

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ДЛЯ ВТОРИЧНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

## И.К. Гордонова

к.б.н., вед. науч. сотрудник,

Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

E-mail: gordonova777@yandex.ru

## З.К. Никитина

д.б.н., профессор, гл. науч. сотрудник,

Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

E-mail: nikitinaz@yandex.ru

**Актуальность.** В настоящее время при лечении многих хронических заболеваний широко используются препараты на основе лекарственного растительного сырья. Современные растительные лекарственные средства, как правило, сочетают в себе высокую эффективность, относительную безопасность и широту лечебного действия. При производстве многих галеновых и неогаленовых препаратов в большинстве случаев отходы растительного сырья содержат различные биополимеры, в том числе целлюлозу, присутствие которой может при определенных условиях вызывать синтез соответствующих гидролаз-целлюлаз.

**Цель исследования.** Разработка способов биотехнологической конверсии производственных отходов лекарственного растительного сырья на примере марены красильной.

**Материал и методы.** Объект исследования – 12 штаммов 11 видов микромицетов из биокolleкции микроорганизмов ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ВИЛАР). В качестве объекта для конверсии отходов лекарственного растительного сырья использовался шрот корней и корневищ марены красильной (*Rubia tinctorum*), образованный при получении сухого экстракта марены. Характерной особенностью шрота различного происхождения является низкое содержание жира и относительно высокое количество белков и целлюлозосодержащих веществ. Ранее авторы показали, что микромицеты из коллекции ВИЛАР обладают способностью гидролизовать некоторые нерастворимые белки и различные типы целлюлозы. В связи с этим совершенно логично попытаться использовать эти биологические объекты для конверсии шрота.

**Результаты.** Показано, что все изученные мицелиальные грибы хорошо росли на средах с заменой легко метаболизируемого углевода на широту корней и корневищ *Rubia tinctorum*. Микромицеты образуют зоны лизиса при поверхностном культивировании, что свидетельствует о синтезе и секреции гидролаз в окружающую среду.

**Выводы.** В результате детального изучения 12 штаммов грибов, а также регрессионного и корреляционного анализа были отобраны 5 микромицетов, перспективных для вторичной переработки лекарственного растительного сырья.

**Ключевые слова:** микромицеты, шрот, гидролазы, марена красильная.

**Для цитирования:** Гордонова И.К., Никитина З.К. Использование мицелиальных грибов для вторичной переработки лекарственного растительного сырья. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020;23(6):28–33. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-06-05>

Деятельность человека связана с появлением огромного количества разнообразных отходов [1]. Резкий рост потребления в последние десятилетия привел к существенному увеличению объемов отходов производства, которые подлежат удалению в соответствии с настоящими Федеральными законами [2].

Отходы засоряют природный ландшафт и могут являться источником поступления вредных химических, биологических и биохимических веществ в окружающую среду. Вместе с тем отходы следует рассматривать как техногенные образова-

ния, которые характеризуются значимым содержанием в них ряда ценных практически бесплатных компонентов, пригодных для использования в экономике.

Свойства микроорганизмов разрушать различные вещества широко используются в настоящее время в биотехнологии при переработке отходов различных производств [3–5].

Фитотерапия и фитопрофилактика сегодня все шире и прочнее внедряются в медицинскую практику [6, 7]. При получении многих галеновых и неогаленовых препаратов в большинстве случа-

ев образуются отходы растительного сырья, содержащие различные биополимеры, в том числе целлюлозу, лигнинцеллюлозу, белки, липиды [8]. Ранее авторами было показано, что микромицеты из коллекции мицелиальных грибов ФГБНУ ВИЛАР (Москва) и некоторые виды бактерий могут гидролизовать различные белковые и целлюлозные субстраты [9–11]. Представляет интерес изучение возможности использования указанных биообъектов для конверсии отходов при получении фитопрепаратов.

К числу важных лекарственных растений, являющихся источником создания высокоэффективных лекарственных средств, относится марена красильная (*Rubia tinctorum*) – многолетнее травянистое растение семейства мареновые (Rubiaceae) [12]. Препараты из корней марены (настойки, отвары, сухой экстракт и др.) применяются в традиционной фитотерапии и современной медицине при заболеваниях почек – как нефролитическое средство для уменьшения спазмов и облегчения отхождения мелких камней [13].

Цель исследования – разработка способов биотехнологической конверсии производственных отходов лекарственного растительного сырья на примере марены красильной.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись 12 штаммов 11 видов микромицетов из биокolleкции микроорганизмов ФГБНУ ВИЛАР, относящиеся к родам *Aspergillus*, *Monilia*, *Penicillium*: *A. niger* F51, *A. terreus* F59, *M. implicata* F15, *P. brevicompactum* F37, 49, *P. camemberti* F45, *P. casei* F19, *P. claviforme* F32, *P. crustosum* F46, *P. hirsutum* F29, *P. malinovobranova* F3, *P. purpurescens* F18. В некоторых экспериментах в качестве культуры для сравнения использовали новый штамм *P. martensii* F 63. Проводили поверхностное культивирование микромицетов на агаризованных средах Чапека, модифицированных заменой сахарозы на шрот марены красильной при температуре  $26 \pm 1$  °C, в темноте. В качестве объекта для конверсии отходов лекарственного растительного сырья использовали шрот корней и корневищ марены красильной, образованный при получении сухого экстракта марены (экспериментально-производственный отдел ФГБНУ ВИЛАР). Образцы шрота марены добавляли к среде Чапека в концентрации 2,0%.

Гидролитическую активность микроорганизмов оценивали по скорости радиального роста микроорганизмов и индексам лизиса. Диаметр колоний (Дк) измеряли в двух перпендикулярных направлениях. Кроме того, измеряли диаметр зон лизиса (Дл) и рассчитывали индексы лизиса по ранее предложенной схеме [9]. Для выявления зон лизиса использовали окраску раствором Люголя [10]. Статистическую обработку результатов, регрессионный и корреляционный анализ проводили на персональном компьютере с помощью пакета статистических программ Microsoft Office Excel 2010.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что рост микроорганизмов в условиях полной или частичной замены легко усвояемых сахаров на трудно метаболизируемые биополимеры, например нерастворимые белки или целлюлозу, позволяет оценить их потенциальную гидролитическую активность. Поэтому на начальном этапе исследования фиксировались диаметры колоний и зон лизиса при культивировании микроорганизмов на средах с полной заменой углеводов на шрот марены красильной (табл. 1).

