

Калинин В. И., Левин В. С., Стоник В. А. Химическая морфология: тритерпеновые гликозиды голотурий (*Holothurioidea, Echinodermata*) / Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН; Камчатское отделение Тихоокеанского института рыбного хозяйства и океанографии (КОТИНРО). Владивосток: Дальнаука, 1994. 284 с.

Монография представляет собой сводку данных по структуре, таксономическому распределению, биологической активности и биологической роли уникальной группы природных соединений - тритерпеновых гликозидов голотурий. Чтобы показать место тритерпеновых гликозидов среди функциональных систем и подсистем организмов-продуцентов - голотурий, приводятся сведения о биологии и биохимии этих животных. Тритерпеновые гликозиды голотурий используются в качестве модели для анализа эволюции комплексных адаптаций. Рассматриваются основные направления эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий. Структурно-функциональные отношения гликозидов голотурий анализируются в рамках холистского или системно-теоретического подхода Ван-дер-Клаува - Дуллемейера. Показана применимость к изучению эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий таких морфологических понятий и закономерностей, как ароморфоз, идиоадаптация, а также теории модусов органогенеза и филэмбриогенезов. Применение сравнительно-морфологического метода на биохимическом уровне предлагается назвать химической морфологией.

Книга рассчитана на биохимиков, фармакологов, биологов-эволюционистов.

Kalinin V. I., Levin V. S., Stonik V. A. The chemical morphology: Triterpene glycosides of sea cucumbers (*Holothurioidea, Echinodermata*) / Pacific Institute of Bioorganic Chemistry of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences; Kamchatka Department of the Pacific Institute of Fishery and Oceanography. Vladivostok: Dalnauka, 1994. 284 p.

The monograph represents a review on data, concerning structure, taxonomical distribution, biological activities and functions of unique group of natural products, namely triterpene glycosides of holothurians. Detailed information on biology and biochemistry of these animals is given to demonstrate the place of the triterpene glycosides among functional systems and subsystems of their producers - holothurians. Triterpene glycosides are used as a model for the analysis of evolution of complex adaptation. Structure-function relationship for these compounds are analyzed using so-called holistic or system-theoretical approach of Van-der-Clauw - Dullemeijer. Application of such morphological trends of evolution as aromorphosis, idioadaptations as well as the theories of organogenesis modes and phylembryogeneses to the studies on evolution of triterpene glycosides has been also shown. We suggest to call the approach, dealing with the application of comparative-morphological method to biochemical level as chemical morphology.

Издано по решению Научно-издательского совета ДВО РАН

Ответственный редактор канд. биол. наук В. В. Михайлов

Рецензенты:

канд. хим. наук Л. И. Стригина

докт. хим. наук В. И. Высоцкий

ПРЕДИСЛОВИЕ

Таксономические системы имеют для биологии приблизительно такое же значение, какое имела периодическая система элементов Д. И. Менделеева для химии. При решении задачи их построения и совершенствования используют метод сравнительного анализа самых различных особенностей (признаков) организмов: от морфологических, включая макро- и микроскопическое строение различных органов и скелетных элементов, до биохимических, включая структуры нуклеиновых кислот, как это делают геносистематики.

В настоящей книге рассмотрены некоторые возможности, которые открываются, если использовать в качестве таксономических признаков состав фракций вторичных метаболитов и строение входящих в эти фракции индивидуальных компонентов, а при анализе таксономического распределения, изменчивости и биологической функции этих веществ учитывать так называемые морфологические закономерности эволюции, описанные А. Дорном, Н. Клейненбергом, Л. Плате, А. Н. Северцовым, И. И. Шмальгаузенем и их последователями. В качестве главного инструмента для реализуемого здесь подхода выбраны тритерпеновые гликозиды голотурий - вторичные метаболиты сложного, или, как принято говорить в биохимии, смешанного биогенеза, а объектом исследования являются таксономия и филогения класса *Holothurioidea*, входящего в состав типа *Echinodermata* (Иглокожие).

