

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## ЭЛЕМЕНТЫ – РЕГУЛЯТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ И НАКОПЛЕНИЯ ИНДОЛОВ И ИЗОХИНОЛИНОВ У ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

### ELEMENTS – REGULATORS IN THE FORMATION AND ACCUMULATION OF INDOLES AND ISOQUINOLINES IN MEDICINAL PLANTS

М.Я. Ловкова<sup>1</sup>, Г.Н. Бузук<sup>2</sup>

M.Ya. Lovkova<sup>1</sup>, G.N. Buzuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва

<sup>2</sup> Витебский медицинский университет, Витебск, Белоруссия

<sup>1</sup> Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow

<sup>2</sup> Vitebsk Medical University, Vitebsk, Belarus

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** лекарственные растения, элементы, индолы, изохинолины, активаторы и ингибиторы образования алкалоидов.

**KEYWORDS:** medicinal plants, elements, indoles, isoquinolines, activators and inhibitors of alkaloids formation.

**РЕЗЮМЕ.** У проростков катарантуса розового (*Catharanthus roseus* L.) и мака снотворного (*Papaver somniferum* L.) исследовано влияние 11 элементов (Co, Mo, Zn, W, Cr, Cu, B, Fe, V, Mn, Ni плюс Ca у второго вида) на образование и накопление индолов и изохинолинов соответственно. Определены три типа зависимости их действия от концентрации. Выявлены элементы-активаторы Co, Zn, W, Ni и Cu – для индолов и Co, Mo, W, Cr и Cu – для изохинолинов, а также ингибиторы образования этих алкалоидов (V – у индолов, B, Fe, V, Mn, Ca – у изохинолинов). Предложены оптимальные концентрации пар этих элементов при их совместном применении (у индолов – Co + Zn, у изохинолинов – Co + Mo). Рассмотрены возможные молекулярные механизмы действия элементов, оказывающих регуляторный эффект.

**ABSTRACT.** The effects of 11 elements (Co, Mo, Zn, W, Cr, Cu, B, Fe, V, Mn, Ni plus Ca for second species) on the formation and accumulation of indoles and isoquinolines were studied in seedlings of *Catharanthus roseus* L. and *Papaver somniferum* L. accordingly. The types of concentration dependencies for the effect of elements were evaluated. The elements served as activators Co, Zn, W, Ni, Cu – for indoles and Co, Mo, W, Cr, Cu – for isoquinolines and also inhibitors for formation of this alkaloids (V – for indoles, B, Fe, V, Mn, Ca – for isoquinolines) were made. Optimal concentrations of elements pairs under

combined treatment were proposed (for indoles – Co + Zn, for isoquinolines – Co + Mo). Possible molecular mechanisms of action of the elements served as regulators are considered.

#### ВВЕДЕНИЕ

Одними из особо ценных для медицины лекарственных растений являются *Catharanthus roseus* L., синтезирующий более 120 мономерных и димерных индольных алкалоидов (среди них – винбластин и винкристин – лучшие из современных цитостатиков), а также *Papaver somniferum* L., алкалоиды которого – морфин и кодеин. Получаемые на их основе многочисленные препараты, несмотря на успехи, достигнутые в создании средств подобного действия, продолжают оставаться одними из лучших современных анальгетиков. В связи с этим исследование на примере данных видов образования и накопления индолов и изохинолинов, выявление потенциальных активаторов и ингибиторов, способных оказывать регуляторный эффект на эти процессы, представляет существенный теоретический и практический интерес.

Цель настоящей работы – исследование влияния 12 элементов – Mo, Co, W, Cr, Cu, Ni, B, Fe, V, Mn, Zn и Ca в зависимости от концентрации на

суммарное содержание индолов и изохинолинов в проростках *C. roseus* L., и *P. somniferum* L., выявление среди них активаторов процессов образования и накопления этих природных соединений, а также определение возможности их совместного использования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Объект исследования.** При решении подобных задач традиционным является использование полевых опытов, постановка которых отличается значительной трудоемкостью, связанной с неконтролируемым или плохо поддающимся контролю влиянием многих природных факторов, продолжительностью во времени (требуется не один вегетационный сезон).

