

## ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОСИНТЕЗА ЭРГОАЛКАЛОИДОВ В САПРОФИТНОЙ КУЛЬТУРЕ *CLAVICEPS PURPUREA* (FR.) TULASNE (ОБЗОР)

**Р.И. Бобылева**

к.б.н., вед. науч. сотрудник, отдел биотехнологии,  
ФГБНУ «Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений» (Москва)  
E-mail: vilarnii@mail.ru

**П.С. Савин**

к.б.н., вед. науч. сотрудник, отдел биотехнологии,  
ФГБНУ «Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений» (Москва)  
E-mail: savin-pavel@list.ru

Приведен научный анализ литературных данных, отражающих физиологические и технологические аспекты биосинтеза эргоалкалоидов (ЭА) в сапрофитной культуре *Claviceps purpurea* Tul. Продемонстрировано, что для получения высоких выходов ЭА в сапрофитной культуре обязательным условием является получение высокопродуктивных штаммов грибов *Claviceps* – продуцентов пептидных ЭА, стабильных по физиологическим и биохимическим параметрам. Отмечено, что питательные среды и условия культивирования штамм-специфичны. Показано, что качественным и количественным составом питательных сред, введением в среду предшественников молекул ЭА и условиями культивирования можно управлять процессом биосинтеза ЭА в сапрофитной культуре.

**Ключевые слова:** эргоалкалоиды, грибы *Claviceps*, сапрофитная культура.

**Для цитирования:** Бобылева Р.И., Савин П.С. Физиологические и технологические аспекты биосинтеза эргоалкалоидов в сапрофитной культуре *Claviceps purpurea* (Fr.) Tulasne (обзор). Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019; 22(10):30–36. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-10-05>

На сегодняшний день в мире на основе эргоалкалоидов (ЭА) выпускается более 100 лекарственных средств [1]. В России (ФГБНУ ВИЛАР) разработаны препараты различного спектра действия, такие как Абергин, Новокрестин, Беллатаминал и Эргометринамалеат [2].

В промышленных масштабах для получения лекарственного сырья, содержащего ЭА, используют паразитарные и сапрофитные культуры [3–5].

Технологии культивирования грибов *Claviceps* в сапрофитной культуре достаточно сложные. При их разработке решается комплекс задач, которые условно можно разделить на два этапа: 1) получение высокопродуктивных мутантов, способных синтезировать ЭА в глубинной культуре [3, 4, 6–8]; 2) изучение физиолого-биохимических особенностей полученных мутантов, отработку качественного и количественного состава питательных сред и условий культивирования, при которых генетическая информация, ответственная за синтез ЭА, будет реализовываться в полной мере [4, 9].

Цель работы – анализ и обобщение литературных и собственных экспериментальных

данных, полученных на коллекционных штаммах ФГБНУ ВИЛАР, отражающих физиологические и технологические аспекты биосинтеза ЭА в сапрофитной культуре *Claviceps purpurea* Tul.

### ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ МУТАНТОВ-ПРОДУЦЕНТОВ ЭРГОАЛКАЛОИДОВ В САПРОФИТНОЙ КУЛЬТУРЕ

В качестве исходного материала для получения высокопродуктивных мутантов используют сапрофитную культуру, полученную из рожка спорыньи, выращенного на естественно или искусственно зараженных растениях [3].

При получении высокопродуктивных мутантов-продуцентов алкалоидов используют различные мутагены, вызывающие стойкие нарушения генетического аппарата гриба *Claviceps*, что в конечном итоге ведет к нарушению механизмов регуляции отдельных реакций в цепи метаболизма и к сверхсинтезу целевого продукта [3, 4, 6–8].

Для проведения индуцированного мутагенеза гриба спорыньи широкое применение получило УФ-облучение. С его помощью возможно получение

ние мутантов с более высокой алкалоидной продуктивностью, не утрачивающих при этом способности к мицелиальному росту [3, 6, 7]. Однако существует ряд работ, показывающих возможность применения химических мутагенов, таких как азотистая кислота, 5-бромурацил, органические нитрозосоединения и другие химические мутагены [6, 8, 10].

Важным аспектом в процессе получения мутантов является то, что только сублетальные концентрации мутагенных факторов, обеспечивающие выживаемость моноспоровых колоний, позволяют получать продуктивные линии гриба [3, 4, 8, 10, 11].

