

СЕКУНДАРНИ МЕТАБОЛИТИ: ИЗОЛАЦИЈА И СВОЈСТВА ВОВЕД

Доц. д-р Наташа Ристовска

МЕТАБОЛИЗАМ

- **Метаболизам** – грчки: *μεταβολή* – промена
 - Енергетски: продуцирана топлина во организмот
 - **Интермедиерен**: биохемиски реакции во клетките и ткивата.

Ензимски катализирани хемиски трансформации во клетките и ткивата на живите организми.

- ✓ разложување (**катаболизам** – се ослободува енергија при клеточно дишење),
 - ✓ синтеза (**анаболизам** – синтеза на структурни компоненти како протеини и нуклеински киселини) и
 - ✓ транспорт на супстанците
-
- **Метаболички патишта**: хемиски реакции на метаболизмот при кои една супстанца се трансформира во друга преку низа чекори, под влијание на ензими.

ПРИМАРНИ МЕТАБОЛИТИ

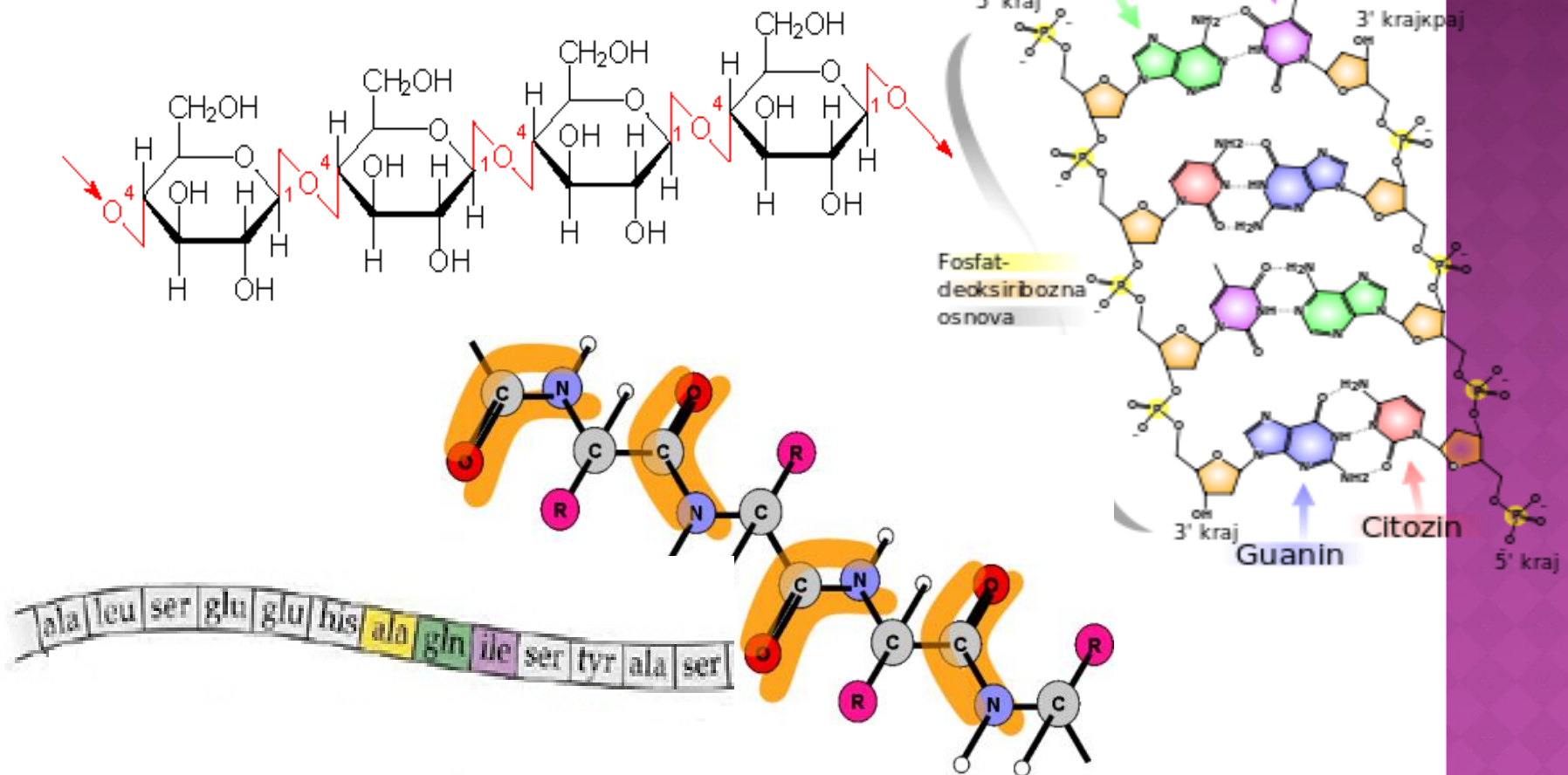
- Соединенијата кои се распространети **во сите живи клетки** (прокариотски и еукариотски) и играат важна улога во **растот, развојот и размножувањето на клетката** се нарекуваат **примарни метаболити**.
- Се добиваат според слични метаболички патишта кај сите живи организми.

Примарните метаболити се есенцијални, без нив нема живот.

- Примарни метаболити **застапени во сите растенија**, а **имаат метаболичка улога** се: фитостероли, липиди, нуклеотиди, аминокиселини и органски киселини.

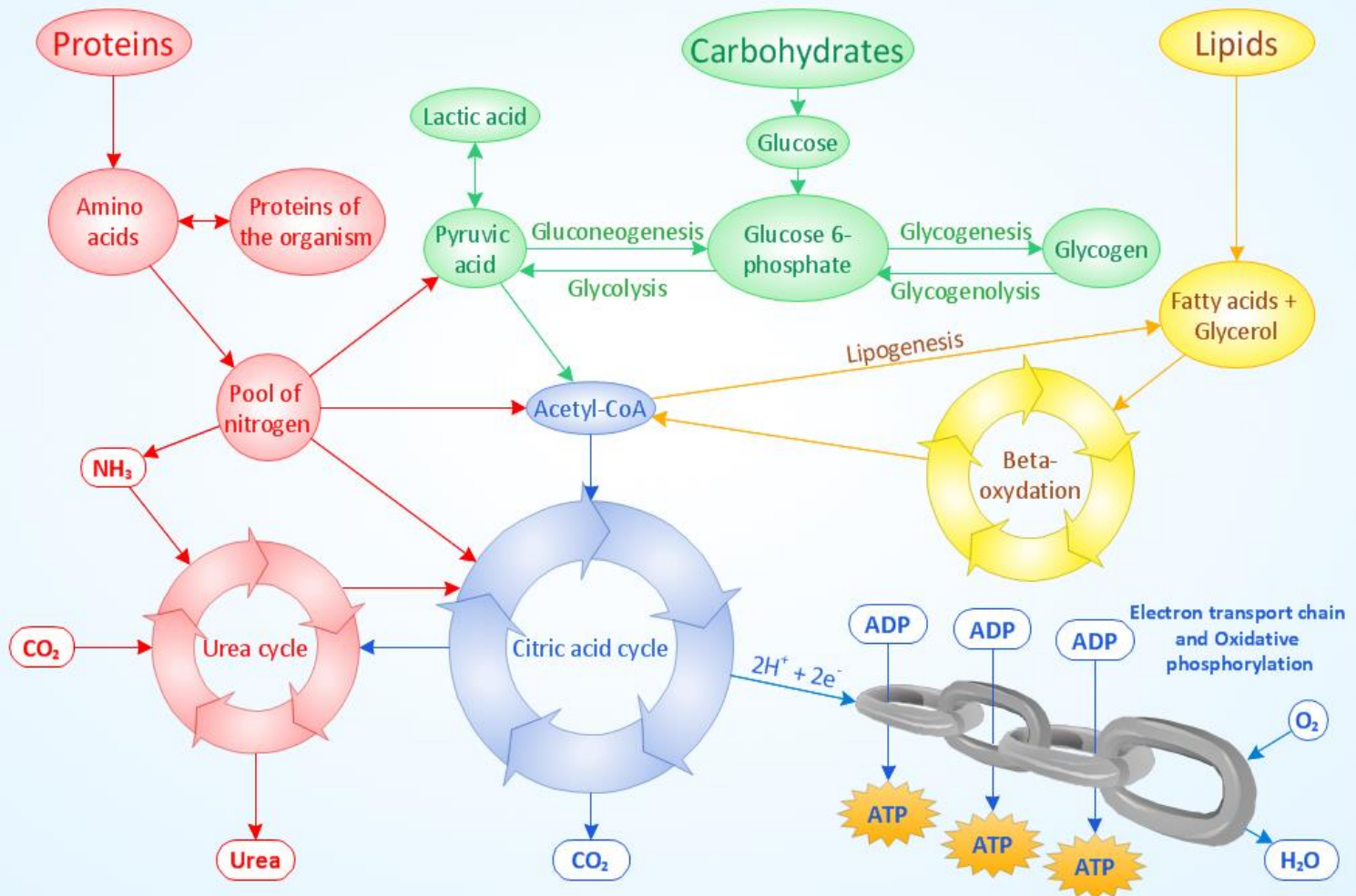
ПРИМАРНИ МЕТАБОЛИТИ

- Карактеристика за примарните метаболити:
- ✓ Градење на **биолошки макромолекули** од едноставни градбени блокови (мономери) при процесот на **полимеризација**:

