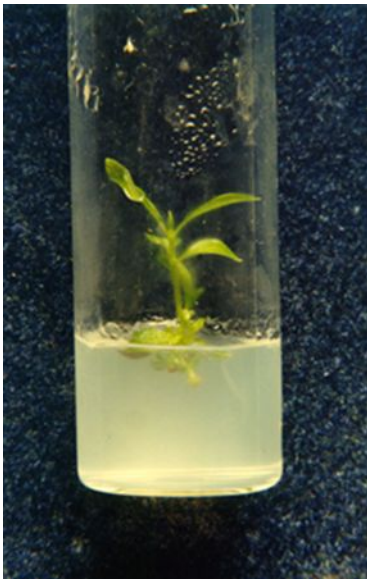


# Растения как источник биологически активных веществ (БАВ)



## Растения, как основа для получения Биологически Активных Веществ

Растения являются продуцентами многих БАВ – соединений, способных оказывать влияние на биологические процессы в организме. К таким соединениям принадлежат сердечные гликозиды, сапонины, стероиды, каротиноиды, полифенолы, алкалоиды, витамины, хиноны, а также вещества, обладающие специфическим ароматом, вкусом и окраской. Биологически активные вещества принадлежат к продуктам вторичного обмена, которые называют вторичными метаболитами или вторичными продуктами биосинтеза. В настоящее время известно более 100 000 вторичных метаболитов, продуцируемых растениями. Многие из них являются практически, экономически важными продуктами и используются в фармакологической, косметической, пищевой промышленности.



Papaver somniferum –  
источник кодеина

Промышленное использование некоторых растительных  
продуктов в качестве фармацевтических средств

<b>Растительный продукт</b>	<b>Вид растения</b>
Кодеин (алкалоид)	Рарaver somniferum
Диосгенин (стероид)	Dioscorea deltoidea
Хинин (алкалоид)	Cinchona ledgeriana
Дигоксин (сердечный гликозид)	Digitalias lanata
Скополамин (алкалоид)	Datura stramonium
Винкрестин (алкалоид)	Catharanthus roseus

Десять наиболее употребляемых лекарственных веществ,  
получаемых из растений

Лекарственное вещество	Активность	Растение-источник
Стероиды из диосгенина	Противозачаточные средства	Dioscorea deltoidea
Кодеин	Болеутоляющее	Papaver somniferum
Атропин	Антихолинэргическое	Atropa belladonna L.
Резерпин	Снижающее давление	Rauwolfia serpentina L.
Геоциамин	Антихолинэргическое	Hyoscyamus niger L.
Дигоксин	Тонизирующее сердечную деятельность	Digitalis lanata L.
Скополамин	Антихолинэргическое	Datura metel L.
Дигитоксин	Сердечно-сосудистые	Digitalis purpurea L.
Пилокарпин	Холинэргическое	Pilocarpus jaborandi
Хинидин	Антималарийное	Cinchona ledgeriana

## Примеры лекарственных веществ, полученные на основе каллусных культур

- Стевиозид - естественный подсластитель и заменитель сахара, успешно используется вместо искусственных подслащивающих веществ. Исходное растение - *Stevia rebaudiana Bertoni*.
- Арглабин – противоопухолевое соединение. Исходное растение - *Artemisia glabella Kar. et Kir*. Входит в состав одноименного препарата.
- Лаппаконитин - дитерпеновый алкалоид , аритмическое средство. Исходное растение - *Aconitum septentrionale Koelle*. Входит в состав препарата Аллапинин.





кукуруза



соя



хлопок



рапс



ТОМАТЫ



картофель.

### трансгенные сельхоз культуры

1. с незадаанными эффектами проявления гена (возможность изменения химического состава и снижения пищевой ценности продукта).
2. изменение технологических параметров, ухудшающих потребительские свойства продуктов.
3. в результате генной модификации могут синтезироваться какие-то компоненты, вызывающие аллергические реакции, или появиться опасные соединения, обладающие мутагенным, канцерогенным или токсическим эффектом.

# Биотрансформация на примере стероидных гликозидов



## *Digitalis lanata* L.

Биотрансформация дигитоксина в дигоксин за счет реакции  $\beta$ -12-гидроксилирования, катализируемой ферментом, содержащимся в клетках наперстянки, впервые была проведена в ФРГ и включала манипуляции с использованием свободных суспензионных культур и целых иммобилизованных клеток

## $\beta$ -Метилдигитоксин и связанные с ним продукты биотрансформации



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	
	-H	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	$\beta$ -метилдигитоксин
	-OH	-H	-CH <sub>3</sub>	-H	$\beta$ -метилдигоксин
	-H	-H	-глюкоза	-H	пурпуреагликозид А
	-OH	-H	-глюкоза	-H	диацетилланатозид С



**Panax**

*Berberis vulgaris* L

*Rauwolfia serpentina* Benth



Cell strain of *Panax ginseng* *Thalictrum minus* L.