Индукцированный мутагенез, как правило, приводит к изменению окраски колоний, характера роста в жидких и на твердых питательных средах, снижению или подавлению конидиогенеза [3, 4, 6, 7]. Морфологические мутации сопровождаются заметными изменениями в образовании ЭА [3, 4]. Однако при селекции наиболее активных штаммов продуцентов ЭА необходимо иметь в виду, что частота морфологических мутаций не всегда совпадает с частотой биохимических мутаций [3, 7]. Поэтому ступенчатый отбор нужных линий после мутагенеза проводится большей частью эмпирически, посредством оценки способности множества мутантных клонов образовывать алкалоиды [3, 4, 7].

Более совершенным является метод целенаправленной селекции, основанный на регуляции ферментов по принципу обратной связи конечным [3, 12, 13] или промежуточным продуктом биосинтетического пути (если он или они являются предшественниками вторичного метаболита или индукторами) [3, 4, 12, 14].

### **СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ САПРОФИТНЫХ ШТАММОВ ГРИБОВ *CLAVICEPS***

Начало многочисленным исследованиям по культивированию продуцентов алкалоидов в искусственных условиях положил японский исследователь М. Абе [15]. Особой заслугой его группы является разработка маннитно-сукцинатной питательной среды (среды Абе), способствующей алкалоидообразованию у многих грибов – *Claviceps*, *Aspergillus*, *Penicillium* [16, 17].

Для выращивания сапрофитных штаммов продуцентов ЭА традиционно применяются способы поверхностного и глубинного культивирова-

ния, заключающиеся в выращивании культуры гриба на питательных средах, содержащих в своем составе компоненты, необходимые для их биогенеза [3, 4, 18]. При поверхностном способе культуру продуцента ЭА выращивают на поверхности агаризованной [3, 18], сыпучей (зерно ржи) [18] или жидкой питательной среды [3, 18] с естественной аэрацией, используя для их инокулирования конидиальный материал [3, 18] или кусочки склероция в случае получения «чистой» культуры гриба спорыньи [3, 18].

Существенными недостатками выращивания поверхностным методом является большая трудоемкость выполняемых работ, длительность выращивания гриба [18].

В связи с этим поверхностный метод получения элитного инфекционного материала и ЭА вытесняется глубинным, при котором культуру выращивают в жидких питательных средах при перемешивании и принудительной аэрации [3, 11, 18, 19].

Получение лекарственного сырья, содержащего ЭА, в условиях глубинного культивирования является важным фактором обеспечения возрастающих с каждым годом потребностей фармацевтической промышленности и позволяет создать экологически чистое безотходное производство, получать стандартное сырье независимо от времени года, снизить производственные затраты и так далее [3, 4, 20, 21].

Показано, что при глубинном культивировании процесс ферментации проходит в два этапа: 1) ростовой (инокуляционной), на котором накапливается биомасса [4, 22, 23]; 2) синтетический (продуктивный), на котором происходит биосинтез ЭА [4, 20–24]. Ростовой этап длится 6–10 дней, продуктивный 12–18 дней [25]. Каждый из этих этапов характеризуется своими оптимальными питательными средами и условиями культивирования [4, 22, 25].

### **УСЛОВИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ САПРОФИТНЫХ ШТАММОВ ГРИБОВ *CLAVICEPS***

Условия культивирования, необходимые для синтеза первичных метаболитов, как правило, не являются оптимальными для биосинтеза алкалоидов [13, 25]. Большое значение при культивировании штаммов культуры *Claviceps* глубинным способом имеют такие факторы, как температура, pH, аэрация и другие, а также состав питательных сред [4, 13, 16, 25, 26].

Показано, что синтез ЭА происходит в диапазоне температур 20–30 °С и зависит от физиологических особенностей штаммов-продуцентов. Так, при выращивании *C. paspali* при 21 °С образуется 530 мг/л производного лизергиновой кислоты, а при 30 °С – лишь 20 мг/л [27]. Оптимальной для биосинтеза клавиновых алкалоидов культурой *C. fusiformis* является температура 27 °С, причем ее снижение более чем на 1 °С приводит к резкому снижению синтеза алкалоидов [28].