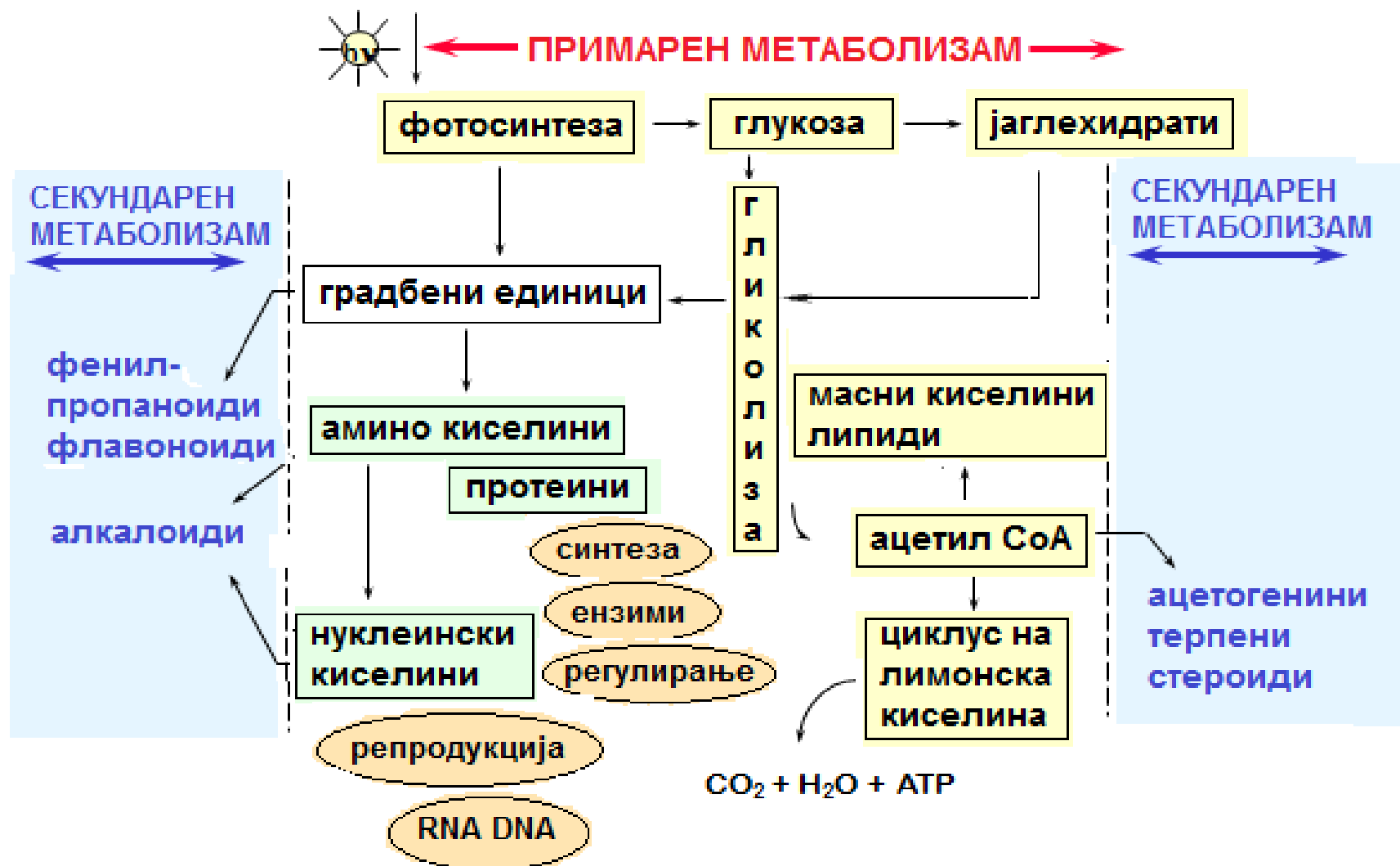


ПРИМАРЕН МЕТАБОЛИЗАМ

Metabolism: Key Processes

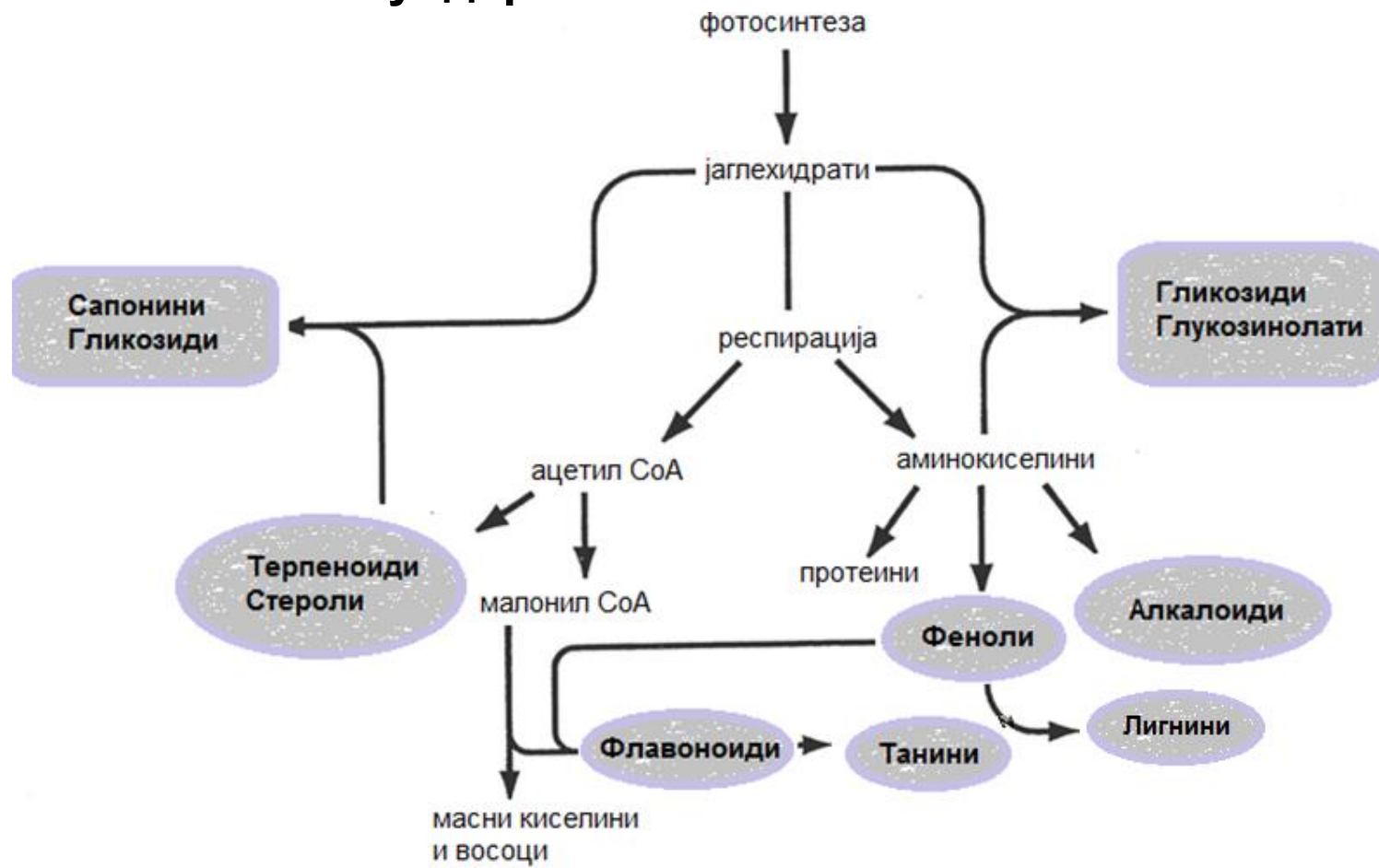


ПРИМАРЕН И СЕКУНДАРЕН МЕТАБОЛИЗАМ



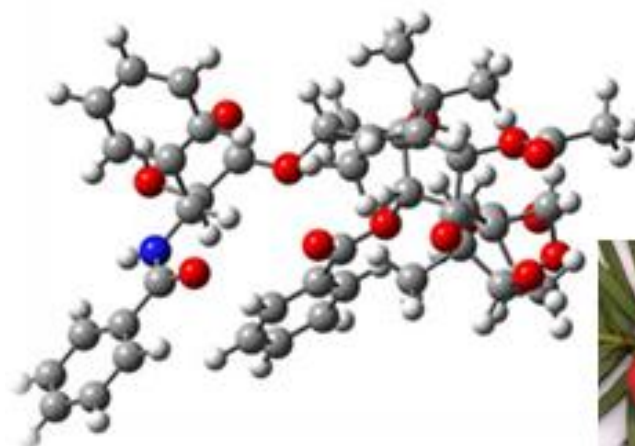
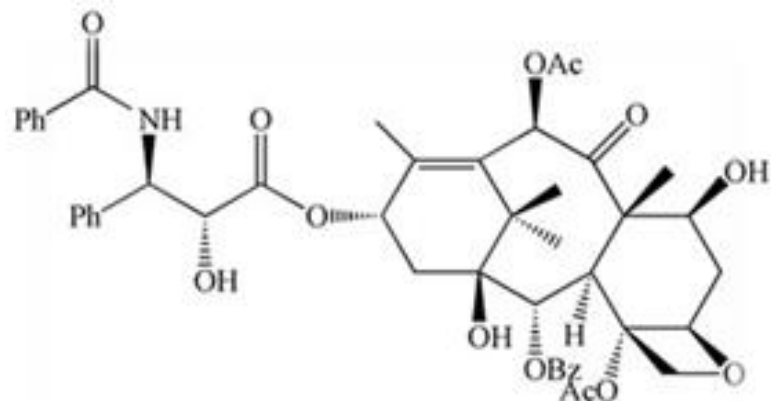
СЕКУНДАРЕН МЕТАБОЛИЗАМ

- Од интермедиерите на примарниот метаболизам се синтетизираат органски соединенија кои не учествуваат директно во растот и развитокот на живиот организам, познати како **секундарни метаболити**.



СЕКУНДАРНИ МЕТАБОЛИТИ

- Секундарни метаболити = **природни продукти**.
- Најчесто се застапени кај растенијата, габите и некои морски животни и растенија; ($< 1\%$), а во ретки случаи $> 10\%$.
- **Единствени за карактеристичен вид** или фамилија, па дури и орган, синтетизирани по секундарни метаболички патишта.
- Имаат **комплексни хемиски структури**.
- Не влијаат врз раст и развој, но покажуваат **висока биолошка активност** во однос на другите организми (компетитори, предатори, патогени).
- Сепак, тие нешто прават!!!



Таксол, од кора на тиса

СЕКУНДАРНИ МЕТАБОЛИТИ

Класа	Соединение	Примена
Терпени	Есенцијални масла Таксол	Ароматерапија Хемотерапија (антитуморен агенс)
Феноли	Урисол-отров THC (тетрахидроканабинол) - маријуана	Иритант Халуциноген (ретко како антиеметик)
Гликозиди	Дигитоксин Сапонини	Лек за срцеви заболувања (диуретик). Извор на стероиди, лекување на артериосклероза, импотенција и др.
Алкалоиди	Хинин Кокаин	Антималариски агенс Психоактивен, анестетик

ХЕМИСКИ КАРАКТЕРИСТИКИ

- Органски соединенија “мали молекули” со MW: $\sim 150 \sim < 800$
 - ✓ Се вбројуваат хетероциклични соединенија и пептиди.
- Идентификувани се повеќе од 100 000.
- Најчесто се акумулираат во концентрации од 1 до 3%, на сув остаток.
 - ✓ Хидрофилните соединенија се складираат во вакуолите.
 - ✓ Хидрофобните соединенија се наоѓаат во смолите, масните клетки или кутикулата.
- Методите за изолација и пречистување се слични со техниките кои се применуват за органските соединенија:
 - ✓ (TLC, колонска хроматографија, HPLC, GC)
- Методи за определување на структурата
 - ✓ NMR, MS, IR, дифракција на X-зраци и UV спектрофотометрија.

БИОЛОШКИ КАРАКТЕРИСТИКИ

- Карактеристични за одреден растителен вид и фамилија, со ограничена таксономска застапеност (незастапени).
- Не поседуваат енергетска и структурна функција (“споредни продукти”).
- Ги штитат растенијата од разни заболувања и штетници (животни и инсекти)
- Делуваат инхибиторно на бактериските или габични патогени