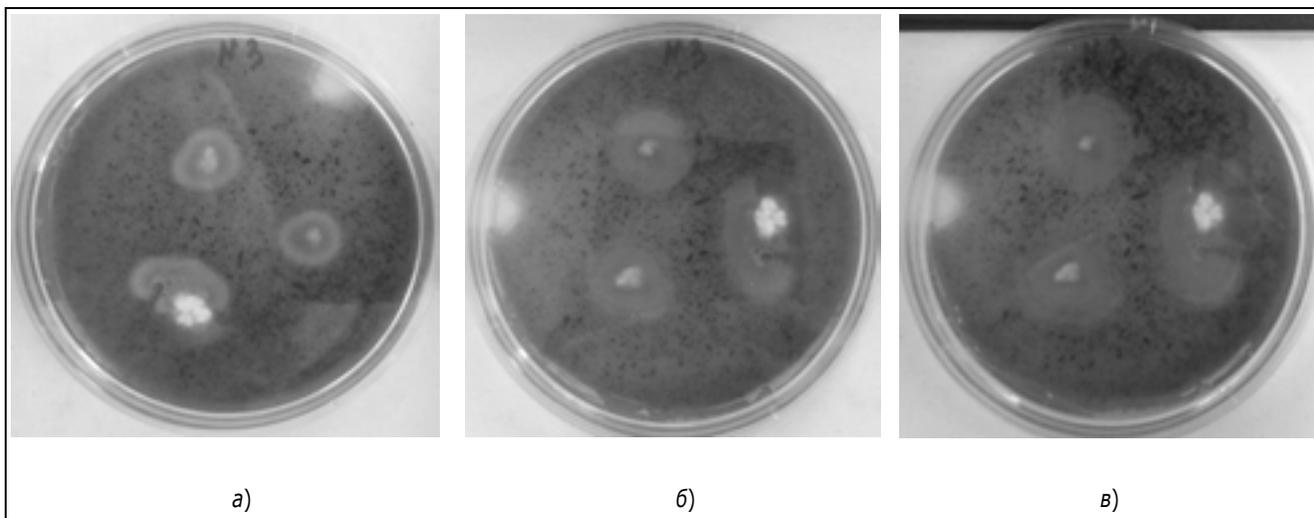
Можно видеть (рис. 1), что все исследованные культуры хорошо росли на модифицированных средах. Начальная скорость роста была максимальной у *P. malinovobranova*, а минимальная – у *P. martensii*. К 5-м суткам культивирования колонии с наибольшими диаметрами образовывал микромицет *P. casei*. После окрашивания также выявлялись максимальные зоны лизиса, что делало необходимым прекращение культивирования из-за вероятного слияния зон лизиса в дальнейшем. У четырех микромицетов (*P. hirsutum*, *P. claviforme*, *P. camemberti* и *P. crustosum*) на начальных этапах культивирования отмечалось обильное спороношение, приводившее к образованию большого количества вторичных колоний, заполнивших весь газон (рис. 3), что также вызвало прекращение наблюдения на 5-е сутки.

На 6-е сутки культивирования максимальные диаметры колоний фиксировались у штамма сравнения *P. martensii* F63, который был ранее получен путем адаптации материнского штамма *P. martensii* F47 к росту на целлюлозных субстратах [10]. Несколько меньшие колонии обнаружены у одного из штаммов *P. brevicompactum* F49 и *P. malinovobranova*.

**Таблица 1. Параметры роста микромицетов на среде со шротом марены красильной**

Микромицеты	Время культивирования, сутки					
	1-е	4-е	5-е		6-е	
	Дк	Дк	Дк	Дл	Дк	Дл
<i>P. malinovobranova</i> F3	4,3	15,7	22,8	—	26,8	45,7
<i>M. implicata</i> F15	2,0	12,3	18,0	—	24,0	36,0
<i>P. purpurescens</i> F18	1,7	6,7	8,5	—	13,3	30,6
<i>P. casei</i> F19	1,8	22,7	35,3	47,3	ин*	—
<i>P. hirsutum</i> F29	2,0	10,0	10,0	18,0	ин*	—
<i>P. clavi Forme</i> F32	2,2	12,2	23,0	29,1	ин*	—
<i>P. brevicompactum</i> F37	3,2	17,2	21,3	—	23,3	38,0
<i>P. camemberti</i> F45	3,2	—	15,0	28,0	ин*	—
<i>P. crustosum</i> F46	2,6	12,6	14,3	23,4	ин*	—
<i>P. brevicompactum</i> F49	2,8	18,0	22,4	—	29,5	43,1
<i>A. niger</i> F51	2,8	12,4	14,6	—	11,3	20,7
<i>A. terreus</i> F59	1,8	9,5	20,3	—	21,2	36,6
<i>P. martensii</i> F63	1,0	23,3	31,4	—	32,7	43,0

Примечание: \* – исследования не проводились.



**Рис. 1.** Рост *P. malinovobranova* F3 на среде со шротом марены красильной: а – 4-е сутки культивирования; б – 5-е сутки культивирования; в – 6-е сутки культивирования

Важным показателем для оценки способности микроорганизмов утилизировать трудно гидролизуемые субстраты является скорость их роста на соответствующих средах. Анализ радиальных скоростей роста культур, приведенных на рис. 2, свидетельствует о различиях адаптационных потенциалов микромицетов. Можно видеть, что средние скорости роста культур существенно различаются. Так, минимальная средняя скорость роста, зафиксированная у *P. purpurescens* F18, в 2,6 раза мень-

ше, чем максимальная, отмеченная у *P. casei* F19. У подавляющего большинства штаммов средняя скорость роста была больше 2 мм/сутки. У трех вновь изученных штаммов *P. malinovobranova* F3, *P. casei* F19 и *P. brevicompactum* F49 указанный показатель превышал 4 мм/сутки и был сопоставим со средней скоростью роста *P. martensii* F63, полученного путем адаптации материнского штамма *P. martensii* F47 к росту на целлюлозных субстратах [10].