У штаммов *Claviceps* с увеличением аэрации наблюдается как увеличение выхода алкалоидов [4, 23, 27], так и обратный эффект [10]. Для более активной аэрации в глубинной культуре грибов спорыньи немецкими исследователями было предложено использовать перфторуглеродороды. Это позволило многократно интенсифицировать синтез целевого продукта – эрготамина [29].

Экспериментальные данные, отражающие влияние условий культивирования на ростовые, репродуктивные и биосинтетические характеристики культуры *Claviceps*, показывают, что требования к условиям культивирования штамм-специфичны. При разработке технологий получения ЭА глубинным способом обязательным условием является проведение детальных исследований в этом направлении для каждого конкретного штамма-продуцента [4, 18, 23, 27]. Сапрофитные культуры *Claviceps* могут хорошо расти на многих питательных средах, но ЭА синтезируются на специфических. Существует тесная связь между организмом-продуцентом и средой при любой ферментации. Оптимизация состава среды и физико-химических свойств способствует поддержанию максимальной скорости роста и желаемого направления процесса [3, 4, 24]. Для выращивания грибов спорыньи используются как синтетические, так и натуральные среды неопределенного состава, содержащие источники углерода, азота, и минеральные соли [3, 4, 11, 24].

В научной литературе исследователями широко обсуждается влияние на ростовые и биосинтетические особенности спорыньи различных компонентов питательных сред, и в первую очередь, источников углерода, азота, минерального фосфора и других веществ [3, 4, 10, 13, 16, 19, 22, 24].

**Источники углерода.** Грибы рода *Claviceps* для своего роста и развития используют широкий спектр углеродного питания – глюкозу, фруктозу, мальтозу, сахарозу, маннит, сорбит, глицерин и др.

[4, 10, 13, 16, 21, 22, 24], органические кислоты цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) [19, 21, 24, 25].

Разные продуценты и даже штаммы одного и того же продуцента могут иметь свои специфические потребности в источниках углеводного питания [16, 19, 24]. Так, канадскими исследователями [26] было установлено, что оптимальными углеводами для трех штаммов *C. purpurea* (Fr.) Tul., выделенных из различных географических районов, оказались глюкоза, фруктоза и целлобиоза. Другими исследователями [7] показано, что для синтеза алкалоидов штаммом *C. purpurea* SD-58 оптимальная среда содержала только сахарозу, а в случае дикого штамма *C. purpurea* 129/35 наиболее высокий уровень образования алкалоидов достигался за счет добавления мальтозы. Подчеркивается, что для образования алкалоидов культурами *Claviceps* наиболее пригодны медленно метаболизируемые углеводы – мальтоза, манит, сорбит [16, 21, 24].

Отсутствие в среде цитрата или иного интермедиата ЦТК (сукцината, или малата) способствует течению цикла лимонной кислоты без изменений, причем его скорость определяется действительной активностью цитрат-синтетазы [25]. Это вызывает изменения в дифференцировке, а также приводит к 50%-ному уменьшению биомассы, прекращению синтеза ЭА и подкислению среды лактатом. В отсутствие цитрата клетки увеличиваются в размере и характеризуются большой центральной вакуолью и постепенным исчезновением цитратсинтетазы и малатдегидрогеназы [13].

Успешное протекание биосинтеза ЭА требует наличия высокого уровня цитрата или каких-либо, других интермедиатов цитратного цикла клетки, при этом наблюдаются три типа цитратных эффектов: 1) повышение содержания ЭА; 2) увеличение пула сукцината в клетке; 3) резкий рост синтеза лизина при экстремальных уровнях цитрата [13].

**Источники азота.** Для роста и биосинтеза ЭА в сапрофитной культуре гриба *Claviceps* потребляют разнообразные источники азота – от нитрат-иона, до аммиака [4, 18, 24]. Грибом также используются органические формы азота: аспарагин, кукурузный экстракт, пептон, казеин, дрожжевой экстракт и др. [3, 24]. В составе ряда сред одновременно могут присутствовать неорганические и органические формы азота [4, 18]. Однако чаще всего используемым (и часто единственным) источником азота при выращивании штаммов

грибов рода *Claviceps* является аммонийная соль лимонной кислоты [3, 4, 24, 25].