- Го инхибираат растот на компетитивни растенија
- Ги привлекуваат опрашувачите и животните кои го разнесуваат семето.
- Кај луѓето делуваат врз невротрансмитерите, или ја попречуваат нормалната клеточна функција.
- Најголем дел од нив се база на фармацевтските препарати

ЗАПОМНИ:

- Секундарните метаболити немаат директна улога во растот и развојот на растението.
- Застапеноста е ограничена кај растенијата:
 - ✓ Кај одделни видови
 - ✓ Во одделни делови од растението
- Се синтетизираат од интермедиерите на примарниот метаболизам (затоа и името - секундарни)
- Вршат бројни функции (порано се сметало дека се непотребен вишок).

ЗОШТО ГИ ИЗУЧУВАМЕ?

- Секундарните метаболити ги поседуваат **најкомплексните и фасцинантни хемиски структури**.
- Секундарните метаболити се симбол за **биолошката активност**, како одделни соединенија или комплексни смеси.
- Секундарните метаболити се дел од националното природно богатство, кое може да биде важен **извор на заработувачка** во земјоделството, производството на храна, фармацијата, козметиката.
- Секундарните метаболити се **мост меѓу традицијата и модерните научни достигнувања** во генетиката, молекуларната биологија, биотехнологијата и фармацијата.

КОЈ ГИ ИЗУЧУВА?



ПРЕДМЕТ НА ИЗУЧУВАЊЕ

- Определување на структурата на секундарните метаболити и нивните својства – од интерес за органските хемичари уште од 1850.
- Синтеза на секундарни метаболити, синтеза на ензими.
- Определување на биосинтезата со помош на растителни ткива, култури на клетки и изотопи како маркери.
- Фармација: фармаколошки ефекти.
- Производство на храна, традиционална медицина.
- Земјоделство: алелопатија (односи на растението со други растенија), пестициди.
- Ботаника
- Биодиверзитет и екологија: природни продукти од морското крајбрежје.
- Хемотаксономија и генетска класификација

ИЗОЛАЦИЈА НА СЕКУНДАРНИ МЕТАБОЛИТИ

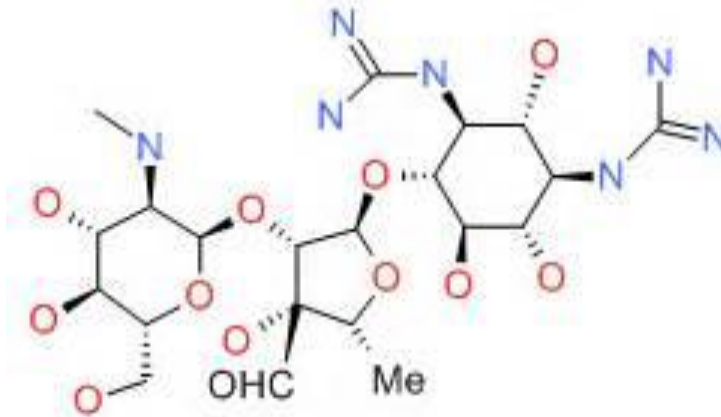
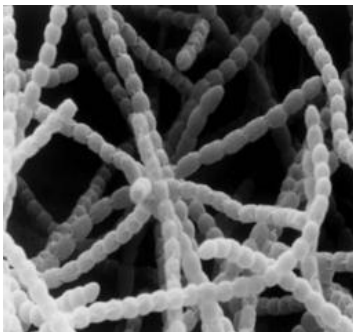
- Извори на природни продукти: клетки, ткива, излачевини на микроорганизми, габи, растенија и животни.

Начини на добивање:

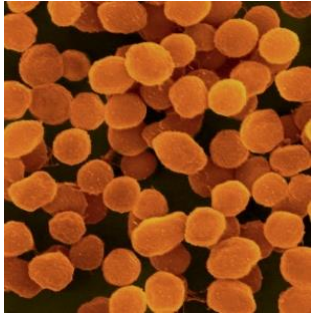
- **Екстракција** (екстракт со голем број фракции од структурно различни соединенија)
- **Синтеза:**
 - Тотална синтеза (прв обид витамин B12 – кобаламин)
 - Добивање на семисинтетско соединение од сличен биосинтетски интермедијар (пеницилин од 6-АРА).
 - Добивање на структурен дериват по пат на тотална синтеза или семисинтеза.