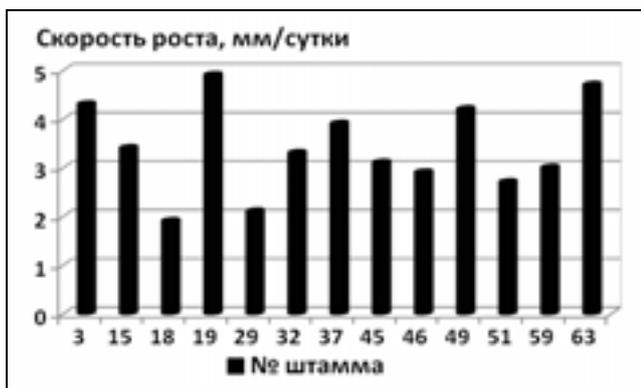


Рис. 2. Средние скорости радиального роста микромицетов при культивировании на среде со шротом марены красильной

Появление при культивировании на различных субстратах зон лизиса свидетельствует о сек-

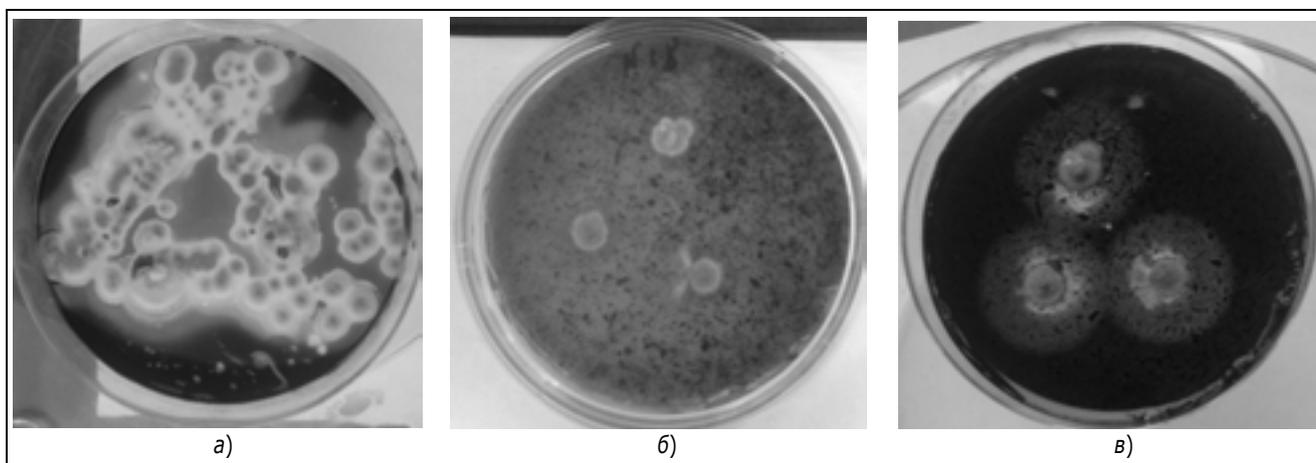


Рис. 3. Рост микромицетов на среде со шротом марены красильной: а – *P. crustosum* F46 (5-е сутки); б – *P. purpurescens* F18 без окраски (6-е сутки); в – та же культура с окраской (6-е сутки)



Рис. 4. Индексы лизиса микромицетов на среде со шротом марены красильной

реции микроорганизмами ферментов, гидролизующих соответствующие субстраты [14]. После окраски раствором Люголя на 5-е и 6-е сутки культивирования выявлялись заметные зоны лизиса (рис. 3), что позволяло рассчитать индексы лизиса для каждой культуры (рис. 4).

Индекс лизиса определяется соотношением площади колонии и площади зоны лизиса и характеризует удельную протеолитическую активность культуры, так как площадь колонии пропорциональна ее биомассе, а площадь зоны лизиса – активности секретируемых гидролаз.

На рис. 4 видно, что все исследованные культуры обладали индексами лизиса больше единицы, то есть секретируют ферменты, гидролизующие шрот марены красильной.

Максимальный индекс лизиса (больше 5) был отмечен у *P. purpurescens* F18, у трех штаммов указанный показатель был выше 3 и у шести – выше 2.

Следует отметить, что при культивировании на модифицированной среде всех исследованных микромицетов фиксировались индексы лизиса выше, чем у штамма сравнения *P. martensii* F63, для которого ранее был показан синтез целлюлолитических ферментов при глубинном культивировании в среде с заменой сахарозы на шрот цветков пижмы [15].

Основной целью при проведении скрининговых исследований является отбор перспективных штаммов-продуцентов для дальнейшего углубленного изучения гидролитического потенциала мик-

роорганизмов. При этом важными показателями для отбора являются скорость роста, которая определяет количество биомассы, и индекс лизиса – показатель гидролитической активности. Проведенный регрессионный и корреляционный анализ фиксирует значительную отрицательную корреляцию между скоростью роста и индексом лизиса при культивировании грибов на средах со шротом марены (рис. 5). Коэффициент корреляции  $r = -0,7968$ , значимость коэффициента корреляции  $tp = 4,1686 \geq t_{кр} = 3,0545$  при уровне значимости 0,01, то есть полученный коэффициент корреляции статистически значим. В связи с этим при выборе потенциальных продуцентов гидролаз целесообразно исключить штаммы с наименьшими и наибольшими индексами лизиса.

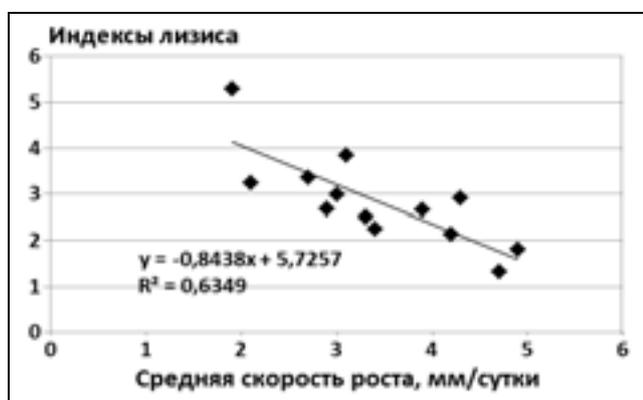


Рис. 5. Линия и уравнение линейной регрессии, показывающие соотношение между средней скоростью роста и индексом лизиса микромицетов ( $R^2$  – коэффициент детерминации)

В результате для дальнейших исследований выбраны пять штаммов с индексами лизиса от 2,5 до 3 и скоростью роста от 2,75 до 4,25: *A. terreus* F59, *P. brevicompactum* F37, *P. claviforme* F32, *P. crustosum* F46, *P. malinovobranova* F3.