**Минеральный фосфор.** Соединения фосфора и его концентрация играют важную роль в различных химических превращениях, особенно в углеводном обмене и регуляции синтеза ЭА [9, 13, 17, 19]. Так, при увеличении концентрации фосфата углеводный обмен идет преимущественно по схеме Эмбдена–Мейергофа (пируватный, гликолитический). Ферментом, переключающим метаболизм глюкозы на пентозофосфатный путь (ПФП), является глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, регулятором активности которого является фосфат-ион [9].

С биохимической точки зрения активное функционирование пентозофосфатного пути обеспечивает культуры-продуценты фосфорилированной рибозой, участвующей в синтезе нуклеозидфосфатов [9, 19]. Кроме того, в метаболических путях самого ПФП образуются 4- и 5-углеродные соединения, которые могут использоваться для различных синтетических процессов, как в первичных, так и во вторичных метаболических путях. Функционирование ПФП также обеспечивает нормальные потребности клетки в донорах водорода и электронов [9, 19].

Применительно к реакциям вторичного обмена грибов рода *Claviceps* функция ПФП определяется тем, что в процессе метаболизма глюкозы образуется эритрозо-4-фосфат, который является одним из предшественников, принимающим участие в биосинтезе шикимовой кислоты, являющейся непосредственным предшественником всех циклических соединений клетки. Сюда входят разнообразные фенолы, а также ароматические аминокислоты. Среди ароматических аминокислот особого внимания заслуживает триптофан, который является предшественником эрголинового ядра всех структурных групп ЭА [4, 13, 14, 17, 19, 21, 28], индуктором и дерепрессором [13, 14, 19, 17], а также фенилаланин, входящий в состав пептидной части некоторых циклольных ЭА и определяющий их структуру (эрготамин, эргокрестин) [14].

Высокие уровни фосфата в среде культивирования, стимулируют вегетативный рост мицелия *Claviceps*, лимитируют синтез триптофана и ингибируют фосфатазы, которые активируют ОМГ-КоА-редуктазу. Кроме того, они оказывают негативное влияние на функционирование ферментов, катализирующих синтез ЭА, подавляя диметилаллилтриптофансинтазу, снижая активность ханоклавициклазы и активируя ферменты, разлагаю-

щие ЭА [13], а также стимулируют образование АТФ и повышение энергетического потенциала клетки [13]. Ферменты синтеза ЭА активируются только при уменьшении внутриклеточного уровня фосфора [4]. Активный синтез ЭА начинается только после исчерпания фосфата из питательной среды. Оптимальное содержание фосфора в среде для грибов рода *Claviceps* варьирует от 1 до 4 мМ [24]. Однако отмечается, что высокопродуктивные штаммы *Claviceps* обычно являются толерантными к высоким концентрациям фосфата [13].

## ОСОБЕННОСТИ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ГРИБОВ *CLAVICEPS*

Питательные среды имеют ряд характерных особенностей.

Во-первых, высокое осмотическое давление (10–20 бар) [10, 21, 24], которое является необходимым условием для индукции склероциального типа роста клеток гриба и препятствует конидиогенезу [10, 21]. Важно отметить, что при выращивании грибов спорыньи осмотическое давление, достаточное для активного алкалоидообразования, может быть создано не только за счет углеводов (300 г/л сахарозы или 100 г/л глюкозы), но и путем добавления к среде неорганических солей. Так, при культивировании *C. purpurea* количественно аналогичные результаты были получены при использовании среды с 10% маннита с добавкой 2% NaCl и среды, содержащей 20% маннита [29].

Во-вторых, установлено, что отношение источников углерода к азоту (C/N) питательной среды влияет на общую продуктивность культур. Так, максимальная продуктивность наблюдалась при отношении C/N свыше 50 [4, 21, 28]. Повышение концентрации азотсодержащих субстратов в среде культивирования, ведущее к снижению отношения углерода к азоту, вызывало снижение общей продуктивности штамма ВКМФ-с106-продуцента агроклавины [4].

В-третьих, в составе продуктивных сред в качестве источника углерода и энергии обязательно наличие пары кислота ЦТК и углеводов [4, 13, 15, 17, 19]. Состав оптимальной пары кислота ЦТК – углеводов может меняться в зависимости от продуцента. Так, для грибов рода *Claviceps* оптимальной парой является лимонная кислота (или янтарная или яблочная) и сахароза [19]. Отмечено, что мутантные штаммы, теряющие способность утилизировать один из источников углерода, теряют способность синтезировать алкалоиды [4].