В качестве альтернативы полевым и вегетационным опытам для выявления элементов, влияющих на процессы образования и накопления алкалоидов, нами предложено использование проростков, что позволяет существенно сократить экономические затраты и продолжительность экспериментов, давая одновременно возможность в строго идентичных условиях получить выровненный опытный материал.

В опытах использовали: 200 × 3 повторности = 600 семян (проростков) *Catharanthus roseus* L.; 500 × 3 повторности = 1500 семян (проростков) *Papaver somniferum* L.

Проращивание семян проводили при 30 °С в люминисценте или в темноте в течение 4–6 сут в чашках Петри на беззолных фильтрах (красная лента), смоченных дистиллированной водой (контроль) или водными растворами солей исследованных элементов (опыт). Были использованы: хлориды элементов (Mn, Cr, Cu, Zn, Ni), а также молибдат натрия, борат натрия, ванадат натрия и вольфрамат натрия. Помимо индивидуальных элементов проводили тестирование возможности суммарного действия на образование индолов солей Co и Zn, а также солей Co и Mo на образование изохинолинов. В случае индолов, кроме того, определяли влияние Zn в сочетании с природным ауксином – индоллил уксусной кислотой (ИУК). При этом тестировали действие этих двух компонентов на суммарное содержание алкалоидов, а также на содержание виндолина и катарантина в отдельности.

**Определение алкалоидов.** Навеску сырого растительного материала через 4–6 дней проращивания растирали в фарфоровой ступке с этанолом до получения однородной суспензии. Полученную суспензию переносили в мерную колбу (25 мл), доводили до метки этанолом и настаивали в течение 3–5 ч при комнатной температуре, периодически перемешивая. Затем суспензию центрифугировали в течение 10 мин при 6000 g. Из 20 мл полученного центрифугата растворитель отгоняли досуха на ротационном испарителе. Ос-

таток растворяли в 3–4 мл серного эфира, прибавляли 10 мл 2%-ного раствора уксусной кислоты и эфир отгоняли. Полученный раствор, содержащий сумму алкалоидов, охлаждали в струе холодной воды или во льду. Выпавшие в осадок липофильные балластные вещества отделяли пропусканием через бумажный фильтр в сочетании с мембранным. Осадок на фильтре промывали 2%-ным раствором уксусной кислоты (2×4 мл). Объем фильтрата доводили до 25 мл. Полученный фильтрат (5–10 мл) помещали в делительную воронку, содержащую 5 мл ацетатного буфера, прибавляли 2 мл раствора бромкрезол пурпурного (БКП) и экстрагировали хлороформом. Полученный экстракт центрифугировали 10 мин при 1500 g. Оптическую плотность центрифугата измеряли при 410 нм против контроля на реактивы. Содержание суммы алкалоидов рассчитывали по калибровочному графику, построенному по основным алкалоидам – катарантину для индолов и тебаину для изохинолинов.

В опытах с Zn и ИУК использовалась изотопная техника. В качестве предшественника индолов применяли <sup>14</sup>C-триптофан. По окончании опыта (экспозиция 4–5 сут) проводили выделение алкалоидов (в сумме) описанным выше методом. Для разделения меченых алкалоидов использовали двумерную ТСХ на силикагеле (силуфол). Суммарную фракцию алкалоидов 0,03–0,05 мл наносили штрихом в один из углов пластинки силуфола размером 20×20 см. Хроматографировали восходящим способом сначала в системе растворителей толуол–ацетон–метанол–25%-ный аммиак (10:10:2:0,5), а затем в метаноле. После хроматографирования в качестве проявителя применяли модифицированный реактив Драгендорфа. Для разрушения комплексов алкалоидов с этим реактивом пластины опрыскивали аммиачным раствором тиосульфата натрия (Бузук и др., 1980). Из отмеченных зон силикагеля с алкалоидами проводили их экстракцию. После отгонки растворителя сухой остаток растворяли в 0,5 мл метанола и использовали для определения радиоактивности. Определение радиоактивности алкалоидов проводили на жидкостном сцинтилляционном счетчике марки SL-30 и SL-400 («Intertechnik», Франция) с эффективностью счета до 95%.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты опытов по изучению влияния возрастающих концентраций ряда макро- и микроэлементов на образование и накопление индолов и изохинолинов представлены в табл. 1 и 2 соответственно. Установлено, что все испытанные элементы оказывают регуляторный эффект, но масштабы влияния и направленность их действия различны. Из анализа данных, представленных в этих таблицах, очевидно, что все элементы (в зависимости от концентрации) можно разделить на три группы.