Кроме того, в книге сделана попытка, реконструируя эволюцию гликозидов, выявить общие черты биохимической эволюции вторичных метаболитов, в том числе такие ее особенности, которые не были отмечены другими исследователями. Авторы стремились также выработать общую методологию изучения биохимической эволюции, которую можно было бы применить к конкретным группам вторичных метаболитов. Наконец, в монографии приведены обширные сведения о весьма оригинальной группе морских беспозвоночных - голотуриях. Здесь дается описание анатомического строения, физиологии,

экологии и биохимии этих удивительных животных, приведены конкретные данные по биологической активности содержащихся в них веществ.

Авторы надеются, что монография будет интересна для специалистов в различных областях биологии, а также для химиков, работающих в области химии природных соединений, биохимиков и фармакологов.

ВВЕДЕНИЕ

Форму и анатомическое строение живых организмов и их частей начали описывать еще в древности; достаточно длительную историю имеет и сравнение структурных (морфологических) признаков у организмов, относящихся к различным таксономическим группам. Один из основоположников морфологии И. В. Гете определил ее как учение о форме органических тел, об их образовании и преобразовании (Бляхер, 1962). Как справедливо заметил К. Л. Паавер (1982), ни одна наука, кроме морфологии, не изучает органическую форму в целях познания имманентных ей закономерностей. Под влиянием идей Ч. Дарвина морфология стала эволюционной, а морфологическая форма теперь понимается как адаптивный исторический морфо-процесс с определенной онтогенетической траекторией. Органическая форма является совокупностью всех видимых структурных особенностей организма и его подсистем. Многие авторы полагают, однако, что зона компетенции биоморфологии начинается не с молекулярного (химического) уровня, а с субклеточного и клеточного (Паавер, 1982). В морфологической литературе существует и противоположная точка зрения (Dullemeijer, 1974; Dunker, 1983), хотя она практически не обоснована какими-либо конкретными биохимическими данными. Дж. Харбон и О. Готтлиб (Gottlieb, 1982; Harborne, Turner, 1984) вывели ряд интересных общих принципов эволюции микромолекул, но не сделали попытки соотнести их с уже известными сравнительным анатомам морфологическими закономерностями, предпочитая

переоткрывать подобные закономерности заново уже на биохимическом уровне.

Н. Н. Воронцов (1989) на примере молекул ДНК и белков убедительно, на наш взгляд, показал применимость основных концептуальных моделей биоморфологии для молекулярного уровня. Следует, однако, отметить, что в дискуссиях об элементарном объекте морфологического исследования обычно не принимают во внимание огромный объем информации по структурам, функциям и биологической роли других биомолекул, в том числе так называемых вторичных метаболитов. Если в начале 60-х г. специалисты-хемосистематики, высказывая предположение об аналогии между процессами морфогенеза и хемогенеза, воздерживались от окончательных выводов из-за отсутствия данных о биологической роли многих природных соединений (Alston, 1966), то за прошедшие 30 лет ситуация существенно изменилась. Благодаря прогрессу выделительной техники и физико-химических методов исследования, главным образом спектроскопии ЯМР высокого разрешения, а также вовлечению в круг интересов химиков низкомолекулярных биорегуляторов морских организмов произошли качественные изменения. Работы в этой области, по мнению П. Шюера (Scheuer, 1978), начали всерьез затрагивать некоторые останавливающие взгляд явления, лежащие на границе между биологией и химией. В ходе изучения биологической роли природных соединений наземного и морского происхождения сложилось целое научное направление - химическая экология (Барбье, 1978; Харборн, 1985; Faulkner, Ghiselin, 1983; Ковганко, Ахрем, 1990; Телитченко, Остроумов, 1990). В результате возможности решения проблемы элементарного уровня морфологического анализа существенно расширились.