Источник гипотензивных и противоаритмических индольных алкалоидов. Клеточной селекцией с использованием химических мутагенов получен высокопродуктивный штамм, накапливающий аймалин, содержание которого составляет около 50% от суммы алкалоидов, синтезируемых культурой.



**Можно назвать несколько направлений создания новых технологий на основе культивируемых тканей и клеток растений:**

- 1. Получение биологически активных веществ растительного происхождения:  
– традиционных продуктов вторичного метаболизма (токсинов, гербицидов, регуляторов роста, алкалоидов, стероидов, терпеноидов, имеющих медицинское применение).**
- 2. Культивируемые в суспензии клетки могут применяться как мультиферментные системы, способные к широкому спектру биотрансформаций химических веществ (реакции окисления, восстановления, гидроксирования, метилирования, деметилирования, гликолизирования, изомеризации).**
- 3. Ускоренное клональное микроразмножение растений, позволяющее из одного экпланта получать от 10000 до 1000000 растений в год, причем все они будут генетически идентичны.**

# Типы культур клеток и тканей

## Каллусная (поверхностное культивирование):

- ▶ Плотные ткани с зонами редуцирования камбия и сосудов
- ▶ Ткани средней плотности с хорошо выраженными меристематическими очагами (органогенез)
- ▶ Рыхлые ткани, сильно обводненные, легко распадающиеся на отдельные клетки (получение суспензии)

## Суспензионная (глубинное культивирование)

- ▶ суспензии из каллусных тканей рыхлого типа (или плотного исключив из питательной среды соли  $\text{Ca}^{2+}$ ), можно культивировать ткань на среде, содержащей ауксин, 2,4-D или ферменты - пектиназу (0,2 мг/л) и целлюлазу (0,01 мг/л).
- ▶ суспензии из экспланта по методу Ф. Стюарта - эксплант помещают в жидкую среду при постоянном автоматическом перемешивании, дедифференцированные клетки отрываются от экспланта, образуя суспензию в питательной среде. Постоянное встряхивание - необходимое условие культивирования клеточных суспензий. суспензионные культуры представлены разными агрегатами каллусных клеток.

## Прикладные аспекты суспензионных культур:

- ▶ получение изолированных протопластов для клеточной селекции и клеточной инженерии (введение чужеродных ДНК)
- ▶ для получения вторичных метаболитов, выявления новых веществ, для выращивания клеточной биомассы.

# Характеристика каллусных клеток

- ▶ Каллусная клетка имеет свой цикл развития, аналогичный циклу других клеток.
- ▶ **особенности физиологические** свойственные клеткам растения - морозостойкость, устойчивость к абиотическим факторам (температура, засоление, фотопериодическая реакция), способность к синтезу вторичных метаболитов.
- ▶ **особенности характерные для каллусов** - длительно культивируемые *in vitro* клетки высших растений (каллусные и суспензионные), образуют специфическую популяцию соматических клеток, характеризующуюся физиологической асинхронностью и генетической гетерогенностью.

**Физиологическая асинхронность** (наиболее важное свойство неполовой популяции) - в каждый данный момент времени клетки находятся в разных стадиях роста: одни делятся, другие растут, а третьи уже стареют. (общее физиологическое состояние популяции оценивают по состоянию большинства клеток).

**Гормоннезависимость** - автономность по отношению к ауксинам и цитокининам, возникающая при длительном культивировании практически у всех тканей .

Ткани могут расти на среде без гормонов, как опухолевые клетки в отличие от нормальных каллусных тканей. Внешне гормоннезависимые ткани ничем не отличаются от каллусных.

Хотя гормоны и вызывают мутации, каллусные ткани от большинства растений образуются только в присутствии в питательной среде и ауксинов, и цитокининов.

Клетки, которые в процессе культивирования приобрели свойство гормоннезависимости, называются “привыкшими”.

Ткани, образованные “привыкшими” клетками, называют “химическими опухолями” (в отличие от растительных или генетических опухолей).

Генетические опухоли возникают на межвидовых гибридах растений.

Растительные опухоли имеют бактериальное или вирусное происхождение. Чаще всего растительные опухоли возникают при попадании в растения агробактерий.

