария Павловна, кандидат биологических наук, доцент, кафедра биохимии, биологический факультет, Белорусский Государственный Университет

Рецензенты:

кафедра биотехнологии Учреждения образования «Белорусский Государственный Технологический Университет» (заведующий кафедрой Леонтьев В. Н., кандидат химических наук, доцент);

Филипцова Г. Г., доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений Учреждения образования «Белорусский Государственный Университет», кандидат биологических наук, доцент.

Шапчиц, М.П. Биохимия лекарственных растений : электронный учебно-методический комплекс с креативным компонентом для специальности 6-05-0511-02 «Биохимия» / М.П. Шапчиц ; БГУ, Фак. биологический, Каф. биохимии. – Минск : БГУ, 2025. – 207 с.– Библиогр.: с. 203-204.

Электронный учебно-методический комплекс предназначен для студентов специальности 6-05-0511-02 «Биохимия», профилизация: «Аналитическая и фармацевтическая биохимия». Содержание ЭУМК предполагает изучение следующих вопросов: общие представления о химическом составе растений, вторичный метаболизм лекарственных растений, использование клеточных культур растений в качестве лекарственного растительного сырья для создания лекарственных препаратов.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА.....	5
1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ.....	8
1.1. Введение в биохимию лекарственных растений.....	8
1.2. Химический состав лекарственных растений.....	15
1.2.1. Общее представление о химическом составе растений.....	15
1.2.2. Полисахариды растений.....	29
1.2.3. Органические кислоты растений.....	41
1.3. Вторичный метаболизм лекарственных растений.....	48
1.3.1. Особенности вторичного метаболизма лекарственных растений	48
1.3.2. Общая характеристика растительных изопреноидов.....	60
1.3.3. Биосинтез изопреноидов в растениях.....	67
1.3.4. Эфирные масла растений	71
1.3.5. Общая характеристика алкалоидов.....	87
1.3.6. Биосинтез алкалоидов в растениях и их фармакологические свойства	97
1.3.7. Общая характеристика фенольных соединений	111
1.3.8. Биогенез фенольных соединений.....	141
1.3.9. Минорные группы вторичных метаболитов растений.....	154
1.4. Использование клеточных культур растений в качестве лекарственного растительного сырья для создания лекарственных препаратов	166
1.4.1. Новый биотехнологический метод получения лекарственного растительного сырья.....	166
1.4.2. Особенности биосинтеза вторичных метаболитов в культуре клеток и тканей	173
2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ.....	187
Лабораторная работа №1	187
Лабораторная работа № 2.....	191
Лабораторная работа №3	195
3. РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ.....	199
3.1. Структура рейтинговой системы.....	199
3.2. Вопросы, темы рефератов и задание с креативным компонентом для УСР	199
3.4. Вопросы для подготовки к зачету.....	203

4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ.....	206
4.1. Рекомендуемая литература.....	206
Основная литература	206
Дополнительная литература	206
4.2. Электронные ресурсы.....	207

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) с креативным компонентом по учебной дисциплине «Биохимия лекарственных растений» предназначен для студентов специальности 6-05-0511-02 «Биохимия» Профилизация: «Аналитическая и фармацевтическая биохимия» биологического факультета Белорусского государственного университета. ЭУМК является необходимой методической основой для обеспечения высокого качества образовательного процесса, формирования необходимых профессиональных компетенций у обучающихся.

Актуальность изучения дисциплины «Биохимия лекарственных растений» обусловлена необходимостью разработки новых лекарственных препаратов на основе веществ растительного происхождения, предназначенных для профилактики и лечения широкого спектра заболеваний. Эта задача требует глубокого понимания вопросов, связанных с химическим составом растений, ролью первичных и в особенности вторичных метаболитов в жизни растения. Кроме того, необходимо глубокое понимание вопросов, связанных с биосинтезом биологически активных веществ, механизмом их действия на биологические процессы. И наконец, необходимы знания химической структуры, методов выделения и биологической активности веществ лекарственных растений, входящих в состав лекарственных препаратов, применяемых в медицине.

Цель учебной дисциплины – познакомить студентов с основными классами фармакологически активных веществ, входящих в состав лекарственных растений, их химическим строением, физико-химическими свойствами и медико-биологическим значением, а также методами выделения и очистки фармакологически активных веществ из лекарственных растений и методами их количественного определения.

Задачи учебной дисциплины:

- сформировать у студентов целостную систему знаний о биохимии лекарственных растений;
- закрепить теоретические положения лекционного курса на лабораторных занятиях.

Учебная дисциплина «Биохимия лекарственных растений» относится к циклу дисциплин специализаций компонента учреждений высшего образования первой ступени и предназначена для студентов специальности 6-05-0511-02 «Биохимия» Профилизация: Аналитическая и фармацевтическая биохимия.

Назначение ЭУМК с креативным компонентом по дисциплине «Биохимия лекарственных растений» заключается в реализации требований образовательного стандарта и учебной программы, обеспечение непрерывности и полноты процесса обучения, систематизации и контроля знаний.

ЭУМК рекомендуется применять на лабораторных и практических занятиях по дисциплине «Биохимия лекарственных растений», в ходе выполнения заданий управляемой самостоятельной работы студентов, в том числе

размещенных на Образовательном портале БГУ LMS Moodle, подготовке к текущему и итоговому контролю знаний по темам дисциплины.

Содержание ЭУМК соответствует образовательному стандарту специальности «Биохимия» и учебной программе дисциплины «Биохимия лекарственных растений» профилизация: Аналитическая и фармацевтическая биохимия. Содержательная часть отражает современные научные достижения в биохимии лекарственных растений. В необходимой мере изложены практические вопросы по выделению веществ из растений и методам, используемым в исследованиях растительных метаболитов.

Структура ЭУМК включает теоретический раздел, практический раздел, раздел контроля знаний, вспомогательный раздел.

Теоретический раздел соответствует темам учебной программы и включает такие вопросы как химический состав лекарственных растений, вторичный метаболизм лекарственных растений, использование клеточных культур растений в качестве лекарственного растительного сырья для создания лекарственных препаратов. Особое внимание уделено структуре растительных метаболитов и биосинтезу биологически активных веществ в растениях.

Практический раздел включает задания для проведения лабораторных занятий, управляемой самостоятельной работы с выраженным креативным компонентом, которые соответствуют учебной программе. Структура каждого занятия учитывает возможность его самостоятельного выполнения студентами и включает название темы, цель, форму проведения занятия, порядок выполнения работ, исходные данные.

Раздел контроля знаний содержит материалы, позволяющие определить соответствие результатов учебной деятельности обучающихся требованиям образовательного стандарта и учебно-программной документации по специальности. Данный раздел включает примерный перечень вопросов к зачёту, заданий в тестовой форме, а также перечень рекомендуемых средств.

Цель ЭУМК с креативным компонентом по дисциплине «Биохимия лекарственных растений» заключается в повышении эффективности управления образовательным процессом с помощью внедрения инновационных образовательных технологий, обеспечения подготовки высококвалифицированных специалистов.

В результате освоения учебной дисциплины студент должен:

знать: - основные классы фармакологически активных веществ, входящих в состав лекарственных растений;

- химическое строение и свойства соединений, относящихся к каждому классу;

- медико-биологические свойства фармакологически активных веществ;

- особенности выделения соединений разных классов из растительного сырья;

- методы исследования и количественного анализа соединений, выделяемых из лекарственных растений;

уметь:

- выделять фармакологически активные вещества из лекарственных растений;
- определять наличие и исследовать соединения, выделенные из растительного сырья;
- использовать количественные методы анализа для оценки содержания фармакологически активных веществ в растительном сырье

владеть:

- методами качественного и количественного анализа фармакологически активных соединений в лекарственных растениях;
- методами выделения и очистки фармакологически активных соединений из растительного сырья, сохраняющими их свойства;
- основными приемами обработки и анализа экспериментальных данных.

Дисциплина изучается в 3 семестре (очная форма получения образования) и в 3-4 семестрах (заочная форма получения образования). Всего на изучение учебной дисциплины «Биохимия лекарственных растений» отведено:

– для очной формы получения высшего образования – 108 часа, в том числе 46 аудиторных часов, из них: лекции – 30 часа, лабораторные занятия – 12 часов, управляемая самостоятельная работа – 4 часа;

– для заочной формы получения высшего образования – всего 108 часа, в том числе 12 аудиторных часов, из них: лекции – 8 часов (3 семестр), лабораторные занятия – 4 часа (4 семестр).

Трудоемкость учебной дисциплины составляет 3 зачетные единицы.

Форма текущей аттестации – зачет.

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

1.1. Введение в биохимию лекарственных растений

Уже на самых ранних стадиях развития человечества растения были не только источником питания для людей, они помогали человеку избавиться от болезней. Самые ранние исторические записи о лекарственных растениях относятся к шумерской цивилизации, где на глиняных табличках перечислены сотни лекарственных растений, включая горчицу, пихту, сосну, чабрец, иву, плоды сливы, груши, инжира и др.

Древние литературные источники свидетельствуют об употреблении лекарственных растений разными народами.

Культуру и знания древних шумеров унаследовали вавилоняне, которые применяли в лечебных целях корень солодки, дурман, белену, льняное семя и др. Вавилоняне заметили, что солнечный свет отрицательно воздействует на целебные свойства некоторых растений, поэтому сушили их в тени, а некоторые травы даже собирали ночью. Широко применялись растения в Китае, Индии, Тибете. Ещё в 3216 году до н. э. китайский император Шэньнун написал работу по медицине «Бэнь-цао» («Травник»), значительная часть которой посвящена описанию растительных средств. Традиционная китайская медицина уже тогда использовала более 1500 растений, наиболее часто в ней применялись астрагал, женьшень, имбирь, кизил, корица, лимонник китайский, лук, кожура мандарина, примула, солодка, спаржа, чеснок, шлемник.

Древнеиндийская медицина, изложенная в «Аюрведе» (I в. до н. э.), использовала около 800 растений, которые используются и в настоящее время. С III в. н. э. в Индии началось возделывание лекарственных растений.

В трактате «Чжуд ши» по тибетской медицине, возникшей на основе индийской медицины, есть большой раздел, посвящённый использованию лекарственных растений. В тибетской медицине применяют около 400 видов лекарственных растений.

В книге Авиценны «Канон врачебной науки» (1023 г н.э.) приведены описания и способы применения примерно для 900 растений.

С появлением особого сословия врачей и аптекарей знания о лекарственных растениях были формализованы. Сведения о лекарственных растениях и требования к лекарственному сырью стали излагать в фармакопеях.

В настоящее время важнейшие лекарственные средства, получаемые из растений, перечислены и подробно охарактеризованы в специальных изданиях. В нашей стране эти сведения собраны в Государственный реестр наименований лекарственных средств, разрешенных для применения в медицинской практике и к промышленному производству, и в Государственную фармакопею Республики Беларусь.

По состоянию на начало 2010 года по данным Международного союза охраны природы (IUCN), было описано около 320 тысяч видов растений, из них лишь небольшая часть – 21 тысяча видов – используется в медицине.

В целом в мире несмотря на огромные успехи химиков-синтетиков, из растений получают более трети лекарственных препаратов, поскольку структура многих из них настолько сложна, что растения еще долго будут их единственным источником. В некоторых фармако-терапевтических группах лекарственные средства, полученные из растений, даже достигают почти 70% (например, препараты, применяемые при лечении сердечно-сосудистых заболеваний).

В Республике Беларусь встречается свыше 4300 видов растений, содержащих различные биологически активные вещества. В качестве лекарственных растений в нашей стране используется около 270 видов, в том числе около 150 видов в качестве сырья для химико-фармацевтической промышленности. Около 90 видов лекарственных растений после первичной обработки поступает непосредственно в аптеки. Более $\frac{3}{4}$ всей номенклатуры заготавливаемого сырья дают дикорастущие растения. В Беларуси средства растительного происхождения составляют около 40 % ассортимента лекарственных средств и потребности в них удовлетворяются главным образом за счет импорта сырья и готовой продукции.

Растения отличаются от бактерий и особенно от животных поразительным многообразием биосинтетических процессов, конечными продуктами которых является множество биологически активных соединений самого разного химического строения.

Несомненными преимуществами получения лекарств из растений являются широкий спектр их биологической активности (седативные, мочегонные, слабительные, отхаркивающие, противоопухолевые и др. средства) и их экологическая безопасность.

Некоторые вещества, получаемые из растений, не используются непосредственно с лечебной целью, но служат исходными продуктами для синтеза эффективных лекарственных веществ (например, гликоалкалоиды паслена дольчатого – для синтеза гормонов прогестерона и кортизона; алкалоид крестовника – сенецифиллин – для синтеза миорелаксанта диплацина).

Применение лекарственных средств растительного происхождения в современной медицине лежит в основе фитотерапии (лечение растениями) и отчасти медикаментозной терапии.

Особое значение приобрели растения, в том числе лекарственные, в качестве главных компонентов так называемых биологически активных добавок (БАД), получивших значительное распространение как неспецифические средства, способствующие повышению общего тонуса организма человека, стимуляции обмена веществ и т.д.

В основе биохимии лекарственных растений лежит биохимия растений, в особенности биохимия вторичного метаболизма растений. В задачи биохимии лекарственных растений входит изучение: основных классов фармакологически активных веществ, входящих в состав лекарственных растений; биосинтеза,

химического строения и свойств соединений, относящихся к каждому классу; медико-биологических свойств растительных фармакологически активных веществ; особенностей выделения соединений разных классов из растительного сырья и методов исследования и количественного анализа соединений, выделяемых из лекарственных растений.

Биохимия лекарственных растений является неотъемлемой частью, одной из теоретических основ современной фармакогнозии и тесно связана с биохимией и физиологией растений и животных, фармакологией и другими дисциплинами.

Лекарственные растения – это дикорастущие или культивируемые растения, органы или части которых являются сырьём для получения средств, используемых в народной, медицинской или ветеринарной практике с лечебными или профилактическими целями.

В качестве лекарственных растений в начале XXI века широко используются аир, алое, брусника, девясил, зверобой, календула, клюква, малина, мать-и-мачеха, мята, облепиха, подорожник, расторопша, ромашка, солодка, тысячелистник, шалфей, шиповник, каллизия или «золотой ус» и многие другие.

Возможность использования растений в лечебных целях зависит от вида медицины, в которой они используются (официальной или народной). Например, в системах здравоохранения Беларуси и России могут использоваться только те лекарственные растения, которые включены в Государственный реестр лекарственных средств.

Обычно выделяют следующие категории лекарственных растений:

Официальные лекарственные растения – растения, сырьё которых разрешено для производства лекарственных средств в стране. Эти виды лекарственного растительного сырья указаны в Государственном реестре лекарственных средств.

Фармакопейные лекарственные растения – официальные растения, требования к качеству лекарственного растительного сырья которых изложены в соответствующей статье Государственной Фармакопеи или международных фармакопей.

Лекарственные растения народной медицины – наиболее широкая категория, большинство растений в ней относительно плохо описано, и сведения об эффективности их применения не прошли необходимой проверки средствами современной фармакологии. Тем не менее, многие растения этой группы активно используются в странах, где медицинская помощь недоступна или слишком дорога.

В традиционной медицине используют официальные и фармакопейные лекарственные растения.

Однако не все лекарственные растения, которые непосредственно или в виде разных препаратов продаются в аптеках, описаны в Государственной фармакопее. В фармакопею включены наиболее важные, часто применяемые растения или получаемые из них препараты. Помимо того, известно значительное количество лекарственных растений, не пользующихся вниманием научной медицины в связи с их недостаточной изученностью, относительно

малой эффективностью или просто забытых. «Забытые» растения, числившиеся в начале XIX в. в фармакопеях, постепенно вышедшие из употребления, тем не менее традиционно ценятся населением; часто «забытые» растения после современной научной проверки вновь включают в фармакопею.

Классификация лекарственных растений и лекарственного растительного сырья

Существует несколько классификаций лекарственных растений (ЛР) и лекарственного сырья (ЛРС).

Наиболее распространены следующие классификации ЛР и ЛРС. таксономическая, морфологическая, фармако-терапевтическая, химическая.

Таксономическая классификация

В её основе лежит существующая в ботанике таксономическая система растений. Таксономическая классификация применяется в поиске и изучении новых лекарственных растений. Считается, что растения, относящиеся к одному семейству, роду, содержат одинаковые или схожие биологически активные вещества.

Морфологическая классификация

В её основе лежит наименование органа или части официального растения, которые используются в качестве ЛРС (цветки, корневища, семена и др.).

Фармако-терапевтическая классификация

С помощью этой систематизации можно получить представление о фармаколого-терапевтическом значении лекарственных средств, получаемых из ЛРС.

Необходимо только учитывать, что из одного и того же ЛРС можно с помощью технологических приемов и способов получать лекарственные субстанции (отвары, настои, настойки, экстракты), обладающие различным, иногда с противоположным, воздействием на организм.

В соответствии с этой классификацией ЛР (лекарственных растений) и ЛРС (лекарственных растительных средств) выделяют следующие группы: ЛР и ЛРС – источники противовоспалительных средств, антимикробных средств, сердечно-сосудистых средств, слабительных средств, гипотензивных лекарственных средств, седативных лекарственных средств, желчегонных лекарственных средств, мочегонных лекарственных средств и т.п.

Химическая классификация

Выделяют следующие классы:

ЛР и ЛРС, содержащие БАВ или ДВ (действующие вещества), являющиеся соединениями первичного метаболизма: ЛР и ЛРС, содержащие витамины, жиры, ферменты, полисахариды;

ЛР и ЛРС, содержащие БАВ или ДВ, являющиеся продуктами вторичного метаболизма растений: ЛР и ЛРС, содержащие терпеноиды (эфирные масла, горечи), сердечные гликозиды, фитоэкдизоны, сапонины, алкалоиды, флавоноиды, дубильные вещества, антраценпроизводные, кумарины, хромоны, ксантоны, простые фенолы, фенологликозиды, лигнаны;

ЛР и ЛРС, содержащие вещества различного химического состава.

Данная классификация в определенной степени универсальна и совмещает в себе как фармако-терапевтическую, так и ботаническую (таксономическую) классификации. Известно, что растения близкие по химическому составу БАВ часто близки и в ботаническом отношении, а фитопрепараты из них обладают близкими фармакологическими свойствами. Классификация по химической структуре БАВ удобна для разработок унифицированных методов качественного и количественного химического анализа качества ЛРС. Знание химической природы БАВ позволяет разрабатывать способы обеспечения высокого уровня действующих веществ при производстве (сборе, сушке, транспортировании и хранении) ЛРС, а также позволяет оптимально решать технологические вопросы при переработке ЛРС.

Однако ни одну из названных классификаций нельзя признать абсолютной, т.к. любое ЛРС содержит в себе сложный комплекс известных и неизвестных БАВ, а также сопутствующих веществ с различной, порой даже противоположной, биологической активностью.

Возможно, еще задолго до появления на Земле человека животные «использовали» целебные свойства некоторых растений. Известно, что кошки и собаки при некоторых заболеваниях едят траву – преимущественно листья злаков, лекарственные свойства которых пока что мало изучены. Научная проверка этих сведений могла бы быть весьма интересной во многих отношениях. Вполне вероятно, что наблюдения за животными могли бы нам подсказать новые, до сих пор неизвестные лекарственные растения.

*В 1978 году американский эколог Дэниэл Янсен предположил, что травоядные позвоночные могут использовать содержащиеся в растениях биологически активные вещества для поправки здоровья. С тех пор сделано много наблюдений подобного рода, главным образом на человекообразных обезьянах. Шимпанзе, живущие к югу от Сахары, поедают горькую сердцевину маленького тоненького деревца вернонии *Vernonia amygdalina*. У вернонии сладкие листья, но обезьяны предпочитают горькую часть растения, которая содержит биологически активные вещества, обладающие многими полезными свойствами, в том числе и глистогонными.*

Наблюдения показали, что к помощи лекарственных растений прибегают многие виды животных, в том числе и беспозвоночные, причем такие, у которых вряд ли есть когнитивные способности. Но установить факт самолечения в полевых условиях крайне сложно. Да, больное животное жует какие-то растения, однако на то ведь оно и травоядное. Надо еще доказать, что от этих трав ему стало лучше или без них было бы хуже. Кроме того, как муравей, муха или гусеница понимают, что им нужно лечиться?

Ученые из Университета Уэсли (США) под руководством Майкла Сингера предположили, что самолечение животных – проявление адаптивной пластичности, то есть способности привыкнуть к внезапно изменившейся ситуации. Адаптивная пластичность не требует осознанных действий. Если это так, то самолечение должно удовлетворять нескольким условиям. Его программа реализуется не постоянно, а включается в ответ на заболевание,

например заражение паразитом. Кроме того, самолечение должно быть полезно больному животному, а здоровому вредить. Тут можно позволить себе аналогию с человеком, которому прописали антибиотики. Они вредны, поскольку убивают жизненно необходимую микрофлору, но при серьезной инфекции приходится идти на жертвы, чтобы выздороветь.

Имея в виду эти теоретические предпосылки, исследователи протестировали пищевое поведение бабочек-медведиц *Grammia incorrupta* в ответ на заражение смертельным для них паразитом ежемухой *Exorista mella*. Муха откладывает яйца в тело гусениц, и развивающиеся в нем личинки губят насекомое. Известно, однако, что гусеницы усваивают непитательные растительные токсины, пирролизидиновые алкалоиды, которые накапливаются в «крови» и покровах гусениц.

Исследователи поместили собранных в природе гусениц в пластиковые чашки и кормили бумажными кружочками, пропитанными алкалоидом или раствором сахарозы. Взвешивая бумажки, можно определить, сколько гусеница съела. Оказалось, что зараженные гусеницы вдвое охотнее поглощали алкалоиды, чем сахарозу, причем растительные токсины повышали их устойчивость к паразиту. Отравленные алкалоидом личинки ежемухи гибнут на ранней стадии, и зараженные ими гусеницы выживают. Но токсин есть токсин, когда его приходится поедать здоровым гусеницам, они умирают чаще, чем те, которым дают сахарозу. Таким образом, пищевое поведение *G. incorrupta* полностью соответствовало представлению о самолечении как проявлении адаптивной пластичности. Кстати, пример с гусеницами бабочек-медведиц интересен еще и тем, что после атаки паразита они не искали какое-то специальное средство, а просто увеличили потребление растений, которые и так входят в их рацион.

В настоящее время производство лекарственного растительного сырья культивируемых лекарственных растений значительно отстает в своем развитии от потребностей фармацевтической промышленности и здравоохранения. Кроме того, устойчивая тенденция повышения спроса на растительное сырье и виды продукции из него обусловлена резким увеличением в последние годы числа потребителей, а также расширением ассортимента такого сырья.

Первый этап при внедрении лекарственного растения в медицину – это фармакогностическое изучение нового лекарственного растения или ЛРС для определения подлинности и доброкачественности в дальнейшем. Второй этап – фармакологическое исследование, которое должно выявить, не ядовито (токсично) ли данное растение (на лабораторных животных), и если да, то в какой степени и в каких дозах. Затем уже фармакологи выясняют физиологическое действие лекарственного препарата на те или иные функции организма лабораторных животных (лягушки, собаки, кошки, крысы, морские свинки и др.) – сердечную деятельность, нервную систему, дыхание, работу пищеварительного тракта и т.д. После того как фармакологическое, химическое и прочие исследования закончены, установлены основные свойства нового лекарственного препарата и выявлены границы его токсичности, он поступает

уже на клиническое испытание, в больницу. В клинике врачи окончательно решают судьбу нового лекарства. Все полученные данные сопоставляют, взвешивают, сравнивают с результатами лечения другими, давно известными препаратами, после чего новое лекарственное средство утверждает Министерство здравоохранения и распоряжение об изготовлении препаратов передается фармацевтическим заводам. Таков наиболее обычный путь лекарственного растения от его местообитания до больного. Очень часто после того, как соответствующими исследованиями фармакогностов и химиков выявлены те действующие вещества, которые содержатся в лекарственном растении, возникает вопрос – а не проще ли попробовать в лаборатории выделить (создать) это вещество или даже, изменив структуру, улучшить его? Эти мысли давно уже возникали у ученых, и именно развитию этих соображений обязана своим существованием вся химия синтетических лекарств. Можно пойти и гораздо дальше и создать совсем новые вещества, никогда в живой природе не встречавшиеся, изучить их действие на животный организм и начать ими лечить человека. Все это осуществляется во многих лабораториях мира. При этом выявляются определенные связи между строением вещества и его биологической активностью. Используя эти знания, можно направленным синтезом тех или иных структур органических молекул создавать биологически активные вещества с заданными свойствами. С этим связано развитие нового научного направления в области разработки лекарственных средств – компьютерного моделирования лекарственных средств или «drug design».

Выделение и использование в качестве лекарственных препаратов индивидуальных биологически активных веществ из растений и синтез новых лекарственных средств в настоящее время составляют главные направления в научной работе при создании новых лекарств. Однако уже довольно давно химики, фармакологи и даже клиницисты столкнулись с любопытным и даже загадочным обстоятельством: оказалось, что эффективность лекарственного препарата не всегда возрастает по мере его очищения. Например, чистая аскорбиновая кислота не может полностью заменить экстракт из плодов шиповника. Выяснилось, что в плодах шиповника кроме витамина С, химическое наименование которого – аскорбиновая кислота – само говорит о его противощегольных свойствах («а» — отрицание, «скорбут» — цинга), содержатся еще каротин, витамины В2, К, Р, кроме того, сахара, дубильные вещества, органические кислоты. Природный комплекс витаминов в сочетании с другими веществами действует иначе, чем чистая аскорбиновая кислота.

Во многих случаях вещества, которые фармацевтическое производство получает из лекарственных растений, сегодня еще не могут быть заменены веществами, синтезированными в цехах заводов. Лекарственные вещества, извлеченные из растений, имеют некоторые принципиальные преимущества перед теми веществами, которые создаются химиками в лабораториях. Первое преимущество состоит в том, что эти лекарственные вещества образуются в живой клетке. Как бы ни была велика разница между растениями и животными, их клетки (основные структурные единицы, составляющие тело и растений, и

животных) имеют поразительно много общего. Это общее заключается не только в сходном строении клеток, но и в сходстве очень многих важнейших биохимических процессов, происходящих в клетках тех и других организмов. Вещества, образующиеся в растительной клетке, всегда в какой-то мере приспособлены к жизнедеятельности этой клетки, даже когда они ядовиты для клеток других организмов. И достигается эта приспособленность не только тончайшей организацией атомов в молекуле того или иного вещества (химической структурой), но еще и присутствием в клетке других веществ, усиливающих или ослабляющих действие того химического соединения, которое и используется в качестве лекарственного. Вот почему разного рода биологически активные вещества, находящиеся в живой растительной клетке, даже когда они ядовиты, не изменяют так грубо и резко всю систему химических реакций живой клетки высшего животного и человека, как иногда некоторые вещества, полученные в колбе химика. Эти особенности веществ, образующихся в растениях и используемых как лекарственные, связаны с еще одним обстоятельством, являющимся вторым важным преимуществом растительных лекарственных препаратов. Дело в том, что растения и животные – это не просто два пути развития жизни на Земле. Развитие, эволюция животных самым тесным образом связаны с эволюцией растений. Животные не способны сами строить свое тело из неорганических веществ, как растения, и поэтому должны питаться органической пищей – растениями или другими животными (тоже, в свою очередь, питающимися растениями). Следовательно, в течение миллионов лет животные приспособлялись к веществам растений и из них строили свое тело. Вот эта непосредственная пищевая связь между животными и растениями и служит причиной столь тесной слаженности между химическим составом растений и нормальной работой всех органов животных и человека.

В настоящее время, несмотря на значительные успехи в области изучения тех исключительно разнообразных и тонких биохимических превращений, которые происходят в живой клетке как растений, так и животных, еще многое остается неясным. Естественно, что по мере успехов в области биохимии, по мере того как мы не только разберемся в процессах, происходящих в живой клетке, но и начнем воспроизводить их в искусственных условиях, возрастут успехи в области синтеза искусственных лекарственных препаратов.

1.2. Химический состав лекарственных растений

1.2.1. Общее представление о химическом составе растений

В первом приближении можно сказать, что растение, в том числе и лекарственное, состоит из **воды и сухих веществ**.

Важная роль **воды** в процессах жизнедеятельности растения обуславливается тем, что она представляет собой среду, в которой совершаются естественные для живого организма биохимические процессы и одновременно является активным участником биохимических реакций. Содержание ее в вегетативных органах лекарственных растений находится в пределах 70-95 %, в семенах – от 5 до 15%. Большая часть воды находится в свободном состоянии и лишь незначительная (не более 5 %) – в связанном, прочно удерживаемая клеточными коллоидами. По этой причине части лекарственных растений (листья, цветы, плоды и др.) сравнительно легко высушиваются до 10-12 % влаги (остаточной, «товарной»).

Сухие вещества растений можно разделить на 2 группы: *органические* (90-95 % сухой массы) и *минеральные* (5-10 % сухой массы).

Минеральные вещества, элементы которых обнаруживаются в золе при сжигании растений, нередко являются регуляторами жизненно важных процессов, протекающих в растениях, и в ряде случаев оказывают лечебный эффект на животные организмы. Растения (в виде плодов, овощей, зелени) служат главным поставщиком минеральных веществ для организма человека и животных. Содержание минеральных веществ в растениях может меняться в зависимости от состава почвы, влажности, биологических особенностей растения и др.

Несмотря на то, что в растениях можно найти почти все элементы таблицы Д.И. Менделеева, лишь немногие из них необходимы для их жизнедеятельности. В зависимости от содержания в растениях минеральные элементы делят на макро- и микроэлементы. Содержание макроэлементов (N, P, K, Ca, Mg, S) в растительных тканях в расчете на сухую массу измеряется сотыми долями процента. Концентрация же микроэлементов (Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, B, и др.) составляет тысячные доли процента.

Как и в растениях, так и в организме человека минеральные вещества являются регуляторами биохимических процессов и их избыток или дефицит может быть причиной многих патологических процессов. Они могут предохранить человека от возникновения болезни.

Фосфор (в виде фосфорной кислоты) входит в состав АТФ. Железо, медь, молибден и другие элементы участвуют в построении многих ферментов (цитохромов и др.). Магний является обязательной составной частью хлорофилла; он активизирует ферменты, регулирующие распад и превращение углеводов. Кальциевые и магниевые соли пектиновых кислот составляют основу пектина срединных пластинок, склеивающего между собой стенки отдельных клеток. Кальций является структурным элементом мембран клеток. От содержания калия во многом зависит способность протоплазмы удерживать воду.

Минеральные вещества участвуют в построении клеток тканей, синтезе ферментов, регуляции кислотно-щелочного равновесия, осмотического давления не только у растений, но и у человека. Минеральные вещества входят в состав или активируют действие ферментов, гормонов, витаминов и тем самым

участвуют во всех видах обмена веществ, влияют на иммунитет, кроветворение, свертывание крови.

Высокая биологическая активность минеральных элементов проявляется, вероятно, и при использовании некоторых лекарственных растений (например, ламинарии, богатой йодом, для лечения тиреотоксикозов; ранозаживляющие свойства сфагнума могут быть отчасти связаны с его минеральным составом; кровоостанавливающие свойства лагохилуса опьяняющего – с высоким содержанием кальция; применение в ряде стран спорыша для лечения легочных заболеваний может быть обусловлено высоким содержанием в нем кремния и т.д.).

В настоящее время большое значение приобретают микроэлементы при лечении таких тяжелых заболеваний, как болезни крови, злокачественные опухоли и др. Особый интерес в этом отношении представляют лекарственные растения, так как при их использовании в виде суммарных, например, галеновых препаратов, лечебное действие содержащихся в них фармакологически активных веществ может успешно сочетаться с действием микроэлементов.

Органические вещества, содержащиеся в лекарственном растении, также можно разделить на 2 большие группы: ***вещества первичного синтеза и вещества вторичного синтеза***.

К основным органическим веществам растений относятся белки и иные азотистые соединения (аминокислоты, пептиды), жиры (липиды), углеводы (крахмал, глюкоза, фруктоза, целлюлоза или клетчатка), лигнин.

Первичный и вторичный метаболизм и продукты обмена

Под метаболизмом, или обменом веществ, понимают совокупность химических реакций в организме, обеспечивающих его веществами для построения тела и энергией для поддержания жизнедеятельности. Часть реакций оказывается сходной для всех живых организмов (образование и расщепление нуклеиновых кислот, белков и пептидов, а также большинства углеводов, некоторых карбоновых кислот и т.д.) и получила название **первичного обмена (или первичного метаболизма)**.

Помимо реакций первичного обмена, существует **значительное** число метаболических путей, приводящих к образованию соединений, свойственных лишь определенным, иногда очень немногим, группам организмов. Эти реакции объединяются термином вторичный метаболизм, или обмен, а их продукты называются продуктами **вторичного метаболизма**, или вторичными соединениями (вторичными метаболитами).

Любое растительное сырье всегда содержит сложный набор первичных и вторичных соединений, которые, определяют разносторонний характер действия лекарственных растений. Однако роль тех и других в современной фитотерапии пока различна.

Известно относительно немного объектов, использование которых в медицине определяется прежде всего наличием в них первичных соединений. Однако в будущем не исключено повышение их роли в медицине и

использование в качестве источников получения новых иммуномодулирующих средств.

Продукты вторичного обмена применяются в современной медицине значительно чаще и шире. Это обусловлено ощутимым и нередко очень ярким их фармакологическим эффектом. Образуются на основе первичных соединений, они могут либо накапливаться в чистом виде, либо подвергаются трансформации, например гликозилированию.

Вещества первичного обмена

В настоящий момент почти нет объектов растительного происхождения, применение которых определялось бы наличием в них главным образом **белков**. Однако не исключено, что в будущем модифицированные растительные белки могут быть использованы как средства, регулирующие обмен веществ в человеческом организме. **Нуклеиновые кислоты** из растений в лечебных целях также пока не используются.

Углеводы – обширный класс органических веществ, к которому относятся полиоксикарбонильные соединения и их производные. В зависимости от числа мономеров в молекуле они подразделяются на *моно-, олиго- и полисахариды*. Углеводы – основной питательный и опорный материал растительных клеток и тканей. Они составляют до 85-90% сухой массы растения.

Моно- и олигосахариды – нормальные компоненты любой живой клетки. Будучи энергетическими веществами, моно- и олигосахариды, как правило, применяются в качестве наполнителей при изготовлении различных лекарственных форм. Растения являются источниками получения этих углеводов (сахарный тростник, свекла, виноград, гидролизованная древесина ряда хвойных и древесных покрытосеменных).

Полисахариды находят довольно широкое применение в медицине в различных формах. В частности, широко используются крахмал и продукты его гидролиза, а также пектин, альгинаты, камеди, целлюлоза. Углеводы, состоящие исключительно из полиоксикарбонильных соединений, получили название гомозидов, а их производные, в молекуле которых имеются остатки иных соединений, называются гетерозидами. К гетерозидам относятся все виды гликозидов.

Органические кислоты наряду с углеводами и белками – самые распространенные вещества в растениях. Содержание органических кислот в различных органах растений неодинаково. Меньше всего их содержится в семенах (около 0,5%). В листьях злаков (пшеница, кукуруза, рожь, овес, ячмень), а также бобовых (горох, бобы, клевер, вика), тыквенных, сахарной свеклы, топинамбура органические кислоты составляют 8-12%. Особенно много кислот (до 25%) в листьях фасоли; листьях табака (до 17%); плодах лимона (до 40%).

Растительные **липиды** представлены в основном триглицеридами высших жирных кислот. Триглицериды могут быть однокислотные и разнокислотные (смешанные). У однокислотных триглицеридов этерификация глицерина произошла с тремя молекулами одной и той же жирной кислоты (например, триолеин, тристеарин и т.п.). Однако жиры, состоящие из однокислотных

триглицеридов, в природе являются сравнительно редким явлением (оливковое масло, касторовое масло). В образовании жиров доминирует максимальная разнородность: подавляющее большинство известных жиров представляют собой смеси разнокислотных триглицеридов (например, стеаринодиолеин, пальмитинодиолеин и т.п.).

В природных жирах обнаружено более 200 различных жирных кислот. Обычно в состав триглицеридов входят насыщенные и ненасыщенные одноосновные жирные кислоты с неразветвленной углеродной цепью и четным числом атомов углерода (преимущественно C16 и C18). В растительных маслах обнаружены в небольших количествах глицериды жирных кислот с нечетным числом атомов углерода.

Жирные кислоты с короткой цепью менее 8 углеродных атомов (капроновая, масляная и др.) в составе триглицеридов не встречаются, но они могут присутствовать в свободном виде, влияя на запах и вкус жиров. Большинство жиров содержит 4-7 главных и несколько сопутствующих (составляющих менее 5 % от суммы) жирных кислот.

Свойства жиров определяются качественным составом жирных кислот, их количественным соотношением, процентным содержанием свободных, не связанных с глицерином жирных кислот, соотношением различных триглицеридов и т.п.

Растительные жирные масла классифицируют по консистенции на твердые и жидкие.

Твердые жирные масла образованы насыщенными кислотами ($C_nH_{2n}O_2$) и при обыкновенной температуре сохраняют плотную консистенцию, причем плотность возрастает с увеличением числа углеродных атомов в кислоте, это можно видеть при сопоставлении точек температур плавления. Такие масла характерны для тропических растений (кокосовое, пальмовое, пальмоядровое и др.). Компонентами твердых жирных масел являются насыщенные жирные кислоты: лауриновая $C_{11}H_{23}COOH$, миристиновая $C_{13}H_{27}COOH$, пальмитиновая $C_{15}H_{31}COOH$, стеариновая $C_{17}H_{35}COOH$.

Жидкие масла содержат ненасыщенные кислоты: олеиновую $C_{17}H_{33}COOH$, линолевую $C_{17}H_{31}COOH$, линоленовую $C_{17}H_{29}COOH$, гидроксиолеиновую $C_{17}H_{32}OHCOOH$.

Основные источники растительных липидов (масел) – семена масличных растений (масличных культур). Растительные масла содержатся также в косточках некоторых плодовых деревьев (абрикос, персик, вишня, черешня, миндаль), семенах винограда, арбуза, томатов, а также в продуктах переработки растительного сырья – в оболочке зерна пшеницы и ржи содержится 5-6% масла, в зародыше 11-13 и 10-17% соответственно; в зародыше кукурузы 30-48% масла, проса – около 27%, риса – 24-25%. Накопление жиров в растениях может быть весьма значительным, например в подсолнечнике содержание масла иногда достигает 60 % от массы ядра.

Растения, отличающиеся высоким содержанием масла в семенах и плодах, в тропиках и субтропиках представлены преимущественно деревьями. В

местностях с умеренным климатом – это главным образом травянистые растения (лен, подсолнечник и др.), реже кустарники, еще реже деревья

Содержание масла в растениях и его качество зависят от сорта растения, условий произрастания (удобрения, обработка почвы), степени зрелости плодов и семян.

Жирные масла растений и жиры запасных тканей животных представляют собой наряду с углеводами концентрированный энергетический и строительный резерв организма.

Запасные жиры выполняют также роль защитных веществ, которые помогают организму переносить неблагоприятные условия внешней среды, в частности низкие температуры. Накапливаясь в эндосперме или в семядолях "зимующих" семян, жиры позволяют сохранить зародыш в условиях мороза. У деревьев стран умеренного климата при переходе в состояние покоя запасной крахмал древесины превращается в жир, повышающий морозостойкость ствола.

Жиры и масла жирны на ощупь, нанесенные (жиры в жидком виде) на бумагу оставляют характерное "жирное" пятно, не исчезающее при нагревании (в отличие от эфирных масел), а, наоборот, еще сильнее расплывающееся. При обыкновенной температуре масла не загораются, но нагретые или с фитилем горят ярким пламенем.

Большинство растворимы в бензине, бензоле, дихлорэтаноле, сероуглероде, ацетоне, диэтиловом эфире, CCl_4 ; ограниченно растворимы в этаноле и метаноле, не растворимы в воде. Они являются хорошими растворителями эфирных масел, камфоры, смол.

Химические свойства жиров заметнее всего выражены в их способности к омылению, прогорканию, высыханию и гидрогенизации.

Вещества, сопутствующие триглицеридам в жирах

Жиры всегда содержат в большем или меньшем количестве сопутствующие вещества. Будучи в них растворены или совместно извлечены, они оказывают влияние на внешний вид жира, физико-химические и, что самое главное, – на его фармакологические свойства. Эти вещества составляют так называемый не омыляемый остаток жира, величина которого редко превышает 2-3 %. Сопутствующими веществами являются пигменты, стеролы, жирорастворимые витамины и др.

В растительном сырье могут содержаться **свободные жирные кислоты** (семена незрелых растений или семена, самозревающие при хранении во влажном состоянии) или образовываться в процессе выделения масла в результате частичного гидролиза триглицеридов (высшие жирные кислоты) и их окисления под действием света и при длительном хранении (низкомолекулярные жирные кислоты – масляная, каприновая, капроновая, каприловая, ацетоуксусная, уксусная). Суммарное содержание свободных кислот в % по массе в растительных маслах определяет их кислотность и характеризуется кислотным числом. Доброкачественные жиры содержат небольшое количество свободных жирных кислот.

Фосфолипиды в растительных маслах представлены главным образом глицеро-фосфатидами (лецитины), в меньшем количестве – инозитфосфатидами и сфингомиелинами. Фосфолипиды растительных масел участвуют в биологическом окислении масел в организме и сами по себе представляют большую ценность. Однако в растительных маслах они образуют коллоидные растворы, из которых при поглощении воды коагулируют с образованием осадков, называемых фузами. В таких осадках могут происходить гидролитические процессы, приводящие к потере масел и затруднениям при переработке. Под действием O_2 воздуха фосфолипиды легко окисляются с образованием темноокрашенных соединений, ухудшающих качество масел. Поэтому растительные масла, не идущие непосредственно в пищу или подвергающиеся дальнейшей переработке (напр., рафинированию), очищают от фосфолипидов. Выделенные фосфолипиды, учитывая их биологическую и пищевую ценность, используют для производства фосфолипидных концентратов, которые добавляют во многие пищевые продукты (напр., маргарин) и корма для животных. На основе фосфолипидов растений производят лекарственные препараты. Так, например, препарат «Эссенциале форте Н» содержит в качестве активного вещества фосфолипиды из соевых бобов.

Стеро́лы (стерины) являются одной из групп стероидов – производных циклопентанпергидрофенантрена – соединений, широко распространенных как в растительных, так и в животных организмах. По химической природе они относятся к высокомолекулярным одноатомным спиртам. Стеро́лы и их эфиры с жирными кислотами составляют основную часть неомыляемого остатка в жирах.

Различают стеролы растительного (фитостеролы) и животного (зоостеролы) происхождения. Из фитостеролов наиболее распространены ситостерол (ситостерин) и стигмастерол (стигмастерин), являющиеся предшественниками витамина D, из зоостеролов — холестерол (холестерин). Холестерин (холестерол) в растительных маслах практически не содержится. По присутствию в жире фитостеролов или холестеролов устанавливают природу жира.

Фитостерины – это биологически активные соединения, стабилизирующие фосфолипидные бислои клеточных мембран, снижающие уровень холестерина в крови млекопитающих, обладающие противовоспалительным, иммуномодулирующим и противоопухолевым действием. Благодаря этому они активно используются в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности

Наибольшее количество стеринов содержится в кукурузном масле-0,42-1,38%, в подсолнечном их 0,25-0,53%, в хлопковом 0,26-0,57%, в соевом 0,35-0,40%. При переработке и очистке растительных масел потери стеринов стараются свести к минимуму.

Воски и воскообразные вещества в растительных маслах образуют эмульсии и вызывают помутнение масла. Для их удаления масло обычно охлаждают до 8-12°C и осадок отфильтровывают (способ "вымораживания").

Пигменты, содержащиеся в семенах и плодах масличных растений, придают растительным маслам различную окраску. Красные и желтые оттенки в цвете растительных масел определяются присутствием в них каротиноидов (красный оттенок – каротины, желтый – ксантофиллы), наибольшее их количество содержится в кукурузном масле (0,058-0,15%). Каротины, являясь провитаминами, оказывают определенное фармакологическое действие. Зеленый оттенок, характерный для соевого, кукурузного, рапсового, горчичного и др. масел, определяется присутствием в них хлорофилла. Хлорофилл нельзя рассматривать только как вещество, окрашивающее масло в тот или иной оттенок. Находясь в том или ином масле, хлорофилл проявляет действие и как биологически активное вещество. В хлопковом масле содержится токсичный пигмент госсипол (0,14-2,5% по массе), который придает ему красно-бурый, почти черный цвет и горький вкус и защищает растения от вредителей и болезней, наибольшее содержание госсипола отмечается в масле, полученном из низкосортных и незрелых хлопковых семян. При очистке растительных масел с помощью адсорбентов происходит удаление пигментов и осветление масла.

Основную массу белковых веществ, переходящих в растительные масла из семян, составляют альбумины и глобулины. Поскольку наличие белков ухудшает товарный вид масел и увеличивает его потери при очистке и хранении, белковые примеси (вместе с фосфолипидами) удаляют.

Углеводы (моно-, ди- и олигосахариды, декстрины, крахмал, клетчатка и гемицеллюлоза), содержащиеся в растительных маслах в количестве 0,02-0,5%, образуют стабильные эмульсии, способствуют потемнению масла при термической обработке, придают маслам неприятный вкус и запах.

В жирах присутствуют только жирорастворимые **витамины**: групп А, Е, К, F.

В растительных маслах присутствуют также незначительные количества насыщенных и ненасыщенных углеводов с разветвленной цепью. Одним из представителей таких углеводов является сквален. Сквален – природное соединение тритерпенового ряда, предшественник биосинтеза стероидных соединений, обладающий широким спектром биологической активности. Сквален используют как биологически активную добавку к пище, в составе адъювантов вакцин, лекарственных и косметических средств. На его основе разрабатываются невирусные векторы для генной терапии и целый ряд новых инновационных лекарственных средств против рака и тяжелых вирусных заболеваний. Сквален входит в состав липидов кожи человека, обладает антиоксидантной, антибактериальной и фунгицидной активностью. Гидрированное производное сквалена – сквалан используется в качестве косметического средства. Содержание сквалена в растительных источниках различно. Сквален входит в состав подсолнечного, хлопкового и соевого масел (0,008-0,012%). Максимальное его количество обнаруживается в амарантовом масле и достигает в зависимости от сорта 9,9 %. По этому показателю амарантовое масло является рекордсменом в растительном мире и в последнее

время рассматривается в качестве альтернативного источника сквалена из печени глубоководных акул, вылов которых запрещен в ЕС.

В результате длительного хранения на свету, при повышенной температуре или под действием микроорганизмов растительные масла портятся – прогоркают. Неприятный запах и вкус растительным маслам сообщают продукты окисления жирных кислот (альдегиды, кетоны, гидроксикислоты), низкомолекулярные жирные кислоты и их глицериды, продукты распада каротиноидов, стероидов, витаминов, фосфолипидов.

Биологическая ценность растительных масел. Растительные масла, как и животные жиры, являются структурной частью всех тканей организма. Растительные масла, содержащиеся в клетках растений, являются структурным элементом протоплазмы и запасным питательным веществом, расходуемым по мере надобности, особенно в период прорастания семян. Вместе с белками они образуют комплексные соединения, в виде которых входят в состав клеточных мембран и субклеточных структур, способствуют регуляции проникновения внутрь клеток воды, солей, аминокислот, углеводов и удаления из них продуктов обмена.

Растительные масла являются для человека источником ненасыщенных незаменимых жирных кислот – линолевой, линоленовой и арахидоновой.

Жирорастворимые витамины растительных масел, помимо витаминной ценности, способствуют защите незаменимых жирных кислот от быстрого окисления.

Липиды, особенно содержащие полиненасыщенные фрагменты, биологически активны. Фракции полиненасыщенных липидов или продукты, богатые ими, оказывают антисклеротическое действие.

Применение растительных липидов в фармацевтике. В медицине широко используются жиры, жирные масла, реже – воск как основа для изготовления ряда лекарств, изредка как самостоятельные лекарственные средства. Фосфолипиды – источник легко усваиваемых соединений фосфора. Растительные жиры, применяемые в фармацевтической практике: 1) жидкие растительные масла: невысыхающие – оливковое, миндальное, арахисовое и касторовое; полувывсыхающие – подсолнечное, хлопковое, кукурузное; высыхающие – льняное; 2) твердые растительные масла: масло какао.

Витамины — особая группа органических веществ, выполняющих важные биологические и биохимические функции в живых организмах. Эти органические соединения различной химической природы синтезируются главным образом растениями, а также микроорганизмами. Человеку и животным, в организме которых витамины не синтезируются, они требуются по сравнению с питательными веществами (белками, углеводами, жирами) в очень малых количествах (от нескольких мкг до нескольких мг в сутки), но имеют огромное значение для нормального обмена веществ и жизнедеятельности. Витамины можно рассматривать как универсальные компоненты клеточного метаболизма живых организмов. Не являясь материалом для биосинтеза, они участвуют во всех биохимических процессах. Известно более 20 витаминов. Они имеют

буквенные обозначения, названия химические и названия, характеризующие их физиологическое действие. Классифицируются витамины на водорастворимые (аскорбиновая кислота, тиамин, рибофлавин, пантотеновая кислота, пиридоксин, фолиевая кислота, цианокобаламин, никотинамид, биотин) и жирорастворимые (ретинол, филлохинон, калциферолы, токоферолы). К витаминopodobным веществам принадлежат некоторые флавоноиды, липоевая, оротовая и пангамовая кислоты, холин, инозит. Биологическая роль витаминов разнообразна. Установлена тесная связь между витаминами и ферментами. Большинство витаминов группы В являются предшественниками коферментов и простетических групп ферментов.

Локализация витаминов различна: они обычны в зелёных частях растений и в плодах. При этом концентрации одних витаминов (группы В, кислот фолиевой, пантотеновой и др.) в большинстве растений невелики и примерно одинаковы, других (витаминов К, кислоты никотиновой, биотина, токоферолов и др.) – существенно различаются, но остаются небольшими. В высоких концентрациях способны накапливаться только кислота аскорбиновая (витамин С), каротиноиды (провитамин А) и некоторые флавоноиды (рутин, кверцетин и др.), относимые к группе витамина Р. Например, аскорбиновая кислота преимущественно содержится в плодах шиповника, плодах и листьях грецкого ореха; листьях примулы, крапивы, капусты; хвое сосны; фруктах, ягодах; плодах красного перца, цитрусовых, актинидии, черной смородине; зеленом луке. Провитамин А (каротин) – плодах облепихи, шиповника, рябины обыкновенной, красного перца, черной смородины; цветках ноготков; траве череды, сушеницы топяной; листьях крапивы. Витамин Р – бутонах софоры японской; плодах черноплодной рябины; кожуре плодов цитрусовых; траве гречихи, листьях чая.

Лекарственное растительное сырье, содержащее витамины, используется для приготовления витаминных сборов; кроме того, из него готовят следующие препараты: рутин, кверцетин, таблетки витамина Р, сироп из плодов шиповника, сок и витамин Р из плодов аронии черноплодной, пеплавит (Р витамин) из травы зверобоя, масло облепихи, масло шиповника, каротин и др.

Большинство витаминов поступает в человеческий организм в состоянии “законченного” синтеза. Однако некоторые из них поступают из растений в форме провитаминов, т.е. соединений, очень близких по химической структуре к соответствующим витаминам, являясь таким образом их предшественниками. К числу важнейших провитаминов относятся каротиноиды – предшественники витаминов группы А. Отсутствие или недостаток их в организме приводит к нарушению обмена веществ, а при более глубоких явлениях к заболеваниям – авитаминозам (отсутствие) или гиповитаминозам (недостаток витаминов). Такие заболевания, как цинга, рахит, куриная слепота, полиневриты, определяются авитаминозами или гиповитаминозами тех или иных витаминов.

Можно сказать, что нет ни одного растения, в котором не содержался бы тот или иной витамин (провитамин, витаминopodobное вещество). Лекарственными витаминсодержащими растениями, однако, называют те, в которых витамины

накапливаются в значительных количествах и именно ими определяется основное значение данного растения как лекарственного средства.

Витамины группы Е (токоферолы) имеются во многих лекарственных растениях, особенно в зародышах семян некоторых злаков. Токоферолы сопутствуют жирам растительного происхождения. Животные жиры бедны витамином Е, а рыбы его совершенно не содержат. Находясь в составе жиров, токоферолы препятствуют их окислению и прогорканию (природные антиоксиданты). Высоким содержанием токоферолов характеризуются также масла пшеничных отрубей (100-400 мг в 100 г масла), соевое (74-160 мг в 100 г масла) и кукурузное (87-200 мг) масла; до 100 мг токоферолов в 100 г подсолнечного, хлопкового, рапсового и некоторых др. маслах, до 60 мг – в арахисовом, до 30 мг – в оливковом и кокосовом.

Сами **витамины группы А** не синтезируются растениями, но их провитаминами (содержат физиологически активную часть витамина А) являются растительные пигменты каротины. Каротины являются производными ликопина – наиболее распространенного в растениях каротиноида. Каротин в растениях может быть в форме трех изомеров: α , β и γ -каротина; α -каротин отличается от β -изомера положением двойной связи в одном из циклов, получивших название иононового кольца; γ -каротин отличается от них обоих наличием только одного замкнутого цикла, больше приближаясь в этом отношении к ликопину.

В растениях, в которых они образуются, каротинам принадлежит роль переносчиков активного кислорода. Этим можно объяснить наличие в растениях многочисленных кислородных производных каротинов – ксантофиллов, в том числе эпоксидов в кольцах каротинов, легко отдающих свой кислород.

Каротин легко образует перекиси (по месту одной из многочисленных двойных связей) и, таким образом, может окислять различные вещества.

В растениях каротины находятся в хромопластах плодов, цветков и иногда подземных органов (морковь), а также вместе с хлорофиллом в хлоропластах в виде водорастворимых белковых комплексов или в капельках масла. β -изомер является основным, наиболее широко распространенным каротином, на его долю приходится обычно большая часть в сумме содержащихся каротинов.

В организме происходит гидролитическое расщепление молекул β -каротина на 2 симметричные половины, в результате чего образуются 2 молекулы витамина А.

Из α - и γ -каротинов образуется только по одной молекуле витамина А. В ‘готовом’ виде витамин А поступает в организм человека только при приеме животных жиров. В животном организме он синтезируется из каротинов (провитаминов), поступающих с растительной пищей. Наибольшее количество витамина А накапливается в рыбьем жире (тресковом), а также в жире китов, тюленей и др.

Каротины присутствуют во многих растениях. Одни из них (в основном морковь и тыква) служат промышленным сырьем для получения каротина в

чистом виде, другие являются сырьем для получения суммарных препаратов (экстрактов и т.п.) или используются в форме сборов, настоев и отваров.

Витамин А в виде провитаминов; содержится преимущественно в облепиховом, абрикосовом, персиковом и др. маслах.

Витамины группы D. Витамин D₃ (холекальциферол) встречается в основном только в животных организмах. Однако витамин D может накапливаться в значительном количестве, например, у различных водорослей. Для них стерины (чувствительные к УФ-радиации холестерин и эргостерин) необходимы в качестве строительного материала для мембран. В условиях высокой интенсивности УФ-радиации и относительной высокой температуры воды они превращаются в витамины D₃ и D₂ (эргокальциферол).

Среди высших растений, содержащих витамин D обнаружено совсем немного видов, из них с высоким содержанием витамина D известно четыре вида – *Solanum malacoxylon*, *Solanum glaucophyllum*, *Cestrum diurnum* и *Trisetum flavescens*). К сожалению, в этих 4-х растениях в относительно высокой концентрации содержится не только витамин D₃, но и, в еще большей степени, активный гормон кальцитриол. Такие растения с высоким содержанием кальцитриола ядовиты и непригодны для использования человеком или животными.

Витамины группы К входят в состав как растительных, так и животных продуктов в незначительных количествах. В составе витамина К содержится спирт фитол – компонент хлорофилла. Витамин К (филлохинон) содержится в листьях капусты, шпината, каштана обыкновенного, в корнеплодах моркови, плодах тыквы, рябины, помидоров и др. Витамин К (К₁, К₂, К₃) присутствует в конопляном, подсолнечном, льняном и сурепном маслах.

Витамины группы F характерны для масел, содержащих высоконепредельные жирные кислоты – линоленовую (ω -3), линолеовую (ω -6) и арахидоновую (ω -6), объединённые под одним наименованием – от английского «fat», что означает – «жир».

Качественное определение витаминов в растениях и их количественный анализ обусловлены их химической структурой. Применяют витамины для профилактики и лечения гипо- и авитоминозов и для витаминизации продуктов питания; используют их также в животноводстве.

Классификация биологически активных веществ

Терапевтическая ценность лекарственных растений определяется входящими в их состав биологически активными веществами. К последним относятся все вещества, способные оказывать влияние на биологические процессы, протекающие в организме человека и животных.

За долгую историю поисков и практического использования биологически активных веществ накопились сведения о биологической активности большого числа химических соединений с полностью или частично установленной структурой. Только фармакологическая активность, если судить по различным справочникам и фармакопеям, описана примерно для 12 000 различных соединений. Для части из них известна также и физиологическая система

организма или орган – мишень действия. Значительно меньше известны те биохимические или молекулярно-биологические процессы, на которые действуют эти вещества.

Лекарственные растения – особый объект изучения, ибо любое из них представляет собой достаточно сложную лабораторию, в которой синтезируются одновременно сотни, если не тысячи, биологически активных веществ. Этим и объясняется так называемый шрапнельный эффект, т.е. эффект множественного воздействия на различные системы и органы, нередко возникающий в процессе лечения. Дополнительные исследования, казалось бы, вполне изученных и давно использующихся лекарственных растений иногда позволяют выявить новый аспект их биологической активности.

В связи с разносторонним лечебным эффектом лекарственных растений в известной степени условным оказывается понятие так называемых действующих веществ. Суть этого понятия, ранее широко используемого в фармакогнозии и фармакологии, достаточно “прозрачна”. В растениях всегда содержится комплекс биологически активных веществ, но терапевтическим и профилактическим действием обладает одно или несколько. Их называют **действующими веществами** и используют при производстве лекарственных препаратов.

Сохранение термина “действующие вещества” возможно главным образом для удобства классификации лекарственного растительного сырья, где последнее нередко группируется по компонентам, проявляющим наиболее выраженную физиологическую активность.

Еще более устаревшими оказываются понятия “сопутствующие” и “балластные” вещества. Сопутствующими веществами в фармакогнозии ранее называли продукты первичного или вторичного метаболизма, содержащиеся в лекарственных растениях наряду с действующими веществами. Их фармакологический эффект значительно менее выражен, чем у последних, но присутствие нередко способствует пролонгированию лечебного эффекта, часто усиливает и ускоряет его наступление и т.д. Например, витамины, минеральные вещества, флавоноиды усиливают всасываемость действующих веществ, усиливают полезное действие или ослабляют вредное действие сильнодействующих соединений. Однако сопутствующие вещества могут проявлять и отрицательные свойства, что побуждает нередко освобождаться от них в ходе приготовления из растительного сырья лекарственных средств и форм. Например, в семенах клещевины, кроме касторового масла содержится и ядовитое вещество рицин, которое можно разрушить при термической обработке. В коре крушины содержатся окисленные гликозиды, которые оказывают лечебное действие, и не окисленные, которые вызывают боль в желудке и рвоту. Удалить эти вещества можно при термической обработке или при хранении в течение одного года.

