

# Biosynteza aktywnych biologicznie furanokumaryn w roślinnych kulturach tkankowych

Halina Ekiert

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej  
Collegium Medicum  
Uniwersytet Jagielloński  
Kraków

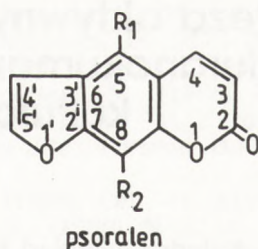
## 1. Wprowadzenie

Rozwijana i doskonalona ciągle technika roślinnych kultur *in vitro* niesie ze sobą duże możliwości. Technika ta stwarza m.in. nadzieję uzyskania potencjalnie nowego źródła aktywnych biologicznie metabolitów wtórnych, niezależnie od warunków klimatycznych, edaficznych, pór roku, z ominięciem często długiego cyklu rozwojowego różnych gatunków roślin.

Zagadnieniu biosyntezy *in vitro* metabolitów wtórnych o znaczeniu terapeutycznym poświęcone były liczne prace. Tematyka ta poruszana jest m.in. w serii wydawniczej Springer Verlag „Biotechnology in Agriculture and Forestry. Medicinal and Aromatic Plants” (1 – 4). Z krajowych opracowań szczególnie uwagę należy zwrócić na przegląd dotyczący biosyntezy cytostatyków *in vitro* (5).

Do grupy terapeutycznie interesujących metabolitów wtórnych należą także połączenia furanokumarynowe. W grupie tych połączeń wyróżnia się związki o strukturze linearnej i angularnej, zwane od nazw macierzystych związków odpowiednio psoralenami i angelicynami (6). Struktury aktywnych biologicznie psoralenów przedstawia rys. 1. Biogenetycznym prekursorem wszystkich furanokumaryn jest umbeliferon (7), rys. 2.

Furanokumaryny są znanymi fotosensybilizatorami, związkami uczulającymi skórę na promieniowanie UV, wywołującymi hiperpigmentację zdrowej lub repigmentację odbarwionej skóry. Związki te wykazują właściwości antyproliferacyjne (8 – 10). Biologiczną aktywność furanokumaryn stwierdza się wyłącznie pod wpływem światła, szczególnie długiego promieniowania UV, określanego jako UV – A ( $\lambda = 320 - 400$  nm). Większą aktywnością charakteryzują się furanokumaryny linearne. Biologiczne właściwości tej właśnie grupy furanokumaryn wykorzystuje się z dużym powodzeniem w fotochemioterapii licznych schorzeń dermatologicznych (tzw. terapia PUVA = psoraleny + pro-



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
bergapten	— OCH <sub>3</sub>	— H
ksantotoksyna	— H	— OCH <sub>3</sub>
izopimpinelina	— OCH <sub>3</sub>	— OCH <sub>3</sub>
imperatoryna	— CH <sub>2</sub> -CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	— H
izoimperatoryna	— H	— CH <sub>2</sub> -CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>

Rys. 1. Struktury aktywnych biologicznie furanokumaryn.

mieniowanie UV – A). Najbardziej wartościowymi składnikami preparatów leczniczych, ze względu na korzystne właściwości farmakokinetyczne są: 8-metoksypsoralen (8-MOP), czyli ksantotoksyna i 5-metoksypsoralen (5-MOP), czyli bergapten. Często składnikami tych preparatów są także izopimpinelina i imperatoryna (rys. 1).

Do schorzeń leczonych psoralenami należą przede wszystkim: bielactwo nabyte (*vitiligo*), łuszczyca (*psoriasis*), ziarniniak grzybiasty (*mycosis fungoides*), pokrzywka barwnikowa (*urticaria pigmentosa*) i łysienie plackowate (*alopecia areata*) (7, 11 – 14).

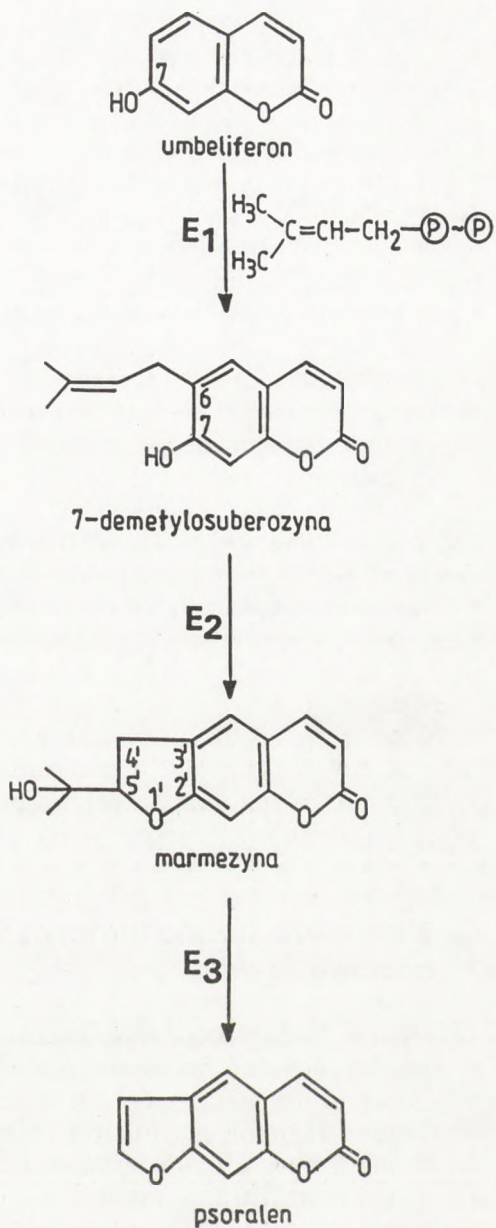
Psoraleny znalazły też zastosowanie w produkcji preparatów kosmetycznych przyspieszających opalanie (15).