В-четвертых, высокий уровень экзогенного цитрата в среде культивирования считается ключевым элементом регулирования первичного метаболизма во время производящей алкалоиды фазы развития гриба спорыньи. Прямым следствием этого являются две обратные связи в цикле: 1) на уровне цитрат-синтетазы; 2) на уровне комплекса 2-оксоглутаратдегидрогеназы [25].

Поскольку синтез цитрата подавляется, то образуемый гликолизом ацетил-КоА не может вступить в цикл лимонной кислоты, а используется для синтеза жирных кислот и жира, которые идут одновременно с образованием алкалоидов [25]. Также установлено, что подавление на уровне цитрат-синтетазы обеспечивает использование ацетил-КоА для синтеза мевалоновой кислоты, являющейся предшественником структурной основы всех алкалоидов спорыньи. Это же справедливо для стимулирования биосинтеза углеродных каркасов аминокислот – предшественников молекул ЭА, анаболические пути которых ответвляются перед циклом лимонной кислоты. Этими аминокислотами являются, главным образом, фенилаланин и триптофан (производные ПФЦ), а также аланин, лейцин, валин и изолейцин, которые представляют собой строительные ячейки пептидных алкалоидов спорыньи [14, 25]. Важно отметить, что аминокислоты, входящие в состав молекул ЭА, – не только предшественники молекул ЭА у грибов рода *Claviceps*, они также определяют их структурное разнообразие и участвуют в регуляции их биосинтеза. В литературных источниках наиболее полно рассматривается роль триптофана не только как предшественника ЭА, но и как индуктора и дерепрессора ферментов, катализирующих синтез ЭА [4, 10, 13, 14, 16, 17, 19]. Однако не у всех культур наблюдается стимулирующее действие указанной аминокислоты на синтез ЭА, а в ряде случаев ее добавление приводило к снижению продукции последних [16].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ многочисленных литературных источников показал, что для получения высоких выходов ЭА в сапрофитной культуре обязательным условием является получение высокопродуктивных штаммов грибов *Claviceps* – продуцентов пептидных ЭА. При этом питательные среды и условия культивирования штамм-специфичны. Также продемонстрировано, что качественным и количественным составом питательных сред, введением в

среду предшественников молекул ЭА и условиями культивирования можно управлять процессом биосинтеза ЭА в сапрофитной культуре.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Sharma Niti, Sharma Vinay K., Manikyam Hemanth Kumar and Krishna Acharya Bal. Ergot Alkaloids: A Review on Therapeutic Applications // European Journal of Medicinal Plants. 2016. V. 14. № 3. P. 1–17.
2. Трумпе Т.Е., Колхир О.К., Омельницкий П.П. и др. Труды ВИЛАР. Химия, технология, медицина. М. 2000. С. 200–209.
3. Барсеян А.Г. Разработка методов селекции и повышения продуктивности штаммов-продуцентов эргоалкалоидов в сапрофитных условиях культивирования: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М. 2009. 172 с.
4. Бойченко Л.В. Биосинтез эргоалкалоида гриба *Claviceps fusiformis* ВКМФ-2609: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М. 2004. 154 с.
5. Шаин С.С. Возделывание спорыньи на ржи // Обзорная информация «Лекарственное растениеводство». М.: ЦБНТИ Минмедбиопрот. 1987. Вып. 4. 50 с.
6. Бузилова И.Г., Бойченко Д.М., Бойченко Л.В., Зеленкова Н.Ф., Аринбасаров М.У., Баскунов Б.П., Решетилова Т.А. Влияние мутационного процесса на образование алкалоидов у *Penicillium roquefortii* ВКМФ-141 и *P. fellutanum* ВКМФ-1073 // Прикладная биохимия и микробиология. 2000. Т. 36. № 3. С. 322–327.
7. Венрицкая И.Г., Бойченко Л.В., Аринбасаров М.У., Зеленкова Н.Ф., Бобкова Н.В. Получение продуцентов эргоалкалоидов методом индуцированного мутагенеза // Прикладная биохимия и микробиология. 2002. Т. 38. № 1. С. 35–39.
8. Schmauder H.P., Groger D. Selection of ergot alkaloid producers by induced mutagenesis // Acta Biotechnol. 1983. V. 3. № 4. P. 379–382.
9. Сергеева А.В. Азотная регуляция биосинтеза авермектинов у штаммов *Streptomyces avermitilis*: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М. 2001. 135 с.
10. Rehacek Z. Ergot alkaloids and some problems of the physiology of their formation // Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. 1974. V. 129. № 1–2. P. 20–49.
11. Rehacek Z. Physiological controls and regulation of ergot alkaloid formation // Folia Microbiol. 1991. V. 36. № 4. P. 323–342.
12. Каранова С.Л., Урманцев В.В. Селекция вариантных клеточных линий люцерны с повышенной активностью пероксидазы // Физиология растений. 1996. Т. 43. № 1. С. 104–110.
13. Ржехачек З. Некоторые аспекты регуляции синтеза эргоалкалоидов // Прикладная биохимия и микробиология. 1992. Т. 28. Вып. 6. С. 828–843.
14. Бобылева Р.И., Савина Т.А. Аминокислоты – предшественники эргоалкалоидов у грибов рода *Claviceps* // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2017. № 1. Т. 20. С. 31–34.
15. Abe M., Yamano T., Kozu Y., Kosumoto M. Qualitative determination of the ergot alkaloids present in the sklerotia and saprophytic cultures of ergot fungi // J. Agric. Chem. Soc. Japan. 1955. P. 697–703.