Достаточно близко понятию “сопутствующие” вещества понятие “балластные” вещества, встречающееся в старых руководствах по фармакогнозии. Балластными веществами называли соединения, с которыми не связана терапевтическая активность того или иного лекарственного растения

(фармакологически индифферентные). Однако нередко они затрудняют изготовление или поддержание стабильности лекарственных форм. К ним в основном относятся продукты первичного синтеза. Понятие балластные – условное, так как и эти вещества влияют на организм человека и животного. Например, клетчатка стимулирует перистальтику кишечника, нормализует холестериновый обмен, усиливает выделение желудочного сока. Если эти вещества используют в медицине и фармации, то их относят к основным.

Изменчивость химического состава лекарственных растений

Образование и накопление фармакологически активных веществ в лекарственных растениях – это динамический процесс, который изменяется в онтогенезе растения, а также зависит от многих факторов внешней среды. В ходе онтогенеза растение проходит фазы вегетативного развития, цветения и плодоношения. Естественно, что онтогенез сопровождается изменениями в обмене веществ – белков, углеводов, липидов – а это влечет за собой изменения и в динамике образования продуктов вторичного синтеза – алкалоидов, гликозидов, терпенов, фенольных соединений и т.д. Любой онтогенез является результатом адаптивной эволюции. Поэтому нередко образование определенных групп веществ свойственно определенным систематическим категориям растений (видам, родам, семействам, классам). Например, есть группы растений, в которых накапливаются преимущественно эфирные масла (растения сем. *Lamiaceae*), алкалоиды (*Fabaceae*) и т.д., т.е. у филогенетически близких видов существуют одни и те же ферменты, которые вызывают образование схожих веществ. Еще одна онтогенетическая особенность – это неравномерное распределение фармакологически активных веществ по органам растений. Обычно они локализируются во вполне определенных органах или тканях. Например, алкалоиды в хинном дереве – в коре, в древесине их нет; в наперстянке сердечные гликозиды накапливаются в основном в листьях; у зонтичных эфирные масла – в плодах и т.д. Мало того, у одного и того же растения в разных органах могут содержаться различные по составу ФАВ. Таким образом, биохимический признак (образование определенных веществ), является специфичным на уровне вида, рода, семейства, иногда класса. С другой стороны, известны внутривидовые хеморасы, т.е. растения одного вида, сходные морфологически, но резко отличные по качественному составу суммы действующих веществ (например, суммы алкалоидов). Особи одного вида могут также сильно отличаться по количеству образующихся в них веществ. Это свойство наследуется даже при переносе растений в другие климатические зоны. С онтогенезом связана также и динамика накопления БАВ. На выход действующих веществ оказывает влияние возраст растения, времена и месяцы года, а для эфиромасличных растений даже различные часы дня. На содержание других веществ в лекарственных растениях весьма существенное влияние оказывает фаза развития растения. Например, у клецвины количество жирного масла в семенах по мере созревания увеличивается почти в 2 раза. А у кориандра за время созревания семян совершенно меняется состав эфирного масла. У мяты перечной в период цветения непрерывно увеличивается количество ментола.

Еще более сильное влияние на химический состав растений оказывают факторы внешней среды. Огромное значение имеет тип и разновидность почвы, как источника питательных веществ. Химический состав лекарственных растений зависит и от светового режима. Например, свет стимулирует образование действующих веществ у многих эфиромасличных культур; а алкалоидные растения иногда бывают тенелюбивыми. Оказывает влияние количество солнечных дней, сила освещения, часы дня и т. д. Одним из важнейших факторов является тепло. От него зависит состав флоры, продолжительность вегетации, количество урожая и накопление действующих веществ. Каждое растение требует свою сумму положительных температур для полного жизненного цикла, и это надо учитывать при культивировании лекарственных растений. Очень велика и роль воды. Количество осадков и влажность окружающей среды влияют на количество и состав действующих веществ. Например, листья Наперстянки пурпуровой, собранные после продолжительных дождей, являются малоценными. Питание, свет, тепло и влага – это экологические элементы географического фактора, т.е. изменение географической обстановки влечет за собой изменение всего комплекса экологических факторов и, естественно, влияет на химизм лекарственных растений. Можно отметить, что в южных широтах накапливается обычно больше действующих веществ, а их действие более сильное (например, яды тропических растений). Восточные районы европейского материка дают большие выходы эфирного масла, чем западные (это уже влияние долготы). Эфирноносные растения по-разному реагируют на высоту над уровнем моря (лаванда накапливает больше эфирных масел, произрастая у подножия гор, роза – располагаясь выше в горах). Приведенные сведения дают общее представление о влиянии различных факторов на химизм ЛР. Но есть еще особенности накопления БАВ, характерные для каждой группы природных соединений, есть изменения, связанные с воздействием человека, с особенностями заготовки ЛРС.

1.2.2. Полисахариды растений

В последние годы возрос интерес к исследованиям природных полисахаридов в связи с их широким спектром биологических свойств, что привело к различным применениям данных веществ в здравоохранении, а также пищевой и косметической промышленности.

Полисахаридами или *гликанами* называют высокомолекулярные углеводы (биополимеры), содержащие более 10 остатков моносахаридов или их производных, часто это многие сотни моносахаридных звеньев, соединенных гликозидными связями. Их молекулярная масса достигает обычно сотен тысяч и даже сотен миллионов и выше.

Полисахариды содержатся как внутри клетки, так и в клеточной стенке и межклеточном веществе (срединной пластинке).

Разные полисахариды отличаются природой моносахаридов, молекулярной массой и типом гликозидных связей в цепях моносахаридов.

Полисахариды можно классифицировать по функции (запасные и структурные), по кислотности (нейтральные и кислые), по характеру скелета (линейные и разветвлённые), по степени однородности блоков (гомополисахариды и гетерополисахариды).

К структурным полисахаридам наряду с целлюлозой и гемицеллюлозой относятся пектиновые вещества клеточной стенки растений. Резервные полисахариды – крахмал, инулин, слизи, камеди, у животных – гликоген накапливаются в организме в значительных количествах в качестве энергетических запасов.

Различают *гомополисахариды* (гомогликаны), образованные остатками моносахаридов одного вида, при этом типы связей между отдельными звеньями могут быть различны и *гетерополисахариды* (гетерогликаны), состоящие из моносахаридов или их производных двух или более видов, регулярно или нерегулярно чередующихся в его молекуле.

Полисахариды – большей частью аморфные вещества, нерастворимые в неполярных растворителях, спирте и ацетоне. Подвергаются кислотному и ферментативному гидролизу.

Полисахаридам присущи свойства типичных высокомолекулярных соединений, имеющих полярные группы. Поэтому полисахариды гидрофильны; при растворении в воде они набухают (подобно фибриллярным белкам), а затем, частично растворяясь, дают коллоидные растворы. В зависимости от состава полисахариды обладают разной гидрофильностью, растворимостью и зарядом. Полисахариды, содержащие уроновые кислоты, характеризуются сильнокислыми свойствами, лучшей растворимостью и несут большой отрицательный заряд по сравнению с крахмалом или гликогеном. Все полисахариды образуют очень вязкие коллоидные растворы, способные к гелеобразованию. Особенно выражена эта способность у кислых полисахаридов. Они даже в разбавленных растворах дают прочные упругие гели, которые удерживают большое количество молекул воды. Однако, некоторые полисахариды нерастворимы в воде (целлюлоза) или только набухают в теплой воде (крахмал).

Химическое строение полисахаридов однообразно – все они являются полигликозидами, в молекулах которых за счет гликозидных мостиков объединяются сотни, тысячи, иногда десятки тысяч остатков моносахаридов и их производных. При этом неизменными партнерами в образовании кислородных мостиков служат гликозидные гидроксилы моносахаридов, а вторым партнером оказывается один из спиртовых гидроксильных моносахарида, чаще всего в положении 4 (у линейных полисахаридов) или 4 и 6 (у разветвленных форм).

Полисахариды играют весьма существенную роль в обмене веществ растений и животных организмов и важны для питания человека и животных и, кроме того, широко используются в пищевой, фармацевтической и др. видах промышленности. Пектиновые вещества способствуют удержанию тканей в

состоянии тургора, повышают засухоустойчивость растений и устойчивость плодов и овощей при хранении.

Пектины по химической природе – высокомолекулярные соединения, относящиеся к группе гетерополисахаридов, основу которых составляют производные полигалактуроновой кислоты. Следовательно, в основе пектиновых полисахаридов лежит полигалактуроновая кислота, в которой остатки D-галактуроновой кислоты связаны α -1,4-гликозидными связями.

В растениях пектиновые вещества присутствуют преимущественно в виде протопектина, составляющего межклеточное вещество и первичные стенки молодых растительных клеток. Содержание пектина в клеточной стенке максимально в центральном слое, связывающем клетки между собой (срединной пластинке). Через боковые цепочки пектин соединен с волокнами целлюлозы и рядом других гетерополисахаридов, которые относятся к соединениям типа гемицеллюлозы. Молекулы сахара рамнозы, соединенные с молекулой пектина, придают полимерной цепочке зигзагообразный вид. Другие нейтральные сахара – арабам, галактан и ксилоглюкан – образуют боковые цепочки, соединяющиеся с молекулами целлюлозы.

Растворимый пектин содержится в клеточном соке. Пектиновые вещества в некоторых лекарственных растениях накапливаются в значительных количествах (ягоды клюквы, плоды шиповника, корень солодки и др.) и участвуют в суммарном лечебном эффекте, проявляемом основными действующими веществами.

Пектиновые вещества в растениях находятся в динамическом равновесии, могут превращаться друг в друга, например, при созревании, хранении плодов протопектин может переходить в растворимый пектин под действием ферментов пектиназ.

Пектиновые вещества являются весьма важным компонентом растительных клеток, хотя они и составляют незначительную часть клеточных стенок (не более 5 %). Пектиновые вещества предохраняют растения от высыхания, повышая засухоустойчивость и морозостойкость, влияют на прорастание семян и рост клеток, выполняют также защитную функцию от возбудителей фитозаболеваний.

Пектины подразделяют на высоко- и низкометоксилированные – со степенями метоксилирования выше и ниже 50% соответственно. Степень метоксилирования влияет на устойчивость к гидролизу, растворимость, студнеобразование и другие физико-химические свойства студня.

Степень полимеризации также определяет студнеобразовательную способность пектиновых веществ.

Согласно существующей номенклатуре пектиновых веществ выделяют пектиновые кислоты, пектаты и пектинаты.

Высокомолекулярные полигалактуроновые кислоты, небольшая часть карбоксильных групп которых этерифицирована метиловым спиртом, носят название пектиновых кислот.

Карбоксильная группа каждого остатка D-галактуроновой кислоты может образовывать соли с ионами определенных металлов, чаще всего кальция –

пектаты, причем атомы двух- и трехвалентных металлов могут связывать несколько цепей полигалактуроновой кислоты.

Соли пектиновых кислот, называются нормальными или кислыми пектинатами.

Желирование пектинов (гелеобразование). Важным свойством пектина, обуславливающим его применение, является гелеобразование (желирование). Образование гелей обусловлено ассоциацией пектиновых цепей с образованием трехмерной пространственной структуры, где два или более участка цепи сближаются друг с другом с регулярной частотой. Имеются различные виды ассоциаций, которые определяются степенью этерификации.

Желирование высокоэтерифицированных пектинов («сахаро-кислотное») желирование вызывается 2-мя факторами:

1) добавлением сахара, который вызывает дегидратацию пектиновых молекул, способствуя тем самым их сближению;

2) снижением рН среды, которое подавляет диссоциацию свободных карбоксильных групп, снижая тем самым электростатическое отталкивание цепей.

Результаты последних исследований показывают, что гели из высокоэтерифицированных пектинов могут стабилизироваться в результате возникновения водородных связей и гидрофобных взаимодействий.

Низкоэтерифицированные пектины могут образовывать гели в отсутствие сахаров, но требуют присутствия бивалентных катионов (например, Ca^{2+}). Добавка ионов кальция вызывает образование кальциевых мостиков, соединяющих молекулы пектина.

Низкоэтерифицированный пектин менее чувствителен к рН. Гели этого типа используют в бессахарных и низкосахарных диетических кремах и желе.

Фармакологическая активность пектина. Такие химические свойства пектинов как степень этерификации, молекулярная масса, содержание ацетильных групп обуславливают различную фармакологическую активность. Пектины обладают противоязвенной, противовоспалительной и гипотензивной активностью. Доказана противометабастазная, противоопухолевая, иммуностимулирующая, антиоксидантная активности и др.

Пектин используют в изготовлении суппозиторий, капсул, жевательных таблеток. В фармацевтике его использование основано не только на желеобразующих свойствах.

Возможности применения пектина в биомедицинских целях основаны на его сорбционных свойствах.

Добавка пектина к некоторым препаратам (например, ацетилсалициловой кислоте) смягчает их побочное действие на организм. В других случаях его добавки усиливают терапевтическое действие препаратов. К тому же, например, совместное применение пектина с некоторыми антибиотиками пролонгирует их действие и оказывает детоксическое влияние на организм. В водных растворах пектин образует мицеллы больших размеров с многочисленными внутренними полостями в виде спиралей или других сложных межмолекулярных образований.

Внутри этих структур образуются каналы, которые могут заполняться молекулами лекарственных веществ. Образование водородных, сложноэфирных, ионных и некоторых других связей с молекулами лекарственных веществ возможно благодаря наличию в структуре пектина свободных карбоксильных и большого количества гидроксильных групп. Образование этих связей способствует биодоступности лекарственных веществ, снижает негативное воздействие их на организм человека.

Пектин применяется при заболеваниях, связанных с нарушением обмена веществ (ожирение, сахарный диабет), заболеваниях желудочно-кишечного тракта, печени, поджелудочной железы и других.

Исключительно благоприятное воздействие пектина на организм связано с его замечательными энтеросорбирующими (связывающими и очищающими от вредных веществ) свойствами. По мнению медиков, именно недостаток натуральных энтеросорбентов в организме приводит к повышению риска возникновения заболеваний желудочно-кишечного тракта, системы обмена веществ, а также сердечно-сосудистой системы.

Способность пектина образовывать нерастворимые комплексы с ионами тяжелых металлов (Pb, Co, Cu), свободными радикалами, радионуклидами, различными токсинами используется в медицинской практике для создания эффективных энтеросорбентов (особенно при отравлении тяжелыми металлами). Комплексообразующая способность пектина зависит от количества свободных и этерифицированных карбоксильных групп или от степени этерификации, в связи с этим низкоэтерифицированные пектины имеют преимущество для связывания с ионами поливалентных металлов.

Пектин также связывает холестерин, способствуя снижению его избытка в организме.

Пектин снижает скорость расщепления крахмала и сахаров, препятствуя работе ферментов, которые участвуют в этом процессе, что, в свою очередь, снижает риски резкого подъема уровня сахара в крови.

Пектин способствует изменению вязкости содержимого желудка и кишечника, тем самым приводя к замедлению транзита по желудочно-кишечному тракту, обладает обволакивающим и защитным действием. Пектиновые вещества образуют гель на поверхности слизистой оболочки желудка и кишечника, что способствует защите от раздражающего влияния агрессивных факторов.

Установлено, что пектин – эффективный пребиотик, который питает полезные бактерии толстого кишечника и укрепляет иммунную систему кишечника.

Получают пектины из свекловичного жома, яблочной выжимки, корзинок подсолнечника некоторых других растительных источников. Пектин из корзинок подсолнечника обладает высокой молекулярной массой и низкой степенью этерификации. Из водного раствора растворимый пектин осаждается спиртом или 50%-ным ацетоном.

Все чаще при выборе лекарственных препаратов при различных заболеваниях организма человека в приоритете стоит выбор растительных препаратов. Так, например, была доказана эффективность и преимущество лекарственного растительного сырья и препаратов, содержащих полисахариды растительных слизей. Данные вещества действительно применяются и эффективны в основном при заболеваниях дыхательных путей и ЖКТ. Имеют большое количество фармакологических действий на организм человека, а также данные БАВ просты в получении из ЛРС.

Сырье, содержащее слизи, обладает различными фармакологическими свойствами. Входит в состав грудных и потогонных сборов, а также БАДов. На основе растительного сырья, содержащего слизь, получают фитопрепараты, которые используются при лечении различных заболеваний.

К слизям относят вещества, которые представляют собой сложные смеси гидрофильных гетеросахаридов (в состав слизей входят пентозаны, гексозаны, уроновые кислоты), образующихся в растениях в результате нормального обмена веществ в результате слизистого перерождения клеточных стенок или клеточного содержимого (клеток эпидермиса и отдельных клеток паренхимы, межклеточного вещества и клеточных стенок). При этом ослизняться могут отдельные клетки (корни алтея, трава фиалки) или целые слои (семена подорожников, льна). К данной группе полисахаридов относят углеводы, образующие слизистые растворы.

От крахмала они отличаются отсутствием характерных зерен и реакции с раствором йода, от камедей – осаждаемостью нейтральным раствором ацетата свинца. Однако с камедями их роднит происхождение. Наряду с этим слизи существенно отличаются от камедей тем, что они не являются экссудативными продуктами. В противоположность камедям слизи образуются в растениях в процессе естественного развития без внешних повреждений.

В химическом отношении слизи трудноотличимы от камедей. Основным отличием является значительное преобладание в них пентозанов (может достигать до 90 %) над гексозанами. Из физических свойств для слизей характерна их полная растворимость в воде, в то время как некоторым камедям свойственно только набухание.

Слизь – твердые аморфные вещества, хорошо растворимые в воде, не растворяются в спирте и неполярных растворителях. Осаждаются из водных растворов спиртом, солями Pb^{2+} , Fe^{3+} . При действии раствора гидроксида калия, натрия, аммиака образуется желтое окрашивание, а метиленовой сини – синее; тушь слизь не окрашивает. На этих физических и химических свойствах основаны методы выделения, очистки и анализа слизей из ЛРС.

Слизь из сырья извлекают водой. Количественное определение проводят гравиметрическим методом, осаждая слизь из водных растворов, чаще всего, спиртом (листья подорожника, трава череды).

Классификация слизей:

1. По химическому строению:

а) Нейтральные слизи – продукты полимеризации моносахаридов, а именно: D-галактозы, D-маннозы, L-арабинозы, D-глюкозы.

б) Кислые слизи – из-за содержания урсонных кислот. Например, слизь семян подорожника и льна, корней алтея.

2. По характеру образования слизей различают ЛРС:

1) с интерцеллюлярной (межклеточной) слизью: льняное семя, семена подорожника

2) с внутриклеточной слизью: корень и листья алтея, листья мать-и-мачехи.

3) содержащее мембранную слизь: ламинария.

Слизи чаще всего образуются у растений засушливых местообитаний в различных органах и тканях. Биологическая роль их довольно значительна. Слизь выполняет в растениях роль резерва углеводов, воды (предохраняют от высыхания), защитного биополимера, а также способствует распространению, закреплению в почве и прорастанию семян растений (семена подорожников).

Слизь является биологически активными веществами в растениях, которые обладают рядом положительных действий на организм человека.

Из лекарственного сырья, содержащего слизи, готовят водные слизистые извлечения, которые используют как противовоспалительные, ранозаживляющие, отхаркивающие (способствуют разжижению и выведению мокроты; виды алтея, подорожника, мать-и-мачехи), обволакивающие, слабительные (семена льна) средства. Кроме того, слизи обладают радиопротекторными и иммунозащитными свойствами. Часто их назначают в сочетании с другими лекарственными средствами.

Водные слизистые извлечения находят широкое применение при заболеваниях слизистых ЖКТ и заболеваниях и раздражении верхних дыхательных путей. Широко используются для маскировки и снижения раздражающего эффекта.

Слизесодержащее сырье, используемое в медицинской практике: Корни и трава алтея лекарственного, листья мать-и-мачехи, листья подорожника большого, семена льна, цветки липы, подземная часть ятрышников и др.

Семена льна (*Linum usitatissimum*): химический состав. В семенах льна есть слизь (до 12%), которой пропитана оболочка семени.

Фармакологическое действие и применение. Семена льна принадлежат к легко действующим слабительным средствам. Набухая в желудочно-кишечном тракте, они раздражают оболочку кишечника и этим усиливают перистальтику. Быстрому продвижению кишечного содержимого способствуют жирные масла, содержащиеся в семени.

Наряду с этим семена льна обладают обволакивающим и противовоспалительным свойствами; обусловленными наличием в них слизи. Наиболее эффективная форма применения семени льна – в виде слизи, которую применяют при воспалении слизистой оболочки дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и мочевыделительной системы, при язве желудка и двенадцатиперстной кишки и пищевых отравлениях, в случаях запора.

Применение в медицине семян льна. Препараты из семян льна имеют обволакивающее, противовоспалительное, смягчающее, отхаркивающее, слабительное, обезболивающее, антисклеротическое, гипохолестеринемическое, ранозаживляющее (способствуют быстрой эпителизации и рубцеванию ран) действие. Назначается больным с заболеванием атеросклероз и имеющим нарушение жирового обмена.

Из семян льна получают лекарственное средство «Линетол». Является антисклеротическим, ранозаживляющим средством и используется при ожогах и лучевых поражениях кожи.

Алтей лекарственный *Althaea officinalis*. Сырьем являются: корни (до 35 % слизистых веществ) и высушенные листья без черешков и веток.

Фармакологическое действие: применяют в качестве отхаркивающего, смягчительного, противовоспалительного средства при острых и хронических заболеваниях дыхательных путей (бронхитах, пневмониях, ларингитах, бронхиальной астме). И как обволакивающее средство при заболеваниях ЖКТ.

Лекарственный препарат «Мукалтин», применяют в качестве отхаркивающего средства, особенно показан детям.

Подорожник большой *Plantago major*. Сырьем являются цельные или частично измельченные листья (слизи (10-15%).

Фармакологическое действие: противовоспалительное; отхаркивающее. При заболеваниях органов дыхания употребляют настой из листьев.

Лекарственный препарат «Плантаглоцид» для лечения заболеваний ЖКТ (гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки). Так же в качестве лекарственного средства используется сок подорожника, применяемый при анацидных гастритах и хронических колитах. Свежий сок и настой, содержащие фитонциды, способствуют очищению и заживлению ран.

Мать-и-мачеха *Tussilago farfara*. Сырьем является смесь цельных или частично измельченных листьев.

Листья мать-и-мачехи содержат: слизи (5-15%), горечи (5%), дубильные вещества, сапонины, каротиноиды, аскорбиновая кислота, органические и жирные кислоты, ситостерин, инулин, липиды и флавоноиды.

Фармакологическое действие: отхаркивающее и смягчительное средство при бронхитах, наружно в виде припарок; как смягчительное и противовоспалительное средство.

Камеди – гетерополисахариды с обязательным участием уроновых кислот. Карбоксильные группы уроновых кислот связаны с ионами Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} . В состав камедей входят из гексоз – D-галактоза и D-манноза; из пентоз – L-арабиноза и D-ксилоза; из метилпентоз – L-рамноза и L-фукоза; из уроновых кислот – D-глюкуроновая и D-галактуроновая кислоты. Химический состав камедей очень сложен.

Камеди образуются в результате перерождения клеточных стенок и содержимого клеток различных тканей – сердцевин, сердцевинных лучей, коры и др. При этом, в отличие от слизей, клетки разрушаются и камедь выступает из

естественных трещин или из искусственных надрезов стволов и застывает в виде комковатых, ленточных и другой формы образований.

Камеди – большей частью экссудативные продукты, истечение которых (натёки) образуется на местах различных случайных (естественных) дефектов (трещины в коре, повреждения насекомыми, животными и т.д.) или в результате искусственных воздействий на растение с целью интенсификации истечения камеди. Первоначально мягкие или вязкие натёки камеди на воздухе постепенно твердеют, превращаясь в аморфные массы разнообразной формы, величины и окраски. Камеди безвкусны, но некоторые из них обладают сладковатым, реже – горьковатым вкусом. Если камеди чисты и не включают загрязнений, то они не обладают запахом.

Свойства камедей. Камеди нерастворимы в этаноле, эфире, хлороформе и других органических растворителях (это их основное отличие от натёков смол и веществ каучуковой природы). Являясь гидрофильными веществами, камеди растворяются в воде, образуя растворы, занимающие среднее положение между истинными и коллоидными растворами. При этом растворы камедей обладают специфическими свойствами – вязкостью, клейкостью и набухаемостью. Некоторые камеди в воде растворяются не полностью или только набухают.

Классификация камедей

По химическим признакам камеди можно разделить на следующие группы:

- 1) Кислые полисахариды, кислотность которых обусловлена присутствием глюкуроновой и галактуриновой кислот (камеди разных видов акации и др.);
- 2) Кислые полисахариды, кислотность которых обусловлена присутствием сульфатных групп (водоросли, мхи);
- 3) Нейтральные полисахариды, представляющие собой глюкоманнаны или галактоманнаны (встречаются в семенах).

По растворимости в воде камеди разделяют на три группы:

- 1) Растворимые (арабиновые) – хорошо растворимые в воде с образованием более или менее прозрачных клейких растворов (абрикосовая камедь, аравийская камедь);
- 2) Полурастворимые (бассориновые) камеди – малорастворимые в воде, но хорошо в ней набухающие, образуя желеподобную массу, переходящую в раствор только при большом разведении (вишневая, сливовая);
- 3) Нерастворимые (церазиновые камеди) – абсорбирующие значительные количества воды и набухающие, образующие желеподобные массы (камеди трагаканта и лоха и др.).

Распространение в природе и образование. Камеди часто образуют очень сложные растительные экссудаты, смешиваясь с дубильными веществами (танно-камеди), смолами (камедесмолы) и эфирными маслами (ароматические камедесмолы).

Образование камедей свойственно многим растениям. Наиболее богаты камеденосами семейства *Fabaceae*, *Rosaceae*, *Rutaceae* и др. В семействе *Rosaceae*, например, 32 рода являются камеденосами. Процесс

камедобразование может происходить в растениях, произрастающих в различных климатических зонах, но все же большая часть камеденосных семейств является тропическими.

Способность к образованию камедей свойственна многолетним жизненным формам растений – деревьям и кустарникам и в меньшей степени – травянистым многолетникам с деревенеющим корнем и основанием стебля. Камедь продуцируют различные органы растения – корни, ствол, ветви (даже черешки листьев), плоды, семена. Полагают, что значительная роль в камедобразовании у косточковых плодовых и акаций принадлежит крахмалу и, возможно, другому содержимому клеток.

Анатомическая топография у отдельных камеденосов разная. У косточковых плодовых, например, камедь может образоваться как в клетках луба и сердцевинных лучей, так и в специальных полостях в паренхиме древесины и коры.

Многие авторы считают, что камедобразование возникает под влиянием внешних стимулов, например механических ранений, повреждений насекомыми или их личинками, бактериальных или грибковых заболеваний. На интенсивность гуммоза может влиять характер почвы, удобрения, сильный полив, густота посадки деревьев и т.д.

Считается, что камеди предохраняют растения от инфицирования патогенными микроорганизмами, заливая образовавшиеся трещины и другие повреждения.

Применяются в фармации растворимые в воде камеди (абрикосовая, арабиновая) в качестве эмульгаторов при приготовлении эмульсий.

Инулин – это полисахарид растительного происхождения, причем для человека он является эффективным пребиотиком, так как хорошо растворяется в воде, не переваривается пищеварительными ферментами и поэтому может в полной мере быть использован кишечной микрофлорой. В высоких концентрациях данный полисахарид обнаруживается в клубнях и корнях растений некоторых семейств, у которых он выполняет запасные функции.

Инулин является наиболее широко распространенным природным запасным полисахаридом после крахмала. Из растений умеренного климата больше всего данный полисахарид содержится в цикории, топинамбуре и девясиле. Также инулин присутствует в таких растениях, как лук, чеснок, одуванчик, якон и др., но в меньших концентрациях. Основными промышленными инулинсодержащими растениями на сегодняшний день являются клубни топинамбура и корнеплоды цикория.

Инулин представляет собой полимер, состоящий из нескольких остатков фруктозы (от 10 до 36) в форме фуранозы (β -D-фруктофуранозы) и одного остатка глюкозы в форме пиранозы (α -D-глюкопиранозы), связанных через β -2,1-гликозидные связи. Его молекулярная масса составляет около 5000-6000 Да. Инулин является полифруктозаном, который может быть получен в виде аморфного порошка и в виде кристаллов, легко растворяется в горячей воде и трудно в холодной. Во время кислотного или ферментативного гидролиза из

инулина образуется D-фруктоза и небольшое количество глюкозы. Промежуточные продукты гидролиза инулина (инулиды) не имеют восстанавливающих способностей. Инулин образуется в листьях в процессе фотосинтеза и накапливается в стеблях и корнях растений. Инулин хранится в вакуолях в виде сферокристаллов. Кристаллы инулина в некоторых инулиносодержащих растениях сгруппированы в вакуолях паренхиматозных клеток корня, которые близко располагаются к тканям флоэмы.

Инулин является растворимым пищевым волокном, которое при его употреблении внутрь может помочь снизить уровень липопротеинов низкой плотности («плохого» холестерина). Кроме того, инулин не влияет на уровень глюкозы в крови, поэтому может без опасения использоваться в рационе людей, больных диабетом. Благодаря своим пребиотическим свойствам инулин проходит в неизменном состоянии до толстой кишки, где он способствует увеличению содержания полезных бифидобактерий и подавлению влияния вредных патогенных бактерий. Инулин и его производные также применяются в пищевой промышленности для улучшения питательных и функциональных свойств продуктов и используются в качестве заменителя жира, чтобы уменьшить калорийность пищи. Таким образом, инулин является весьма ценным метаболитом, получаемым человеком из растений.

Целлюлоза (клетчатка) относится к наиболее распространенным в природе полисахаридам и является одним из основных компонентов клеточных стенок растений, хотя её содержание в различных клетках или даже частях стенки одной клетки сильно варьируется. Так, например, стенки клеток эндосперма злаков содержат всего около 2% целлюлозы, в то же время хлопковые волокна, окружающие семена хлопчатника, состоят из целлюлозы более чем на 90 %. Кроме того, содержание целлюлозы в клеточной стенке изменяется в ходе онтогенеза, обычно вторичные клеточные стенки содержат больше целлюлозы, чем первичные.

Целлюлоза представляет собой линейный гомополимер из сотен или десятков тысяч остатков D-глюкозы. Соединение фрагментов глюкозы обеспечивается β -(1→4)-гликозидной связью. Такое соединение мономерных звеньев отличает целлюлозу от α -(1→4)-гликозидных связей характерных для других гомополимеров глюкозы: крахмала и гликогена. В отличие от амилозы крахмала, молекулы которой сворачиваются в спираль, макромолекула целлюлозы склонна принимать вытянутую стержневую конформацию.

Целлюлоза нерастворима в воде, слабых кислотах и большинстве органических растворителей. Однако благодаря большому числу гидроксильных групп является гидрофильной. Целлюлоза не имеет вкуса и запаха.

Регулярно попадая в желудочно-кишечный тракт человека вместе с растительной пищей, она выполняет ряд важных функций. В настоящее время целлюлоза и ряд ее производных находят широкое применение в медицине и фармакологии.

Применение целлюлозы в медицине обусловлено комплексом ее уникальных свойств: химическая инертность, волокнистость, высокая

механическая прочность, нерастворимость в воде. Материалы, на основе производных целлюлозы, входящие в класс физиологически активных полимеров, обладают преимуществами по сравнению с синтетическими полимерами, что обусловлено отсутствием в их макромолекуле структурных элементов, оказывающих нежелательное действие на организм.

Целлюлоза используется в качестве наполнителя в таблетках в фармацевтике, является сырьем для получения микрокристаллической целлюлозы.

Несмотря на то, что основным по количественному содержанию полисахаридным компонентом растительной биомассы является целлюлоза, после извлечения БАВ из лекарственного сырья при приготовлении препаратов целлюлоза отбрасывается.

!!! Существует понятие диетарной клетчатки.

Диетарная клетчатка (пищевые волокна) – это углеводы (натуральные и синтетические), которые не подвергаются процессам пищеварения в тонком кишечнике человека и несут в себе физиологическую ценность для организма. Примерами природной диетарной клетчатки могут служить – полисахариды пектин, инулин, гуаровая камедь и др. вещества. Клетчатка добавляет диете объем, уменьшает энергетическую плотность пищевых продуктов, может улучшать гликемический контроль и предотвращать или уменьшать запоры. Большое количество людей не потребляют диетарную клетчатку в достаточном рекомендуемом объеме во многих странах. Хорошими источниками диетарной клетчатки служат: цельные зерна, орехи и семена, овощи и фрукты. Большее потребление клетчатки связано со снижением риска развития некоторых хронических заболеваний, включая болезни сердечно-сосудистой системы и диабет, также оно может уменьшить риск общей смертности. Диетарная клетчатка может быть включена в нутриционный перечень на упаковке пищевых продуктов, обычно она обозначается как подраздел общих углеводов.

Типы диетарной клетчатки. Пища в естественном состоянии содержит смесь растворимых и нерастворимых пищевых волокон (клетчатки), и оба этих типа обладают важными положительными эффектами в контексте диеты, богатой клетчаткой. Ранее предполагалось, что физиологический эффект клетчатки обусловлен ее растворимостью, но данные недавних исследований позволяют предположить, что более важны другие ее свойства, особенно ферментируемость и вязкость, а растительные компоненты (такие как антиоксидантные компоненты), связанные с диетарной клетчаткой, также могут вносить свой вклад в снижение риска развития заболеваний.

Список доказанных положительных физиологических эффектов, связанных с применением диеты с высоким содержанием клетчатки: снижение в крови уровня общего холестерина и/или липопротеина низкой плотности (ЛПНП); снижение уровня глюкозы в крови после приема пищи и/или уровня инсулина; увеличение объема стула и/или снижение времени транзита; увеличение

продукции короткоцепочечных жирных кислот за счет ферментации кишечной микробиотой.

В дополнение к этому, следующие физиологические эффекты диетарной клетчатки считаются вероятными, но требуют дальнейших поддерживающих научных доказательств: снижение артериального давления, повышение чувства сытости, снижение веса/уменьшение ожирения, позитивная модуляция кишечной микробиоты.

1.2.3. Органические кислоты растений

Терапевтическая ценность растительного сырья определяется комплексом входящих в его состав биологически активных веществ, оказывающих влияние на физиологические процессы организма. Одной из таких важных групп соединений являются органические кислоты, проявляющие широкий диапазон биологической активности. Эта растительная группа метаболитов ароматического или алифатического строения с одной или несколькими карбоксильными группами играет важную роль в метаболизме как отдельных клеток, так и всего растительного организма.

Органические кислоты образуются в процессе дыхания растений и являются продуктами неполного окисления сахаров и аминокислот. Вместе с этим они могут служить исходным материалом для биосинтеза углеводов, аминокислот, белков и эфиров. Органические кислоты растений участвуют в детоксикации тяжелых металлов в растениях.

Такие органические кислоты, как аскорбиновая кислота, лимонная, яблочная важны для нормальной жизнедеятельности организма человека, принимают участие в обменных процессах, регулируют деятельность пищеварительной системы, обладают бактерицидным, антиоксидантным действием, способствуют уменьшению воспалительной реакции, ускорению регенерации тканей, активируют клеточное дыхание, синтез белков. Органические кислоты возбуждают секреторную активность слюнных желез, усиливают выделение желчи и панкреатического сока, способствуют лучшему всасыванию питательных веществ, нормализуют перистальтику кишечника и создают благоприятные условия для жизнедеятельности полезных микроорганизмов кишечника.

Лекарственные растения, содержащие органические кислоты, обладают противовоспалительным, противомикробным и противоязвенным действием и применяются для лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний. Столь широкий спектр фармакологической активности объясняет интерес ученых к изучению качественного и количественного содержания органических кислот в растениях.

Благодаря присутствию слабых органических кислот лекарственное растительное сырье способствует сдвигу рН в щелочную сторону, экскреции солей мочевой кислоты из организма, улучшает пищеварение, стимулирует

мочеотделение. Однако водные извлечения из лекарственного растительного сырья с кислой реакцией среды противопоказаны пациентам, которые страдают язвенной болезнью ЖКТ и гастритом, что следует учитывать при назначении лекарственных препаратов. Отдельно необходимо рассматривать действие щавелевой кислоты на организм человека. Чрезмерное поступление щавелевой кислоты с пищей может приводить к развитию мочекаменной болезни, вызванной метаболическими нарушениями (важнейшим фактором является нарушение кислотно-щелочного баланса). Щавелевая кислота, попадающая в мочу, образует соединения с ионами кальция, что приводит к формированию кристаллов-оксалатов. В случае развития мочекаменной болезни противопоказаны продукты с высоким содержанием щавелевой кислоты. Таким образом, чрезвычайно важно контролировать содержание органических кислот в лекарственном растительном сырье и пищевых продуктах, в особенности щавелевой кислоты.

Органические кислоты являются постоянными составными частями растений. Они придают частям растений кислый вкус. Органические кислоты содержатся во всех органах растений как в свободном виде, так и в виде солей или эфиров. Для плодов, за редким исключением, характерно преобладание свободных кислот над связанными, в то время как в листьях и других частях растений обычно органические кислоты находятся преимущественно в виде солей.

Содержащиеся в растениях органические кислоты алифатического ряда подразделяются на две большие группы – летучие (перегоняющиеся с водяным паром) и нелетучие. Из летучих кислот наиболее важными являются муравьиная, уксусная, масляная кислоты, валериановая и изовалериановая. Примером нелетучих кислот могут служить – гликолевая, яблочная, лимонная, щавелевая, молочная, пировиноградная, малоновая, янтарная, щавелевоуксусная, винная, фумаровая, изолимонная, цис-аконитовая и др.

Кислоты определяют не только вкус органов и частей растений, но в некоторой степени и их запах. Последний зависит от летучих кислот (муравьиная, масляная, уксусная), которые после этерификации (метилловые эфиры уксусной или масляной кислоты) могут обуславливать некоторые оттенки аромата растений, в том числе и лекарственных.

Органические кислоты алифатического ряда

Набор органических кислот в лекарственных растениях весьма широкий. Лекарственное значение среди алифатических органических кислот имеют валериановая кислота и ее изомер – изовалериановая кислота и их эфиры, весьма характерные для корневищ и корней *Valeriana officinalis* L. Валериановая (пентановая) кислота – одноосновная предельная карбоновая кислота, бесцветная жидкость с неприятным запахом. Валериановая кислота обладает слабым спазмолитическим действием. Изовалериановую кислоту (3-метилбутановая кислота) – $\text{CH}_3\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-COOH}$ получают из валерианового корня или синтетически. Она применяется для синтеза лекарственных веществ: валидола, бромурала и др.

Муравьиная кислота НСООН найдена в крапиве, малине; в виде сложных эфиров содержится в яблоках. Муравьиная кислота представляет собой подвижную жидкость с резким запахом и является наиболее часто используемой антибактериальной кислотой. Будучи самой маленькой из молекул органических кислот, она может легко проникать в бактерии и нарушать их внутренний баланс рН. Её антибактериальные свойства проявляются в отношении грамотрицательных бактерий *E.coli*, *Salmonella*, *Listeria* и других. Сегодня муравьиная кислота входит в состав мазей, выпускается в виде спиртовых настоек и других лекарственных средств. Часто используется для лечения остеохондроза. Фармакологическое действие – местноанестезирующее, местнораздражающее, отвлекающее, противовоспалительное, улучшающее тканевой метаболизм.

Молочная кислота (α -оксипропионовая) $\text{СН}_3\text{—СН(ОН)—СООН}$ обнаружена во многих растениях. Довольно заметное количество ее содержат листья малины. Молочная кислота часто образуется при анаэробном дыхании растений.

Люди уже много лет ценят благотворное действие молочной кислоты. Вещество, содержащееся в квашеных и молочных продуктах, очень благотворно влияет на функционирование человеческого организма. Благодаря ее присутствию, количество патогенных бактерий в организме уменьшается, а метаболизм ускоряется, что приводит к улучшению общего состояния и увеличению аппетита. Молочная кислота способствует усвоению кальция и железа. Эффективное усвоение минералов способствует улучшению состояния костей, мышц, суставов и сердечно-сосудистой системы. Помимо функции детоксикации, она также обладает антиоксидантными свойствами. Это натуральный консервант и регулятор кислотности, который придает продуктам питания специфический вкус и аромат.

Масляная кислота $\text{СН}_3\text{—СН}_2\text{—СН}_2\text{—СООН}$ встречается в небольших количествах в растениях как в свободном виде, так и в виде сложных эфиров. Свободная масляная кислота обладает сильным и весьма неприятным запахом (запах несвежего сливочного масла). Масляная кислота применяется в парфюмерной и кондитерской промышленности в виде сложных эфиров, являющихся ценными ароматическими веществами. Например, метиловый эфир масляной кислоты обладает запахом яблок, этиловый — ананасов и т. д.

Масляная кислота регулирует обмен воды и электролитов, стимулируя их всасывание. Показано, что дефицит масляной кислоты играет ключевую роль в развитии диареи, вызванной антибиотиками.

Масляная кислота поддерживает целостность слизистого кишечного барьера, стимулируя выработку защитной слизи и антимикробных белков. Тем самым, предотвращается транслокация (перемещение) бактерий из просвета кишечника во внутреннюю среду организма.

Масляная кислота оказывает противовоспалительное действие, стимулируя образование противовоспалительных веществ, и предотвращая образование факторов воспаления. Противовоспалительное действие масляной кислоты было показано при различных воспалительных процессах в толстом кишечнике.

Масляная кислота за счет регуляции рН (создает слабокислую среду) способствует созданию благоприятных условий для роста собственной полезной микрофлоры и неблагоприятных для условно-патогенной и патогенной микрофлоры.

Таким образом, масляная кислота играет ключевую роль в физиологии эпителия кишечника, являясь не только источником энергии, но и влияет на широкий спектр клеточных функций, поддерживая кишечный гомеостаз. Биологическая важность масляной кислоты подтверждается тем фактом, что многие заболевания кишечника, такие как воспалительные заболевания, нарушения его моторики и функций, опухоли толстой кишки, диарея на фоне антибактериальной терапии и др., часто сопровождаются сниженной концентрацией масляной кислоты в толстой кишке. Поэтому восстановление достаточного количества бутирата в толстой кишке рассматривается на сегодняшний день как эффективный способ поддержания гомеостаза и эубиоза толстой кишки, а также для лечения и профилактики заболеваний толстой кишки.

Уксусная кислота, вероятно, содержится во всех растениях, поскольку она играет большую роль в обмене веществ растений в виде ацетил-КоА (CH_3COCoA) и образовании фармакологически активных веществ.

Наиболее широко распространены в растениях яблочная и лимонная кислоты; эта пара кислот присутствует почти в каждом растении.

Яблочная кислота – $\text{HOOC-CH(OH)-CH}_2\text{-COOH}$ – двухосновная оксикарбоновая кислота. Образуется в цикле Кребса. Яблочной кислоты особенно много в плодах рябины, барбариса до 6 % и кизила. Она преобладает среди кислот в яблоках (вообще в семечковых и косточковых плодах). Она содержится в плодах томатов, семенах злаков и бобовых, а также в листьях. Большие количества яблочной кислоты накапливаются в вегетативных органах сочных растений — суккулентов — молодила, агавы, кактусов, что связано с участием данной кислоты в кислотном метаболизме толстянковых. Например, у агавы и молодила эта кислота составляет до 8-10% сухого вещества. Отсутствует в плодах цитрусовых и в клюкве. Табак и махорка содержат ее до 6,5%. Яблочная кислота играет важную роль при минеральном питании растений; она первой накапливается в корнях растений при поступлении в них минеральных веществ, нейтрализуя катионы. У сахарного тростника она является первым продуктом фотосинтеза, образующимся в течение 0,6-3 с.

Яблочная кислота имеет приятный вкус и безвредна для организма человека. В медицине применяют как составную часть слабительных средств и препаратов от хрипоты.

Лимонная кислота – 2-гидрокси-1,2,3-пропантрикарбоновая кислота, 3-гидрокси-3-карбокспентандиовая.

Содержание лимонной кислоты в лимонах достигает 9 % сухого вещества. Много ее в листьях и стеблях махорки (7-8 % сухой массы), причем в южных широтах ее содержание всегда выше, чем в северных.

При приеме внутрь в небольших дозах (например, при употреблении цитрусовых) активизирует цикл Кребса, что способствует ускорению метаболизма.

Щавелевая кислота – HOOC-COOH – простейшая дикарбоновая кислота. Для нее характерна кальциевая соль, нерастворимая в воде и даже в уксусной кислоте. Чрезвычайно широко распространена в растениях, как в свободном виде, так и в виде солей. Особенно часто содержится в растениях в виде щавелевокислого (оксалата) кальция, который иногда накапливается в очень больших количествах в форме сросшихся между собой кристаллов. Большие количества щавелевой кислоты содержат некоторые мясистые растения – суккуленты (молодило и др.). В плодах и ягодах она содержится в незначительном количестве – от 0,005 до 0,06%.

Щавелевоуксусная кислота – $\text{HOOC-CO-CH}_2\text{-COOH}$ (оксалоацетат) – важный промежуточный продукт цикла Кребса, связывающий между собой превращения углеводов и аминокислот. Играет важную роль в биосинтезе аспарагиновой кислоты, аланина и аспарагина. Найдена во многих растениях.

Винная (диоксиянтарная, тартаровая, 2,3-дигидроксибутандиовая кислота) кислота $\text{HOOC-OH(OH)-CH(OH)-COOH}$ – двухосновная оксикислота – распространённое природное соединение, встречается преимущественно в растениях южных широт в виде оптически активной D-винной кислоты, а также в виде рацемической DL-винной, или виноградной, кислоты. В значительном количестве она содержится в кислом соке многих фруктов, например, в виноградном соке. Соли винной кислоты – тартраты. D-винную кислоту получают действием минеральных кислот на её кислую калиевую соль (винный камень), образующуюся при брожении виноградного сока.

Цис-аконитовая кислота. Органическая кислота найдена в заметных количествах в растениях аконита, от которого и получила свое название. Довольно широко распространена в растениях.

Сахарные кислоты

Кроме упомянутых органических кислот в растениях содержатся также многие другие кислоты – продукты окисления сахаров, например, глюконовая, глюкуроновая и аскорбиновая кислоты. Большинство соединений этой группы образуется окислением C-1 альдегидной или C-6 оксиметильной групп альдоз, либо окислением и той и другой групп. Эти кислоты имеют общие названия альдоновых, уроновых и альдаровых кислот.

Большое значение в жизни растений имеют уроновые кислоты, образующиеся при окислении спиртовой группы у шестого углеродного атома гексоз. Эти кислоты принимают участие в синтезе полиуронидов – высокомолекулярных соединений, построенных из остатков уроновых кислот (глюкуроновой, галактуроновой, маннуроновой и др.). К полиуронидам в растительном мире относятся пектиновые вещества, альгиновая кислота, камеди, некоторые слизи.

В химическом составе и обмене веществ растений наряду с органическими кислотами жирного ряда большую роль играют кислоты циклического ряда. Большинство их являются фармакологически активными веществами – бензойная, салициловая, галловая, кумаровая, хлорогеновая, кофейная, хинная и другие.

Циклические кислоты – ароматические и алициклические.

Ароматические кислоты

Бензойная кислота представляет собой ароматическую кислоту она является компонентом бензойной смолы, эфирных масел, камедей, бальзамов.

Бензойная кислота – хороший антисептик, поэтому содержащие его ягоды (брусника, клюква, калина) при хранении долго не портятся, а также оказывают выраженное противомикробное действие. Содержится также в плодах и коре деревьев. Кислота и ее соли – лекарственные препараты. Применяется наружно как противомикробное и фунгицидное средство. При приеме внутрь бензойная кислота усиливает секрецию слизистых оболочек дыхательных путей. Соль бензойной кислоты (бензоат натрия) используют как отхаркивающее средство.

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.

Фенолкислоты относятся к С6-С1 ряду фенольных соединений и являются производными бензойной кислоты: салициловая, галловая и др.

Салициловая кислота (от лат. *Salix* «ива», из коры которой она была впервые выделена) 2-гидроксибензойная кислота. В растениях встречается в виде гликозидов. Обнаружено ее регулирующее действие на ряд физиологических и биохимических процессов в растении. Некоторые авторы относят ее к фитогормонам. В медицине применяют наружно в качестве антисептика в виде растворов, присыпок, мазей и паст.

Эфир салициловой кислоты – АСПИРИН – используют как противовоспалительное, жаропонижающее и болеутоляющее средство, сосудорасширяющее и препятствующее образованию тромбов средство.

Галловая кислота. Из триоксибензойных кислот имеет наибольшее распространение. Содержится в листьях чая, дубовой коре и др. Особенно много ее содержится в чернильных орешках (галлах), из которых ее выделяют. Составляет основу гидролизуемых танинов.

Оксикоричные кислоты относят к фенилпропаноидам – С6-С3 ряду фенольных соединений. п-кумаровая (или п-оксикоричная) и кофейная кислоты, 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 ее количество может достигать 9%.

Кофейная кислота. 3,4-диоксикоричная кислота. Кофейная кислота содержится во всех растениях, так как является промежуточным продуктом в биосинтезе лигнина и других биологически активных веществ. Является

мощным иммуномодулятором и антиоксидантом (более сильным, чем аскорбиновая кислота и токоферол). Широко распространена в виде производных, впервые найдена в кофе. Часто образует димеры с алициклическими кислотами – хинной и шикимовой. Наиболее известна хлорогеновая (3-кофеилхинная) кислота, которая в больших количествах содержится в необжаренных зернах кофе и прорастающих семенах подсолнечника, а также листьях черники, белого тополя, корнях цикория.

Фармакологические свойства хлорогеновой кислоты обусловлены в основном сильным антиоксидантным действием. По антиоксидантной активности в 27 раз превосходит флавоноид нарингенин, но уступает феруловой и кофейной кислоте. Отмечено гипогликемическое, гипохолестеринемическое, гепатопротекторное, противоопухолевое действие.

Хлорогеновая, феруловая, синаповая кислоты – принимают активное участие в синтезе других фармакологически активных веществ

Алициклические кислоты ряда циклогексана

Хинная кислота – одноосновная полигидроксикарбоновая кислота. Впервые найдена в хинной коре (до 9 %). Содержится в кофе, чернике, клюкве. Принимает участие в биосинтезе многих природных веществ. Хинную кислоту получают синтетически гидролизом хлорогеновой кислоты.

Шикимовая кислота – органическая моноциклическая одноосновная мононенасыщенная тригидроксимонокарбоновая кислота. Является ключевым интермедиатом в метаболическом пути, получившем название шикиматный путь. Играет важную роль в биосинтезе ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана), коричных кислот, флавоноидов, лигнина, убихинона и других природных веществ. Впервые выделена из плодов аниса звездчатого.

Хотя шикимовая кислота присутствует в большинстве микроорганизмов, растений и грибов, это – биосинтетическое промежуточное звено. Поэтому она, не накапливаясь, расходуется на последующие реакции и обнаруживается обычно в очень низких концентрациях. В значительных количествах шикимовая кислота обнаружена только в анисовом бадьяне и родственных растениях.

Из природной шикимовой кислоты в ходе многоступенчатого синтеза получают осельтамивир – активное вещество препарата против гриппа Tamiflu®. Длинный путь синтеза через опасные промежуточные соединения, небольшой общий выход (примерно 35 %) и дорогостоящая добыча шикимовой кислоты из растительного сырья (китайский бадьян) затрудняют производство осельтамивира в больших количествах.

В связи с недостаточным количеством для нужд фармацевтической промышленности шикимовой кислоты, идёт поиск экономически более целесообразных её источников. Сырьём для получения шикимовой кислоты может служить растение ликвидамбар. Исследование 2010 года, проведённое Университетом штата Мэн, показало, что шикимовая кислота может также быть выделена из хвои нескольких видов сосны.

Учитывая распространенность органических кислот в лекарственном растительном сырье и широкий спектр их биологической активности очень важно контролировать содержание органических кислот в лекарственном растительном сырье.

1.3. Вторичный метаболизм лекарственных растений

1.3.1. Особенности вторичного метаболизма лекарственных растений

Вещества, участвующие в обмене внутри организма, получили название метаболиты. Традиционно все метаболиты растительного организма делят на первичные и вторичные.

Реакции и соединения первичного обмена являются общими для всех живых организмов. Первичные метаболиты, такие как нуклеотиды, белковые аминокислоты, липиды, органические кислоты, углеводы найдены во всех растениях и выполняют важную физиологическую роль, которая обычно очевидна. Помимо первичных метаболитов растения содержат огромное количество веществ, не участвующих в основном клеточном обмене.

Первичный метаболизм – это дыхание, фотосинтез, синтез ДНК, РНК, белков, липидов. Соединения и реакции первичного метаболизма являются общими и жизненно важными для всех живых организмов.

Вторичный метаболизм включает синтез вторичных метаболитов, которые не участвуют в основном клеточном обмене.

В 1891 г. немецкий биолог Альбрехт Коссель в лекции «О химическом составе клеток», которую он прочел для Берлинского общества физиологов, впервые ввел понятие «первичных» и «вторичных» компонентов клетки: «Я предлагаю называть соединения, имеющие важность для каждой клетки, первичными, а соединения, не присутствующие в любой растительной клетке, – вторичными. В то время как первичные метаболиты присутствуют в любой растительной клетке, способной к делению, вторичные метаболиты присутствуют в клетках только "нечаянно" и не необходимы для жизни растения». Отсюда становится понятен термин «вторичные метаболиты» – второстепенные, «случайные», некоторые «чужаки» растительного метаболизма, допустимые «излишества». Такие соединения в литературе иногда даже называли «веществами роскоши клеток».

К настоящему времени на предмет присутствия вторичных метаболитов исследовано около 20-30 тыс. видов растений, т.е. 10-15% от всей флоры Земли и выявлено около 100 000 веществ вторичного происхождения, и их перечень продолжает расширяться (ежедневно в мире идентифицируют около десятка новых). Высказывается мнение, что общее количество соединений вторичного метаболизма приближается к миллиону. По современным данным за вторичный

метаболизм отвечают 15-25 % генов растительных организмов, что свидетельствует о важности вторичного метаболизма в общем обмене растений.

Подавляющее большинство известных в настоящее время вторичных соединений было выделено из высших растений. По данным литературы за 1979 г. число алкалоидов животного происхождения составляло примерно 50, в то время как в растениях было обнаружено свыше 5000 алкалоидов.

Очевидно, что при таком широком представительстве в мире растений считать вторичные метаболиты синтезированными «случайно» не корректно. Также маловероятно, что такое количество разнообразных соединений не имеет функциональной роли в жизни растения.

Классификация вторичных метаболитов

В настоящее время можно встретить элементы четырех вариантов классификации вторичных соединений.

Эмпирическая (тривиальная) классификация – это самый древний принцип классификации. Он основан на определенных свойствах вторичных метаболитов. Например, алкалоиды – соединения, имеющие щелочные свойства; сапонины – вещества, образующие при встряхивании пену (от *Saponaria* – 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.

Химическая классификация Данный вариант классификации основан на признаках химической структуры вторичных метаболитов и в настоящее время 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 Данная 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. Очевидно, это наиболее обоснованный вариант классификации. Однако поскольку биохимия вторичного метаболизма еще недостаточно разработана, то 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 данной 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 у разных видов растений фенольными соединениями, изопреноидами, полиацетиленами и др. Разработка функциональной классификации вторичных

метаболизм только начинается, но она имеет принципиальное значение для физиологии растений.

Отсутствие единой 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 (химическим структурам) вторичных метаболитов. Возникают также проблемы, когда соединение содержит ряд признаков, характерных для разных групп вторичных метаболитов.

По химической структуре (химической классификации) выделяют следующие основные классы вторичных метаболитов:

- изопреноиды (терпены и терпеноиды) – примерно 35 000 структур;
- алкалоиды – примерно 12 000 структур;
- фенольные соединения – примерно 8 000 структур;
- минорные группы – примерно 10 000 структур (небелковые аминокислоты, цианогенные гликозиды, гликозиды горчичных масел, беталаины, цианолипиды, ацетогенины, ацетофеноны, аллицины, тиофены и др.).

Самые простые вторичные метаболиты по своей структуре – это терпены, содержащие только 2 химических элемента – углерод и водород. Производные терпенов терпеноиды содержат еще и кислород. Фенольные соединения, как и терпеноиды, состоят из углерода, водорода и кислорода, однако, в отличие от терпеноидов, включают чрезвычайно энергетически выгодное ароматическое ядро, стабилизированное за счет значительной величины энергии делокализации π -электронов.

Алкалоиды – это еще более сложные структуры, содержащие кроме углерода, водорода и кислорода еще и атом азота. На примере алкалоидов четко прослеживается эволюционная последовательность развития растений. Так, алкалоиды синтезируются, главным образом, высшими, преимущественно цветковыми растениями. У низших растений, мхов и папоротников алкалоиды встречаются крайне редко. Многие алкалоиды цветковых растений имеют ярко выраженную видовую специфичность по вырабатывающим их растениям, что отражено даже в названиях большинства алкалоидов. Как правило, те или иные алкалоиды характерны для определенных ботанических семейств. Представители одного систематического порядка растений также вырабатывают алкалоиды сходной химической структуры, отсутствующие в растениях других семейств. Все это свидетельствует о значительной видовой специфичности вторичного метаболизма, в то время как первичный обмен у растений во многом универсален.

Следует отметить, что гликозиды, сапонины и терпеноиды являются более универсальными для растительного мира. Наличие похожих веществ может быть

отмечено у представителей весьма далеких классов. Так, терпеноиды туйон и пинен у голосеменных и покрытосеменных растений. Это объясняется тем, что исходным материалом для биосинтеза этих сравнительно простых по структуре веществ являются широко распространенные среди всех растительных организмов углеводы, органические кислоты и другие подобные им соединения.

Признаки вторичных метаболитов

Значительное количество веществ вторичного происхождения у растений и разнообразие их строения весьма затрудняют выделение характерных признаков. Однако этот вопрос представляется особенно важным, так как по химической структуре молекулы отличить вторичные метаболиты от первичных можно далеко не всегда.

Так, фитостерины (ситостерин, кампестерин, стигмастерин) – обязательные компоненты мембран растительной клетки, и, следовательно, – типичные первичные соединения. Экдистероиды (гормоны линьки насекомых) – вторичные метаболиты, они присутствуют лишь у некоторых видов растений. Эти вещества, как полагают, участвуют в защите растений от насекомых. Структуры белковых аминокислот (первичные метаболиты) и небелковых аминокислот (типичные вторичные метаболиты) часто отличаются лишь наличием или отсутствием метильной, гидроксильной, либо другой функциональной группы.

А.М. Носов (2005) выделяет 4 признака, которые в совокупности достаточно четко раскрывают понятие вторичных метаболитов растений.

- 1) присутствие не во всех растениях;
- 2) наличие биологической активности;
- 3) относительно низкий молекулярный вес;
- 4) небольшой набор исходных соединений для их синтеза.

Однако, эти признаки достаточно расплывчаты и условны.