Właściwości biologiczne psoralenów są ciągle intensywnie badane. Ostatnio wykazano, że związki te mogą być blokerami kanałów wapniowych. Otwiera to nowe możliwości ich terapeutycznego zastosowania (16).

Występowanie furanokumaryn ograniczone jest do kilku rodzin botanicznych: *Apiaceae*, *Fabaceae*, *Moraceae*, *Rutaceae* i *Orchidaceae* (17). Za najbogatsze naturalne źródło aktywnych biologicznie furanokumaryn linearnych uważany jest śródziemnomorski gatunek z rodziny *Apiaceae*, *Ammi majus* L. – aminek większy. W Polsce gatunek ten nie występuje w stanie naturalnym, prowadzone są natomiast jego eksperymentalne uprawy. Rośliny często atakowane są przez drobnoustroje, głównie bakterie. *A. majus* L. jest gatunkiem, którego próby aklimatyzacji podjęto w wielu krajach europejskich.

Większość aktualnie stosowanych w praktyce dermatologicznej preparatów zwiększających wytwarzanie melaniny w skórze jest otrzymywana z owoców *A. majus. L.* Są to m.in. Meladinine (Promedica, Basotherm), Oxsoralen (Elder), Ammifurin (Medexport) (18). Są to leki importowane. Podejmowane dotychczas próby wprowadzenia do leczenia preparatu krajowego nie zakończyły się powodzeniem. Propozycja izolacji ksantotoksyny z owoców *A. majus L.* nie rozwiązała problemu, gdyż w naszych warunkach klimatycznych owoce aklimatyzowanych roślin, stanowiące surowiec, często nie dojrzewają. Próba chemicznej syntezy ksantotoksyny z pirogalolu, wymagającej kilkunastu trudnych przekształceń, ze względu na bardzo małą wydajność procesu, czasochłonność i wysokie koszty zakończyła się niepowodzeniem. Kolejna próba syntezy różnych pochodnych psoralenu z kieliny zakończyła się podobnie, wykorzystywano bowiem kielinę wyizolowaną z owoców *Ammi visnaga L.*, aminka egipskiego. Ze względu na konieczność importu owoców, takie rozwiązanie problemu okazało się nieopłacalne. Główniak (19) proponuje owoce arcydzięgla — *Angelica archangelica L.* jako łatwo dostępny krajowy surowiec, stanowiący źródło imperatoryny, związku wyjściowego do syntezy ksantotoksyny. Proces proponowanej syntezy ksantotoksyny z imperatoryny jest bardziej ekonomiczny od innych prób syntezy tego związku. Jeszcze inną próbą rozwiązania problemu jest biosynteza furanokumaryn w kulturach komórek i tkanek roślinnych *in vitro*.

Furanokumaryny biosyntetyzowane są w kulturach *in vitro* różnych



Rys. 2. Etapy biosyntezy psoralenu — macierzystego związku w grupie furanokumaryn linearnych, wg Browna S.A. (7). E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub> — enzymy wyizolowane z hodowli *in vitro*, opis w tab. 3.

gatunków roślin, prowadzonych w standardowych warunkach, a mianowicie: na podłożach hodowlanych zawierających źródło węgla, sole mineralne, witaminy, substancje wzrostowe, źródło azotu zredukowanego, niekiedy naturalne kompleksy odżywcze (np. mleczko kokosowe, hydrolizat kazeiny), w temperaturze w zakresie od 12 do 30°C, przy oświetleniu głównie światłem widzialnym o natężeniu od 0 do kilku tysięcy luksów, ciągłym lub okresowym.