16. Решетилова Т.А., Козловский А.Г. Биосинтез алкалоидов мицелиальными грибами // Прикладная биохимия и микробиология. 1990. Т. 26. Вып. 3. С. 291–306.
17. Ржехачек З. Физиологические аспекты образования алкалоидов спорыньи: Пер. с англ. // Прикладная биохимия и микробиология. 1983. Т. 19. Вып. 2. С. 267–269.
18. Савин П.С. Особенности регуляции конидиогенеза в условиях глубинного культивирования элитного инфекционного материала спорыньи *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М. 2007. 125 с.
19. Козловский А.Г. Исследование алкалоидов сапрофитных грибов: биосинтез, структура, свойства, химико-микробиологический синтез. Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. М. 1987. 40 с.
20. Keller U. Biosynthesis of ergotamine in protoplasts of *Claviceps purpurea* // J. Gen. Microbiol. 1980. V. 118. Part. 2. P. 485–494.
21. Tudzynsk P., Correia T., Keller U. Biotechnology and genetics of ergot alkaloids // Applied Microbiology and Biotechnology. 2001. V. 57. Iss. 5–6. P. 593–605.
22. Бобылева Р.И., Савина Т.А. Изучение влияния различных углеводов на ростовые и биосинтетические характеристики штамма *Claviceps purpurea* 07-Т // Сб. научных трудов междунар. научно-практич. конф. «Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине», посвященной 85-летию ВИЛАР. 2016. С. 192–194.
23. Саркисова М.А., Савина Т.А. Изучение массообмена у клеток сапрофитнокультивируемой спорыньи // Микология и фитопатология. 1990. Т. 24. № 6. С. 569–571.
24. Kren V., Harazim P., Malinka Z.X. *Claviceps purpurea* (Ergot): Culture and Bioproduction of ergot alkaloids // Biotechnology in Agriculture and Forestry. V. 28. Medicinal and Aromatic Plants VII. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1994. P. 139–156.
25. Kybal J., Svoboda E., Strnadova K et al. Role Organic Acid Metabolism in the Biosynthesis of Peptide Alkaloids // Folia Microbiol. 1981. V. 26. P. 112–119.
26. Taber W.A., Vining L.C. The influence of certain factors on the *in vitro* production of ergot alkaloids by *Claviceps purpurea* (Fries) Tuasne // Can. J. Microbiol. 1958. V. 45. P. 611–620.
27. Arcatone F., Chain E.B., Ferretti A., Mnghetti A., Pennela P., Tonollo A., Vero L. Production of a new lysergic acid derivative in submerged culture by a strain of *Claviceps paspali* Stevens & Hall // ProcR. Soc. Lond. (Biol). 1961. V. I55. P. 26–54.
28. Tudzynski B., Holter K., Correia T. Arntz C., Grammel N., Keller U. Evidence for an ergot alkaloid gene cluster in *Claviceps purpurea* // Mol. Gen. Genet. 1999. V. 261. № 1. P. 133–141.
29. Puc A., Socic H. Carbohydrate nutrition of *Claviceps purpurea* for alkaloid production, related to die osmolarity of media // Europ. J. Appl. Microbiol. 1972. V.4. P.283-290.

