

SEKONDER METABOLİT ÜRETİMİ VE BİYOTEKNOLOJİ

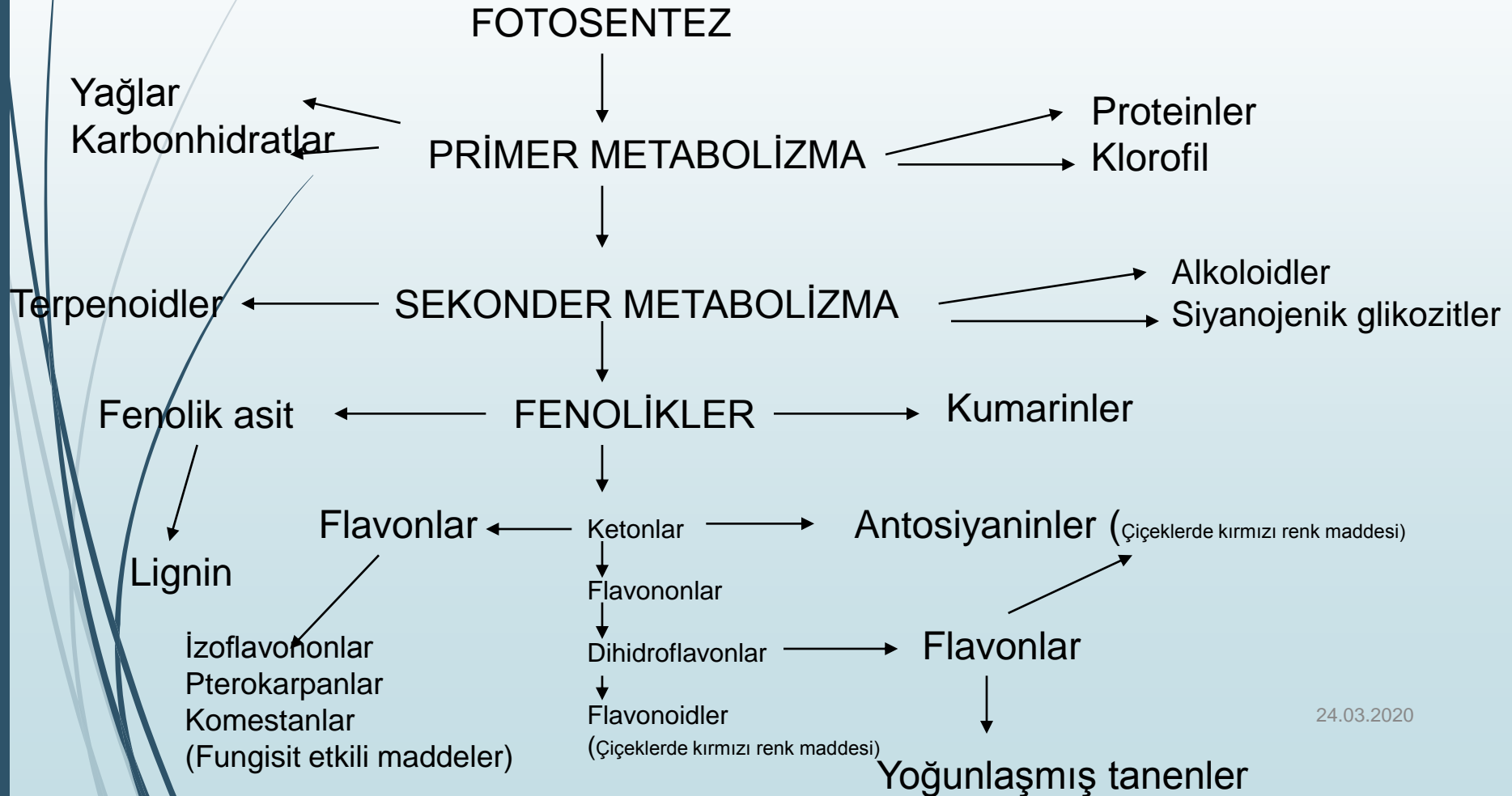
İÇERİK

- Sekonder Metabolitlerin genel özellikleri
- Sekonder Metabolitlerin Ana sınıfları
 - Terpenler terpenoidler
 - Fenolik bileşikler
 - Alkolodiler ve Azot içeren sekonder metabolitler
 - Glikozitler
 - Saponinler
 - Minör sekonder metabolitler
- Mikrobiyal Sekonder metabolitler
- Bitki doku kültürü ile sekonder metabolit üretimi
- Sekonder Metabolitlerin biyoteknolojik önemi
- Sekonder Metabolitlerin bitkilerden ekstraksiyonu
- Analitik yöntemler