Эволюция многих групп вторичных метаболитов морских беспозвоночных, о которой можно делать какие-то предположения, сравнивая химическое строение и биологическую активность метаболитов из различных таксонов, ведет к усилению защитного действия. Такая закономерность устанавливается, например, для тритерпеновых гликозидов голотурий, пептидных токсинов

кишечнополостных, галогенированных терпеноидов из красных водорослей, многих других вторичных метаболитов. Можно предположить, что интенсификация защитной функции является движущей силой эволюции большинства известных групп вторичных метаболитов.

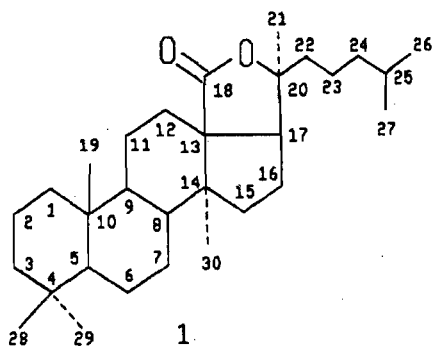
Считают, что эволюция так называемых семантических молекул, т. е. ДНК, РНК и белков, идет со снижением мультифункциональности, что приводит к многочисленным параллелизмам в их строении. В предельном случае это способствует появлению универсальных функциональных блоков, например ферментов (АТФ-азы, ДНК-полимеразы и др.), которые весьма сходны между собой у самых различных организмов и сформировались, вероятно, на ранних этапах эволюции (Уголев, 1987; Северцов, 1990). Вторичные метаболиты являются более поздними находками эволюции. Каждая группа таких метаболитов, как правило, сохранила большую степень мультифункциональности по сравнению с макромолекулами. Структурное разнообразие и, соответственно, более высокая степень мультифункциональности вторичных метаболитов и других "синтаксических" молекул, таких, как поли- и олигосахариды, тритерпеновые и стероидные олигогликозиды, алкалоиды, полипренилированные ароматические производные и т. д., делают их интересными объектами морфологического анализа.

В 1952 г. Р. Нигрелли (Большой Нью-Йоркский аквариум, США) сообщил о выделении токсичной фракции из кювьеровых органов карибской голотурии *Actinopyga agassizi* (Nigrelli, 1952). Т. Яmanouchi (Фармацевтический колледж Киото, Япония), проводивший систематическое изучение ихтиотоксических компонентов из водных экстрактов голотурий еще в годы второй мировой войны, опубликовал свои результаты лишь в 1955 г. (Yamanouchi, 1955). Он описал выделение физиологически активного материала из *Holothuria leucospilota*. Как Нигрелли, так и Яmanouchi определили гликозидную природу выделенных веществ, и оба, независимо друг от друга, называли их "голотурином". С тех пор, и особенно за последние 15 - 20 лет, накоплена обширная информация о структурном разнообразии, таксо-

номическом распределении и биологической активности этих соединений.

Многие известные гликозиды голотурий имеют агликоны ланостановой природы с 18(20)-лактоном и относятся к голостановому ряду (Habermehl, Volkwein, 1971), то есть в основе их структуры лежит так называемый голостан (1).

В самое последнее время для таких гликозидов были обнаружены и новые структурные типы агликонов (Авилов и др., 1991а,б; Калинин и др., 1989а). Моносахаридный состав гликозидов голотурий обычно включает D-ксилозу, D-хиновозу, D-глюкозу, D-3-О-метилглюкозу и D-3-О-метилксилозу (Еляков, Стоник, 1986).



В процессе изучения структуры, таксономического распределения и биологической активности тритерпеновых гликозидов голотурий нами было показано, что эти вещества - чрезвычайно удобная модель для изучения биохимической эволюции и структурно-функциональных отношений природных соединений (Калинин и др., 1990; Калинин, Стоник, 1990, 1991; Kalinin, 1991; Калинин, 1992; Kalinin et al., 1992). Они имеют сложное строение, поскольку биосинтезируются как из углеводных, так и тритерпеновых предшественников и варьируют по многим относительно независимым признакам: числу, положению и природе моносахаридных остатков, числу и положению сульфатных групп в углеводных цепях, а также по числу и расположению двойных связей, гидроксильных, ацетатных и других

функциональных групп в агликонах. Нами было показано, что тритерпеновые гликозиды обладают специфичностью для видов, родов и подсемейств голотурий (Elyakov et al., 1973, 1975b; Левин и др., 1984, 1985, 1986). Такая специфичность на макроэволюционном уровне предполагает важную адаптивную роль этих веществ.