Uważa się, że furanokumaryny wytwarzane są przez niektóre gatunki roślin (m.in. *Apium graveolens* L., *Pastinaca sativa* L., czy *Petroselinum sativum* Hoffm. (Mill.) Nym. jako fitoaleksyny, czyli metabolity stresowe (20,21). Nie dziwi zatem fakt, że prowadzone są, szczególnie w ostatnich latach, liczne badania nad biosyntezą *in vitro* tej właśnie grupy metabolitów, z wykorzystaniem elictorów, czyli wyzwalaczy (j. ang. *elicitors*). Są to czynniki inicjujące wytwarzanie i gromadzenie fitoaleksyn. Elicitory dzieli się na biotyczne (pochodzenia biologicznego) i abiotyczne (czynniki fizykochemiczne). Ich obecność wywołuje w roślinie reakcję stresową, objawiającą się zmianą metabolizmu, np. wzmożoną biosyntezą metabolitów wtórnych (22).

W kulturach roślinnych *in vitro* celowo stosuje się elictory, aby uzyskać wysoką wydajność produkcji cennych terapeutycznie metabolitów. W badaniach nad biosyntezą furanokumaryn *in vitro* wykorzystuje się głównie wyzwalacze pochodzenia grzybowego oraz promieniowanie ultrafioletowe.

Biosyntezie połączeń kumarynowych, w tym także furanokumaryn poświęcone były wcześniejsze opracowania Murrey'a i in. (23) oraz Materna i in. (24). W pracy niniejszej prezentowane są wyniki badań prowadzonych w ostatnich latach, a także zwrócono uwagę na istotne rezultaty wcześniejszych badań, związane z biosyntezą aktywnych biologicznie furanokumaryn. W sytuacjach, gdy biosyntezie furanokumaryn towarzyszyła także biosynteza prostych kumaryn\* uznano za celowe przedstawienie informacji dotyczących obu grup matabolitów, ze względu na ich ściśle biogenetyczne powiązanie.

## 2. Biosynteza furanokumaryn w standardowych warunkach hodowli *in vitro*

Wyniki badań nad biosyntezą aktywnych biologicznie furanokumaryn w standardowych warunkach hodowli *in vitro* przedstawiono w tab. 1.

Liczne prace dotyczące możliwości produkcji połączeń kumarynowych prowadzono z różnymi gatunkami rodzaju *Nicotiana*. W hodowlach tkankowych *Nicotiana tabacum* L. stwierdzono obok bergaptenu, także obecność kumaryny, prekursora furanokumaryn — umbeliferonu oraz kilku innych prostych kumaryn — eskuletyny, skopoletyny i różnych jej glikozydowych połączeń (27 – 33).

\* Określenie — proste kumaryny w literaturze naukowej nie zawsze jest identycznie rozumiane. W pracy tej określeniem tym objęto pochodne benzo- $\alpha$ -pyronu, posiadające w odróżnieniu od furanokumaryn wyłącznie pierścień benzenowy i laktonowy (25,26).

Bardzo bogatym źródłem połączeń kumarynowych okazały się kultury tkankowe *Ruta graveolens* L. Wykazano w nich obecność kilkunastu różnych związków, a wśród nich interesujące terapeutycznie furanokumaryny: bergapten, ksantotoksynę, psoralen (34 – 38), izopimpinelinę (35,37,38), a także umbeliferon (34, 38, 39). W hodowlach *R. graveolens* stwierdzono ponadto obecność dihydrofuranokumaryn, o ważnym znaczeniu w biogenezie psoralenów, marmezynę (39) oraz rutaretynę (34,37,39), (rys. 2). Zawartość wymienionych połączeń kumarynowych w tkankach *R. graveolens* wahała się w zakresie od setnych części mg do 220 mg/kg świeżej masy tkankowej (34,38). Komórki z hodowli kalusowych i zawieszinowych *R. graveolens* L., prowadzonych w Katedrze i Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej Collegium Medicum UJ, wykazywały zdolność biosyntezy marmezyny, psoralenu, bergaptenu, ksantotoksyny i izopimpineliny (Ekiert H., dane nie opublikowane).

TABELA 1  
AKTYWNE BIOLOGICZNIE FURANOKUMARYNY BIOSYNTETYZOWANE  
W STANDARDOWYCH WARUNKACH HODOWLI *IN VITRO*

Związek	Gatunek	Rodzaj kultury	Literatura
bergapten	<i>Petroselinum sativum</i> L.	k	(30)
	<i>Ruta graveolens</i> L.	k	(34)
	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	k	(31)
	<i>Ammi majus</i> L.	k	(41,43)
	<i>Ammi majus</i> L.	z	(41,43)
imperatoryna	<i>Ammi majus</i> L.	k	(43)
	<i>Ammi majus</i> L.	z	(43)
izoimperatoryna	<i>Thamnosma montana</i> Torr. & Frem.	k	(54)
izopimpinelina	<i>Ruta graveolens</i> L.	z	(38)
	<i>Thamnosma montana</i> Torr. & Frem.	k	(54)
	<i>Ammi majus</i> L.	k	(41,43)
	<i>Ammi majus</i> L.	z	(41,43)
ksantotoksyna	<i>Ruta graveolens</i> L.	k	(34)
	<i>Ammi majus</i> L.	k	(41,43)
	<i>Ammi majus</i> L.	z	(41,43)
psoralen	<i>Ruta graveolens</i> L.	k	(34)

k — kultura kalusowa, z — kultura zawieszinowa

W hodowli *R. graveolens* L. ssp. *hortensis* stwierdzono natomiast obecność marmezyniny (glikozyd marmezyny), obok prostych kumaryn — umbeliferonu, rutaryny i izorutaryny (40).