## Выводы

1. Все изученные микроорганизмы обладали способностью к росту на средах с заменой сахарозы на шрот корней и корневищ марены красильной, образовавшийся при получении сухого экстракта.
2. Обнаружены существенные видовые и штаммовые различия скоростей роста и гидролитической активности микромицетов при культивировании на среде со шротом марены.
3. На основании проведенного регрессионного и корреляционного анализа отобраны пять пер-

спективных штаммов для вторичной переработки лекарственного растительного сырья.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Пирогова Е.Е. Правовые и организационные основы деятельности федеральных органов исполнительной власти в сфере природопользования и охраны окружающей среды: Автореф. дисс. ... канд. юр. наук. М. 2010. 29с.
2. Российская Федерация. Законы. Об отходах производства и потребления [Электронный ресурс]: Федеральный закон от 24.06.1998 N 89-ФЗ (ред. от 29.12.2015). СПС «КонсультантПлюс».
3. Onifade A.A., Al-Sane N.A., Al-Mussallam A.A. A review: potentials for biotechnological application of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources. *Bioresource Technol.* 1998; 66: 1–11.
4. Касаткина А.Н. Использование мультиэнзимных композиций для деструкции пивной дробины. *Биотехнология.* 2008; 2: 59–65.
5. Патент № 2393719 (РФ). Способ получения биомассы кормовых дрожжей. Башашкина Е.В., Панфилов В.И., Шакир И.В. 2010. 5 с.
6. Лесновская Е.Е., Пастушенков Л.В. Фармакотерапия с основами фитотерапии: Учеб. пособие. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. 592с.
7. Потупчик Т., Эверт Л., Иванов А. Возможности применения биологически активных добавок у спортсменов в условиях высоких спортивных нагрузок. *Врач.* 2019; 30(10): 24–31.
8. Медетханов Ф.А., Овсянников А.П., Хайруллин Д.Д., Муллакаева Л.А. Технология изготовления лекарственных форм: Учеб. пособие. Казань: ФГБОУ ВО Каз. ГАВМ им. Н.Э. Баумана, 2016. 123 с.
9. Гордонова И.К., Никитина З.К., Зон ХыЧол. Сравнительная оценка протеолитической активности бактерий и микромицетов. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2017; 20(9): 18–24.
10. Никитина З.К., Гордонова И.К. Разработка методических подходов для поиска продуцентов целлюлаз. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2018; 21(3): 27–31. DOI: 29296/25877313-2018-03-05.
11. Никитина З.К., Гордонова И.К. Оценка целлюлазной активности микромицетов. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2018; 21(6): 20–26. DOI: 10.29296/25877313-2018-06-04.
12. Рыбалко М.В., Куркин В.А., Шмыгарева А.А., Саньков А.Н. Сравнительное анатомо-гистологическое исследование корневищ и корней марены красильной и марены сердцелистной. *Медицинский альманах.* 2018; 6: 171–174. DOI:10.21145/2499-9954-2018-6-171-174.
13. Аляев Ю.Г., Руденко В.И., Филоsoфова Е.В. Современные аспекты медикаментозного лечения больных мочекаменной болезнью. *Урология.* 2004; 1: 41–46.
14. Яковлева М.Б., Никитина З.К. Скрининг-методы в биотехнологии (Обзор). Часть 1. Поиск микроорганизмов-продуцентов ферментов. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2016. 4: 23–32.
15. Никитина З.К., Гордонова И.К. Использование отходов лекарственного растительного сырья для биотехнологического получения гидролитических. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2019; 22(9): 37–42. DOI: 10.29296/25877313-2019-09-06.

Поступила 5 марта 2020 г.

# MYCELIAL FUNGI USING FOR SECONDARY PROCESSING OF MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS

© I.K. Gordonova, Z.K. Nikitina, 2020

## I.K. Gordonova

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

## Z.K. Nikitina

Dr.Sc. (Biol.), Professor,  
All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)

Currently, in the treatment of many chronic diseases, drugs based on medicinal plant raw materials are widely used. Modern herbal medicines, as a rule, combine high efficiency, relative safety and breadth of therapeutic action. In the production of many galenic and neogalenic preparations, in most cases, waste products of plant raw materials containing various biopolymers, including cellulose, the presence of which can, under certain conditions, induce the synthesis of the corresponding hydrolases – cellulases. The reviewed article is devoted to solving the actual problem of using mycelial fungi for secondary processing of medicinal plant raw materials. As an example of waste of plant raw materials, the authors used a schroth of roots and rhizomes of *Rubia tinctorum*, formed in the process of dry extract obtaining in the experimental production Department of All-Russian Scientific Institute of Medicinal and Aromatic Plants. A characteristic feature of various originschroth is a low fat content and a relatively high number of proteins and cellulose-containing substances. Previously, the authors showed that micromycetes from the VILAR collection have the ability to hydrolyze some insoluble proteins and various types of celluloses. In this regard, it is absolutely logical to try to use these biological objects for conversion of schroth.

The article shows that all the studied mycelial fungi grew well on media with the replacement of easily metabolized carbohydrate with the schroth of the roots and rhizomes of *Rubia tinctorum*. Micromycetes formed lysis zones during surface cultivation, which indicates the synthesis and secretion of hydrolases into environment. In the result of a detailed study of 13 fungal strains, as well as regression and correlation analysis, were selected 5 micromycetes that are promising for secondary processing of medical plant raw materials.

**Key words:** micromycetes, hydrolases, plant raw material, *Rubia tinctorum*.

**For citation:** Gordonova I.K., Nikitina Z.K. Mycelial fungi using for secondary processing of medicinal plant raw materials. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2020;23(6):28–33. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-06-05>