ПРОКАРИОТИ

- **Бактерии:** во вода, почва, длабоки слоеви на почва, тропски шуми, морско крајбрежје...
- Извори на фармаколошки активни соединенија:
 - Медикаменти со антивоспалително дејство (стрептомицин, хлорамфеникол од *Streptomyces* spp., тетрациклин...)
 - Ботулин од *Clostridium botulinum* (невротоксин, ботокс)
 - Лекување на некои видови канцер (блеомицин од *Streptomyces verticillus*)
- За откритието на антибиотикот стрептомицин во *Streptomyces griseus* (1943), му била доделена Нобелова награда на Waksman во 1952.

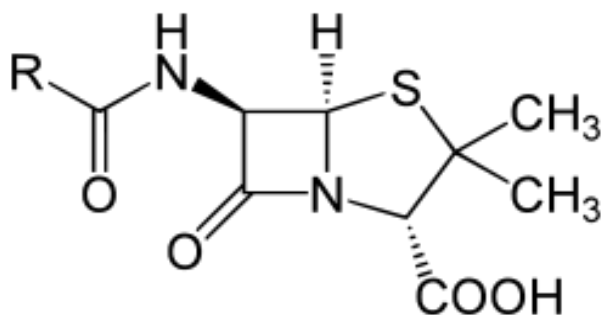


ПРОКАРИОТИ



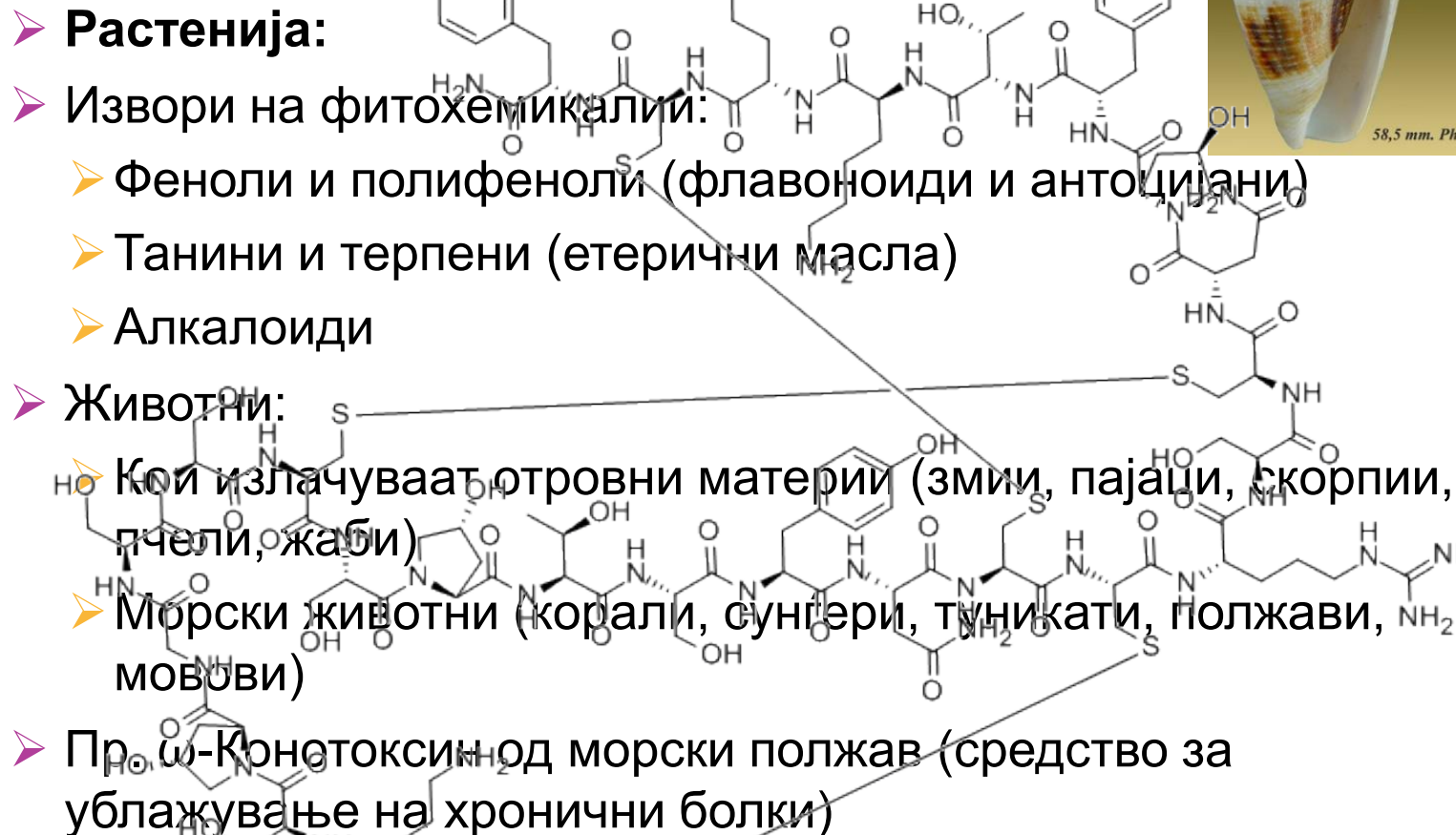
- **Археа:** присуство на специфични ензими кои овозможуваат нивна адаптација во најекстремните услови за живот.
- Извори на изопренил глицерол естери (*Thermococcus* S557 и *Mathanocaldococcus jannaschii*)

ЕУКАРИОТИ



- **Габри (фунги):** *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium griseofuvum*, *Cephalosporium acremonium*, *Pleurotus ostretus*, *Claviceps spp.*,...)
- Извори на фармаколошки активни соединенија:
- Најпознати антибиотиците пеницилин (β -лактамски) и цефалоспорин.

ЕУКАРИОТИ

- 
- **Растенија:**
 - **Извори на фитохемикалии:**
 - Феноли и полифеноли (флавоноиди и антоцијани)
 - Танини и терпени (етерични масла)
 - Алкалоиди
 - **Животни:**
 - Кои излучуваат отровни материи (змии, пајаци, скорпии, пчели, жаби)
 - Морски животни (корали, сунгери, туникати, полжави, мовови)
 - **Пр. ω-Конотоксин од морски полжав (средство за ублажување на хронични болки)**



АЛКАЛОИДИ

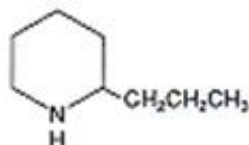
А. Структурни формули на алкалоиди;

Б. Во листовите на *Conium maculatum* се создава кониин (пиперидински алкалоид) - силен отров кој ги парализира нервите и мускулите;

В. *Strychnos nux-vomica* излучува смолеста материја во семената обвивка (кураре) – стрихнин (монотерпенски-индолен алкалоид)

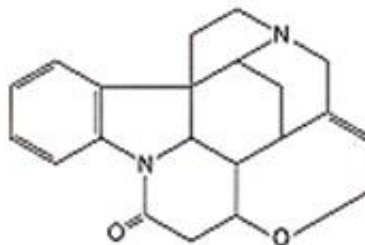
Г. Листовите на *Lycopersicon esculentum* претставуваат извор на томатин (R = H, томатидин) – стероидна структура.

КОНИИН



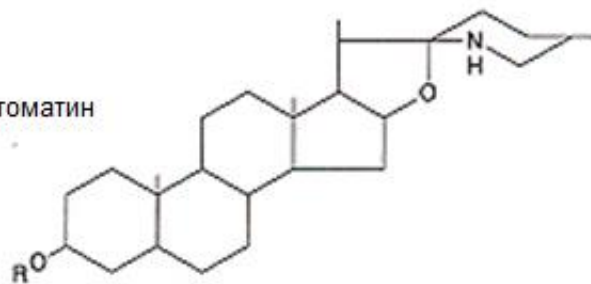
Б

СТРИХНИН



В

ТОМАТИН



R = галактозо-глюкозо-глюкозо-ксилоза

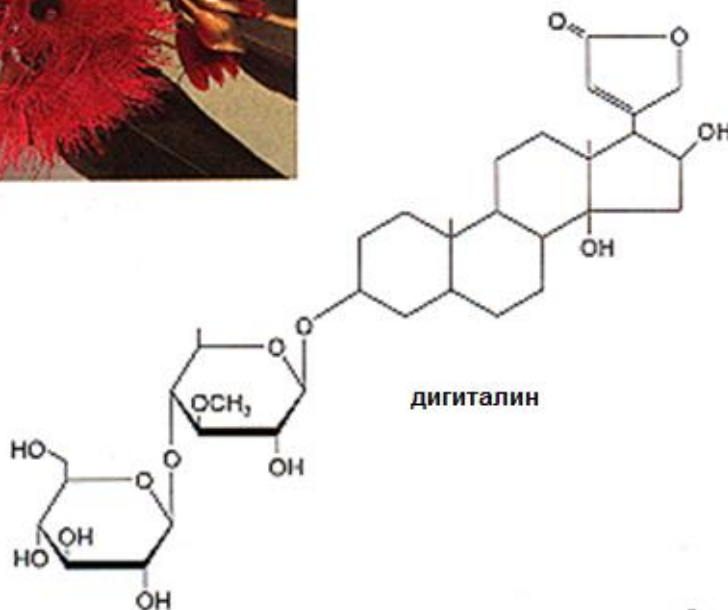
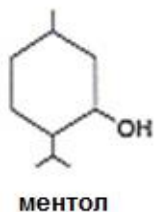
А