Некоторые вещества вторичного происхождения специфичны для конкретного семейства, рода или даже вида, например, метаболиты женьшеня – гинзенозиды или экдистероиды (гормоны линьки насекомых), присутствующие лишь у некоторых видов растений. Ряд вторичных метаболитов найден практически во всех растениях (например, многие фенилпропаноиды).

Это именно признаки вторичных метаболитов, поскольку каждый из них, в общем-то, не обязателен. Поэтому о принадлежности соединения ко вторичным метаболитам можно судить лишь по совокупности признаков.

!!! Еще один критерий выделения первичных и вторичных метаболитов основан на выяснении функционального значения в жизнедеятельности растений. Наиболее обоснованно отнести соединение к первичным или вторичным метаболитам можно только после выяснения его роли в жизнедеятельности растения, т.е. на основе его функциональной значимости.

!!! Функциональное определение вторичного метаболизма в первом приближении можно дать как метаболизм соединений, имеющих значение на уровне целого организма, но не на уровне клетки.

Функции вторичных метаболитов

Относительно функционального значения вторичных метаболитов высказываются следующие основные точки зрения:

- продукты жизнедеятельности,
- запасные соединения,
- защитные соединения,
- «биохимические инструменты» взаимодействия растений с окружающей средой.

Первичной точкой зрения является мнение, что вторичные метаболиты – конечные продукты первичного метаболизма («отходы производства»), которые накапливаются в вакуолях клетки и практически не востребуются. Предполагается, что при функционировании разнообразных путей первичного метаболизма растений (включая альтернативные пути) образуются токсичные первичные метаболиты, которые подвергаются детоксикации с образованием вторичных метаболитов, например гликозидов. Встает вопрос, насколько рационально для растений решение проблемы утилизации отходов путем образования такого большого количества соединений? Взгляду на вторичные метаболиты как «отходы производства» или «отбросы» противоречат и данные изменения содержания вторичных метаболитов в онтогенезе. Так, никотин начинает образовываться на первых этапах прорастания семян и отсутствует в семенах. Кофеин отсутствует в семенах чая, а в молодых листьях его содержание достигает 4 %.

Другая точка зрения рассматривает вторичные метаболиты как форму запасания веществ. Концентрируясь в значительных количествах в различных органах, вещества вторичного происхождения могут использоваться клеткой и служить источником азота как алкалоиды или субстратом дыхания как фенольные соединения.

Большинство исследователей считают, что вторичные метаболиты выполняют защитную функцию. В отличие от животных, растения не имеют возможности скрыться от нападающего врага или поглотить его, т. е., попросту говоря, съесть. Для растений продуцирование защитных соединений является главной оборонительной стратегией наряду с такими анатомо-морфологическими приспособлениями как формирование восковой кутикулы, наличие колючек, способность к регенерации и т. д. Горький вкус, резкий неприятный запах, повышенное содержание эфирных масел, гликозидов, сапонинов, смол и других ядовитых, едких или вяжущих веществ являются для растений основными, если не главными средствами борьбы с врагами. Так, накопление дубильных веществ в растениях препятствует их поеданию и ингибирует жизнедеятельность микроорганизмов, что делает древесину некоторых видов стойкой к гниению. Среди представителей тропической и субтропической флоры отмечается значительное число смолоносных растений, в которых смолы и бальзамы являются важнейшим фактором биологической стойкости против многочисленных микроорганизмов и насекомых, в изобилии развивающихся в условиях теплого влажного климата. Большое накопление защитных соединений у представителей аридной флоры объясняется не только

затрудненностью регенерации поврежденных растений в условиях крайнего перегрева, но и конкуренцией между самими растениями за скудные ресурсы среды. В этом проявляется другой механизм защиты – аллелопатия. Аллелопатические отношения (от греч. *allelon* – взаимно и *pathos* – воздействие), т. е. взаимодействия растений с другими организмами в экосистемах, а также конкурентные взаимоотношения между собой, определяются наличием аллелопатических соединений (например, фитонциды, колины и др.), которые являются веществами вторичного метаболизма. Так, показано, что бархатцы (*Tagetes*), выделяя в окружающую среду вторичные метаболиты (тиофены), ингибируют прорастание семян других видов. Аналогичный эффект обнаружен у опавших листьев грецкого ореха (*Juglans regia*), в которых образуется природный антибиотик юглон. В работе А. М. Гродзинского рассматривается аллелопатическое действие Пырея ползучего (*Elytria repens*), связанное с содержанием в корневищах полиненасыщенного углеводорода агропирена. Агропирен угнетающе действует на грибы и бактерии, тормозит прорастание семян, рост корней и стеблей высших растений. Это вещество способно проникать в ткани соседних растений, пропитывать клеточные стенки, перемещаться по сосудам, оказывая токсический эффект на наиболее молодые части растений. Вследствие этого пырей легко вытесняет другие виды, образуя постоянно расширяющиеся куртины. Со временем, однако, куртины начинают выпадать от центра к периферии из-за накопления веществ в концентрациях, угнетающих развитие особей собственного вида. Вторичные вещества могут выступать в качестве репеллентов (от лат. *repello* – отталкиваю, отгоняю), т. е. веществ, отпугивающих другие организмы своим вкусом, запахом и цветом. Наличие таких веществ делает растения несъедобными и обеспечивает защиту от поедания травоядными животными. Среди вторичных метаболитов есть и аттрактанты (от лат. *attraho* – притягиваю к себе) – вещества, служащие для привлечения других организмов. Примером являются пигменты и ароматические вещества, наличие которых в цветках привлекает опылителей, а в плодах – распространителей семян. В практике аттрактанты используются как приманки для вредителей сельскохозяйственных растений. Важнейшей функцией вторичных веществ является защита растений от различных вредителей, патогенов от поедания травоядными животными. В растениях обнаружены соединения, токсичные для насекомых, грибов, бактерий, рыб. Растения, содержащие подобные соединения, соответственно называют инсектицидными, фунгицидными, бактерицидными, ихтиоцидными. Некоторые животные приспособились накапливать в организме токсичные вещества вторичного происхождения, питаясь растениями с высоким содержанием вторичных соединений. Таким образом, они становятся несъедобными для других видов. Для самих животных эти вещества безвредны; поскольку в процессе эволюции выработались механизмы детоксикации. Примером являются бабочки (*Danaus plexipus*), ядовитые для ряда хищных птиц благодаря аккумуляции в организме сердечных гликозидов, которые были усвоены с пищей в стадии гусеницы.

Важно отметить, что в процессе селекции у культурных растений, снижена или даже утрачена способность синтезировать некоторые вторичные метаболиты, что уменьшает их устойчивость к патогенам, насекомым и приводит к необходимости использовать экзогенные вещества для обработки. Не случайно основой многих таких соединений, в том числе инсектицидов (репеллентов, аттрактантов и др.), служат вторичные метаболиты природного происхождения. Примером, являются синтетические препараты пиретрины, синтез которых начался в результате изучения инсектицидных свойств пиретрума – природного инсектицида (репеллента), добываемого из цветков Ромашки далматской (*Pyrethrum cinerariifolium*). Среди веществ вторичного метаболизма, защищающих растения от патогенных микроорганизмов, выделяют фитоантисипины (протоксины) и фитоалексины. Фитоантисипины – это соединения, постоянно присутствующие в растениях и обеспечивающие их видовой иммунитет. В нормальных условиях эти вещества не являются токсичными поскольку находятся в неактивном состоянии. Ядовитые свойства проявляют продукты гидролиза фитоантисипинов. Механизм активации фитоантисипинов основан на пространственной изоляции мест локализации протоксина и ферментов, их гидролизующих. Неактивный предшественник обычно располагается в вакуоли, а фермент – в цитозоле или клеточной стенке. Поражение патогеном приводит к повреждению клеток и тканей, разрушению тонопласта, гидролизу и образованию токсичных соединений, участвующих в защитных реакциях организма. Так, при гидролизе цианогенных гликозидов, которые встречаются у растений семейств Розовые и Злаки происходит образование синильной кислоты. Глюкозинолаты, выявленные у растений семейства Крестоцветные, при гидролизе образуют летучие вещества с запахом горчицы (нитрилы и изотиоцианаты). В отличие от фитоантисипинов фитоалексины не присутствуют в здоровых растениях, а синтезируются только при повреждении. Появление фитоалексинов является ответной реакцией на заражение грибами и бактериями. При этом активируются гены, отвечающие за синтез фитоалексинов. В качестве фитоалексинов растения используют разнообразные соединения, присутствие которых часто является хемотаксономическим признаком. Так, сесквитерпены встречаются у представителей семейств Пасленовые и Мальвовые (например, ришитин у картофеля и гемигоссипол у хлопчатника). Изофлавоноиды (генистеин) обнаруживаются в семействе Бобовые, а полиацетилены (сафинол, виероновая кислота) – в семействе Сложноцветные.

Кроме защитной функции вещества вторичного происхождения участвуют в процессах размножения растений, обуславливают окраску тканей. Это, прежде всего, антоцианы, каротиноиды, беталаины. Для растений важно иметь окрашенные органы, такие как цветки и плоды для привлечения животных, которые помогают расселению видов растений посредством непроизвольного пыления или распространения семян. В процессе эволюции у растений происходил отбор пигментов, придающих цветкам и плодам окраску, которая привлекала бы животных – главных опылителей и разносчиков пыльцы.

В последнее время выдвигается гипотеза, что вторичные метаболиты выполняют экологическую функцию, являясь важнейшими элементами взаимодействия с окружающей средой, обеспечивающими биохимическую адаптацию. Вариабельность условий окружающей среды, а также многообразие путей адаптации видов к этим условиям способствует разнообразию соединений вторичного метаболизма, видовой специфичности их набора, зависимости от фазы развития и условий выращивания растений.

Локализация вторичных метаболитов

Для вторичного метаболизма характерна четкая пространственная координация деятельности клеток, тканей и целого растения. Рассмотрим пространственную локализацию синтеза и накопления вторичных метаболитов на разных уровнях организации.

Клеточный уровень. Синтез вторичных метаболитов происходит преимущественно в пластидах и цитозоле (чаще всего эндоплазматическом ретикулуме). Растения отличаются дублированием синтеза в различных компартментах клетки. Моно-, сескви- и тритерпеноиды синтезируются в цитозоле по мевалонатному пути, а моно-, ди- и тетратерпеноиды – в пластидах по альтернативному немевалонатному пути. Оба известных пути синтеза фенольных соединений также локализованы в разных компартментах – в цитозоле и пластидах.

Вторичные метаболиты накапливаются в вакуолях или клеточной стенке. Для алкалоидов, беталаинов, гликозидов характерно концентрирование в виде солей преимущественно в вакуолях, а для изотерпеноидов и фенольных соединений – в вакуолях и в клеточной стенке. Таким образом, уже на уровне клетки наблюдается пространственное разобщение синтеза и накопления вторичных метаболитов.

Тканевый уровень. Равномерное распределение вторичных метаболитов в тканях наблюдается редко. Как правило, они накапливаются неравномерно, при этом используются различные секреторные структуры.

Внешние (наружные) секреторные структуры представлены железистыми волосками (трихомы), железками, нектарниками и гидатодами. Функция наружных структур выделение вторичных метаболитов в окружающую среду.

Внутренние секреторные структуры представлены одиночными клетками (идиобласты), вместилищами (полостями и каналами), млечниками. Идиобласты чаще всего присутствуют в покровных тканях, отличаются по размерам и форме от окружающих клеток, имеют развитую вакуолярную систему (крупная центральная вакуоль или много мелких вакуолей).

Полости и каналы (смоляные, камеденосные и слизевые) по происхождению представляют собой внеклеточные структуры. Синтез вторичных метаболитов происходит в клетках, выстилающих ходы и каналы, затем эти вещества секреторируются (выделяются) во вместилища.

Млечники представляют собой живые клетки, содержащие млечный сок (латекс), и являются производными вакуолярной системы растений. Латекс – это вакуолярный сок млечника, имеющий сложный состав и содержащий углеводы,

органические кислоты, белки, слизи, изопреноиды, алкалоиды. Обычно латекс имеет молочно-белую окраску, исключение составляет млечный сок чистотела ярко-оранжевого цвета. Млечники могут быть простые (одноклеточные, нечленистые) и сложные (членистые). В последнем случае происходит соединение рядов клеток путем растворения разделяющих клеточных стенок и формирование разветвленной системы полых трубчатых образований, морфологически подобных сосудам. Примером является образование млечников в стебле Молочая (*Euphorbia*). Млечники формируются у представителей 20 семейств, в том числе Молочайные, Колокольчиковые, Маковые и др. Латекс из млечников, как и сок из вместилищ, пассивно вытекает при повреждении (поранении), поэтому данные образования относят к экскреторной системе растений.

Органый уровень. Вторичные метаболиты неравномерно распределяются по растению, преимущественно локализуясь в определенных органах. Например, дубильные вещества у травянистых растений накапливаются в основном в подземных органах. Эфирные масла – в лепестках цветков, плодах, листьях, стеблях, корнях. Алкалоиды – в листьях, плодах и семенах, корнях, коре. Локализация метаболитов зависит от вида растения, условий окружающей среды; типа вещества и его функции.

Качественный состав вторичных метаболитов может значительно отличаться в органах одного и того же растения. Например, у термопсиса ланцетного в фазу бутонизации и цветения в надземной части преимущественно накапливаются алкалоиды термопсин, тахикарпин, а в фазу плодоношения в семенах — алкалоид цитизин. Эти алкалоиды оказывают разное фармакологическое действие. На уровне тканей и органов, как и на уровне клеток, проявляется разделение мест синтеза и накопления вторичных метаболитов. Так, синтез стероидных гликозидов происходит в листьях, накопление – в эпидермальных тканях листьев, стеблей и в паренхиме корневищ.

Влияние факторов на накопление вторичных метаболитов

На состав вторичных метаболитов в растениях большое влияние оказывают факторы окружающей среды, в т.ч. географический, климатический, эдафический (почвенный), орографический (рельеф), биотический. Так, установлено, что в растениях южных широт накапливается больше эфирных масел и алкалоидов, а в растениях умеренной зоны – флавоноидов и дубильных веществ. Температурные условия, освещенность и влажность также существенно влияют на накопление вторичных метаболитов. При повышении температуры и влажности возрастает накопление каротиноидов, а снижение температуры уменьшает содержание гликозидов. Рост освещенности и умеренная влажность повышает уровень флавоноидов. В опытах А.А. Шмука (1934) на махорке (*Nicotiana rustica*) установлено, что в засушливых условиях процент никотина снижается, а в более влажных – возрастает. Состав вторичных метаболитов зависит от почвенных условий (плодородия почвы, ее структуры, влажности, кислотности, химического состава, содержания минеральных веществ). Показано, что концентрация алкалоидов в листьях дурмана (*Datura*) с

увеличением кислотности почвы снижается. Наибольшее содержание дубильных веществ отмечено у растений, произрастающих на плотных известковых почвах, а на рыхлых черноземных и песчаных почвах их содержание меньше. Высокий уровень фосфора в почве способствует накоплению флавоноидов, дубильных веществ и сердечных гликозидов. Повышение содержания азота в почве активизирует биосинтез алкалоидов, но снижает содержание дубильных веществ и т. д. Отмечена взаимосвязь между содержанием в почве отдельных химических элементов и накоплением растениями определенных групп вторичных метаболитов. Так, растения, продуцирующие сердечные гликозиды, избирательно поглощают марганец, молибден и хром; алкалоиды – медь, марганец, кобальт; сапонины – молибден и ванадий.

Орографические факторы (высота над уровнем моря, крутизна склонов) также влияют на накопление вторичных метаболитов. Например, женьшень накапливает больше биологически активных веществ на восточных и западных склонах в кедрово-широколиственных лесах до высоты 700 м над уровнем моря. Крестовник плосколистный максимальное количество алкалоидов содержит при произрастании на высоте 1600-2000 м над уровнем моря. При культивировании хинного дерева установлено, что с увеличением высоты над уровнем моря содержание алкалоидов увеличивается.

Влияние фитоценотического фактора на накопление вторичных метаболитов изучено на Багульнике болотном. Показано, что в сырье багульника наибольшее количество эфирного масла и левола отмечается в растениях, произрастающих в сфагновых сосняках в зоне елово-пихтовых лесов. Вместе с тем на содержание дубильных веществ в багульнике аналогичное влияние фитоценотического фактора не выявлено. В других исследованиях установлено, что биологическая активность ландыша майского, произрастающего в березняках зоны широколиственных лесов значительно выше, чем в березняках южной тайги, а в сосняках этих зон биологическая активность этого вида отличается незначительно.

На образование и накопление вторичных метаболитов влияет возраст растения. Например, в Синюхе голубой содержание сапонинов достигает максимума на 2-3-й год жизни. Установлено, что при перенесении Лапчатки прямостоячей в культуру из естественных фитоценозов на 4-й год жизни в корневищах уменьшается содержание дубильных веществ.

Синтез и накопление вторичных метаболитов изменяются в процессе онтогенеза. Максимальный уровень накопления эфирных масел обычно приходится на период бутонизации и цветения. Так, в этот период в листьях толокнянки и брусники преимущественно накапливается агликон гидрохинон, а в период плодоношения и весной до цветения – гликозид арбутин (гидрохинон β -D-глюкопиранозид). Многие алкалоиды постепенно накапливаются во всех органах растения от прорастания до цветения, а при созревании плодов исчезают, локализуясь исключительно в плодах. Так, в семенах и всходах мака алкалоиды

отсутствуют, а в млечном соке зрелых коробочек мака обнаруживается до 25 алкалоидов.

Известны примеры суточной динамики накопления вторичных метаболитов. Так, максимальное содержание эфирных масел в лепестках Розы дамасской отмечено пред восходом солнца. Поэтому сбор лепестков роз проводят с 4 до 6 ч утра.

Следовательно, на накопление вторичных метаболитов оказывают влияние как внутренние факторы, так и разнообразные внешние воздействия. Весьма показательными являются опыты по изменению состава флавоноидов под влиянием контролируемых условий внешней среды, которые проводились на одном из видов многокоренника (*Spirodela oligoriza*) – водном растении семейства Рясковые. Опыт включал 52 варианта сочетания внешних условий (интенсивность освещения, температура, содержание питательных веществ и т. д.). Установлены количественные отличия в содержании при неизменности качественного состава 15 флавоноидов, обнаруженных в данном растении. На важность изучения качественных изменений в химическом составе растений под влиянием климатических условий указывал еще Ч. Дарвин в 1868 г., отмечая, что «химические свойства, запах и ткани растений часто меняются вследствие перемен, которые представляются нам незначительными». Интересно, что болиголов в Шотландии теряет свои ядовитые свойства, которые обусловлены содержащимся в нем алкалоидом кониином, а в Армении даже употребляется в пищу. Корень аконита в холодном климате также становится безвредным. Медицинские свойства наперстянки вследствие культуры легко изменяются. Лавр в Европе утрачивает запах, присущий ему в Северной Америке. Можно привести много подобных фактов, подтверждающих, что определенные химические соединения подвержены изменениям как в качественном, так и в количественном отношении.

Закономерности биосинтеза вторичных метаболитов

Разнообразие структур вторичных метаболитов является результатом четко организованного биосинтеза, в котором можно выделить следующие закономерности (Носов, 2005):

- предшественниками биосинтеза вторичных метаболитов служит относительно небольшое количество первичных метаболитов;
- пути синтеза многих групп вторичных метаболитов обычно дублируются;
- этапы (стадии) синтеза вторичных метаболитов часто повторяются в разных компартментах клетки;
- в синтезе вторичных метаболитов участвуют множество ферментов как специфичных, так и неспецифичных.

Все многообразие изопреноидов синтезируется из одного исходного соединения – изопентенилдифосфата, содержащего 5 атомов углерода. Выделяют два пути синтеза этого соединения: мевалонатный – в цитозоле и немевалонатный – в пластидах. Их изопентенилдифосфата с помощью ферментов формируются цепочки разной длины, включающие число атомов углерода, кратное пяти. Затем ферменты циклазы сворачивают эти цепочки в

разнообразные алициклы. На заключительном этапе происходит дальнейшая специфическая модификация молекулы.

Предшественниками алкалоидов являются аминокислоты, из которых последовательно образуются амины (реакция декарбоксилирования), а затем реакцией восстановительного аминирования – аминоальдегиды и/или аминокетоны. Путем конденсации последних формируются гетероциклы (ферментативный аналог реакции Манниха), которые далее под действием ферментов подвергаются модификации путем метилирования, гидроксирования, ацилирования, гликозилирования и др. Синтез алкалоидов локализован в пластидах и в цитозоле.

Основными предшественниками синтеза фенольных соединений являются две аминокислоты фенилаланин и тирозин, которые образуются из шикимовой кислоты. Выделяют два пути образования фенольных соединений: шикиматный (из фенилаланина) и ацетатно-малонатный (через ацетил-СоА). В клетке функционирует два шикиматных пути синтеза – в пластидах и в цитозоле. Из фенилаланина при участии фермента фенилаланинаммониаклиаза синтезируются оксикоричные кислоты, из которых образуются кумарины, меланины, фенольные кислоты, фенилпропаноиды. На завершающем этапе фенольного обмена из СоА-производного оксикоричной кислоты при участии фермента халконсинтазы образуются халконы, которые являются основой для синтеза различных флавоноидов. При ацетатно-малонатном пути образуется малонил-СоА, затем наращивается углеродная цепь и происходит циклизация с образованием разнообразных фенольных соединений. Ацетатно-малонатный путь распространен у микроорганизмов, грибов и лишайников.

Таким образом, при синтезе вторичных метаболитов используются «базовые» структуры. Для изопреноидов это изопентенилдифосфат, для фенольных соединений и алкалоидов аминокислоты. На основе этих структур затем формируются многочисленные варианты: при образовании алкалоидов – гетероциклы, при образовании изопреноидов – гибкие цепочки разной длины свернутые в разнообразные циклы. Биологическую активность молекулы определяет модификация, которая осуществляется путем метилирования, метоксилирования, ацилирования, гидроксирования и др. при участии множества специфичных и неспецифичных ферментов (оксигеназы, гидроксилазы, метил-, гликозил-, ацилтрансферазы и др.). Так, метилтрансферазы метилируют (с участием S-аденозилметионина) флавоноиды, изопреноиды, алкалоиды. У арабидопсиса обнаружено более 50 генов ацилтрансфераз и 100 диоксигеназ. Для этих ферментов характерна широкая субстратная специфичность, что обеспечивает возможность образовывать несколько продуктов, используя разные субстраты. Диоксигеназы участвуют в биосинтезе алкалоидов, флавоноидов и др.

Многие из упомянутых выше химических превращений чрезвычайно сложны с точки зрения современной органической химии, и в большинстве случаев их синтез не представляется возможным произвести в лабораторных условиях. Тем более следует отметить, что в растениях все это разнообразие

реакций осуществляется в чрезвычайно мягких условиях при температурах от 10 до 30 °С и при значениях рН близких к нейтральному. Поэтому не удивительно, что на протяжении многих веков вторичные метаболиты были для человека чуть ли не единственным источником разнообразных биологически активных веществ и лекарственных средств.

1.3.2. Общая характеристика растительных изопреноидов

Изопреноидами (терпеноидами) называют самый многочисленный класс природных соединений, углеродный скелет которых построен из разветвленных C₅-единиц, называемых изопреновыми единицами. Это обширная группа соединений, имеющих общую формулу (C₅H₈)_n.

Следует отметить, что непосредственно изопрен не участвует в биосинтезе изопреноидов, хотя можно сказать, что изопреноиды состоят из изопреновых фрагментов. Изопрен образуется в листьях некоторых растений при участии фермента изопренсинтазы из диметилаллилпирофосфата (изомер изопентенилпирофосфата).

Изопрен – летучее соединение, которое легко переходит в газообразную форму. Он обычно содержится в растениях в очень малых количествах, но в определенных условиях количество изопрена, выделяемого растением, может резко возрастать (при интенсивном освещении, высокой температуре и низкой концентрации диоксида углерода в воздухе).

В растительном мире широко распространены соединения, которые по своему строению формально являются производными изопрена. Первоначально эти вещества называли терпены, от немецкого Terpentin – скипидар, который впервые был получен из смолы терпентинового дерева, почти целиком состоящего из легких терпенов. По мере развития химических исследований и с открытием родственных соединений, в том числе кислородсодержащих, окончание «ен», первоначально обозначавшее по общепринятой химической номенклатуре непредельные углеводороды, стало непригодным. Поэтому для терпенов, содержащих атомы кислорода, появился другой термин – **терпеноиды** или **изопреноиды**.

В настоящее время терпенами (изопренами) называют соединения, содержащие целое число C₅-единиц, независимо от присутствия в молекуле функциональных групп (гидроксильных, карбонильных и др.). Термин «терпеноиды» («изопреноиды») применяют для соединений с различным числом углеродных атомов, но биосинтез которых явно прошел из C₅-единиц. Химически все терпены и терпеноиды можно рассматривать как производные основной разветвленной C₅-единицы.

Правило Ружички

Еще в 1953 г. польский ученый Л.Ружичка в результате обширных исследований по определению структуры изопреноидов сформулировал "биогенетическое изопреновое правило", согласно которому 1) терпеновые

соединения состоят из изопреновых остатков, где разветвленный фрагмент молекулы изопрена называется «головой», а неразветвленный – «хвостом»; 2) звенья изопрена присоединяются в определенной последовательности по типу "голова к хвосту"; 3) все изопреноиды синтезируются из некоего гипотетического предшественника (активного изопрена). Уже позднее было показано, что этим активным изопреном служит изопентенилпирофосфат.

Изопреноиды повсеместно распространены среди живых организмов, как эукариот, так и прокариот. Изопреноиды – самый обширный класс вторичных метаболитов. Наличие в растениях такого большого количества родственных по своей структуре веществ предполагает выполнение ими разнообразных и многочисленных функций.

Способность синтезировать специфические изопреноиды свойственна лишь отдельным видам животных и растений. Так, натуральный каучук синтезируется лишь немногими видами растений, главным образом каучуконосом Гевея бразильская (*Hevea brasiliensis*).

Следует отметить, что некоторые изопреноиды играют важную роль в метаболизме, но не могут синтезироваться в организме человека. К этой группе относятся витамины А, D (в отсутствии достаточного количества УФ-лучей), Е и К.

Классификация изопреноидов

Изопреноиды объединяются в один класс по биогенетическому признаку, поскольку ведут свое начало от единого предшественника – изопентенилпирофосфата (ИППФ), или изопентенилдифосфата (ИПДФ).

Классификация изопреноидов основана на количестве изопреновых единиц, входящих в состав молекулы. Соединения на основе только одной изопреновой единицы в растениях обнаружили сравнительно недавно. Поэтому исторически сложилось, что монотерпенами называли соединения, содержащие две изопреновые единицы, а следовательно, имеющие общую формулу $(C_5H_8)_2$ или $C_{10}H_{16}$. Изопреноиды, содержащие три изопреновых единицы, называли сесквитерпенами, т. е. «полуторатерпенами» (общая формула $C_{15}H_{24}$). Соответственно дитерпены построены из четырех, тритерпены – из шести и тетратерпены – из восьми пятиуглеродных фрагментов. Когда же обнаружили соединения, состоящие из одной и пяти изопреновых единиц, то их пришлось назвать соответственно гемитерпенами и сестертерпенами. Сестертерпены встречаются у грибов. Политерпены – гутта и каучук – имеют в своем составе от 100 до 5000 единиц изопрена.

Моно- и сесквитерпены являются, как правило, легкоиспаряющимися жидкостями, часто с разнообразным запахом. Известно более 3000 этих соединений.

Классификация моно- и сесквитерпенов основана на наличии или отсутствии кольцевой структуры в молекуле, типе кольца и наличии и количестве двойных связей в молекуле.

Моно- и сесквитерпены могут быть алифатическими (углеводород с незамкнутой цепочкой атомов), циклическими с различным количеством циклов

(от одного до трех), а также содержат различные функциональные группы (гидрокси-, карбокси-, кето-группы). Они являются основными компонентами эфирных масел. Моно- и сесквитерпены часто обладают бактерицидным действием.

Алифатические терпеноиды тесно связаны взаимными переходами с циклическими терпеноидами. В качестве типичного представителя алифатических монотерпенов можно назвать мирцен, содержащийся во многих эфирных маслах. Например, в эфирном масле хмеля содержится 30–50 % мирцена.

Наиболее важные и распространенные представители кислородных производных алифатических монотерпенов – спирты гераниол, линалоол и цитронеллол.

Гераниол встречается в ряде эфирных масел (розы, герани, эвкалипта). При окислении гераниола образуется соответствующий альдегид, получивший название цитраль. Линалоол содержится в цветках ландыша, апельсиновом и кориандровом масле. Цитронеллол обладает запахом розы и содержится в розовом, гераниевом и других маслах.

В растениях широко распространены циклические монотерпены (моно- и бициклические). Лимонен – исходное циклическое соединение, из которого образуются его кислородные производные. Он содержится в эфирном масле плодов цитрусовых, тмина, укропа, скипидаре и т. д.

Камфора относится к бициклическим монотерпенам. В отличие от рассмотренных выше соединений, представляет собой не жидкость, а твердое вещество. Она содержится в большом количестве в древесине и листьях камфорного лавра, а также в одном из видов полыни. Камфора широко используется в медицине в качестве средства, нормализующего работу сердца.

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

Особые группы моно- и сесквитерпенов образуют вещества, у которых в состав кольца (колец) входит один или несколько атомов кислорода (монотерпены иридоиды, сесквитерпеновые лактоны). Эти соединения (как правило, в виде гликозидов) часто обладают специфическим горьким вкусом и являются горечами – веществами, возбуждающими аппетит и улучшающими пищеварение. Механизм их действия связан с тем, что благодаря горькому вкусу они раздражают рецепторы языка и тем самым рефлекторно, не оказывая резорбтивного эффекта, стимулируют аппетит и усиление желудочно-кишечной секреции. Некоторые из них обладают бактериостатическим (аукубин) и противоопухолевым (арглабин) действием. Кроме того, они могут влиять на работу сердечно-сосудистой системы.

Сесквитерпены, как и монотерпены, могут быть алифатическими и циклическими. Среди сесквитерпенов известны хамазулен (основное

действующее вещество эфирного масла ромашки), ледол (компонент эфирного масла багульника), неролидол (содержится в эфирном масле цветков апельсина и в перуанском бальзаме).

Особые группы моно- и сесквитерпенов образуют вещества, у которых в состав кольца (колец) входит один или несколько атомов кислорода (монотерпены иридоиды, сесквитерпеновые лактоны). Эти соединения (как правило, в виде гликозидов) часто обладают специфическим горьким вкусом и являются горечами – веществами, возбуждающими аппетит и улучшающими пищеварение. Механизм их действия связан с тем, что благодаря горькому вкусу они раздражают рецепторы языка и тем самым рефлекторно, не оказывая резорбтивного эффекта, стимулируют аппетит и усиление желудочно-кишечной секреции. Некоторые из них обладают бактериостатическим (аукубин) и противоопухолевым (арглабин) действием. Кроме того, они могут влиять на работу сердечно-сосудистой системы.

Дитерпены также насчитывают несколько тысяч структур. Они являются главными компонентами смол у голосеменных (ель, сосна, пихта, кедр). Особенно широко распространены в смолах циклические кислоты (производные дитерпенов), имеющие формулу $C_{20}H_{30}O_2$: они составляют основную часть смолистых выделений хвойных растений. Фитол, входящий в состав хлорофилла, может рассматриваться как гидрированный дитерпеновый спирт.

Большой интерес для медицины представляет сложный дитерпен паклитаксел (таксол) из растений рода *Taxus*, обладающий противоопухолевым действием.

Паклитаксел был открыт в результате программы скрининга, инициированной Национальным институтом рака (США) в период с 1958 по 1980 год. В результате было исследовано более 110 000 соединений, извлеченных из 35 000 видов растений, на предмет противоопухолевой активности, контролируемой несколькими биотестовыми системами.

Паклитаксел изначально был выделен из коры Тис тихоокеанский (*Taxus brevifolia*) с помощью биопроб (цитотоксическая активность в отношении клеток лейкоза L 1210) для контроля его активности при фракционировании экстрактов. Структура этого сложного дитерпена была опубликована в 1971 году/ Он не был запатентован на момент своего открытия, вероятно, из-за его концентрации в коре. Было обнаружено, что содержание его в *T. brevifolia* очень низкое (0,017% сухой массы).

Из-за сложностей, связанных с выделением, фармакологическое значение паклитаксела не признавалось до конца семидесятых годов, когда был открыт механизм его действия. Паклитаксел стабилизирует микротрубочки, а не дестабилизирует, подобно другим известным антимиотическим средствам, таким как колхицин и алкалоиды барвинка (винкристин и винбластин). Первые результаты клинических испытаний подтвердили, что паклитаксел очень эффективен против рака яичников и молочной железы. В настоящее время препараты, содержащие в качестве активного вещества паклитаксел, занимают

одну из ключевых позиций в клинической химиотерапии ряда опухолевых заболеваний (рак молочной железы, рак яичников, рак легкого).

В основе молекулы таксола лежат кольцевые системы А, В и С, которые имеют несколько функциональных групп, включая две группы ОН, одну бензоильную группу, две ацетильные группы и оксетановое кольцо. К С13 ядра присоединена боковая цепь – N-бензоил-3-фенилизосерин – с гидроксильной и бензоильной функциональными группами. Противоопухолевая активность таксола обусловлена в основном боковой цепью, А-кольцом, С2-бензоильной группой и редкой в природе структурой – оксетановым кольцом. Таксол подавляет пролиферацию клеток, связываясь с поверхностью микротрубочек, в частности с β -субъединицей гетеродимеров тубулина, тем самым способствуя стабилизации микротрубочек в фазе G2-M клеточного цикла, благодаря чему блокируется деполимеризация микротрубочек до растворимого тубулина.

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 *Taxus brevifolia*.

Необходимо взять 10 000 кг коры деревьев тиса или 3000 деревьев тиса для получения 1 кг препарата, а онкобольному необходимо примерно 2,5-3 г паклитаксела, 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. Возрастающие потребности в таксоле и его производных из-за специфического механизма действия и дефицита таксанового кольца в природе сделали эту группу соединений одной из наиболее интересных мишеней для биотехнологического производства. Альтернативным и экологичным источником таксола и его аналогов являются клеточные культуры растений тиса.

Среди дитерпенов представляют интерес и другие представители, например, дитерпеновые гликозиды из листьев стевии (стевиозиды) в 300 раз слаще сахарозы и являются ее заменителем для больных сахарным диабетом. Дитерпен форбол, содержащийся в млечном соке некоторых молочаев (*Euphorbia*), оказывает сильное местное действие, раздражает кожу и вызывает ожоги, токсичен при попадании внутрь организма млекопитающих.

Тритерпены отличаются от предыдущих групп изопреноидов, во-первых, меньшим разнообразием структурных типов, во-вторых, более широким распространением в различных группах живых организмов. Некоторые тритерпены претерпевают деградацию углеродного скелета, иногда весьма существенную – от С30 до С18. Эти деградированные тритерпеноиды составляют группу важнейших физиологически активных соединений, называемых стероидами.

Все стероиды имеют структурно общий тетрациклический скелет циклопентанпергидрофенантрена.

Стероидные спирты стерины (стеролы) находятся в животных и растительных тканях, являются важными компонентами мембран клеток. К ним

относятся стигмастерин, β -ситостерол, эргостерин – стерол, обнаруженный в клеточных мембранах грибов и простейших, кампестерин и др.

Большинство тритерпенов являются типичными вторичными метаболитами. К ним относятся агликоны сердечных гликозидов, стероидные и тритерпеновые сапонины. Особый класс тритерпеновых соединений образуют экдистероиды, которые обнаружены у многих видов растений.

Экдистероиды – гормоны линьки насекомых – обнаружены во многих растениях. Они представляют собой стероиды с большим количеством гидроксильных групп. Экдистероиды широко распространены в мире растений: они найдены у водорослей, мхов, папоротникообразных, голосеменных, покрытосеменных. Обнаружены они и у грибов. Помимо мощного инсектицидного действия (нарушают процесс линьки насекомых), экдистероиды обладают психостимулирующей, адаптогенной и анаболической активностью. В последние годы изучением экдистероидов занимаются многие лаборатории мира.

На современном этапе экдистероиды являются весьма распространенным объектом исследования при решении прикладных задач в области фармакологии и медицины.

Некоторые представители тритерпенов обладают горьким вкусом. В частности, кукурбитацин дает огурцам горький привкус. Горечь цитрусовых связана с лимоноидами. Лимонид азадирахтин, выделенный из Мелии индийской (*Azadirachta indica*), обладает инсектицидным действием при разведении 50 частей к биллиону и не токсичен для млекопитающих.

Тетратерпены представлены в растениях, главным образом, каротиноидами – жирорастворимыми пигментами желтого или оранжевого цвета. Каротиноиды включают в себя две группы веществ: каротины (ненасыщенные каротиноиды, не содержащие кислорода в молекуле) и ксантофиллы (кислородсодержащие каротиноиды). В растениях широко распространены каротиноиды ликопин, зеаксантин, виолоксантин, флавоксантин и др. В значительных количествах каротиноиды накапливаются в корнеплодах моркови, плодах шиповника, рябины обыкновенной, смородины, облепихи, помидоров, тыквы, листьях шпината, салата, крапивы.

Основная структура молекулы каротиноидов симметрична и состоит из 2-х C_{20} -половин, как например у ликопина.

Основная структура бывает модифицирована: на одном или обоих концах молекулы может присутствовать шестичленное (или иногда пятичленное) кольцо, например, как у β -каротина.

Практическое использование каротиноидов основано на биологической связи между каротинами и витамином A_1 (ретинол). Провитамины A_1 (α -, β -, γ -каротины) под влиянием фермента каротиказы в кишечнике и печени человека и животных превращаются в витамин A_1 . Так, β -каротин в организме расщепляется на 2 молекулы витамина A_1 .

К **политерпенам** относятся каучук и гутта, в молекулах которых остатки изопрена образуют длинную цепочку. Полиизопреновая цепочка каучука

содержит от 1000 до 6000 остатков изопрена, а цепочка гутты – около 100. Эти вещества имеют различия и в строении полиизопреновой цепочки: цепочка каучука имеет цис-конфигурацию, а цепочка гутты – транс-конфигурацию.

Каучук и гутта различаются и по физическим свойствам. Каучук при обычной температуре эластичен и аморфен. Длинные его молекулы беспорядочно свернуты и постоянно меняют форму, что и обуславливает его эластичность. Он приобретает кристаллическую структуру при растяжении или при охлаждении. Гутта при обычной температуре пластична.

Каучук образуется и накапливается в различных тканях растений – млечных трубках, клетках основной паренхимы, ассимилирующих тканях листа и стебля. Он обнаружен у растений 300 родов. Но наиболее высоким содержанием каучука отличаются тропическое растение гевея и корни сложноцветных кок-сагыза и тау-сагыза. Гутта в растениях накапливается либо в млечном соке, как у *Palaguim gutta*, либо в замкнутыхместилищах, имеющих в разных тканях бересклета и эвкоммии.

Изопреноидные вторичные метаболиты, в отличие от алкалоидов, обычно после синтеза выводятся из клетки. Помимо клеточной стенки, они могут накапливаться в вакуолях, но это происходит не часто.

Физико-химические свойства терпеноидов

Терпеноиды имеют разное агрегатное состояние. Они могут быть жидкими, кристаллическими, аморфными. Имеют различную растворимость в воде, обычно хорошо растворимы в органических растворителях. Монотерпеноиды хорошо перегоняются с водой и водяным паром, сескви- и дитерпеноиды несколько труднее, три-, тетра-, политерпеноиды не перегоняются. Оптически активные вещества.

Химические свойства терпенов определяются, главным образом, наличием двойных связей и напряженных трех- и четырехчленных циклов. Легкость раскрытия циклов и связанные с этим изомеризационные превращения терпенов (так называемая конформационная подвижность) затрудняли изучение химических свойств терпенов на начальном этапе исследования.

Терпеноиды обладают высокой реакционной способностью, особенно на свету. При нагревании легко изомеризуются, особенно легко в присутствии кислых реагентов. Вступают в реакции гидрогенизации, полимеризации.

При нагревании до 700°C и выше изопреноиды деполимеризуются до изопрена.

Функции изопреноидов

Изопреноиды выполняют множество важнейших функций как в первичном, так и во вторичном обмене. В первичном метаболизме они участвуют в фотосинтезе в качестве фотосинтетических пигментов (фитол, каротиноиды); являются гормонами и стимуляторами роста (цитокинины, абсцизовая кислота и брассиностероиды); принимают участие в переносе электронов в дыхательной и фотосинтетической электронтранспортных системах (пренильные боковые цепи убихинона и пластохинона); используются в качестве переносчиков гликозидов в реакциях гликозилирования (полипренилфосфаты); стабилизируют

внутриклеточные мембраны (стерины у эукариот). У животных организмов наиболее важной группой изопреноидов являются соединения, обладающие гормональными и сигнальными функциями. К этой группе относятся *стероидные гормоны, ретиноевая кислота* позвоночных, а также *ювенильные гормоны* насекомых.

Полиизопреновые цепи иногда выступают в роли липидного «якоря», с помощью которого молекулы белков или других соединений удерживаются на мембране. Группа коферментов с изопреноидным якорем включает *убихинон* (кофермент Q), *пластохинон* и *менахинон* (витамин K₂). В молекуле хлорофилла также имеется липидный якорь в виде остатка *фитола*. Некоторые белки также удерживаются на мембране благодаря наличию изопренильного фрагмента.

Таким образом, без участия изопреноидов невозможны такие процессы, как рост и развитие растений и животных, поскольку многие гормоны растений (цитокинины, гиббереллины, абсцизовая кислота, brassinosteroids) и животных (стероидные половые гормоны и гормоны коры надпочечников, гормоны линьки насекомых) относятся к этому классу соединений. Однако большая часть известных к настоящему времени изопреноидов относится к веществам специализированного (вторичного) обмена растений, которые участвуют в процессах сигнализации, защиты от фитопатогенов. Очевидно, основная роль изопреноидов, специфичных для определенных семейств, родов и видов растений (это главным образом моно-, сескви-, ди-, сестер- и тритерпеноиды), сводится к защите растений от различных неблагоприятных воздействий окружающей среды, в том числе от макро- и микровредителей. Например, смолистые вещества, каучук и гутта затягивают раны в коре и древесине растений, защищая их от вредителей. Смолы препятствуют поеданию растений животными. Эфирные масла способствуют также привлечению насекомых-опылителей. Многие компоненты эфирных масел и другие изопреноиды выполняют роль аллелопатических агентов. Следует отметить, что до сих пор остается загадкой причина образования у растений огромного количества разнообразных изопреноидов, функции многих из них остаются непонятными.

1.3.3. Биосинтез изопреноидов в растениях

Современные представления о биосинтезе терпеноидов сформировались на основе изучения биосинтеза стероидов. Л. Ружичка предположил, что все терпеноиды синтезируются из предшественника – «активного изопрена». Это предположение подтвердил Ф. Линен, который обнаружил, что таким веществом является изопентенилпирофосфат. Таким образом, синтез огромного числа изопреноидов происходит из единственного предшественника – изопентенилпирофосфата. В то же время пути образования изопентенилпирофосфата и локализация ферментов этих путей различны.

2 различных пути образования изопентенилпирофосфата:

1) Мевалонатный (в цитоплазме растительных клеток, а также у животных, археобактерий и грибов); синтезируются стероиды, некоторые секвитерпены и боковые цепи убихинонов.

2) Немевалонатный или альтернативный (в хлоропластах водорослей и пластидах растений, у эубактерий); синтезируется большинство растительных изопреноидов, включая изопрен, боковые цепи хлорофилла и пластохинона; монотерпены пинен и лимонен, дитерпены (фитол, гиббереллин, абиетиновая кислота – компонент смолы живицы), а также тетратерпены (каротиноиды).

Мевалонатный путь биосинтеза изопентенилдифосфата

При взаимодействии двух молекул ацетил-СоА образуется ацетоацетил-СоА, который, в свою очередь, реагирует с еще одной молекулой ацетил-СоА с образованием 3-гидрокси-3-метилглутарил-СоА. Это соединение с разветвленной цепью, состоящее из шести атомов углерода. Первые две стадии процесса – активация ацетата и образование ацетоацетил-СоА – являются общими для многих путей метаболизма ацетата. В то же время реакция образования 3-гидрокси-3-метилглутарил-СоА представляет собой первый этап процесса, свойственного почти исключительно метаболизму изопреноидов. В растительных клетках обе реакции идут при участии одного фермента – гидроксиметилглутарил-СоА-синтазы. Далее гидроксиметилглутарил-СоА-редуктаза катализирует NADPH-зависимую реакцию превращения 3-гидрокси-3-метилглутарил-СоА в мевалоновую кислоту. Этот фермент ключевой, лимитирующий на данном этапе биосинтез изопреноидов. Практически у всех высших растений существуют изоформы этого фермента, образующиеся как за счет множества кодирующих генов (семейство генов *hmg*), так и за счет альтернативного процессинга м-РНК и посттрансляционной модификации.

Мевалоновая кислота – первый продукт в цепи реакций, свойственных исключительно метаболизму изопреноидов. Далее происходит фосфорилирование мевалоновой кислоты при участии мевалонаткиназы, при этом в качестве донора фосфата выступает АТФ. На следующем этапе фосфомевалонат вновь фосфорилируется, при этом образуется пирофосфомевалонат. Далее он принимает участие в реакции, которая является наиболее характерной реакцией метаболизма изопреноидов: карбоксильная группа пирофосфомевалоната удаляется в виде CO_2 , происходит отщепление молекулы воды, так что между вторым и третьим атомами углерода возникает двойная связь и образуется изопентенилпирофосфат (изопентенилдифосфат). Эта реакция катализируется пирофосфомевалонат-декарбоксилазой.

Две последовательные реакции фосфорилирования мевалоната, катализируемые двумя различными киназами, приводят к формированию пирофосфатного эфира. При участии третьей молекулы АТФ и через промежуточную стадию образования фосфатного эфира пирофосфатный эфир превращается в изопентенилпирофосфат за счет образования двойной углерод-углеродной связи и отщепления карбоксильной группы.

Следует отметить, что от *ацетил-КоА* основной путь биосинтеза ведет к активированным жирным кислотам, из которых затем синтезируются *жиры*,

фосфолипиды, гликолипиды и другие производные жирных кислот. В количественном отношении этот путь является главным в животных и в большинстве растительных тканей. Второй путь биосинтеза ведет от ацетил-КоА к изопентенилдифосфату («*активному изопрену*»), главному структурному элементу изопреноидов.

Пластидный (немевалонатный) путь биосинтеза изопентенилдифосфата

В пластидах биосинтез изопентенилдифосфата осуществляется по так называемому немевалонатному (или 1-дезоксид-Д-ксилоулозо-5-фосфатному) пути. Предшественниками являются пируват и Д-глицеральдегид-3-фосфат. Пируват декарбоксилируется при участии тиаминпирофосфата и конденсируется с Д-глицеральдегид-3-фосфатом с последующим образованием 1-дезоксид-Д-ксилоулозо-5-фосфата. В результате перегруппировки и последующих реакций восстановления, дегидратации и фосфорилирования из 1-дезоксид-Д-ксилоулозо-5-фосфата образуется изопентенилпирофосфат.

У высших растений немевалонатный путь сохранился только в хлоропластах, где показано прямое образование изопреноидов из фотосинтетически усвоенного $^{14}\text{CO}_2$. В то же время фитостерины в высших растениях образуются в цитоплазме по классическому мевалонатному пути, при этом их образование практически полностью подавляется ингибитором гидроксиметилглутарил-СоА-редуктазы – мевинолином.

Следует учитывать, что альтернативный немевалонатный путь образования изопентенилпирофосфата требует значительно меньших энергетических затрат (в виде АТФ), чем мевалонатный путь.

Цитоплазматический мевалонатный и хлоропластный немевалонатный пути биосинтеза изопреноидов различаются на ранних стадиях, а затем, начиная с образования С5-единицы (изопентенилпирофосфата), различия в стадиях биосинтеза изопреноидов отсутствуют.

От активного изопрена (изопентенилпирофосфата) главный путь биосинтеза ведет через димеризацию к активному *гераниолу* (1 = 2) (геранилдифосфату), а затем к активному *фарнезолу* (1 = 3) (фарнезилдифосфату). Здесь основной путь биосинтеза терпенов разветвляется. Последовательное наращивание цепи фарнезола изопреновыми звеньями (по схеме «голова к хвосту») приводит к полимерам с возрастающим количеством изопреновых звеньев: *фитолу* (1 = 4), *долихолу* (1=14-24), наконец, к *каучуку* (1 = 700-5000). Альтернативный путь – конденсация двух молекул фарнезола по схеме «голова к голове» – приводит к *скавалену* (1 = 6), который может подвергаться окислительной циклизации с образованием *стероидов*, в том числе *холестерина* (1 = 6).

Под действием фермента изопентенилдифосфат-Δ-изомеразы, сдвигающего двойную связь, ИПДФ превращается в диметилаллилпирофосфат. Далее изопентенилпирофосфат присоединяется к диметилаллилпирофосфату по двойной связи и образуется С10-соединение – геранилпирофосфат. Он служит источником всех монотерпенов. Затем к геранилпирофосфату присоединяется

еще один изопентенилпирофосфат и образуется C15-соединение фарнезилпирофосфат – исходное вещество для синтеза сесквитерпенов.

Далее фарнезилпирофосфат может либо 1) присоединить еще одну молекулу изопентенилпирофосфата с образованием геранилгеранилпирофосфата (C20-соединение – источник дитерпенов), либо 2) димеризоваться с образованием сквалена (C30-соединение – исходное соединение для всех тритерпенов). Предшественником биосинтеза большинства стероидных соединений растительного организма является тритерпен сквален, образующийся в результате НАДФН-зависимой восстановительной конденсации двух молекул фарнезилпирофосфата по типу «хвост-к-хвосту». _Наконец, 3) геранилгеранилпирофосфат может димеризоваться с образованием фитоина – C40-соединения, источника тетратерпенов. Фитоин, как и сквален, образуется путем конденсации (димеризации) по типу «хвост к хвосту» двух молекул геранилгеранилпирофосфата под воздействием фермента фитоинсинтетазы, которая локализуется в мембранах хлоропластов. Кроме того, 4) к геранилгеранилпирофосфату может последовательно присоединиться большое количество изопентенилпирофосфата, формируя в итоге полиизопреноиды – каучук и гутту. В результате описанных реакций образуется полный гомологический ряд C5 -соединений разной длины.

Таким образом, сначала из изопреновых остатков образуются базовые структуры – геранилпирофосфат, фарнезилпирофосфат, геранилгеранилпирофосфат, сквален, – на основе которых синтезируются различные классы изопреноидов. Предшественником монотерпенов является геранилпирофосфат; сесквитерпенов – фарнезилпирофосфат; ди-, тетратерпенов и политерпеноидов – геранилгеранилпирофосфат; тритерпенов – сквален (или фарнезилФФ, из 2х молекул которого образуется сквален). В животных организмах конечным продуктом метаболических превращений сквалена является очень важное биологически активное вещество – холестерин.

Далее эти алифатические молекулы (геранилпирофосфат, фарнезилпирофосфат, геранилгеранилпирофосфат, сквален) могут «свернуться» в циклические структуры, причем количество циклов, их размер и типы сочленения могут быть самыми разными. Синтез базовых изопреноидных структур осуществляют два типа ферментов – пренилтрансферазы, которые «наращивают» длину изопреноидов, и циклазы, которые формируют 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.

Таким образом, синтез изопреноидов происходит в двух компартментах – в пластидах и в цитозоле. При этом существуют два независимых пути синтеза изопреноидов – мевалонатный, который происходит в цитоплазме, и альтернативный – в пластидах.

1.3.4. Эфирные масла растений

Состав и свойства эфирных масел

Эфирные масла – это летучие жидкие смеси органических веществ, вырабатываемые растениями и обуславливающие их запах. Свое название эфирные масла получили в XVIII в. на основании физических свойств, поскольку в то время о химическом составе этой группы веществ еще ничего не было известно. Эфирными их называли за летучесть и способность перегоняться с водяным паром, а маслами – за то, что они легче воды, не смешиваются с ней и оставляют на бумаге масляные пятна, хотя по своей химической природе эфирные масла ничего общего с жирами (жирными маслами) не имеют. Несмотря на эту неточность, исторический термин – эфирные масла – сохранился до наших дней. Интересно отметить, что раскрытию химизма эфирных масел была посвящена докторская диссертация А.М. Бутлерова (1854 г.) на тему «Об эфирных маслах».

Эфирные масла растений представляют собой сложный комплекс веществ, главным образом это смесь терпенов, терпеноидов и производных ароматических углеводородов, которые кипят при температуре выше 100 °С, но весьма летучи.

Под влиянием света, воздуха, температуры и влажности эфирные масла могут портиться, что выражается в потемнении, осмолении, загустевании, изменении запаха и вкуса, поэтому чистые масла хранят в склянках их темного стекла, заполненных доверху, или в небольших запаянных жестянках, в темном сухом помещении при температуре не выше 15°С. Плотность большей части эфирных масел меньше единицы, хотя некоторые масла тяжелее воды (коричное, гвоздичное).

Эфирные масла – желтоватые или бесцветные прозрачные жидкости с пряным острым вкусом и характерным ароматным запахом. Реже встречаются масла, окрашенные растворенными в них пигментами: темно-коричневые (коричное масло), красные (полыни горькой, тимьяна). От присутствия азулена масло ромашки, тысячелистника, некоторых полыней имеет синий цвет. У Копытня европейского (*Asarum europaeum*) и Девясила высокого (*Inula helenium*) эфирные масла кристаллизуются при комнатной температуре.

Эфирным маслам, как правило, свойственна оптическая активность. Это характерно для масел, в состав которых входят компоненты, содержащие оптические изомеры или диастереомеры. В свою очередь, оптическая активность обусловлена наличием асимметричных атомов углерода в молекулах веществ, входящих в состав эфирных масел.

В воде масла почти не растворимы, но при взбалтывании или перегонке вода приобретает их запах и вкус. Эфирные масла хорошо растворимы в спирте, неполярных органических растворителях (хлороформе, петролейном эфире, четыреххлористом углероде и др.) и во всех пропорциях смешиваются с жирами

и жирными маслами. Реакция масел нейтральная или слабокислая в зависимости от их химического состава.

В составе эфирных масел выделено и идентифицировано уже более 1000 компонентов, причем у одного растения их число может достигать до 270. Содержание масляной фракции в эфирноносных частях растений колеблется от 0,01 до 20 %. Лишь некоторые эфирные масла обогащены главным душистым компонентом на 50-90 %, в это случае он и определяет запах. Так, анисовое масло на 90 % состоит из анетола, мятное – на 80-85 % из ментола. Иногда же эти многочисленные химические вещества образуют из своих ароматов неповторимый «букет». В состав такого «букета» могут входить многие десятки, а иногда и сотни соединений. Так, например, розовое масло, которое получают перегонкой с паром свежесобранных лепестков, включает несколько десятков компонентов и может содержать до 50-60 % гераниола, 25-30 % цитронеллола и до 10 % нерола. В состав розового масла входит также 2-фенилэтанол или фенилэтиловый спирт (2-18 %). Это соединение получают синтетическим путем в промышленных объемах и широко используют в качестве пищевого ароматизатора, отдушки в мылах и косметических составах, а также для приготовления искусственного розового масла. Мировое производство фенилэтанола превышает 7000 т/год.

В эфирные масла наряду с преобладающими кислородсодержащими моно- и сесквитерпеноидами, в связанном состоянии находящимися в виде сложных эфиров или гликозидов, входят дитерпеноиды, а также соединения фенилпропановой группы. В эфирных маслах присутствуют и другие вещества, обладающие ароматом. Это сложные эфиры органических кислот алифатического ряда, а также бензойной, фенилуксусной и коричной кислот, гликозиды, альдегиды, кумарины, горчичные масла, производные индола и др. Например, эфирное масло гиацинта и лилии содержит фенилэтиловый альдегид.

Разные виды растений редко обладают одинаковыми по составу маслами. Даже в одном и том же растении в различных органах содержатся разные по составу эфирные масла. Например, у коричневого дерева в составе эфирного масла коры содержится 65-75 % коричневого альдегида и 4-10 % эвгенола, а эфирное масло, получаемое из листьев – 4-5 % коричневого альдегида и 70-95 % эвгенола. Корни этого растения содержат эфирное масло, на 50 % состоящее из камфоры.

Особое место среди эфирных масел занимает скипидар, давший название всей группе терпенов (terpentin – скипидар). Скипидар – смесь разных монотерпенов. Из надрезов на коре хвойных растений вытекает живица, которая является смолой, растворенной в эфирном масле. Живицу собирают и перерабатывают, перегоняя с водяным паром, получая скипидар или терпентинное масло, в остатке остается канифоль (смола). Скипидар используют в медицине, в качестве сырья для синтеза камфоры и ряда медикаментов (терпингидрата и др.), получения некоторых душистых веществ, например, терпинеола, а также как растворитель для масляных красок.

Не все эфирные масла растений имеют приятный аромат. Встречается множество растений с неприятными для человека запахами. Отвратительный

запах гниющего мяса имеет самый крупный в мире цветок Раффлезия Арнольди (*Rafflesia arnoldii*), а также соцветие Аморфофаллуса гигантского (*Amorphophallus titanum*) с острова Суматра. У представителей семейства Аронниковые, к которому относится аморфофаллус, запах связан с особым способом опыления – сапрокантарофилией, т. е. необходимостью привлечения навозных и падальных жуков. Неприятный запах характерен и для Чистеца болотного (*Stachys palustris*) из семейства Губоцветные.

Способы получения эфирных масел

Эфирные масла выделяют из растений несколькими способами. Важнейшие из них следующие:

Прессование (отжимание) применяют при переработке сырья, богатого эфирными маслами. Таким способом получают биргадиевое масло из кожуры плодов померанца или бигардии (*Citrus aurantium*), бергамотовое масло – из кожуры незрелых плодов бергамота (*Citrus bergamia*). Полученное путем прессования масло отличается высоким качеством и сохраняет натуральный аромат плодов. Этот способ известен давно и не только для цитрусовых. В Индии еще 1000 лет назад умели выжимать розовое масло из лепестков розы.

Мацерация основана на способности эфирных масел растворяться в жирах. Мацерация заключается в прямой диффузии душистых веществ из одной жидкой (или твердой) фазы в другую жидкую фазу, которая не смешивается с первой. Этот способ используется для извлечения эфирного масла из розы, лаванды и других растений. Еще в древнем Риме метод контактного поглощения теплым животным жиром душистых веществ из пахучих частей растения (цветков, корней, травы) применяли для создания благовоний с запахом. Для этого цветки розы помещали в льняные мешочки и погружали на короткое время в очищенный и нагретый до 50-70°C жир (говяжий, свиной) или оливковое масло. Операцию повторяли 10-15 раз со свежими порциями лепестков. В результате эфирное масло переходило в жир, и получалась ароматная помада.