## REFERENCES

1. Pirogov E.E. Pravovye i organizatsionnye osnovy deyatel'nosti federal'nykh organov vlasti v sfere prirodoispol'zovaniya i okhrany okruzhayushchei sredy: Avtoref. diss. ... kand. yur. nauk. M. 2010. 29 s.
2. Rossiiskaya Federatsiya. Zakony. Ob otkhodakh proizvodstva i potrebleniya [Elektronnyi resurs]: Federal'nyi zakon ot 24.06.1998 N 89-ФЗ (red. ot 29.12.2015). SPS «Konsultantplus».
3. Onifade A.A., Al-Sane N.A., Al-Mussallam A.A. A review: potentials for biotechnological application of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources. *Bioresource Technol.* 1998; 66: 1–11.
4. Kasatkina A.N. Ispol'zovanie mult'tienzimnykh kompozitsii dlya destruktivnoy pivnoi drozbiny. *Biotekhnologiya.* 2008; 2: 59–65.
5. Patent № 2393719 (RF). Sposob polucheniya biomassykormovykh drozhei. Bashashkina E.V., Panfilov V.I., Shakir I.V. 2010. 5 s.
6. Lesnovskaya E.E., Pastushenkov L.V. Farmakoterapiya s osnovami fitoterapii: Ucheb. posobie. M.: GOETAR-MED, 2003. 592 s.
7. Poyupchik T., Evert L., Ivanov A. Vozmozhnosti primeneniya biologicheskii aktivnykh dobavok u sportsmenov v usloviyakh vysokikh sportivnykh nagruzok. *Vrach.* 2019; 30(10): 24–31.
8. Medetchanov F.A., Ovsyannikov A.P., Khairyllin D.D., Mullakaev L.A. Tekhnologiya izgotovleniya lekarstvennykh form: Ucheb. posobie. Kazan': FGBOU VO Kaz. GAVM im. N.E. Bauman, 2016. 123 s.
9. Gordonova I.K., Nikitina Z.K., Zon KhuChol. Sravnitel'naya otsenka proteoliticheskoi aktivnosti bakterii i mikromitsetov. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii.* 2017; 20(9): 18–24.
10. Nikitina Z.K., Gordonova I.K. Razrabotka metodicheskikh podkhodov dlya poiska produktentov tsellyulaz. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii.* 2018; 21(3): 27–31. DOI: 29296/25877313-2018-03-05.
11. Nikitina Z.K., Gordonova I.K. Otsenka tsellyulaznoi aktivnosti mikromitsetov. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii.* 2018; 21(6): 20–26. DOI: 10.29296/25877313-2018-06-04.
12. Rubalko M.V., Kurkin V.A., Shmugareva A.A., San'kov A.N. Sravnitel'noe anatomo-gistologicheskoe issledovanie kornevishch i kornei mareny krasnoi i mareny serdtselstnoi. *Meditsinskii al'manakh.* 2018; 6: 171–174. DOI:10.21145/2499-9954-2018-6-171-174.
13. Alyaev Yu.G., Rudenko V.I., Filosofova E.V. Sovremennye aspekty medikamentoznogo lecheniya bol'nykh mochekamennoi bolezn'yu. *Urologiya.* 2004; 1: 41–46.
14. Yakovleva M.B., Nikitina Z.K. Skринing-metody v biotekhnologii (Obzor). Ch. 1. Poisk mikroorganizmov-produktentov fermentov. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii.* 2016. 4: 23–32.
15. Nikitina Z.K., Gordonova I.K. Ispol'zovanie otkhodov lekarstvennogo rastitel'nogo sur'ya dlya biotekhnologicheskogo polucheniya gidroliticheskikh. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoi i farmatsevticheskoi khimii.* 2019; 22(9): 37–42. DOI: 10.29296/25877313-2019-09-06.

## ОБЛАДАЕТ ЛИ ТРЕОНИН КЕТОГЕННЫМ ДЕЙСТВИЕМ ?

**А.В. Малиновский**

инженер-технолог,  
Специальное конструкторское технологическое бюро «Биофизприбор»,  
филиал СПб ФГУП «ЭПМ» ФМБА России (Санкт-Петербург)  
E-mail: info@biofizpribor.ru

При сахарном диабете особенно ярко проявляется глюкогенный или кетогенный характер той или иной аминокислоты. Если введение в организм глюкогенных аминокислот снижает тяжесть кетоза, то введение кетогенных – увеличивает. Треонин традиционно считается глюкогенной аминокислотой, но появились публикации, где он назван одновременно глюкогенной и кетогенной аминокислотой, подобно фенилаланину, тирозину и изолейцину. В данной работе отмечено, что в процессе эволюции человек на генетическом уровне утратил способность к синтезу треониндегидрогеназы – фермента, присутствующего у многих животных, который мог бы участвовать в превращении треонина в ацетил-КоА, а следовательно, в кетонные тела. Сделан вывод о полном отсутствии у треонина кетогенного действия у человека.

**Ключевые слова:** диабет, треонин, глюкогенное действие, кетогенное действие.

**Для цитирования:** Малиновский А.В. Обладает ли треонин кетогенным действием? Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020;23(6):34–38. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-06-06>

После отщепления азота углеродные скелеты аминокислот могут превращаться в глюкозу или кетонные тела и в зависимости от этого обладать глюкогенным либо кетогенным действием. При сахарном диабете особенно ярко проявляется глюкогенный или кетогенный характер той или иной аминокислоты. Введение в организм кетогенных аминокислот отягчает проявление имеющегося при сахарном диабете кетоза, в то время как введение глюкогенных аминокислот снижает тяжесть последнего в силу их антикетогенного действия. К сугубо кетогенным аминокислотам относятся только лейцин и лизин, так как в процессе распада они превращаются в ацетоуксусную кислоту. Изолейцин, фенилаланин и тирозин являются одновременно глюкогенными и кетогенными аминокислотами, поскольку в процессе распада дают как глюкогенные, так и кетогенные продукты. В частности, изолейцин образует пропионил-КоА, явля-

ющийся предшественником глюкозы, и ацетил-КоА, являющийся предшественником кетонных тел. По некоторым данным треонин, наряду с глюкогенными продуктами, образует также ацетил-КоА. Несмотря на то, что в [1] отмечается, что у млекопитающих *in vivo* не наблюдается образования кетонных тел из треонина, некоторые авторы считают треонин одновременно глюкогенной и кетогенной аминокислотой [2, 3].

Ц е л ь р а б о т ы – показать на биохимическом уровне полное отсутствие кетогенного действия треонина у человека в сочетании с выраженным глюкогенным действием.

### ПРЕВРАЩЕНИЕ ТРЕОНИНА У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Исследователи С. Дэггли и Д. Никольсон приводят схему превращения треонина в печени [4] (рис. 1).

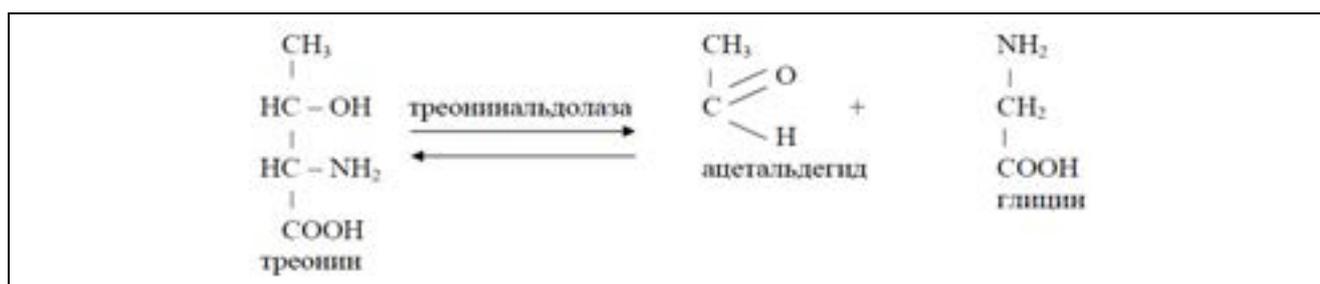


Рис. 1. Схема взаимопревращения треонина и глицина

Глицин, превращаясь в серин, обладает глюкострогенным действием, а ацетальдегид, окисляясь в ацетил-КоА, – кетогенным.