# Микроклональное размножение

- ▶ Аналогично вегетативному типу размножения растений, но протекает в пробирке в условиях *in vitro*, где из клеток изолированных тканей можно получить большое количество новых растений. Обязательное условие - идентичность полученного растительного материала исходному материнскому растению. Еще недавно этот способ рассматривали как возможность ускоренного клонирования вегетативно размножающихся видов растений, а также как вспомогательный метод освобождения растений от вирусов. Однако результаты некоторых исследований показали, что значение этого метода существенно возрастает для клоновой селекции растений (экспериментальный мутагенез и расхимеривание), криосохранения ценного исходного материала, а также ряда других. Способность к образованию больших количеств (несколько миллионов и более) соматических зародышей в условиях *in vitro* используется для разработки технологии массового и непрерывного получения "искусственных семян". Более того, метод клонального микроразмножения может быть с успехом использован для создания синтетических сортов. К настоящему времени число видов, которые можно клонировать «в пробирке», уже составляет около 1000.

# Преимущества метода

- значительно более высокие коэффициенты размножения (можно получить до 100 000-1 000 000 мериклонов в год, тогда как при обычном размножении – 5-100 растений за тот же срок;
- миниатюризация процесса, приводящая к экономии площадей, занятых маточными и размножающимися растениями;
- оздоровление растений от грибных и бактериальных патогенов, вирусов, микоплазменных, виroidных и нематодных инфекций;
- возможность размножения и укоренения растений, размножение которых затруднено обычными способами.

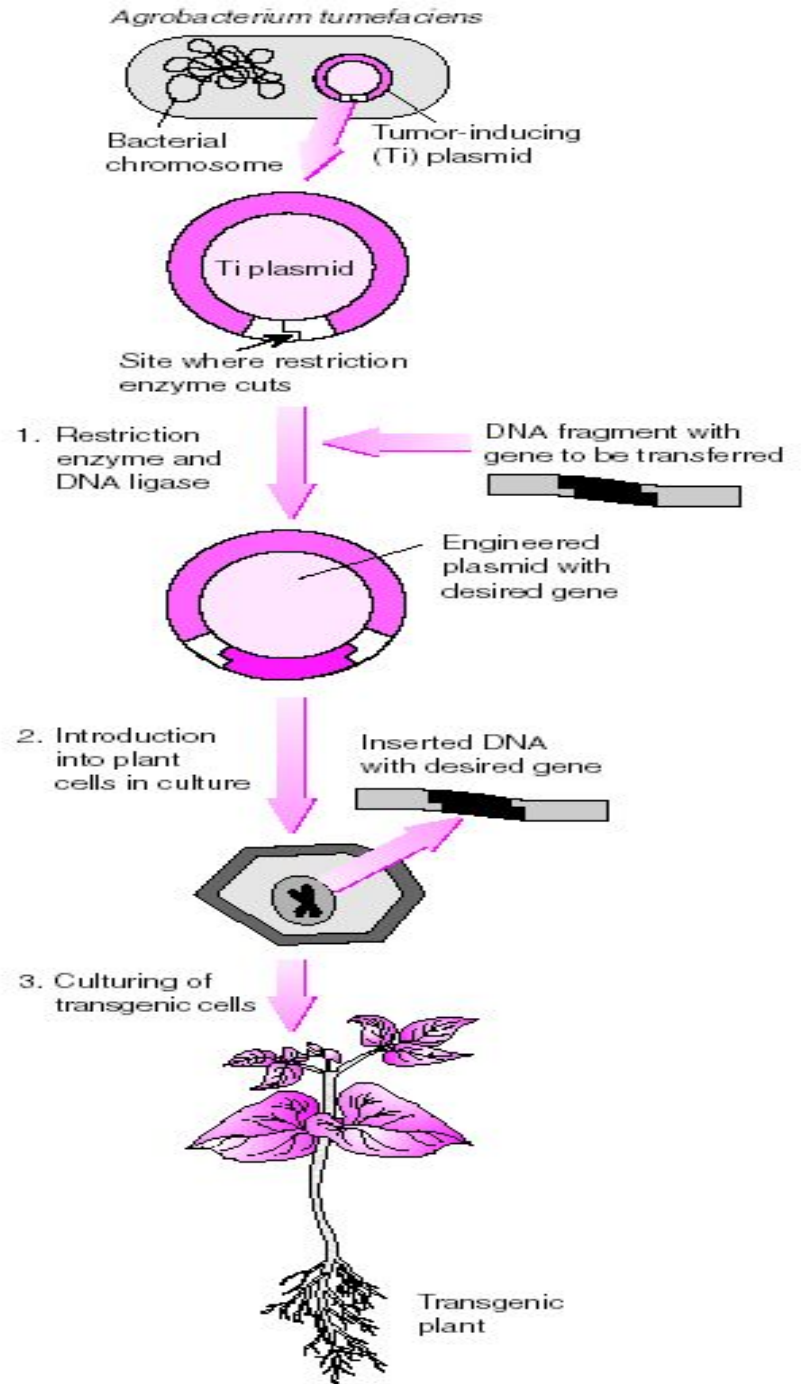
Хотя этот метод микроклонального размножения растений является довольно трудоемким и затратным, в ряде случаев на его основе уже стало возможным создавать экономически рентабельные биотехнологии.