Анфлераж (от франц. поглощение) как способ извлечения эфирных масел появился несколько позднее, чем мацерация. Анфлераж – это способ бесконтактной абсорбции летучих душистых растительных веществ высококачественными твердыми жирами. В данном случае душистые вещества из твердой фазы (лепестков, цветков) сначала испаряются в газовую фазу, а затем адсорбируются другой твердой фазой. После этого поглощенные чистым свиным или говяжьим жиром душистые вещества отделяют от жира. Для получения эфирного масла методом анфлеража в замкнутую камеру между пластинами со слоем (3-5 мм) свиного или говяжьего жира или вазелина помещают свежесобранные лепестки цветов и выдерживают 48-72 ч. Сырье меняют 20-30 раз до насыщения жира эфирным маслом. Из насыщенного жира эфирные масла извлекают растворителем (спиртом). Экстракт вымораживают, выпавшие примеси удаляют, спирт отгоняют и получают чистое эфирное масло. Этот прием применим только для лепестков, легко испаряющих свои душистые компоненты, например, для цветков жасмина, туберозы, резеды.

Мацерация и анфлераж – это способы жировой экстракции, используются для эфирных масел растений, тонкий запах которых изменяется при перегонке. Оба метода позволяют получить масло очень высокого качества, однако непроизводительны, и выход масла невелик. С 1930 года анфлераж крайне редко применяется ввиду дороговизны данного метода.

Перегонка сырья с водой или водяным паром (дистилляция) наиболее распространенный способ получения эфирных масел. Впервые этот метод, по-видимому, был использован для получения розового эфирного масла. В XI в. Авиценна усовершенствовал перегонку изобретением змеевикового холодильника-конденсатора, описал полученные таким образом коричневое, мятное, ромашковое и укропное эфирные масла. С XVI в. этот способ выделения эфирных масел из растительного сырья стали использовать в значительных масштабах. Аппараты для перегонки с паром появились в городских аптеках. Именно таким способом на Балканах в XVII в. стали производить розовое масло из лепестков розы.

При этом способе получения эфирное масло под действием повышенной температуры и влаги испаряется, т. е. летучие душистые вещества переходят в паровую фазу, а образовавшаяся смесь паров поступает в холодильник. Там она охлаждается и конденсируется в виде жидкой смеси, которая поступает в приемник, где разделяется на два слоя – масляный и водный. Масло затем отделяют декантацией, центрифугированием или экстракцией. Так получают масло из мяты, лаванды, герани, шалфея, кориандра, тмина, используя в качестве сырья листья, стебли и плоды растений. Данный способ применим, когда сырье содержит много масла, которое термостабильно, т. к. у некоторых видов растений при нагревании до 100°C свойства масла необратимо изменяются (например, у сирени и ландыша).

Если извлекаемые душистые вещества термически малостойки и не выдерживают температуры перегонки с водяным паром, применяют экстракционные методы.

Экстракция – способ, при котором проводят экстрагирование эфирного масла легкокипящими жидкостями, которые затем отгоняют. Используют такие органические растворители как эфир, ацетон, петролейный эфир и т. д. Иногда экстракцию осуществляют сжиженными газами (СО₂, бутаном, пропаном и др.). После отгонки растворителя получают чистое эфирное масло или его смесь со смолами и восками. Способ используют при получении эфирного масла из лепестков розы, жасмина, сирени. Упомянутую ранее мацерацию тоже можно отнести к экстракционным методам.

Поглощение эфирных масел активированным углем с последующим извлечением спиртом (способ поглощения без жиров). Метод разработан для получения эфирного масла из цветков жасмина. Этот метод динамической сорбции с последующей экстракцией этих же цветков петролейным эфиром. Сущность метода состоит в следующем: цветки жасмина, собранные утром, помещают на сетки в замкнутые камеры. Через камеры пропускают сильный ток увлажненного воздуха, уносящего с собой пары эфирного масла, которые

продолжают выделять цветки. Пары масла улавливают активированным углем в специальном адсорбере. Через сутки эфирное масло извлекают из угля диэтиловым эфиром, а из цветков – петролейным эфиром. Эфиры отгоняют, а полученные масла затем смешивают. Способ дает возможность увеличить выход эфирного масла в 3-3,5 раза по сравнению с обычным экстрактивным методом (с 0,09 до 0,27 %).

Способ получения значительно влияет на извлечение эфирного масла. Примером являются извлечение масла из цветков цитрусовых *Citrus aurantium*, имеющих своеобразный нежный запах. Если эфирное масло отгоняют с водяным паром, тогда полученный продукт носит название «нероли» и его выход составляет 0,1% переработанных цветков. При использовании анфлеража получается ценная эссенция флердоранж, составляющая только 0.01% переработанных цветков. Для получения нероли в мире ежегодно используют более 1500 т цветков.

Исследование и стандартизация эфирных масел

Главной особенностью анализа большинства эфирных масел и терпеновых соединений как их составных частей является то, что в растениях они чаще всего встречаются в составе сложных смесей, насчитывающих до нескольких десятков индивидуальных веществ, находящихся в широком диапазоне концентраций.

Компонентный состав эфирных масел весьма вариабелен даже в пределах одного вида растений и зависит от места их произрастания, климатических условий, стадии вегетации и технологии выделения масла.

В связи с этим эфирные масла необходимо оценивать исходя из индивидуальных требований с учетом информации об исходном сырье, способе извлечения и применения, на основании отраслевых норм и стандартов, установленных государственными властями и международными организациями.

Подлинность эфирных масел устанавливают по их физико-химическим свойствам. Определяют цвет, запах, вкус, плотность, удельное вращение, показатель преломления, растворимость в спирте, кислотное и эфирное число, состав действующих веществ.

Наиболее простыми способами установления подлинности эфирных масел являются определение органолептических характеристик (цвет, прозрачность, запах, вкус), и установление физико-химических свойств (плотность, показатель преломления, угол вращения плоскости поляризации света, кислотное и эфирное числа, растворимость) масла.

Плотность эфирных масел колеблется в пределах 0,69-1,188, однако как правило, меньше единицы, за исключением некоторых масел, например, гвоздичного или коричных.

По величине угла вращения плоскости поляризации, которая является суммой оптических активностей всех компонентов масла, можно судить об относительном богатстве масла тем или иным компонентом и о качестве эфирного масла. Показатель преломления практически для всех масел является постоянной величиной. В большинстве случаев диапазон его колебаний не превышает 0,013-0,014. По величине показателя преломления можно судить о

преобладании в масле тех или иных компонентов. Наибольшее преломление характерно для масел с высоким содержанием алифатических терпенов с тремя двойными связями, а наименьшее – для трициклических терпенов.

Более низкое значение угла оптического вращения, полученное при определении подлинности масел цитрусовых, может свидетельствовать о фальсификации эфирного масла путем разбавления скипидаром. Данный факт можно объяснить тем, что α -пинен (основной компонент скипидара), обладает более низким значением угла оптического вращения по сравнению с лимоненом – основным компонентом масел цитрусовых.

Растворимость эфирного масла в спирте (96% или 70%) дает представление о его подлинности и качестве. Большинство углеводородов плохо растворимо в спирте, особенно разведенном. Так, по степени растворимости в спирте можно примерно судить об относительном богатстве масла углеводородами. В разведенном спирте способны растворяться лишь масла, содержащие в своем составе большое количество кислородных соединений. Отклонение от норм растворимости служит критерием недоброкачества эфирного масла.

Кислотное число, характеризующее суммарное содержание свободных кислот в исследуемом масле, определяют титриметрически. В числе компонентов, входящих в состав масел, свободные кислоты присутствуют почти всегда, но их количество обычно незначительно, что объясняется связыванием свободной кислоты со спиртом в результате реакции этерификации. При хранении масла происходят процессы окисления, и содержание свободных кислот обычно увеличивается за счет омыления эфиров, в связи с этим изменяется и кислотное число.

Эфирное число после ацетилирования определяют в тех маслах, качество которых характеризуется количеством спиртов, таких как линалоол, гераниол, цитронеллол и др. Масло ацетируют, потом его омыляют и определяют эфирное число. Разница в показателях до и после ацетилирования дает возможность установить содержание спиртов в масле. Высокое значение эфирного числа свидетельствует о фальсификации эфирного масла жирными маслами.

Физико-химические и органолептические методы анализа являются простыми и быстрыми методами, используемыми для установления грубых фальсификаций эфирных масел, однако выявлять более тонкие фальсификации они не позволяют.

Контролируемые при оценке качества эфирных масел, органолептические и физико-химические показатели в международных стандартах и нормативно-технических документах, носят вспомогательный, технологический характер, так как позволяют оценить качество эфирных масел при производстве, возможность использования в парфюмерии, но не обеспечивают полной идентификации компонентов масел, не позволяют оценить влияние отдельных компонентов на их свойства и не дают гарантии подлинности, позволяя выявлять лишь грубые фальсификации.

К наиболее распространенным способам фальсификации эфирных масел относят: введение синтетических добавок; обогащение изолятами; добавление керосина, растительных или минеральных масел; частичную или полную замену более дешевыми маслами.

При фальсификации эфирных масел путем введения синтетических добавок широко используют различные продукты органического синтеза, особенно дешевые синтетические душистые вещества. Так, синтетические линалоол и линалилацетат используют для фальсификации лавандового масла, добавляя их в эфирное масло, полученное из низкокачественных сортов, содержащее эти компоненты в концентрациях ниже нормы, предусмотренной стандартом. Синтетические линалоол и линалилацетат добавляют также в шалфейное и бергамотовое масла, а смесь терпенов и циклогексанола – в ветиверовое масло для улучшения органолептических свойств. Эфирное масло аптечной ромашки фальсифицируют добавлением синтетического бисаболола или хамазулена. Основная проблема такой фальсификации состоит в том, что синтетические компоненты не обладают биологической активностью, могут спровоцировать аллергию и раздражение кожи. Кроме того, добавление синтетических компонентов уменьшает биологическую активность большинства имеющихся компонентов путем вступления с ними в синергитические реакции.

При обогащении изолятами в эфирное масло добавляют компонент, выделенный из других эфирных масел, с целью стандартизации его для коммерческих целей. Себестоимость такого продукта снижается. По сравнению с фальсификацией, описанной выше, данный вариант позволяет получить натуральный, но не подлинный продукт. Стандартизация изолятами является достаточно сложной для выявления формой фальсификации. Так, низкокачественное масло мяты обогащают изолятом ментола, выделенного из других, более дешевых масел мяты, для улучшения запаха. Не отвечающее требованиям качества лавандовое масло может быть «улучшено» сложными эфирами и сесквитерпенами, выделенными из более дешевых сортов лаванды. Розмариновое масло может содержать изоляты в виде лимонена, α -пинена и камфена, выделенных из апельсина или других, богатых монотерпенами цитрусовых. Дорогостоящее масло нероли может быть обогащено компонентами (неродем, неролидом, линалилацетатом и терпенами), выделенными из масел цитрусовых.

Фальсификация изолятами также является причиной нарушения функциональности синергитического баланса компонентов масла, в результате чего значительно сокращается терапевтическая биоактивность. Это происходит в результате неестественного преобладания добавленных компонентов и функционального подавления низко концентрированных компонентов, которые, зачастую, играют более важную роль, чем основные компоненты.

Другим достаточно распространенным способом фальсификации является добавление к эфирным маслам очищенных фракций керосина, растительных или минеральных масел. Его популярность объясняется доступностью этих продуктов, относительно низкой стоимостью и схожестью физико-химических

показателей (плотность) с фальсифицируемыми маслами. Иланг-иланговое масло подвергают фальсификации растительными (касторовым, кокосовым) и минеральными маслами, масло сандалового дерева – касторовым. Для фальсификации ирисового масла используют касторовое и некоторые минеральные масла. Содержание фальсифицирующих добавок в кассиевом (китайском коричном) масле может варьировать от 20 до 60 % (канифоль, жирные масла, очищенный керосин и др.). Этот способ фальсификации приводит к простому растворению, которое уменьшает аромат эфирного масла, существенно увеличивает его объем и, соответственно, товарооборот.

Следующим распространенным способом фальсификации является так называемое классическое разбавление, которое используют для фальсификации дорогих масел. Масло французской лаванды фальсифицируют разбавлением дешевым маслом болгарской лаванды или эфирными маслами других разновидностей рода *Lavendula*. Эфирное масло кассии часто используют для фальсификации масла коричника цейлонского. Более сложные по химическому составу и запаху масла апельсина, мандарина, лимона и грейпфрута, полученные холодным прессованием, могут быть разбавлены обедненными дистиллированными маслами этих же фруктов.

Ценное эфирное масло Melissa фальсифицируют дешевым маслом цитронеллы (Melissa лимонной). Эфирное масло розы может быть фальсифицировано более дешевыми маслами, содержащими терпеновые спирты (цитронеллол, гераниол), фракциями гераниевого масла или пальмарозовым. Такой способ фальсификации также приводит к снижению биологической активности. масла, а полученные при этом продукты правильнее называть смесями.

Таким образом, спектр используемых приемов при фальсификации эфирных масел весьма разнообразен и свидетельствует об обоснованном риске присутствия на рынке фальсифицированной продукции, что определяет необходимость применения соответствующих методов исследования, позволяющих контролировать подлинность продукции и обеспечивать условия добросовестной конкуренции.

Хроматографические методы анализа

Для установления подлинности эфирных масел часто используют хроматографические методы. Хроматограммы позволяют получать информацию о составе эфирных масел и представляют собой подробную «карту» распределения всех компонентов эфирного масла, изучение которых методом сравнения с типовыми хроматограммами может помочь в установлении подлинности и натуральности эфирного масла.

Газовая хроматография. Обычным методом анализа сложных смесей терпеновых соединений (моно-, сескви-, дитерпенов) является газовая хроматография (ГХ), что обусловлено температурой кипения терпеноидов от 150 до 350 °С. Применение комбинированного метода хромато-масс-спектрометрии, позволяет значительно расширить возможности исследования сложных многокомпонентных смесей, в том числе и эфирных масел. Для установления

подлинности эфирных масел также применяют энантиоселективную газовую хроматографию, в том числе в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием, позволяющую определять соотношение диастереомеров компонентов масел, которые могут служить хемомаркерами происхождения. Установлено, что количественное соотношение энантиомеров α -пинена, β -пинена и лимонена является индивидуальной характеристикой каждого эфирного масла и поэтому может использоваться в качестве хемомаркера при выявлении фальсификации путем смешения масел различной природы. Также анализ соотношения диастереомеров компонентов масла позволяет выявлять фальсификации путем введения синтетических добавок, например, синтетического линалоола и линалилацетата в масло лаванды, а также устанавливать подлинность масел мелиссы.

Энантиоселективная хроматография является достаточно чувствительным методом, однако во время обработки или хранения в эфирных маслах может происходить рацемизация, что приведет к ложноположительным результатам. Кроме того, ГХ не дает информации о содержании в маслах нелетучих или термически лабильных соединений, делая данный тип анализа неполным.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Осуществить определение практически всех компонентов эфирных масел принципиально способна высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). ВЭЖХ используют для выявления фальсификации эфирных масел путем добавления синтетических компонентов, растительных или более дешевых масел. Однако необходимо отметить, что ВЭЖХ ограничено применяется при анализе эфирных масел, что связано, во-первых, с невысокой эффективностью хроматографических колонок, не применимых для разделения многокомпонентных смесей близких по свойствам веществ, и, во-вторых, с большой селективностью чаще всего применяемых УФ-спектрометрических детекторов. ВЭЖХ иногда применяют для предварительного фракционирования образцов. Однако важным преимуществом ВЭЖХ является возможность анализа малолетучих и термолабильных соединений.

Газожидкостная хроматография (ГЖХ) очень широко используется для изучения сложных смесей терпеновых соединений. Это обусловлено следующим: терпеноиды имеют температуры кипения от 150 до 350°C и достаточное парциальное давление для проведения анализа этим методом; ГЖХ в настоящее время является наиболее эффективным методом разделения сложных смесей, она может использоваться в сочетании со спектроскопическими методами идентификации.

Тонкослойная хроматография. Возможно определение подлинности эфирных масел и методом тонкослойной хроматографии. Так, была выявлена фальсификация анисового масла добавлением фенхельного, а также разбавление китайского анисового масла добавлением японского.

Несмотря на то, что хроматографические методы установления подлинности эфирных масел приняты многими фармакопеями и играют важную роль при выявлении фальсификации, все же они обладают существенным

недостатком. Принцип идентификации этих методов основан на определении наличия или отсутствия в анализируемых образцах характерных компонентов-маркеров. Но многие маркеры легкодоступны, их можно добавить в фальсифицируемый продукт или искусственно удалить из него. Кроме того, сырьевые источники компонентов в фальсификате могут отличаться от основного продукта, что проблематично определить с помощью хроматографических методов.

Для выявления фальсификации эфирных масел и установления их подлинности используют также различные **спектроскопические методы** (ультрафиолетовая (УФ) и инфракрасная (ИК) спектроскопии, спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР)).

Всемирно признанными и регламентирующими высокое качество эфирных масел являются: стандарты ISO Международной организации стандартов (International Organization for Standardization), в которой имеется Технический комитет ТК-54 по стандартизации эфирных масел; нормативы американской ассоциации эфирных масел EOA (Essential Oil Association of U.S.A.); рекомендации по ограничению и запрещению применения некоторых эфирных масел международной ассоциации душистых веществ IFRA (International Fragrance Association), которая контролирует на основе медико-биологических испытаний допустимость использования душистых веществ и эфирных масел в парфюмерии и косметике; рекомендации RIFM (Research Institute Fragrances Materials, USA) – американского института, осуществляющего медико-биологические испытания душистых веществ и эфирных масел (результаты испытаний публикуются в Food and Cosmetics. Toxicologie, Food and Chemical Toxicologie); нормативы Фармакопеи России или Фармакопеи Великобритании.

Стандарты и монографии содержат технические требования, которые определяют качественные и количественные особенности эфирных масел, гарантирующие оптимальное качество, совместимое с требованиями безопасности.

Эфирные масла и эфирномасличные растения

Растения, содержащие эфирные масла (эфироносы, эфиромасличные), широко представлены в мировой флоре. Насчитывается более 3000 видов эфироносов, однако, промышленное значение имеют 200-300 видов. Наиболее распространены эфиромасличные растения в тропиках (около 45 %) и субтропиках (около 10 %). Эфироносов умеренной зоны – около 20 %, остальные (25 %) представлены во всех зонах.

Эфиромасличные растения встречаются почти в 100 семействах, что составляет около трети от общего количества растительных семейств земного шара. Богатством эфироносов характеризуются семейства Губоцветные, Зонтичные, Кипарисовые, Крестоцветные, Миртовые, Розовые, Рутовые, Лавровые, Гераниевые, Сложноцветные, Сосновые и др. В то же время растения семейств Злаки, Осоки, Пальмы почти лишены эфирных масел. Душистые вещества содержатся и в лишайниках. Так, из слоевищ Эвернии сливовой (*Evernia prunastri*) получают ароматное вещество лихенол.

Многие эфиромасличные растения отличаются декоративными качествами (роза, жасмин, тубероза, лилия и др.) и являются хорошими медоносами (лаванда, кориандр, иссоп, душица и др.).

Содержание эфирных масел в растениях. Количество эфирных масел в растениях колеблется в широких пределах – от 0,001 % до 20-25 % на сухое вещество. В цветочных почках гвоздики содержится до 23 % эфирного масла, в листьях мяты перечной – до 4 %, в цветках фиалки душистой – 0,038 %, в листьях фиалки душистой – 0,0044 %. Выход эфирного масла с 1 га герани розовой составляет 30-35 кг, шалфея мускатного — 20-25 кг, фиалки душистой – 8-12,7 кг, а чубушника – 1,32 кг.

Для получения 1 кг мятного эфирного масла нужно переработать 30-50 кг сухих или 120-200 кг свежих листьев. В лепестках эфиромасличной розы содержится от 0,005 до 0,2-0,3 % эфирного масла, поэтому для получения 1 кг розового масла в производственных условиях необходимо переработать до 1000-3000 кг лепестков.

Болгарское розовое масло получают из лепестков Розы дамасской (*Rosa damascene*). Еще в «Иллиаде» Гомера упоминается «ароматическое масло роз благовонных». В настоящее время это самый дорогой и самый ценный для парфюмеров сорт розового масла, который идет на изготовление дорогих духов экстра-класса. Стоимость 1 т розового масла составляет 2 500 000 долларов. Розу разводят во многих странах Средиземноморья, но ведущее место принадлежит Болгарии. Культура Розы дамасской в Казанлыкской долине Болгарии берет свое начало с XVIII в. Специфический микроклимат «долины роз» (высокая атмосферная влажность и умеренная температура воздуха во время цветения) благоприятствует накоплению в цветках розы большого количества эфирного масла. Для получения розового масла используют и другие виды роз, например, Розу казанлыкскую или белую (*R.alba*), Розу гальскую (*R.gallica*).

Высокий процент эфирного масла содержится в плодах растений семейства Зонтичные (у укропа – до 4 %, у тмина – до 6 % на абсолютно сухой вес), в кожуре плодов цитрусовых (у бергамота – до 6,6 %, у мандарина – до 3,54 % на сырой вес). О значительном содержании эфирного масла в плодах цитрусовых свидетельствует такой простой опыт: если из свежей кожуры плодов цитрусовых (апельсин, мандарин) выдавить эфирное масло на пламя спиртовки или спички, то происходит вспышка в виде фейерверка. Подобное явление можно наблюдать и в природе с некоторыми растениями, в частности, с Ясенцем кавказским (*Diclatnys caucasicus*). Соцветия этого растения семейства Рутовые в период цветения в безветренную солнечную погоду выделяют так много эфирных масел, что они вспыхивают от спички, и все растение на мгновение окутывается пламенем, но не повреждается. Поэтому ясенец называют купиной неопалимой.

Локализация эфирных масел в растениях

Эфирные масла содержатся в различных частях растений: лепестках цветков (роза, жасмин, ландыш, фиалка, сирень, лаванда, лилия); плодах (кориандр, тмин, анис, фенхель, ажгон, укроп); кожуре плодов (цитрусовые); цветочных почках (береза, гвоздика, тополь); листьях (мята, эвкалипт, шалфей,

базилик, лавр); стеблях (укроп, копытень); древесине (сантал) и коре (коричное дерево).

Некоторые растения накапливают эфирные масла в подземных органах. Примером являются ирисы, дягиль, аир, валериана. Так, корневища растений семейства Касатиковые – Ириса бледного (*Iris pallida*), Ириса германского (*I. germanica*) и Ириса флорентийского (*I. florentina*) – в Средней и Южной Европе используют как лекарственное, ароматическое и антисептическое средство под названием «фиалковый корень». Название связано с тем, что при медленной сушке корневища приобретают запах лесной фиалки. В Северной Италии эти виды культивируются уже около 300 лет. Выход масла составляет 0,1-0,2% от массы сырых корневищ. Эфирное масло используют в парфюмерии для производства духов и одеколонов высшего качества, а размолотое сухое корневище – для выработки туалетной пудры и зубного порошка. Также эфирное масло применяют для ароматизации кулинарных изделий, ликеров, вермутов. В масле ириса идентифицировано более 130 веществ. Запах фиалки маслу придает кетон ирон, содержание которого в масле достигает 12-15%. В лечебных целях корневище употребляют как вяжущее, слабительное, потогонное, отхаркивающее и мочегонное средство.

Из свежих или высушенных корневищ растения семейства Зонтичные Дягиля лекарственного (*Archangelica officinalis*) получают дягильное или ангеликовое масло, которое используется при массаже, для ванн и ингаляций при лечении заболеваний органов дыхания. Эфирное масло из ангелики содержится в высококачественных французских ликерах (Бенедиктин и Шартрез), применяется для ароматизации джина и в элитной парфюмерии.

Важнейшими лекарственными растениями являются Аир болотный (*Acorus calamus*) и Валериана лекарственная (*Valeriana officinalis*), у которых также эфирное масло извлекают из корней и корневищ. Эфирное масло валерианы (семейство Валериановые) широко применяется как успокаивающее средство при нервном возбуждении, неврозах, спазмах и бессоннице. Корни аира (семейство Аронниковые) еще во II в. до н. э. использовали в Египте для окуливания храмов. Из них также готовили мази и косметические средства. В настоящее время аирное масло добавляют в табачные и ликеро-водочные изделия, духи и одеколоны. В лечебных целях его применяют для улучшения пищеварения и повышения аппетита, лечения и профилактики почечнокаменной и желчнокаменной болезни, а также как тонизирующее средство.

Вместилища эфирных масел (эфирномасличные вместилища) – специальные образования в различных органах растений, в которых накапливаются эфирные масла. Они могут быть одноклеточными образованиями (идиобласты) или многоклеточными структурами (волоски, железки и др.). Для почек тополя (*Populus*), лепестков розы (*Rosa*) и Ландыша майского (*Convallaria majalis*) характерен железистый эпидермис с железистыми пятнами, которые представляют собой скопление эфирного масла под кутикулой. Компоненты эфирного масла синтезируются отдельными клетками, располагающимися в железистом эпидермисе, накапливаются в виде железистого пятна и выделяются

в окружающую среду. По местонахождению эфирных масел подразделяются на внешние (экзогенные) и внутренние (эндогенные) образования.

Значение эфирных масел для растений и закономерности в динамике их накопления

Главное значение эфирных масел состоит в привлечении животных для размножения растений путем опыления цветков, распространения плодов и семян. Об этом свидетельствует динамика накопления эфирных масел в растениях с наибольшей аккумуляцией в периоды цветения растений, созревания семян и плодов.

Эфирные масла участвуют в регуляции транспирации, поскольку, испаряясь, предохраняют растения от колебания температур, т.е. от чрезмерного нагрева на солнце днем и от переохлаждения ночью. Есть мнение, что масла ускоряют движение воды по растению, изменяя поверхностное натяжение.

Эфирные масла защищают растения от болезней, вредителей, поедания животными, затягивают раны в коре и древесине, губительно действуют на микроорганизмы и тем самым повышают иммунитет. С выделением эфирных масел растениями связывают аллелопатические взаимоотношения высших растений в сообществах. Известно, например, что летучие эфирные масла одного вида растений могут положительно или отрицательно действовать на растения другого вида.

Многие эфирные масла относят к фитонцидам – физиологически активным веществам растений, убивающим или подавляющим рост и развитие других организмов, главным образом микроорганизмов. Создатель учения о фитонцидах Б. П. Токин считал, что в процессе эволюции растения выработали способность синтезировать различные биологически активные вещества для самозащиты. По определению Б. П. Токина «фитонциды – продуцируемые растениями бактерицидные, фунгицидные, протистоцидные вещества, являющиеся одним из факторов их иммунитета и играющие роль во взаимоотношениях организмов в биоценозах». доказано, что 1 га можжевельного леса за сутки выделяет до 30 кг летучих соединений, хвойного – 5 кг, лиственного – 2 кг. Как результат, в 1 м³ лесного воздуха содержится в 150-200 раз меньше микроорганизмов, чем в таком же объеме городского воздуха. Способность выделять фитонциды свойственна и комнатным растениям. Так, циперус и мелкоцветная хризантема снижают содержание микрофлоры в воздухе на 60 %, а бегония и герань – на 40 %.

Монотерпеноиды смолы хвойных токсичны для большинства насекомых, поэтому некоторые эфирномасличные растения применяют в борьбе с насекомыми-вредителями, а также для отпугивания грызунов (кориандр, полыни и др.). Отмечается, что многие хвойные растения реагируют на внедрение жуков-короедов дополнительным синтезом монотерпенов.

Сильным инсектицидным эффектом обладают пиретрины (эфиры монотерпенов), содержащиеся в цветках многолетних трав рода *Pyrethrum* семейство Сложноцветные. Это Пиретрум цинерариелистный или Ромашка

далматская (*Pyrethrum cinerariifolium*), Пиретрум розовый или Ромашка кавказская (*P. roseum*) и Пиретрум мясо-красный или Ромашка персидская (*P. carneum*). Порошок из сухих соцветий Ромашки далматской («далматский порошок») содержит 0,6-1,5% пиретринов, применяется для борьбы с комнатными насекомыми (клопы, блохи, тараканы, вши и др.), идет на приготовление препаратов, представляющих эффективное средство против сельскохозяйственных вредителей, паразитов животных. Другие виды пиретрума содержат меньше пиретринов (0,2-1,2 %) и поэтому не могут конкурировать с Ромашкой далматской, однако также широко используются.

Инсектицидные свойства пиретрумов стали известны с начала XIX в. Большой спрос на «блошиный порошок» вызвал помимо усиленного сбора дикорастущих зарослей введение этих растений в культуру. Особенно широкое распространение в культуре получила ромашка далматская, хотя использование и сбор других видов ромашки для изготовления «персидского порошка» начался еще в 20-х годах XIX в. Именно на сырье из ромашки кавказской в 1823 г. в Марселе начала работать первая фабрика по изготовлению «персидского порошка». Мировое производство пиретринов (в виде сухих цветков со средним содержанием пиретринов 1,3 %) в 1975 г. составляло 23 000 т/год, однако, к концу XX в. снизилось до 10 000 т/год в связи с ростом использования синтетических аналогов.

Пиретрины – инсектициды контактного действия. Наиболее сильный – пиретрин I, который быстро всасывается в организм насекомого и поражает нервную систему, нарушая процесс передачи нервных импульсов. Его действие дополняет пиретрин II, вызывающий почти мгновенный паралич насекомых. Пиретрины – единственная группа инсектицидов, в которой не замечено никакой резистентности. Кроме того, пиретрины практически не токсичны для теплокровных животных. К сожалению, они мало устойчивы при хранении. Наиболее токсичным для насекомых оказался эфир циклического кетоспирта пиретролона и кислоты циклопропанового ряда (хризантемовой). С 80-х годов XX в. начался выпуск пиретроидов – синтетических инсектицидов, аналогов природных пиретринов, сходных с ними по характеру и механизму физиологического действия, но иногда существенно различающихся по химическому строению.

Эфирные масла могут являться аттрактантами. Показано, что при нападении насекомых, в тканях некоторых растений (кукуруза, хлопчатник и др.) начинают вырабатываться моно- и сесквитерпены, которые привлекают хищные виды насекомых, питающихся насекомыми-фитофагами.

Примерами репеллентов для насекомых и млекопитающих являются лактоны сесквитерпенов. Накопление этих соединений, отличающихся горьким вкусом, делает содержащие их растения несъедобными для большинства фитофагов. Так, в подсолнечнике и полыни содержится костунолид, а устойчивость к повреждению насекомыми, грибной и бактериальной инфекции хлопчатника связана с присутствием сесквитерпенового димера госсипола. Госсипол получают при переработке семян или из корней хлопчатника и

используют в виде мази при лечении опоясывающего герпеса, простого герпеса, псориаза.

Дитерпен форбол, содержащийся в млечном соке некоторых молочаев (*Euphorbia*), оказывает сильное местное действие, раздражает кожу при попадании на поверхность тела и токсичен при попадании внутрь организма для млекопитающих. Ожоги, вызванные млечным соком молочаев, образуют долго незаживающие язвы.

Накопление эфирных масел и их качественный состав зависит от фазы развития растений, возраста и места обитания. В южных районах, на открытых местах, на рыхлой и удобренной почве содержание масел в растениях повышается. Однако при очень высокой температуре их количество снижается ввиду испарения. В молодых растениях эфирных масел больше, чем в старых. Максимальный уровень накопления эфирных масел обычно наблюдается в период бутонизации и цветения. Однако в траве полыни горькой наибольшее содержание эфирного масла отмечается в период плодоношения.

Реакция различных эфирномасличных растений на действие одного и того же внешнего фактора неодинаковая. Например, повышение температуры воздуха до 23-25°C вызывает увеличение содержания эфирного масла в листьях Базилика эвгенольного и соцветиях Шалфея мускатного, а в плодах кориандра – снижение. Недостаток влаги в почве на накопление эфирного масла в плодах кориандра и в листьях мяты сказывается отрицательно, а в соцветиях шалфея – положительно. При затенении наблюдается увеличение количества эфирного масла в листьях мяты, плодах кориандра и уменьшение – в соцветиях шалфея. При сухой жаркой погоде у лаванды образуется меньше масла, но накапливается больше эфиров, что улучшает его качество. При высокой влажности воздуха образуется больше эфирного масла, но ухудшается качество.

С возрастом растения состав эфирного масла изменяется. Показательным в этом отношении является Кориандр посевной (*Coriandrum sativum*). Эфирное масло плодов этого представителя семейства Зонтичные в период молочной спелости на 98 % состоит из децилового альдегида, который имеет специфический неприятный запах, в связи с чем кориандр иначе называют клоповник. В период полной спелости содержание альдегида составляет 0,1 %, а в составе кориандрового масла преобладает линалоол (70 %), который имеет запах ландыша. Поэтому зрелые плоды кориандра используют для получения линалоола, а также для ароматизации, например, бородинского хлеба.

Растения отличаются друг от друга по количеству и качеству эфирного масла. Некоторые виды обладают выраженной внутривидовой химической изменчивостью, например, такие растения семейства Губоцветные как Котовник закавказский (*Nepeta transcaucasica*) и Тимьян ползучий (*Thymus serpyllum*), что, по-видимому, свидетельствует об их гибридном происхождении. Особи, полученные из семян одного такого растения, могут отличаться по качественному составу эфирных масел, а, следовательно, и по запаху.

Классификация эфирных масел и эфирномасличного сырья

В зависимости от химического строения основных компонентов масла можно разделить на три группы, содержащие: – монотерпеноиды (мирцен, гераниол, линалоол, цитронеллол, цитраль, лимонен, ментол, терпинеол, ментон, пулегон, карвон, цинеол, аскаридол, туйан, каран, пинан, камфан, борнеол, фенхан и др.); – сесквитерпеноиды (бисаболан, гумулан, элеман, кадинан и их изомеры, гвайан: азулен, хамазулен, гвайазулен, сесквитерпеновые лактоны и др.); – ароматические соединения (анетол, эвгенол, тимол, карвакрол, бензальдегид, ванилин, пиперонал, анисовый альдегид и др.).

К маслам, основными компонентами которых являются монотерпеноиды, относятся бергамотное, мятное, розовое и другие масла. В розовом масле обнаружено более двухсот органических веществ, но основную массу составляют терпеновые спирты (цитронеллол, гераниол, линалоол). В мятном масле содержится более ста компонентов, преобладающими из которых являются ментол, ментон, ментилацетат и цинеол. Представителями следующей группы эфирных масел являются ветиверовое масло, содержащее компоненты сесквитерпенового или близкого к нему строения: хусимол, его производные, а также микроколичества замещенных фенолов и масло ромашки, которое кроме продуктов окисления α -бисаболола – бисабололоксидов А и В, содержит хамазулен и другие сесквитерпены.

Группу эфирных масел, основными компонентами которых являются ароматические соединения, представляют базиликовое, гвоздичное, сандаловое и фенхельное масла. Гвоздичное масло содержит в своем составе (массовая доля) более восьмидесяти компонентов, но его свойства определяются, в основном, наличием эвгенола (77 %), эвгенилацетата (9.5 %) и кариофиллена (6.0 %). Главными компонентами фенхельного масла являются анетол и эстрагол (44 %), метилхавикол (44 %) и монотерпеновые углеводороды.

Сырье, получаемое из эфиромасличных культур, делят на зерновое (семена и плоды), цветочное (бутоны, соцветия), травянистое (листья, побеги) и корневое.

Эфираносы для производства зернового сырья: кориандр, фенхель; ажгон; тмин; анис; укроп и другие.

Для цветочного сырья: азалия; мускатный шалфей; аптечная ромашка; роза; ирис; бутоны гвоздичного дерева; лаванда; сирень; акация.

Для травянистого сырья: эвкалипты; лимон; анис; мята; фенхель; хвойные растения; полынь; герань розовая (пеларгония); лавровый лист (лавр благородный); тагетис (бархатец); чубушник и другие.

Некоторые эфирные масла производят из разных частей растения, поэтому получают несколько видов сырья и эфирных масел. Например, анис (зерновое и травяное сырье) и цитрусовые – из плодов, цветков и ветвей этого типа растений вырабатывают разные эфирные масла. Так, из листьев померанца или бигардии получают петигреновое масло, из кожуры плодов – бигардиевое, из цветков – масло нероли или флердоранж, последние отличаются по способу получения (дистилляцией или методом анфлеража).

Использование эфирных масел в медицине

Большинство из используемых в ароматерапии масел проявляют антибактериальное; успокаивающее и стимулирующее действие, повышают секрецию желудочно-кишечного тракта и бронхов, возбуждают дыхание, снимают боль в мышцах и суставах. Например, масла апельсина, герани, жасмина, розы, ромашки, эвкалипта обладают успокаивающими свойствами. Эфирные масла гвоздики, лавра, лимона способствуют улучшению памяти. Еще в средние века Авиценна приписывал розовому маслу способность обострять мышление. В настоящее время установлено, что некоторые запахи повышают физическую и умственную работоспособность, снимая чувство усталости. Умственную деятельность способны активизировать масла гвоздики, герани, мяты, полыни, сосны и эвкалипта. Мятное, апельсиновое и фенхелевое масло входят в состав бальзама Караваяева, используются для профилактики заболеваний верхних дыхательных путей, повышают активность иммунной системы. Эфирным маслам растений характерны противомикробное, противовоспалительное, спазмолитическое, успокаивающее, антиоксидантное, противоаллергическое действие. Так, мятное и тминное масла проявляют свои фунгицидные свойства в разведениях до 1:80 000, а шалфейное – даже 1:100 000. Механизм действия эфирных масел и их содержащих лекарственных средств связан с местным раздражением нервных окончаний слизистых оболочек и кожи. Лекарственное сырье, содержащее эфирные масла, совместно с другими биологически активными веществами используют при заболеваниях верхних дыхательных путей (Мята перечная, Шалфей лекарственный, виды эвкалипта, Пихта сибирская, Сосна обыкновенная), в качестве отхаркивающих (Анис обыкновенный, Тимьян ползучий, Деясил высокий, Багульник болотный, Душица обыкновенная), кровоостанавливающих (Арника горная, Тысячелистник обыкновенный), успокаивающих (Валериана лекарственная, Пион уклоняющийся), желчегонных и повышающих аппетит (Полынь горькая, Аир болотный, Вахта трехлистная, Мята перечная), ветрогонных (Тмин обыкновенный, Укроп огородный, Ромашка аптечная), противоаллергических (Ромашка аптечная) и прочих средств.

1.3.5. Общая характеристика алкалоидов

Алкалоидами называются природные азотсодержащие соединения основного характера, образующиеся в растительных (реже других) организмах. Основные свойства, характерные для этих соединений, обусловили их название: алкалоидный – подобный щелочи (от араб. *alqali* – щелочь и греч. – *eidos* – подобный). Алкалоиды часто обладают сильным фармакологическим действием.

Название «алкалоид» было предложено в 1819 г. К. Мейснером. 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 1806 г. 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 XVI в., 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.

Большинство кислородсодержащих алкалоидов – кристаллические вещества без запаха, с горьким вкусом, бесцветные (исключения – сангвинарин оранжевого цвета из Чистотела большого и желтого цвета берберин из Барбариса обыкновенного). Алкалоиды, не содержащие кислород, являются летучими жидкостями с неприятным запахом (кониин, гикотин, пахикарпин, анабазин).

Алкалоиды, имеющие асимметричный атом углерода, как правило, оптически активны.

Алкалоиды – довольно слабые органические основания. Наиболее сильные основные свойства проявляет кодеин ($K=9 \times 10^{-7}$), наиболее слабые кофеин ($K=4 \times 10^{-14}$). Хорошо растворимы в неполярных органических растворителях (редко в воде – кофеин, эфедрин и эргометрин).

В растениях алкалоиды содержатся в виде солей, образованных широко распространенными в растениях органическими (яблочной, винной, лимонной, щавелевой и т.п.) и неорганическими кислотами. В некоторых случаях в образовании солей участвуют специфические кислоты: в опийном маке – меконовая кислота, в хинном дереве – хинная.

Алкалоиды образуют соли с кислотами подобно сочетанию аммиака с кислотой хлористоводородной в аммониевых солях. Соли алкалоидов – белые кристаллические вещества, растворимые в воде и спиртах и, как правило, нерастворимые или малорастворимые в органических растворителях (исключение – папаверина гидрохлорид растворим в хлороформе и спирте).

Раствор аммиака, карбонаты и оксид магния разлагают соли алкалоидов до свободных оснований, щелочи могут вызвать деструкцию соединений. Алкалоиды образуют нерастворимые (или слабо растворимые) комплексы с солями тяжелых металлов, комплексными неорганическими кислотами, высокомолекулярными органическими веществами кислого характера. Алкалоиды вступают в реакции, зависящие от наличия в их молекулах различных функциональных групп. Алкалоиды, которые содержат фенольный гидроксил, образуют со щелочами феноляты и вступают в реакцию с солями железа (III). Например, морфин содержит фенольный гидроксил, поэтому он со щелочами образует феноляты; дает реакции с $FeCl_3$ и другими реактивами. Некоторые алкалоиды представляют собой сложные эфиры (атропин, кокаин, скополамин) и подвергаются гидролизу кислотами и щелочами.

Роль и распространение алкалоидов в растительном мире

К настоящему времени идентифицировано более 15000 алкалоидов. 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 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 Катарантуса розового *Catharantus roseus* (Кутровые). 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 (хемотаксономии) 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, обнаружены у 7 неродственных видов. Главный алкалоид рода *Nicotiana* (Пасленовые) – никотин – присутствует также в 13 других систематически далеких семействах.

Поскольку алкалоиды представляют собой разнородную группу соединений, то и функции их в растении существенно различаются. Однако можно выделить ряд общих функций, которые могут быть отнесены к большинству представителей этой группы соединений:

- выполняют роль резерва азота, накапливаясь при усиленном азотном питании;
- могут служить транспортной формой азота;
- синтез алкалоидов в корнях – один из механизмов снижения уровня токсичных аминокислот и аминов и обезвреживания аммиака;
- связывая органические кислоты, осуществляют регуляцию рН клеточного сока;
- участвуют в поддержании ионного баланса в растении (благодаря способности к хелатообразованию);

- могут принимать участие в регуляции активности некоторых ферментов, а следовательно, оказывать воздействие на скорость метаболических процессов;
- повышают устойчивость растений к патогенным грибам;
- оказывают воздействие на процессы дифференцировки и органогенеза.

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, 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 (заражении 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 жасмоновой 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 *Rauvolfia serpentina* повышало содержание аймалиновых алкалоидов на 50-80 %. 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. 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 важной 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. Личинки киноварного мотылька *Tyria jacobaea*, питающаяся 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.

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. 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 изменяется. 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 только 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. 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*.

Алкалоиды химически и биохимически гетерогенны.

Классификация алкалоидов была впервые предложена А.П. Ореховым (1881-1939гг.), основоположником русской школы химии алкалоидов.

Химическая классификация алкалоидов основана на особенностях строения молекул. В ее основу положено строение азотсодержащих гетероциклов. Согласно химической классификации, выделяют следующие основные группы алкалоидов: пирролидина, пиперидина, пиридина, пирролизидина, хинолизидина, хинолина, изохинолина, хиназолина, тропана, индола, дигидроиндола или беталаинов, имидазола, акридина, пурина.

Химическая классификация широко используется в химии и фармакогнозии (для классификации растительного сырья). Имеет ряд преимуществ, но не отражает биогенетических связей.

Изучение путей биосинтеза алкалоидов привело к возникновению «**модифицированной**» химической классификации, которую предложил Р. Хегнауэр. Согласно данной классификации, все алкалоиды делят на истинные, протоалкалоиды и псевдоалкалоиды.

1. К истинным алкалоидам относят N-гетероциклические соединения, образованные из биогенных аминов, которые в свою очередь возникли путем декарбоксилирования протеиногенных аминокислот.

2. Протоалкалоиды содержат азот не в гетероцикле, а в боковой цепи и, как правило, являются растительными аминами, например, эфедрин из различных видов эфедры, сферофизин из травы Сферофизы солонцевой, колхицин и колхамин из клубнелуковиц безвременников.

3. Псевдоалкалоиды синтезируются не из аминокислот, а азот в гетероцикл или в боковую цепь включается на последних этапах синтеза. Псевдоалкалоиды имеют углеродный скелет изопреноидного происхождения с включением азота на последних этапах биосинтеза, причем необязательно с участием аминокислот.

Каждая подгруппа разделяется на 3-10 классов.

Параллельно с химической классификации существует и **биохимическая классификация**. По ней алкалоиды подразделяются на подгруппы согласно исходной для их синтеза аминокислоте. Различают следующие группы алкалоидов:

1. Группа L-орнитина (простые пирролидиновые, тропановые и пирролизидиновые алкалоиды);

2. Группа L-триптофана (сложные индольные алкалоиды, β -карболиновые алкалоиды);

3. Группа L-лизина (пиперидиновые и хинолизидиновые алкалоиды);

4. Группа L-фенилаланина (сложные изохинолиновые алкалоиды);

5. Группа антралиновой кислоты (протоалкалоиды, хинолиновые и хиназолиновые алкалоиды);

6. Группа L-тирозина (сложные изохинолиновые алкалоиды);

7. Группа гистидина (пуриновые алкалоиды)

8. Группа L-аспарагиновой кислоты.

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

В основе **фармакологической классификации** лежит характер фармакологического действия алкалоидов на организм: наркотические алкалоиды; местноанестезирующие алкалоиды; спазмолитические алкалоиды и т.д.

Алкалоиды обнаруживаются только в вакуолизированных клетках, поскольку находятся в форме водорастворимых солей органических и неорганических кислот клеточного сока, 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 «запечатывающими» алкалоиды внутри клеток,

концентрация которых может в 70 раз превышать токсичную дозу для фитопатогенных грибов.

Накапливаются алкалоиды, как правило, в вакуолях, а в периплазматическое пространство практически не поступают («бережное отношение» растений к азотсодержащим соединениям?). Транспорт алкалоидов в вакуоли происходит с участием специфических переносчиков. В изолированные вакуоли эффективно поступают только «собственные» алкалоиды.

Алкалоиды сосредоточены в определенных тканях растений:

Листья: табак, чай, дурман, белена

Плоды и семена: чилибуха, мордовник, мак снотворный

Корневища и корни: ипекакуана, раувольфия, красавка, чемерица)

Кора: хинное дерево

Часто алкалоиды синтезируются в одних тканях, а затем транспортируются в другие.

Доказательством того, что в растениях есть алкалоиды, служат положительные качественные реакции на исследуемое биологически активное вещество. Для качественного анализа используют общие и частные качественные реакции на алкалоиды.

Качественные реакции выполняют: непосредственно на сырье (если не мешают наблюдению результата реакции хлорофилл или каротиноиды). Такие реакции предусмотрены нормативной документацией на склероции спорыньи, корни барбариса. Качественные реакции также выполняют с предварительным извлечением из растительного сырья. Извлечение может быть очищенное от сопутствующих веществ или неочищенное.

Общие реакции – это либо реакции осаждения, либо реакции окрашивания. Реакции осаждения основаны на способности алкалоидов к комплексообразованию. Образующиеся комплексы нерастворимы или мало растворимы в воде.

Общеалкалоидные осадочные реактивы можно разделить на несколько групп:

1. Йод и его растворы. Образуют с алкалоидами периодиды: пары йода используют для открытия алкалоидов на хроматограммах; раствор йода в KI (реактив Вагнера, реактив Бушарда) с алкалоидами образуют бурые, трудно растворимые в воде осадки.

2. Комплексные йодиды металлов: реактив Драгендорфа – калия тетраiodовисмутат ($KBiI_4$) – образует оранжевые или красно-бурые нерастворимые осадки; реактив Майера – тетраiodомеркурат калия (K_2HgI_4) – образует осадки белого или желтоватого цвета.

3. Реактивы комплексных неорганических кислот: реактив Бертрана – раствор кремневольфрамовой кислоты ($SiO_2 \cdot 12WO_3 \cdot 4H_2O$) – образует белый аморфный осадок; реактив Шейблера – раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты ($H_3PO_4 \cdot 12WO_3 \cdot H_2O$) – образует белые аморфные осадки; реактив

Зоненштейна – раствор фосфорно-молибденовой кислоты ($H_3PO_4 \cdot 12MoO_3 \cdot 2H_2O$) – образует желтоватые аморфные осадки.

4. Органические вещества кислотного характера: раствор пикриновой кислоты – дает осадки желтого цвета. Реакцию используют для осаждения алкалоида скополамина при его гравиметрическом определении в семенах Дурмана индийского; раствор танина – образует беловатые или бурые осадки. Танин используют в качестве противоядия при отравлении алкалоидами. Танин блокирует поступление и всасывание алкалоидов.

Реакции окрашивания (частные реакции):

1. конц. H_2SO_4 – качественная реакция на корень барбариса (берберин) – оранжево-красное окрашивание, и на наличие алкалоидов в очищенном извлечении (сухой остаток) из корневищ с корнями чемерицы – желто-бурое окрашивание;

2. конц. HNO_3 – качественная реакция на корень барбариса (берберин) – красно-бурое окрашивание;

3. раствор H_2O_2 – качественная реакция на корень барбариса (берберин) – фиолетовое окрашивание;

4. раствор $K_2Cr_2O_7$ и конц. H_2SO_4 – качественная реакция на стрихнин – красно-фиолетовое окрашивание;

5. раствор $K_2Cr_2O_7$ и конц. HNO_3 – качественная реакция на бруцин – оранжево-красное окрашивание. В анализе могут быть использованы: реактив Эрдмана – смесь конц. HNO_3 и конц. H_2SO_4 , реактив Марки – раствор формалина в конц. H_2SO_4 , реактив Фреде – раствор молибдата натрия в конц. H_2SO_4 .

Частные реакции основаны также на специфических свойствах алкалоидов и наличии в их структуре функциональных групп. Например, реакция на алкалоиды спорыньи – алкалоиды переводят в соли винной кислоты и добавляют реактив Ван-Урка (конц. $H_2SO_4 + FeCl_3 + p$ -диметиламинобензальдегид) – появляется фиолетовое окрашивание. Эту реакцию используют для подтверждения подлинности сырья, а также в методе количественного определения алкалоидов. Таким образом, общей специфической качественной реакции на алкалоиды не существует.

Хроматографический анализ лекарственного растительного сырья, содержащего алкалоиды. Для ТСХ используют готовые пластинки «Силуфол УФ 254» и «Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ». В качестве подвижных фаз используют следующие системы растворителей: 1) хлороформ – ацетон – диэтиламин (5:4:1); 2) хлороформ – диэтиламин (9:1); 3) н-бутанол – метиловый спирт – диэтиламин (17 : 1 : 2); 4) хлороформ – метиловый спирт – уксусная кислота (18:1 : 1); 5) хлороформ – этиловый спирт (9:1; 6:1: 4:1); 6) ацетон – раствор аммиака (95:5); 7) хлороформ–метанол–вода (26:14:3).

Для обнаружения алкалоидов высушенную хроматограмму обрабатывают каким-либо реактивом, дающим с алкалоидами окрашенные соединения, причем чаще всего для этих целей используют реактив Драгендорфа. При обработке хроматограммы этим реактивом появляются оранжевые или оранжево-красные пятна (алкалоиды) на желтом фоне. Для обнаружения алкалоидов используют

также пары йода (образуются бурые пятна). Для обнаружения стероидных алкалоидов можно использовать насыщенный хлороформный раствор треххлористой сурьмы с последующим нагреванием при 105 °С (появляется кирпично-красное окрашивание).

Количественное определение алкалоидов

В ходе анализа обычно выделяют следующие этапы (стадии):

1. Извлечение суммы алкалоидов из сырья. Алкалоиды извлекают в виде солей или в виде оснований. В первом случае сырье обрабатывают слабыми растворами органических или минеральных кислот, соли которых хорошо растворимы в воде или спирте. Во втором случае сырье смачивают концентрированным раствором аммиака. Едкие щелочи не используют, т.к. они образуют феноляты, вызывают гидролиз, изомеризацию алкалоидов. Раствор аммиака вытесняет алкалоиды-основания из солей. Алкалоиды-основания извлекают органическим растворителем (эфиром, хлороформом, бензолом и др.).

2. Очистка извлечения от балластных веществ. Обычно проводят путем двух- или трехкратной сменой растворителя. Реже используют ионообменную или адсорбционную хроматографию.

3. Разделение суммы алкалоидов и выделение индивидуальных алкалоидов проводят на основании: 1) способности перегоняться с водяным паром; 2) различной растворимости алкалоидов в органических растворителях; 3) различной растворимости полученных комплексов с общеалкалоидными реактивами, т.е. используют реакции осаждения.

4. Собственно количественное определение проводят различными методами:

1) гравиметрический (весовой) метод. Алкалоиды переводят в весовую форму, осадок отделяют, высушивают, взвешивают.

2) титриметрические методы: – ацидиметрического прямого титрования (алкалоиды побегов анабазиса, травы софоры толстоплодной, семян чилибухи); – ацидиметрического обратного титрования (алкалоиды листьев, травы, корней красавки, листьев белены, листьев дурмана обыкновенного, травы термопсиса ланцетного, корневищ с корнями чемерицы).

3) физико-химические (инструментальные) методы:

- фотоэлектроколориметрический метод (алкалоиды коробочек Мака снотворного, рожек спорыньи, травы Мачка желтого);

- спектрофотометрический метод (алкалоиды корней барбариса, травы Термопсиса очередноцветкового);

- полярографический метод (алкалоиды листьев Унгернии Виктора, семян Термопсиса ланцетного).

1.3.6. Биосинтез алкалоидов в растениях и их фармакологические свойства

В отличие от изопреноидов, биосинтез которых идет от одного общего предшественника, при изучении биосинтеза алкалоидов приходится сталкиваться с большим разнообразием исходных соединений. Биогенетическими предшественниками большинства алкалоидов являются аминокислоты: орнитин, лизин, фенилаланин, тирозин, триптофан, гистидин, аспарагиновая кислота и антралиловая кислота. Все эти аминокислоты, кроме антралиловой кислоты и орнитина, являются протеиногенными.

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 (азометинов), причем соединения с карбонильными и аминогруппами реагируют иногда спонтанно: =C=O (Альдегид) + H_2N (Первичный амин) \rightarrow =C=N- + H_2O (Шиффово основание).

Шиффовы основания (азометины) – N-замещенные имины, органические соединения общей формулы $R^1R^2C=NR^3$, в которых азот связан с арильной или алкильной группой, но не с водородом.

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): $\equiv\text{C-}$ (Карбанион) + -CHO (Альдегид) + HN= (Амин) \rightarrow $\equiv\text{C-CH-N=}$ + H_2O .

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.

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 изопреноидов, для которых более характерно гликозилирование с образованием гликозидов. Классическим примером служат псевдо- или гликоалкалоиды, которые были отнесены к данному классу вторичных метаболитов без знания терпеноидной природы происхождения углеродного скелета.

Метилирование алкалоидов часто происходит на стадии ациклического соединения, направляя циклизацию. 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. Установлено, что при введении в растения экзогенных алкалоидов быстрее распадаются неметилированные аналоги. Распад алкалоидов может происходить до CO₂ с выделением энергии, но чаще всего – до образования аминокислот, из которых они синтезируются. Интересно, что к катаболизму алкалоидов способны даже безалкалоидные виды.

Протоалкалоиды

Важнейшим представителем является эфедрин, впервые выделенный в 1887 году 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, последующих окислений и метилирований боковой цепи.

Из фенилаланина синтезируется и другой протоалкалоид – капсаицин, 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 1819 г. 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

Пирролидиновые алкалоиды. 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. Однако в других источниках образование этого N-гетероцикла рассматривают через декарбоксилирование аминокислоты орнитина с образованием симметричного промежуточного продукта диамина путресцина с последующей циклизацией. Через этот путь происходит биосинтез пирролидина, входящего в состав тропана и никотина. 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.

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

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 P₄₅₀-монооксигеназы печени. Адаптированные же виды, например киноварный мотылек *Tyria jacobaea*, могут накапливать пирролизидиновые алкалоиды в высоких концентрациях только благодаря поддержанию их в NO-форме. Более того, они используют их в качестве феромонов и собственной защиты.

Пиперидиновые алкалоиды. Еще одним простым по строению является пиперидиновый алкалоид – конинин Болиголова крапчатого (*C. maculatum*). Конинин 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. Однако в сверхмалых дозах широко используется в гомеопатии (лечении по принципу подобия), будучи введенным в практику ее основателем С. Ганеманом (1755- 1843). Пиперидиновый гетероцикл кониина синтезируется из четырех молекул ацетата, при этом происхождение атома азота остается неизвестным. Другие алкалоиды пиперидинового ряда – анабазин (*Anabasis aphylla*, *Nicotiana* sp.), седамин из *Sedum* sp., лобелин из *Lobelia* sp. и т.д. синтезируются из L-лизина через декарбоксилирование и образование диамина кадаверина, окислительное дезаминирование которого дает 5-аминопентаналь, подвергающийся циклизации в пиперидин. Боковые цепи алкалоидов типа седамина и лобелина происходят из фенилпропаноидных единиц при включении фенилаланина 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.

Тропановые алкалоиды. Спаенные кольца шестичленного пиперидина и пятичленного пирролидина образуют азабициклооктановое ядро тропана – основу алкалоидов тропанового ряда. Синтез тропана происходит путем «надстройки» второго цикла из двух молекул ацетата к предсинтезированной молекуле метилпирролиния, образованной из L-орнитина, что сходно синтезу

пирролидинового остатка никотина. Для ряда пасленовых, а именно Красавки белладонны *Atropa belladonna*, Белены черной *Hyoscyamus 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 использовалась 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 напоминают 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.

Другим ценным, но менее распространенным в природе тропановым алкалоидом является скополамин, используемый для блокады холинергических рецепторов подкормки (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. Они интродуцировали ген гиосциамин-6 β -гидроксилазы из Белены черной в Красавку белладонну и добились его сверхэкспрессии. В итоге трансгенные растения *Atropa belladonna* приобрели способность к усиленному синтезу и накоплению скополамина. Таким образом, с помощью молекулярно-генетических подходов метаболической инженерии появилась возможность коммерческого синтеза фармакологически важных соединений.

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. Кокаин стал первым природным соединением с местноанестезирующей активностью, который блокирует возбудимость 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.

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

Образование пирролидинового кольца из орнитина происходит путем образования симметричного промежуточного продукта – амина путресцина с

последующим метилированием с помощью путресцин-N-метилтрансферазы в присутствии S-аденозилметионина как источника метильной группировки. Далее происходит окислительное дезаминирование N-метилпутресцина в 4-метиламинобутаналь и эффективный предшественник никотина – N-метилпирролин. Связывание последнего и дигидропроизводного никотиновой кислоты в согласованном декарбоксилровании приводит к образованию никотина.

Методами метаболической инженерии выявлено, что даже сверхэкспрессия фермента табака путресцин-N-метилтрансферазы в красавке *A. belladonna* не приводит к синтезу никотина. Причиной этой неудачи по сравнению с более успешными предыдущими разработками с гиосциамин-6 β -гидроксилазой является нахождение последней ближе к конечному продукту, т.е. ниже «по течению» (downstream) в биосинтетическом пути. 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 I 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 – 0.05 г.). 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, получившая название витамина PP (Pellagra Preventive) или ниацина, является простетической группой пиридин-нуклеотидов, 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 *Anabasis 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. Из листьев анабазиса и махорки получают никотиновую и лимонную кислоты.

Хинолизидиновые алкалоиды. 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 наиболее простого лупинина происходит из L-лизина через декарбоксилрование и образование симметричного промежуточного продукта – диамина кадаверина.

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 Российскую фармакопею растения со значительной сырьевой базой по всей Сибири и Южным районам Урала позволило заменить дорогостоящее лекарственное сырье – корни южноамериканской ипекакуаны *Cephaelis ipecacuanha* (Мареновые).