Г



6



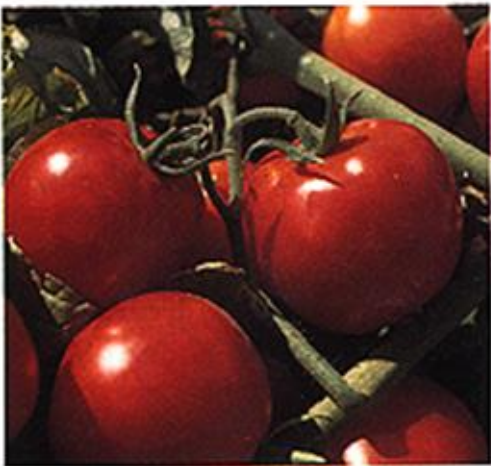
дигиталин



ликопен

A

B



1

Структури на терпеноиди; Б. Некои видови на *Eucalyptus* создаваат ментол (моноцикличен монотерпен со алкохолна група); В. Лист од *Digitalis purpurea* (пурпурен бутин) е извор на дигитоксигенин – кардиотоничен хетерозид со стероидна структура; Г. Ликопенот е најзастапениот црвен пигмент во доматиот.

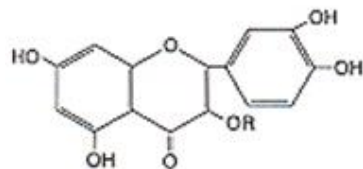
ФЕНОЛИ

А. Структури на феноли;

Б. Во кората од врбата *Salix* се акумулира **салицилна киселина**;

В. *Fagopyrum esculentum* (лист од црна пченица-хелда) и други видови растенија (лист од еукалиптус, цветни пупки од јапонски багрем) се богат извор на **рутин (витамин Р)** - флавоноид.

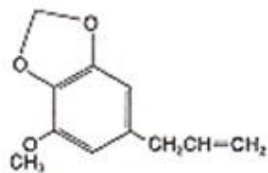
Г. **Лигнинот** е хетерополимер составен од фенилпропански единици, силно хидрофобен, карактеристичен за секундарната градба на клеточните ѕидови.



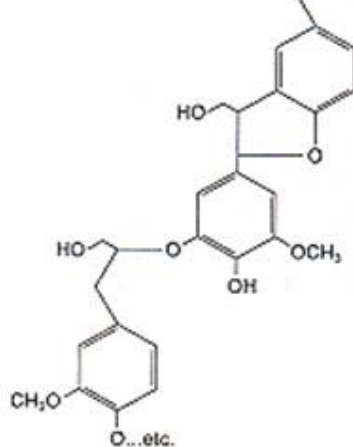
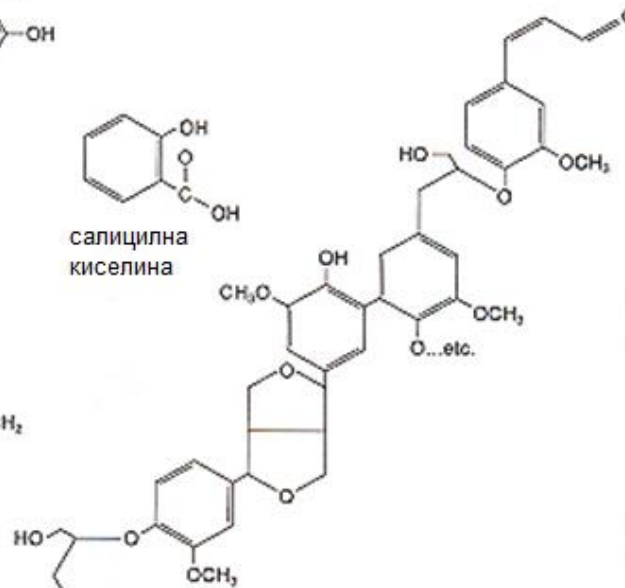
R = глюкоза+рамноза
рутин



салицилна
киселина



миристицин



дел од лигнин



В



Б



Г

СЕКУНДАРНИ МЕТАБОЛИТИ ВО МИНАТОТО

Примена на природните продукти од древни времиња

➤ Поради лековитото дејство.

- Лук (3000 п.н.е): зајакнување, ишијалгија, срцеви заболувања.
- Кора на *Cinchona off.* како лек за маларија.
- Мувлосан леб за лекување на инфекции.
- Опиум (4000 п.н.е), постапка за добивање од афион опишана од старите Египтјани.
- Канабис – состојба на блаженство, среќа, халуцинации.
- Лист од кока, за зголемување на работоспособноста.
- Корен од *Panax ginseng* за општо подобрување на здравјето.
- Екстракт од *Ginkgo biloba* за изострување на менталната перцепција

➤ Во секојдневниот живот

- При лов (отровни стрели со стрихнин)
- Додатоци во исхраната за подобар вкус – зачински билки
- Мирис
- Бои (индиго од растение, пурпур од морски полжави)

РАЗВОЈ НА ХЕМИЈАТА НА СЕКУНДАРНИ МЕТАБОЛИТИ

- Се поврзува со
 - ✓ **развојот на синтетската органска хемија.**
 - ✓ **развојот на инструменталните методи.**

1800

- Развиток на техниките во органската хемија
- Wagner-Meerwein: преместување кај монотерпените

Рани 1900

- Изучувања во алицикличната хемија применети на стероли.

1950-1980

- Стерно контролирани хемиски реакции (борнеол).
- UV-Vis спектроскопски изучувања (витамин А).
- Развивање на инструменталните методи NMR (2-D NMR)

1980- до сега

- Синтези со присуство на ензими, со клеточни култури.

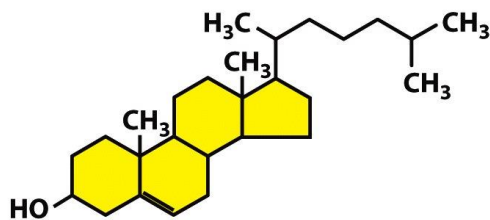
РАЗВОЈ НА ТЕХНИКИТЕ

1800	1850	1900	1950	1975	2000
<u>Вид на истражување:</u> Изолација, карактеризирање Фармакогнозија и фармакологија Органска синтеза Хроматографија Спектроскопија Биогенетски студии Биохемија; Ензимологија Молекуларна биологија Метаболомикс					
<u>Употребена техника:</u> основни физичко-хемиски мерења TLC колонска хроматографија GC HPLC/Електрофореза X-зраци UV-vis IR MS/NMR Радиоизотопи Ензими Компјутерски методи Култура на ткива Mol Bio / Biotech					

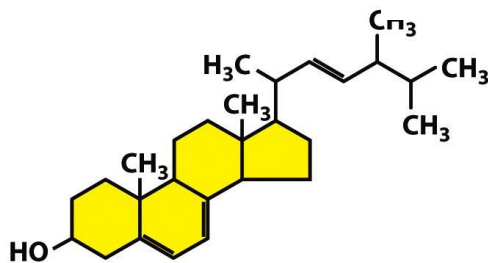
ПОЗНАЧАЈНИ ОТКРИТИЈА

- 1927 Heinrich Otto Wieland: изучување на структурата жолчните киселини и слични супстанции.
- 1928 Adolf Otto Reinhold Windaus: структура на стероли и поврзаност со витамините.