Bitki Sekonder metabolitleri

3

Genel Sentez Yolları



Alkaloidler

- Alkaloidler kompleks yapılı çoğunluğu bitki kökenli (bazen de hayvan kökenli) ve güçlü farmakolojik özellikler gösteren maddelerdir.
- Alkaloidler şu temel özelliklere sahiptirler:
 - Azot atomu heterosiklik sistemde yerleşmiş olmalı
 - Bileşen kompleks moleküler yapıda olmalı
 - Önemli farmakolojik aktiviteye sahip olmalı
 - Bitkisel kökenli olmalı

Alkaloidler

- Alkaloidlerin temel yapı taşı amino asitlerdir.
- Günümüzde 12000 kadar alkaloid bilinmektedir.
- Genellikle, kelimenin sonuna «in» eki koyularak isimlendirilirler
- Oksijen içeren alkaloidler sert kristalik yapıda, asitle reaksiyona girenler tuz formundadırlar.
- Tuz oluşturma yetenekleri ve metal iyonlarıyla kompleks oluşturabilmeleri kromatografi öncesinde ayrılmalarını ve belirlenmelerini kolaylaştırır

Alkaloidler

- Etki mekanizmaları çok farklıdır.
- Çoğu merkezi sinir sistemi (opium alkaloidleri) ve otonom sinir sistemi (antikolinergik solanase alkaloid ve alfa adrenolitik ergot alkaloidleri) aracılığıyla etki gösterir.

Alkaloidler: Bitkilerdeki dağılımı

- Bitkiler aleminin hemen bütün bölümlerinde rastlanılır. Bazı mantarlarda ve en çok dikotiledonlarda görülür.
- Gelincikgiller, Sedefotugiller, Baklagiller, Zakkumgiller, Patlıcangiller ve Kökboyasıgiller familyaları oldukça zengin alkaloidli bitkilerdir.
- Özellikle, sıcak bölgelerde alkaloid içeren bitkiler daha çoktur.
- Alkaloidler bitkilerin belirli organlarında toplanmaktadır.
- Bazı türlerde yapraklarda, örnek *Nicotiana tabacum*,
- Bazılarında meyve ve tohumlarda, örnek *Papaver somniferum*
- Bazılarında rizom ve köklerde, örnek *Atropa belladonna*, *Rauwolfia serpentina*
- Alkaloidler bitkinin bir dokusunda sentezlenirken diğer dokusunda birikirler (Ör, nikotin tütün bitkisinin köklerinde sentezlenirken yapraklarında birikir)

Alkaloidler: Bitkilerdeki dağılımı

- ▶ Alkaloidler üretici bitkilerde bir veya birkaç adet ana grup olarak bulunurken bazı bitkilerde bunların modifikasyona uğramış şekilleri yer alır.
- ▶ Sözelimi Koka ağacında 10, pervane çiçeğinde 60 tan fazla alkaloid bulunmaktadır.
- ▶ Haşhaşın kapsüllerinde değişik grup alkaloidler (morfin, tebain, kodein, papaverin vb.) bulunmaktadır, ontogenezin değişik safhalarında üretilirler, haşhaşın fidan evresinde tohum evresine kadar farklı süreçlerde üretilirler.
- ▶ Haşhaş bitkisinin 2 haftalık fidanlarında narkotin, 5-7 cm büyüklüğünde kodein, morfin, papaverin ve sanguarin, çiçeklenme zamanında ise tebain ve narsein alkaloidleri oluşur.

Alkaloidler: Bitkilerdeki dağılımı



- Haşhaş kapsüllerinin salgıladıkları sütün yapısında yaklaşık 25 farklı alkaloid tespit edilmiştir. Diğer alkaloid grupları ise bitkinin özellikle yapraklarında bulunmakta, zamanla azalarak bitkinin ömrü sona yaklaştıkça kaybolmaktadır.
- Bitkinin %1-3 oranında alkaloid içermesi yüksek alkaloid içeren bitki kategorisine girmesini sağlar.
- Çok nadiren alkaloid miktarı kınakına ağacının ve karamuk çalılarının gövde kısımlarında olduğu gibi, %10-15 oranında olabilir.
- İlaç ham maddeleri olarak alkaloid tipi narkotik maddeler çok önemlidir ve kültürü yapılarak alkaloid miktarının artırılması için çalışmalar yapılmaktadır.