Хинолиновые алкалоиды. Хинолиновые алкалоиды, 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. 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. 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.

Изохинолиновые алкалоиды. Изохинолиновые алкалоиды 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 – были расшифрованы практически все этапы и ферменты биосинтеза опийных алкалоидов. Биосинтез этих алкалоидов начинается в цитозоле клеток из двух молекул L-тирозина, одна из которых декарбоксилируется в тирамин, вторая - гидроксيليруется в ДОФА (дигидроксифенилаланин) с помощью фенолоксидазы. Далее образуется дофамин за счет декарбоксилирования ДОФА или гидроксирования тирамина фенолоксидазой); такая альтернативность объясняется присутствием в растениях одновременно активных ферментов обоих путей образования дофамина.

В конденсации по типу реакции Манниха участвует также производное второй молекулы тирозина – гидроксифенилацетальдегид, что приводит к формированию первого бензилизохинолинового алкалоида – норкоклаурина. Затем серия О- и N-метилирований ведет к образованию ретикулина – ключевого интермедиата биосинтеза ди- и тетрагидроксибензилизохинолиновых алкалоидов. Следующие этапы включают различные пути молекулярных и внутримолекулярных модификаций, приводящие к большому разнообразию видоспецифичных алкалоидов этой группы. Последний этап синтеза берберина связан с образованием 2 дополнительных колец: одного – путем окисления N-метильной группы и включением его углерода в С-8 скоулерина и второго – за счет появления метилendiоксидного моста между С-2 и С-3 у канадина. Это осуществляется в гладком эндоплазматическом ретикулуме с помощью микросомальной цитохром Р₄₅₀-зависимой оксидазы. Конечный продукт, образование которого связано с выделением эквимольного количества Н₂О₂, накапливается в вакуолях. В связи с этим интересно отметить, что Sato et al. (2001) добились сверхэкспрессии гена скоулерин 9-О-метилтрансферазы, в результате чего в трансгенных клетках *Coptis japonica* содержание берберина увеличилось на 20 %. Это произошло благодаря торможению образования сангвинарина в конкурентном биосинтетическом пути, использующем те же предшественники.

Мак снотворный (*Papaver somniferum*) сем. Маковые – древнейшее культурное растение, использование которого датируется более I тыс. лет до н.э. Содержание опиума в нем достигает 20 %, который, в свою очередь, состоит на 25 % из 26-50 видов алкалоидов. Основной алкалоид опиума (более 50% от общего содержания) – морфин – был получен в чистом виде первым среди действующих веществ лекарственных растений в 1806 г., 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. Следует отметить, что хотя химический синтез морфина был осуществлен в 1952 г., сложность методов не позволяет использовать его для получения медицинских препаратов. 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, нехарактерные для сформировавшихся растений данного рода. Так, в каллусных тканях содержание сангвинарина достигало 2%, причем у нативных 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 алкалоидов были обусловлены, в первую очередь, низким уровнем дифференцировки каллусных тканей.

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. 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 (наркомании), ведущей к полной деградации личности. Особенно это касается диацетилированного производного морфина – героина, использование которого запрещено законодательствами всех стран.

Метилированный непосредственный предшественник морфина – кодеин используется в медицине для купирования изнуряющего кашля, так как способен уменьшать возбудимость кашлевого центра без сильного угнетения дыхательного центра. 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. 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. 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, так же, как и его эффективный аналог но-шпу.

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 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 медицине используется только как наружное бактерицидное и фунгистатичное средство.

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.

Индольные алкалоиды. 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 XX в. 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, а также в семенах тропических растений рода *Rivea* и *Ipomea*, обладающих галлюциногенным действием, что используется, например, в ритуалах народов Мексики.

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. 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, 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».

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

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. Стриктозинин, по аналогии с ретикулином, является биогенетическим предшественником многих алкалоидов.

Целый комплекс ценных индольных алкалоидов 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 XVI в. В настоящее время раувольфия змеиная успешно культивируется в условиях *in vitro*: созданы клеточные культуры-сверхпродуценты с накоплением фармакологически важных продуктов выше по сравнению с дикорастущими растениями в 10 и более раз. Проведена 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*.

Одним из основных алкалоидов раувольфии является резерпин с гипотензивным и седативным типом действия вследствие блокирования им транспорта к нервным окончаниям катехоламинов – предшественников адреналина. При этом желательно использование суммы алкалоидов, а не чистый резерпин, имеющий побочное угнетающее действие на психику. Это преимущество растительного сырья перед чистыми веществами обсуждалось ранее. Раувольфия содержит ценные алкалоиды аймалиновой группы – аймалин и аймалицин, оказывающие антиаритмическое действие, а также йохимбин, повышающий потенцию. Эти алкалоиды названы типом *Corynanthe* (алкалоиды типа *Corynanthe* включают в себя скелет секологанина в неизменном виде), поскольку содержатся в коре африканского дерева йохимбе *Corynanthe yohimba* (Мареновые). Интересно, что алкалоиды типа *Corynanthe* за счет внутримолекулярных перегруппировок дают начало хинолиновым алкалоидам хинину 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 винкристин с выраженным противоопухолевым действием, которые широко применяются в химиотерапии онкологических больных. Алкалоид барвинка малого *Vinca minor* – винкамин 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 и бруцин, пришло из восточных медицин. 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.

Пуриновые алкалоиды. 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.

Преимуществом кофеина и содержащих его продуктов является нормализация артериального давления, усиление диуреза и обменных процессов в тканях за счет ингибирования фермента фосфодиэстеразы, расщепляющей цАМФ, 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, 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 содержится в разных органах таксономически неродственных растений – чая китайского *Thea sinensis* (Чайные), падуба парагвайского или мате *Ilex paraguariensis* (Падубовые), кофе *Coffea arabica* (Мареновые), какао *Theobroma cacao* (Стеркулиевые) и др. По содержанию кофеина чай и кофе сходны (1-2 %), тогда как в какао больше теобромина с выраженным цереброваскулярным эффектом (1- 2 % напротив 0.3 % кофеина). В чашке свежего крепкого чая содержится 0,02-0,1 г 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.).

Псевдоалкалоиды

Псевдоалкалоиды отличаются от истинных алкалоидов по типу синтеза: они имеют «базовую структуру» молекулы, происходящую не из аминокислот, как у истинных алкалоидов, а из изопреноидов. Изопреновые структуры,

участвующие в построении псевдоалкалоидов, могут относиться к моно-, сескви-, ди- и тритерпеноидам. Самую большую группу изопреноидных псевдоалкалоидов составляют С27-стероидные алкалоиды.

Стероидные псевдоалкалоиды в значительных количествах находятся в семенах и зеленых органах картофеля, в семенах помидоров. Именно они обуславливают токсичность этих частей растения и послужили в свое время причиной «картофельных бунтов» в России.

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. Однако в ряде случаев эти алкалоиды могут присутствовать и в свободном (негликозилированном) виде.

Стероидные псевдоалкалоиды содержат С27-холестановый скелет, который к тетрациклическому холестеринному скелету (циклопентанпергидрофенантрено) имеет дополнительный бициклический N-гетероцикл, источником которого предположительно выступает L-аргинин. Псевдоалкалоиды в природе встречаются в гликозидной форме, а наличие гидрофобного агликона и гидрофильной гликозидной части по аналогии с сапонинами делает их детергентами и придает гемолитические и антифидантные свойства.

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

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.

Пути использования сырья, содержащего алкалоиды

1. Экстемпоральные (изготавливаемые в аптеке) лекарственные формы: настои (трава чистотела, трава термопсиса ланцетного); отвары (трава плауна-баранца).

2. Лекарственные сборы: противоастматический сбор (листья красавки – 2 части, листья белены – 1 часть, листья дурмана обыкновенного – 6 частей, натрия нитрита – 1 часть), сбор «Астматин», сбор «Астматол» (листья красавки, листья белены, листья дурмана обыкновенного).

3. Экстракционные (галеновые) лекарственные формы: настойки (листья, трава красавки, листья барбариса); экстракты сухие (трава красавки, трава термопсиса ланцетного); экстракты густые (листья, трава красавки); экстракты жидкие (трава Пассифлоры инкарнатной).

4. Суммарные препараты (содержат несколько алкалоидов): «Раунатин», «Эрготал» и др.

5. Препараты индивидуальных алкалоидов: атропина сульфат (трава и корни красавки); берберина бисульфат (корни барбариса); физостигмина салицилат (семена физостигмы) и др.

6. Комбинированные препараты: капли Зеленина (входит настойка красавки), «Бекарбон» (входит экстракт красавки), «Беллоид» (входит сумма алкалоидов красавки), «Аэрон» (входит гидробромид алкалоида скополамина) и др.

7. Полусинтетические препараты: препараты стероидных гормонов (кортизон и гидрокортизон) из алкалоидов листьев Паслена дольчатого; апоморфина гидрохлорид, этилморфина гидрохлорид (дионин) (на основе морфина); гоматропин (на основе атропина).

Фармакологические свойства алкалоидов

1. Средства, действующие преимущественно на центральную нервную систему (ЦНС):

1) Психотропное действие: седативные средства (Пассифлора инкарнатная, «Ново-пассит»); стимуляторы ЦНС (листья чая, семена кофе, «Аскофен», «Кофицил», «Цитрамон», кофеинбензоат натрия); аналептические средства (возбуждают дыхательный центр) «Цититон», «Табекс».

2) Стимуляторы функций спинного мозга (препараты семян чилибухи).

3) Средства для лечения паркинсонизма (препараты корней, листьев и травы красавки).

4) Наркотические анальгетики (смесь гидрохлоридов алкалоидов Мака снотворного «Омнапон»).

5) Противокашлевые наркотические средства (кодеин – «микстура Бехтерева», «Кодтерпин», «Пенталгин Н», «Седалгин Нео»).

6) Ненаркотические противокашлевые средства (препараты травы Мачка желтого «Бронхолитин»).

2. Средства, действующие преимущественно на периферические нейромедиаторные процессы:

1) Средства, действующие на периферические холинергические процессы:
А) холиномиметики (препараты листьев пилокарпуса «Пилокарпина гидрохлорид») Б) ингибиторы холинэстеразы (препараты Ургении Виктора, Стефании гладкой, Гармалы обыкновенной) В) антихолинергические средства (препараты красавки – «Беллалгин», «Белластезин», «Беллатаминал», «Бетиол», «Анузол», «Атропина сульфат»; препараты дурмана, крестовника, софоры).

2) Средства, действующие на периферические адренергические процессы:
А) адреномиметики (препараты травы Эфедры хвощевой: эфедрин гидрохлорид, «Геофедрин», «Бронхолитин»); Б) адреноблокаторы (препараты рожков спорыньи: «дигидроэрготамин»).

3) Действующие преимущественно в области чувствительных (афферентных) нервных окончаний: А) Понижающие чувствительность нервных окончаний («Белластезин» (содержит атропина сульфат), «Павестезин» (содержит папаверина гидрохлорид). Б). Стимулирующие рецепторы слизистых

оболочек, кожи и подкожных тканей (препараты плодов перца стручкового: «Капситрин» «Эспол», «Эфкамон» «Никофлекс-крем»).

3. Отхаркивающие средства – препараты травы Термопсиса ланцетного (таблетки от кашля с термопсисом).

4. Действующие на сердечно-сосудистую систему:

1) Антиаритмические средства – препараты коры хинного дерева (хинидина сульфат);

2) Средства, улучшающие кровоснабжение органов и тканей: А) улучшающие мозговое кровообращение (препараты травы Барвинка малого: «Кавинтон», «Винпоцетин»); Б) спазмолитические средства (расслабляют гладкие мышцы внутренних органов): «Теобромин» «Теофиллин», «Эуфиллин».

3) Гипотензивные средства – препараты корневищ и корней Раувольфии змеиной: «Резерпин», «Адельфан», «Раунатин».

5. Желчегонные средства:

А) настой травы чистотела (1:400);

Б) корней барбариса: берберины бисульфат.

6. Стимулирующие мускулатуру матки – препараты рожков спорыньи (эрготамина гидротартрат, эргометрина малеат).

7. Противомикробные, противовирусные, противопаразитарные:

1) Антипротозойные (противомалярийные) средства: препараты коры хинного дерева (хинина гидрохлорид, хинина дигидрохлорид, хинина сульфат).

2) Антимикробные средства: А) препараты травы маклейи Б) препараты корневищ Кубышки желтой

3. Противопаразитарные средства: препараты корневищ с корнями чемерицы – чемеричная вода.

8. Противоопухолевые средства

1. Цитостатические средства: А) Препараты листьев Катарантуса розового (применяются при лейкемии): «Розевин» (син. «Винбластин»), «Винкристин»; Б) Препараты клубнелуковиц Безвременника великолепного: «Колхамин», «Колхицин» (применяются при раке желудка и пищевода), «Мазь колхаминовая» (0,5%) (применяется для лечения рака кожи).

1.3.7. Общая характеристика фенольных соединений

К фенольным соединениям относят вещества, содержащие в своей молекуле бензольное кольцо, которое несет одну или несколько гидроксильных групп, называемых также "фенольными". Соединения, имеющие более одной фенольной 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 – бесцветные или окрашенные с характерным запахом кристаллы или аморфные вещества, реже жидкости, хорошо растворимые в органических растворителях (спирт, эфир, хлороформ, этилацетат) или в воде.

Обладая кислотными свойствами, они образуют со щелочами солеобразные продукты – феноляты.

Важнейшее свойство ФС – их способность к окислению с образованием хинонных форм. Особенно легко окисляются полифенолы в щелочной среде под действием кислорода воздуха.

Фенолы способны давать окрашенные комплексы с ионами тяжелых металлов, что характерно для о-диоксипроизводных. Соли свинца образуют с флавоноидами желтые или оранжевые осадки, что используется при фракционировании ФС и для их хроматографического проявления.

В аналитической практике широко применяют комплексообразование флавоноидов с хлористым алюминием и хлоридом циркония.

Фенолы дают характерное окрашивание с водным раствором $FeCl_3$. Образование окрашенных комплексов фенолов с солями железа является одной из древнейших качественных реакций. Производные пирокатехина дают с $FeCl_3$ зеленую окраску, а производные пирогаллола – синюю.

ФС вступают в реакции сочетания с диазониевыми соединениями. При этом образуются продукты с разнообразной окраской что часто используется в аналитической практике.

Кроме общих для всех фенолов качественных реакций имеются специфические групповые реакции.

Отличительной чертой фенольных соединений является формирование огромного числа соединений за счет модификаций молекулы и образования конъюгатов с разнообразными веществами. Из модификаций 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. Помимо этого, растительные фенолы могут соединяться с изопреноидами, образуя большую группу пренилированных фенолов. Такие свойства фенольных соединений обеспечивают огромное количество разнообразных структур, характерных для растительных фенолов.

Для растительных клеток характерно большое содержание ФС. ФС играют важную роль в обмене веществ растительной клетки. Большинство ФС – вторичные метаболиты.

Фенольные соединения накапливаются как в вакуолях, так и в периплазматическом пространстве. При этом в вакуолях обычно содержатся гликозилированные фенольные соединения, тогда как в периплазматическом пространстве – метоксилированные соединения или агликоны.

У животных организмов бензольные кольца не синтезируются, однако ФС выполняют ряд важных функций, например, гормоны адреналин, тироксин, серотонин.

По числу ОН-групп различают одноатомные (например, сам фенол), двухатомные (пирокатехин, резорцин, гидрохинон), трехатомные (пирогаллол, флороглюцин и др.) фенольные соединения.

Фенольные соединения могут быть в виде мономеров, димеров, олигомеров и полимеров.

В основу классификации природных фенолов положен биогенетический принцип, согласно которому группы располагают в порядке усложнения молекулярной структуры, однако их разнообразие в значительной степени определяется также молекулами углеводов, органических кислот и других веществ, прикрепленных к ароматическому каркасу. Наиболее простые природные фенольные соединения могут классифицироваться по количеству и расположению гидроксильных групп, прикрепленных к ароматическому кольцу.

Классифицируют фенольные соединения в зависимости от числа ароматических колец и количества присоединенных к ним атомов углерода. Обычно фенольные соединения разделяют на три большие подгруппы: с одним ароматическим кольцом, с двумя ароматическими кольцами и полимерные фенольные соединения. Иногда в особую группу выделяют димерные фенольные соединения (лигнаны и неолигнаны).

КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

1. Соединения **С6-ряда** не содержат дополнительных атомов углерода – простые фенолы.

2. Соединения **С6-С1-ряда** содержат один дополнительный атом углерода – производные бензойной кислоты, поэтому их называют фенольные кислоты (фенолкислоты).

3. Соединения **С6-С2-ряда** содержат два дополнительных атома углерода – фенолоспирты, фенилуксусные кислоты, ацетофены.

4. Соединения **С6-С3-ряда** содержат три дополнительных атома углерода – производные фенилпропана, поэтому их называют фенилпропаноиды.

5. Соединения **С6-С4-ряда** содержат четыре дополнительных атома углерода – нафтохиноны.

6. Соединения **С6-С1-С6-ряда** содержат два ароматических кольца, соединенных мостиком из одного углеродного атома, – бензофеноны и ксантоны.

7. Соединения **С6-С2-С6-ряда** содержат два ароматических кольца, соединенных мостиком из двух углеродных атомов, – стильбены и антрахиноны.

8. Соединения **С6-С3-С6-ряда** содержат два ароматических кольца, соединенных мостиком из трех углеродных атомов, – флавоноиды и изофлавоноиды.

9. Группа **полимерных ФС** включает дубильные вещества (таннины и танниды), лигнины и меланины.

Соединения С6 -ряда. К ним относятся простые фенолы, которые по числу гидроксильных групп делятся на одноатомные, двухатомные и трехатомные.

Простые фенолы распространены не очень широко. Фенол в малых количествах обнаружен в хвое сосны, в составе эфирного масла смородины,

табака и руты. Пирокатехин найден в листьях тополя и эфедры, чешуе лука. 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 гидрохинона 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. Арбутин – β -глюкозид гидрохинона – также содержащийся в толокнянке наряду с гидрохиноном, является стойким соединением, переносящим кипячение и длительное хранение (до 5 лет), однако при изменении рН оно легко дегликозилируется с последующим окислением до бензохинона. Из диоксибензолов можно также отметить метиловый эфир пирокатехина (катехола) – гваякол, который содержится в дегте (особенно буковом) и используется в медицине и биологии. При введении в молекулу гваякола альдегидной группы получают ванилин. Изопренилированными производными резорцина являются тетрагидроканнабиолы – галлюциногенные 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.

Соединения С6-С1 – ряда. К ним относятся фенольные кислоты или фенолокислоты – производные бензойной кислоты, содержащие одну или несколько гидроксильных групп.

Фенольные кислоты, особенно такие, как ванилиновая, п-гидроксибензойная (п-оксибензойная), протокатеховая, галловая, обнаружены практически у всех исследованных покрытосеменных растений. Чаще они находятся в тканях в связанном состоянии и освобождаются при выделении и гидролизе. Например, салициловая кислота, которая находится в корнях дуба, выделяется в окружающую среду в качестве аллелопатического вещества.

В зависимости от положения гидроксильной группы относительно карбоксильной различают пара- и орто-оксибензойные кислоты, из последних наиболее известной является салициловая кислота (СК), получившая 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 (1898 г.), 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.

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 глюканы, хитиназы и др. Кроме того, СК может ингибировать синтез этилена, индуцировать цветение (у рясковых и ароидных), образование адвентивных корней, регулировать устьичные движения и др. Большинство исследователей относят СК к новому классу фитогормонов, однако ее внутриклеточные концентрации при патогенезе могут достигать 1мМ, что на два-три порядка выше верхней границы диапазона физиологических концентраций классических фитогормонов.

Полиоксибензойные кислоты и их производные, содержащие две или три ОН-группы, широко распространены в природе и имеют важное практическое значение. Среди триоксибензойных кислот следует отметить галловую кислоту, получившую свое название от опухолеподобных образований – галлов (от лат. *galla* – чернильный орех), из которых она добывалась, в том числе для изготовления черных чернил. Образование галл вызывается насекомыми для развития их личинок, в ответ растения повышают содержание защитных дубильных веществ – галлотаннинов до 70-80%. Диметиловый эфир галловой кислоты – сиреневая кислота – является специфическим соединением для покрытосеменных растений и часто получается при гидролизе лигнина. Полиоксибензойные кислоты могут димеризоваться путем образования сложноэфирной депсидной связи за счет гидроксильной и карбоксильной групп двух молекул. Депсид галловой кислоты – прямой предшественник эллаговой кислоты – является основным источником эллаготаннинов. Депсид орселлиновой кислоты – леканоровая кислота (от лат. *Lecanora* – род накипных лишайников) является специфическим лишайниковым метаболитом, обуславливающим их бактерицидное и антиоксидантное действие.

Альдегид ванилиновой кислоты, ванилин содержится 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.

Соединения С6-С2-ряда. К этому ряду соединений относятся фенолоспирты, фенилуксусные кислоты, ацетофенон. В отличие от фенольных кислот, они встречаются в растениях не так часто.

Наиболее известным фенолоспиртом является п-оксифенилэтанол, который содержится в розовом, гераниевом и других эфирных маслах. Его получают синтетически и применяют в парфюмерной промышленности как заменитель натурального розового масла. п-оксифенилэтанол является агликоном гликозида салидрозид, одного 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.

Корень родиолы, или 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 – женьшеню и элеутерококку.

Ацетофенон (метилфенилкетон, $C_6H_5COCH_3$) обладает всеми химическими свойствами, характерными для кетонов, а также ароматических соединений. Ацетофенон и некоторые его производные используются как душистые вещества в парфюмерии. Кроме того, ацетофенон обладает снотворным действием. Ацетофенон содержится в яблоках, абрикосах, бананах и цветной капусте в незначительных количествах, не представляющих вреда.

Фенилуксусная кислота имеет запах меда. Фенилуксусную кислоту и ее эфиры применяют при составлении парфюмерных композиций и пищевых эссенций (как отдушку восков и меда). Фенилуксусная кислота служит исходным продуктом для синтеза фенамина, обладающим сильным стимулирующим действием и, вследствие этого, входит в список прекурсоров, подлежащих контролю. Содержится в растениях, в частности, в табаке и некоторых эфирных маслах.

Соединения С6-С3 -ряда. Эту наиболее многочисленную и важную группу веществ часто называют также **фенилпропаноидами**. Она включает в себя оксикоричные кислоты (по международной номенклатуре их рекомендуется называть гидроксикоричными кислотами), оксикоричные (гидроксикоричные) спирты, фенилпропены, а также кумарины, изокумарины и хромоны – соединения, у которых дополнительные атомы углерода замыкаются в конденсированное лактонное кольцо.

К оксикоричным (гидроксикоричным) кислотам относятся: п-гидроксикоричная, или п-кумаровая, кофейная, феруловая и синаповая. В растениях часто встречаются сложные эфиры оксикоричных кислот и гидроароматических кислот (хинной, шикимовой), иногда неправильно именуемые депсидами, комплекс оксикоричных кислот с алифатическими кислотами (суберин), а также – эфиры оксикоричных кислот и сахаров, чаще глюкозы.

Эфиры кофейной кислоты с яблочной и винной кислотами – фазеолиновая кислота и цикориновая кислота присутствуют в листьях фасоли (первая) и цикория (вторая). Кофейная кислота часто образует эфиры с алициклическими кислотами – хинной и шикимовой. Хлорогеновая кислота – сложный эфир кофейной кислоты с одним из стереоизомеров хинной кислоты. В большом количестве содержится в необжаренных зернах кофе и прорастающих семенах подсолнечника. Кофеилшикимовая кислота (эфир кофейной кислоты и

шикимовой кислоты) и её изомеры являются субстратами ферментативного потемнения фиников

Оксикоричные кислоты – п-кумаровая (п-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 ее содержание достигает до 9%.

Оксикоричные спирты являются производными соответствующих кислот: кумаровой – кумаровый спирт, феруловой – кониферилловый спирт, синаповой – синаповый спирт. Оксикоричные спирты являются исходными компонентами в биосинтезе лигнина.

Оксикоричные кислоты и их производные в основном локализируются 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. *Исследования последних лет выявили корреляцию между процессами соматического эмбриогенеза и содержанием оксикоричных кислот, что позволяет предположить участие фенольных соединений в образовании и развитии эмбриоидов. Ранее на культурах с высокой морфогенной способностью было обнаружено повышенное содержание феруловой кислоты, эфирносвязанной с полисахаридами клеточных стенок.*

Для оксикоричных кислот характерна индуцируемая УФ-светом транс→цис-изомерия. В растворе между транс- и цис-формами устанавливается равновесие. При освещении транс-оксикоричные кислоты (которые являются термодинамически более устойчивыми) 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. Показано, что цис- и транс-формы резко отличаются по физиологической активности. Предполагается, что цис-формы могут действовать как рецепторы УФ и контролировать фототропические реакции. Кроме того, цис→транс-изомерия является важным этапом образования кумаринов.

Показано, что цис-изомеры гидроксикоричных кислот являются активаторами ростовых процессов. Помимо широко распространенной п-гидроксикоричной кислоты в некоторых растениях обнаружена о-гидроксикоричная кислота (только в транс-форме). Ее транс-форма устойчива, но цис-форма (называемая кумариновой кислотой) в кислой среде циклизуется с образованием устойчивого лактона кумарина.

Фенилпропаноидные лактоны или кумарины – летучие вещества с приятным запахом свежего сена, усиливающимся по мере высушивания. Сам кумарин в свободном виде обнаруживается редко (обычно содержится в виде

гликозидов). Высокое содержание кумарина у травянистых растений родов донник и диптерикс сем. Бобовые. В траве Донника желтого *Melilotus officinalis* и Донника высокого *M. altissimus* – до 0,4 % кумарина, а в листьях до 0,86 %. В семенах Диптерикса душистого (*Dipteryx odorata*), известного как бобы тонка, содержится до 10 % кумарина.

Производные кумарина широко распространены в растительном мире. Особенно много их в растениях семейств Зонтичные, Рутовые, Бобовые, Пасленовые, Сложноцветные.

По строению ароматического ядра и наличию заместителей среди кумаринов выделяют:

1) Простейшие кумарины – кумарин, дигидрокумарин, их гликозиды.

2) Окси-, алкокси, метилendioксикумарины – с заместителями в бензольном кольце (умбеллиферон, эскулетин) и в пирановом кольце (феруленол).

3) Фуранокумарины (фурокумарины): производные псоралена, фурановое ядро которых сконденсировано с кумарином в 6,7-положении; производные ангелицина – фурановое ядро сконденсировано с кумарином в 7,8-положении.

4) Пиранокумарины – содержат пирановое ядро, сконденсированное с кумарином в 5,6-, 6,7- или 7,8-положении; могут иметь заместители в пирановом, бензольном или пирановом кольце (виснадин, дигидросамидин).

5) 3,4-бензокумарины, содержащие бензольное кольцо, сконденсированное с кумарином в 3,4-положениях (эллаговая кислота).

6) Куместаны (куместролы) – кумарины, содержащие систему бензофурана, сконденсированную с кумарином в 3,4-положении (куместрол).

Чаще кумарин образуется при повреждении тканей, когда происходит отщепление глюкозы от орто-оксикоричной (кумаровой) кислоты с последующей ее изомеризацией и замыканием в лактон. Благодаря летучим 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. 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 п-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 – волчник, или Волчягодник обыкновенный (*Daphne mezereum*, от лат. *mezereum* – смертельный), обязан своему названию и действию содержащимся в ягодах дикумаролам.

Важное практическое значение имеют и фурукумарины или фуранокумарины, представляющие собой изопренилированные кумарины с дополнительным фурановым кольцом. Большинство из них биологически активны.

Некоторые фуранокумарины (бергаптен, псорален и др.) обладают фотосенсибилизирующим действием (способны резко увеличивать чувствительность кожи животных и человека к УФ-излучению) и ответственны за фотодерматозы, вызываемые попаданием на кожу сока борщевиков, дикого пастернака и сельдерея.

Благодаря способности линейных фурукумаринов – 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 продуцируются разнообразными растениями: зонтичными (сельдерей, петрушка, любисток, пастернак, дягиль, борщевик), цитрусовыми (лимон, грейпфрут), а также присутствуют в Руте душистой, зверобое, инжире 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 дикого пастернака и борщевика (*Heraclеum sosnowskyi*). Оксифурокумарин бергаптол является компонентом бергамотового эфирного масла, который может служить причиной фотодерматитов даже в составе духов. Вместе с тем метоксифурокумарин бергаптен из плодов Пастернака посевного (*Pastinaca sativa*) в малых дозах используют для повышения пигментации кожи при лечении витилиго («географическая болезнь»).

Фурукумарины обладают выраженными коронарнорасширяющим, спазмолитическим, противосудорожным, противоопухолевым и антисептическим эффектами.

Некоторые фуранокумарины, содержащиеся в соках citrusовых, прежде всего в грейпфрутовом, подавляют активность изоформы CYP3A цитохрома P450, метаболизирующего ксенобиотики и тем самым могут оказывать влияние на активность принимаемых одновременно с соками лекарственных препаратов.

Фуранокумарины защищают растения от насекомых и грибов, поскольку под действием света приобретают способность связываться с пиримидиновыми основаниями (цитозинном и тиминном), встраиваться в спираль молекулы ДНК, блокировать процесс транскрипции и вызывать гибель клетки.

Препараты на основе фуранокумаринов

В малых количествах фуранокумарины создают фотозащитный эффект, увеличивая пигментацию кожи. На этом основано использование препаратов растений в медицине («Псорален»).

Препарат «Псорален» содержит смесь фурукумаринов из Псоралеи костянковой (*Psoralea drupacea*). Псорален сенсibiliзирует кожу к действию света и стимулирует образование меланоцитами эндогенного пигмента кожи меланина при облучении ее УФ-лучами (способствует восстановлению пигментации кожи при витилиго).

Препарат ФУРАЛЕН представляет собой смесь двух фурукумаринов: псоралена и бергаптена. Фурален обладает фотосенсибилизирующим свойством. Сырьем для производства фуралена служат листья Инжира обыкновенного (*Ficus carica*), содержащие 0,28-0,49 % псоралена и 0,03-0,1 % сухой массы бергаптена.

Из семян конского каштана вырабатывают водно-спиртовой экстракт ЭСКУЗАН применяемый для профилактики тромбозов, при венозном застое и расширении вен нижних конечностей, а также при геморрое.

ФЛОВЕРИН – природная смесь дигидросамидина и виснадина, полученная из корней растения Вздуплодника сибирского (*Phlogodicarpus sibiricus*). Фловерин назначается взрослым как спазмолитическое средство при спазмах периферических сосудов, спастических формах эндартериита, болезни Рейно и при лёгких формах хронической коронарной недостаточности.

Хромоны – фенилпропаноидные соединения, у которых дополнительные атомы углерода пропанового фрагмента замыкаются в конденсированное

лактонное кольцо. Скелет хромона лежит в основе многих важных природных веществ, например токоферолов.

Лигнаны (от лат. *lignum* – дерево) – это димерные фенольные соединения, производные фенилпропана (C₆—C₃)₂, фрагменты которых соединены C—C-связями между средними атомами углерода боковых цепей (между C_β).

Разнообразие лигнанов обусловлено расположением фенильных ядер, степенью их насыщенности, наличием различных заместителей в бензольных кольцах и характером связи между ними.

Лигнаны широко распространены в растительном мире особенно часто встречаются в сем. Злаки, Барбарисовые, Сложноцветные, Аралиевые. Накапливаются они во всех органах растений, но чаще всего в семенах, корнях, древесине и деревянистых стеблях. Лигнаны специфичны для многих групп растений и могут быть использованы для хемотаксономического признака. Например, арктиин обнаружен в растениях семейства астровых, подофиллотоксин характерен для барабарисовых и т.д.

Многие лигнаны обладают ценными фармакологическими свойствами.

Как правило, в растениях лигнаны растворены в эфирных маслах и смолах, содержатся как в свободном виде, так и в виде гликозидов.

Все лигнаны являются производными дифенилпропана и содержат 2 бензольных кольца («головы») и 2 пропановые цепи («хвосты»). Истинные лигнаны и неолигнаны отличаются друг от друга местом присоединения этих двух «голов» и «хвостов».

В истинных лигнанах присутствует бета–бета связь («хвост» к «хвосту»), в неолигнанах – связь альфа («хвост» к «голове»).

Известно 6 типов структур истинных лигнанов: диарилбутановый (лигнаны гваяковой смолы), дигидронафталиновый, диарилтетрагидрофурановый, тетрагидронафталиновый (лигнаны смолы и подземных органов подофилла щитовидного), диоксабициклооктановый (сезаминовый) (лигнан сезамин из семян кунжута), диарилоктановый (схизандрин и схизандрол из плодов и семян лимонника).

В конструировании молекул лигнанов принимают участие другие классы соединений – флавоноиды (у флаволигнанов), ксантоны (у ксантолигнанов), кумарины (у кумаринолигнанов). Флаволигнаны выделены в шести семействах, причем большая их часть выделена из плодов Расторопши пятнистой. Все ксантолигнаны были выделены из растений семейства *Hypericaceae*.

У неолигнанов в положении C_β—C_γ часто бывает двойная связь. Неолигнаны характерны для растений семейства *Lauraceae*.

Лигнаны оказывают стимулирующее и адаптогенное (схизандрин из Лимонника китайского *Schizandra chinensis* и сирингорезинол и его производные из Элеутрококка колючего *Eleutherococcus senticosus*), противоопухолевое (подофиллотоксин из Подофилла щитовидного *Podophyllum peltatum*), антиоксидантное (сезамин из Кунжута индийского *Sesamum indicum*), противомикробное (гликозид арктиин из Лопуха большого *Arctium lappa*), гепатозащитное (флаволигнан силибин из Расторопши пятнистой) действие.

В Лимоннике китайский (*Schisandra chinensis*) присутствует до 10 лигнанов и содержатся они во всех частях растения. В околоплоднике зрелых плодов лигнанов 4-5 %. В коре стеблей содержание лигнанов колеблется от 5 до 9 %. В качестве лекарственного сырья используют плод лимонника китайского и семя. В семенах обнаружены тонизирующие вещества (около 0,012 % схизандрин). Плоды и семена используют в качестве лекарственного средства, оказывающее адаптогенное, общетонизирующее и психостимулирующее действие. Тонизирующее действие плодов определяет схизандрин, повышающий возбудимость центральной нервной системы и стимулирующий работу сердца и дыхательного аппарата. Повышает артериальное давление, усиливает процессы возбуждения в структурах головного мозга и рефлекторную деятельность, повышает работоспособность и уменьшает утомление при физических и умственных нагрузках.

Элеутерококк колючий (*Eleutherococcus senticosus*) Относится к группе адаптогенных растений и в этом отношении близок к женьшеню (другое название этого растения – сибирский женьшень). В корнях и корневищах элеутерококка колючего обнаружено 7 гликозидов, названных элеутерозидами А, В, В-1, С, D, Е, F. 5 элеутерозидов относятся к лигнановым гликозидам. Сирингорезинол является агликоном элеутерозида Е, то есть, его несакхарной частью) и распространен как и его гликозид в корневищах и корнях элеутерококка.

Подофилл щитовидный *Podophyllum peltatum* – травянистое многолетнее растение сем. Барбарисовые (*Berberidaceae*), происходящее из восточной части Северной Америки. Растение содержит смолу (подофиллин), в которой растворены гликозиды; их агликоны относятся к лигнанам. Основные: α-пельтатин, β-пельтатин, подофиллотоксин. Подофиллотоксин высокой степени очистки оказывает цитостатическое действие. При местном применении вызывает некроз наружных кондилом за счет прижигающего и мумифицирующего действия. Широко используется в медицине как средство против кондилом.

Соединения С6-С4-ряда, у которых к ароматическому кольцу присоединены 4 дополнительных атома углерода. К этому ряду соединений относятся **нафтохиноны**, которые являются хиноидными пигментами растений и часто выделяются в форме окрашенных продуктов. Производные 1,4-нафтохинона могут содержать гидроксильные, метильные, пренильные и другие группировки.

Обнаружено более 200 нафтохинононов в 22 семействах высших растений, в том числе Ореховые (*Juglandaceae*), Свинчатковые (*Plumbaginaceae*), Бурачниковые (*Boraginaceae*), Эбеновые (*Ebenaceae*), Росянковые (*Droseraceae*), Дербенниковые (*Lythraceae*), Бальзаминовые (*Balsaminaceae*), Бигнониевые (*Bignoniaceae*).

Обычно нафтохиноны встречаются в восстановленной и гликозилированной форме. Свободные нафтохиноны встречаются в составе ядровой древесины деревьев часто в виде ди-, три- и тетрамеров.

При экстрагировании нафтохиноны часто окисляются и выделяются в виде окрашенных продуктов. Являясь пигментами растений, вносят незначительный вклад в формирование окраски.

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 дерева грецкого ореха подавляется почвенная микрофлора и прорастание семян. 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. 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.

Нафтохиноном, содержащимся во всех фотосинтезирующих тканях как акцептор электронов в реакционном центре фотосистемы I, является филлохинон (витамин K1). Витамины K (от лат. *coagulatio* – свертывание, сгущение) обладают кровоостанавливающим действием. Следует отметить, что высокое содержание витаминов группы K во многих видах пищевых и лекарственных растений является основным противопоказанием их применения. Например, увеличение свертываемости крови наблюдали уже к первому часу использования в пищу листьев укропа и кориандра, тогда как пряные растения семейства Зонтичные, содержащие кумарины, не оказывали данного побочного эффекта.

Соединения С6-С1-С6 -ряда. К ним относятся **бензофеноны** и **ксантоны**.

Бензофеноны представляют собой соединения, у которых два ароматических кольца соединены мостиком из одного карбонильного углеродного атома. Бензофеноны встречаются в растениях достаточно редко.

Бензофеноны обладают способностью поглощать УФ-лучи, что определяет их применение во многих косметических средствах в качестве солнцезащитных фильтров. Некоторые из бензофенонов обладают противомикробной активностью и могут выполнять роль консервантов.

Ксантоны более разнообразны и чаще встречаются в растениях, чем бензофеноны. Они могут находиться в растениях как в свободном виде, так и в виде гликозидов. Известно около 70 ксантонов, которые в основном встречаются в сем. Горечавковые и Камеденосные. Характерной особенностью строения ксантонов является образование дополнительного конденсированного лактонного кольца.

На основе ксантона мангиферина (из листьев Копеечника альпийского и Копеечника желтеющего сем Бобовые) получен препарат Ализарин для лечения герпеса и др. кожных заболеваний. Мангиферин содержится также в коре и листьях дерева манго.

Соединения С6-С2-С6-ряда. К этой группе относятся **стильбены** (два кольца соединяются цепочкой из двух атомов углерода) и **антрахиноны** (два ароматических кольца соединяются двумя атомами углерода с образованием центрального конденсированного третьего кольца).

Стильбены – небольшая группа веществ. Встречаются в основном в древесине различных видов сосны (пиносильвин), ели, эвкалиптов (ресвератрол) и являются структурными элементами таннидов.

Так, пиносильвин из древесины сосны *Pinus* и ресвератрол – *Eucalyptus* играют защитную роль в ингибировании созревания спор и роста гифов патогенных грибов, обладают фитоалексиновыми и нематодоцидными свойствами. В последнее время широко обсуждается значение ресвератрола, содержащегося в красном вине и кожице красного винограда, как эффективного противоопухолевого средства. Для него характерна высокая антиоксидантная активность, превышающая таковую витамина Е. Кроме того, ресвератрол проявляет эстрогенную активность, связываясь с теми же рецепторами, что и эстрадиол. В отличие от эстрадиола, который способен приводить к ускорению развития ряда гормон-зависимых опухолей, фитоэстроген ресвератрол, ингибируя рибонуклеотид-редуктазу и подавляя синтез ДНК, напрямую блокирует размножение опухолевых клеток млекопитающих.

Антрахиноны – производные антрацена или антраценпроизводные – группа природных соединений желтой, оранжевой или красной окраски, в основе строения которых лежит структура, образованная слиянием трех бензольных колец– антрацен. Степень окисленности среднего кольца В может быть различной.

В зависимости от степени окисления антрацена антраценпроизводные делятся на 2 группы:

- окисленные: производные антрахинона (эмодины, хризоцин и его производные – реин, хризофанол), ализарин и его производные(гиперицин);
- восстановленные: производные антрона, антронола и др.

Однако большинство относится к антрахиноновому типу, поскольку антрон и антранол лабильны и легко окисляются. Восстановленные формы антрацена изучены меньше, т.к. труднее выделяются и находятся в форме сложных бимолекулярных соединений, производных диантрона, диантронола (гиперицин, сеннозиды).

Многообразие природных антрахинонов достигается за счет различных заместителей, например: ОН, СН₃, ОСН₃, СН₂ОН, СНО, СООН и других, а также восстановления карбонильных групп (до антронов и антраценонов) и восстановления двойных связей в бензольном кольце (с образованием гидроантрахинонов).

Антрахиноны являются самой большой группой природных пигментов хиноидной природы. В растениях, грибах и лишайниках найдено около 700 представителей этой группы.

Находятся в растворенном состоянии в клеточном соке в свободном виде или в виде гликозидов (кора, древесина, корни цветковых растений).

Присутствие антраценпроизводных легко обнаружить по характерной оранжевой окраске корней и коры.

Источники сырья содержащего антраценпроизводные: дикорастущие – Зверобой продырявленный, Ерушина ольховидная, Крушина слабительная или жостер; культивируемые – сenna, Алоэ древовидное, Марена красильная.

Многие антрахиноны проявляют противомикробные, противопаразитарные, инсектицидные, фунгицидные, противовирусные свойства. Они находят применение как противораковые средства. Антрахиноны являются действующими компонентами многих растительных сборов, используемых в качестве лекарственных средств, где они оказывают слабительное, диуретическое, противораковое, эстрогенное, иммуномодулирующее и другие действия.

Эндофитные грибы, сосуществуя с растением, не вызывают болезни хозяина, но способствуют образованию вторичных метаболитов, в том числе и антрахинонов, что во многом определяет характер использования растения в медицинских целях. Сами эндофитные грибы также являются источниками антрахинонов. Участие микроскопических грибов (*Eurotium* spp., *Debaryomyces* spp., *Aspergillus* spp., *Verticillium* spp., *Pichia* spp. и др.) в процессе ферментации брускового чая Фужуан, традиционного напитка в некоторых провинциях Китая, обеспечивает продукту не только неповторимый цвет и аромат, но и придает чаю противодизентерийное действие за счет образования антрахинонов.

В высоких концентрациях некоторые антрахиноны могут проявлять токсичное действие, являясь мутагенами и канцерогенами, поэтому их обычно применяют в малых дозах в комплексе с другими биологически активными веществами в составе растительных сборов. Контаминация продуктов сельского хозяйства микроскопическими грибами может приводить к их загрязнению микотоксинами, в том числе и антрахиноновой природы.

В растениях антрахиноны находятся в основном в виде гликозидов, иногда образуют димеры, например гиперин видов зверобоя или гречихи. Гиперин обладает широким спектром фармакологического действия, в том числе антибактериального, антигрибкового, ранозаживляющего и др. Фотосенсибилизирующий эффект гиперина отмечен даже у овец, которые при поедании травы зверобоя страдают от солнечных ожогов. Вместе с тем зверобойное масло является проверенным средством при термических ожогах кожи.

В медицинской практике антрахиноны используются в основном как слабительные при хронических запорах, усиливая перистальтику толстого кишечника, и показаны даже беременным женщинам. Наиболее часто с этой целью применяют кору Крушины ломкой *Frangula alnus* и плоды Крушины слабительной *Rhamnus cathartica*, содержащие франгулоэмодин. Используемый для этих целей корень ревеня (*Rheum palmatum*) долгое время ввозили в Европу из Китая на вес золота, так как существовал строжайший запрет на распространение самого растения. Однако, в настоящее время его

применение ограничено из-за выявленного высокого содержания оксалата кальция, провоцирующего образование камней в почках.

Некоторые антрахиноны, например ализарин, имеют литолитическое, и особенно нефролитическое, действие. Корни и корневища Марены красильной *Rubia tinctorium* и препарат "Цистенал" на их основе используют при лечении почечно-каменной болезни благодаря мочегонному действию и разрушению мочевых конкрементов, состоящих из фосфатов кальция и магния. В древности толченый корень марены (крап) использовали также для получения красок разных цветов.

Соединения С6-С3-С6-ряда (два ароматических кольца, соединенных тремя атомами углерода). Это наиболее многочисленная и важная группа фенольных соединений.

Флавоноиды широко распространены, их содержат почти все высшие растения. Это самый обширный класс фенольных соединений – 5000 соединений (к концу 20 века), по другим данным 8000 веществ. Особенно богаты флавоноидами семейства Цитрусовые, Гречишные, Яснотковые, Розовые, Бобовые, Сложноцветные и др. Флавоноиды находятся в разных частях растений, но чаще в надземных: цветках, листьях, плодах. В меньшем количестве они содержатся в стеблях и подземных органах. Наиболее богаты ими молодые цветки и незрелые плоды. Содержание флавоноидов в растениях различно: в среднем 0,5–5 %, но может достигать 20 % (в цветках Софоры японской).

Наиболее заметную роль флавоноиды играют в защите растений от различных неблагоприятных факторов окружающей среды. К ним следует отнести действие ультрафиолета (играют роль УФ-фильтров), температурный стресс, повышенные концентрации тяжелых металлов. Флавоноиды играют огромную роль в защите растений от бактериальной, вирусной и грибковой инфекции, от проникновения паразитов и повреждения насекомыми. Одной из наиболее заметных функций флавоноидов является их участие в защите растений от окислительного стресса благодаря выраженной антиоксидантной активности.

Функции в растениях также связаны с процессами размножения. Ряд флавоноидов является пигментами, придающими разнообразную окраску (желтую, красную, фиолетовую) растительным тканям.

Отличаются широким спектром действия на организм (Р-витаминная и антиоксидантная активность, антимикробное, антивирусное, противоопухолевое действие и др.). А также связывают и выводят из организма радионуклиды.

В клетках животных и человека флавоноиды не синтезируются, и присутствие флавоноидов в тканях полностью зависит от потребления в пищу растительных продуктов. Хертог (Hertog) одним из первых оценил размеры потребления флавоноидов большими группами населения. Было показано, что смертность от инфаркта миокарда среди пожилых людей характеризуется обратной корреляцией с потреблением флавоноидов. В то же время этим автором не было обнаружено связи между потреблением флавоноидов и онкологическими заболеваниями. Проведенные позже на многих тысячах

добровольцев многолетние наблюдения связи между потреблением флавоноидов и сердечно-сосудистыми заболеваниями выявляли наличие корреляции не во всех случаях. Более поздние исследования связи потребления флавоноидов с заболеваниями раком также не дали однозначного результата. Вопрос о влиянии флавоноидов на здоровье человека остается открытым до настоящего времени.

С начала 90-х годов XX века большое внимание уделяется так называемой средиземноморской диете, поскольку было обнаружено значительное снижение числа заболеваний сердечно-сосудистой системы у некоторых народов Средиземноморья. Было отмечено также уменьшение числа воспалительных и онкологических заболеваний, повышение когнитивных способностей, снижение риска болезни Альцгеймера и старческого слабоумия. Это явление обычно объясняют особенностями питания. Однако, в отличие от общепризнанных витаминов, например витамина Е или витамина С, отсутствие в пище флавоноидов не приводит к развитию выраженного синдрома дефицита. Поэтому причисление флавоноидов к группе витамина Р оказалось преждевременным и впоследствии было отклонено.

В 2010 г. ЮНЕСКО объявило средиземноморскую диету нематериальным культурным наследием народов Италии, Испании, Греции, Франции (<http://www.unesco.org/culture/ich/en/RL/00394>). Среди особенностей этой диеты отмечается потребление ненасыщенных жиров и витаминов. Некоторые исследователи особое место отводят полифенольным соединениям, присутствующим в оливковом масле, фруктах и красном вине. Среди исследователей сложилась твердая уверенность в положительном влиянии потребления растительных полифенолов, особенно флавоноидов, на здоровье человека. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует ежедневное потребление не менее 400 г фруктов и овощей, что предположительно может сохранить до 2,7 млн жизней ежегодно вследствие предотвращения некоторых видов раковых и сердечно-сосудистых заболеваний, предотвращения ожирения и диабета.

Интерес к флавоноидам обусловлен не только возможным положительным действием этих веществ, наблюдаемым при потреблении растительных продуктов, но также перспективой получения синтетических производных этих веществ, обладающих лекарственным действием. На основе флавоноидов возможно создание новых высокоактивных лекарственных препаратов, обладающих противовоспалительной, антиканцерогенной, противовирусной, антипаразитарной или бактерицидной активностью. На основе флавоноидов создаются и испытываются новые антибиотики, а также агенты, способствующие усилению действия других лекарств, благодаря способности флавоноидов подавлять работу механизмов множественной лекарственной устойчивости. Исследования последних лет показали, что производные некоторых флавоноидов могут успешно использоваться при лечении различных заболеваний внутренних органов: эти вещества зачастую проявляют бóльшую эффективность, чем известные лекарственные препараты. Примечательно, что

флавоноиды и их производные подчас обладают меньшей токсичностью и проявляют меньше побочных эффектов, чем аналогичные лекарственные средства, полученные из других источников. В то же время необходимо учитывать, что чрезмерное потребление какого-либо продукта чревато негативными последствиями. Флавоноиды не составляют исключения из этого правила, хотя аспекты негативного действия избытка флавоноидов исследованы мало. С особой осторожностью следует относиться к большим дозам препаратов очищенных флавоноидов, предлагаемых в качестве пищевых добавок.

В связи с перспективами использования этих веществ в медицине в настоящее время продолжает наблюдаться значительный рост интереса к исследованию действия флавоноидов на организм человека. Описание флавоноидов присутствует в большинстве работ, в которых анализируется химический состав растений традиционной медицины. Именно присутствием определенных флавоноидов часто объясняют лекарственные свойства некоторых растений. Широко исследуется действие богатых флавоноидами растительных экстрактов и отдельных флавоноидов. Предпринимаются разнообразные попытки усилить лекарственные свойства флавоноидов путем химических модификаций или использования средств повышения их биодоступности. Несмотря на большое количество исследований, проведенных в последние годы, все еще не существует ясного представления о механизмах действия этих веществ. Необходимо признать, что данная область науки находится на стадии накопления фактов, тогда как создание единой теоретической основы, объясняющей действие флавоноидов, остается делом будущего.

Молекула флавоноидов содержит два бензольных ядра (кольца А и В) и одно кислородное (пирановое) кольцо. Флавоноиды можно рассматривать как производные флавана. Свое название флавоноиды получили от латинского *flavus* – желтый, так как первые выделенные из растений соединения имели желтую окраску. Однако позднее выяснилось, что большинство из них – бесцветные соединения.

Современная классификация флавоноидов основана на:

- положению бокового фенильного радикала;
- степени окисленности пропанового фрагмента;
- величине, наличии или отсутствии гетероцикла.

В зависимости от места присоединения бокового фенильного радикала флавоноиды делят на 4 группы:

- Собственно флавоноиды (эуфлавоноиды). Боковой фенильный радикал присоединяется в положении 2. Наиболее многочисленная группа – известно около 400 флавоноидов (агликонов). Выделяют 10 основных классов эуфлавоноидов. По степени окисленности пропанового фрагмента собственно флавоноиды (эуфлавоноиды) делят на: окисленные (флавоны, флавонолы) и восстановленные (катехины, лейкоантоцианидины, антоцианидины, флаваноны, флаванолы). Также выделяют группы флавоноидов: с разорванным

гетероциклом: халконы и дигидрохалконы и с пятичленным гетероциклом: ауруны.

- Изофлавоноиды. Боковой фенильный радикал присоединяется в положении 3. Известно около 60 соединений, характерных главным образом для представителей семейства Бобовых. Изофлавоноиды в растениях встречаются, в основном, как производные изофлавонона.

- Неофлавоноиды. Боковой фенильный радикал присоединяется в положении 4. Малоизученная группа флавоноидов, обнаружены только в семействах Зверобойных, Мареновых и Бобовых.

Химическая классификация флавоноидов также основана на различиях в структуре трех углеродных атомов, соединяющих кольца. Отличительными характеристиками этой группы атомов являются возможность присутствия двойной связи, присоединение карбонильной или гидроксильной групп, а также способность образовывать пяти- или шестичленное гетероциклическое кольцо С. Кроме того, ароматические кольца могут присоединяться не только к концевым атомам углеродной цепи С3.

Разнообразие флавоноидов обусловлено прежде всего различными заместителями в кольцах А и В. Практически каждый атом этих колец (за некоторым исключением) может иметь гидроксильную группу. Кроме того, практически каждый гидроксил может быть метилирован с образованием метоксильной группы. Флавоноиды могут присутствовать в растениях как в свободном, так и в связанном виде – образуют огромное число разнообразных гликозидов. Катехины, лейкоантоцианидины, дигидрохалконы, флаваноны и флаванолы не имеют окраски, тогда как остальные классы флавоноидов имеют желтый, красный, темно-красный или пурпурный цвет. Наиболее разнообразную окраску имеют антоцианы.

В зависимости от степени окисления трехуглеродного фрагмента молекулы (пиранового гетероцикла) различают следующие группы флавоноидов – в порядке увеличения степени окисленности пиранового кольца:

- незамещенные флаваны (отсутствие функциональных групп и двойных связей);
- катехины (флаван-3-олы) и флаван-4-олы (одна гидроксильная группа у С3 или С4 атомов соответственно);
- лейкоантоцианидины (две гидроксильные группы – у С3 и С4 атомов);
- дигидрохалконы (отсутствие пиранового кольца и карбонильная группа);
- халконы (отсутствие пиранового кольца, двойная связь и карбонильная группа);
- антоцианидины (гидроксильная группа у С3 и две двойные связи);
- флаваноны (карбонильная группа у С4);
- флаванолы (карбонильная группа у С4 и гидроксильная у С3);
- флавоны (карбонильная группа у С4 и двойная связь);
- флавонолы (карбонильная группа у С4, гидроксильная у С3 и двойная связь);

– ауроны (пятичленное лактоновое кольцо, карбонильная группа и двойная связь).

Большинство флавоноидов являются производными ФЛАВАНА (2-фенилхромана) или ФЛАВОНА (2-фенилхромона)

Флаваны включают четыре группы: собственно флаваны, флаван-3- олы, которые называют также катехинами, флаван-4-олы и флаван-3,4- диолы (лейкоантоцианидины).

Флавоны включают: флавоны, флавонолы, флаваноны, флаванонолы.

Собственно **флаваны** имеют незамещенное кислородсодержащими группами гетероциклическое кольцо и в природе встречаются редко. Последние две группы (флаван-4-олы и флаван-3,4-диолы) объединяют под общим названием лейкоантоцианидины.

Катехины (флаван-3-олы) получили свое название по видовому названию акации – *Acacia catechu* – из древесины которой были впервые выделены. В течение многих столетий экстракт индийской акации катеху использовался в традиционной индийской медицине как вяжущее средство, в лечении различных заболеваний, включая заболевания органов пищеварительной системы, в лечении ран и при хирургических процедурах. Этот материал богат таннинами и катехинами.

Катехины наиболее восстановленная группа флавоноидных соединений. Молекулы катехинов отличаются от молекул большинства флавоноидов тем, что между вторым и третьим атомами углерода отсутствует двойная связь, в результате чего на этих атомах возникают два хиральных центра и образуются четыре диастереоизомера. Два изомера в транс-конфигурации называются катехинами, тогда как два изомера в цис-конфигурации называют эпикатехинами.

Диастереоизомеры в отличие от энантиомеров не являются зеркально симметричными молекулами. Два диастериоизомера, отличающиеся в отношении одного из центров, называются эпимерами и к названию одного из изомеров добавляется приставка «эпи». В отличие от энантиомеров, диастериоизомеры могут существенно различаться по физическим и химическим свойствам. Среди катехинов наиболее распространен (+)-катехин, тогда как среди эпикатехинов более распространен (–)-эпикатехин

Катехины, как правило, находятся в свободном состоянии, но могут образовывать эфиры с галловой кислотой (катехингаллаты, галлокатехингаллаты). В качестве мономеров входят в состав конденсированных дубильных веществ (конденсированных таннинов).

Катехины широко распространены в растениях, являются одной из наиболее исследованных групп флавоноидов, которая включает большое разнообразие биологически активных веществ: катехинов и катехингаллатов. Они являются также предшественниками в синтезе проантоцианидинов. Найдены у более, чем 200 видов растений. Содержатся во многих плодах (яблоки, груши, вишня, айва, персики, сливы, абрикосы, ежевика, смородина, виноград и др.), коре и древесине деревьев. Особенно много катехинов в листьях

и молодых побегах чая (до 30%): эпикатехин, эпигаллокатехин, эпикатехингаллат, эпигаллокатехингаллат.

Катехины обладают высокой Р-витаминной активностью, укрепляют капилляры и нормализуют проницаемость стенок сосудов.

Не имеют окраски, но могут давать начало окрашенным продуктам (коричнево-красный цвет настоя черного чая обусловлен продуктами ферментации катехинов). Продукты окисления катехинов обладают слабоявляющим вкусом.

Катехинами богат чай (листья *Camellia sinensis*), а также бобы какао (*Theobroma cacao*), и соответственно, эти вещества содержатся в шоколаде. Зеленый чай наиболее богат катехинами. Листья зеленого чая содержат 51-84 мг катехинов на грамм сухого веса, что в несколько раз больше, чем в черном чае. Многие фрукты, овощи, вино также богаты катехинами. способными оказывать благотворное действие на здоровье человека. Это не удивительно, поскольку катехины используются растениями для борьбы с различными патогенами и вредителями, включая насекомых, бактерии, грибы и вирусы. Известно, что катехины являются мощными антиоксидантами, благодаря способности связывать свободные радикалы, участвуют в образовании проантоцианидинов, которые существуют в виде растворимых в воде олигомеров, содержащих от 2 до 6 катехиновых единиц, а также в виде нерастворимых в воде полимеров со степенью полимеризации от 7 и выше, которые представляют собой основную (80 %) часть проантоцианидиновых комплексов.

Катехины – бесцветные кристаллические вещества, хорошо растворимые в воде и многих органических растворителях. Они легко окисляются при нагревании и под действием солнечного света. С особенно большой скоростью окисление катехинов протекает в щелочной среде и при действии окислительных ферментов (фенолоксидазы и пероксидазы). Окислительные превращения играют ведущую роль в производстве чая, а также важную роль в виноделии, ферментации бобов, производстве фруктовых и ягодных соков. При случайном или намеренном разрушении растительных клеток освобождаются из компартментов клетки ферменты оксидазы, которые осуществляют окисление и конденсацию катехинов с образованием окрашенных димеров и олигомеров. Подобные реакции происходят у некоторых растений и без повреждения клеток, в результате чего синтезируются негидролизуемые (конденствованные) танины, обладающие вяжущим вкусом, способностью дубить кожу и окрашивать ее в темные цвета.