# Hairy roots

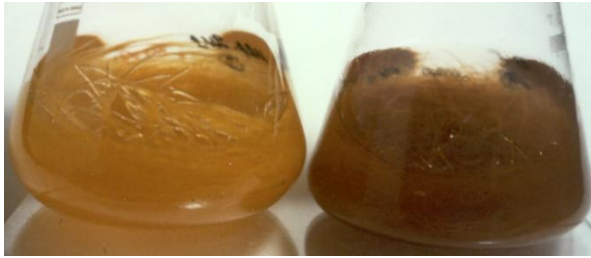


**Native roots of  
*Scutellaria baicalensis*  
Georgi.**

**Hairy roots of  
*Scutellaria baicalensis*  
Georgi.**



# Morphology of hairy roots



**Rubia tinctorum grown in Murasige-Scug and B-5**



**Rauwolfia in flask**



**Scutellaria baicalensis hairy root**



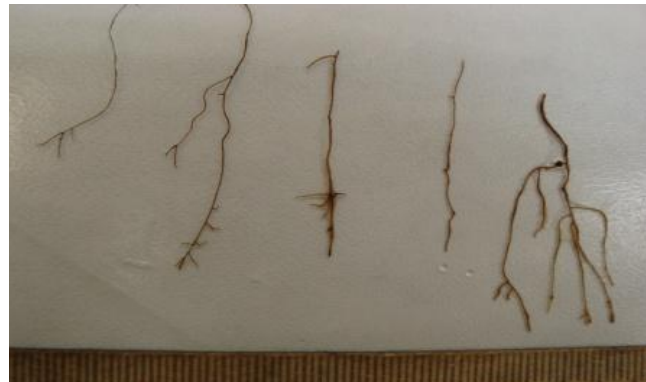
**freeze-dried hairy roots of Rubia tinctorum**



**Yong hairy roots of Rauwolfia**



**Salvia officinalis in flask**

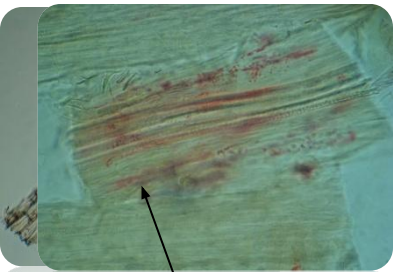


**Hairy roots of Salvia officinalis L.: branching**



# Anatomy of hairy roots

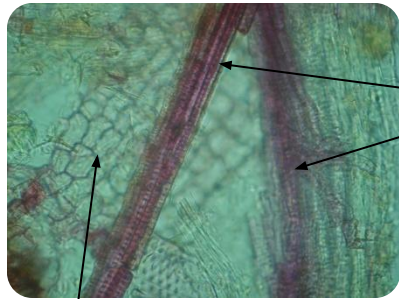
Powder of hairy roots of *Rubia tinctorum*  
in floroglucin 1,5\*20\*2



Lignified tissues



Suberic cells



tracheids

Suberic cells

Hairy root of *Sophora* sp. in floroglucin 1,5\*20\*2

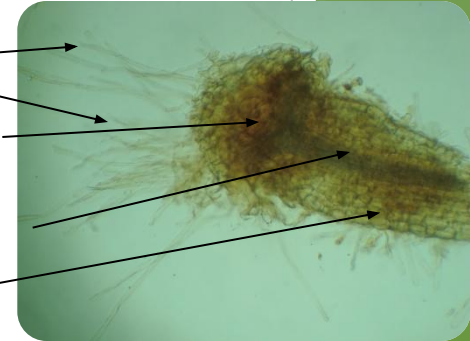
Hairy roots of *Salvia officinalis* L  
1,5\*20\*2

Sucking fuzzes

root cap

axon

suberic



Sucking fuzzes



transverse section of hairy roots of *Hedysarum theinum* in floroglucin 1,5\*40\*2