Bitkilerin hayatında alkaloidlerin rolü

- Alkaloidlerin biyolojik fonksiyonları henüz aydınlatılamamış olsa da azot kaynağı olarak azot metabolizmasına katıldığı ve bitkilerin azotla beslenmesinden sonra salgılandıkları bilinmektedir. Azot taşıyıcısı olarak amino asit rezervi olarak da işlev görmektedirler.
- Alkaloidlerin köklerde sentezi amonyak nötralizasyonu olayına dayanmaktadır.
- Önemli bir fonksiyonu bitkinin toksik koruma sistemini oluşturmalarıdır.
- Söz gelimi, acı bakla türleri alkaloid miktarı yüksek olduğundan fusarium ve külleme hastalıklarına karşı çok dirençli oldukları halde alkaloid içermeyen türleri zayıf direnç gösterirler.

Bitkilerin hayatında alkaloidlerin rolü

- Alkaloidler ot yiyen hayvanlara karşı bitkiyi korurlar.
- Son zamanlarda ise alkaloidler bitki hücrelerinde biyokimyasal olayları uyaran ve düzenleyen maddeler olarak da kabul edilmektedirler.
- Bitkinin farklı vejetasyon dönemlerinde değişik fonksiyonları yerine getirirler. Bu nedenle üretilen alkaloidin molekül yapısı ve miktarı oldukça önemlidir.

Alkaloidlerin kullanımı

- Atropin, kodein, kafein, kinin, papaverin, rezerpin, efedrin, platifillin, raumatin vb. alkaloid içeren bitkisel ilaçlardır.
- Dibazol, naşpa, novokain, lidokain, promedol vd. bunların sentetik analogudur.
- Ağrı kesiciler: morfin, kodein
- Antitümör özelliği taşıyanlar: vinblastin, vinkristin
- Damar genişleticiler: atropin
- Damar daraltıcılar: fizostigmin, pilokarpin

Alkaloidlerin kullanımı

- Merkezi sinir sistemini normal hale getirenler (strikinin, brutsin)
- Sedatif preparatlar (skopolamin)
- Kalp-damar çalışmasını stimüle etme ve kan basıncını yükseltme: efedrin, epinefrin
- Kan basıncını düşürme: rezerpin, protoveratrin A
- Morfin ve fosfoorganik insektisitlere karşı; atropin
- Malarya parazitine karşı; kinin
- Kültür bitkilerine zarar vericilere karşı; nikotin

Alkaloidlerin kullanımı

- Bazı alkaloidler güçlü zehir etkili ve öldürücüdür.
- Alkaloidlerin yapısındaki küçük bir değişiklik özelliklerinde büyük değişimlere yol açmaktadır:
- Nikotin; zehirli türevlere sahiptir
- Nikotin sülfat tarımda insektisit olarak
- Nikotinic asit bitkilerin boy gelişimini hızlandıran bir madde olarak
- Nikotinic asidin amid bileşimi ise vitamin B3 olarak kullanılmaktadır. Bu maddenin eksikliğinde «pelegra» hastalığı ortaya çıkar.

Alkaloidlerin salgılanmasına etki eden koşullar



- Yağmurlu tropikal iklim koşullarında yetişen bitkilerin alkaloid içerikleri daha fazla olabilmektedir.
- Sıcak hava bitkilerde daha çok alkaloid toplanmasına neden olurken dondurucu soğuklarda alkaloidler artış göstermemektedir.
- Alkaloidlerin miktarı günlük olarak değişmektedir. *Lobelia cardinalis* bitkisinde geceleri gündüze nazaran lobelin alkaloid miktarı %40 yükselir.
- Yükseklik bir diğer faktördür. Söz gelimi, Kanarya otu bitkisinde 1200-1800 m yükseklikte daha fazla alkaloid salgılanır.
- Toprak yapısı da bir diğer etkindir. Kumlu topraklarda yetişen *Salsola richteri* türünde, killi topraklara nazaran daha yüksek (%1) alkaloid salgılanır.
- Kültür bitkilerinde ise toprağa azot gübresi verilmesinden sonra alkaloid miktarı yükselmektedir.