Таблица 1. Влияние концентрации элементов на сумму индолевых алкалоидов в проростках *Satbahanthus roseus* (мкг/проросток)

Элемент	Концентрация элементов, мМ											
	0 (контроль)		0,001		0,01		0,1		1		10	
	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%
Бор	0,48 ± 0,0020	100	0,43 ± 0,0048	90	0,53 ± 0,0084	110	0,63 ± 0,0266	130	0,51 ± 0,0081	105	0,07 ± 0,0019	15
Медь	0,49 ± 0,0076	100	0,44 ± 0,0092	87	0,64 ± 0,0178	126	0,77 ± 0,0044	151	0,62 ± 0,0028	121	0,12 ± 0,0034	24
Железо	0,49 ± 0,0100	100	0,42 ± 0,0094	83	0,47 ± 0,0074	93	0,54 ± 0,0199	106	0,28 ± 0,0044	56	0,12 ± 0,0023	24
Молибден	0,50 ± 0,0190	100	0,39 ± 0,0107	82	0,47 ± 0,0099	97	0,62 ± 0,0038	128	0,47 ± 0,0151	97	0,23 ± 0,0086	47
Ванадий	0,48 ± 0,0116	100	0,37 ± 0,0051	77	0,42 ± 0,0067	88	0,36 ± 0,0026	75	0,31 ± 0,0080	65	0,07 ± 0,0018	15
Кобальт	0,48 ± 0,0016	100	0,68 ± 0,0130	140	0,75 ± 0,0199	155	0,77 ± 0,0116	160	0,70 ± 0,0148	145	0,15 ± 0,0017	30
Никель	0,49 ± 0,0210	100	0,54 ± 0,0064	115	0,59 ± 0,0091	125	0,73 ± 0,0226	156	0,65 ± 0,0040	139	0,12 ± 0,0010	26
Вольфрам	0,56 ± 0,0070	100	0,80 ± 0,0062	144	0,82 ± 0,0111	148	0,76 ± 0,0198	136	0,58 ± 0,0072	104	0,34 ± 0,0123	60
Хром	0,52 ± 0,0047	100	0,44 ± 0,0070	82	0,65 ± 0,0134	122	0,67 ± 0,0205	127	0,26 ± 0,0069	49	0,10 ± 0,0018	19
Марганец	0,51 ± 0,0051	100	0,58 ± 0,0072	116	0,51 ± 0,0107	100	0,46 ± 0,0062	91	0,36 ± 0,0073	70	0,20 ± 0,0038	40
Цинк	0,54 ± 0,0067	100	0,59 ± 0,0201	108	0,73 ± 0,0275	133	0,76 ± 0,0142	138	0,71 ± 0,0139	128	0,27 ± 0,0035	49

Таблица 2. Влияние различных концентраций элементов на содержание суммы изохинолиновых алкалоидов в проростках (*сontifegit* (мг/проросток))

Элемент	Концентрация элементов, мМ											
	контроль		0.001		0.01		0.1		1.0		10	
	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%	X ± Sx	%
B	75,8 ± 2,100	100	66,7 ± 2,229	91	60,6 ± 0,11	83	68,2 ± 1,305	93	56,1 ± 0,832	77	9,9 ± 0,124	13
Cu	83,9 ± 0,995	100	73,8 ± 0,810	87	68,8 ± 1,47	81	94,8 ± 1,133	112	116,6 ± 1,08	138	20,9 ± 0,492	25
Fe	73,1 ± 0,925	100	69,4 ± 2,029	96	65,8 ± 1,64	91	32,9 ± 0,164	45	26,3 ± 0,654	36	15,4 ± 0,350	21
Mo	80,0 ± 1,853	100	112,0 ± 4,28	144	122,4 ± 1,2	158	115,2 ± 3,88	148	92,0 ± 2,136	118	21,6 ± 0,093	28
V	78,0 ± 0,106	100	62,4 ± 1,536	80	54,6 ± 1,05	70	60,8 ± 0,435	78	54,6 ± 1,690	70	29,6 ± 1,187	38
Co	82,4 ± 0,636	100	107,1 ± 2,61	131	126,8 ± 1,057	155	116,2 ± 1,15	142	65,9 ± 1,548	81	45,3 ± 0,736	56
Ni	83,9 ± 0,995	100	73,8 ± 0,810	87	68,8 ± 1,477	81	94,8 ± 1,133	112	116,6 ± 1,08	138	20,9 ± 0,492	25
W	71,4 ± 0,981	100	74,3 ± 0,690	103	80,7 ± 0,508	112	84,3 ± 2,195	117	39,3 ± 1,201	55	21,4 ± 0,286	30
Cr	84,2 ± 1,801	100	79,9 ± 3,619	96	101,9 ± 2,987	123	130,5 ± 3,02	157	79,9 ± 2,664	96	58,9 ± 0,668	71
Mn	89,0 ± 0,856	100	80,1 ± 1,794	90	80,1 ± 1,921	90	80,1 ± 3,301	90	66,7 ± 1,392	75	53,4 ± 1,615	60
Zn	81,0 ± 1,384	100	72,9 ± 1,139	88	72,9 ± 1,162	88	72,9 ± 1,488	88	60,8 ± 1,129	74	48,6 ± 1,111	59
Ca	85,0 ± 2,391	100	82,4 ± 0,968	96	49,3 ± 0,953	58	40,8 ± 0,126	48	31,5 ± 1,192	37	27,2 ± 0,972	32