Однако эта схема противоречит давно установленной незаменимости треонина. Но если раньше многие исследователи придавали большое значение как треонинальдолазе (КФ 4.2.1.16), так и альдольному расщеплению [5] в катаболизме этой аминокислоты, то М. Bird и Р. Nunn [6] были первыми, кто усомнился в этом. Они показали, что

активность треонинальдолазы в печени крысы низка, и заключили, что альдолаза, хотя и присутствует в печени, не может быть главным ферментом распада треонина.

М. Bird и Р. Nunn [6] пришли к выводу, что предполагаемая активность треонинальдолазы на самом деле – результат действия треониндегидратазы (КФ 4.2.1.16) и лактатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.27), причем первая расщепляет треонин необратимо (рис. 2).

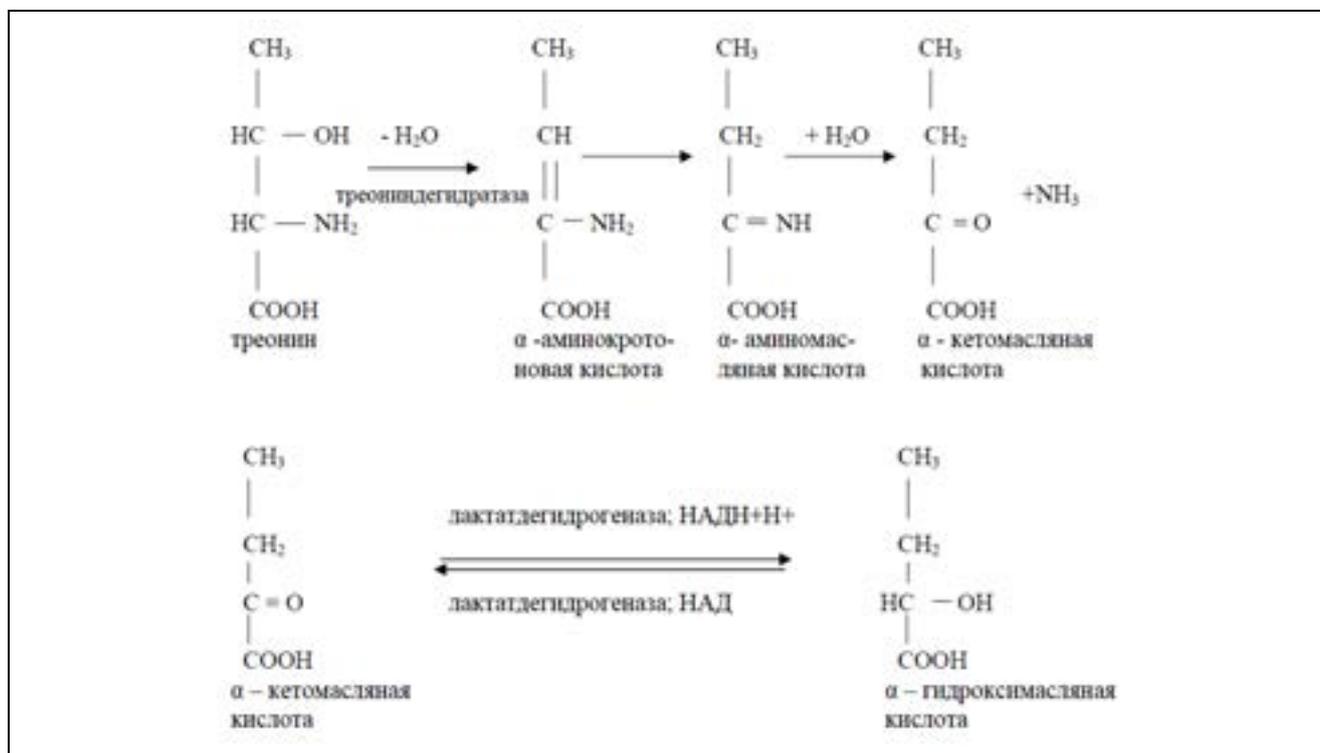


Рис. 2. Схема необратимого распада треонина с последующим восстановлением α-кетомасляной кислоты

Наиболее убедительное доказательство, свидетельствующее против присутствия реальной треонинальдолазы в печени крысы, – исчезновение активности треонинальдолазы в цитозольных экстрактах печени нормальных и голодающих крыс, когда треониндегидратаза была устранена иммуноосаждением при помощи специфического антитела. Устранение дегидратазы не воздействует на активность треонинальдолазы (см. далее).

Результаты этого исследования ясно показывают, что треониндегидратаза и лактатдегидрогеназа ответственны за кажущуюся ферментную активность треонинальдолазы. Таким образом, треонинальдолаза – не подлинный фермент печени млекопитающих. Дальнейшие исследования подтвердили существование фермента, метаболизирующе-

го аллотреонин (изомер треонина, не входящий в состав белков), возможно, его альдолазы или серингидрокси-метилтрансферазы, которые не действуют на треонин [7]. R. Pagani [8] также подтверждает действие альдолазы именно на аллотреонин, а не на треонин. А в работе Р. Darling и соавт. [9] среди путей катаболизма треонина у взрослых людей треонинальдолаза и вовсе не упоминается. В то же время нет никаких доказательств, что аллотреонин поддерживает рост млекопитающих или встречается как природное вещество, и что в печени млекопитающих имеется треонинэпимераза.

Следует также упомянуть серингидрокси-метилтрансферазу (КФ 2.1.2.1) – фермент, катализирующий взаимопревращение серина и глицина, широко распространенный в организме млекопи-

тающих. I. Schrichen и T. Gross [10] сообщили, что в печени крыс этот фермент идентичен треониальдолазе. Это послужило установившемуся мнению, что треонин распадается под действием серингидроксиметилтрансферазы. Однако препараты этого фермента, полученные в лабораториях из печени крыс, не проявляли активности треониальдолазы. Поэтому в [11] сделан вывод, что млекопитающие испытывают отсутствие треониальдолазы.