Одна из важных “внешних” функций гликозидов голотурий - защитная; эти соединения снижают уязвимость голотурий от хищников и предохраняют их организм от заселения некоторыми микроорганизмами и обрастателями (Левин, 1989а). Мы полагаем, что наличие эффективных химических средств защиты против хищников во многом определило развитие голотурий как животных с мягкими тканями, лишенных развитого скелета, и обеспечило возможность освоения ими огромных площадей дна Мирового океана. В основе защитного действия гликозидов голотурий лежит взаимодействие их со стеринами биомембран клеток-мишеней, что приводит к образованию каналов, пор и нарушению функционирования мембран (Еляков, Стоник, 1986), причем способность к образованию каналов может меняться в зависимости от строения как различных частей агликона, так и углеводной цепи. Несмотря на очень большую вариабельность, общий план строения этих веществ тем не менее чрезвычайно консервативен (Калинин и др., 1990). Молекулу гликозида можно представить как сложную систему, элементы которой структурно связаны между собой и влияют на ее функцию и адаптивную роль. Эволюция этой системы происходила, очевидно, путем замены или модификации отдельных элементов при неизменности ее общей организации. Следовательно, молекулу гликозида можно рассматривать как гетерогенный адаптивный комплекс (по терминологии Н. Н. Иорданского, 1990), а для изучения структурно-функциональных отношений в такого типа биомолекулах может быть использован системно-теоретический (механо-холистский) подход (Dullemeijer, 1974, 1980). Все это делает гликозиды голотурий удобной моделью для анализа эволюции комплексных адаптаций, аналогичной,

например, челюстному аппарату амфибий и рептилий (Иорданский, 1990).

Авторы настоящей книги поставили перед собой задачу обобщить известные на сегодняшний день сведения о структуре, таксономическом распределении, биологической активности и биологической роли тритерпеновых гликозидов голотурий. Мы хотим проследить на примере тритерпеновых гликозидов голотурий наиболее общие закономерности эволюции биомолекул и соотнести их с известными сравнительным анатомам общеморфологическими закономерностями эволюции живых организмов. Мы также считаем необходимым привести в книге определенные сведения о биологии и биохимии голотурий, чтобы показать место тритерпеновых гликозидов среди других функциональных систем и подсистем организма-продуцента. Химическая изученность голотурий крайне неравномерна, данные по биологической активности известных гликозидов также довольно фрагментарны. Однако, задумывая эту книгу, мы руководствовались словами известного ученого-океанографа, адмирала российского флота С. О. Макарова: "Я считаю, что обобщение никогда не преждевременно - оно может быть основано на большом числе наблюдений или на малом, иметь более прочный фундамент или менее прочный фундамент, но оно всегда полезно для обзора и проверки уже сделанного и для того, чтобы правильно наметить ход дальнейших наблюдений. Откладывая обобщения, мы рискуем потратить напрасно многие годы." (1894, цит. по: Зубов, 1956. С. 5).

По словам Л. П. Татарина (1985), в последнее время наметился некоторый разрыв между молекулярной и организменной биологией. Многие представители "классических" направлений в биологии зачастую недооценивают возможности современных химических методов. Биохимики же, наоборот, игнорируя весь огромный опыт, накопленный в "старых" областях биологии, занимаются поисками самого надежного признака в систематике, считая именно свою науку наилучшим средством решения всех биологических проблем. Такой подход, как нам представляется, сходен с поисками панацеи, философского камня или всемогущего и единственно верного учения. Весь дра-

матический ход истории науки, да и общества, особенно в XX в., показывает несостоятельность такого подхода, но тем не менее подобные воззрения еще очень живучи.