Alkaloidlerin sınıflandırılmaları

- Alkaloidlerin isimleri:
- Elde edildiği bitkinin cins adına; lobelin-*Lobelia inflata*, atropin-*Atropa belladonna*
- Türün adına; kokain-*Erythroxylon coca*
- Sahip olduğu fizyolojik etkiye; morfin
- Özel isimlere izafeten verilebilir.
- Sınıflandırılmaları zor olmakla birlikte üç grupta toplanabilirler
 - Non-heterosiklik alkaloidler
 - Heterosiklik alkaloidler
 - Psödo-alkaloidler olarak

Alkaloidleri biyosentezleri

- Hücrelerin azot metabolizması ile sıkı ilişkilidir.
- Temel bileşikler olan amino asitler biyosentez olayında alkaloid yapısına katılır
- Biyosentezin ilk aşaması dekarboksilaz enziminin katılımıyla (dekarboksilasyon olaylarıyla) ara ürün olarak aminler oluşur.
- İndirgenme reaksiyonları ile aminler amino aldehit veya amino ketonları oluşturur.
- Amino aldehit ve amino ketonların kondenzasyonu ile heterosiklik bileşenler ortaya çıkar.
- Daha sonra bu bileşikler, enzimlerin katkısıyla metilasyon, hidroksilasyon, asilasyon, glikozilasyon gibi reaksiyonlara katılırlar.
- Alkoloidlerin sentezi plastitler ve sitozolde gerçekleşmektedir.

Bitkilerde alkaloidlerin sentezlendiği temel bileşiklere göre sınıflandırılması

- Ornitin türevi alkaloidler
- Triptofan türevi alkaloidler
- Lizin türevi alkaloidler
- Fenilalanin türevi alkaloidler
- Antranilik asit türevi alkaloidler
- Tirozin türevi alkaloidler
- Histidin türevi alkaloidler
- İzoprenoid yol ile sentezlenen alkaloidler

Ornitin türevi alkaloidler



- Basit pirolidin alkaloidleri, tropan ve pirolizidin alkaloidleri bu grup içerisinde yer alırlar.
- Solanaceae familyasından bazı zehirli bitkilerin kökleri, yaprakları, yumuşak meyveleri (güzelavratotu, *Atropa belladonna*; banotu, *Hyoscyamus niger*; ve tatula, şeytanelması, *Datura stramonium*), terapötik açıdan önemli tropan alkaloidlerince zengin bir kaynaktır. Bu bitkiler halüsinasyona sebep olurlar.
- Tropan alkaloidlerinden olan **Atropin** ve onunla ilişkili epoksid, skoplamin, güçlü biyolojik aktiviteye sahip iki örnektir. Atropin gözbebeğini büyütür ve türevleri oftalmolojide kullanılır.
- **Kokain** de bir tropan alkaloiddir. Koka bitkisi, *Erythroxylon coca*, kokain üretimi ile tanınır, kokain duyuşal sinir uçlarını üzerine paralyze etkiye sahiptir, VE kendini aşırı derecede iyi ve mutlu hissetme haline neden olur. Tıbbi açıdan önemlidir.



Ornitin türevi alkaloidler

- **Nikotin** ise tütün yapraklarında nikotinik asit ve ornitinden sentezlenmektedir.
- Nikotin zehirli bir madde olup sinir sistemi ve beyni paralyze etmektedir. Kan-damar sistemini etkiler, kan basıncını artırır.
- Düşük dozlarda solunumu uyarır, yüksek dozlarda kalp atışını hızlandırır.
- 0.05-0.06 g nikotin köpeklerde ağır zehirlenmelere yol açar

Triptofan türevi alkaloidler

- İndol ve beta-karbolin alkaloidleri.
- Triptofan amino asidi indol grubu alkaloidlerin temel maddesidir.
- İndol grubuna 900 ün üzerinde alkaloid dahildir.
- Zakkumgiller familyasında 73, Kökboyasıgiller familyasında 72, Baklagiller familyasında 60 ın üzerinde bu tip alkaloid mevcuttur.
- Ayrıca, mantar ve hayvanlarda da bulunabilirler. Söz gelimi, tropikal kurbağaların kendini koruma amaçlı ürettiği mukus yapısında indol grubu alkaloidler vardır.
- Tiptofan türevi alkaloid üreten bitkilerin büyük çoğunluğu tropikal iklimde yetişmekte olan ağaç ve çalılardır.