Podobnie w kalusie *Petroselinum sativum* L., pochodzenia korzeniowego, wykazano obecność tylko trzech kumarynowych połączeń: bergaptenu, umbeliferonu oraz skopoletyny (30).

W ostatnich latach w Katedrze i Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej Collegium Medicum UJ prowadzono badania nad możliwością biosyntezy furanoku-

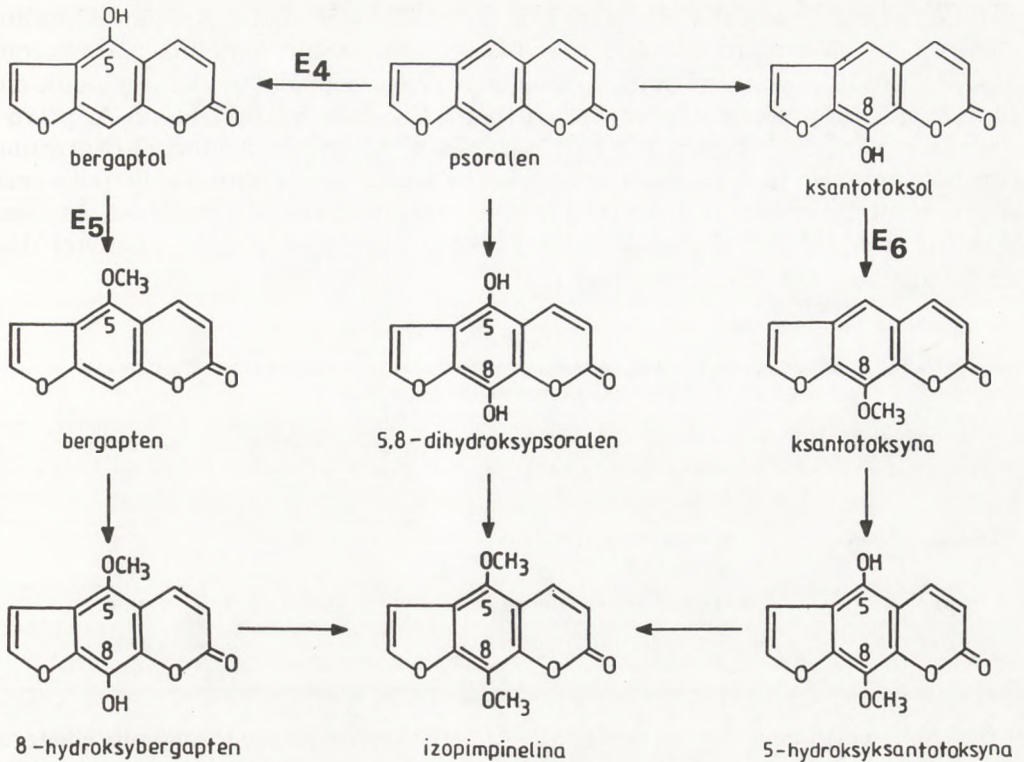
maryn w hodowlach *in vitro* *Amni majus* L. Komórki z hodowli zarówno kalusowych, jak i zawiesinowych syntetyzowały pięć połączeń furanokumarynowych charakterystycznych dla rośliny macierzystej: bergapten, ksantotoksynę, izopimpinelinę, imperatorynę i marmezynę. Bergapten, imperatoryna i izopimpinelina były syntetyzowane w interesujących z praktycznego punktu widzenia ilościach (odpowiednio 25, 22 i 29 mg%). W dużych ilościach produkowany był też umbeliferon. Wśród matabolitów stwierdzono ponadto obecność trzech nowych połączeń furanokumarynowych o masach cząsteczkowych równych odpowiednio 314, 342 i 386. Hodowlę *in vitro* zaproponowano jako potencjalne źródło pozyskiwania aktywnych biologicznie furanokumaryn (41 – 43).

Jakościowa i ilościowa zawartość poszczególnych kumarynowych metabolitów w kulturach tkankowych różnych gatunków roślin jest uzależniona od warunków hodowli, takich jak: skład pożywki (m.in. źródło węgla, stężenie sacharozy, stężenie nieorganicznego fosforu i azotu, kompozycje fitohormonów), oświetlenie, temperatura, czas trwania hodowli. Z dotychczasowych badań wynika, że istnieje duża możliwość stymulacji biosyntezy połączeń kumarynowych. Prowadzenie badań w tym kierunku ma zatem nie tylko znaczenie poznawcze, ale i praktyczne (28,29,32 – 34,37,43 – 49).