Поступила 30 мая 2019 г.

## PHYSIOLOGICAL AND TECHNOLOGICAL ASPECTS OF ERGOALKALOID BIOSYNTHESIS IN SAPROPHYTIC CULTURE THE *CLAVICEPS PURPUREA* (FR.) TULASNE (REVIEW)

© R.I. Bobyleva, P.S. Savin, 2019

**R.I. Bobyleva**

Ph.D. (Biol.), Leading Research Scientist, All-Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

E-mail: vilarnii@mail.ru

**P.S. Savin**

Ph.D. (Biol.), Leading Research Scientist, All-Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

E-mail: savin-pavel@list.ru

This review shows that to obtain high yields of ergoalkaloids (EA) in saprophytic culture, it is imperative to obtain highly productive strains of the *Claviceps* fungi – producers of peptide EA, which are stable in physiological and biochemical parameters. After obtaining the producer strain EA, it is necessary for it to create such nutrient media and cultivation conditions under which the realization of its potential possibilities will be most favorable.

It is important to note that nutrient media and culture conditions are strain-specific and that the qualitative and quantitative composition of nutrient media, additional introduction of EA precursors into culture medium and culture conditions can stimulate the biosynthesis capacity of EA or suppress it.

**Key words:** *ergot alkaloids, fungus Claviceps, saprophytic culture.*

**For citation:** Bobyleva R.I., Savin P.S. Physiological and technological aspects of ergoalkaloid biosynthesis in saprophytic culture the *Claviceps purpurea* (Fr.) Tulasne (review). Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2019;22(10):30–36. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-10-05>