В отличие от зеленого чая, который вначале высушивают при температуре существенно выше 100°C, что приводит к денатурации ферментов чайного листа и позволяет сохранить структуру катехинов, черный чай скручивают на специальных роллерах, что приводит к разрушению тканей листа и высвобождению ферментов, действующих на катехины. После скручивания листья оставляют для ферментации, при которой происходят существенные изменения в структуре катехинов вследствие ферментативного окисления. В результате ферментативных процессов из катехинов образуются теафлавины и

теарубигины, придающие черному чаю характерный вкус и цвет. Теафлавины являются олигомерами катехинов, и возможно, сохраняют профилактические и лекарственные свойства, присущие катехинам. Теарубигины – более крупные полимерные молекулы, составляющие более 70 % полифенолов черного чая, изучены в меньшей степени. В высококачественных сортах чая соотношение теарубигины/теафлавины не более 10, тогда как в низкосортном чае эта величина может превышать 20.

Распространено мнение, что потребление черного чая оказывает благотворное действие на многие процессы в организме, включая защиту от рака и заболеваний сердечно-сосудистой системы. Это действие приписывается теафлавином, которые являются главными биоактивными полифенольными соединениями черного чая. Однако наши знания о биодоступности этих веществ и их трансформации в организме весьма ограничены, а большинство экспериментальных свидетельств действия теафлавинов на организм получены в условиях *in vitro*, что делает выводы исследователей гипотетическими.

Катехины обладают высокой биологической активностью для человека и млекопитающих благодаря их свойству поддерживать в нормальном состоянии или восстанавливать нарушенную проницаемость капилляров (Р-витаминная активность). По своей эффективности в этом отношении катехины превосходят другие флавоноидные соединения (например, флавонолы и флаваноны), также обладающие этим свойством. Они обладают гепатопротекторным действием, способствуют усвоению аскорбиновой кислоты, участвуют в антиканцерогенной защите. (+)-катехин под названием цианиданол применяется в медицине для лечения вирусного гепатита и заболеваний кровеносной системы.

Изомерные катехины флаван-4-олы представлены в природе только двумя представителями.

Лейкоантоцианидины или проантоцианидины (флаван-3,4-диолы) близки по структуре к катехинам, но более неустойчивые соединения.

Встречаются во многих растениях, однако количестве известных соединений невелико – около 12 соединений. Это бесцветные, аморфные соединения, хорошо растворимые в воде, этаноле, ацетоне.

Легко окисляются до соответствующих антоцианидинов при обработке разбавленными кислотами. Лейкоантоцианидины («бесцветные антоцианидины») получили название из-за своей способности при нагревании с разбавленными минеральными кислотами превращаться в ярко окрашенные антоцианидины. В отличие от катехинов, лейкоантоцианидины имеют уже 3 асимметричных атома углерода в молекуле (C2, C3 и C4), таким образом, каждый из них может быть представлен 8 изомерами и 4 рацематами. Подобно катехинам существуют в свободном состоянии, но в отличие от них не образуют эфиров с галловой кислотой. При нагревании с разбавленными кислотами и при некоторых других воздействиях они образуют димеры, олигомеры и окрашенные полимеры (флобафены). В природе флавандиолы функционируют как предшественники конденсированных таннинов и антоцианидинов. Гликозилирование для них не свойственно.

Лейкоантоцианидины, подобно катехинам, обладают Р-витаминной активностью.

Антоцианидины представляют собой производные катиона флавилия, у которого кислород в пирановом кольце обладает свободной валентностью. В растениях они, как правило, присутствуют в виде гликозидов – антоцианов. Антоцианы – основные водорастворимые пигменты растений, находящиеся в клеточном соке и обуславливающие окраску цветков, плодов, листьев в разнообразные цвета – от розового до фиолетово-черного. Само название «антоцианы» происходит от греческих слов *άνθος* (антос) – «цветок» и *κυανός* (цианос) – «голубой». Антоцианы присутствуют практически во всех цветковых растениях.

Антоцианы – ярко окрашенные флавоноиды, присутствующие в клеточных вакуолях. Яркая окраска антоцианов очень разнообразна в пределах всего видимого спектра и сильно зависит от рН среды. Поэтому об окраске антоцианов можно говорить весьма условно, учитывая характерные особенности тканей растения и условия окружающей среды. Антоцианы определяют окраску цветов и плодов, а также могут присутствовать в других частях растений. Например, они присутствуют в листьях, где их количество существенно возрастает осенью, что определяет красные тона осенней листвы, в то время как желтые тона связаны с присутствием каротиноидов. Антоцианы – единственные флавоноиды, влияющие на окраску листьев, благодаря которым наблюдается изменяющаяся окраска молодых листьев и особенно появление красных осенних тонов. Желтая и бурая же окраска осенних листьев обусловлена главным образом присутствием каротиноидов и танинов, соответственно. Необходимо отметить, что антоцианы присутствуют также в стволе и корнях некоторых растений. Антоцианы цветов участвуют в привлечении насекомых-опылителей, придают листьям камуфляжную или отпугивающую окраску против вредителей. Кроме того, они могут служить фильтром, защищающим растение от избыточной солнечной радиации. Антоцианами чрезвычайно богаты ягоды черной смородины. Они содержат 250 мг антоцианов на 100 г веса свежих ягод. Большая часть антоцианов содержится в кожуре ягод.

Молекулы антоцианидинов имеют положительный заряд, что повышает их растворимость в воде, особенно в кислых средах. Кроме того, в тканях растений антоцианидины часто присутствуют в гликозилированной форме, благодаря чему их растворимость в воде возрастает.

Поглощают лучи, малодоступные для хлорофилла (250-300 нм и 500-550 нм).

Известно более 20 антоцианидинов.

Основных антоцианидинов всего 6: пеларгонидин, цианидин, дельфинидин, пеонидин, петунидин и мальвидин. Все они имеют гидроксилы в 5-м и 7-м положении кольца А и различаются только заместителями в положении 3' и 5' в кольце В.

Разные антоцианы могут присутствовать одновременно в одном и том же растении, но в разных его частях. Но чаще в растениях присутствует только один антоциан.

Содержание антоцианов в растении (листья, древесина, корни, плоды, семена, лепестки цветков): от 0,01 до 15 %.

Основное разнообразие антоцианов обусловлено их гликозидированием. Известны монозиды, биозиды, триозиды, а также дигликозиды и тригликозиды антоцианидинов. Окраска антоцианами цветков, плодов и других частей растений зависит от ряда факторов («растительные хамелеоны»):

- от структуры агликона, причем, главным образом, числа и видов заместителей в кольце В. Увеличение степени гидроксирования сдвигает окраску в синюю область, степени метилирования – в красную;

- количества антоцианов в тканях;

- рН среды: в кислых растворах мальвидин имеет красную окраску, пеларгонидин – оранжево-красную, цианидин – синеваато-красную, дельфинидин – синюю;

Все антоцианы – кислотнo-основнoе индикаторы. В кислой среде их окраска сдвигается в сторону красных оттенков, в щелочной – синих (сине-зеленых), в нейтральной среде окраска – фиолетовая. При рН<6 окраска карминово-красная; при рН=6 – фиолетовая, рН=8 – синяя, рН=10 – зеленая. Таким образом, один и тот же антоциан может являться причиной окраски как синих, так и красных цветков. Кислая почвенная среда вызывает изменение 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 рН в отмирающих клетках.

- копигментации антоцианов с другими флавоноидными гликозидами или таннинами. Так, при сочетании синих антоцианов клеточного сока и желто-оранжевых каротиноидов хромопласто получается коричневая окраска лепестков некоторых цветков. Окраска плодов черники обусловлена копигментацией дельфинина и мальвина.;

- комплексообразования антоцианов с металлами. При этом взаимодействие антоцианов с магнием и кальцием придает цветкам, как правило, синюю окраску, а с калием — пурпурную. Кроме того, в комплексообразовании могут участвовать железо, алюминий, молибден.

Mg- и Ca-соли придают антоцианам синюю окраску, а K-соли – пурпурную. В лепестках красной розы цианин в свободном виде, а лепестках василька – образует комплекс с железом.

У растений в условиях стресса (например, холодового стресса) часто наблюдается красная, синяя или почти черная окраска, вследствие повышенного содержания антоцианов. Стрессовые условия приводят к снижению скорости утилизации НАДФН и АТФ, образованных в ходе световых реакций фотосинтеза. Увеличение же синтеза антоцианов в клетках мезофилла помогает избежать накопления избыточного количества продуктов с высоким

энергетическим и восстановительным потенциалом вследствие понижения общей биосинтетической активности листа.

Флавоны – природные оксипроизводные флавона (2-фенилхромона), всегда содержащие гидроксилы в положениях 5 и 7, иногда в положении 3 и обычно в положениях 3' и 4'. Максимумы поглощения флавонов лежат в областях 250-270 нм и 330-350 нм. Окрашены в желтый цвет и обуславливают соответствующую окраску цветков. Находятся в вакуолях эпидермальных клеток в виде гликозидов. Наиболее распространены апигенин (в виде гликозида апиина содержится в петрушке, цветках хризантем, ромашки, плодах апельсина и бигарадии) и лютеолин (содержится в почках тополя, листьях наперстянки).

Флавоны присутствуют в основном в злаковых растениях и зерновых культурах. Ими богаты кожура цитрусовых, листья петрушки и сельдерея. Многие из этих веществ представляют интерес для медицины благодаря их антиоксидантной активности. Однако их действие существенно более разнообразно и не ограничивается только защитой от свободных радикалов. Так, например, Шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis* Georgi) является одним из наиболее популярных растений традиционной китайской медицины. Он используется при лечении воспалительных процессов, гипертонии, сердечно-сосудистых заболеваний, а также при бактериальных и вирусных инфекциях. На территории России народная медицина использует Шлемник обыкновенный (*Scutellaria galericulata* L.), в аналогичных целях (<http://www.litmir.net>). Однако, именно байкальский шлемник, растущий преимущественно в Бурятии, Иркутской области и Монголии, привлекает особое внимание исследователей. Шлемник байкальский богат фенольными соединениями, среди которых флавоны (например, байкалин) занимают ведущее место.

Флавонолы (флавонол-3-олы), наряду с флавонами являются желтыми красящими веществами растений. В отличие от флавонов у флавонолов в положении 3 содержится гидроксил.

Флавонолы – наиболее многочисленная группа флавоноидных соединений (более 200 флавонолов). Самые распространенные: кверцетин, кемпферол, мирицетин и изорамнетин. Кверцетин и его гликозид рутин являются одними из наиболее известных и хорошо изученных флавонолов, которые широко распространены в растительном мире. Название «кверцетин» происходит от латинского *quercus* – дуб, в древесине и коре которого присутствует это вещество. Больше всего кверцетина содержится в чае (до 2500 мг/кг сухих листьев). В значительно меньших количествах он присутствует в яблоках, репчатом луке (особенно в красном), в красном винограде, цитрусовых, томатах, брокколи и др. На основе кверцетина создан лекарственный препарат Кверцетин, который обладает противоаллергическим, антиоксидантным действием. Кверцетин защищает мембраны клеток, улучшает работу капилляров и восстанавливает микроциркуляцию крови. Рутин является гликозидом кверцетина с дисахаридом рутинозой. Применяется в медицине, входит в состав препарата Аскорутин. Много рутина в зеленой массе гречихи (1,5-6%), нераспустившихся цветках софоры японской.

Молекулы флавонолов представлены как агликонами, так и разнообразными формами гликозидов, в которых гликозидная часть прикреплена к атому кислорода, преимущественно в положениях 3, 7, 3', 4'. В состав гликозидов могут входить не только глюкоза и манноза, но также более редкие сахара, такие как аллоза, галактурановая кислота, апиоза.

Флаваноны (флаван-4-оны) являются бесцветными производными флавона и содержат один асимметричный атом углерода. Часто встречаются в плодах citrusовых. Обычно присутствуют в виде гликозидов трех агликонов: нарингенина, эриодиктиола и гесперетина. Нарингенин входит в состав плодов расторопши; в кожуре грейпфрута содержится его гликозид – нарингин. Гликозиды нарингин и неогесперидин содержат сахарный остаток – неогесперидозу, которая и придает им горечь, в состав не горького гесперидина входит рутиноза. Гесперетин и его гликозид гесперидин присутствуют в citrusовых, в основном в пульпе (губчатой части корок) лимона (*Citrus limon*), померанца (*Citrus aurantium*, Linn.), мандарина (подвид: *Citrus unshiu* Mar.) и апельсина (*Citrus sinensis*). Другой гликозид гесперитин-7-рамнозид присутствует в кордии (*Cordia obliqua*), произрастающей в Южной Азии.

Пульпа citrusовых содержит большое количество гесперидина и каротиноидов (β -криптоксантина), которые потенциально могут оказывать антиканцерогенное действие. Действительно, в экспериментах на животных было показано, что пульпа и соки мандарина могут защищать животных от химически индуцированных форм рака прямой кишки и легких. Наблюдалось также подавление экспрессии провоспалительных цитокинов и ферментов воспалительного процесса.

В исследованиях гесперидин показал широкий спектр биологической активности.

Он способен защищать эпидермис от повреждающего действия ультрафиолетового излучения диапазона В. При этом наблюдалась способность гесперидина активировать экспрессию «стража генов», фактора транскрипции р53, благодаря чему активизируется система репарации ДНК, поврежденной ультрафиолетом.

Флаванололы (дигидрофлаванололы, флаванон-3-олы) – отличаются от флаванонов наличием ОН-группы в положении 3, подобно катехинам, содержат 2 асимметричных атома углерода в молекуле (С2 и С3).

Флаванололы довольно широко распространены в природе. Они присутствуют в папоротниках, голосеменных и покрытосеменных растениях. Наибольшее число видов, содержащих флаванололы, принадлежит бобовым, астровым, сосновым, тутовым и рутовым. Преимущественно они содержатся в древесине, коре, листьях или корнях растений. Большинство флаванололов выделены из древесины хвойных (сосна, ель, лиственница) или лиственных пород (эвкалипт, бук, вишня). В растениях они содержатся в виде гликозидов или агликонов, накапливаются в небольших количествах. При нагревании легко переходят в соответствующие флаванололы.

Примерами флаванололов являются дигидрокемферол и дигидрокверцетин.

Дигидрокверцетин, известный в Европе также как «Таксифолин» (Taxifolin), относится к антиоксидантам натурального происхождения, или биофлавоноидам. Содержится в большом количестве в комлевой части сибирской лиственницы. Таксифолин присутствует в лимонах, винограде, томатах, в яблоках, в красных сортах репчатого лука, в расторопше пятнистой (*Silybum marianum*), обнаружен также в плодах амазонской пальмы асаи (*Euterpe oleracea*), в хвойном растении, которое иногда называют японским кипарисом (*Chamaecyparis obtuse*).

По молекулярному строению и функциям дигидрокверцетин близок кверцетину и рутину, но превосходит их по фармакобиологической активности.

Биологическая активность: Дигидрокверцетин, по сравнению с кверцетином, обладает меньшими токсическими и мутагенными свойствами. Является потенциальным химиопрофилактическим средством: в экспериментах было показано его ингибирующее действие на рост клеток опухоли яичника. Также это вещество стимулирует синтез и стабилизирует структуру волокон коллагена, потенцирует (in vitro) эффект антибиотиков — левофлоксацина и цефтазидима, угнетает синтез меланина и способствует осветлению кожи с такой же эффективностью, как и используемый в косметологии арбутин.

Применение: в фармацевтической промышленности для производства БАД и лекарственных средств (профилактика различных заболеваний оксидативного стресса).

Изофлавоноиды и неофлавоноиды являются производными 3-фенилхромана и 4-фенилхромана, соответственно, в отличие от других групп флавоноидов, которые являются производными 2-фенилхромана. Подобно флавоноидам изофлавоноиды могут быть разбиты на несколько классов, исходя из степени окисленности их основной структуры и меры ее усложнения: изофлавананы, изофлаваноны, изофлавоны, птерокарпаны, ротеноиды и др.

Изофлавоноиды встречаются в растительном мире реже флавоноидов. Их образование характерно прежде всего для бобовых растений, где они выполняют роль фитоалексинов. Помимо семейства *Fabaceae*, изофлавоноиды обнаружены в семействах *Iridaceae*, *Rosaceae*, *Moraceae*, *Amaranthaceae*, *Podocarpaceae*.

Большое количество изофлавонов содержится в бобах сои (*Glycine max*), где присутствуют генистеин, даидзеин и, в меньших количествах, глицитеин. Кроме того, в красном клевере (Клевер пунцовый *Trifolium incarnatum*) присутствуют изофлавоны биоханин А и формононетин, которые также представлены в виде гликозидов ононина и сиссортинина, образующихся прикреплением остатка глюкозы. В бобах сои большая часть изофлавонов существует в виде гликозидов: гинестин, даидзин и глицитин, в которых молекула глюкозы прикрепляется к атому кислорода.

Изофлавоны являются нестероидными миметиками эстрогенов, называемыми фитоэстрогенами, и в наибольших количествах содержатся в бобах сои. Возможно, что присутствие изофлавонов в бобах сои в значительной мере определяет влияние этого продукта на здоровье человека. Именно генистеин отвечает за антиканцерогенную активность сои. Действие

очищенного генистеина не уступает, а в чем-то превосходит антиканцерогенное действие суммарного экстракта сои. Пищевые изофлавоны, известные как фитоэстрогены, представляют один из наиболее биологически активных классов флавоноидов. Они рассматриваются как возможная альтернатива гормональным препаратам в лечении множества заболеваний. Однако необходимо помнить, что эти вещества способны подавлять активность некоторых изоформ цитохромов P450, что может модифицировать действие других лекарственных веществ и может иметь жизненно важное значение при некоторых заболеваниях.

Халконы и дигидрохалконы часто рассматривают как флавоноиды с раскрытым пирановым кольцом. На самом деле они представляют собой флавоноиды с еще не замкнутым пирановым кольцом, так как являются отправной точкой биосинтеза всех остальных флавоноидов.

Химически халконы или 1,3-диарил-2-пропен-1-оны представляют собой флавоноиды с открытой цепью, в которой два ароматических кольца соединены трехуглеродной α,β -ненасыщенной карбонильной системой. Ариловые кольца в большинстве случаев гидроксильрованы. Халконы могут иметь цис- и транс-формы, но транс-форма термодинамически более устойчива. При этом α,β -ненасыщенные кетонные группы, вероятно, ответственны за большинство наблюдаемых биологических свойств халконов, поскольку во всех биологически активных молекулах эти группы присутствуют, а их удаление сопряжено с потерей активности.

Название «халкон» происходит от греческого слова «халкос» ($\chi\alpha\lambda\kappa\acute{o}\varsigma$), что означает «медь». Халконы имеют желтую окраску (хромофор — карбонильная группа с конъюгированной двойной связью). В растениях присутствуют преимущественно в виде гликозидов, при этом известно несколько десятков агликонов халконовой природы. Однако возможно присутствие в растениях и в свободном виде.

Эти вещества проявляют выраженную антиканцерогенную активность, действуя на множество различных мишеней в системе клеточной сигнализации. Кроме того, они представляют интерес как антиоксиданты, антигистаминные и противовоспалительные агенты, обладают антибактериальной активностью и убивают простейших паразитов. Особенностью халконов является сравнительная простота химического строения, что позволяет на их основе синтезировать большое разнообразие молекул, обладающих биологической активностью и, в некоторых случаях, лекарственными свойствами. Однако и среди халконов растительного происхождения много веществ, представляющих интерес для медицины.

Ауруны В природе ауруны распространены менее широко, чем другие флавоноиды. Ауруны также менее изучены. Молекула ауруна состоит из бензофурана, соединенного с бензилдиеном. При этом пятичленное кольцо отличает ауруны от большинства флавоноидов, имеющих шестичленные кольца. Молекулы аурунов могут образовывать два изомера, обозначаемые как E-конфигурация и Z-конфигурация. В растениях чаще присутствуют Z-ауруны, поскольку указанная конфигурация более устойчива.

Название «ауроны» происходит от латинского *aurum* – золото. Ауроны придают растениям золотисто-желтый цвет, присутствующий в окраске цветов некоторых известных садовых растений. Например, лептосидин, присутствующий в цветах Кореопсиса крупноцветкового (*Coreopsis grandiflora*), был первым ауроном, открытым в 1943 г. Еще одним известным примером является ауреусидин, присутствующий в цветах львиного зева (*Antirrhinum*). В настоящее время делаются попытки создания трансгенных растений, содержащих ауреусидин для улучшения их пищевых качеств. Так был получен трансгенный салат латук (*Lactuca sativa*), содержащий ауреусидин в листьях. Было показано, что изменение цвета листовой пластины растений, продуцирующих ауреусидин, сопровождается повышенной способностью удалять радикалы супероксида. Гиспидол и его гликозиды найдены в бобах сои (*Glycine max*). Сульфурин присутствует в декоративном растении Бутии односемянной (*Butea monosperma*), различных видах рода кореопсис (*Coreopsis*), георгин (*Dahlia*), симсии (*Simsia*). 4,6,4'-тригидроксиаурон присутствует в растении Претокарпус мешковидный (*Pterocfrpus marsupium*). Хотя большинство ауронов присутствует в высших растениях, принадлежащих к двудольным, эти вещества могут присутствовать также в бурых водорослях (*Spatoglossum variabile*).

В растениях ауроны служат для защиты от грибковой и бактериальной инфекции, защиты от насекомых-вредителей, тогда как яркая окраска цветов, содержащих ауроны, может использоваться для привлечения насекомых-опылителей. Перспективы использования в медицине стали причиной роста числа работ, посвященных исследованию ауронов. Возможность синтеза новых ауронов, обладающих повышенной терапевтической активностью, стала дополнительной причиной развития исследований в этом направлении.

Полимерные фенольные соединения принято разделять на 4 подгруппы:

- гидролизуемые дубильные вещества (сложные эфиры глюкозы и галловой кислоты);
- негидролизуемые (конденсированные) дубильные вещества (полимеры флавоноидов);
- лигнины (полимеры оксикоричных спиртов);
- меланины (темноокрашенные соединения).

Дубильные вещества, или таннины – сборное название для большого числа растительных полифенолов, которые получили свое название благодаря использованию для дубления кож. В процессе дубления связываются с коллагеном. Природные дубильные вещества (таннины) представляют собой сложную смесь близких по составу соединений с молекулярной массой 500–5000.

Способны кроме белков, осаждать и алкалоиды. Образуют настолько прочные водородные связи с NH-группами белков, что их невозможно разорвать с помощью пищеварительных ферментов.

Имеют выраженный вяжущий вкус (недозрелые плоды хурмы). Таннины прочно ассоциируются с белками слизистой оболочки и слюны. Животные предпочитают не использовать в пищу растения, богатые таннинами.

Широко распространены среди разных видов растений.

Особенно высоко их содержание в коре (перидерме) некоторых деревьев, например дуба и в галлах, вызванных повреждением листьев насекомыми (до 50-70 %).

2 типа таннинов: конденсированные и гидролизуемые.

Конденсированные дубильные вещества представляют собой линейные полимеры с большой молекулярной массой, мономерами которых являются катехины и другие восстановленные формы флавоноидов. В их синтез вовлечены свободнорадикальные реакции, однако лишь немногие детали этого процесса сегодня известны. Не распадаются под действием кислот, а уплотняются с образованием аморфных нерастворимых в воде полимерных соединений – флобафенов (коричнево-красные). Конденсированные дубильные вещества содержатся в коре и древесине дуба, ивы, сосны, ели, лиственницы, эвкалипта, акации, каштана и др.

Гидролизуемые таннины в условиях кислотного или энзиматического гидролиза распадаются на фенольные кислоты и сахара. Галлотаннины состоят из остатков галловой кислоты, которые в основном связаны с молекулами гексоз (сложноэфирная связь), эллаготаннины при гидролизе образуют нерастворимую эллаговую кислоту и сахара.

Промышленными источниками галлотаннинов, применяемых в медицине (медицинского таннина), являются галлы турецкие – патологические наросты, образующиеся на дубе красильном (*Quercus infectoria* Oliv.), галлы китайские, образующиеся на сумахе китайском (*Rhus chinensis* Mill.), листья сумаха дубильного (*Rhus coriaria* L.) и листья скумпии кожевенной (*Cotinus coggygria* Scop.). Галлотаннин представляет собой гетерогенную смесь веществ различного строения. Встречаются моно-, ди-, три-, тетра-, пента- и полигаллоильные эфиры.

Китайский таннин, выделенный из китайских галлов, является окта- и наногаллоилглюкозой. Турецкий таннин, выделенный из турецких галлов, представляет собой гекса- и гептагаллоилглюкозу. Дубильные вещества этой группы содержатся и преобладают в корневищах и корнях кровохлебки, корневищах змеевика, корневищах бадана, соплодиях ольхи, коре дуба.

Эллаговые дубильные вещества более широко распространены в растениях, чем галлотаннины. Как и галлотаннины, эллаготаннины обладают дубящей способностью и вяжущим вкусом. Найдены в околоплоднике плодов гранатника, коре эвкалипта, околоплоднике грецкого ореха, коре дуба, соплодиях ольхи, листьях и соцветиях кипрея узколистного (иван-чая).

Основными промышленными источниками эллаготаннинов служат желуди и кора дуба, кора испанского каштана, плоды терминалии, бобы цезальпинии.

В медицине дубильные вещества применяют как вяжущие, обволакивающие и антацидные (для нейтрализации соляной кислоты желудка). Водный раствор таннина вызывает частичное связывание ядовитых продуктов распада тканей и способствует заживлению ран. При этом наблюдается

снижение болевых ощущений, местное сужение сосудов, уменьшение воспалительных реакций.

Препараты на основе танина назначают при воспалительных процессах в полости рта, носа и гортани в виде полосканий, а также для смазываний при ожогах, язвах, трещинах, пролежнях.

При отравлении тяжелыми металлами и алкалоидами используют препараты на основе дубильных веществ.

В качестве фармсредств используют дубильные вещества скумпии и сумаха (танальбин), коры дуба, травы зверобоя и череды, листья шалфея (сальвин), цветки ромашки (рекутан, рокотан) и др.

Лигнин – трехмерный полимер, мономерами которого являются гидроксикоричные спирты, соединенные связями С-С и С-О-С. Биосинтез проходит вне клетки (клеточной стенке), механизм транспорта монолигнолов неизвестен. Предполагается, что монолигнолы транспортируются в форме гликозидов к месту синтеза, где подвергаются гидролизу (ферменты глюкозидазы). Полимеризация проходит при участии лакказ (роль в формировании лигнинов незначительна) и пероксидаз.

В составе лигнина встречаются в основном кумаровый, конифериловый и синаповый спирты. Их соотношение у различных растений различно. Структура полимера лигнина варьирует у различных видов растений. У хвойных преобладает конифериловая составляющая, у злаковых – больше кумариловых единиц, у многих лиственных деревьев преобладает синаповый спирт. Лигнин входит в состав клеточных оболочек тканей древесины. Он откладывается между микрофибриллами целлюлозы, что придает клеточным оболочкам твердость и прочность. Однако при этом нарушается связь между клетками, что приводит к отмиранию живого содержимого, поэтому лигнификация является заключительным этапом онтогенеза клетки. Лигнин ингибирует рост патогенных микроорганизмов и синтезируется в ответ на повреждение или инфекцию.

Растительные меланины (алломеланины) представляют собой наименее изученную группу растительных полимерных фенольных соединений со сложной структурой. Меланины имеют черный или коричнево-черный цвет. У растений обуславливают окраску оболочек семян и плодов (семена подсолнечника, арбуза, оболочки конских бобов). Могут синтезироваться в ответ на повреждение тканей (бурые и черные пятна после удара, а также быстрое потемнение поверхности разрезанных яблок, клубней картофеля, некоторых грибов). Растительные и животные меланины отличаются по составу мономеров. Растительные меланины являются безазотистыми веществами: при гидролизе они образуют пирокатехин, прокатеховую и салициловую кислоты, в то время как животные – дигидроксииндол.

1.3.8. Биогенез фенольных соединений

К настоящему времени выявлено два пути образования природных фенольных соединений: **шикиматный** и **ацетатно-малонатный**. Подавляющее большинство известных фенольных соединений, а также ароматические аминокислоты образуются с использованием в качестве предшественника шикимовой кислоты. Отсутствие шикиматного пути у животных делает эти соединения, в том числе и ароматические аминокислоты (триптофан, фенилаланин, тирозин) незаменимыми, что требует их постоянного поступления с пищей.

В отличие от вторичного метаболизма грибов, лишайников и микроорганизмов, у которых широко распространен ацетатно-малонатный путь, у высших растений он лишь сочетается с шикиматным в биосинтезе флавоноидов, а также некоторых антрахинонов.

Шикиматный путь начинается с конденсации фосфоенолпирувата, образующегося при гликолитическом распаде глюкозы, и эритрозо-4-фосфата, промежуточного продукта окисления глюкозы по пентозофосфатному пути. При этом формируется семиуглеродное соединение 3-дезоксид-арабиногептулозонат-7-фосфат, которое затем подвергается циклизации, превращаясь в 3-дегидрохинную кислоту (для проявления активности фермента требуется присутствие NAD и Co^{2+} , а у некоторых видов растений – еще и Cu^{2+}). Далее 3-дегидрохинная кислота может превращаться либо в 3-дегидрошикимовую кислоту, либо в хинную кислоту. 3-дегидрошикимовая кислота под влиянием фермента оксидоредуктазы превращается в шикимовую кислоту, которая по структуре близка к фенольным соединениям, однако ее шестичленное кольцо содержит только одну двойную связь.

Обратимое превращение 3-дегидрохинной кислоты в хинную кислоту катализирует хинатдегидрогеназа. У бактерий и грибов этот фермент обычно отсутствует, и поэтому они редко образуют хинную кислоту. У высших растений хинная кислота, напротив, распространена повсеместно и часто накапливается в значительных количествах как в свободном виде, так и в виде эфиров с фенолкарбонными кислотами.

Шикимовая кислота имеет шестичленное кольцо, одну двойную связь, и ее довольно легко перевести в соединения ароматического ряда. Из нее возможно образование простых фенольных соединений С₆-С₁-ряда, например п-оксибензойной, протокатеховой и галловой кислот, а в дальнейшем и дубильных веществ гидролизуемой группы. Однако в растительной и микробной клетке превращение шикимовой кислоты в ароматические соединения идет значительно сложнее. Шикимовая кислота далее подвергается фосфорилированию при участии АТФ и шикиматкиназы с образованием шикимат-3-фосфата.

На следующем этапе происходит конденсация шикимат-3-фосфата с ФЕП. При этом образуется 5-енол-пирувил-шикимат-3-фосфат (ЕПШФ). Реакция катализируется 5-енол-пирувил-шикимат-3-фосфат-синтазой. Далее ЕПШФ превращается в хоризмовую кислоту при участии хоризматсинтазы.

Хоризмовая кислота, которая в своем кольце имеет уже две двойные связи, находится в точке ветвления биосинтетических процессов. Она служит непосредственным предшественником как префеновой кислоты, так и антраниловой кислоты. Из префеновой кислоты далее образуются L-фенилаланин и L-тирозин, а затем фенольные соединения, а из антраниловой кислоты – L-триптофан, а затем индольные производные.

Процесс образования L-фенилаланина и L-тирозина начинается с превращения хоризмовой кислоты в префеновую (при участии хоризматмутазы), которая подвергается либо дегидратации и декарбоксилированию с образованием фенилпировиноградной кислоты, либо окислительному декарбоксилированию с формированием п-гидроксифенилпировиноградной (п-оксифенилпировиноградной) кислоты. Далее следует аминирование этих кетокислот с образованием соответственно фенилаланина и тирозина. Данные аминокислоты могут участвовать в биосинтезе молекул белков и некоторых групп алкалоидов.

При дезаминировании аминокислот (фенилаланина и тирозина) в присутствии ферментов (соответствующих аммиак-лиаз) получают транс-коричная и транс-гидроксикоричная кислоты. Из коричных кислот с помощью гидроксилующих и метоксилирующих ферментов синтезируются соединения фенилпропанового ряда – оксикоричные кислоты (например, кофейная, феруловая, синаповая) и кумарины.

Известен также путь к фенилаланину и тирозину через L-арогеновую кислоту. Она образуется в результате аминирования префеновой кислоты с использованием L-глутаминовой кислоты в качестве донора аминогруппы. Далее L-арогеновая кислота подвергается либо окислительному декарбоксилированию под действием арогенатдегидрогеназы, либо сопровождающейся декарбоксилированием дегидратации при участии арогенатдегидратазы. Дегидратация и декарбоксилирование арогената приводят к образованию фенилаланина, а окисление и декарбоксилирование – тирозина.

Фенилаланин, тирозин и продукты их обмена дают начало множеству различных соединений, таких как: фенилпропаноиды, катехоламины, алкалоиды (изохинолиновые, тропановые, протоалкалоиды), лигнины, меланины.

Формированием аминокислот фенилаланина, тирозина и триптофана построение бензольного кольца завершается. Заканчивается и весь шикиматный путь, который как источник фундаментальных составляющих (в первую очередь – трёх протеиногенных ароматических аминокислот – фенилаланина, тирозина и триптофана) живой материи фактически представляет часть первичного метаболизма.

Шикиматный путь – один из древнейших эволюционно консервативных метаболических путей.

Функция шикиматного пути не ограничивается получением аминокислот для биосинтеза белков. Он также поставляет предшественники для очень разнообразного ряда других соединений, синтезируемых растениями в больших количествах, особенно фенилпропаноидов, флавоноидов и лигнинов. Так как

суммарное количество этих продуктов может составлять большую долю от общей клеточной массы (у некоторых растений до 50 % сухого вещества), шикиматный путь можно считать одним из основных биосинтетических путей растений.

Шикиматный путь осуществляется в клетках микроорганизмов, грибов, растений. 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 высших растений ключевые этапы шикиматного пути проходят в пластидах, однако гены ферментов локализованы в ядре; при нормальных условиях роста около 20 % всего усваиваемого растением углерода протекает этим путем. Животные, не имеющие ферментной системы шикиматного пути, поскольку получают протеиногенные ароматические аминокислоты и прочие необходимые продукты шикиматного пути в достаточном количестве с пищей, освобождены эволюцией от необходимости их биосинтеза *de novo*.

Ранее полагали, что ферменты шикиматного пути локализованы исключительно в пластидах. Но сегодня доказано существование также и цитозольных форм ряда ферментов шикиматного пути: шикиматдегидрогеназы, хоризматмутазы и некоторых других. Однако цитозольная ветвь шикиматного пути не может восполнить дефекты в пластидной ветви, что говорит об их разной физиологической нагрузке.

Образование фенилпропаноидов (оксикоричных, фенолкислот кислот и кумаринов)

Основная масса фенольных соединений происходит из гидроксикоричных (оксикоричных) 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 гидроксикоричных 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 малонилСоА). Флавоноиды являются источником конденсированных танинов. В образовании ряда фенольных соединений (гидролизуемых танинов) участвуют сахара и продукты распада углеводов и липидов — ацетил-СоА (малонил-СоА).

Первой реакцией вторичных превращений фенольных соединений является дезаминирование фенилаланина, катализируемое центральным ферментом фенилпропаноидного метаболизма — фенилаланинаммиак-лиазой. Реакция дезаминирования фенилаланина является ключевой в биосинтезе фенольных соединений, поскольку с нее начинается образование большинства полифенолов в тканях растений. Вместе с тем она представляет собой связующее звено между

первичным и вторичным метаболизмом, между метаболизмом ароматических аминокислот и метаболизмом фенольных соединений. Данный фермент наиболее изучен в биохимии вторичного метаболизма растений и является индуцибельным, то есть благодаря индукции экспрессии кодирующих генов его активность резко увеличивается при действии стресс-факторов (УФ-свет, недостаток минерального питания, грибковая инфекция и др.). При этом дезаминирование фенилаланина ведет к образованию предшественника фенилпропаноидов – транс-коричной кислоты, которая на следующей стадии подвергается пара-гидроксилированию с образованием из нее пара-оксикоричной или п-кумаровой кислоты. п-Кумаровая кислота сходным путем может образовываться из тирозина при действии тирозинаммиак-лиазы, однако реальные масштабы дезаминирования тирозина гораздо меньше, чем фенилаланина, а у двудольных растений отсутствуют вообще. Таким образом, фенилаланин считается основным предшественником фенольных соединений, а п-кумаровая кислота – первым простейшим их представителем, который служит родоначальником большинства других растительных фенолов.

Следует отметить, что существуют и минорные пути, биосинтеза ряда фенольных соединений, таких как галловая, протокатеховая и салициловая кислоты (фенолкислоты), минуя конечные стадии шикиматного пути. Например, у некоторых растений (*Rhus typhina*, *Camellia sinensis*, *Vaccinium vitis-idaea*) шикимовая кислота может подвергаться прямой ароматизации, минуя стадию фенилаланина, с образованием галловой кислоты. Следовательно, у этих растений фенольная часть галлотаннинов может быть синтезирована непосредственно из шикимовой кислоты, а не из фенилаланина по стандартному пути биосинтеза фенольных соединений. Кроме того, фенолкислоты п-оксибензойная и салициловая могут образовываться непосредственно из хоризмовой кислоты – одного из промежуточных продуктов шикиматного пути.

Таким образом, оксибензойные кислоты (фенолкислоты) могут образовываться не только из оксикоричных кислот при помощи механизма β -окисления, но и из ранних продуктов шикиматного пути (шикимовой и хоризмовой кислот).

Наиболее детально изучен биосинтез галловой кислоты. Как правило, в молодых листьях растений шикимовая кислота служит гораздо более эффективным предшественником галловой кислоты по сравнению с L-фенилаланином. Во взрослых листьях оба пути имеют примерно одинаковую эффективность.

Хотя реакция дезаминирования L-фенилаланина теоретически обратима, в растениях ее равновесие практически полностью сдвинуто в сторону образования транс-коричной кислоты. Образовавшаяся из L-фенилаланина транс-коричная кислота далее подвергается пара- или орто-гидроксилированию.

При образовании фенилпропаноидных соединений в гидроксилирование ароматического кольца вовлечены три фермента микросомального происхождения. Наиболее хорошо из них изучена 4-гидроксилаза коричной кислоты, которая присоединяет гидроксильную группировку к коричной кислоте

в пара-положении. Итак, транс-коричная кислота при участии этого фермента превращается в п-кумаровую кислоту. Активность 4-гидроксилазы транс-коричной кислоты индуцируется освещением при участии фитохромной системы, а также при механических повреждениях тканей, при воздействии этилена, ионов марганца, фенобарбитала, этанола. Другие гидроксилазы катализируют присоединение ОН-группировки при орто-положении, что приводит к образованию кофейной кислоты, а из нее благодаря последовательному гидроксированию и метоксилированию образуются феруловая, 5-оксиферуловая и синаповая кислоты.

Пара-кумаровая кислота является первым и с биогенетической точки зрения простейшим фенольным соединением растений, которое служит родоначальником большинства других растительных фенолов. Она активизируется в КоА-лигазной реакции, а затем в виде активного КоА-эфира может вступать в реакции с различными другими метаболитами клетки или же подвергаться иным формам преобразований. В результате таких превращений в растениях в виде уже конечных продуктов образуются представители разных классов полифенольных соединений.

При окислительном укорачивании боковой цепи *n*-кумаровой кислоты образуются: ацетофеноны, фенилуксусные, фенолкарбоновые кислоты (соединения C₆-C₂-ряда и C₆-C₁-ряда).

Восстановление ее боковой цепи вместе с последующей димеризацией или полимеризацией восстановленного продукта ведет к образованию лигнинов и полимерных фенолов типа лигнина (суберин).

После введения дополнительной гидроксигруппы в орто-положении к боковой цепи происходит спонтанная циклизация последней с образованием кумаринов.

Когда же *n*-кумаровая кислота подвергается этерификации или связывается с разными полимерными веществами клетки, то из нее образуются различные конъюгированные формы гидроксикоричных кислот и их производных.

Однако важнейшим ответвлением в комплексе возможных превращений *n*-кумаровой кислоты в фенольные соединения является путь, ведущий к образованию флавоноидов.

Образование кумаринов

Помимо широко распространенной п-кумаровой или п-оксикоричной кислоты в некоторых растениях найдена орто-оксикоричная кислота. Ее трансформа устойчива, но цис-форма, называемая также кумариновой кислотой, в кислой среде мгновенно циклизуется с образованием устойчивого лактона кумарина.

Образование фурукумаринов происходит с привлечением диметилаллилпирофосфата, основного элемента в биосинтезе терпеноидов, диметилаллилтрансфераз и различных P₄₅₀/NADPH/O₂-зависимых синтаз (ангелицин-, бергаптол-, псораленсинтаз и др.).

Биосинтез флавоноидов

Существенной особенностью строения флавоноидов по сравнению с другими полифенолами является двойное биогенетическое происхождение двух бензольных колец их структуры. На основании опытов с ^{14}C -продуктами установлено, что в скелете флавана кольцо В и трехуглеродный фрагмент синтезируются из п-кумаровой кислоты, а кольцо А – из трех молекул малонил-СоА из ацетатно-малонатного пути.

Хотя в обширную группу вторичных веществ фенольной природы входит более десяти классов различных по строению основного углеродного скелета природных соединений и каждый из этих классов объединяет сотни или даже тысячи (флавоноиды) индивидуальных соединений с существенными вариациями в природе прикрепленного к основному остову их молекулы набора заместителей (различия по числу и расположению в молекуле гидроксидных групп, остатков сахаров, органических кислот и других заместителей и т.п.), подавляющее большинство растительных фенольных соединений связано биогенетическим родством. Они составляют одно большое семейство веществ единого метаболического происхождения. Обусловлено это тем, что основной структурный элемент всех фенольных соединений – бензольное кольцо – образуется в растениях, как правило, по так называемому шикиматному пути. Синтезированный таким образом фрагмент ароматической структуры является той базовой единицей, из которой путем разных дополнительных превращений образуются почти все фенольные соединения растений. Лишь у ограниченного числа растительных фенолов ароматические кольца синтезируются по другому механизму – путем поликетидной конденсации ацетатных единиц (ацетатно-малонатный путь).

Ацетатно-малонатный путь в отличие от шикиматного мало распространен у высших растений. В нем происходит синтез поликетометиленовых цепочек из исходного ацетил-КоА: $\text{CH}_3\text{CO}\sim\text{SCoA} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{COOH-CH}_2\text{CO}\sim\text{SCoA}$ (ацетил-СоА-карбоксилаза, АТФ, Mn^{2+}). В дальнейшем может происходить циклизация поликетидной цепи с образованием кольца флавана или антрахинонов.

При синтезе флавоноидов к алифатической боковой цепочке п-кумаровой кислоты присоединяются три конденсированных ацетатных фрагмента, из которых после внутримолекулярного замыкания (с участием халконсинтазы) возникает второе бензольное кольцо 15-углеродного флаванового скелета. При этом сначала на основе такой структуры образуется халкон – простейшая форма флавоноидов, у которой центральное гетероциклическое кольцо еще не замкнуто. Халкон под влиянием соответствующей изомеразы обычно превращается в свою изомерную форму – флаванон, который уже полностью обладает той типичной трехкольцевой структурой, характерной для большинства флавоноидов.

Следует отметить, что образование флаванона является обязательной промежуточной стадией на пути биосинтеза всех флавоноидов. В дальнейшем могут происходить окислительные или восстановительные превращения, ведущие к изменению степени окисленности центрального гетероциклического

кольца молекулы. В результате из флаванона образуются все остальные классы флавоноидов: катехины, лейкоантоцианидины, флавоны, флавонолы, антоцианидины, изофлавоноиды и др.

Синтез нафтохинонов и антрахинонов

Шикимовая кислота почти всегда служит предшественником при биосинтезе производных нафтохинона. Вторым компонентом в этом биосинтезе является 2-оксоглутаровая (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 часть молекулы – из некарбокисильных C-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.

У других же высших растений антрахиноновые производные образуются из ацетатных-малонатных остатков по типу поликетидного синтеза. Антрахиноны являются, по-видимому, единственной группой растительных полифенолов, углеродный скелет которых может целиком синтезироваться по ацетатно-малонатному пути. В этом процессе в качестве молекулы «затравки» участвует молекула ацетил-КоА, к которой последовательно присоединяются семь молекул малонил-КоА с отщеплением от последних в ходе конденсации свободной карбокисильной группы и с образованием поликетидной цепи типа поликетокислоты.

Эта кислота неустойчива и приобретает стабильную форму лишь после замыкания колец с образованием из нее промежуточного соединения – антрона. Отличительной особенностью структуры антрона является наличие во 2-м положении его молекулы карбокисильной, а в 3-м – метильной групп. В ходе дальнейших реакций на пути биосинтеза антрахинонов и других антраценовых производных карбокисильная группа обычно отщепляется, а метильная либо сохраняется, либо окисляется в спиртовую или карбокисильную.

Образование дубильных веществ

Конденсированные танины являются полимерами флавоноидов и образуются как продукты фенилпропаноидного метаболизма. Образование конденсированных дубильных веществ является следствием окислительных реакций, катализируемых ферментами фенолоксидазного или пероксидазного типа.

Гидролизуемые танины состоят из остатков галловой кислоты, которые в основном связаны с молекулами гексоз. Галловые кислоты у растений образуются преимущественно по шикиматному пути.

Синтез лигнанов и лигнинов

Лигнины и лигнаны имеют общих фенилпропаноидных предшественников: синаповый, конифериловый и п-кумаровый оксикоричные спирты. Однако биосинтез лигнанов связан с избирательным стереоспецифическим образованием димеров в отличие от формирования оптически неактивных лигнинов.

Лакказы катализируют одноэлектронное окисление 2-х молекул кониферилового спирта, после чего белок диригент (от лат. *dirigere* – направлять) ориентирует свободно-радикальные формы в определенном положении, которое приводит к формированию C8-C8'-связанного продукта. Интересно, что фермент этой реакции гомологичен фитоалексин-индуцируемой изофлавоноидредуктазе, что указывает на эволюционно общее звено в системе защиты растений для лигнанов и изофлавоноидов.

Механизм синтеза лигнина также не раскрыт полностью, его условно можно разделить на два этапа. Оксикоричные спирты подвергаются окислению в соответствующие феноксильные радикалы (п-гидроксифенильный, гваяцильный и сирингильный), а последние уже вовлекаются в процесс полимеризации по свободно-радикальному механизму. Лигнификация – программируемый процесс, находящийся под строгим биохимическим контролем, при этом соотношение трех главных единиц, а также типов внутримолекулярных связей может существенно изменяться в онтогенезе клетки и зависеть от условий роста, стадий развития клетки, действия стрессоров и прочих факторов.

Образовавшиеся фенолы всех основных классов и подклассов могут в дальнейшем подвергаться дополнительному окислению с увеличением числа фенольных ОН-группировок в их молекуле. Через эти группы легко могут происходить реакции метилирования, гликозилирования и ацилирования, ведущие к включению разных заместителей в молекулу. Большинство фенолов встречается в растениях в форме водорастворимых гликозидов. Возможны и некоторые другие формы вторичной модификации основной структуры фенолов. В результате конечная структура индивидуальных соединений в пределах каждого класса фенолов может в широких пределах варьировать как по набору заместителей, так и по другим особенностям. Какими именно окажутся вторичные признаки строения у индивидуальных представителей полифенолов в каждом отдельном случае, определяет активирование комплекса ферментов (метил-, гликозил- и ацилтрансфераз и др.) в определенные фазы развития конкретных видов растений.

Представляет интерес вопрос о пространственном местонахождении в клетке ферментов и интермедиатов фенольного метаболизма. В клетках растений, помимо цитозоля, имеется несколько компартментов образования фенольных соединений. Прежде всего, это хлоропласты (или этиопласты), ЭПР (оксикоричные кислоты, некоторые флавоноиды), а также митохондрии и микротела (образование п-оксибензойной кислоты, предшественника убихинонов).

Таким образом, синтез фенольных соединений происходит как в цитозоле, так и в хлоропластах, где существуют два независимых пути синтеза ароматических соединений. Для синтеза фенольных соединений растение использует основные метаболические пути, связанные с образованием углеводов, аминокислот, липидов.

Выделение фенольных соединений из растительного материала и методы исследования фенольных соединений

Фенолы обладают достаточно высокой растворимостью в воде, однако для полного их извлечения необходимо использовать водноспиртовые 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 высушивают. 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 фенольных соединений на бумаге 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

Экстракция 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. Некоторые авторы для более полной экстракции рекомендуют добавлять в растворитель детергенты.

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°C. 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

Экстракция. 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 изоамилового 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.

Тонкослойная хроматография. 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 железоаммонийными 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 % H₂SO₄);

– свободная эллаговая кислота дает красно-фиолетовую окраску при добавлении нескольких кристаллов нитрита натрия и трехчетырех 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.

Количественное определение дубильных веществ. 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).

Титриметрический желатиновый метод (метод Якимова и Курницкой) основан на способности дубильных веществ образовывать нерастворимые комплексы с белками. Водные извлечения из сырья титруют 1 % раствором желатина. В точке эквивалентности комплексы (желатино-таннаты) растворяются в избытке реактива. Этот метод наиболее точный, так как позволяет определить количество истинных дубильных веществ. Недостатки метода: длительность определения и трудность установления точки эквивалентности.

Перманганатометрический метод (метод Левенталя в модификации Курсанова). Это фармакопейный метод, основанный на легкой окисляемости дубильных веществ перманганатом калия в кислой среде в присутствии индикатора и катализатора индигосульфокислоты, которая в точке эквивалентности раствора меняет окраску от синей до золотисто-желтой.

Метод экономичный, быстрый, прост в исполнении, но недостаточно точен, так как перманганат калия частично окисляет и низкомолекулярные фенольные соединения.

Спектрофотометрический метод определения количества дубильных веществ основан на измерении оптической плотности окрашенных продуктов взаимодействия катехинов с железотартратным реактивом в присутствии 0,1 М

фосфатного буфера с рН 8,2. Он считается наиболее точным и эффективным, не требующим больших затрат времени

1.3.9. Минорные группы вторичных метаболитов растений

Помимо групп вторичных метаболитов с химической структурой изопреноидов, алкалоидов и фенольных соединений выделяют минорные группы, отличающиеся небольшим количеством представителей – тиогликозиды, цианогенные и сердечные гликозиды, сапонины, аллицины, беталаины, тиофены, небелковые аминокислоты и др.

Общие сведения о гликозидах. Строение и классификация

Гликозиды (от греческих слов *glykys* — сладкий и *eidos* — вид) представляют особую группу, которую отличает специфическая модификация, связанная с присоединением органического радикала (терпены, алкалоиды, антоцианы, флавоны и др.) к углеводному остатку (гликозилирование). Гликозилирование изменяет активность и свойства молекул, влияет на распределение веществ в тканях, что играет важную роль в метаболизме.

Широко распространенные природные соединения, в которых углеводная часть молекулы связана через гетероатом (O, S или N) с органическим соединением.

Названия природных гликозидов содержат суффикс «ин», а корень, как правило, производится от названия растения или растительного продукта, в котором этот гликозид был впервые обнаружен. Например, гликозид хедерин – из плюща обыкновенного (*Hedera helix*), строфантин – из растений рода строфант (*Strophanthus*).

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 (через полуацетальный гидроксил).

В большинстве случаев биологическое значение гликозидов обеспечивается структурой агликона.

Наличие в структуре гликозида фрагментов сахаров существенно повышает их растворимость и облегчает их транспорт по растению.

Агликонами могут быть самые различные соединения, поэтому гликозиды, как правило, не рассматриваются в качестве отдельного класса вторичных метаболитов. Так, например, гликозиды, содержащиеся в качестве агликона фенольные соединения (антоцианы, халконы), принято относить к фенолам. Гликозиды, содержащиеся в качестве агликонов соединения стероидной природы (сердечные гликозиды и сапонины), относят к изопреноидам (тритерпеноидам). В виде гликозидов, как правило, в растениях находятся стероидные алкалоиды, что послужило причиной их второго названия (гликоалкалоиды).

Различают:

По размеру цикла: *пиранозиды* (шестичленный или пирановый гликозильный цикл) и *фуранозиды* (пятичленный или фурановый гликозильный цикл);

- *α*- и *β*-гликозиды в зависимости от конфигурации углевода, **большинство природных гликозидов имеют β-конфигурацию**;
- По числу моносахаридных остатков в углеводной части молекулы: *монозиды, биозиды, триозиды* (соответственно производные моно-, ди и трисахаридов). Гликозиды, содержащие 4 и более остатков сахаров встречаются значительно реже. Сахарные компоненты, входящие в состав гликозидов, в основном относятся к моносахаридам. Среди моносахаридов чаще всего встречаются *глюкоза, рамноза и галактоза*.
- По химическому строению агликона: *алифатические, ароматические, гетероциклические*. Агликоны могут принадлежать к различным классам органических соединений: спиртам, альдегидам, кислотам, фенолам, производным антрацена, циклопентанпергидрофенантрена и др.

Гидролиз гликозидов происходит с разрывом гликозидной связи под действием ферментов гликозидаз. Ферменты действуют избирательно по отношению к определенным гликозидам и даже к их изомерам.

Классификация гликозидов:

– *гомо-* и *гетерогликозиды*. Пример гомогликозида – крахмал. Гетерогликозиды содержат разнообразные агликаны (не относящиеся к углеводам), что затрудняет их классификацию.

– в зависимости от участия атомов O, N или S в образовании гликозидной связи различают *O-, N- или S-гликозиды*, а в случае C-C-связи агликана с сахаром – *C-гликозиды*.

К S-гликозидам относят небольшую группу тиогликозидов (глюкозиноляты). O-гликозиды наиболее распространенная группа гликозидов. Различают:

Фенилгликозиды (содержат одноатомные или многоатомные фенолы; примеры: арбутин, салицин);

Антрахинонгликозиды или антрагликозиды (содержат производные антрахинона, примеры: барбалоин из листьев алоэ, реохризин из ревеня);

Флавогликозиды или флавоноидные коферменты (содержат производные флавана или флавонола; примеры: рутин, катехины, обладающие Р-витаминной активностью; пигментные гликозиды, которые объединяют гликозиды антоцианов, флавонолов и др. пигментов растений – мальвин из дикой мальвы, генистеин из дрока красильного);

Азотсодержащие O-гликозиды, включающие цианогенные гликозиды и гликоалкалоиды (соласодин – глюкоалкалоид паслена дольчатого – источник для синтеза кортизона, прогестерона и др. синтетических аналогов стероидных гормонов);

Сапониновые гликозиды или сапонины (в качестве агликана содержат соединения стероидной и тритерпеновой природы);

Стероидные гликозиды или сердечные гликозиды. В малых дозах оказывают специфическое действие на сердечную мышцу. Агликоны имеют стероидную структуру.

Горькие гликозиды или иридоиды (агликоны – монотерпеноиды).

Тиогликозиды (глюкозиноляты) или S-гликозиды

Наименее распространенная группа гликозидов.

Тиогликозиды широко представлены в растениях семейства Крестоцветные, реже – в семействах Луковые и Настурциевые. Они находятся в виде солей с щелочными металлами, чаще всего с калием. При гидролизном распаде образуют соответствующие сахара и меркаптаны. В растении тиольные гликозиды, как и цианогенные гликозиды, пространственно отделены от гидролизующих их ферментов. При повреждении растительных тканей происходит ферментативное расщепление гликозидов с образованием летучих токсичных веществ с горчичным запахом — изотиоцианатов и нитрилов. Обладают сильным антимикробным действием и обуславливают острый или жгучий вкус горчицы, хрена, редьки.

Синигрин содержится в семенах горчицы сарепской и горчицы черной, корнях хрена обыкновенного. *Синальбин* – в семенах горчицы белой, *глюкотропеолин* выделен из настурции.

Тиогликозиды обладают одним общим свойством – при гидролизе раздражающе действуют на слизистые оболочки и кожу. Благодаря этому свойству некоторые растения, содержащие тиогликозиды, издавна используются в качестве сырья для получения лекарств, оказывающих местное раздражение или отвлекающее действие при воспалительных процессах и ревматизме.

Цианогенные гликозиды

Цианогенные гликозиды (ЦГ) – β -гликозиды циангидринов (2-гидроксиинитрилов).

Циангидрины образуются из различных аминокислот: амигдалин – из фенилаланина, линамарин – из валина).

Известно несколько десятков ЦГ. Отличаются по природе заместителей и по остатку сахара.

В качестве углеводного фрагмента у цианогенных гликозидов, как правило, выступает D-глюкоза. Но есть и исключения из этого правила. Например, углеводной частью амигдалина является дисахарид гентиобиоза.

Встречаются у представителей сем. Розовые, Бобовые и Злаки.

Цианогенные гликозиды присутствуют, как правило, в вакуолях клетки, а β -гликозидаза, отщепляющая углеводный фрагмент молекулы, – в цитозоле. Следует отметить, что для β -гликозидаз характерна избирательность по отношению к различным цианогенным гликозидам. В частности, гликозидазы, достаточно активно расщепляющие ароматические цианогенные гликозиды, гораздо менее активны по отношению к гликозидам с алифатическими агликонами (линамарин, лотаустралин).

Высвобождающиеся при гидролизе ЦГ циангидрины в физиологических условиях разлагаются с образованием соответствующего карбонильного соединения синильной кислоты, что обуславливает токсичность растений, содержащих ЦГ. При использовании растений, содержащих цианогенные гликозиды, для пищевых целей проводят предварительную очистку. Например, при получении миндального масла из семян горького миндаля удаляют амигдалин.

Сердечные гликозиды

Соединения преимущественно растительного происхождения, специфической структуры, обладающие кардиотонической активностью.

Основой агликона является стероидная (циклопентанпергидрофенантроновая) структура (полностью или частично гидрированная), связанная у большинства гликозидов с ненасыщенным лактонным кольцом. Гликон может быть представлен разными сахарами: D-дигитоксой, D-глюкозой, D-цимарозой, D-рамнозой и др. Иногда к сахаристой части присоединен остаток уксусной кислоты. Кольца А/В могут иметь как цис-, так и транс-сочленение. Относительно кольца В кольцо С всегда занимает транс-положение. Кольца С и D в отличие от других природных стероидов имеют всегда цис-сочленение.

У агликонов сердечных гликозидов могут быть заместители у 3, 5, 10, 12, 13, 14, 16 углеродных атомов, а в положении С17 находится ненасыщенное лактонное шестичленное или пятичленное кольцо.

Кроме того, гидроксильные группы могут находиться в положениях 1, 2, 11, 15. Гидроксил при С16 в некоторых агликонах может быть этерифицирован муравьиной, уксусной или изовалериановой кислотами. Выделены из растений также агликоны сердечных гликозидов, содержащие в стероидной части молекулы двойные С=С-связи, кетогруппы, эпоксидные кольца. Заместители у С3 находятся в α-положении, у С5 и С14 – в цис-положении, лактонное кольцо может находиться в α- и β-положении. Биологическая активность сердечных гликозидов зависит от стереохимического строения гликозидов. Активны только те гликозиды, у которых кольца А/В имеют цис-сочленение.

Специфическое действие веществ этой группы на сердечную мышцу обусловлено наличием в их молекуле ненасыщенного лактонного кольца. Любые изменения в структуре лактонного кольца ведут к потере этими веществами характерного сердечного действия. Такими изменениями могут быть: 1) расщепление лактонного кольца под действием щелочи; 2) образование при гидрировании гидролактона.

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.