Еще в 1974 г. академик А.А. Покровский, подчеркивая особую важность для глюконеогенеза у млекопитающих, на фоне безуглеводных, богатых белком диет, аминокислот серина и треонина (наряду с аланином, аспарагиновой кислотой и орнитинном), заявил, что за первую стадию их включения в глюконеогенез ответственен фермент сериндегидратаза, который катализирует и реакцию дегидратации треонина, а потому данный фермент

может с полным правом быть назван серинтреонин-дегидратазой [12]. Значительно позже была установлена идентичность апоферментов (белков) треониндегидратазы и сериндегидратазы [13], а следовательно, тождественность этих двух ферментов [14, 15].

Если главными ферментами распада треонина в печени млекопитающих, содержащихся в цитозоле, до недавнего времени признавались треониндегидратаза и треониальдолаза, то в митохондриях таковой признавалась треониндегидрогеназа [7]. Последняя катализирует НАД-зависимое окисление треонина до α-аминоацетоуксусной кислоты, которая самопроизвольно декарбоксируется, превращаясь в аминокетон [5], или расщепляется в реакции, катализируемой аминокетонсинтетазой до глицина и ацетил-КоА [6]. Схема представлена на рис. 3.

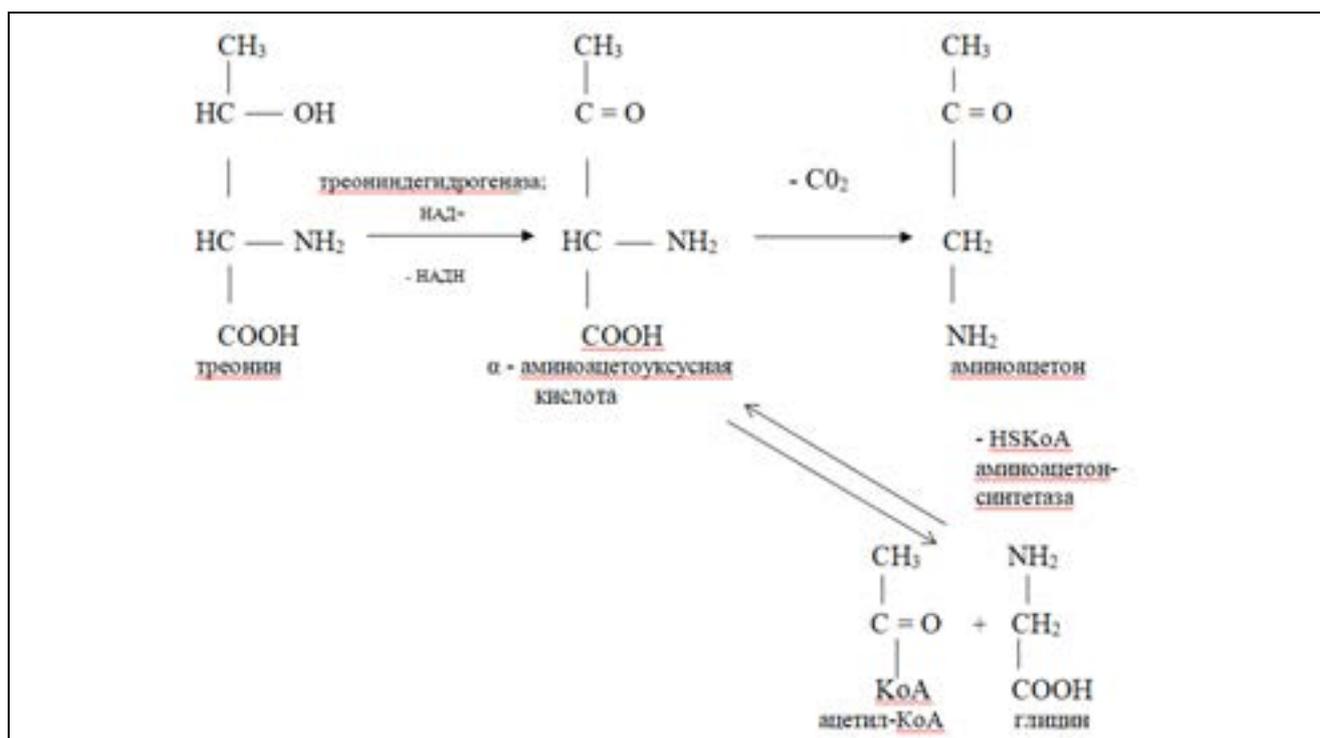


Рис. 3. Схема распада треонина в митохондриях

### ОСОБЕННОСТИ ПРЕВРАЩЕНИЯ ТРЕОНИНА У ЧЕЛОВЕКА

В [16] указывается, что не удалось обнаружить у человека сколько-нибудь заметного превращения треонина плазмы крови в глицин. Тогда считалось, что у животных ферменты треониальдолаза и треонингидрогеназа катализируют распад

треонина до глицина, поэтому впервые стали предполагать отсутствие этих ферментов у человека. Вскоре было установлено, что треониальдолаза в отличие от треониндегидрогеназы отсутствует и у животных (см. выше).

В [17] приводится сравнение генов треониндегидрогеназы человека и животных и делается

вывод, что человек в процессе эволюции утратил способность к синтезу треониндегидрогеназы. В [18, 19] также подтверждается, что у человека из-за генной мутации отсутствует функциональная треониндегидрогеназа. Это позволяет бороться с такими паразитами человека, как трипаносома, вызывающая сонную болезнь, используя треониндегидрогеназу последних как мишень терапевтического вмешательства. Иными словами, в трипаносомах треониндегидрогеназа является важным для метаболизма ферментом, его ингибирование широким рядом сульфгидрольных реагентов приводит к потере жизнеспособности трипаносом без ущерба для человека.

Все это говорит о том, что единственный путь катаболизма треонина у человека – необратимый распад треонина под действием треониндегидратазы, и это согласуется с известным фактом, что треонин для человека – незаменимая глюкогенная аминокислота. Превращаться в глицин и ацетил-КоА, а следовательно, в кетоновые тела, треонин у человека в организме не может.

Поскольку, согласно R. Wurtman [20], уровень глицина в плазме крови после нагрузки L-треонином не менялся как у крыс и цыплят [21], так и у человека, можно сделать вывод о невозможности превращения треонина у млекопитающих и птиц под действием треониндегидрогеназы в глицин и ацетил-КоА, что согласуется с замеченным в [1] отсутствием кетогенного действия треонина у млекопитающих. В данной работе этот вопрос не рассматривается, так как он выходит за рамки статьи.