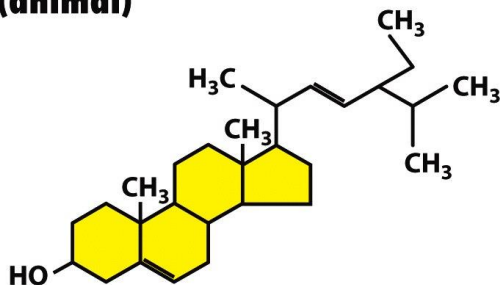
Sterols



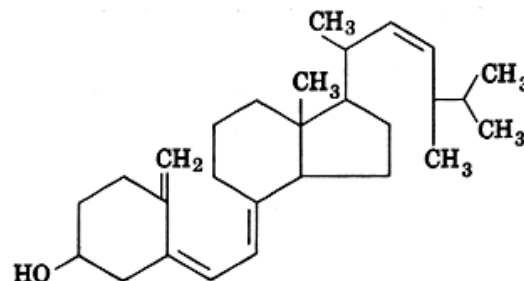
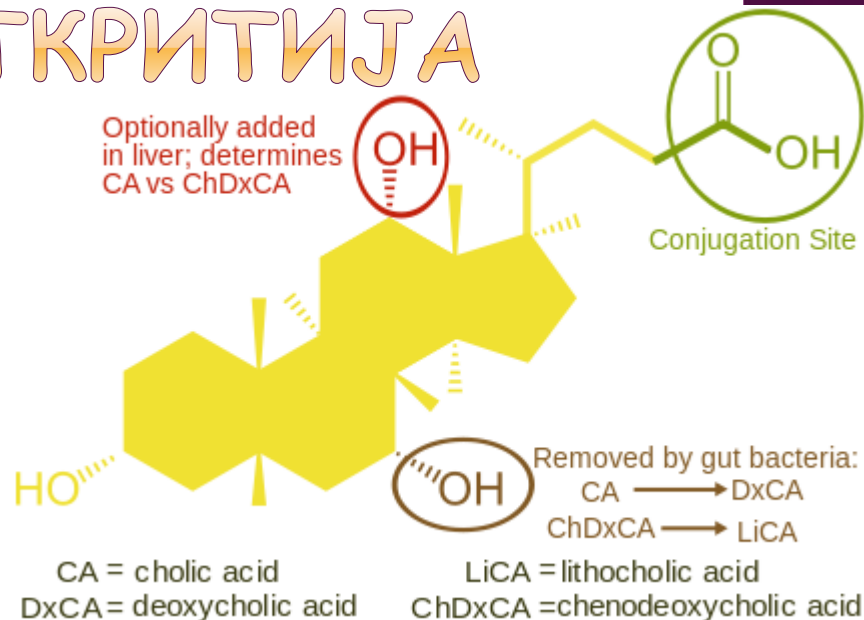
Cholesterol
(animal)



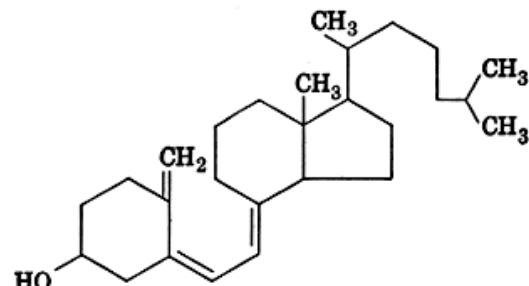
Ergosterol
(fungal)



Stigmasterol
(plant)



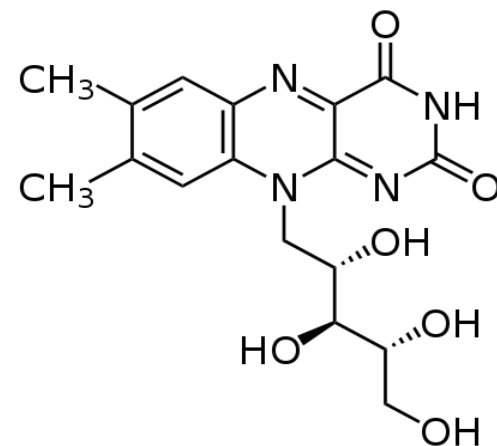
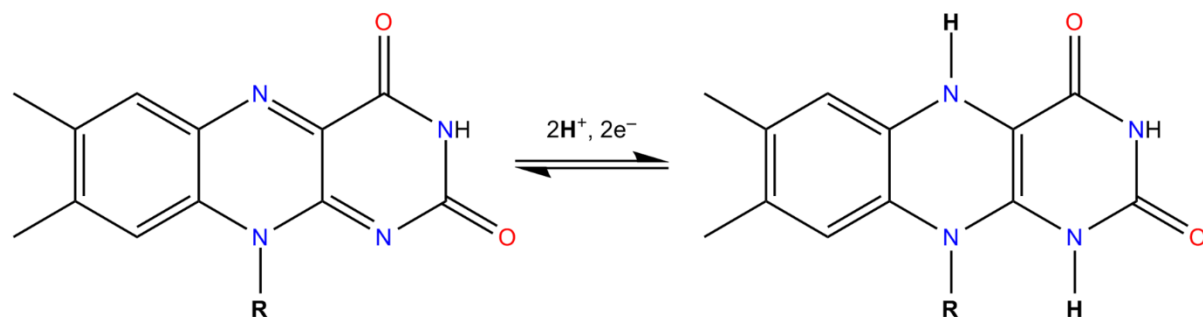
Vitamin D₂ (calciferol)



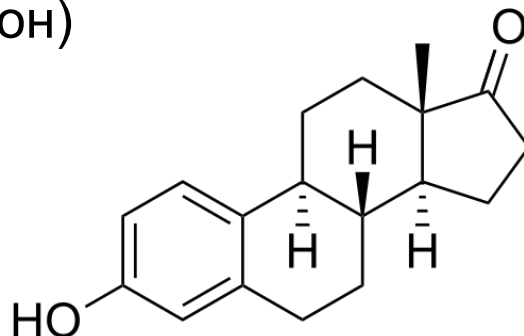
Vitamin D₃

ПОЗНАЧАЈНИ ОТКРИТИЈА

- 1937 Paul Karrer: изучување на каротеноиди, фламини и витамините А и В₂ (рибофлавин).

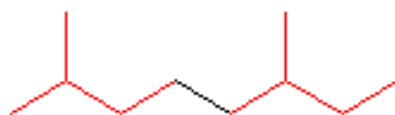


- 1938, Richard Kuhn: каротеноиди и витамини.
- 1939, Adolf Friedrich Johann Butenandt: сексуални хормони (женски - естрон)

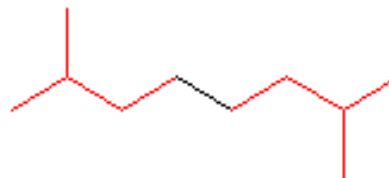


ПОЗНАЧАЈНИ ОТКРИТИЈА

- 1939 Leopold Ruzicka: за неговата работа на полиметилени и виши терпени (познато изопренско правило глава-опаш)

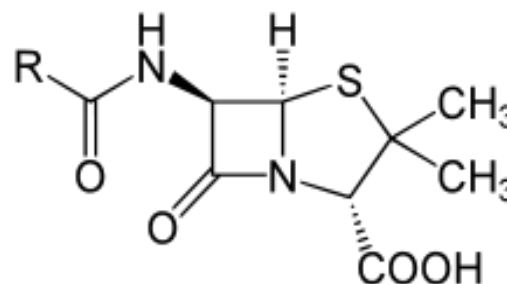
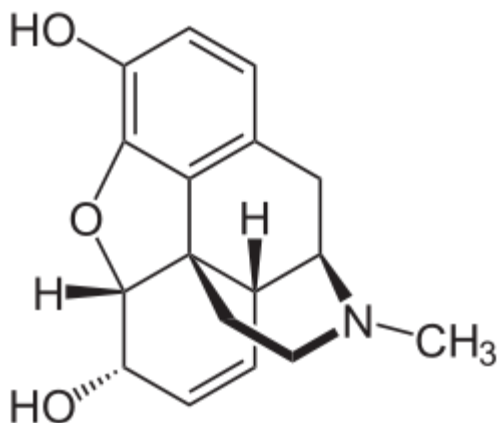


глава-опаш



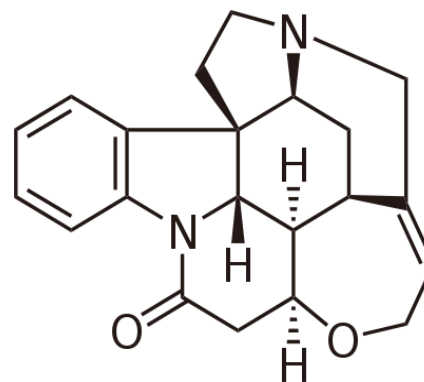
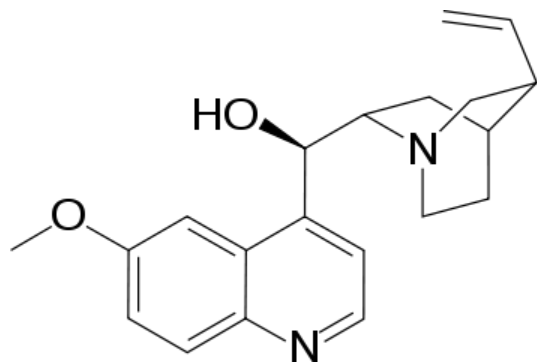
опаш-опаш

- 1947, Sir Robert Robinson: изучување на алкалоиди (структурни формули на морфин и пеницилин) и други продукти од растенијата со биолошка важност (антоцијанини - растителни бои).