Przedmiotem zainteresowania były także próby ustalenia dróg biosyntezy poszczególnych związków, z użyciem egzogennie podanych, najczęściej znakowanych izotopami prekursorów. Drogi biosyntezy psoralenu oraz jego metoksylowych pochodnych przedstawiają rys. 2 i 3.

W eksperymentach z hodowlami *Ruta graveolens* L. stwierdzono, że prekursorami czterech podstawowych furanokumaryn: psoralenu, ksantotoksyny, bergaptenu i izopimpineliny były 7-demetylosuberozyna, umbeliferon i marmezyna. Psoralen był prekursorem bergaptenu i ksantotoksyny, ale nie izopimpineliny (50). Natomiast bardzo efektywnym prekursorem izopimpineliny okazała się ksantotoksyna (51). W innych eksperymentach z kulturami *R. graveolens* L., umbeliferon był transformowany w herniarynę, 7-demetylosuberozynę, marmezynę i psoralen. Podane w roli substratów 4-metylo- i 8-metylo- pochodne umbeliferonu ulegały analogicznym przemianom (52). Z kultur zawiesinowych ruty wyodrębniono specyficzny enzym, dwumetyloallilotransferazę umbeliferonu. W obecności tego enzymu oraz jonów  $Mn^{+2}$ , umbeliferon był transformowany wybiórczo w 7-demetylosuberozynę (rys. 2), enzym  $E_1$  (53). W eksperymentach z tkankami *R. graveolens* L.,  $5-^{14}C$  – kwas mewalonowy był tylko w minimalnym stopniu wbudowywany w furanokumaryny (50). Odmienne rezultaty uzyskano w przypadku hodowli *Thamnosma montana* Torr. & Frem. Kwas mewalonowy okazał się specyficznym prekursorem pierścienia furanu i alkilowego oraz alkoksylowego bocznego łańcucha wyizolowanych trzech furanokumaryn: izopimpineliny, izoimperatoryny oraz eteru metyloвого alloimperatoryny (54).

W eksperymentach z hodowlami zawiesinowymi *A. majus* L., umbeliferon podany w roli prekursora był wbudowywany w bergapten (43).



Rys. 3. Etapy biosyntezy metoksyłowych pochodnych psoralenu wg Browna S. A. (7). E<sub>4</sub>, E<sub>5</sub>, E<sub>6</sub> — enzymy wyizolowane z hodowli *in vitro*, opis w tab. 3.

### 3. Biosynteza furanokumaryn indukowana elicitorami

Wyniki badań nad biosyntezą aktywnych biologicznie furanokumaryn, indukowaną elicitorami przedstawiono w tab. 2. Badania tego typu prowadzone są głównie w dwóch niemieckich ośrodkach naukowych, w Instytucie Maxa Plancka w Kolonii oraz w Instytucie Biologii Uniwersytetu we Freiburgu. Obiektem dotychczasowych badań były przede wszystkim gatunki rodzaju *Petroselinum* — *Petroselinum hortense* L. i *Petroselinum crispum* L. W badaniach stosowano elicitory grzybowe, spreparowane ze ścian komórkowych grzybów: *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* (Pmg — elicitor) i *Althernaria carthami* Chowdhury (Ac — elicitor). Wymienione grzyby, będące patogenami *Glycine soja* Sieb. et Zuck. nie są patogenne dla *Petroselinum* sp. Pomimo to elicitory Pmg i Ac dodane do podłoża hodowlanych wywoływały zmiany w metabolizmie komórek *Petroselinum* sp. w hodowli *in vitro*. Efekty stosowania elicitorów były zróżnicowane. W hodowlach zawieszinowych *P. hortense* L., po użyciu elicitora Pmg głównymi produktami były psoralen, ksantotoksyna i linearny benzodipyrandion (graweolon). Kolejny metabolit — ber-

gapten był biosyntetyzowany w małych ilościach. Natomiast po zastosowaniu elicitora Ac, głównymi produktami był bergapten i izopimpinolina. Graweolon zaś był produkowany w małych ilościach. Zastosowana w eksperymentach fitotoksyna produkowana przez *A. carthami* Chowdhury, brefeldyna A, powodowała w badanych stężeniach (0,01 – 0,1 mM) obniżenie zdolności tworzenia furanokumaryn. Badane kultury *P. hortense* L. nie produkowały połączeń furanokumarynowych bez użycia elicitora. Równie istotnym jest fakt, że dwa spośród produktów — psoralen i graweolon nie są związkami znanymi dla metabolizmu rośliny macierzystej (55).

TABELA 2  
AKTYWNE BIOLOGICZNIE FURANOKUMARYNY BIOSYNTETYZOWANE W KULTURACH ZAWIESINOWYCH  
W WYNIKU ZASTOSOWANIA ELICITORÓW

Związek	Gatunek	Literatura
bergapten	<i>Petroselinum hortense</i> L.	(55)
	<i>Ammi majus</i> L.	(60)
izopimpinolina	<i>Petroselinum hortense</i> L.	(55)
	<i>Ammi majus</i> L.	(60)
ksantotoksyna	<i>Petroselinum hortense</i> L.	(55)
psoralen	<i>Petroselinum hortense</i> L.	(55)
	<i>Ammi majus</i> L.	(61)

W hodowli *in vitro* innego gatunku — *P. crispum* L., po zastosowaniu elicitora Pmg, stwierdzono duże ilości ksantotoksyny, bergaptenu i izopimpinoliny (56).