Мы надеемся, что настоящая книга хотя бы частично поможет преодолеть разрыв, обозначившийся между различными отраслями биологии, и позволит наглядно продемонстрировать целостность биологической науки и взаимосвязанность составляющих ее дисциплин.

Авторам приятно выразить искреннюю признательность за критические замечания и полезные рекомендации Е. Н. Грузову и А. В. Смирнову (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург), А. Н. Малютину (Институт биологии моря ДВО РАН, Владивосток), М. Г. Пименову (Ботанический сад Московского государственного университет), а также О. Б. Максимову и П. Г. Горовому (Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток). Мы хотели бы особо отметить ценные рекомендации Н. Н. Иорданского (Институт эволюционной морфологии и экологии животных им. А. Н. Северцова РАН, Москва), касающиеся методологии анализа структурно-функциональных отношений гетерогенных адаптивных комплексов.

В обсуждении отдельных разделов этой работы принимали участие академик Российской академии наук Г. Б. Еляков, Дж Бейкер (J. Baker) и П. Мэрфи (P. Murphy) (Australian Institute of Marine Science, Cape Ferguson, Queensland, Australia), а также К. Джерасси (C. Djerassi) (Stanford University, Stanford, California, USA). Мы благодарны им за высказанные критические замечания. Мы также благодарны Международному научному фонду (Фонд Джорджа Сороса) и Российской Академии Естественных наук (программа "Биоразнообразие") за финансовую поддержку. В настоящей работе использованы экспериментальные данные сотрудников Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН - С. А. Авилова, И. И. Мальцева, Ш. Ш. Афиятуллова, Д. Л. Аминина, Г. Н. Лихацкой, Ю. И. Гришина, Т. А. Кузнецовой, Н. И. Калиновской, Г. К. Олейниковой, которым мы выражаем глубокую благодарность.

Мы хотели бы особо отметить помощь, оказанную заведующим лабораторией биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ ТИБОХ ДВО РАН доктором биологических наук М. М. Анисимовым и сотрудником этой лаборатории кандидатом биологических наук Н. Г. Прокофьевой, в подготовке и редактировании главы 5 настоящей книги и выразить им искреннюю признательность.

1. БИОЛОГИЯ ГОЛОТУРИЙ

1.1. Общая характеристика

Голотурии, или морские кубышки, один из классов типа Иглокожие (Echinodermata). Около 2000 видов. Тело обычно удлинённое вдоль орально-аборальной оси. Размеры от нескольких миллиметров до 2 м. Рот, окруженный венчиком щупалец, располагается на переднем конце тела, анус - на заднем. На фоне пятилучевой симметрии хорошо выражена вторичная билатеральная симметрия. Амбулакральные желобки отсутствуют. Скелет обычно редуцирован до микроскопических телец - спикул, или склеритов; вокруг пищевода залегает окологлоточное известковое кольцо.

В большинстве донные животные, живущие на поверхности грунта или закапывающиеся в его верхний слой. Питаются дисперсным органическим веществом и мелкими организмами, взвешенными в воде, осажденными на грунт или захороненными в его толще.

Оплодотворение наружное. Яйца рассеиваются в воде или, реже, вынашиваются на теле. Развитие обычно с несколькими личиночными стадиями, но может быть сокращено.

Распространены во всех океанах и морях с океанической солёностью от экватора до самых высоких широт на различных глубинах - от литорали до ультраабиссали.

1.1.1. Морфология

Внешнее строение. Тело подразделяется на 10 антимеров - пять радиусов (амбулакров) и пять интеррадиусов (интерамбулакров), слитых с общим телом. Три радиуса и два интеррадиуса относятся к брюшной стороне (тривиум), два радиуса и три интеррадиуса - к спинной стороне (бививиум). Форма тела значительно варьирует и может быть удлинённо-цилиндрической, червеобразной, округло-уплощенной, U-образной, сфериче-

ской. Поверхность тела гладкая или несет выросты различной формы, чаще конусообразные. Амбулакральные ножки располагаются по радиусам или разбросаны по всему телу, в некоторых группах ножки отсутствуют.