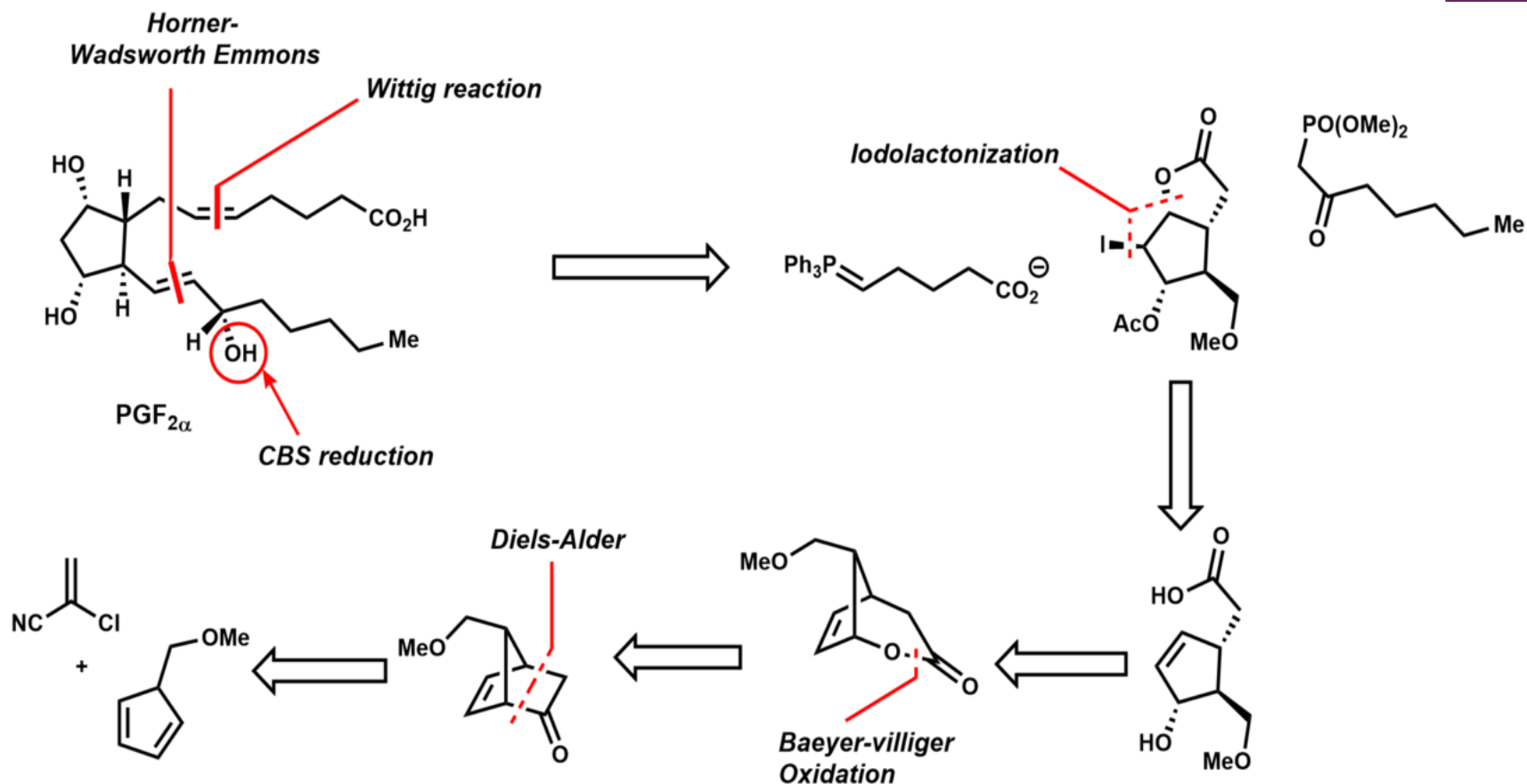
ПОЗНАЧАЈНИ ОТКРИТИЈА

- 1965, Robert Burns Woodward: извонредни постигнувања од областа на органската синтеза. Во доцните 1940-ти, Woodward синтетизирал многу комплексни природни продукти: **ХИНИН**, холестерол, **СТРИХНИН**, лизергинска киселина, резерпин, хлорофил, цефалоспорин и колхицин.
- 1975, Vladimir Prelog: изучување на стереохемијата на органските молекули и реакции (алкалоиди, антибиотици - Streptazol). Придонел во објаснување на структурата на стероиди, хинин, стрихнин и др. алкалоиди.



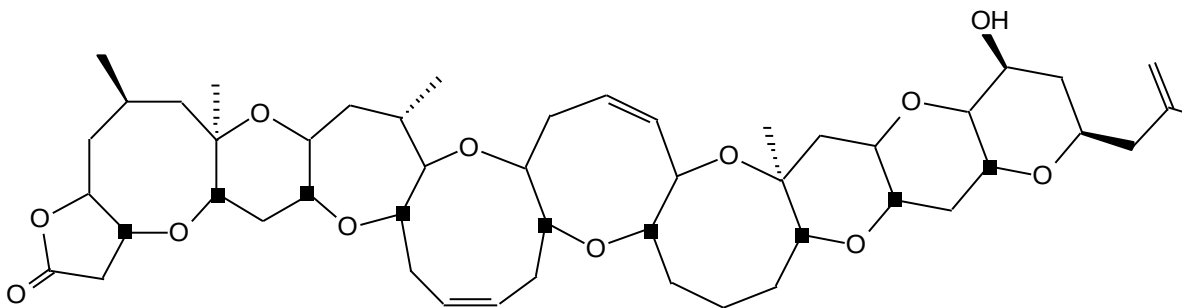
ПОЗНАЧАЈНИ ОТКРИТИЈА

- 1990, Elias James Corey: развивање на теорија и методологија на органската синтеза (ретросинтетска анализа на простагландини)

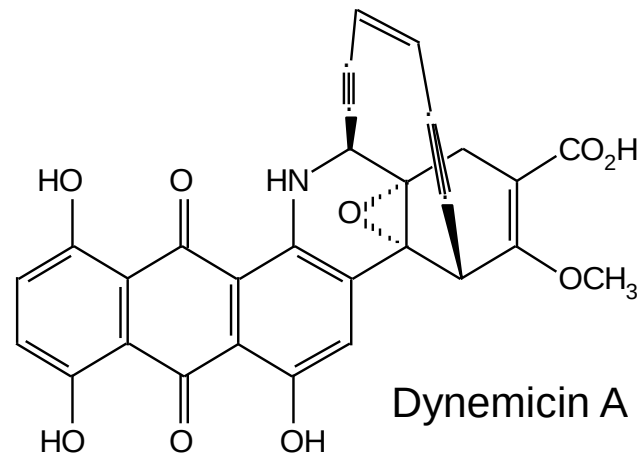


ЗАНИМЛИВОСТИ:

- Brevetoxin-B е синтетизиран во 1995 од К. С. Nicolaou и соработниците во **123 чекори со 91% принос**, а 2004 во вкупно 90 чекори со принос од 93% за секој чекор.
- К. С. Nicolaou и соработниците синтетизирале Brevetoxin-A во 1998.
- Brevetoxin се природни продукти на планктони (протозои)
- 1995 Mayers и соработниците, синтеза на dynemicin A, (изолиран од почва во Индија, производ на некои видови бактерии).