Wpływ elicitorów na metabolizm komórek autorzy prac przedstawili nie tylko identyfikując otrzymane produkty, lecz także izolując enzymy i przedstawiając ich charakterystykę. Wykaz enzymów wyizolowanych z hodowli *in vitro* przedstawiono w tab. 3. Po dodaniu elicitora Ac do hodowli komórkowej *P. hortense* L. wykazano wzrost aktywności enzymów głównej drogi metabolizmu fenylopropanoidowego, m.in. amoniakolizy fenyloalaninowej (PAL), katalizującej przemianę fenyloalaniny w kwas cynamonowy. Ponadto stwierdzono wzrost aktywności enzymu specyficznego dla biosyntezy furanokumaryn — dwumetyloalliltransferazy umbeliferonu (rys. 2, enzym E<sub>1</sub>), enzymu odpowiedzialnego za przemianę umbeliferonu w 7 - demetylosuberozynę. W eksperymentach nie stwierdzono oczekiwanego wzrostu aktywności syntazy chalkonu, uczestniczącej w biosyntezie flawonoidów (57).

Także elicitor Pmg oraz promieniowanie UV indukowały *de novo* biosyntezę enzymów głównej drogi metabolizmu fenylopropanoidowego w hodowlach *in vitro* *P. hortense* L. (58).

W hodowlach *P. crispum* L., po zastosowaniu zarówno elicitora Ac, jak i Pmg, wyizolowano, oczyszczono i scharakteryzowano inny enzym specyficzny dla biosyntezy furanokumaryn, a mianowicie syntazę psoralenu, katalizującą przemianę marmezyny w psoralen (rys. 2, enzym E<sub>3</sub>), (59). Natomiast po użyciu elicitora Pmg, wyizolowano ponadto enzymy katalizujące końcową metylację w biosyntezie ksantotoksyny, bergaptenu i izopimpinoliny, a miano-



wicie O-metylotransferazę bergaptolu i O-metylotransferazę ksantotoksolu (rys. 3, enzymy E<sub>5</sub>, E<sub>6</sub>). (56).

TABELA 3  
ENZYMY BIORĄCE UDZIAŁ W BIOSYNTYZIE FURANOKUMARYN, WYIZOLOWANE Z HODOWLI *IN VITRO*

Enzym	Gatunek	Literatura
E <sub>1</sub>	dwumetyloallilotransferaza umbeliferonu	<i>Ruta graveolens L.</i> (53) <i>Ammi majus L.</i> (63)
	syntaza marmezyny	<i>Ammi majus L.</i> (61)
E <sub>3</sub>	syntaza psoralenu	<i>Petroselinum crispum L.</i> (59) <i>Ammi majus L.</i> (61)
	5-monooksygenaza psoralenu	<i>Ammi majus L.</i> (62)
E <sub>5</sub>	O-metylotransferaza bergaptolu	<i>Petroselinum crispum L.</i> (56)
E <sub>6</sub>	O-metylotransferaza ksantotoksolu	<i>Petroselinum crispum L.</i> (56)

W ostatnich latach obiektem badań prowadzonych w Instytucie Biologii Uniwersytetu we Freiburgu były hodowle *A. majus L.* W badaniach stosowano elicitory Pmg i Ac, a ponadto skleroglukan, grzybowy  $\beta$ -D-glukan z wiązaniami (1  $\rightarrow$  3), (1  $\rightarrow$  6) wyizolowany z *Sclerotium sclerotiosum*. Pod wpływem wymienionych elicitorów, komórki *A. majus L.* syntetyzowały umbeliferon, izopimpinelinę, marmezynę i amirynę. Komórki produkowały ponadto nieznaną dla rośliny macierzystej metabolity, dwa eterowe połączenia umbeliferonu. Najbardziej efektywnym dla akumulacji wymienionych metabolitów okazał się elicitor Pmg (60).

W wyniku zastosowania elicitorów udało się także w hodowlach *A. majus L.* izolacja kolejnych enzymów uczestniczących w biosyntezie furanokumaryn: syntazy marmezyny, katalizującej przemianę 7-demetylosuberozyny w marmezynę, (rys. 2, enzym E<sub>2</sub>), (61), oraz 5-monooksygenazy psoralenu, katalizującej przemianę psoralenu w 5-hydroksypsoralen (bergaptol) (rys. 3, enzym E<sub>4</sub>), (62). Z hodowli *A. majus L.* wyizolowano także dwumetyloallilotransferazę umbeliferonu (rys. 2, enzym E<sub>1</sub>), (63), oraz syntazę psoralenu (rys. 2, enzym E<sub>3</sub>), (61).