Строение сахарного компонента. Сахарные компоненты присоединяются к агликону за счет гидроксильной группы в положении С3. Длина сахарной цепочки у различных гликозидов разная — от одной молекулы до нескольких. В

составе сердечных гликозидов обнаружено до 30 различных сахаров, причем большинство из них (кроме глюкозы, фруктозы и рамнозы) сахара, специфические для сердечных гликозидов, в других веществах растительного происхождения они не встречаются. Характерной особенностью специфических сахаров, входящих в состав сердечных гликозидов, является то, что они обеднены кислородом, т. е. относятся к дезоксисахарам. Это 6-дезоксидезокси- и 2,6-дидезокси-гексозы, которые, кроме того, часто содержат метоксильные или ацетильные группы в различных положениях, например дигитоксоза, цимароза, олеандроза, дигиноза и др. Углеводные компоненты природных сердечных гликозидов построены линейно, к агликону присоединяются сначала дезоксисахара, а концевым моносахаридом служит глюкоза.

Биологическая активность сердечных гликозидов зависит от числа метильных групп и особенно гидроксильных групп у углеродных атомов «скелета». С увеличением числа гидроксильных групп повышается полярность соединения и, естественно, растворимость в воде. По кардиотоническому действию агликоны мало отличаются от исходных сердечных гликозидов, но быстро инактивируются в печени.

По строению заместителя (пяти- или шестичленное ненасыщенное лактонное кольцо) у С17 сердечные гликозиды делят на **карденолиды** и **буфадиенолиды**. *Большинство сердечных гликозидов принадлежат к первой группе.*

В зависимости от заместителя в положении С10 карденолиды подразделяются на три подгруппы. Первая подгруппа – подгруппа наперстянки; к ней относятся гликозиды, агликоны которых в положении С10 имеют метильную группу (-СН₃). Гликозиды этой подгруппы медленно всасываются и медленно выводятся из организма, обладают кумулятивным действием.

Вторая подгруппа – подгруппа строфанта включает сердечные гликозиды, агликон которых в положении С10 имеет альдегидную группу. Эти гликозиды быстро выводятся из организма, не обладают кумулятивным действием.

Третья подгруппа объединяет сердечные гликозиды, имеющие в положении С10 спиртовую группу (-СН₂ОН).

Буфадиенолиды (от лат. *Bufo* – жаба) – биологически активные вещества растительного и животного происхождения, обладающие кардиотоническим и кардиотоксическим действием.

Буфадиенолиды в гликозилированной форме содержатся в растениях семейств Лилейные и Лютиковые, в свободном виде или в виде гликозидов – в защитном секрете кожных желез некоторых видов жаб (например, буфоталин в секрете жабы обыкновенной *Bufo bufo*).

Кардиотоническое и, в высоких дозах, кардиотоксическое действие буфадиенолидов обусловлено ингибированием Na^+, K^+ -АТФаз (аденозинтрифосфатаз) позвоночных, что ведет к подавлению мембранного транспорта ионов натрия и калия через мембраны клеток сердечной мышцы.

Сердечные гликозиды включают различное количество остатков сахаров: моно-, ди-, три и тетрасахариды. Чем больше остатков моносахаридов в молекуле гликозида, тем активнее он действует.

Остатки сахаров влияют на степень растворимости гликозидов, их проницаемость через мембраны, способность связываться с белками цитоплазмы и тканей, определяя продолжительность действия препарата и его токсичность.

Сердечные гликозиды обнаружены у растений 13 семейств, в том числе Лилейные, Кутровые, крестоцветные, Лютиковые, Норичниковые и др. В основном растения содержат карденолиды (разные виды наперстянки, строфант, ландыш, желтушник, олеандр и др.). Буфодиенолид геллебригенин входит в состав морозника, а сцилларенин и сциллирозидин – морского лука.

Сердечные гликозиды могут накапливаться в различных органах растений: в листьях (олеандр, наперстянка), цветках (ландыш), коре (обвойник), семенах (строфант). Сердечные гликозиды и препараты сердечных гликозидов делят согласно видовой принадлежности растений, в которых они содержатся.

Различают сердечные гликозиды: наперстянки (дигитоксин, дигоксин, целанид), строфанта (строфантин), горицвета (цимарин, адонитоксин), ландыша (конваллотоксин, конваллозид), желтушников (эризимин, эризимозид).

Дигитоксин получают из разных видов наперстянки, однако наибольшее значение имеет Наперстянка красная и Наперстянка крупноцветковая. В листьях Наперстянки шерстистой обнаружены гликозиды дигоксин и целанид. Дигоксин по своему действию на кровообращение близок к другим сердечным гликозидам, однако меньше, чем дигитоксин связывается с белками сыворотки крови и быстрее выводится из организма. Целанид оказывает быстрый эффект и менее способен к кумуляции в организме.

По характеру действия гликозиды горицвета близки к гликозидам наперстянки, однако, обладают более мягким действием, практически исключают опасность кумуляции и назначаются при сравнительно легких формах хронической недостаточности кровообращения.

Все части ландыша (для приготовления препаратов используют траву Ландыша майского, Ландыша закавказского и Ландыша японского, собранная в период цветения) содержат гликозиды конваллотоксин и конваллозид, родственные по химическому строению к гликозидам наперстянки. Гликозиды ландыша отличаются малой стойкостью, при приеме внутрь действуют слабо.

Известны лекарственные препараты наперстянки (дигитоксин, кордигит, наперстянки лист, дигоксин, лантозил, медулазид, целанид и др.), горицвета (горицвета весеннего трава), строфанта (строфантин К), ландыша (ландыша настойка, коргликон), желтушников (кардиовален).

Сердечные гликозиды легко подвергаются ферментативному, кислотному и щелочному гидролизу. Ферменты, расщепляющие сердечные гликозиды, 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.

Сапонины

Сапонины – высокомолекулярные гликозиды растительного происхождения, обладающие специфическими свойствами и физиологическим действием на животные организмы. Растворы сапонинов при взбалтывании образуют густую стойкую пену. Название происходит от латинского *sapo* — мыло.

Для выделения группы сапонинов из других вторичных метаболитов используются свойства поверхностной активности и гемолитической активности. Однако не все сапонины могут ими обладать. Поэтому вещества входят в группу сапонинов на основе структурной формулы (стероидные и терпеноидные гликозиды).

Молекула сапонинов не содержит азота, состоит из сахара и агликона (сапогенина). Углеводный компонент может содержать от 1 до 11 моносахаридов (глюкоза, галактоза, ксилоза, рамноза, арабиноза, галактуроновая кислота, глюкуроновая кислота). Образуют линейные или разветвленные цепи и могут присоединяться по гидроксильной или карбоксильной группе агликона.

В зависимости от строения агликона выделяют **стероидные и тритерпеновые сапонины**.

Физические свойства:

Сапонины – бесцветные или желтоватые аморфные вещества. Оптически активны. Гликозиды растворимы в воде и спиртах, нерастворимы в органических растворителях; свободные сапогенины, наоборот, не растворяются в воде и хорошо растворимы в органических растворителях. В кристаллическом виде получены представители, которые имели в своем составе не более 4 моносахаридных остатков. С увеличением количества моносахаридов повышается растворимость сапонинов в воде и других полярных растворителях. Сапонины с 1-4 моносахаридными остатками в воде растворяются плохо.

Специфическим свойством сапонинов является их способность снижать поверхностное натяжение жидкостей (воды) и давать при встряхивании стойкую обильную пену.

Почти все сапонины обладают гемолитической активностью, т.е. вызывают гемолиз (растворение) эритроцитов. Причиной гемолиза является образование сапонинами комплексов с холестерином мембран, вследствие чего оболочка эритроцита становится проницаемой и гемоглобин выходит в плазму крови, окрашивая ее в красный цвет. Поэтому сапонины токсичны для животных организмов.

При приеме внутрь сапонины не ядовиты, т.к. не всасываются и разрушаются в кишечнике. В больших дозах вызывают рвоту вследствие раздражения слизистых оболочек ЖКТ. В распыленном состоянии вызывают чихание и неприятное ощущение в горле. Токсические свойства проявляют только при введении в кровь.

Агликоны сапонинов (сапогенины), как правило, являются кристаллическими веществами, и в отличие от сапонинов, не обладают гемолитической активностью и не токсичны для рыб.

Стероидные сапонины

Стероидные сапонины – это биологически активные соединения, агликоны которых – сапогенины (или генины) – представляют собой C₂₇ стероиды с циклопентанопергидрофенантроновым скелетом (кольца А, В, С, D). В отличие от агликонов сердечных гликозидов не оказывают кардиотонического действия, что связано с отсутствием лактонного кольца при 17 атоме углерода и ряда других функциональных групп.

Не оказывают кардиотонического действия, что связано с отсутствием лактонного кольца при 17 атоме углерода и ряда других функциональных групп.

В зависимости от строения стероидной части их разделяют на две основные группы: стероидные гликозиды ряда спиростана (спиростаноловые) и стероидные гликозиды ряда фуростана (фуростаноловые). Гликозиды спиростанолового ряда содержат у C–17 атома спирокетальную группировку с двумя дополнительными кислородсодержащими кольцами – пятичленным Е и шестичленным F. У гликозидов фуростанолового ряда кольцо F разомкнуто и в положении C–26 β-связью присоединена молекула D–глюкозы.

Для стероидных гликозидов обязательным является присутствие 3–ОН группы, к которой присоединен углеводный остаток. Гораздо реже встречаются гликозиды, несущие углеводный компонент при C–1, C–2, C–5, C–6 и C–11. Число моносахаров в молекуле может составлять от одного до шести, чаще всего в состав углеводной цепочки входят D–глюкоза, D–галактоза, D–ксилоза, L–рамноза, L–арабиноза. Известны гликозиды, содержащие D–хинозозу, D–апиозу и D–фукозу. Стероидные гликозиды с одной углеводной цепочкой являются монодесмозидами. Нередко углеводная часть представлена двумя цепочками (бис–десмозидные гликозиды).

Стероидные гликозиды фуростанолового ряда являются бис-десмозидными гликозидами. Их сапогенины можно рассматривать как спиростанолы, у которых цикл F разомкнут с образованием двух дополнительных гидроксильных групп – одной полуацетальной у C–22 и второй у C–26, связанной с углеводным остатком, чаще всего с молекулой D–глюкозы. Второй углеводный остаток присоединен к молекуле сапогенина обычно у C–3.

Стероидные сапонины встречаются редко, в основном в растениях, произрастающих в условиях сухого и жаркого климата. Обнаруживаются совместно с сердечными гликозидами. В наперстянке обнаружен сапонин дигитонин, агликоном которого является дигитогенин.

Медицинское значение стероидных сапонинов

В медицине применяют экстракты и настойки растений, содержащих сапонины, а также препараты, приготовленные на их основе.

Стероидные сапонины обладают противосклеротическим эффектом и служат сырьем для получения гормонов.

В последние годы возрос интерес к стероидным гликозидам, изучение которых ведется в нескольких направлениях. С одной стороны, эти соединения используются для синтеза гормональных препаратов в фармацевтической промышленности. С другой – возрастает интерес к стероидным гликозидам, как веществам, обладающим широким спектром биологического действия на живые организмы. У этих соединений была обнаружена способность тормозить рост некоторых форм злокачественных образований; снижать уровень холестерина в крови и стимулировать овуляторные процессы у животных, а также антигрибная, антимикробная и противовирусная активности. Стероидные гликозиды оказались эффективными при лечении ревматизма, бронхиальной астмы, гемолитической анемии, гемодиализа.

Составная часть стероидных гликозидов – сапогенины, служат исходным сырьем для синтеза стероидных гормонов и их аналогов. Наибольшее значение среди сапогенинов, из которых получают гормональные препараты, имеет диосгенин, ведущее положение которого связано с тем, что в качестве сырья для его получения используют корневища дикорастущих и культивируемых видов диоскорей с высоким содержанием этого стероида. Основными поставщиками сырья для промышленного производства диосгенина является Мексика, страны Центральной Америки, Индия и Китай, где для массовой заготовки используются дикорастущие заросли диоскорей *Dioscorea composita*, *D. floribunda*, *D. tepinapensis*, *D. prazeri*, *D. Sylvatica*, *D. belizensis*, *D. zingiberensis*. Кроме корневищ диоскорей в качестве промышленного сырья за рубежом используются агавы, различные виды паслена, пажитника, юкки и ряд других растений.

Стероидным сырьем для синтеза гормонов служит соласодин, получаемый из культивируемого Паслена дольчатого *Solanum laciniatum*. Однако производство соласодина не рентабельно, поэтому недостаток исходного сырья для медицинской промышленности восполняется за счет импортируемого диосгенина. Экономически выгодным источником для получения диосгенина является растение *D. deltoidea*, в корневищах которой содержится до 6% этого стероида. В последние годы важным и перспективным источником диосгенина и стероидных гликозидов становятся высокопродуктивные штаммы суспензионной культуры клеток *D. deltoidea*, содержащие до 10% стероидных гликозидов.

Тритерпеновые сапонины

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 (относятся к группам даммарана, циклоартана, ланостана, кукурбитана и др.);
- б) пентациклические – содержат в структуре агликона 5 углеродных колец (производные олеанана, урсана и лупана).

Производные даммарана обнаружены в женьшене. Гликозиды женьшеня являются производными двух агликонов: панаксадиола и панаксатриола. Сапонины женьшеня в России называют панаксозидами, а в Японии – гинзенозидами, по латинскому названию женьшеня *Panax ginseng*.

Растения, содержащие тритерпеновые сапонины, распространены довольно широко. Особенно ими богаты представители семейств Синюховые, Астровые, Гвоздичные, Яснотковые, Валериановые, Аралиевые, Бобовые.

В растениях находятся в растворенном состоянии в клеточном соке как в надземных, так и подземных органах («мыльный корень»).

Мыльнянка лекарственная *Saponaria officinalis*, «красный мыльный корень» содержит до 35 % сапонинов.

Солодка голая или лакричник (*Glycyrrhiza glabra*) содержит тритерпеновые сапонины, в частности глицирризин (до 6 %), обладающий приторно сладким вкусом.

Препараты и сырье, содержащее тритерпеновые сапонины, применяют при заболеваниях дыхательных путей, а также как мочегонные, слабительные и тонизирующие средства.

Препараты солодки применяются как отхаркивающее; слабительное; противовоспалительное, спазмолитическое и антисекреторное средство при гастрите, язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки (препарат «Ликвиритон»); как антиаллергическое и противовоспалительное при бронхиальной астме (препарат «Глицирам»).

Стимулирующие и адаптогенные свойства настоек женьшеня, Элеутерококка колючего зависят от содержания в этих растениях тритерпеновых сапонинов. Тритерпеновые сапонины, экстрагированные из Каштана конского, эффективны при варикозном расширении вен и др. заболеваниях, связанных с нарушением периферического кровообращения.

Аллицины

Серосодержащие вторичные метаболиты.

Содержатся в чесноке *Allium sativum* и луке *Allium cepa*, определяют специфический чесночный или луковый вкус и запах.

Аллицин в свободном состоянии в чесноке не встречается, однако при чистке чеснока фермент аллииназа воздействует на аминокислоту аллиин, превращая ее в аллицин.

Аллицины синтезируются из цистеина.

Антимикробные (фитонцидные) свойства чеснока или лука обусловлены присутствием аллицинов.

Беталаины

Беталаины являются еще одной группой (помимо антоцианов) водорастворимых пигментов высших растений. Выполняют в растении роль, сходную с антоцианами привлекают опылителей и птиц для распространения семян. Чаще содержатся в цветках, но могут присутствовать в листьях, плодах и корнях.

По своей химической структуре они представляют собой алкалоиды. Это единственная группа алкалоидов (дигидроиндольные), имеющих яркую окраску.

Предшественниками беталаинов при биосинтезе в растениях являются тирозин и пролин. В царстве высших растений беталаины до сих пор обнаруживали только в семействах порядка Гвоздичные *Caryophyllales* (*Centrospermae*). Имеют ограниченное распространение и встречаются у растений сем. Кактусовые, Маревые, Портулаковые.

Помимо высших растений, беталаины известны как пигменты некоторых высших грибов, в частности, мухоморов.

Беталаины встречаются в виде гликозидов, находятся в вакуолях и разделяются на бетацианины и бетаксантины. В столовой свекле беталаины в больших количествах накапливаются и в подземных частях растения, однако это является результатом длительной селекционной работы. До сих пор не найдены растения, где эти две группы пигментов – антоцианы и беталаины – встречаются одновременно.

Бетацианины являются красно-фиолетовыми водорастворимыми пигментами растений порядка *Caryophyllales*. Их присутствие придает различным частям растения соответствующий оттенок (например, красно-фиолетовую окраску черешков листьев столовой свеклы). Бетаин получил название от свеклы (*Beta*), в клеточном соке которой был найден.

К настоящему времени известно более 50 бетацианинов. Все они являются гликозидами всего двух агликонов: бетанидина и изобетанидина. Эти агликоны состоят из двух гетероциклических систем – дигидроиндольной и дигидропиридиновой, связанных между собой двухуглеродным мостиком. Бетанидин и изобетанидин являются стереоизомерами и отличаются только пространственным расположением карбоксильной группы у C15-атома. При этом S-конфигурация соответствует бетанидину, а R-конфигурация – изобетанидину. Бетацианины могут быть монозидами или биозидами. Углеводный компонент чаще всего представлен глюкозой или глюкуроновой кислотой. Широко распространено ацилирование углеводного фрагмента.

Бетаксантины являются желтыми водорастворимыми пигментами растений порядка *Caryophyllales*. У бетаксантинов сохраняется дигидропиридиновое кольцо и связующий двухуглеродный мостик, но дигидроиндольное кольцо замещено аминокислотой или аминогруппой. К настоящему времени известно всего около десятка индивидуальных бетаксантинов.

Очевидно, беталаины играют в жизни растений ту же роль, что и антоцианы – они могут служить для привлечения насекомых и птиц в целях опыления и распространения семян. Беталаины играют важную роль в защите растения от патогенов. Показано, что проростки свеклы, содержащие бетанидин, более устойчивы к фитопатогенному грибу *Phythium debarium*. Выявлена также антимикробная и противовирусная активность ряда беталаинов.

Встречаются в виде гликозидов, находятся в вакуолях и придают растениям красно-фиолетовую (бетацианины) или желтую окраску (бетаксантины).

Класс внутренних солей, в которых анион и катион связаны внутри одной молекулы. Такое разделение зарядов по разным частям одной молекулы и наличие сопряженной системы кратных связей способствует появлению интенсивной красно-пурпурной окраски, характерной для корнеплодов свеклы.

Агликоном бетацианидинов является бетанидин или изобетанидин, а бетаксантинов – индикаксантин.

Тиофены

Тиофен – пятичленный серосодержащий гетероцикл.

Производные тиофена широко распространены в грибах и некоторых высших растениях. Ацетиленовые производные выделены из корней хризантем, бархатцев; полиацетиленовые – из эфирного масла кореопсиса крупноцветкового.

Биотин или витамин Н – производное тиофена. В растениях находится как в свободном, так и в связанном состоянии. Много в цветной капусте, бобах и горохе.

Многие производные тиофена являются лекарственными препаратами (антигельминтный препарат «Комбантрин», «Гельминтокс», «Пирантел»).

Небелковые аминокислоты

Под термином «непротеиногенные» (небелковые) аминокислоты подразумевают природные аминокислоты, их амиды, иминокислоты, которые, как правило, не входят в состав белков. Большинство непотеиногенных аминокислот в высших растениях находятся в свободном состоянии или в конденсированном виде с другими низкомолекулярными соединениями (глутаминовой, щавелевой, уксусной кислотами). Некоторые из непотеиногенных 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). Тому же образование непотеиногенных аминокислот в подобных белках происходит чаще всего путем посттрансляционной модификации протеиногенных аминокислот (например, гидроксипролин образуется путем гидроксирования пролина).

К настоящему времени известно более 400 непотеиногенных аминокислот. Многие из них можно рассматривать как модифицированные белковые аминокислоты. При этом наиболее обычными вариациями являются:

- удлинение или сокращение углеродной цепи (добавление или удаление 2 - или 3 -фрагментов);
- гидрирование и дегидрирование;
- гидроксирование;
- аминирование.

Фитохимическую классификацию непотеиногенных 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.

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.

Сходство по гомологии. Ряд непротеиногенных аминокислот гомологичен протеиногенным. Например, гомосерин содержит в углеродной цепочке на один углеродный атом больше, чем соответствующая протеиногенная аминокислота — серин.

Сходство по аналогии. В некоторых случаях в молекуле протеиногенной аминокислоты один атом водорода замещен какой-нибудь группой, в результате чего получается непротеиногенная аминокислота. Например, цистеин и S-метилцистеин. S-метилцистеин распространен в растениях и может выступать донором метильных групп в реакциях метилирования.

Аналогия может проявляться и по сходству в строении молекулы. Например, канаванин, выделенный из Канавалии мечевидной имеет сходное строение с аргинином, однако ядовит для человека. Вместе с тем некоторые непротеиногенные аминокислоты не являются близкими аналогами белковых аминокислот.

Как правило, непротеиногенные аминокислоты очень токсичны. Их токсичность обусловлена тем, что они включаются в состав белков вместо «нормальных» белковых аминокислот и нарушают функционирование таких протеинов. Например, токсичность канаванина связана с тем, что у животных аминоацил-tРНК-синтазы, осуществляющие перенос аргинина на t-РНК, не могут отличить эту аминокислоту от аргинина и включают ее в состав белка. При этом собственная белоксинтезирующая система растения, как правило, отличает протеиногенные аминокислоты от непротеиногенных.

1.4. Использование клеточных культур растений в качестве лекарственного растительного сырья для создания лекарственных препаратов

1.4.1. Новый биотехнологический метод получения лекарственного растительного сырья

Во всем мире значительную часть лекарственных средств и другие ценные вещества производят из природного растительного сырья. В связи с увеличивающимся дефицитом и стоимостью этого сырья, получаемого, как правило, из экзотических, редких и исчезающих видов диких и плантационных растений, перспективным считается новый биотехнологический метод получения фитомассы. Он заключается в выращивании клеточных культур растений в искусственных питательных средах в стерильных условиях подобно микроорганизмам: бактериям и дрожжам.

В культуре клеток обнаружены традиционные для растений вещества вторичного метаболизма – алкалоиды, терпеноиды, полифенолы. В этой связи культуру клеток растений в настоящее время рассматривают в качестве альтернативного целому растению источника для продукции ценных вторичных метаболитов.

Клеточные культуры растений можно использовать для получения разнообразных продуктов, которые применяют в медицине, пищевой промышленности, парфюмерии, для защиты растений, а также для получения трансгенных продуктов.

В зависимости от способа, условий культивирования и происхождения выделяют несколько типов культур клеток и тканей. Если культивирование происходит поверхностно на агаризованной питательной среде, то образуется каллусная ткань. Существует также суспензионная культура клеток, которую выращивают в жидкой питательной среде, так называемое глубинное культивирование.

Под каллусной культурой (каллусной тканью или каллусом) понимают неорганизованно пролиферирующую ткань, состоящую из дедифференцированных клеток. Каллусная ткань обычно представляет собой аморфную массу тонкостенных клеток, не имеющую строго определенной анатомической структуры.

В основном каллусы имеют белый, желтоватый или сероватый цвет и могут быть пигментированы полностью или зонально присутствием хлорофилла и антоцианов. В зависимости от происхождения и условий культивирования могут быть: рыхлые, с сильно оводненными, легко отделяющимися друг от друга клетками; средней плотности, с зонами меристематической активности; плотные, с зонами редуцированного камбия и сосудов.

Каллусную ткань в условиях *in vitro* можно получить практически из любой живой ткани растений, используя для этого определенные методические подходы.

Для того чтобы дифференцированные клетки вновь приобрели способность к делению, необходимо, чтобы произошла их дедифференцировка, т.е. чтобы клетки как бы возвратились в меристематическое состояние. Размножение дедифференцированных клеток приводит к неорганизованному росту, в результате чего образуется каллусная ткань.

Таким образом, превращение специализированной клетки в каллусную связано с индукцией клеточного деления, способность к которому она потеряла в процессе дифференцировки.

Обязательным условием дедифференцировки растительной клетки и превращения ее в каллусную является присутствие в питательной среде представителей двух групп фитогормонов: ауксинов и цитокининов. Ауксины вызывают процесс дедифференцировки клетки, подготавливающий ее к делению, а цитокинины – пролиферацию (деление) дедифференцированных клеток. Эффект, вызываемый воздействием одних и тех же фитогормонов, может быть различным, в зависимости от физиологической характеристики ткани-мишени, а также биохимической составляющей, выражающейся, например, в уровне эндогенных гормонов клеток экспланта. Так, при инициации и культивировании каллусной ткани злаков, в частности пшеницы мягкой *Triticum aestivum*, не требуется добавление цитокининов.

Суспензионные культуры, выращиваемые во взвешенном состоянии в жидкой среде, содержат отдельные клетки или группы клеток. Они представляют собой относительно гомогенную популяцию клеток, которую легко подвергнуть воздействию химических веществ. Для суспензионных культур исходным материалом могут быть изолированные клетки органа растения, однако чаще каллусная ткань.

Суспензионные культуры отличаются по степени агрегированности клеток:

- мелкоагрегированные суспензионные культуры состоят из одиночных клеток (40 %) и мелких агрегатов (60 %), агрегаты не должны содержать более 10-12 клеток);

- среднеагрегированные суспензионные культуры состоят из одиночных клеток (40 %), мелких агрегатов (40 %) и крупных агрегатов (20 %, агрегаты содержат более 12 клеток);

- крупноагрегированные суспензионные культуры состоят из мелких (40 %) и крупных (60 %) агрегатов.

Основными признаками хорошей суспензионной культуры служат ее высокая степень дезагрегации (5-10 клеток в группе), морфологическая однородность клеток (небольшие размеры, сферическая или овальная форма, плотная цитоплазма) и отсутствие трахеидоподобных элементов).

Метод суспензионного культивирования характеризуется высокой эффективностью с точки зрения быстрого накопления большого количества клеток. Рост суспензионной культуры происходит во многих случаях существенно быстрее, чем каллусной культуры, поскольку скопления клеток поглощают питательные вещества значительно большей общей поверхностью, а у каллуса это происходит лишь в той его части, которая контактирует с субстратом. При оптимальном режиме выращивания клетки в суспензиях быстро размножаются, что приводит к быстрому накоплению биомассы. Для получения вторичных метаболитов в промышленном масштабе предпочтительнее использовать суспензионные культуры растений, чем каллусные.

Клетки растений тотипотентны и способны синтезировать в культуре весь спектр химических соединений, найденных в нативном растении. (Тотипотентность – свойство соматических клеток растений в полной мере реализовать присущую им генетическую информацию, обеспечивающую их дифференцировку и дальнейшее развитие до целого организма.) Однако культивируемые клетки растений часто синтезируют меньшие количества и отличающийся профиль вторичных метаболитов по сравнению с интактным растением, и эти качественные и количественные характеристики продуктов вторичного метаболизма могут меняться со временем.

При оптимизации условий культивирования некоторые культуры могут накапливать искомые продукты в больших количествах по сравнению с нативными растениями. В литературе можно встретить много данных, которые указывают на высокую биосинтетическую активность каллусных и суспензионных культур по сравнению с некоторыми видами интактных растений. Созданы и поддерживаются коллекции растительных штаммов-продуцентов биологически активных соединений. В то же время производство продуктов культурой клеток в промышленном масштабе встречается крайне редко из-за отсутствия эффективных технологий.

В списке членов Европейской Ассоциации коллекций культур (ECCO) (<https://www.eccosite.org/members/>) на данный момент значатся всего две национальные коллекции культур клеток растений – немецкая (<http://www.dsmz.de>) и финская (<http://culturecollection.vtt.fi/>). Функционирует Всероссийская коллекции клеточных культур высших растений и японская коллекция культур клеток растений (<https://epd.brc.riken.jp/en/pcellc>).

К сожалению, важной современной особенностью состояния коллекций штаммов культур клеток высших растений является практически полное отсутствие информации о них в открытых источниках (информация на начало 2025 года).

Сложившаяся ситуация объясняется, по-видимому, несколькими причинами. Поддержание пересадочных коллекций культур клеток растений – процесс трудоемкий и дорогой. Вероятно, это стало одной из причин существенного сокращения числа активно поддерживаемых коллекций культур клеток высших растений в настоящее время по сравнению с 70–80 гг. прошлого века, а среди оставшихся преобладают коллекции, имеющие государственную финансовую поддержку. Обширные коллекции культур клеток поддерживаются также некоторыми биотехнологическими и биофармацевтическими компаниями, о чем говорят их рекламные материалы, однако подробной информации о составе таких коллекций в открытом доступе найти не удастся.

По последним данным (2021 года) во Всероссийской коллекции клеточных культур высших растений поддерживаются в активном состоянии 47 линий культур клеток 29 видов высших растений, из них 19 линий поддерживаются в виде каллусных культур и 32 линии в виде суспензионных культур (некоторые культуры дублированы в каллусах и суспензиях). Поддерживаемые культуры клеток включают как модельные штаммы, которые служат объектами для

фундаментальных исследований по физиологии растений, так и штаммы-продуценты биологически активных соединений (гинзенозидов и других тритерпеновых гликозидов, стероидных гликозидов фураностанолового ряда, фенольных соединений и некоторых других), а также штаммы редких и эндемичных видов растений. Среди них штаммы-сверхпродуценты диоскореи дельтовидной (содержание фураностаноловых гликозидов до 12% к сухой биомассе клеток), различных видов аралиевых (продуцентов тритерпеновых гликозидов), нескольких видов тиса (продуцентов противоопухолевых таксоидов) и других. Некоторые штаммы, например *Beta vulgaris*, *Dioscorea deltoidea*, *Mandragora turcomanica*, *Medicago sativa* поддерживаются методом пересадок в активной коллекции с 70-80-х гг. XX века. Наиболее представленными семействами на данный момент являются *Araliaceae* (8 линий), *Fabaceae* (7 линий), *Lamiaceae* (5 линий) и *Taxaceae* (5 линий). Наличие в Коллекции различных видов растений одного и того же семейства, а также линий одного вида, полученных из одного экспланта, но культивируемых долгое время на средах с различным минеральным и фитогормональным составом позволяет проводить уникальные исследования по влиянию условий культивирования на рост культур, качественный и количественный состав вторичных соединений в них, а также исследовать внутри- и межвидовые закономерности биосинтеза в культуре изолированных клеток по сравнению с целым растением. Ведется работа по пополнению Коллекции новыми культурами. Только в 2019 г. были получены 16 новых линий культур клеток 9 видов высших растений, являющихся эндемиками, редкими или лекарственными, в том числе, это культуры видов *Dioscorea bulbifera*, *Polyscias filicifolia*, *Rubus arcticus*, *Rubus chamaemorus*, *Sutherlandia frutescens*, *Cladochaeta candidissima*, *Thuja occidentalis*, *Olea europaea*, *Alhagi persarum*, *Alcea kusjariensis*. Совместно с научными группами других институтов проводится скрининг коллекционных культур на биологическую активность, для ряда штаммов-продуцентов биологически активных веществ ведутся исследования по токсикологии, что является следующим шагом к их применению в биотехнологии.

Преимущества использования культуры клеток растений по сравнению с традиционным растительным сырьем

По сравнению с использованием традиционного растительного сырья, получение физиологически активных веществ методами клеточной биотехнологии имеет ряд преимуществ, таких как:

- потенциальная возможность широкого выбора исходных растений независимо от наличия и доступности ареалов их обитания в конкретной стране, охрannого статуса или угрозы исчезновения данных видов;
- процесс получения биомассы автоматизирован и не зависит от сезона, болезней, климатических и почвенных условий;
- экологическая чистота производства биомассы в строго контролируемых условиях, гарантирующих безопасность препаратов – получаемая фитомасса, полностью свободна от поллютантов (пестицидов, тяжелых металлов и т.п.);

- можно оптимизировать условия культивирования суспензии клеток для высокой производительности и более сжатых сроков получения биомассы и/или целевых БАВ по сравнению с интактными растениями; при этом в ряде случаев, например для Женьшеня обыкновенного, речь может идти о сокращении срока культивирования с нескольких лет до нескольких месяцев;

- использование штаммов-сверхпродуцентов, позволяющее в некоторых случаях решить проблему низкого содержания БАВ в природном растительном сырье;

!!! Перечисленные факторы являются важными, но, пожалуй, не ведущими. На основное место в настоящее время выходит фактор лекарственной безопасности нашей страны. В условиях, когда постоянно падает доля лекарственных субстанций отечественного производства, представляется важным развивать технологии, создающие надежную сырьевую базу для выработки отечественных препаратов.

Использование клеточных культур растений для получения вторичных метаболитов целесообразно в тех случаях когда:

- невозможно выращивание растения в природе или растение относится к исчезающим;

- имеются трудности в его сборе;

- содержание вторичных соединений в культурах *in vitro* высокое или высока его цена на мировом рынке;

- возможен хороший рост клеточных культур растений на сравнительно простых по составу питательных средах;

- вторичные соединения выделяются клетками в питательную среду, что позволяет сделать биотехнологический процесс непрерывным;

- можно получить высокопродуктивные растительные культуры.

Столь очевидные преимущества должны были бы привести к повсеместному использованию культур клеток высших растений для промышленного производства БАВ, однако этого не произошло. В публикациях начала 1980-х – конца 1990-х годов упоминается целый ряд пилотных производств на основе культур клеток высших растений, запущенных в Японии, США, Германии и других странах. Это, например, производство розмариновой кислоты из культуры клеток *Coleus blumei*, антоцианов на основе клеток *Aralia cordata*, биомассы клеток *Catharanthus roseus*, паклитаксела из *Taxus spp.*, берберина из клеток *Coptis japonica*, производных шиконина из *Lithospermum erythrorhizon* var. *erythrorhizon* и некоторые другие. Среди наиболее масштабных проектов можно выделить выращивание: *Nicotiana tabacum* в биореакторах объемом 20000 л для производства биомассы и никотина, *Rauwolfia serpentina* (75000 л) для получения индольных алкалоидов и биомассы клеток *Panax ginseng* в биореакторах объемом 20000-25000 л. Однако анализ состояния отрасли на 2024 год показал, что большинство этих проектов были закрыты по разным причинам, среди которых упоминается нерентабельность, а компании либо перестали существовать, либо переключились на другие продукты. К

настоящему времени известны лишь единичные примеры действующих производств БАВ на основе культур клеток высших растений.

В настоящее время известны примеры использования культуры клеток растений для производства паклитаксела в промышленном масштабе. Кроме того, на основе некоторых клеточных культур растений производят препараты для косметологии и пищевые добавки.

Это, например, компания Phyton Catalytic с производственными мощностями в Германии и Канаде, производящая паклитаксел (растительный дитерпеноид, обладающий выраженной противоопухолевой активностью) на основе клеток *Taxus* spp. (<https://phytonbiotech.com>). Южнокорейская компания Samyang Biopharmaceuticals Corp. также является производителем паклитаксела из культуры клеток тиса, препарат уже прошел клинические испытания.

Культура клеток лекарственного растения *Polyscias filicifolia* является основным компонентом ряда российских препаратов с подтвержденным общеукрепляющим и антитератогенным действием (<https://www.vitagmal.ru/>).

Более широкое применение клеточные биотехнологии получили в современной косметологии и для производства пищевых добавок: согласно анализу, за последние 10 лет более 12 европейских и американских компаний представили на этих рынках продукцию, полученную из культур клеток высших растений. Это согласуется с современными тенденциями к здоровому питанию, с одной стороны, и, с другой стороны, – с возросшим интересом к новым источникам питания, произведенным высокотехнологичным способом с использованием экологичных технологий, отвечающих критериям устойчивого развития. В косметологии, как и следовало ожидать, наибольшей популярностью пользуются лекарственные растения, такие как *Rhodiola rosea*, *Aloe barbadensis*, *Ajuga reptans*, *Echinacea* spp., *Calendula* spp. и другие. Однако все чаще используются культуры клеток сельскохозяйственных и декоративных растений и видов, ранее считавшихся исключительно модельными объектами: *Nicotiana sylvestris*, *Malus domestica*, *Rubus idaeus*, *Vitis vinifera*, *Daucus carota*, *Oryza sativa*, *Coffea bengalensis*, *Syringa vulgaris*, *Rhododendron hirsutum*, *Camellia sinensis*. Показано, что экстракты культур клеток и/или различные препараты на основе биомассы ряда видов влияют на экспрессию генов, отвечающих за синтез коллагена, обладают противовоспалительной, антиоксидантной и УФ-протекторной активностью, активируют процессы регенерации кожных покровов. Отмечается, что высокий потенциал для промышленного использования имеют культуры с высоким содержанием полифенольных соединений; некоторые авторы связывают возросший интерес к культурам клеток именно с косметической индустрией.

На основе экстракта из культуры клеток Сирени обыкновенной *Syringa vulgaris* создан и запатентован препарат с названием Dermasyr™ для использования в косметических целях (для борьбы с акне и нарушениями связанными с повышенным салоотделением). Основным действующим веществом препарата является вербаскозид (актеозид), его содержание в препарате – 10%.

Благодаря присутствию кофейной кислоты и гидрокситирозола в молекулярной структуре вербаскозида, он обладает выраженной антиоксидантной активностью в отношении реактивных форм кислорода и азота, а также хелатообразующим действием (связывают ионы металлов, например железа и меди, за счет чего блокирует катализирующее действие опасных окислительных циклов, таких как реакция Фентона). Кроме антиоксидантного, отмечается антибактериальное, иммуносупрессорное, анальгетическое, гипотензивное действие вербаскозида и, кроме того, ингибирующее действие на 15-липоксигеназу, альдоредуктазу и протеинкиназу С. Для вербаскозида также выявлено положительное кардиоактивное и антиметастазное действие. Он также оказывает фунгистатическое действие по отношению к фитопатогенам *Fusarium culmorum* и др. Вербаскозид содержится во многих растениях, однако количество его невелико (не более 2 %) и только в некоторых штаммах клеточных культур таких видов растений как *Syringa vulgaris* и *Buddleja cordata* содержание этого соединения достигает 16 % и 11,6 % соответственно.

Причиной ограниченного количества существующих в настоящее время промышленных производств для получения фармакологических субстанций на основе клеточных культур растений является, по-видимому, целый ряд факторов. Во-первых, это высокая стоимость биотехнологических производств. Во-вторых, для вывода любого нового лекарственного препарата на фармацевтический рынок необходимы многолетние и дорогие клинические испытания, осуществить которые под силу далеко не каждой биотехнологической компании. Однако самым существенным фактором можно назвать низкую продуктивность культур клеток по целевым вторичным соединениям по сравнению с исходным растением. Используя традиционные методы – селекцию продуктивных штаммов, оптимизацию сред, элиситацию, добавление химических предшественников синтеза, можно повысить продуктивность культур клеток растений на один-два порядка. Безусловно, свою лепту в решение проблемы внесут подходы метаболической инженерии, поскольку генно-инженерная настройка экспрессии генов, определяющих синтез целевого продукта, может существенно изменить биосинтетические способности клеток *in vitro*. Однако зачастую именно низкое содержание, либо отсутствие целевых соединений является сдерживающим фактором при переходе от получения и первичного скрининга культур клеток к пилотным производствам на их основе и затем к полномасштабной промышленной технологии. Это обусловлено спецификой культуры клеток как биологической системы.

1.4.2. Особенности биосинтеза вторичных метаболитов в культуре клеток и тканей

Культивируемые каллусные клетки и ткани сохраняют многие физиолого-биохимические особенности, свойственные клеткам растения, из которого они

были получены. Сохраняются, например, такие свойства как морозостойкость, устойчивость к абиотическим факторам (температура, засоление, фотопериодическая реакция), а главное, хотя и в разной степени, – способность к синтезу вторичных метаболитов. Наряду с этими общими чертами, у каллусных клеток появляются свои, характерные только для них особенности. Например, длительно культивируемые клетки *in vitro* высших растений образуют специфическую популяцию соматических клеток, относящуюся к типу неполовых. Наиболее характерные свойства этой популяции – физиологическая асинхронность и генетическая гетерогенность.

Физиологическая асинхронность – наиболее важное свойство неполовой популяции. Оно заключается в том, что в каждый момент времени клетки находятся в разных фазах роста: одни делятся, другие растут, а третьи уже стареют. Поэтому общее физиологическое состояние клеток такой популяции принято оценивать по состоянию большинства клеток.

Генетическая гетерогенность характерна для клеток всех тканей, кроме меристематических, являющихся генетически стабильными. В клетках остальных тканей при культивировании могут возникать полиплоидия, анеуплоидия, хромосомные aberrации, генные мутации. Однако генетическую гетерогенность нельзя рассматривать как недостаток, так как она является необходимым условием существования популяции клеток и служит основой для их адаптации.

Несмотря на генетическую гетерогенность популяций эукариотических клеток *in vitro*, в их геноме сохраняются генетические основы видового и индивидуального генотипа растения-донора. В то же время различное тканевое происхождение первичных каллусных клеток является одной из причин гетерогенности культуры каллусной ткани, так как некоторые функциональные и биохимические особенности исходных дифференцированных клеток передаются в ряду клеточных поколений как стойкие модификации или эпигенетически наследуемые признаки.

В отличие от нативных клеток в каллусных появляются специфические белки и уменьшается количество белков, характерных для фотосинтезирующих клеток листьев, или они совсем исчезают.

Значительные отличия наблюдаются в энергетическом обмене каллусных клеток. Они потребляют меньше кислорода по сравнению с обычными клетками, что объясняют их более частыми делениями, поскольку такая же особенность характерна для активно делящихся меристематических клеток. Меньшее потребление кислорода свидетельствует о сдвиге соотношения между дыханием и брожением в сторону усиления брожения, т.е. о снижении эффекта Пастера.

Увеличение дыхательного коэффициента при неизменном дыхательном субстрате говорит о том, что дыхание перестает подавлять брожение и даже в присутствии кислорода в каллусных клетках наряду с дыханием идет бескислородное расщепление углеводов – брожение. О бескислородном расщеплении углеводов при неорганизованном росте свидетельствует накопление этилового спирта в делящихся клетках. Митохондрии в каллусных

клетках так же, как и в меристематических, являются слабо развитыми, в них мало крист, что не может не оказывать влияния на активность аэробного дыхания.

Наряду с изменением характера дыхания в направлении усиления бескислородного расщепления углеводов в каллусных клетках происходит также сдвиг в сторону пентозофосфатного пути, который является источником пентоз, необходимых для делящихся клеток.

Рост каллусных тканей и суспензионных культур подчиняется общим закономерностям. Несмотря на асинхронность популяции и относительную самостоятельность ее клонов, клетки *in vitro* в целом проходят ростовые фазы, характерные для роста клеток высших растений *in vivo*.

Для измерения роста клеток разработаны различные методы, такие как определение числа клеток, объема осажденных клеток, сухого и сырого веса и др. Наиболее широко для мониторинга роста клеток в суспензионных и каллусных культурах растений определяют сухую и сырую массу клеток.

Модельная кривая роста имеет S-образную форму и включает следующие фазы: лаг-фазу, экспоненциальную фазу, линейную, фазу замедления роста и стационарную фазу.

Латентная фаза (лаг-фаза) В этот период происходят процессы, подготавливающие видимый рост.

Экспоненциальная (логарифмическая) фаза роста – это ограниченный период в ростовом цикле периодической (накопительной) культуры, в ходе которого происходит экспоненциальное (логарифмическое) увеличение количества клеток за счет их интенсивного деления, и, как следствие, – увеличение сухого вещества. Различают раннюю и позднюю экспоненциальные фазы. В течение ранней экспоненциальной фазы наблюдается ряд цитологических изменений: в клетках исчезает большая вакуоль, происходит увеличение объема цитоплазмы, увеличивается число полирибосом и митохондрий. Наряду с цитологическими изменениями имеет место и активация клеточного метаболизма: увеличивается содержание РНК, ДНК, белка, интенсивность поглощения кислорода. Все процессы приводят к активному делению клеток и образованию клеточных агрегатов. В течение поздней экспоненциальной фазы роста суспензионной культуры наблюдается замедление клеточного деления, но происходит увеличение размера клеток. Таким образом, увеличение биомассы в этот период поздней экспоненциальной фазы происходит в основном за счет растяжения клеток.

Линейная фаза – достаточно короткая. Удельная скорость роста культуры в этой фазе практически постоянна. Следует отметить, что выделение линейной фазы в качестве самостоятельной фазы ростового цикла производится не всегда. Ряд авторов рассматривают ее как продолжение экспоненциальной (логарифмической) фазы.

Фаза замедления роста. В этот период средний размер клеток продолжает возрастать, отмечается гетерогенность клеточной популяции и начало синтеза вторичных веществ.

Стационарная фаза. К этому периоду ростового цикла биомасса культур клеток достигает максимума.

Фаза деградации. После стационарной фазы происходит отмирание клеток. Для того, чтобы не наступила гибель клеток, необходимо субкультивирование (пересадка) культуры на свежую среду.

Ростовые кривые отличаются продолжительностью фаз в зависимости от вида культуры, эндогенных и экзогенных факторов. Ростовый цикл, или цикл выращивания, т.е. период от помещения инокулума (части суспензионной культуры или каллусной культуры) на свежую среду до следующего субкультивирования, сильно колеблется в зависимости от вида растения и условий культивирования. В среднем от начала культивирования каллусной культуры до стационарной фазы роста проходит 21–28 дней. Длительность пассажа суспензионной культуры обычно меньше и составляет в среднем 14-16 дней.

Важным преимуществом по сравнению с каллусными культурами и нативным растением является скорость роста суспензионной культуры. Кроме того, суспензионные культуры имеют непосредственный потенциал для промышленного производства полезных физиологически активных соединений по сравнению с культурой тканей растений, поскольку для них можно применять аппаратуру и подходы уже разработанные для микробиологической ферментации.

Тем не менее, существуют некоторые значительные различия между бактериальной и растительной клеточными культурами, которые необходимо учитывать при адаптации культуры клеток растений к уже доступной технологии. При культивировании растительных клеток возникают некоторые проблемы, которые должны быть учтены. Так, чувствительность к гидродинамическому стрессу связана с большим размером клеток и относительно жесткой (негибкой) целлюлозной клеточной стенкой. Следовательно, барботирование культуры является более предпочтительным по сравнению с механическим перемешиванием.

Относительно большое время удвоения растительных клеток (от 12 часов до нескольких дней) по сравнению с клетками микроорганизмов (для *Escherichia coli* – 20 мин) требует большего времени для успешного культивирования.

Местом накопления различных продуктов метаболизма в растительной культуре, как правило, является вакуоль. Их экскреция происходит в редких случаях в отличие от микроорганизмов, которые экскретируют продукты и, тем самым, избегают ретро-ингибирования (ингибирования по типу обратной связи). Проводимые исследования в области пермеабиллизации мембран (увеличения их проницаемости) могут способствовать решению данной проблемы.

Преимуществами растительных культур являются более низкие требования к аэрации по сравнению с микроорганизмами и сравнительно низкая стоимость сред для культивирования по сравнению с животными клетками.

Кроме перечисленных выше трудностей, касающихся технологии культивирования растительных клеток, существуют определенные проблемы,

которые необходимо решать на биохимическом уровне. Главным образом, это касается низкой экспрессии генов, отвечающих за биосинтез искомым продуктов, и нестабильности клеточных линий.

Однако в литературе можно найти много примеров, когда исследователям при использовании различных подходов удалось получить из некоторых растений штаммы-сверхпродуценты, которые накапливают в клетках на порядок больше искомым метаболитов по сравнению с растением, из которого они получены.

В то же время клеточные культуры могут синтезировать продукты, не наблюдавшиеся ранее в родительском растении, например, в культуре *Lithospermum erithrorhizon* наблюдали синтез розмариновой кислоты.

В некоторых случаях синтез культурой клеток продуктов, не наблюдавшихся в родительском растении, связывают с переходом клеток к более «древнему» (примитивному) пути биосинтеза. В культивируемых клетках мака отсутствует тебаин, характерный для взрослого интактного растения, но присутствует сангвинарин, который не найден во взрослом растении и обнаруживается только в первый год его жизни.

Таким образом, при переходе от целых растений к культуре клеток для вторичного метаболизма можно отметить своеобразный «спуск» либо по филогенетической, либо по онтогенетической «лестнице». Другими словами, вторичный метаболизм в культуре клеток носит черты метаболизма филогенетически архаичных (древних) групп растений или ювенильной стадии интактного растения.

Однако в литературе приводятся примеры культур (женьшеня, воробейника, марены), которые содержат наборы вторичных метаболитов, в точности повторяющих имеющиеся у исходных растений.

Степень дифференциации индивидуальных клеток или растений играет важную роль. Часто процессы морфологической и биохимической дифференцировки связаны или, другими словами, экспрессия вторичных метаболитов часто связана с уровнем дифференциации в каллусных культурах. Потеря способности к реализации генетической информации в отношении синтеза вторичных метаболитов проявляется не только в ослаблении их синтеза, но и в том, что в культурах клеток и тканей, как правило, подавлена дифференциация клеток и их специализация. В результате, независимо от того, из какого органа или ткани получен первичный каллус, каллусные ткани, а тем более клетки суспензионной культуры обычно представляют собой значительно более однородную массу клеток, чем соответствующие ткани исходного растения, и лишь частично отражают специфику последних.

Синтез вторичных метаболитов обычно более эффективен в каллусных тканях, которые меристематически не активны и в которых клетки «биохимически созрели». При этом состав соединений в каллусах с элементами дифференцировки на микро- и тем более на макро- уровне значительно сложнее по сравнению с полностью дедифференцированной тканью. Таким образом, каллусные культуры обычно более продуктивны в отношении синтеза

вторичных метаболитов по сравнению с суспензионными культурами, имеющими одинаковое происхождение и культивируемыми на одной и той же среде. Тем не менее, данная зависимость наблюдается не всегда, например, в суспензионной культуре *Buddleja cordata* содержание вторичного метаболита вербаскозида было выше по сравнению с каллусной культурой – 116 и 86 мг/г сухой массы, соответственно. Кроме того, определение количества данного соединения в дифференцированной листовой ткани, из которой были инициированы культуры, показало еще более низкое его содержание по сравнению с недифференцированными клетками каллусной и суспензионной культур, а именно 10,1 мг/г сухой массы.

Следует отметить, что в клеточных культурах отмечается тенденция: чем сложнее строение вещества и чем больше специфических этапов его синтеза (после «ответвления» от первичного метаболизма), тем менее вероятен синтез этого соединения. В культивируемых клетках не всегда синтезируются конкретные соединения – димерные индольные алкалоиды, морфиновые алкалоиды, карденолиды.

В растениях алкалоиды винбластин и винкрестин образуются только в очень малых количествах, около 0,0003% от общего содержания алкалоидов в *Catharanthus roseus* 2,56%. Для промышленного производства этих двух соединений требуется большая биомасса и дорогостоящий процесс экстракции. Биосинтез винбластина и винкрестина естественным путем в растении происходит в результате сложного процесса, включающего в себя различные типы белков и ферментов, которые синтезируются в определенных частях растения и клетки. На основании изучения активности ферментов, участвующих в биосинтезе винбластина и винкрестина, был сделан вывод о том, что эти ферменты не в полной мере экспрессируются и синтезируются в клетках культур *C. roseus*. Ферменты, отвечающие за последний этап биосинтеза виндолина, деацетилвиндолин-4-гидроксилаза и деацетилдолин-4-О-ацетилтрансфераза, экспрессируются только в дифференцированных клетках – латициферах и идиобластах. Это может объяснить, почему бисиндольные алкалоиды, такие как винбластин и винкрестин нельзя получить в желаемом количестве в клеточных культурах катарантуса, которые в основном содержат недифференцированные клетки.

Фазоспецифичность в накоплении вторичных метаболитов клеточными культурами растений

Использование культур растительных клеток *in vitro* для получения вторичных соединений определяется их высокой продуктивностью. Продукция вторичных метаболитов (мг/г·сут) – интегральный показатель, учитывающий величину прироста биомассы (в пересчете на сухой вес) и накопление целевого метаболита, который рассчитывают как произведение удельной скорости роста культуры (V , сут⁻¹) и содержания метаболита (C , мг/г сух.в.). В англоязычной литературе – *specific productivity* (mg/g day).

Экспериментально доказано, что прирост клеточной биомассы в условиях *in vitro* и *in vivo* проходит с разной скоростью. Например, биомасса клеток

женьшеня в суспензии при выращивании в 50 литровом ферментере увеличивается до 2,0 г в литре среды за сутки, что в 1000 раз больше, чем при выращивании на плантации. В то же время не существует однозначного ответа на вопрос, как связан синтез вторичных метаболитов с ростовыми процессами.

Сравнивая источники, доступные для выделения паклитаксела, такие как кора зрелого дерева (100 лет), иглы 4-х летнего тиса и культуры клеток *Taxus*, можно примерно оценить потенциал методов *in vitro* для промышленного производства паклитаксела. Лучший выход паклитаксела из клеточных культур, согласно литературным данным, составляет приблизительно 0,2 мг/г сухой массы – это приблизительно в 12 раз выше, чем найдено в коре зрелого дерева, и в 40 раз выше, чем в иглах растений *Taxus*, выращенных на плантациях. Кроме того, важно учитывать, что скорость роста клеточной культуры может намного превышать скорость роста нативных растений. Проведенные расчеты показали, что скорость биосинтеза паклитаксела корой зрелого дерева и 4-летнего тиса составила $4,70 \times 10^{-6}$ и $0,34 \times 10^{-6}$ мг/г/сут, соответственно, а клеточной культурой – 0,64 мг/л/сут. Приведенные литературные данные ясно демонстрируют, что клеточные культуры *Taxus* можно рассматривать как альтернативу целому растению тиса для производства паклитаксела. К преимуществам получения паклитаксела биотехнологическим способом можно отнести также то, что выделение таксанов из клеточных культур *Taxus* требует меньше этапов очистки по сравнению с традиционным растительным сырьем, таким как кора или иглы растения.

Суспензионные культуры различных объектов отличаются по времени достижения максимального синтеза вторичных соединений. Одно и то же вещество может аккумулироваться в разные фазы роста различными видами или его содержание в культуре увеличивается параллельно ростовой кривой.

Часто деление клеток, приводящее к увеличению клеточной биомассы, и синтез вторичных метаболитов разобщены во времени. Накопление вторичных метаболитов возрастает в фазе замедленного роста клеточной популяции и достигает максимума в стационарной фазе. Так, паклитаксел синтезируется в клеточных культурах, когда экспоненциальная фаза закончилась, и клетки находятся в стационарной фазе. В таких случаях, когда синтез БАВ начинается при замедлении пролиферации клеток, используют двухстадийное культивирование. Данное культивирование происходит в 2 этапа. На первом этапе создают условия для активного роста клеток, наращивая клеточную биомассу. На втором – используют различные способы стимуляции вторичного метаболизма (изменение состава среды, физические факторы, элиситоры и др.).

В то же время есть исключения, например фаза биосинтеза некоторых алкалоидов совпадает по времени с фазой максимальной митотической активности, или экспоненциальным ростом.

Во многих случаях при культивировании клеток растений наблюдают обратную корреляцию между скоростью роста культуры клеток и накоплением в ней вторичных метаболитов. Так, например было показано, что каллусные культуры разных видов тиса (*Taxus* sp.) отличались по росту и содержанию в них

фенольных соединений. Наибольшее количество фенолов было обнаружено в клетках тиса, каллусы которого характеризовались наименьшим индексом роста.

Чаще механизмы и условия, блокирующие клеточную пролиферацию и активный рост, являются одновременно механизмом активации ферментов вторичного метаболизма. Однако вопрос взаимодействия первичного и вторичного метаболизма на самом деле значительно сложнее.

Способы регуляции биосинтеза вторичных метаболитов клеточными культурами растений.

Считается, что в культурах клеток высших растений *in vitro* процессы вторичного метаболизма и его регуляции отличаются от таковых в интактных растениях. Это связано с особенностями культуры клеток как уникальной системы, где отсутствуют механизмы организменного контроля, характерные для целого растения, и на первый план выходит процесс “автоселекции” – постоянного отбора клеток по интенсивности роста и адаптивности. Более чем полувековой опыт изучения вторичного метаболизма в культурах растительных клеток позволил предположить, что в таких системах сохраняется и поддерживается прежде всего синтез соединений, способствующих пролиферации клеток. Например, некоторые изопреноиды могут стимулировать рост клеток, а также проявляют антиоксидантную и осмопротекторную активности. Также возможно, что многие вторичные соединения, кроме участия в системе защиты растений, обладают гораздо более широким спектром функций, чем это было принято считать. Например, стероидные гликозиды диоскореи могут играть роль резерва углеводов, а алкалоиды – принимать участие в азотном обмене. Качественный и количественный состав вторичных соединений в интактном растении и в полученной из него культуре клеток может существенно отличаться. Например, в растениях, продуцирующих стероидные гликозиды, как правило, присутствуют фуростаноловые и спиростаноловые формы этих соединений, тогда как в культурах клеток *in vitro* стероидные гликозиды накапливаются в основном в фуростаноловой форме.

Для того чтобы составить конкуренцию традиционно используемому растительному сырью культуры клеток и тканей должны характеризоваться высокими скоростями прироста биомассы, а также значительным биосинтетическим потенциалом. Манипуляции с культурой клеток должны быть эффективными и направленными на увеличение синтеза продуктов вторичного метаболизма.

На выход вторичных метаболитов в культуре каллусных тканей и в клеточных культурах влияет очень большое количество факторов как эндогенной (генетические, эпигенетические, физиологические, гормональные), так и экзогенной (физические – температура, интенсивность и спектральный состав света, аэрация; химические – химический состав питательной среды, рН среды и пр.) природы. Изменяя и комбинируя эти факторы, можно добиться увеличения выхода вторичных метаболитов.

Другим методом, используемым в биотехнологии растений для получения активных продуцентов БАВ, является выделение и селекция соматоклональных

вариантов, возникающих в процессе культивирования исходных клеточных линий вследствие их генетической гетерогенности, индуцируемой условиями культивирования клеток *in vitro*. Причины и механизмы возникновения соматональной изменчивости разнообразны, но к основным можно отнести следующие: полиплоидия, анеуплоидия, хромосомные перестройки, точечные мутации, соматический (митотический) кроссинговер и обмен сестринских хроматид, изменчивость цитоплазматических геномов, амплификация и редукция генов, активация ранее репрессированных (молчащих) генов, активация мобильных генетических элементов. Возникающее таким образом генетическое разнообразие в растительных клеточных популяциях после проведения соответствующего цитологического и генетического анализа даёт возможность осуществлять скрининг наиболее активных в отношении биосинтеза вторичных метаболитов соматоклонов. Сочетание этого метода с индуцированным мутагенезом *in vitro* позволяет на следующих этапах культивирования клеток и каллусов производить клеточную селекцию, выделяя и отбирая клеточные популяции с искомыми признаками, например, со стабильным и повышенным, по сравнению с исходной линией, выходом целевого вторичного метаболита для получения из него лекарственного препарата.

Стратегии увеличения вторичных метаболитов в клеточных культурах можно представить в виде многоступенчатого процесса. Каждая стратегия может быть использована отдельно или в сочетании с другими.

1. Начальным этапом является **выбор родительского растения** в соответствии с его молекулярными и биохимическими характеристиками, в частности, в отношении высокого содержания желаемых метаболитов. Теоретически, любая часть, полученная из любого вида растений, может быть использована для индуцирования каллусной ткани; однако успешный каллусогенез зависит от вида растений и их качества. Двудольные травянистые растения лучше поддаются индукции каллусной ткани по сравнению с однодольными, каллусы древесных растений обычно растут медленно. Используются стебли, листья, корни, цветы, семена и любые другие части растений, но более молодые и свежие экспланты являются предпочтительным материалом для индукции каллусогенеза.