REFERENCES

1. Sharma Niti, Sharma Vinay K., Manikyam Hemanth Kumar and Krishna Acharya Bal. Ergot Alkaloids: A Review on Therapeutic Applications // *European Journal of Medicinal Plants*. 2016. V. 14. № 3. P. 1–17.
2. Trumpe T.E., Kolhir O.K., Omel'nickij P.P. i dr. Trudy VILAR. Himiya, tekhnologiya, medicina. M. 2000. S. 200–209.
3. Barsegyan A.G. Razrabotka metodov selekcii i povysheniya produktivnosti shtammov-producentov ergoalkaloidov v saprofitnyh usloviyah kul'tivirovaniya: Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. M. 2009. 172 s.
4. Bojchenko L.V. Biosintez ergoalkaloidaagroklavina mutantnym shtammom mikroskopicheskogo griba *Claviceps fusiformis* VKMF-2609: Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. M. 2004. 154 s.
5. SHain S.S. Vozdelyvanie sporyn'i na rzhii // *Obzornaya informatsiya «Lekarstvennoe rastenievodstvo»*. M.: CBNTI Minmedbioprom. 1987. Vyp. 4. 50 s.
6. Buzilova I.G., Bojchenko D.M., Bojchenko L.V., Zelenkova N.F., Arinbasarov M.U., Baskunov B.P., Reshetilova T.A. Vliyanie mutacionnogo processa na obrazovanie alkaloidov u *Penicillium roquefortii* BKMf-141 i *P. fellutanum* BKMf-1073 // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2000. T. 36. № 3. S. 322–327.
7. Veprickaya I.G., Bojchenko L.V., Arinbasarov M.U., Zelenkova N.F., Bobkova N.V. Poluchenie producentov ergoalkaloidov metodom inducirovannogo mutageneza // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2002. T. 38. № 1. S. 35–39.
8. Schmauder H.P., Groger D. Selection of ergot alkaloid producers by induced mutagenesis // *Acta Biotechnol.* 1983. V. 3. № 4. P. 379–382.
9. Sergeeva A.V. Azotnaya regulatsiya biosinteza avermektinov u shtammov *Streptomyces avermitilis*: Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. M. 2001. 135 s.
10. Rehacek Z. Ergot alkaloids and some problems of the physiology of their formation // *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene*. 1974. V. 129. № 1–2. P. 20–49.
11. Rehacek Z. Physiological controls and regulation of ergot alkaloid formation // *Folia Microbiol.* 1991. V. 36. № 4. P. 323–342.
12. Karanova S.L., Urmancev V.V. Selekcija variantnyh kletchnykh liniy lyucerny s povyshennoj aktivnost'yu peroksidazy // *Fiziologiya rastenij*. 1996. T. 43. № 1. S. 104–110.
13. Rzhekhachek Z. Nekotorye aspekty regulatsii sinteza ergoalkaloidov // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 1992. T. 28. Vyp. 6. S. 828–843.
14. Bobyleva R.I., Savina T.A. Aminokisloty – predshestvenniki ergoalkaloidov u gribov roda *Claviceps* // *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmaceuticheskoy himii*. 2017. № 1. T. 20. S. 31–34.
15. Abe M., Yamano T., Kozu Y., Kosumoto M. Qualitative determination of the ergot alkaloids present in the sklerotia and saprophytic cultures of ergot fungi // *J. Agric. Chem. Soc. Japan*. 1955. P. 697–703.
16. Reshetilova T.A., Kozlovskij A.G. Biosintez alkaloidov micelial'nymi gribami // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 1990. T. 26. Vyp. 3. S. 291–306.
17. Rzhekhachek Z. Fiziologicheskie aspekty obrazovaniya alkaloidov sporyn'i: Per. s angl. // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 1983. T. 19. Vyp. 2. S. 267–269.
18. Savin P.S. Osobennosti regulatsii konidiogeneza v usloviyah glubinnogo kul'tivirovaniya elitnogo infekcionnogo materiala sporyn'i *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.: Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. M. 2007. 125 s.
19. Kozlovskij A.G. Issledovanie alkaloidov saprofitnyh gribov: biosintez, struktura, svojstva, himiko-mikrobiologicheskij sintez. Avtoref. diss. ... dokt. biol. nauk. M. 1987. 40 s.
20. Keller U. Biosynthesis of ergotamine in protoplasts of *Claviceps purpurea* // *J. Gen. Microbiol.* 1980. V. 118. Part. 2. P. 485–494.
21. Tudzynski P., Correia T., Keller U. Biotechnology and genetics of ergot alkaloids // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2001. V. 57. Iss. 5–6. P. 593–605.
22. Bobyleva R.I., Savina T.A. Izuchenie vliyanija razlichnyh uglevodov na rostovye i biosinteticheskie karakteristiki shtamma *Claviceps purpurea* 07-T // *Sb. nauchnyh trudov mezhdunar. nauchno-praktich. konf. «Biologicheskie osobennosti lekarstvennyh i aromatcheskih rastenij i ih rol' v medicine»*, posvyashchennoj 85-letiyu VILAR. 2016. S. 192–194.
23. Sarkisova M.A., Savina T.A. Izuchenie massoobmena u kletok saprofitnokul'tiviruemoj sporyn'i // *Mikologiya i fitopatologiya*. 1990. T. 24. № 6. S. 569–571.
24. Kren V., Harazim P., Malinka Z.X. *Claviceps purpurea* (Ergot): Culture and Bioproduction of ergot alkaloids // *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. V. 28. Medicinal and Aromatic Plants VII. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1994. P. 139–156.
25. Kybal J., Svoboda E., Strnodova K et al. Role Organic Acid Metabolism in the Biosynthesis of Peptide Alkaloids // *Folia Microbiol.* 1981. V. 26. P. 112–119.
26. Taber W.A., Vining L.C. The influence of certain factors on the in vitro production of ergot alkaloids by *Claviceps purpurea* (Fries) Tuasne // *Can. J. Microbiol.* 1958. V. 45. P. 611–620.
27. Arcatone F., Chain E.B., Ferretti A., Minghetti A., Pennela P., Tonollo A., Vero L. Production of a new lysergic acid derivative in submerged culture by a strain of *Claviceps paspali* Stevens & Hall // *ProcR. Soc. Lond. (Biol)*. 1961. V. 155. P. 26–54.
28. Tudzynski B., Holter K., Correia T., Arntz C., Grammel N., Keller U. Evidence for an ergot alkaloid gene cluster in *Claviceps purpurea* // *Mol. Gen. Genet.* 1999. V. 261. № 1. P. 133–141.
29. Puc A., Socic H. Carbohydrate nutrition of *Claviceps purpurea* for alkaloid production, related to the osmolarity of media // *Europ. J. Appl. Microbiol.* 1972. V. 4. P. 283–290.