Элементы первой группы стимулируют образование и накопление алкалоидов при всех испытанных концентрациях, при этом зависимость их эффекта от концентрации носит колоколообразный характер. В случае индолов к этой группе относятся Co, Ni, Zn, W и Mn, а в случае изохинолинов – Mo, Co, W и Cr. Особенность действия элементов второй группы состоит в том, что с повышением концентрации увеличению накопления алкалоидов предшествует снижение их количества ниже контрольного уровня. У индолов ко второй группе относятся Cr, Cu, B, Mo и Fe, у изохинолинов – Cu и Ni. Элементы третьей группы при всех исследованных концентрациях подавляют образование и накопление алкалоидов. В случае индолов к этой группе относится V, а в случае изохинолинов – B, Fe, V, Mn, Zn и Ca.

Что касается механизма действия исследованных элементов, то определенная ясность существует лишь в отношении Co, Zn, Cr, Mo, W и Cu. Как видно из табл. 1 и 2, одним из активаторов образования и накопления изохинолинов и индолов является Co. Действие этого элемента, очевидно, реализуется посредством активации ферментов начальных стадий биосинтеза ароматических аминокислот – фенилаланина, тирозина и триптофана, (первичных предшественников алкалоидов двух этих типов). Такая возможность следует из данных об активирующем влиянии Co, на 3-деокси-D-арабино-гептулозонат-7-фосфат синтазу (ДАГФ-синтазу) (Rubin, Jensen, 1985; Jensen, 1986; Xu et al., 2003) и 3-дегидрохинат синтазу (Rubin et al., 1982) – ключевые ферменты биосинтеза этих природных соединений. В случае ДАГФ-синтазы Co-зависимой является одна из ее изоформ, локализованная в цитозоле и не подверженная аллостерическому ингибированию со стороны конечных продуктов реакции. В этих условиях (отсутствие аллостерического ингибирования) под влиянием Co происходит избыточное накопление ароматических аминокислот, что в итоге приводит к стимулирующему эффекту этого элемента на образование, в частности, изохинолинов.

В отличие от Co-зависимой изоформы существует и другая ДАГФ-синтаза – Mn-зависимая, локализованная в пластидах и подверженная ингибированию по типу обратной связи (Jensen, 1986; Herrmann, Weaver, 1999). В результате под влиянием Mn блокируется образование аминокислот-предшественников (механизм обратной связи), вследствие чего происходит ингибирование образования алкалоидов. Однако наблюдаемая разнонаправленность в характере действия Co и Mn может быть обусловлена не только регуляторными свойствами изоферментов ДАГФ-синтазы как таковыми, но и различной локализацией последних в клетке, а именно в цитозоле или в пластидах соответственно. Кроме того механизм действия Co через ароматические аминокислоты был подтвержден нами ранее в опытах с применением глифосата, который специфически ингибирует два

фермента биосинтеза ароматических аминокислот и Co-зависимую ДАГФ-синтазу, не затрагивая в то же время ее Mn-зависимую изоформу. Этот же механизм действия Co был определен при сравнении влияния данного элемента на образование фенольных соединений, связанных с алкалоидами общностью первичных предшественников. При этом был установлен параллелизм характера его действия на изохинолины, с одной стороны, и на фенольные соединения, с другой (данные получены как на водной, так и на почвенной культурах). Помимо этого, стимулирующий эффект Co на фенольные соединения различных типов, согласно литературе, установлен на многих объектах и широко известен (Ордынец, 1967; Гринкевич и др., 1969; 1973; Ковальский и др., 1977).