Очевидно, что важным критерием выбора источника для индукции высокопродуктивной клеточной культуры должен быть высокий уровень синтеза искомого соединения в растительном материале. Показано, что культуры клеток, полученных от высокопродуктивных растений, продуцировали большее число метаболитов. Так, клеточные линии табака, из высокопродуктивных в отношении синтеза никотина материнских растений, имели тенденцию давать высокопродуктивные клеточные культуры, тогда как из низкопродуктивных растений получались культуры, синтезирующие меньшие количества никотина.

Немаловажное значение также имеет и выбор органа растения при введении в культуру. Например, содержание стероидного сапогенина диосгенина в каллусной культуре, полученной из листа *Trigonella foenum-graecum* L.

(fenugreek), превышало таковое в каллусных культурах, полученных из стебля и корня данного растения.

Генетический потенциал является одним из важнейших факторов, влияющих на биохимический статус растений и культур растительных клеток. Экологические и физиологические факторы могут изменять экспрессию генов, участвующих в фитохимическом синтезе, но генетический фон является основным фактором.

2. Важной стратегией также является **выбор клеточной линии**, который включает в себя создание **высокопродуктивных** и **быстрорастущих** культур *in vitro*. Можно отобрать клеточные линии, которые могут производить количества соединений равные или даже выше, чем у растений, от которых они производятся. Кроме того, возможно повышение уровня метаболитов с помощью мутантов. Увеличение синтеза и накопления вторичных метаболитов культивируемыми клетками растений требует получения новых генотипов путем слияния протопластов или генной инженерии; однако это предполагает идентификацию генов, кодирующих ключевые ферменты вторичных метаболических путей и их экспрессию. Использование мутагенов увеличивает вариабельность, которая уже существует.

Кроме того, могут быть получены с помощью клеточных культур новые молекулы, которые ранее не были обнаружены в растениях.

3. **Воздействие на метаболизм.** Ряд химических и физических факторов сильно влияют на выработку вторичных метаболитов. Экспрессия многих вторичных метаболитов легко изменяется под воздействием внешних факторов, таких как условия окружающей среды (химические и физические) и специальные методы обработки (предшественники, элиситоры).

Среда для культивирования растительных клеток включает неорганические компоненты, органические вещества и фитогормоны. Изменение компонентов среды (концентрации, пропорции и формы) является очень мощным способом повышения эффективности культивирования растительных клеточных культур.

Фитогормоны как компоненты питательных сред для выращивания культур клеток и тканей растений привлекают наибольшее внимание исследователей. Однако влияние фитогормонов на синтез вторичных соединений в культуре клеток неоднозначно. Тип и концентрация ауксина и цитокинина или их соотношение оказывают значительное влияние на рост и продукцию вторичных метаболитов в культуре клеток растений. Эффекты, индуцируемые фитогормонами в отношении синтеза вторичных метаболитов, зависят также от пути биосинтеза исследуемого продукта и выбранной культуры. В комбинации гормонов эффект индуцируемый ауксинами обычно доминирует.

Растения регулируют степень дифференцировки клеток соотношением ауксинов и цитокининов. Использованием соответствующих комбинаций можно влиять на состав и концентрацию вторичных соединений, синтезируемых в процессах, связанных с дифференцировкой.

Фитогормоны или регуляторы роста необходимы для нормального прироста биомассы клеточных культур растений. Концентрация фитогормонов в питательной среде часто является решающим фактором в синтезе вторичных метаболитов. Тип и концентрация ауксинов и цитокининов, а также их соотношение существенно влияет на рост и продукцию биологических соединений в клеточной культуре растений.

Так, высокий уровень ауксина стимулирует рост клеток, но часто негативно влияет на выработку вторичных метаболитов.

Клеточные культуры растений обычно гетеротрофны и используют в качестве источника углерода простые сахара. Продуктивность синтеза вторичных метаболитов в клеточных культурах зависит от источника углерода, его концентрации и от пути биосинтеза продукта. В качестве источника углерода используют сахарозу или глюкозу в концентрации 2-4 %.

Во многих случаях содержание вторичных метаболитов в культурах растений, в которых накопление вторичных метаболитов происходит одновременно с ростом, увеличивалось при повышении концентрации сахарозы. Действие сахарозы зависит от пути синтеза метаболита. Стимулирующий эффект повышенных концентраций сахарозы на образование вторичных метаболитов может быть связан с увеличением продолжительности стационарной фазы ростового цикла, ингибированием синтеза эндогенных ауксинов, увеличением активности ферментов пентозофосфатного пути. Однако следует учитывать, что высокие концентрации сахарозы повышают осмотический потенциал среды. В суспензионной культуре *Vitis vinifera* было показано, что осмотический стресс, вызываемый отдельно сахарозой или совместно с другими осморегуляторами, оказывал влияние на продукцию антоцианина.

Физические условия, такие как свет, температура, рН среды, также оказывают влияние на роста и продукцию вторичных метаболитов. *Свет* занимает особое место среди физических факторов, влияющих на рост и развитие каллусных культур. Большинство каллусных и суспензионных культур растений могут расти в темноте, питаясь гетеротрофно.

Свет может выступать как фактор, обеспечивающий морфогенез и активирующий процесс вторичного синтеза. Например, аккумуляция антоцианов в клеточных культурах *Daucus carota* и *Vitis hybrids*, стимулируется светом. Действие светом на каллусную культуру *Matricaria chamomilla* влияло на состав сесквитерпенов в ней. Исключение же света в каллусной культуре *Citrus lemon* вызывало накопление монотерпенов.

В частности, перенесение выращиваемых в темноте гетеротрофных культур клеток и тканей на свет во многих случаях способствует повышению их биосинтетической способности. Стимулирующий эффект света показан на синтез антоцианинов, виндолина, катарантина и кофеина в суспензионных культурах. Длительное культивирование каллусных культур чайного растения на свету способствовало увеличению содержания в них фенольных соединений

и изменению их качественного состава, который приближался к таковому интактного растения.

Некоторые культуры могут удовлетворять свои энергетические потребности ассимиляцией CO₂ и, таким образом, они могут осуществлять свою жизнедеятельность фотоавтотрофно. Так называемые фотомиксотрофные культуры отличаются от предыдущих культур (фотоавтотрофных) тем, что они могут использовать и углеводы и CO₂ в качестве источников углерода.

Действие света на клеточные культуры растений зависит от объекта, длины волны и интенсивности, а также отличается для гетеротрофной, фотомиксотрофной и фотоавтотрофной культур.

Свет оказывает влияние на аккумуляцию вторичных метаболитов двумя путями: через фотосинтетические и фотоморфогенетические процессы. Первый путь является лимитирующим только для фотоавтотрофных культур, тогда как второй реализуется обычно независимо от вида культуры.

Температурный диапазон для нормальной индукции каллусогенеза составляет 17-25°C. Однако различные виды растений могут иметь свой оптимум температур. Снижение температуры до 19 °C способствовало биотрансформации дигитоксина в дигитонин в каллусной культуре *Digitalis lanata*. Также при увеличении температуры культивирования в клеточной культуре *Nicotiana tabacum* до 32°C происходил наибольший синтез убихинона.

Специальные методы воздействия на метаболизм включают добавление прекурсоров, применение элиситоров, биотрансформацию и иммобилизацию.

Прекурсоры. Концепция добавления прекурсоров основана на идее о том, что поступление соединений, которые являются промежуточными или в начале биосинтетического пути, дает хорошие шансы на увеличение выхода конечного продукта.

Биотрансформация. Производство желаемых метаболитов часто ограничено отсутствием определенных предшественников; Биотрансформация с использованием экзогенного источника биосинтетических прекурсоров может улучшить накопление соединений. Биотрансформация – это процесс, при котором функциональные группы соединений модифицируются клеточными культурами до получения химически иного продукта. Растительные клетки могут преобразовывать природные или искусственные соединения, вводимые в культуры, посредством различных реакций, такие как гидрирование, дегидрирование, изомеризация, гликозилирование и гидрокселирование.

Элиситоры. Одним из перспективных альтернативных решений для улучшения биосинтеза вторичных метаболитов клеточными культурами растений является использование элиситоров.

Растения и растительные клетки *in vitro* проявляют физиолого-биохимические и морфологические реакции на известные микробные, физические или химические факторы, известные как элиситоры. Поскольку вторичные метаболиты защищают растения от изменений окружающей среды, способ индуцирования их синтеза заключается в применении неблагоприятных факторов, т.е. имитации атаки патогенов, травоядных, тяжелых металлов и т.д.

Элиситация – это процесс индуцированного или усиленного синтеза вторичных метаболитов растениями для обеспечения их выживания, стойкости и конкурентоспособности. Биотические и абиотические элиситоры используются для стимуляции образования вторичных метаболитов в культурах растительных клеток. Неспецифические стрессовые условия, воздействующие на клетки в конце экспоненциальной фазы, могут стимулировать переход к синтезу вторичных метаболитов и увеличивать их выход.

Абиотические элиситоры, такие как жасмонат, абсцизовая кислота, салициловая кислота и этилен, способны увеличить выработку некоторых важных индольных алкалоидов у растений *Catharanthus roseus*, таких как аймалицин, катарантин, серпентин, виндолин, винбластин и винкристин, а также предшественников терпеноидных индольных алкалоидов, таких как триптамин и стриктозидин. В то же время, эти элиситоры могут естественным образом вырабатываться растительными клетками при стрессе.

Термин «элиситоры» был предложен еще в 1970-х годах, а до этого использовалось название «индукторы», которое до сих пор достаточно часто применяется в научной литературе. По мере изучения элиситоров, обнаружения все новых защитных откликов растений в ответ на их воздействия, определение понятия «элиситоры» тоже менялось. Так, сначала термин элиситоры определял вещества, способные индуцировать выработку в клетках растений только одну известную тогда защитную реакцию – синтез фитоалексинов. По мере обнаружения других индуцируемых элиситорами защитных откликов растений, а также новых источников их происхождения соответственно менялись и определения элиситоров. В настоящее время под термином «элиситоры» чаще всего имеются в виду химические соединения (экзогенные или эндогенные для растения, биотические или абиотические, комплексные или с вполне определенной молекулярной структурой) или физические воздействия, в ответ на которые растения индуцируют защитные реакции любого типа. То есть элиситоры распознаются растениями и осуществляют запуск сигнальных систем, приводящих к экспрессии различных связанных с защитой генов, и повышают устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессам. Элиситоры действуют как сигнальные соединения при очень низких концентрациях.

Биологически активные вещества, относящиеся к продуктам вторичного обмена, выполняют функцию биохимических инструментов взаимодействия в окружающей среде. В этой связи биосинтез вторичных метаболитов является неотъемлемой частью иммунных реакций растений, активируемых в ответ на попытки проникновения патогенов или воздействие ряда абиотических стрессов. Таким образом, так называемые элиситоры, полученные из ассоциированных с патогенами, иммунных или стрессовых сигнальных молекул растений, могут вызывать иммунную или связанную со стрессом выработку вторичных метаболитов.

Был использован широкий спектр биотических элиситоров, включая фрагменты клеточной стенки растений (пектин и целлюлоза) и полисахариды

микроорганизмов (хитин и глюкан), молекулы иммунной сигнализации растений (салициловая кислота и метил-жасмонат). К абиотическим элиситорам относятся: неорганические соли, тяжелые металлы, ультрафиолетовое излучение, высокая соленость и высокое давление. Особенно широко используется применение иммунородственного метилжасмоната. Например, добавление метилжасмоната к камбиальным меристематическим клеткам *Taxus cuspidata* индуцировало выработку очень популярного и коммерчески успешного противоопухолевого препарата паклитаксела на 14 000% по сравнению с не обработанными клетками.

Таким образом, предполагается, что действие элиситоров на биосинтез вторичных метаболитов, принимающих участие в защите от различных факторов (патогены, стресс и др.), в культурах клеток растений происходит посредством запуска сигнальных систем, приводящих к экспрессии различных связанных с защитой генов, что приводит к стимуляции синтеза вторичных метаболитов.

Иммобилизация растительных клеток также является одним из способов регуляции в них продукции вторичных метаболитов. Иммобилизацию можно рассматривать как физическое разделение биокатализатора (клеток, клеточных фракций или ферментов) и растворителя, при котором молекулы субстрата и продукта могут легко обмениваться между фазами.

Процесс иммобилизации может оказывать значительное влияние на образование продуктов вторичного метаболизма посредством модификации внутриклеточных физиологических процессов. Иммобилизация оказывает влияние на рост клеток. Во многих случаях рост иммобилизованных клеток более медленный.

Увеличение продукции вторичных метаболитов иммобилизованными клетками объясняют уменьшением скорости роста иммобилизованных клеток, что, в свою очередь, приводит к изменению метаболических путей. Вследствие замедления ростовых процессов продукты первичного метаболизма накапливаются и/или становятся более доступными для процессов вторичного метаболизма.

Высокая плотность клеток в иммобилизованном состоянии приводит к более тесным межклеточным контактам и обеспечивает условия, приводящие к упорядочиванию организации клеток, их дифференциации и способствует тем самым высокому выходу вторичных метаболитов.

Таким образом, ограничение роста, стрессовые ситуации и начало дифференциации могут являться важными факторами, запускающими синтез вторичных продуктов в иммобилизованных клетках.

2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

Лабораторная работа №1

Определение содержания аскорбиновой кислоты в лекарственном растительном сырье

Цель работы: освоить определение аскорбиновой кислоты в лекарственном растительном сырье титриметрическим методом.

Общие сведения.

L-Аскорбиновая кислота, или аскорбат (АК), является ключевым антиоксидантом, кофактором редокс-ферментов и предшественником биосинтеза некоторых важных метаболитов. Человек полностью зависит от АК, поступающего с пищей, так как не может синтезировать его ввиду отсутствия гулонолактонооксидазы. Эволюционно уровень L-аскорбиновой кислоты увеличивался от эукариотических водорослей и мхов (0,1–1,0 ммоль/л) до высших растений (3–45 ммоль/л), предположительно приобретая роль центрального антиоксиданта клетки в аэробных условиях существования. Исследования физиологических функций L-аскорбиновой кислоты классически сфокусированы на роли этого соединения как антиоксиданта. Накоплено большое количество данных о позитивном влиянии АК на показатели урожая и стрессоустойчивость растений вследствие его антиоксидантных свойств. Общепринятым механизмом, при помощи которого АК может контролировать физиологические процессы, считается его воздействие на уровень H_2O_2 и других активных форм кислорода (АФК), участвующих в клеточном редокс-метаболизме и патофизиологических окислительных процессах. АК через изменение уровня АФК влияет на сигнальные пути ряда важнейших модуляторов стресс-сигналов и фитогормонов (которые стимулируют продукцию АФК), в частности абсцизовой кислоты, этилена, жасмоновой кислоты, салицилата и гиббереллинов

В особенно больших количествах L-аскорбиновая кислота (витамин С) содержится в свежих ягодах, плодах (актинидии, черной смородины, апельсина, лимона) и овощах (стручковых перцах, цветной капусте, брокколи, брюссельской капусте, кресс-салате, укропе, листьях петрушки и др.). В растворах витамин С очень чувствителен к кислороду воздуха и нагреванию. Аскорбиновая кислота обладает сильными восстановительными свойствами, при окислении теряет 2 атома водорода, следовательно, в окислительно-восстановительных реакциях ведет себя как двухосновная кислота. Продуктом ее первичного окисления является дегидроаскорбиновая кислота.

В чистом виде аскорбиновая кислота представляет собой бесцветные кристаллы без запаха, кислого вкуса, хорошо растворимые в воде и спирте и нерастворимые в большинстве органических растворителей. В кристаллическом

виде аскорбиновая кислота устойчива, но в присутствии окислителей легко разрушается в водных и особенно щелочных растворах.

В водных растворах при физиологических значениях рН L-аскорбиновая кислота представлена в виде одновалентного аскорбат-аниона, который легко отдает электроны окисленным молекулам и выступает «скавенджером» (связывающим агентом) АФК. Например, АК способен напрямую реагировать с большинством важнейших АФК, таких как супероксидный анионный радикал ($O_2^{\bullet-}$), гидроксильный радикал (HO^{\bullet}) и синглетный кислород, а также с окисленными производными липидов. АК способен проявлять прооксидантные свойства в живых системах.

Принцип метода количественного определения витамина С основан на его способности восстанавливать 2,6-дихлорфенолиндофенол (краска Тильманса), который в щелочной среде имеет синюю окраску, а в восстановленном состоянии бесцветный. Количественное определение витамина С проводят, титруя исследуемый раствор, подкисленный соляной кислотой, щелочным раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола. Пока в титруемом растворе содержится витамин С, приливаемый щелочной раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола будет обесцвечиваться за счет образования восстановленной формы аскорбиновой кислоты. Как только все количество витамина С, имеющееся в исследуемом растворе, окислится, 2,6-дихлорфенолиндофенол не будет восстанавливаться и титруемый раствор приобретет розовую окраску за счет перехода щелочного раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола синего цвета в 2,6-дихлорфенолиндофенол красного цвета в кислой среде. Зная количество 2,6-дихлорфенолиндофенола, израсходованное на титрование, и его титр, установленный по аскорбиновой кислоте, вычисляют содержание аскорбиновой кислоты в исследуемом растворе.

Метод применим только для объектов исследования, дающих светлоокрашенные экстракты, поскольку 2,6-дихлорфенолиндофенол не обладает ярко выраженным переходом, а розовый цвет плохо различим на фоне естественных красителей, присущих многим плодам и ягодам (ягоды черной и красной смородины, плоды шиповника и др.), титровать их указанным выше способом не представляется возможным. В других случаях используют метод потенциометрического титрования, спектрофотометрические и флуориметрические методы анализа, которые применимы для любых объектов исследования.

Метод определения витамина С основан на редуцирующих свойствах аскорбиновой кислоты. Синяя краска (индикатор), 2,6-дихлорфенолиндофенол, восстанавливается в бесцветное соединение аскорбиновой кислотой (реакция Тильманса) или экстрактами растений, содержащими витамин С. При этом аскорбиновая кислота окисляется до дегидроаскорбиновой кислоты.

2,6-Дихлорфенолиндофенол имеет разную окраску при различных значениях рН среды. Интенсивный синий цвет в щелочной среде и бледно-красный в кислой среде. Переход окраски происходит между рН 4 и 5, в этом интервале индикатор имеет фиолетовый цвет. При окислительно-

восстановительных реакциях темно-синий цвет соответствует окисленному состоянию, а восстановленный – бесцветному. Эту последнюю реакцию и используют для определения аскорбиновой кислоты. Анализируемый раствор титруют раствором индикатора (с известным титром) до наступления розового окрашивания, обуславливаемого избытком индикатора в кислой среде.

На одну молекулу аскорбиновой кислоты (молекулярный вес 176) приходится две молекулы индикатора. При приготовлении этой краски получается натриевая соль 2,6-дихлорфенолиндофенола, имеющая молекулярный вес 290.

Приготовление экстрактов из лекарственного растительного сырья:

Для приготовления экстрактов используют сырой или высушенный растительный материал. Это могут быть: цветки, листья, корни растений, биомасса каллусных или суспензионных культур растений в сухом (высушенном) или сыром виде.

Для наиболее полной экстракции также необходимо определенное соотношение растительного материала и экстрагента. Часто это соотношение составляет – 1:10, 1:20, 1:50 (г растительного материала : мл экстрагента) в случае сухого растительного сырья. Однако, наиболее оптимальное для полной экстракции витамина С соотношение растительного материала к объему экстрагента также требует экспериментального подбора для каждого вида растительного сырья.

Для проведения лабораторной работы по количественному анализу витамина С в растительном сырье (например, в цветках календулы, Бессмертника песчаного или пижмы, листьях Мята перечной, траве Зверобоя продырявленного или пятнистого, каллусной культуре Сирени обыкновенной или Тиса ягодного) необходимо:

Измельчить ножницами и/или с помощью электрического прибора типа кофемолки или блендера, далее гомогенизировать 1 г высушенного лекарственного растительного сырья в ступке с 25 мл дистиллированной воды, постепенно добавляя экстрагент (в данном случае воду). Необходимо понимать, что степень извлечения искомых веществ будет зависеть от степени измельченности сырья (чем меньше размер частиц сырья, тем эффективнее будут извлекаться вещества из него)! В случае сырого материала навеску материала для анализа увеличить в 2-10 раз по сравнению с высушенным сырьем и экстракцию в случае сильно оводненного материала (например, каллусной культуры) проводить 96 %-м этанолом.

После гомогенизации сырья с этанолом содержимое ступки фильтруют через бумажный (из фильтровальной бумаги) или ватный фильтр. *Удобно пользоваться фильтром Шотта с вакуумным насосом (механическим или электрическим), т.к. это ускоряем процесс фильтрации.* После фильтрации измеряют объем полученного экстракта и при необходимости доводят до нужного объема, обязательно оценивают прозрачность фильтрата (экстракта). В случае мутности последнего центрифугируют 10 мин при 5000 об/мин. Для центрифугирования используют специальные центрифужные пластиковые

пробирки. Пробирки для центрифугирования должны быть обязательно уравновешены!!!

{Для более точного определения содержания витамина С в сырье КОЛИЧЕСТВЕННО переносят содержимое ступки на фильтр. Это означает, что ступку обмывают экстрагентом и содержимое ступки опять фильтруют, объединяя фильтраты. }

Аскорбиновая кислота весьма нестойка и легко окисляется на воздухе. Нагревание ускоряет окисление (разрушение) витамина С. Все манипуляции проводить не на ярком свете!

В полученных прозрачных экстрактах определяют содержание витамина С. При необходимости (в случае, когда на титрование экстрактов расходуется более 2 мл реактива) экстракты разводят в 2 и более раз. Для хранения экстракты переливают во флаконы из темного стекла для хранения, подписывают (курс, группа, дата приготовления, личные обозначения). Экстракты необходимо хранить в холодильнике.

Ход работы:

1) Гомогенизация биоматериала и экстракция витамина С

1 г высушенного растительного материала измельчают в фарфоровой ступке с 2 мл дистиллированной воды, смесь количественно переносят в мерную колбу на 25 мл и доводят объем водой до метки. Через 10 минут смесь фильтруют через бумажный фильтр в мерный цилиндр или другую мерную посуду. Полученный экстракт используют для определения витамина С в растительном материале. Оставшийся после определения витамина С экстракт кипятят на водяной бане и в нем также определяют содержание витамина С.

2) Количественное определение витамина С в экстракте

К 2 мл полученного экстракта добавляют 2-3 капли 10 %-го раствора соляной кислоты и 2 мл дистиллированной воды. Содержимое переливают в колбу или стакан на 50 мл и титруют 0,001 н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 30 секунд.

Расчет Содержание аскорбиновой кислоты рассчитывают по формуле:

$X = (0,088 \cdot A \cdot 25 \cdot 100) N / B \cdot V = (\text{мг}\%) = \text{мг}/100 \text{ г}$ растительного материала,

где X – содержание аскорбиновой кислоты в мг% или мг/100 г растительного сырья (сухого или сырого),

A – количество 2,6-дихлорфенолиндофенола (в мл), пошедшее на титрование,

B – количество сухого или сырого растительного материала, взятого для анализа,

B – объем вытяжки (в мл), взятый для титрования,

N – разведение экстракта,

25 – общий объем вытяжки в мл,

0,088 – количество аскорбиновой кислоты в мг, эквивалентное 1 мл 0,001 н раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола.

Аскорбиновая кислота не синтезируется в организме человека. Главным источником этого витамина являются свежие овощи и фрукты. В различных пищевых продуктах содержится следующее количество витамина С (в мг%): черная смородина – 100-400, укроп – 120-135, лимон – 40-55, капуста (свежая и квашенная) – 30-40, томаты – 20-40, лук зеленый – 16-33, яблоки северные – 20-40, яблоки южные – 5-17, смородина красная – 5-15, картофель – 7-10, бананы – 7-10, печень говяжья – 20-50, кумыс – 20-25, хвоя ели и сосны – 150-250.

Ответьте на вопросы:

1. Назовите основные этапы определения аскорбиновой кислоты в лекарственном растительном сырье.
2. Какой метод используют для определения аскорбиновой кислоты?
3. Каким растворителем извлекают аскорбиновую кислоту из лекарственного растительного сырья?
4. На каких свойствах основан метод определения аскорбиновой кислоты с 2,6-дихлорфенолиндофенолом?

Лабораторная работа № 2

Определение суммарного содержания фенольных соединений в лекарственном растительном сырье

Цель работы: научиться выделять фенольные соединения из растительного сырья и освоить спектрофотометрический метод определения суммарного содержания фенольных соединений в лекарственном растительном сырье.

Общие сведения

Суммарное содержание фенольных соединений (ФС) в пересчете на галловую кислоту определяют модифицированным методом Фолина-Чокальтеу. Фенольные соединения окисляются реактивом Фолина-Чокальтеу, состоящим из смеси фосфорно-вольфрамовой ($H_3PW_{12}O_{40}$) и фосфорно-молибденовой кислот ($H_3PMo_{12}O_{40}$), при этом реактив восстанавливается в смесь окислов вольфрама и молибдена голубого цвета. Оптическая плотность раствора при 765 нм пропорциональна содержанию фенольных соединений. В качестве стандарта используют фенольное соединение галловую кислоту. Можно использовать и другие фенольные соединения. Для точности определения суммарного содержания ФС в лекарственном растительном сырье в большинстве случаев пересчет ведут на фенольные соединения, доминирующие в лекарственном сырье. Для данной лабораторной работы выбрана галловая кислоту как довольно распространенное в растительном мире фенольное соединение, а также на занятии для анализа используют разные виды растительного сырья.

Следует отметить, что данная методика больше подходит для сравнительного анализа суммарного содержания ФС в лекарственном растительном сырье. Более точным методом определения тех или иных соединений фенольной природы, а также суммарного содержания в растительном сырье является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Ход работы:

Приготовление экстрактов из лекарственного растительного сырья:

Для приготовления экстрактов используют сырой или высушенный растительный материал. Это могут быть: цветки, листья, корни растений, биомасса каллусных или суспензионных культур растений в сухом (высушенном) или сыром виде.

Сумма фенольных соединений из сухого растительного сырья наиболее полно экстрагируется 70%-м этанолом. Можно также использовать для экстракции 50% этанол. В случае сырого материала с высоким содержанием воды, например, каллусной или суспензионной культур растений, экстракцию фенольных соединений целесообразнее проводить 96%-ым этанолом. Однако в каждом конкретном случае (определенный вид растительного сырья) необходимо экспериментальным путем выбирать определенный экстрагент (40%, 50%, 70% или 96% этанол) для наиболее полной экстракции суммы фенольных соединений.

Для наиболее полной экстракции также необходимо определенное соотношение растительного материала и экстрагента.

Для проведения лабораторной работы по количественному анализу суммарного содержания фенольных соединений в растительном сырье необходимо:

Измельчить ножницами и/или с помощью электрического прибора типа кофемолки или блендера, далее гомогенизировать 1 г высушенного лекарственного растительного сырья в ступке с 20 мл 70 %-м этанола, постепенно добавляя экстрагент (70%-й этанол). В случае сырого материала навеску материала для анализа увеличить в 5-10 раз и экстракцию в случае сильно оводненного материала (например, каллусной культуры) проводить 96 %-м этанолом.

{Для улучшения экстракции фенольных соединений можно провести кипячение сырья в этаноле с обратным холодильником или в аппарате Соксклета, обработку ультразвуком или др. манипуляции, которые позволяют увеличить выход фенольных соединений из сырья в экстракт. Однако подобные манипуляции требуют значительного времени и поэтому в ходе выполнения лабораторной работы не используются в связи с ограниченностью во времени. }

После гомогенизации сырья с этанолом содержимое ступки количественно переносят в мерную колбу на 20 мл и доводят объем водой до метки. Содержимое колбы фильтруют через бумажный (из фильтровальной бумаги) или ватный фильтр. После фильтрации оценивают прозрачность фильтрата (экстракта). В случае мутности последнего центрифугируют 10 мин при 5000 об/мин.

В полученных прозрачных экстрактах и их разведениях в 10 и 100 раз определяют суммарное содержание фенольных соединений.

Подготовка к выполнению измерений:

Приготовление рабочего раствора Фолина-Чокальтеу:

Реактив Фолина-Чокальтеу разводят дистиллированной водой в 10 раз. Необходимо приготовить 20 мл рабочего раствора.

Приготовление раствора карбоната натрия 7,5 %:

В мерную колбу вместимостью 100 мл наливают около 50 мл дистиллированной воды с температурой 60 °С и растворяют 7,5 г карбоната натрия при встряхивании. Доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Приготовление стокового раствора галловой кислоты 0,1 мг/мл:

Взвешивают 11 мг моногидрата галловой кислоты ($M_r=188,14$), растворяют в воде. Доводят до 10 мл, перемешивают и получают раствор с концентрацией 1 мг/мл готов. Из этого раствора галловой кислоты готовят 10 мл стокового раствора с концентрацией 0,1 мг/мл (для этого смешивают 1 мл 1 мг/мл галловой кислоты + 9 мл дист. воды).

Построение калибровочного (градуировочного) графика:

Из стокового раствора галловой кислоты отбирают 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,8, 0,9 мл в 8 пробирок (лучше использовать пробирки Флоринского, т.к. они имеют объем 5 мл). Доводят объем до 1 мл водой и перемешивают. Данные растворы (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8) являются стандартными растворами галловой кислоты с определенными концентрациями последней (0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,08, 0,09 мг/мл).

Далее по 0,1 мл стандартных растворов 1-8 вносят в 8 отдельных пробирок.

В контрольный раствор (контрольная пробирка, по которой будет обнуление на спектрофотометре) вносят 0,1 мл воды, вместо галловой кислоты.

Проведение анализа:

Добавляют по 0,5 мл рабочего раствора Фолина-Чокультеу в каждую пробирку (куда ранее было добавлено по 0,1 мл стандартных растворов галловой кислоты), через 3-8 мин добавляют по 0,4 мл карбоната натрия и перемешивают содержимое пробирок. Помещают в темное место. Через 1 ч измеряют оптическую плотность растворов в кювете толщиной 1 см при длине волны 765 нм.

По полученным данным строят калибровочный (градуировочный) график, откладывая по оси абсцисс концентрацию галловой кислоты, а по оси ординат – оптическую плотность. Калибровочный график должен начинаться в точке 0.

Подготовка проб для анализа

Экстракты из лекарственных растений разводят 70 % этанолом в 2, 5, 10 и 100 раз. После проведения анализа с реактивом Ф-Ч и определения оптической плотности выбирают экстракт или то разведение экстракта, оптическая плотность которого находится в диапазоне калибровочного графика. Остальные значения оптической плотности, которые находятся вне диапазона калибровочного графика, не используют для нахождения концентрации ФС в экстракте или разведениях экстракта.

Выполнение измерений

0,1 мл экстракта и его разведения в 10 и 100 раз помещают в отдельные стеклянные пробирки (лучше Флоринского) и далее выполняют действия как в разделе «Проведение анализа», т.е. добавляют по 0,5 мл рабочего раствора Фолина-Чокальтеу в каждую пробирку, через 3-8 мин добавляют по 0,4 мл

карбоната натрия и перемешивают содержимое пробирок. Помещают в темное место. Через 1 ч измеряют оптическую плотность растворов в кювете толщиной 1 см при длине волны 765 нм. В контрольный раствор (контрольная пробирка, по которой будет обнуление на спектрофотометре) вносят 0,1 мл воды, вместо галловой кислоты.

Таблица 1 Схема проведения анализа (какие реактивы и в каком объеме вносим в пробирки)

Реактив	Пробирки								
	калибровочные						с экстрактами		
	К	1*	2*	3*	4*	5-8*	1	2	3
Галловая кислота (стандартные растворы), мл	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-
Ф-Ч, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Na ₂ CO ₃ , мл	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Экстракты, мл	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1
H ₂ O _{дист.} , мл	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-

Пояснения к таблице 1:

Ф-Ч – рабочий раствор реактива Фолина-Чокальтеу,

В пробирки 1-8* вносят приготовленные стандартные растворы галловой кислоты с известной концентрацией.

В пробирки 1-3 вносят экстракты.

Вычисление результатов определения

Концентрацию галловой кислоты в экстрактах определяют по калибровочному графику. Содержание фенольных веществ вычисляют по формуле:

$$X = (N \times C \times V \times 100) / m, \text{ где}$$

X – содержание фенольных соединений в растительном материале, мг% (мг% = мг фенольных соединений в 100 г сырья),

N – разведение экстракта (при измерении оптической плотности в разбавленных экстрактах),

C – концентрация галловой кислоты, найденная по калибровочному графику, мг/мл,

V – общий объем экстракта, мл

100 – коэффициент для пересчета содержания фенольных соединений в 100 г сырья (вместо содержания фенольных веществ в 1 г сырья),

m – масса навески растительного сырья, взятого для экстракции, г

Этапы проведения анализа суммарного содержания ФС в растительном сырье с реактивом Ф-Ч в пересчете на галловую кислоту:

1. Приготовление экстракта

2. Приготовление стандартных растворов галловой кислоты и построение калибровочного графика

3. Проведение анализа ФС в экстракте с реактивом Ф-Ч
4. Определение содержания ФС в растительном сырье в пересчете на галловую кислоту (по формуле)

Ответьте на вопросы:

1. Назовите основные этапы определения суммарного содержания фенольных соединений в лекарственном растительном сырье.
2. Какой реактив используют для определения суммарного содержания фенольных соединений?
3. Каким растворителем извлекают фенольные соединения из лекарственного растительного сырья?
4. Что обозначают мг%?

Лабораторная работа №3

Определение суммарного содержания флавонолов и флавонов в лекарственном растительном сырье

Цель работы: Научиться выделять флавоноиды и освоить спектрофотометрический метод количественного анализа флавонолов и флавонов в лекарственном растительном сырье

Общие сведения

Для флавонов и флавонолов, в частности, для рутина характерны два максимума поглощения – коротковолновый (260 нм) и длинноволновый (362 нм), что может быть использовано не только с целью идентификации веществ, но в плане количественной оценки, особенно в условиях дифференциальной спектрофотометрии. При этом в присутствии $AlCl_3$ образуется батохромный сдвиг (смещение максимума поглощения в более длинноволновую область спектра) длинноволновой полосы с образованием максимума при длине волны 412 нм (аналитическая длина волны). Этот подход является одним из самых используемых при анализе ЛРС, содержащего флавоноиды, поскольку позволяет минимизировать вклад сопутствующих веществ в оптическую плотность исследуемых растворов

Таким образом, определение суммарного содержания флавонолов и флавонов в лекарственном растительном сырье проводится методом спектрофотометрии и основано на образовании кислотоустойчивых комплексов алюминия (III) с С-4-кето и/или С-3 или С-5 гидроксильными группами, имеющих максимумы поглощения в диапазоне длин волн 415-440 нм.

Ход работы:

Приготовление экстрактов из лекарственного растительного сырья.

Для приготовления экстрактов используют сырой или высушенный растительный материал. Это могут быть: цветки, листья, корни растений, биомасса каллусных или суспензионных культур растений в сухом (высушенном) или сыром виде.

Сумма флавонолов и флавонов (ФФ) из сухого растительного сырья наиболее полно экстрагируется 70%-м этанолом. Можно также использовать для экстракции 50% этанол. В случае сырого материала с высоким содержанием воды, например, каллусной или суспензионной культур растений, экстракцию флавонолов и флавонов целесообразнее проводить 96%-ым этанолом. Однако в каждом конкретном случае (определенный вид растительного сырья) необходимо экспериментальным путем выбирать определенный экстрагент (40%, 50%, 70% или 96 % этанол) для наиболее полной экстракции флавонолов и флавонов.

Для наиболее полной экстракции также необходимо определенное соотношение растительного материала и экстрагента.

Для проведения лабораторной работы по количественному анализу суммарного содержания ФФ в растительном сырье необходимо:

Измельчить ножницами и/или с помощью электрического прибора типа кофемолки или блендера, далее гомогенизировать 1 г лекарственного растительного сырья в ступке с 20 мл 70%-м этанола, постепенно добавляя экстрагент. В случае сырого материала навеску материала для анализа увеличить в 5-10 раз и экстракцию в случае сильно оводненного материала (например, каллусной культуры) проводить 96%-м этанолом.

{Для улучшения экстракции ФФ можно провести кипячение сырья в этаноле с обратным холодильником или в аппарате Соксклета, обработку ультразвуком или др. манипуляции, которые позволяют увеличить выход ФФ из сырья в экстракт. Однако подобные манипуляции требуют значительного времени и поэтому в ходе выполнения лабораторной работы не используются в связи с ограниченностью во времени. }

После гомогенизации сырья с этанолом содержимое ступки количественно переносят в мерную колбу на 20 мл и доводят экстрагентом до метки. Содержимое колбы фильтруют через бумажный (из фильтровальной бумаги) или ватный фильтр. После фильтрации оценивают прозрачность фильтрата (экстракта). В случае мутности последнего центрифугируют 10 мин при 5000 об/мин.

Полученные прозрачные экстракты переливают во флаконы из темного стекла, подписывают (курс, группа, дата приготовления, личные обозначения). Экстракты необходимо хранить в холодильнике.

Приготовление стандартных растворов (растворов определенного вещества определенных концентраций). Точную навеску 4,35 г тригидрата рутина (соответствует 4 мг рутина) растворяют в 10 мл 70 % этанола, перемешивают. Из полученного раствора с концентрацией рутина 400 мкг/мл разбавлением готовят стандартные растворы с концентрацией 100 и 200 мкг/мл.

Приготовление растворов для проведения анализа:

10 % $AlCl_3$ в 50% этаноле – 1г $AlCl_3$ растворить в 10 мл 50 % C_2H_5OH (этанола)

1 % CH_3OH – Ледяную (концентрированную) уксусную кислоту развести в 100 раз дистиллированной водой

Проведение анализа

Построение калибровочного графика

0,25 мл каждого стандартного раствора рутина (100, 200 и 400 мкг/мл) смешивают с 0,25 мл 10% $AlCl_3$ в этаноле и 2,5 мл 50% этанола. Смеси выдерживают при комнатной температуре 40 мин и измеряют оптическую плотность полученных растворов при 412 нм. В качестве раствора сравнения используют смесь: 0,25 мл соответствующего стандартного раствора рутина, 0,25 мл 10% уксусной кислоты и 2,5 мл 50% этанола. Порядок внесения реактивов см. Таблицу 1.

Обратите внимание, что для каждого стандартного раствора будет отдельный контроль, по которому ведут обнуление на спектрофотометре!!!

Таблица 1 – Порядок внесения реактивов для построения калибровочного графика по рутину и анализа ФФ в экстракте из растительного сырья

Варианты пробирок	Рутин, мкг/мл			Экстракт, мл	10 % $AlCl_3$ в этаноле, мл	50 % этанол, мл	1 % уксусная к-та, мл
	100	200	400				
1. Калибровочная для 100 мкг/мл рутина	0,25	-	-	-	0,25	2,5	-
2. Контрольная для пробирки 1	0,25	-	-	-	-	2,5	0,25
3. Калибровочная для 200 мкг/мл рутина	-	0,25	-	-	0,25	2,5	-
4. Контрольная для пробирки 3	-	0,25	-	-	-	2,5	0,25
5. Калибровочная для 400 мкг/мл рутина	-	-	0,25	-	0,25	2,5	-
6. Контрольная для пробирки 5	-	-	0,25	-	-	2,5	0,25
7. Пробирка с экстрактом	-	-	-	0,25	0,25	2,5	-
8. Контрольная пробирка для экстракта				0,25		2,5	0,25

или пробирки 7							
-------------------	--	--	--	--	--	--	--

Определение суммарного содержания флавонолов и флавонов.

Отбирают 0,25 мл образца (приготовленного экстракта) и проводят реакцию с $AlCl_3$ как описано выше. Измеряют оптическую плотность при 412 нм. В качестве раствора сравнения используют смесь: 0,25 мл раствора образца (экстракта), 0,25 мл 1% уксусной кислоты и 2,5 мл 50% этанола. Порядок внесения реактивов см. Таблицу 1.

Содержание ФФ вычисляют по формуле:

$$X = C \times V \times N / m, \text{ где}$$

X – содержание ФФ в растительном сырье, мг/г (сухой или сырой массы растительного сырья)

C – концентрация ФФ в пересчете на рутин, мг/мл

V – объем экстракта, мл

N – коэффициент разведения в случае разведения экстракта

m – масса (сухой или сырой) навески, г

Массовую концентрацию рутина (C) в экстракте определяют по калибровочному графику.

Ответьте на вопросы:

1. Назовите основные этапы определения суммарного содержания флавонов и флавонолов (ФФ) в лекарственном растительном сырье.

2. Какой реактив используют для определения суммарного содержания ФФ?

3. Каким растворителем извлекают флавоноиды из лекарственного растительного сырья?

4. Какой концентрации используют стоковый раствор для приготовления растворов рутина с известной концентрацией (калибровочных растворов)?

5. Что происходит при добавлении $AlCl_3$ к флавонам и флавонолам?

3. РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

3.1. Структура рейтинговой системы

Формой текущей аттестации по дисциплине «Биохимия лекарственных растений» учебным планом предусмотрен зачет. При формировании оценки текущей успеваемости дающей возможность проследить и оценить динамику процесса достижения целей обучения используют следующие весовые коэффициенты: защита отчетов по лабораторным работам – 30%; контрольные работы – 50%; реферат или задание с креативным компонентом – 20%.

3.2. Вопросы, темы рефератов и задание с креативным компонентом для УСР

При проведении УСР студенты отвечают письменно на открытые вопросы и вопросы в виде тестов, также студентам предлагаются на выбор темы для написания рефератов или задание с креативным компонентом.

1. Назовите кислые продукты слизи растений.
2. Какой класс вторичных метаболитов характеризуется наибольшим разнообразием структур?
3. В каких компартментах, как правило, происходит биосинтез вторичных метаболитов?
4. Какие соединения входят в состав эфирных масел растений?
5. Назовите растительные полисахариды.
6. Какие продукты образуются при гидролизе инулина?
7. Для каких частей растений характерно преобладание свободных органических кислот над связанными.
8. Какие полисахариды являются экссудативными продуктами растений?
9. Какие углеводы растений относятся к запасным?
10. Какую общую структуру имеют все стероиды?
11. Из какого исходного соединения синтезируется изопентенилпирофосфат по мевалонатному пути?
11. Какие классы вторичных метаболитов образуются из аминокислот?
12. У какой группы алкалоидов азот входит в состав гетероцикла?
13. Обнаружение какой группы веществ проводят: качественными реакциями, основанными на биологических (гемолиз эритроцитов) и физических свойствах (проба пенообразования); химическими реакциями; методами хроматографии?

14. При биосинтезе каких соединений у высших растений ацетатномалонатный путь обычно реализуется в сочетании с шикиматным путем?

15. К какой группе относят сердечные гликозиды, содержащие при C17 ненасыщенное шестичленное лактонное кольцо?

16. Какие соединения считают конечными продуктами шикиматного пути?

17. Их каких продуктов шикиматного пути синтезируются фенольные соединения у растений?

18. Соотнесите индивидуальное соединение (1–9) с группой, к которой оно принадлежит (а–в):

1) папаверин; 2) цианидин; 3) соланин; 4) кверцетин; 5) ситостерин; 6) эпикатехин; 7) морфин; 8) лимонен; 9) гваякол.

а) алкалоиды; б) фенольные соединения; в) изопреноиды.

19. Горький вкус горчичному маслу придают: а) фенилпропаноиды; б) серосодержащие гликозиды; в) тиофены; г) растительные амины.

20. Аллицин лука и чеснока относят: а) к алкалоидам; б) фенилпропаноидам; в) серосодержащим вторичным метаболитам; г) растительным аминам; д) тиофенам.

21. Установите соответствие между аминами (1–6) и аминокислотами (а–е), из которых они образуются:

1) этаноламин; 2) кадаверин; 3) изобутиламин; 4) триптамин; 5) изоамиламин; 6) путресцин.

а) орнитин; б) триптофан; в) лейцин; г) валин; д) серин; е) лизин.

22. Выберите из предложенного перечня названия вторичных метаболитов, которые относятся к минорным группам: а) антоцианы; б) беталаины; в) стильбены; г) цианогенные гликозиды; д) катехины; е) таннины; ж) лигнины.

23. Установите соответствие между алкалоидами (1–4) и аминокислотами (а–г), из которых они образуются: Алкалоиды: 1) кокаин; 2) морфин; 3) анабазин; 4) хинин. Аминокислоты: а) триптофан; б) тирозин; в) лизин; г) орнитин.

24. Предшественником индольных алкалоидов является: а) L-орнитин; б) L-триптофан; в) L-аспартат + C3 -единица; г) L-тирозин.

25. Выберите из предложенного перечня названия вторичных метаболитов, которые не относятся к алкалоидам: а) кверцетин; б) эфедрин; в) кумарин; г) соланидин; д) таннин; е) кофеин.

26. Установите соответствие между названием алкалоида (1–5) и видом растения, в котором он встречается (а–д): Название алкалоида: Растение: 1) атропин; а) болиголов пятнистый; 2) кониин; б) раувольфия змеиная; 3) резерпин; в) безвременник; 4) колхицин; г) жгучий перец; 5) капсаицин. д) белладонна.

27. Установите соответствие между названием алкалоида (1–4) и его действием (а–г): Название алкалоида: 1) морфин; 2) атропин; 3) колхицин; 4) кониин. Наиболее характерное действие на организмы: а) сильнодействующий яд; б) блокирует процессы митоза; в) успокаивающее и обезболивающее средство; г) расширяет зрачок.

28. Предшественником псевдоалкалоидов является: а) аспарагиновая кислота; б) антралиловая кислота; в) мевалоновая кислота; г) L-орнитин.

29. Выберите из предложенных утверждений верные: а) алкалоиды в больших количествах обнаруживаются в периплазматическом (внеклеточном) пространстве; б) алкалоиды участвуют в поддержании ионного баланса клеток благодаря хелатирующей способности и основным свойствам; в) наиболее широко алкалоиды распространены среди мхов, папоротников и голосеменных; г) алкалоиды могут играть роль резерва азота, накапливаясь при усиленном азотном питании.

30. Назовите в правильной последовательности основные стадии образования алкалоидов из нециклических предшественников: а) конденсация; б) декарбоксилирование и дезаминирование; в) метилирование; г) циклизация.

31. Назовите аминокислоту, из которой синтезируются индольные алкалоиды: а) тирозин; б) фенилаланин; в) триптофан; г) треонин.

32. Расположите в правильной последовательности названия промежуточных метаболитов синтеза изопреноидов, которые образуются за счет последовательного присоединения изопренильных фрагментов: а) геранилгеранилпирофосфат; б) диметилаллилпирофосфат; в) геранилпирофосфат; г) фарнезилпирофосфат.

33. Исходным метаболитом для синтеза «активного изопрена» в пластидах является: а) мевалоновая кислота; б) дезоксисилулозо-5-фосфат; в) ацетилкоэнзим А.

34. Установите соответствие между представителями фенольных соединений (1–6) и типом их химической структуры (а–е): Представители: 1) стильбены; 2) фенилпропаноиды; 3) флавоноиды; 4) фенолокислоты; 5) простые фенолы; 6) фенолоспирты. Тип химической структуры: а) С₆ -ряд; б) С₆-С₁ -ряд; в) С₆-С₃ -ряд; г) С₆-С₂ -ряд; д) С₆-С₃-С₆ -ряд; е) С₆-С₂-С₆ -ряд.

35. Выберите из предложенных выражений верные: а) ароматические аминокислоты не синтезируются у животных, так как у них отсутствует шикиматный путь; б) образование лигнина из коричных спиртов сопровождается свободнорадикальными реакциями; в) меланины животных и растений являются азотсодержащими соединениями.

36. Наиболее восстановленной группой фенольных соединений являются: а) кумарины; б) флавононы; в) антоцианы; г) катехины.

37. Расположите в правильной последовательности названия промежуточных метаболитов синтеза лигнина: а) L-фенилаланин; б) хоризмовая кислота; в) простые фенолы; г) гидроксикоричные спирты; д) шикимовая кислота; е) гидроксикоричные кислоты; ж) хинная кислота.

38. Конденсированные дубильные вещества (таннины) синтезируются при участии: а) только шикиматного пути; б) только ацетатно-малонатного пути; в) шикиматного и ацетатно-малонатного пути.

39. Выберите из предложенного перечня три представителя тритерпеноидов: а) ментол; б) фитол; в) сапонины; г) сердечные гликозиды; д) абсцизовая кислота; е) гиббереллин; ж) экдистероиды.

Примерная тематика реферативных работ

1. Методы получения эфирных масел.
2. Биологически активные вещества растений рода *Taxus* и их использование в медицине.
3. Особенности биосинтеза алкалоидов в клеточных культурах *Catharanthus roseus* по сравнению с нативным растением.
4. Использование биофлавоноидов в медицине.
5. Методы оценки антиоксидантной активности растительных экстрактов.
6. Использование фитостероидов в медицине.
7. Растительные гликозиды и их роль в фармакологии.
8. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие кардиогликозиды.
9. Лекарственные растения и лекарственное растительное сырье, содержащие кумарины, хромоны и ксантоны.
10. Экдистероиды и их биологическая активность.
11. Основные лекарственные растения, содержащие сапонины.
12. Адаптогены растительного происхождения.
13. Фитонцидная активность растений.

Задание с креативным компонентом

Выберите из научно-исследовательских статей, размещенных на образовательном портале БГУ, одну наиболее заинтересовавшую, внимательно прочитайте, проанализируйте материалы статьи и напишите рецензию на статью.

Рецензия обычно включает:

1. название статьи, ФИО автора или группы авторов;
2. описание основной цели работы или главной темы, актуальности выполненных исследований, научной значимости;
3. очень краткое, сжатое описание всех разделов работы. Главная задача – раскрыть все достоинства и недостатки работы, опираясь на свой опыт в данной области наук. Рецензент высказывает свое личное мнение, делает некие суждения относительно качества результатов, отраженных в работе, указывает на сильные и слабые ее стороны, но при этом, обязательно опирается на строгие факты и результаты, представленные автором – без домыслов и фантазий. Ни в коем случае здесь не должно быть простого пересказа написанного или пустой безосновательной критики. Как бы вы не относились к прочитанному, с самого начала и до конца рецензии в тексте должен выдерживаться дружелюбный тон.
4. заключение, в котором необходимо подчеркнуть основную мысль относительно мнения по поводу рецензируемой работы – какая итоговая оценка, положительная или отрицательная, в целом дается работе.

В написании рецензии вам помогут следующие рекомендации:

1. В первую очередь, выполните детальную проработку (вычитку) текста, которая заключается в изучении всех основных аспектов,

представленных в работе: название, содержание, цель, задачи, выводы, заключения, актуальность, аргументированность, логическая последовательность изложения и т.д. Попробуйте покритиковать работу с разных сторон, постарайтесь увидеть ее пробелы, несоответствия в тексте. Прислушайтесь к себе – все ли вам понятно при прочтении или у вас остались вопросы без ответа. Таким образом, вы уже проведете анализ работы и сформируете свое первоначальное мнение. *Важная задача для рецензента* – получить ясное представление о работе, на которую пишется рецензия.

2. В ходе изучения работы, сразу составляйте список важных моментов, на которые вы бы хотели обратить внимание в своей рецензии, отмечайте все нестыковки и противоречия, отличительные черты и характерные моменты; запишите «плюсы» и «минусы».

3. Составьте для себя два списка. В первом укажите все достоинства работы, во втором – недостатки, которые по вашему мнению, можно было бы исправить. К основным достоинствам относится: актуальность и высокая степень проработанности изучаемой проблемы; полное достижение поставленных задач; хорошая степень раскрытия тематики; логическая последовательность в представлении данных; также необходимо отметить полноту и достаточность проведенных экспериментов; достоверность полученных результатов; наличие теоретической или практической пользы от проведенного исследования и др. К основным недостаткам относится: отсутствие актуальности, недостаточное раскрытие темы; несоответствие цели – задачам, или задач – полученным результатам; нечеткое описание хода проведенного исследования; отсутствие логически сформированных выводов по каждой задаче; недостоверность представленных данных.

Объем рецензии – 1-2 страницы.

3.4. Вопросы для подготовки к зачету.

1. Биохимия лекарственных растений: задачи и значение. Связь биохимии лекарственных растений с другими науками. Категории лекарственных растений.

2. Классификация лекарственных растений и лекарственного растительного сырья.

3. Понятие о лекарственных растениях, их роли в современной традиционной медицине.

4. Химический состав лекарственных растений.

5. Вещества первичного и вторичного синтеза. Связь вторичного метаболизма с первичным метаболизмом.

5. Биологически активные вещества растений.

6. Общая характеристика вторичных метаболитов. Основные классы, признаки и функции вторичных метаболитов.

7. Места биосинтеза и накопления вторичных метаболитов в клетках, тканях и органах растений.

8. Общая характеристика, химическое строение, классификация и свойства полисахаридов растений.
9. Состав, свойства и применение в медицине слизей, содержащихся в растениях.
10. Состав камедей, классификация, свойства и применение в медицине. Распространение камедей у растений.
11. Строение и функциональные свойства инулина из растений. Инулин как пребиотик.
12. Строение, функциональные свойства и применение в медицине пектина из растений.
13. Органические кислоты: алифатического ряда, алициклические, ароматические, сахарные.
14. Общая характеристика органических кислот, классификация, использование в медицине.
15. Терпеноиды: общая характеристика, классификация, химическое строение и функции в растениях.
16. Структура изопреноидов, правило Ружички или биогенетическое изопреновое правило.
17. Монотерпены: структура, свойства, биосинтез и распространение в растениях.
18. Дитерпены и тетратерпены, структура, свойства, биосинтез и распространение в растениях.
19. Тритерпены: структура, свойства, биосинтез и распространение в растениях.
20. Биосинтез изопреноидов, основные стадии и локализация биосинтетических реакций.
21. Биосинтез изопентенилпирофосфата по альтернативному пути.
22. Биосинтез изопентенилпирофосфата по мевалонатному пути.
23. Состав и свойства эфирных масел. Использование эфирных масел в медицине: фармацевтические препараты на основе моно- и бициклических монотерпенов.
24. Распространение, содержание и функции алкалоидов в растениях.
25. Алкалоиды: общая характеристика, свойства, классификация.
26. Терпеновые алкалоиды.
27. Биосинтез алкалоидов.
28. Биосинтез алкалоидов из аминокислот.
29. Аллицины, беталины, непротеиногенные аминокислоты, тиофены. Общая характеристика, строение, биологическая активность и распространение в растениях.
30. Цианогликозиды и тиогликозиды. Общая характеристика, строение, биологическая активность и распространение в растениях.
31. Кардиогликозиды и сапонины. Общая характеристика, строение, биологическая активность и распространение в растениях.

32. Методы определения алкалоидов в растительном сырье.
33. Фенольные соединения растительного происхождения: общая характеристика, классификация, функции в растениях.
34. Биосинтез фенольных соединений.
35. Шикиматный путь биосинтеза фенольных соединений.
36. Ацетатно-малонатный путь биосинтеза фенольных соединений.
37. Биосинтез флавоноидов.
38. Методы исследования фенольных соединений.
39. Биотехнологическое получение лекарственных средств на основе растительных клеточных культур.
40. Клеточные культуры растений для получения биологически активных веществ для создания лекарственных и косметических препаратов.
41. Использование алкалоидов в медицине.
42. Использование фенольных соединений в медицине.
43. Лекарственные растения, содержащие алкалоиды. Локализация алкалоидов в растении, влияние внешних факторов на содержание алкалоидов в растениях.
44. Лекарственные растения, содержащие флавоноиды, классификация флавоноидов, строение, антиоксидантные свойства.

4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

4.1. Рекомендуемая литература

Основная литература

1. Биохимия растений: вторичный обмен: учебное пособие для вузов, для студ., обуч. по программам магистратуры по направлению подготовки "Биология" / Г. Г. Борисова [и др.]; под ред. Г. Г. Борисовой; [Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина]. - Москва: Юрайт; Екатеринбург: Изд-во Уральского ун-та, 2023. - 128 с.

2. Филиппова Г.Г. Биохимия растений: учебное пособие для студентов учреждений высшего образования по специальностям "биология (по направлениям)", "биохимия" / Г. Г. Филиппова ; БГУ. - Минск: БГУ, 2022. - 255 с.

3. Лекарственные растения белорусской фармакопеи: практическое пособие: [учеб. пособие для студентов мед. вузов] / [Н. С. Гурина и др.; под. общ. ред. Н. С. Гуриной]. - Минск: Профессиональные издания, 2020. - 235 с.

4. Колодязная В.А. Регуляция процесса биосинтеза биологически активных веществ / В. А. Колодязная, О. В. Топкова, Е. П. Яковлева; Санкт-Петербургский гос. химико-фармацевтический ун-т. - Москва: КноРус, 2022. - 149 с.

5. Фармакогнозия [Электронный ресурс]: электронный учебно-методический комплекс для специальностей: 1-31 05 01-03 «Химия (фармацевтическая деятельность)», 1-31 05 02 «Химия лекарственных соединений» / БГУ, Химический фак., Каф. радиационной химии и химико-фармацевтических технологий; сост.: Г. И. Горбачевич, Г. Н. Царик. - Минск: БГУ, 2020.

Дополнительная литература

1. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений / А. П. Волюнец; [науч. ред. В. Н. Решетников]; НАН Беларуси, Ин-т экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича. - Минск: Беларуская навука, 2013. - 283 с.

2. Дергоусова Т.Г. Фармакогнозия. Лекарственные растения и сходные с ними виды: учеб. пособие для студ., обуч. по спец. 33.05.01 – Фармация / Т. Г. Дергоусова, О. Д. Могильная. - Ростов-на-Дону: Феникс, 2017. - 142 с.

3. Толкач О.Я. Органическая химия с основами биохимии растений. Лабораторный практикум: учебно-методическое пособие для студентов учреждений высшего образования по специальностям 1-75 01 01 "Лесное хозяйство", 1-75 02 01 "Садово-парковое строительство" / О. Я. Толкач; УО "Бел. гос. технологический ун-т". - Минск: БГТУ, 2022. - 142 с.

4. Хелдт, Г.-В. Биохимия растений / Ганс-Вальтер Хелдт ; пер. с англ. М. А. Брейгиной [и др.] под ред. А. М. Носова, В. В. Чуба. - Москва : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. - 471 с.

5. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений : учеб. пособие для студ. биол. спец. ун-тов . - Москва: Высшая школа, 1974.

6. Органическая химия: учебник для студ. учреждений высш. проф. образования, обуч. по спец. "Фармация" по дисциплине "Органическая химия" / [авт.: Н. А. Тюкавкина и др.] ; под ред. Н. А. Тюкавкиной ; М-во образования и науки РФ. - Москва : ГЭОТАР-Медиа , 2019. - 639 с.

4.2. Электронные ресурсы

1. Научная электронная библиотека elibrary.ru [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.elibrary.ru– Дата доступа: 06.02.2025.

2. Национальная медицинская библиотека [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed – Дата доступа: 06.02.2025.