Поскольку у человека треониндегидрогеназа отсутствует, вопрос о возможности превращения треонина в глицин и ацетил-КоА с дальнейшим превращением последнего в кетоновые тела отпадает сам собой. В то же время налицо сильное глюкогенное действие треонина у человека. А потому введение треонина в организм при сахарном диабете не только не опасно, но и полезно, равно как и любой другой глюкогенной аминокислоты, так как глюкогенные аминокислоты обладают антикетогенным действием и тем самым снижают тяжесть кетоза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе эволюции человек на генетическом уровне утратил способность к синтезу треониндегидрогеназы – фермента, присутствующего у многих животных, который мог бы участвовать в

превращении треонина в ацетил-КоА, а следовательно, в кетоновые тела.

На биохимическом уровне показано полное отсутствие кетогенного действия треонина у человека в сочетании с выраженным глюкогенным, а следовательно, антикетогенным действием, что особенно важно при сахарном диабете и других кетозах различной этиологии.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Леман И. Основы биохимии. М.: Мир. 1981 (Uajt A., Hendler F., Smit Je., Hill R., Leman I. Osnovy biohimii. M.: Mir. 1981).
2. Voet D., Voet J.G. Biochemistry. 2<sup>nd</sup> ed. New York. Wiley. 1995.
3. Garret R.H., Grisham C.M. Biochemistry. Orlando. Saunders College Publishing. 1995.
4. Дэгли С., Никольсон Д. Метаболические пути. М.: Мир. 1973 [Djegli S., Nikol'son D. Metabolicheskie puti. M.: Mir. 1973 (in Russ.)].
5. Neuberger A. Glycine formation from L-threonine. Comp. Biochem. 1981; 19A: 257–303.
6. Bird M.I., Nunn P.B. Measurement of L-threonine aldolase activity in rat liver. Biochem. Soc. Trans. 1979; 7: 1274–1276.
7. Yeung, Y.G. Threonine aldolase is not a genuine enzyme in rat liver. Biochem. J. 1986; 237: 187–190.
8. Pagani R. L-allothreonine and L-threonine aldolase in rat liver. Biochem. Soc. Trans. 1991; 19(3): 3465.
9. Darling P. B., Grunov J., Rafii M., Brookes S., Ball R.O., Pencharz P.B. Threonine dehydrogenase is a minor degradative pathway of threonine catabolism in adult humans. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2000; 278: 877–884.
10. Schirch I., Gross T. Serine transhydroxymethylase Identification as the threonine and allothreonine aldolases. J. Biol. Chem. 1968; 243: 5651–5655.
11. Ogawa H., Gomi T., Fujioka. M. Serine hydroxymethyltransferase and threonine aldolase are they identical? The International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 2000; 32: 289–301.
12. Покровский А.А. Роль биохимии в развитии науки о питании. М.: Наука. 1974. [Pokrovskij A.A. Rol biohimii v razvitii nauki o pitanii. M. Nauka. 1974 (in Russ.)]
13. Watanabe R., Fujimura S., Kadowaki M., Ishibashi T. Effects of dietary threonine levels on the threonine-degrading enzyme activities and tissue threonine related amino acid concentration in rats. Anim. Sci. Technol. (Jpn.). 1998; 69: 108–116.
14. House J.D., Hall B.N., Brosnan J.T. Threonine metabolism in isolated rat hepatocytes. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2002; 281: E1300–E1307.
15. Nagao K., Bannai M., Seki S., Mori M., Takahashi M. Adaptational modification of serine and threonine metabolism in the liver to essential amino acid deficiency in rats. Amino Acids. 2009. March.
16. Zhao X.H., Wen Z.M., Meredith C.N., Matthews D.E., Bier D.M., Young V.R. Threonine kinetics at graded threonine intakes in young men. Am. J. Clin. Nutr. 1986; 43: 795–798.
17. Edgar A.J. The human L-threonine-3-dehydrogenase gene is an expressed pseudogene. BMC Biochem. 2002; 18(3).

18. *Chuanchin H., Hao G., Jiayu W., Weiguang L., Yide M., Min W.* Regulation of L-threonine dehydrogenase in somatic cell reprogramming. *Stem. Cells.* 2013; 31: 953–965.
19. *Winkle L.J.V., Gallet V., Iannaccone P.M.* Threonine appears to be essential for proliferation of human as well as mouse embryonic stem cells. *Cells and developmental biology.* 2014. May 2. Article 18/1.
20. *Wurtman R.J.* L-threonine for regulating glycine levels in the brain and spinal cord. European patent specification. 1986. Publication Number: 0 028 257 B1.
21. *D'Mello J.P.F.* Aspects of threonine and glycine metabolism in the chick (*Gallus domesticus*). *J. Nutr.* 1973; 15(6): 357–363.57 B1.

Поступила 11 апреля 2020 г.

## DOES THREONINE POSSESS ANY KETOGENIC ACTION?

© Authors, 2020

**A.V. Malinovsky**

Engineer-technologist

Biofizpribor, Branch of Federal Medical-Biological Agency (St. Petersburg, Russia)

E-mail: info@biofizpribor.ru

With diabetes the glucogenic or ketogenic character of one or another amino acid reveals itself more distinctly. The introduction of the former into the organism decreases the ketosis indication, whereas that of the latter increases this meaning. Threonine is conventionally considered to be the glucogenic amino acid like phenylalanine, tyrosine and isoleucine. As it is stated in the present paper, in the process of evolution a man on the genetic level lost the ability to the synthesis of threonine dehydrogenase — a ferment which can be found with many animals and which could participate in transformation of threonine to acetyl — koa, and therefore to ketone bodies. Thus, conclusion about the full absence of ketogenic action with man can be made.

**Key words:** *diabetes, threonine, the glucogenic action, the ketogenic action.*

**For citation:** Malinovsky A.V. Does threonine possess any ketogenic action? *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry.* 2020;23(6):34–38. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-06-06>

---

## Читайте в следующих номерах

*Бойко О.В., Козак Д.М.*

### КОНЦЕНТРАЦИЯ НЕОПТЕРИНА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭТИОЛОГИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

*Ваганова А.Н., Михеева М.В., Нестерова Е.В., Трофимова Н.Н.,  
Литвиненко И.В., Петунова Я.Г., Вербов В.Н.*

### ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЙОДНОГО МЕТОДА ПРИ ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИИ БЕТА-ЛАКТАМАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗОЛЯТОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*