Что касается Zn, показавшего в широком диапазоне концентраций (от 0,001 до 1 мМ) выраженный стимулирующий эффект на продукцию индолов (табл. 2), то наиболее вероятен механизм, связанный с активированием этим элементом биосинтеза одного из их предшественников – триптофана. Данные о положительном влиянии Zn на биосинтез этой аминокислоты получены на многих объектах. Вместе с тем активацию образования триптофана связывают с активированием этим элементом триптофансинтазы (Alloway, 2008; Ahmed et al., 2013).

Помимо стимуляции синтеза этого предшественника индольных алкалоидов в основе влияния Zn могут быть и другие механизмы. Известно, что Zn активирует более 120 ферментов основного обмена (Vallee, 1977; Vallee, Falchuk, 1981; Williams, 1987), поддерживает высокую активность белоксинтезирующей системы клеток, стабилизируя 80S-рибосомы цитозоля (Kitagishi et al., 1987; Obata, Umebayashi, 1988), влияет на формирование пластидного аппарата и активность ряда ферментов фотосинтеза (Kosesaka, Unal, 2009). Напомним, что именно в пластидах локализуются некоторые ферменты конечных стадий биосинтеза алкалоидов этого типа (DeLuca, Cutler, 1987; Glenn, 2013).

Действие Zn на биосинтез индолов может быть опосредовано через влияние этого элемента на синтез ростовых веществ, в частности ауксинов, в ферментной системе биосинтеза которых этому элементу отводится роль необходимого и специфического кофактора (Рудакова, Каракис, 1976; Chapman, Estelle, 2009). Принимая во внимание эти данные, при изучении индолов мы использовали, наряду с Co и Zn, а также ИУК (в отдельности) и одновременно смесь всех перечисленных компонентов. Как и следовало ожидать, в последнем случае наблюдается суммирование эффектов (табл. 3).

Эксперименты с применением меченого 3-<sup>14</sup>C-триптофана свидетельствуют о наличии определенной специфичности в действии Zn и ИУК (табл. 4). Как можно видеть из представленных в табл. 4 результатов, ауксин стимулирует включение



**Таблица 3. Влияние сочетаний регуляторов роста и микроэлементов на образование и накопление алкалоидов в проростках *Catharanthus roseus* (мкг/проросток)**

Вариант	Содержание алкалоидов, мкг/проросток	
	X ± Sx	% от контроля
Контроль	0,42 ± 0,0045	100
Со 0,01 мМ	0,49 ± 0,0194	116
Zn 0,01 мМ	0,53 ± 0,0056	125
Со + Zn	0,54 ± 0,0059	129
ИУК 0,1 мг/л	0,49 ± 0,0011	118
Со + Zn + ИУК	0,62 ± 0,0022	146

Примечание: Со – хлорид кобальта; Zn – хлорид цинка.

**Таблица 4. Влияние ИУК и Zn на биосинтез катарантина и виндолина в проростках *Catharanthus roseus* за счет <sup>14</sup>C-триптофана (Бк)**

Вариант	Катарантин	
	X ± Sx	в % к контролю
Контроль	1850,5 ± 18,4	100
Zn 0,1 мМ	1941,9 ± 64,6	105
ИУК 5 мг/л	2834,6 ± 124,2	153
Zn + ИУК	3497,9 ± 3,16	189
	Виндолин	
Контроль	2210,6 ± 19,6	100
Zn 0.1 мМ	3317,9 ± 101,9	150
ИУК 5 мг/л	3182,6 ± 19,8	144
Zn + ИУК	4508,3 ± 8,9	204

Примечание: Zn – хлорид цинка.