Brevetoxin A



Dynemicin A

ПРЕТСТАВНИЦИ НА СЕКУНДАРНИ МЕТАБОЛИТИ

Морфин

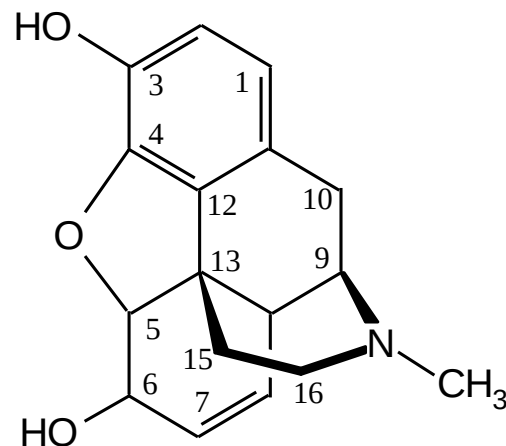
(ароматичен алкалоид од опиум,
Papaver somniferum)

Изолација: 1806, Sertürner

Структура: 1925, Robinson

Синтеза: 1954, Ginsberg

Биогенеза: 1959, Leete



Стрихнин

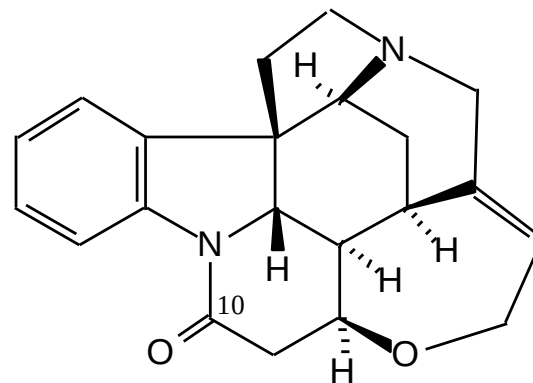
(ароматичен алаклоид од
Strychnos nux-vomica)

Изолација: 1818, Pelletier & Caventou

Структура: 1946, Robinson

Синтеза: 1954, Woodward

Биосинтеза: 2001, Eichberg

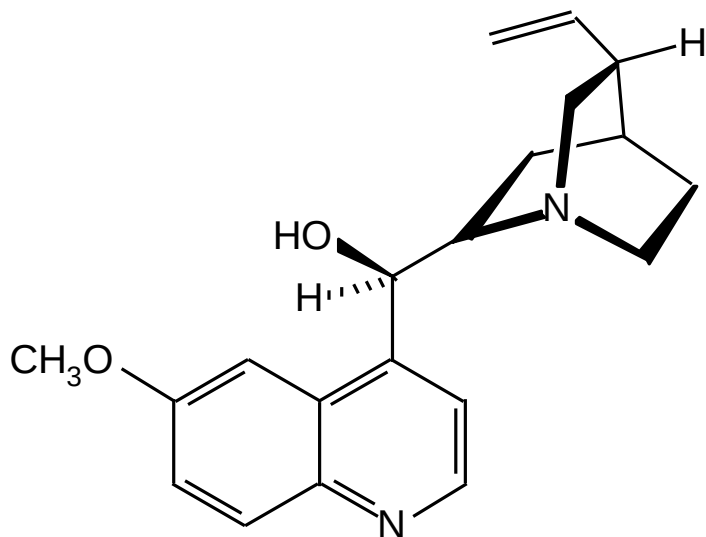


Хинин

(хинолински алкалоид од *Cinchona* хина дрво)

Изолација: 1820, Pelletier & Caventou

Синтеза: 1944, Woodward

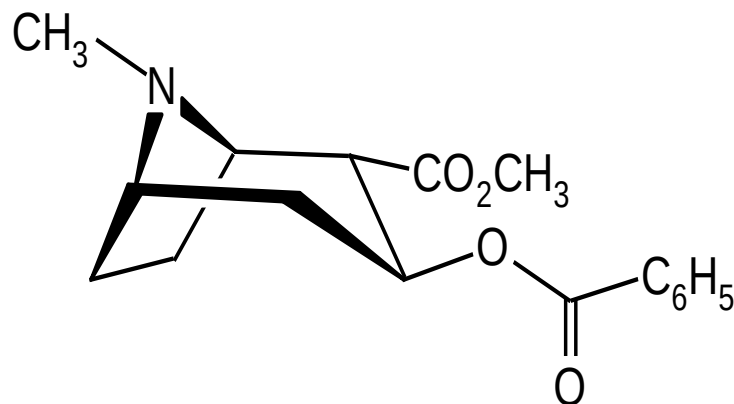


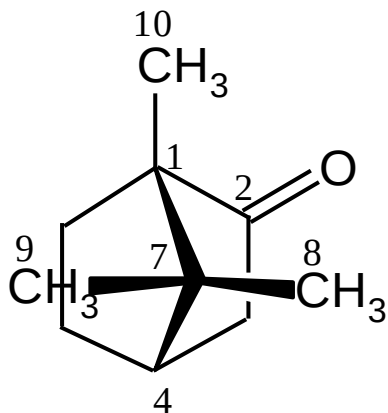
Кокаин

(алифатичен алкалоид од *Erythroxylon coca* – лист од кока)

Изолација: 1859, Niemann

Синтеза: 1923, Willstätter

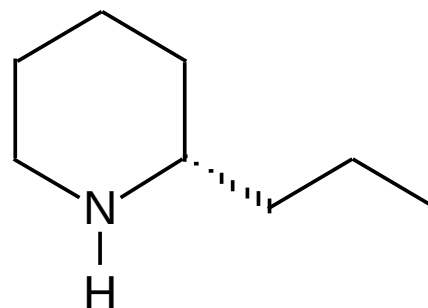




Камфор

(монотерпен од
Cinamotum camphora –
камфорово дрво)

Изолација: 1845, Bouchardat

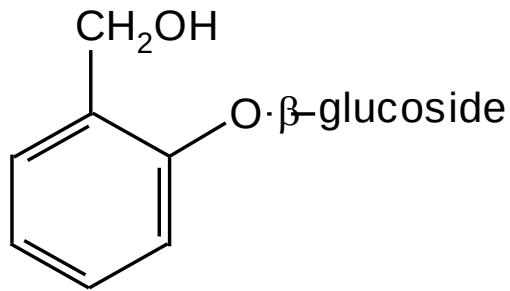


Кониин

(алифатичен алкалоид од
пелин, *Conium maculatum*)

Изолација: 1886, Ladenburg

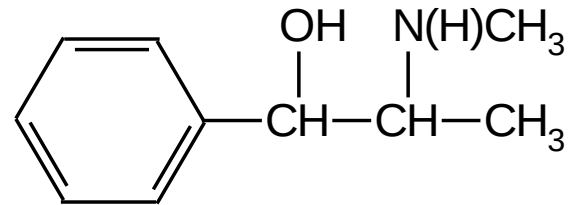
Структура: 1926, Koller



Салицин

(ароматичен алкохол од кора на
врбата *Salix*)

Структура и синтеза: 1906, Irvine



Ефедрин

(ароматичен алкалоид од
надземен дел на ефедрa
Ephedra equisetrina и *E. sinica*;

Структура и синтеза: 1920,
Späth and Göring

Холестерол

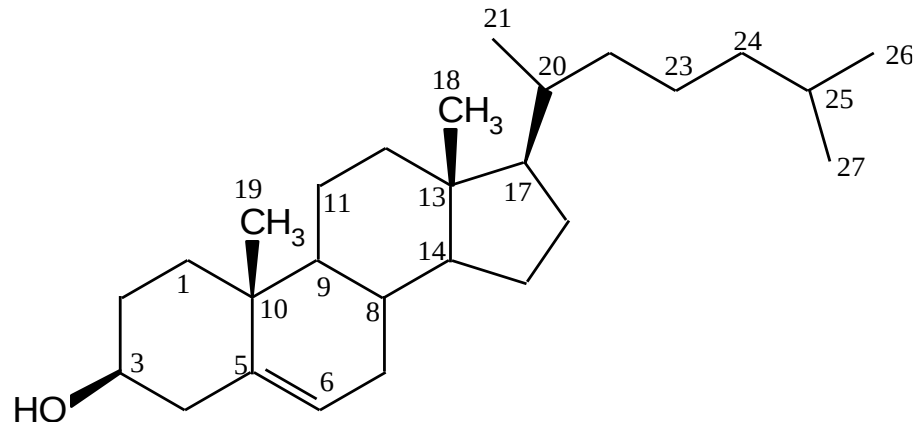
(стероиди од жолчни
киселини)

Изолација: 1909, Windaus

Структура: 1932, Wieland

Синтеза: 1964, Johnson

Биогенеза: 1966, Cornforth



СЕКУНДАРНИТЕ МЕТАБОЛИТИ НА ПАЗАРОТ

- Фармацевтски препарати.
- Традиционална медицина:
 - **гинко** (исушени листови) – ја подобрува микроциркулацијата;
 - **женшен** (корен) – стимулирачко и тонизирачко дејство;
 - **лук** (чешниња) – антимикробно дејство и лек за намалување на триглицериди и холестерол;
 - **ехинацеа** (исушено растение) – имуностимулирачко дејство;
 - **соја** (семе) – извор на незаситени масни киселини;
 - **алое** (сок од лист) – лаксатив, антибактериско и антиинфламаторно дејство и др.
- Пијалоци: чај (зелен, кинески, индиски), кафе, какао.
- Додатоци во исхраната - зачини и здрава храна
- Масти и масла
- Парфеми и козметички препарати
- Есенцијални масла (арома терапија) и др.