Triptofan türevi alkaloidler

- Zakkumgiller familyasından pervane çiçeğinde 60 in üzerinde alkaloid elde edilmiştir. Bunların içerisinde en çok bilineni vinblastin ve vinkristin alkaloidleridir.
- **Vinblastin** indol yapıda olup ilaç yapımında yaygın kullanılır.
- Vinblastin; mikrotübül oluşumunu engelleyerek hücrelerin mitoz bölünmesini önleyen ve bu nedenle kanser hücrelerine karşı kullanılan güçlü bir ilaçtır.
- Ergo alkaloidleri de bu grupta yer alırlar. Oksitosik özellikte olup doğum sonrası kanamaların kontrolünde kullanılırlar.
- Temel yapısında triptofan bulunan **oksin** hormonu yüksek yapılı bitkilerde hücre uzaması, doku gelişimi ve kök oluşumunda rol oynarlar.

Lizin tipli alkaloidler

- Lizin türevi alkaloidlerin yapısını piperidin halkası oluşturmaktadır. Ayrıca kinolizidin alkaloidleri de bu grupta yer alır.
- Sitizin ve paksiparin solunum sisteminin normal çalışmasını sağlar ve Tabeks adlı alkaloid sigarayı bırakma ilacının yapısında bulunur.
- **Lobelin** alkaloidi Çançıçeğigiller familyasında yer alan Hint tütünü (*Lobelia inflata*) adıyla bilinen bitkide fazla miktarda bulunur. Lobalin, Prematüre bebeklerde solunumu rahatlatmada kullanılır.
- Baldıran otu bitkisi, *Conium maculatum* alkaloid **konişini** üretir ve bu madde sinir uçlarının paralizine neden olur. Baldıranotu alkaloidleri poliketidler ve amonyaktan türevlenirler.
- **Piperidin** alkaloidi ve onun cis cis izomeri kavisin (chavicine) karabiber meyvesinde bulunur (*Piper nigrum*) ve biberin karakteristik keskin tadını veren maddedir.

Lizin tipli alkaloidler

- Gelincikgiller familyasından haşhaş ekstraktlarında morfin ve kodein vb. alkaloidler bulunur.
- **Morfin** güçlü uyuşturucu etkisi ile travmaların vermiş olduğu acıları hafifletmek için kullanılır.
- **Kodein** morfinin en çok bilinen türevidir. Morfin gibi uyuşturucu özelliklere sahiptir ancak, daha zayıftır. Genellikle öksürük ve mide-bağırsak rahatsızlıklarından dolayı kullanılan ilaçların yapısında bulunur, ör, Pentalgin, Sedalgin bu tip ilaçlardandır.
- **Nadorfin** de morfin türevlerinde biridir ancak uyuşturucuya karşı tedavilerde kullanılır.
- *Areca catechu*, ılımlı uyarıcı bir madde olan arekolin üretir,

Fenilalanin, Tirozin ve Antranilik asit tipli antibiyotikler

- Fenilalanin, Tirozin ve Antranilik asit tipli antibiyotiklerden kinolin ve izokinolin alkaloidleri sentezlenmektedir.
- Kinolinin en büyük kaynağı kınakına bitkisi kabuğudur. Yapısında 30 dan fazla kinin alkaloidi bulunur ve en önemlisi antranilik asittir. Sıtma hastalıkları ile mücadelede **kinin** bileşikleri kullanılır.
- İzokinolin alkaloidlerinden **papaverin** sentetik olarak da üretilmektedir. Esasen afyon un yapısında %0.4-1.5 oranında bulunur. Kalp damar sisteminin ve karın bölgesindeki kasların spazmı durumunda spazmolitik ve damar genişletici ilaç yapısında kullanılır.

Fenilalanin, Tirozin ve Antranilik asit tipli antibiyotikler



- **Efedrin** fenilalanin alkaloidi grubundandır. Denizüzümügiller familyasından deniz üzümü cinsinin türlerinden elde edilir. %0.5-1 lik çözeltisi nezle tedavisinde kullanılırken, ayrıca, alerjik hastalıkların tedavisinde ve bronşların genişletilmesinde kullanılır.
- **Meskalin** tirozin grubundan halüsinojen bir alkaloiddir. Kaktüsgiller familyasından olan *Lophophora* cinsine ait türlerde bulunmaktadır.
- Kaktüsün başka türlerinde değişik alkaloidler elde edilmekte olup bunlardan **pellotin** düşük dozlarda sakinleştirici, 50 mg in üzerinde hipnotik etki yapar.



Fenilalanin, Tirozin ve Antranilik asit tipli antibiyotikler

- Amaryllidaceae familyasından *Sternbergia* cinsi türlerden izole edilen alkaloidlerden biri olan **likorin** bazı RNA ve DNA virüslerine karşı antiviral etki göstermektedir. Ayrıca, antitümör aktivitesini, antialerjik ve antiinflamatuvar etkilerini gösteren çalışmalar da mevcuttur.