**Таблица 5. Влияние различных концентраций смеси Со и Мо на продукцию алкалоидов в проростках *Papaver somniferum***

Варианты	Содержание алкалоидов, нг/проросток	
	X ± Sx	в % к контролю
Со 0,01 мМ	89,0 ± 1,562	118
Со + Мо 0,0001 мМ	107,1 ± 3,872	143
Со + Мо 0,001 мМ	94,0 ± 2,957	125
Со + Мо 0,001 мМ	75,0 ± 1,597	100
Со + Мо 0,1 мМ	58,0 ± 1,521	77

метки из триптофана в катарантин и виндолин, в то время как цинк – только в последний алкалоид. Сложение эффектов Zn и ИУК при совместном применении свидетельствует о различных механизмах реализации их действия.

Стимулирующее влияние Cr, Mo и W на накопление изохинолинов, скорее всего, связано с ингибированием неспецифических фосфатаз (Добролюбовский, Евстратова, 1978), благодаря которому обеспечивается большая сохраняемость фосфорилированных промежуточных соединений в цепи реакций биосинтеза аминокислотных предшественников алкалоидов, а также других интермедиатов, многие из которых являются эфирами фосфорной кислоты (Floss, 1986; Rueffer, Zenk, 1987; Cordell, 2013).

Суммирование полученных результатов и их сопоставление с литературными данными показывают, что элементы-активаторы образования и накопления алкалоидов, одинаковые по характеру действия, могут в своей основе иметь различные механизмы. В свою очередь, разные точки приложения действия элементов определяют возможность их суммирования. Подтверждение этому нам удалось получить на примере не только индолов (что подробно рассмотрено выше), но и изохинолинов. При совместном применении Со и Мо в случае изохинолинов их действие суммировалось (табл. 5). Однако при этом наблюдалось значительное увеличение токсичности смеси из двух этих элементов. Возрастающее токсичное действие угнетает рост и развитие проростков. Однако этот негативный результат удалось полностью нивелировать путем снижения концентрации каждого из элементов в отдельности. Более того, на фоне понижения концентрации элементов одновременно наблюдается значительное увеличение содержания изохинолинов. Как видно из табл. 5, максимальный стимулирующий эффект при этом достигается при концентрациях Со и Мо на два порядка ниже оптимальных концентраций этих же элементов, но при их раздельном применении (0,0001 и 0,01 мМ соответственно). Данный факт представляет существенный интерес с экологической точки зрения, так как содействует уменьшению возможных отрицательных последствий от применения элементов в полевых условиях, что особенно важно при разработке новых прогрессивных технологий культивирования лекарственных растений.

Стимулирующее влияние Cu зависит от активирования Cu-содержащего фермента – полифенолоксидазы (КФ 1.14.18.1.), катализирующей важнейшие этапы начальных стадий биосинтеза, в частности изохинолинов. В их числе гидроксирование тирозина до ДОФА, а также превращение 4-гидроксифенил-ацетоальдегида в 3,4-дигидроксифенил-ацетоальдегид и N-метилкоклаурин в 3-гидрокси-N-метилкоклаурин (Roberts, 1971; Loeffler et al., 1987). Установлено, что активность полифенолоксидазы стимулируется в ответ на

введение дополнительных количеств Cu и рассматривается в качестве индикатора обеспеченности растений этим элементом. Связывание Cu в хелатные комплексы, напротив, приводит к снижению активности полифенолоксидазы и одновременно подавляет накопление алкалоидов, на пример в проростках мака. Существенно также, что в растительной клетке полифенолоксидаза локализована в пластидах и в аккумулирующих алкалоиды везикулах латекса (Roberts, 1987).

Как уже отмечалось, наряду с элементами-активаторами выявлен ряд ингибиторов, подавляющих образование и накопление индолов и изохинолинов при всех испытанных концентрациях. К ингибиторам, в частности, относятся V и Ca – у изохинолинов и V – у индолов. Влияние этих элементов связано, скорее всего, с процессами транспорта алкалоидов, обеспечивающими пространственную разобщенность отдельных звеньев их образования и накопления. При этом V путем подавления протонных АТФ-аз, создающих на мембранах электрохимический градиент, ингибирует процессы активного транспорта, его энергосоставляющую (Sze, 1984, 1985; Kasamo, 1986; Williams, Hall, 1989). Установлено, что в везикулах, изолированных из латекса мака, V тормозит накопление морфинанов (Homeyer, Roberts, 1984). Что касается Ca, то этот элемент, стабилизируя мембраны и снижая доступность субстратов для ферментов, воздействует на пассивный транспорт (Бауман, 1977; Boss, Mott, 1980) который ввиду высокой степени компартментации биосинтеза алкалоидов и ограниченного активного транспорта, играет в их образовании и накоплении ведущую роль (Roberts et al., 1983; Homeyer et al., 1988; Roberts, 1988).