Околоротовые щупальца располагаются в один или несколько кругов, их число варьирует от 8 до 30. Форма щупалец весьма разнообразна - щитовидные, пальчатые, перистые и др. Щупальца (иногда вместе с частью переднего конца тела - интровертом) могут втягиваться внутрь тела.

Стенки тела, включающие покровный эпителий, соединительную ткань, слой кольцевых мышц и целомический эпителий, образуют кожно-мышечный мешок, заключающий обширную вторичную полость тела. Толщина стенки тела в различных группах значительно варьирует. Вдоль радиусов располагаются пять продольных мышечных лент; могут также присутствовать мышцы-ретракторы, обеспечивающие втягивание интроверта.

Скелетные элементы - спикулы - состоят из карбонатов кальция и магния и имеют характерную микроструктуру - стереом. Спикулы, как правило, имеют микроскопические размеры и залегают в коже тела, щупалец, ножек и некоторых внутренних органов. Они чрезвычайно изменчивы по форме и представляют собой перфорированные пластинки, палочки, башенки, ступльчики, корзинки, якоря, колеса и т. д. В присоске амбулакральных ножек обычно развита крупная опорная пластинка. В ряде групп развивается скелет из макроскопических пластинок, покрывающих тело. Наиболее крупной скелетной структурой является окологлоточное известковое кольцо, состоящее из пяти радиальных и пяти интеррадиальных пластинок. У некоторых видов голотурий скелетные элементы могут редуцироваться и даже почти исчезают.

Амбулакральная система включает окологлоточный кольцевой канал, от которого отходят пять радиальных каналов, располагающихся вдоль меридианов тела (у некоторых видов могут отсутствовать), и каналы, ведущие к щупальцам и их ампулам. От радиальных отходят каналы к амбулакральным ножкам со своими ампулами. Непосредственно с окологлоточным каналом

соединены полиевые пузыри и, в дорсальном интеррадиусе, каменный канал. Последний заканчивается мадрепоритом, который чаще свободно свешивается в полость тела. Компактная система органов, включающая кольцевой амбулакральный сосуд, окологлоточные участки радиальных каналов, известковое кольцо, передний участок пищеварительной системы и объединяющую их мембрану, называется аквафарингеальным комплексом.

Пищеварительная система открывается ртом, окруженным пищедобывательными структурами - щупальцами и ведущим в глотку, далее идет пищеварительная трубка. Последняя неоднородна по своему строению и подразделяется на отделы, количество и степень выраженности которых значительно варьирует. Наиболее часто выделяют пищевод, переднее нисходящее, среднее восходящее и заднее нисходящее колена кишки и клоаку, открывающуюся наружу анальным отверстием. Кишечник фиксируется в полости тела системой мезентериев, клоака - крепящимися к стенке тела соединительнотканными тяжами. Каких-либо специальных пищеварительных желез у голотурий нет.

Специальная выделительная система у большинства голотурий отсутствует; у некоторых видов развиваются связанные с мезентерием ресничные воронки.

Кровеносная (или гемальная) система представлена кольцевым окологлоточным сосудом, залегающим в аборальной стенке кольцевого амбулакрального канала, и двумя крупными сосудами, сопровождающими кишечник - мезентериальным и антимезентериальным. Многочисленные разветвления и анастомозы сосудов средней части кишечника могут образовывать мощное сплетение, называемое "чудесной сетью". Степень развития кровеносной системы значительно варьирует - от сосудов, залегающих в толще соединительной ткани и не имеющих собственной эпителиальной выстилки, до системы мускульных однокамерных сердец.