Histidin tipli alkaloidler

- Yapısında imidazol halkası bulundurlar
- Sedefotugiller familyasına ait *Pilokarpus* cinsini üyelerinin ürettiği %0.6-0.9 oranındaki alkaloidlerin %90 ı **pilorkarpin** olup bu madde atropinin antagonistidir, yani atropin göz bebeğini genişletirken pilorkapin göz bebeğini daraltır, göz tansiyonunun düşürülmesine kullanılır.
- **Kafein**, teobromin, teofilin alkaloidleri pürin grubu alkaloidler olup değişik dozlarda merkezi sinir sistemi üzerinde etkilidir. Bunlardan en etkili olan kafein, zayıf etkili olan teobromindir.
- Çay (*Camellis sinensis*), kahve (*Theobroma cacao*), kola (*Cola*) da bu alkaloidler bulunur.

Histidin tipli alkaloidler

- **Teofilin;** kahvede ve ayda, **teobromin;** ay, kakao ve kolada, **kafein;** ay, kakao , kahve, kola ve guaranada bulunur.
- Bir ay fincanı kahvede yaklaşık 100 mg, aynı miktarda ayda ise 70 mg kafein bulunur. 100 g sütlü çikolatada kafein miktarı 20 mg, bir kutu kolada ise 50 mg dir.
- Sanayide kafein kahve çekirdeklerinden (%0.75-1 oranında bulunur), öğütölmüş çay yapraklarının ekstraksiyonundan (%1.5-3.5), fındık ve ceviz kabuklarından (%2 oranında) elde edilmektedir.

Histidin tipli alkaloidler

- Çayın yapısında teobromin, teofilin ve kafein (tein) (%1-4) gibi alkaloidler bulunur.
- Çayın tüm organlarında kafein dağılımı aynı değildir.
- Birinci yaprak basmasında %4-5, ikinci ve üçüncü yaprak basmasında %3, diğer yapraklarda (%0.5-1.5) civarında bulunur.
- O nedenle ilk yapraklardan yapılan çay daha kaliteli olarak nitelendirilmektedir.

İzoprenin yolu ile sentezlenen alkaloidler

- Biosentezi izoprenin yolu ile gerçekleşen terpenik yapıda olan alkaloidler bu gruptadırlar.
- Kaspaisin, biberin (*Caspicum annuum*) acı olmasını sağlayan maddedir. **Kolşisin** Acıciğdemgiller familyasından olan acı çiğdem (*Colchium*) türünün yapısında bulunur.
- Kolşisin bitkinin tohum ve yumrularından elde edilie, ziraatte poliploit mutasyonlar elde etmek için kullanılır (hücre bölünmesini durdurur).

Kaynak

- TOHUMLU BİTKİLERDE SEKONDER METABOLİTLER
PROF. DR. RAMAZAN MAMMADOV
1. BASIM 2014
NOBEL KİTABEVİ

Kimyasal Ekoloji

- Allelopati
- Bir bitkinin bazı sekonder bileşikler salgılayarak yaşadığı ortamda başka bitkile tohumlarının ger minasyonunu engellemesidir.
- Ör, arpa, *Hordeum vulgave*, köklerinden salgılanan hordenin allelopatik etkiye sahiptir.

Alkaloidler

- Ağrı kesici, zehir vb. veya tedavi edici yönleri için kullanılmışlardır.
- Kodein ve morfin içeren *Papaver somniferum* (hap) lateksinin
- Ortadoğu'da M.Ö. 1200-1400 yıllarında dahi kullanıldığı
- bilinmektedir.
- Alkaloidler bitkilerde daha çok herbivor ve sineklere karşı (nikotin, kafein) ve mikroorganizmalara karşı (berberin, liriodin) kendini savunmada görev alır.
- Ayrıca bazıları doku hasarlarına (nikotin) cevap olarak da sentezlenir. Oldukça fazla biyolojik aktiviteler sahiptirler.
- Birçok alkaloid amino asit prekürsörlerinden (öncülerinden - ornitin, tirozin, triptofan ve histidin) veya anthranilik asit ve nikofinik asitten türetilmektedir.
- Genellikle özelleşmiş hücre ve dokularda üretilir, sentezlendikleri yerde biriktirilir veya depo alanlarına transfer edilirler.