## ВЫВОДЫ

У проростков *Catharanthus roseus* L. и *Papaver somniferum* L. исследовано влияние ряда элементов на образование и накопление индолов и изохинолинов соответственно, определена зависимость их действия от концентрации. Выявлены элементы-активаторы, а также ингибиторы образования этих природных соединений. Доказано суммирование эффектов двух пар элементов и предложены их оптимальные концентрации при совместном применении (у индолов – Co + Zn, у изохинолинов – Co + Mo). Сделано заключение о том, что биосинтез и накопление индолов и изохинолинов находится под контролем множества факторов, которые сложным образом взаимодействуют между собой.

## ЛИТЕРАТУРА

- Бауман В.К. Кальций в структуре и функции мембран // Биомембраны. Рига: Зинатне. 1977. С. 198–215.
- Бузук Г.Н., Ловкова М.Я., Гринкевич Н.И. Количественное определение глауцина в траве *Glaucium flavum* Crantz. с помощью тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии // Прикладная биохимия и микробиология. 1980. Т. 16. Вып. 3. С. 432–438.
- Гринкевич Н.И., Грибовская И.Ф., Баландина И.А. Влияние некорневой подкормки солями микроэлементов на увеличение биологической массы, накопление флавоноидов и повышение активности ферментов гречи окаймленной // Агрехимия. 1973. № 4. С. 98–104.
- Гринкевич Н.И., Ковальский В.В., Грибовская И.Ф. Некорневая подкормка микроэлементами – метод повышения биологической активности лекарственного растительного сырья // Агрехимия. 1969. № 10. С. 72–82.
- Добролюбовский О.К., Евстратова Т.М. Влияние микроэлементов на содержание фосфора и активность фосфатаз в винограде // Физиол. и биохим. культ. растений. 1978. Т. 10. № 1. С. 95–99.
- Ковальский В.В., Грибовская И.Ф., Ловкова М.Я. и др. Использование микроэлементов для повышения выхода алкалоидов тропанового ряда из *Atropa belladonna* L. // Агрехимия. 1977. № 12. С. 92–94.
- Ордынец Л.Т. Влияние кобальта на динамику дубильных веществ в проростках горца забайкальского // Биохимическая роль марганца в растениях. Челябинск. 1967. С. 52–56.
- Рудакова Э.В., Каракис К.Д. Значение цинка в регуляции ростовых процессов у растений // Микроэлементы в обмене веществ растений. Киев: Наукова думка. 1976. С. 126–176.
- Ahmed H.A.H., Khalil M.K., Abd El-Rahman A.M., Nadia A.M.H. Effect of Zinc, Tryptophan and Indole Acetic Acid on Growth, Yield and Chemical Composition of Valencia Orange Trees // Journal of Applied Sciences Research. 2012, 8(2):901–914.
- Alloway B.J. Zinc in Soils and Crop Nutrition // IZA and IFA Brussels. Belgium and France. 2008. 139 p.
- Boss W.F., Mott R.L. Effect of divalent cations and polyethylene glycol on the membrane fluidity of protoplast // Plant Physiol. 1980, 66(5):835–837.
- Chapman E.J., Estelle M. Mechanism of Auxin-Regulated Gene Expression in Plants // Annu Rev Genet. 2009, 43:265–285.
- Cordell G.A. Fifty years of alkaloid biosynthesis // Phytochemistry. 2013, 90:34–45.
- DeLuca V., Cutler A.J. Subcellular localization of enzymes involved in indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* // Plant Physiol. 1987, 85(4):1099–1102.
- Floss H.G. The shikimic pathway – an overview // Recent Adv Phytochem. 1986, 20:13–55.
- Glenn W.S., Runguphan W., Connor S.E. Recent progress in the metabolic engineering of alkaloids in plant systems // Current Opinion in Biotechnology. 2013, 24:354–365.
- Herrmann K.M.; Weaver L.M. The Shikimate Pathway // Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 1999, 5:473–503.
- Homeyer B.C., Pham T., Roberts M.F. Studies of *Papaver* latex vesicles // Planta med. 1988, 55(7):590–591.