#### 4. Podsumowanie

Z przedstawionego przeglądu prac wynika, że roślinne hodowle tkankowe są źródłem aktywnych biologicznie furanokumaryn. Metabolity te są biosyntezyzowane w ilościach interesujących z praktycznego punktu widzenia. Ponadto istnieje możliwość zwiększenia wydajności biosyntezy poprzez odpowiedni dobór standardowych warunków hodowli (fitohormony, oświetlenie itp.) lub też

zastosowanie elicitorów. Badania nad biosyntezą tej grupy metabolitów mogą mieć zatem znaczenie praktyczne.

Ze względu na fakt, że biosynteza furanokumaryn nie jest dokładnie poznana, badania prowadzące nie tylko do identyfikacji produktów, ale także enzymów katalizujących kolejne reakcje, mają duże znaczenie poznawcze.

## Literatura

1. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, (1988), Ed. Bajaj Y. P. S., 4, Medicinal and Aromatic Plants I, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
2. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, (1989), Ed. Bajaj Y. P. S., 7, Medicinal and Aromatic Plants II, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
3. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, (1991), Ed. Bajaj Y. P. S., 15, Medicinal and Aromatic Plants III, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
4. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, (1993), Ed. Bajaj Y. P. S., 21, Medicinal and Aromatic Plants IV, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
5. Furmanowa M., (1992), *Biotechnologia*, 4, 27 - 36.
6. Soine T. O., (1964), *J. Pharm. Sci.*, 53, 231 - 264.
7. Brown S. A., (1979), *Planta Med.*, 36, 299 - 310.
8. Ben - Hur E., Pill - Soon S., (1984), *Advan. Radiat. Biol.*, 11, 131 - 171.
9. Rodigiero G., Dall'Acqua F., Pathak M. A., (1984), in: *Topics in photomedicine*, Ed. Smith K. C., Plenum Publishing Corporation, New York, 319 - 398.
10. Rodigiero G., Dall'Acqua F., (1986), *Drugs Exptl. Clin. Res.*, 12, 507 - 515.
11. Pathak M. A. Parrish J. A., Fitzpatrick T. B., (1981), *Farmaco. Ed. Sci.*, 36, 479 - 491.
12. Roenigh H. H. Ir., (1984), *Natl. Cancer Inst. Monogr.*, 66, 179 - 183.
13. Turjanmaa K., Salo H., Reunala T., (1985), *Acta Derm. Venerol. (Stockh.)*, 65, 86 - 88.
14. Plewig G., Hölzle E., Lehmann P., (1986), *Curr. Probl. Derm.*, 15, 254 - 264.
15. Bettero A., Benassi C. A., (1983), *J. Chromatogr.*, 280, 167 - 171.
16. Vuorela H., Törnquist K., Nyireddy Sz., Sticher O., Hiltunen R., (1988), *Abstr. of 36<sup>th</sup> Yearly Congress of Society for Medicinal Plant Research*, Freiburg, Thieme Verlag, Stuttgart, 44 - 45.
17. Hegnauer R., (1966, 1969, 1973), *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Birkhäuser Verlag, Basel, Stuttgart, B. 4, 5, 6.
18. Podlewski J. K., Chwalibogowska - Podlewska A., (1986), *Leki współczesnej terapii*, PZWL, Warszawa, 384 - 385.
19. Głowniak K., (1988), *Badanie i izolacja związków kumarynowych z krajowych surowców roślinnych*, rozprawa habilitacyjna, Akademia Medyczna, Lublin.
20. Beier R. C., Ivie G. W., Oertli E. H., (1983), in: *Xenobiotics in Food and Feeds*, (Eds. Finley J.W., Schwass D.E.), ACS Symp. Ser., 234, 295 - 310.
21. Beier R. C., Oertli E. H., (1983), *Phytochemistry*, 22, 2595 - 2597.
22. Skrzypczak L., Thiem B., (1987), *Wiad. Bot.*, 31, 157 - 166.
23. Murray R. D. H., Méndez J., Brown S. A., (1982), *The Natural Coumarins*. Occurrence, Chemistry and Biochemistry, Wiley, New York, wg Matern U. et al., poz. 24.
24. Matern U., Strasser H., Wendorff H., Hamerski D., (1988), in: *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*, 5, *Phytochemicals in Plant Cell Cultures*, Eds. Constel F., Vasil I.K., Academic Press, New York, 3 - 21.
25. Brown S. A., (1979), *Planta Med.*, 36, 299 - 310.
26. Tandon S., Rastogi R. P., (1979), *J. Sci. Ind. Res.*, 38, 428 - 441.
27. Sargent J. A., Skoog F., (1961), *Physiol. Plant.*, 14, 504 - 519.