- Homeyer B.C., Roberts M.F.* Dopamine accumulation in *Papaver somniferum* latex // *Z. Naturforsch.* 1984, 11–12:1034–1037.
- Jensen R.A.* The shikimate/arogenate pathway: link between carbohydrate metabolism and secondary metabolism // *Physiol Plant.* 1986, 66(1):164–168.
- Jensen R.A.* The shikimate/arogenate pathway: link between carbohydrate metabolism and secondary metabolism // *Physiol Plant.* 1986, 66(1):164–168.
- Kasamo K.* Purification and properties of the plasma H<sup>+</sup> translocating adenosine triphosphatase of *Phaseolus mungo* L. roots // *Plant Physiol.* 1986, 80(4):818–824.
- Kitagishi K., Obata H., Kondo T.* Effect of zinc deficiency on 80S ribosome content of meristematic tissues of rice plant // *Soil Sci and Plant Nutr.* 1987, 33(3):423–429.
- Kosesakal T., Unal M.* Role of Zinc Deficiency in Photosynthetic Pigments and Peroxidase Activity of Tomato Seedlings // *IUFS J Biol.* 2009, 68(2):113–120.
- Loeffler S., Stadler R., Nigakura N. et al.* Norcoclaurine as biosynthetic precursor of thebaine and morphine // *J Chem Soc Chem Commun.* 1987, 15:1160–1162.
- Obata H., Umabayashi M.* Effect of zinc deficiency on protein synthesis in cultured tobacco cells plants // *Soil Sci and Plant Nutr.* 1988, 34(3):351–358.
- Roberts M.F.* Isoquinoline (Papaver alkaloids). Phytochemicals in plant cell cultures // *Cell Cult Somatic Cell Genet Plants.* 1988, 5:315–334.
- Roberts M.F.* Papaver latex and alkaloid storage vacuoles // *NATO ASI Ser Ser A.* 1987, 134(Plant Vacuoles): 513–528.
- Roberts M.F.* Polyphenolases in the 1000g fraction of *Papaver somniferum* latex // *Phytochemistry.* 1971, 10(12):3021–3027.
- Roberts M.F., McCarthy D., Kutchan T.M. et al.* Localization of enzymes and alkaloidal metabolites in *Papaver latex* // *Arch Biochem Biophys.* 1983, 222(2): 599–609.
- Rubin J.L., Gaines C.G., Jensen R.A.* Enzymological basis for herbicidal action of glyphosphate // *Plant Physiol.* 1982, 70(3):833–839.
- Rubin J.L., Jensen R.A.* Differentially regulated isozymes of 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate synthase from seedlings of *Vigna radiata* L. // *Plant Physiol.* 1985, 79(3):711–718.
- Rueffer M., Zenk M.H.* Distant precursor of benzyloisoquinoline alkaloids and their enzymic formation // *Z Naturforsch.* 1987, Bd. C42(4):319–332.
- Sze H.* H<sup>+</sup> -translocating ATPases of the plasma membrane and tonoplast of plant cells // *Physiol Plant.* 1984, 61(4):683–691.
- Sze H.* H<sup>+</sup> -translocating ATPases: advances using membrane vesicles // *Ann Rev Plant Physiol.* 1985, 36:175–208.
- Vallee B.L.* Recent advances in zinc biochemistry // *Biological aspects of inorganic chemistry.* N.Y., 1977:37–70.
- Vallee B.L., Falchuk K.* Zinc and gene expression // *Proc Roy Soc London B.* 1981, 294(1074):185–197.
- Williams L.E., Hall J.L.* Solubilization, reconstitution and characterization of vanadate-sensitive ATP driven hydrogen ion transport from cotyledons of *Ricinus communis* // *J Exp Bot.* 1989, 40(220):1215–1221.
- Williams R.J.P.* The biochemistry of zinc // *Polyhedron.* 1987, 6(1):61–69.
- Xu X., Wang J., Grison C., Petek S., Coutrot P., Birck MR. et al.* Structure-based design of novel inhibitors of 3-deoxy-D-manno-octulosonate 8-phosphate synthase // *Drug Des Discov.* 2003, 18(2–3):91–99.