28. Skoog F., Montaldi R., (1961), Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 47, 36 - 49.
29. Fritig B., Hirth L., Ourisson G., (1966), C. R. Acad. Sci., Ser. D, 263, 838 - 841.
30. Reinhard E., (1967), Deut. Apoth. Ztg., 107, 1201 - 1207.
31. Brown S. A., Tenniswood M., (1974), Can. J. Bot., 52, 1091 - 1094.
32. Okazaki M., Hino F., Nagasawa K., Miura Y., (1982), Agric. Biol. Chem., 46, 601 - 607.
33. Okazaki M., Hino F., Kominami K., Miura Y., (1982), Agric. Biol. Chem., 46, 609 - 614.
34. Reinhard E., Corduan G., Volk O. H., (1968), Planta Med., 16, 8 - 16.
35. Brocke W., Reinhard E., Nicholson G., König W. A., (1971), Z. Naturforsch., B. 26, 1252 - 1255.
36. Kuzovkina I. N., Kuzniecowa G. A., Smirnow A. M., (1971), Herba Hung., 10, 39 - 42.
37. Reihard E., Corduan G., Brocke W., (1971), Herba Hung., 10, 9 - 26.
38. Steck W., Bailey B. K., Shyluk J. P., Gamborg O. L., (1971), Phytochemistry, 10, 191 - 194.
39. Varga E., Szendrei K., Novak I., Reisch J., (1974), Acta Pharm. Hung. Suppl., 44, 36 - 43, wg CA, (1975), 82, 13996x.
40. Varga E., Kuzovkina I. N., Rozsa Zs., Schendrei K., (1978), Acta Pharm. Hung., 48, 193 - 198, wg CA, (1978), 89, 176400g.
41. Ekiert H., (1986), Acta Pol. Pharm., 43, 634 - 636.
42. Ekiert H., (1990), Planta Med., 56, 572.
43. Ekiert H., (1993), in: *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Ed. Bajaj Y.P.S., 21, Medicinal and Aromatic Plants IV, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1 - 17.
44. Reinhard E., Corduan G., Volk O. H., (1967), Planta Med., 15, 357 - 360.
45. Supniewska J. H., Dohnal B., (1977), Acta Soc. Bot. Pol., 46, 559 - 567.
46. Ekiert H., (1986), Materiały zjazdowe XIII Naukowego Zjazdu Pol. Tow. Farm., Katowice, 132.
47. Ekiert H., (1989), *Proliferation, differentiation and maturation of cells and tissues*, Abstr. 22<sup>nd</sup> Symp. Polish Histochem. Cytochem. Soc., Szczecin, 70.
48. Ekiert H., (1989), Materiały zjazdowe XIV Naukowego Zjazdu Pol. Tow. Farm., Wrocław, 32.
49. Ekiert H., (1991), Roślinne kultury tkankowe w Polsce, Streszczenia VI Konferencji Naukowej, Radzików, 23.
50. Austin D. J., Brown S. A., (1973), Phytochemistry, 12, 1657 - 1667.
51. Brown S. A., Sampathkumar S., (1977), Can. J. Biochem., 55, 686 - 692.
52. Steck W., Constabel F., (1974), Lloydia, 37, 185 - 191.
53. Ellis B. E., Brown S. A., (1974), Can. J. Biochem., 52, 734 - 738.
54. Kutney J. P., Salisbury P. J., Verma A. K., (1973), Tetrahedron, 29, 2673 - 2681.
55. Tietjen K. G., Hunkler D., Matern U., (1983), Eur. J. Biochem., 131, 401 - 407.
56. Hauffe K. D., Hahlbrock K., Scheel D., (1986), Z. Naturforsch., 41C, 228 - 239.
57. Tietjen K. G., Matern U., (1983), Eur. J. Biochem., 131, 409 - 413.
58. Hahlbrock K., Lamb C. J., Purwin C., Ebel J., Fautz E., Schäfer E., (1981), Plant Physiol., 67, 768 - 773.
59. Wendorff H., Matern U., (1986), Eur. J. Biochem., 161, 391 - 398.
60. Hamerski D., Beier R. C., Kneusel R. E., Matern U., Himmelspach K., (1990), Phytochemistry, 29, 1137 - 1142.
61. Hamerski D., Matern U., (1988), Eur. J. Biochem., 171, 369 - 375.
62. Hamerski D., Matern U., (1988), FEBS Letters, 239, 263 - 265.
63. Hamerski D., Schmitt D., Matern U., (1990), Phytochemistry, 29, 1131 - 1135.

## Biosynthesis of biologically active furanocoumarins in plant tissue cultures

### Summary

This review article presents the results of investigations on biosynthesis of furanocoumarins by plant tissue culture methods. Special attention has been paid to biologically active furanocoumarins. Results of investigations on biosynthesis of these metabolites both under conditions typical for *in vitro* culture and after elicitation were discussed.

### Key words:

plant tissue culture, biosynthesis, furanocoumarins, elicitation.

### *Adres dla korespondencji:*

Halina Ekiert, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, ul. Medyczna 9, 30 - 688 Kraków.