Нервная система подразделяется на два отдела - эктоневральный и гипоневральный. Эктоневральный отдел включает нервное кольцо, от которого отходят щупальцевые нервы, и пять радиаль-

ных нервных стволов, залегающих в каналах, вытянутых вдоль амбулакров. По пути следования этих стволов от них отходят волокна, иннервирующие амбулакральные ножки и образующие субэпидермальное и субэпителиальное нервные сплетения. Гипоневральный отдел представлен только радиальными стволами, слепо заканчивающимися в переднем и заднем концах тела; они залегают вдоль амбулакров несколько глубже эктоневральных стволов. По длине гипоневральных тяжей от них отходят многочисленные волокна, непосредственно иннервирующие кольцевые и продольные мышцы тела и принимающие участие в образовании нервных сплетений.

Гипоневральный нервный ствол сопровождается по всей длине гипоневральным синусом, отделяющим нервные стволы от лежащих глубже кровеносных и амбулакральных каналов. Этот синус некоторыми авторами обозначается как специальная перигемальная система, для чего, как отмечала еще Л. Хаймен (Human, 1955), нет достаточных оснований.

Органы чувств представлены чувствительными клетками, располагающимися на окологротовых щупальцах и амбулакральных ножках и выполняющими осязательные функции, и светочувствительными пигментными пятнами. В некоторых группах развиваются органы равновесия - статоцисты.

Половая система представлена единственной половой железой, состоящей из отдельных трубочек, иногда ветвящихся. Половая железа прикрепляется к дорсальному мезентерию, располагаясь двумя пучками по обе его стороны; один пучок может редуцироваться. Гонодукт залегают в мезентерии и открываются наружу в дорсальном интеррадиусе позади щупалец.

В ряде групп голотурий развиваются органы дыхания - водные легкие. Это парные сильно разветвленные тонкостенные мешковидные образования, открывающиеся в клоаку. Водные легкие прикрепляются к стенке тела и кишечнику мышечными и соединительнотканными тяжами. Левое легкое обычно развито значительно сильнее и находится в тесном контакте с кровеносной системой.

Крайне своеобразные структуры, не имеющие аналогий в других группах животного царства, - встречающиеся у некоторых голотурий кювьеровы органы. Они имеют вид пучка нитей, отходящих от клоаки. Форма и строение органов значительно варьируют. Чаще они трубчатые, но просвет может отсутствовать. Основную массу органа составляют запасающие клетки, в некоторых случаях имеются клетки, содержащие клейкий секрет. Наиболее развитые структуры содержат в наружном слое спирали из упругих коллагеновых волокон. В нормальном состоянии витки спирали плотно прилегают друг к другу и удерживаются эпителиальным чехлом.

На рисунке 1.1 приведено в качестве примера внутреннее строение *Apostichopus japonicus* (дальневосточного трепанга).

1.1.2. Физиология

Мышечный аппарат. Мышцы голотурий гладкие; на сокращенных волокнах продольных мышечных лент наблюдается слабая поперечная исчерченность. Возможности мышц голотурий довольно ограничены; сложные движения тела и отдельных структур осуществляются при участии жидкости полости тела и амбулакральной системы. Продольные мышцы играют основную роль в локомоции, которая осуществляется посредством изменения формы тела, вызываемого волной мышечного сокращения. Амбулакральные ножки (когда они имеются) выполняют преимущественно функцию прикрепления и сами в продвижении тела участия не принимают. Сокращение мышечных лент по всей их длине вызывает укорочение тела, сокращение проксимальных отделов - втягивание переднего конца тела. Сокращение кольцевых мышц приводит к удлинению тела. Мышцы-ретракторы, имеющиеся у некоторых голотурий, обеспечивают втягивание интроверта с аквафарингеальным комплексом.

Целом и целоמוциты. Вторичная полость тела содержит жидкость, по составу весьма близкую к морской воде. Перивисцеральная жидкость находится в постоянном движении, обусловленном действием ресничек целомического эпителия и

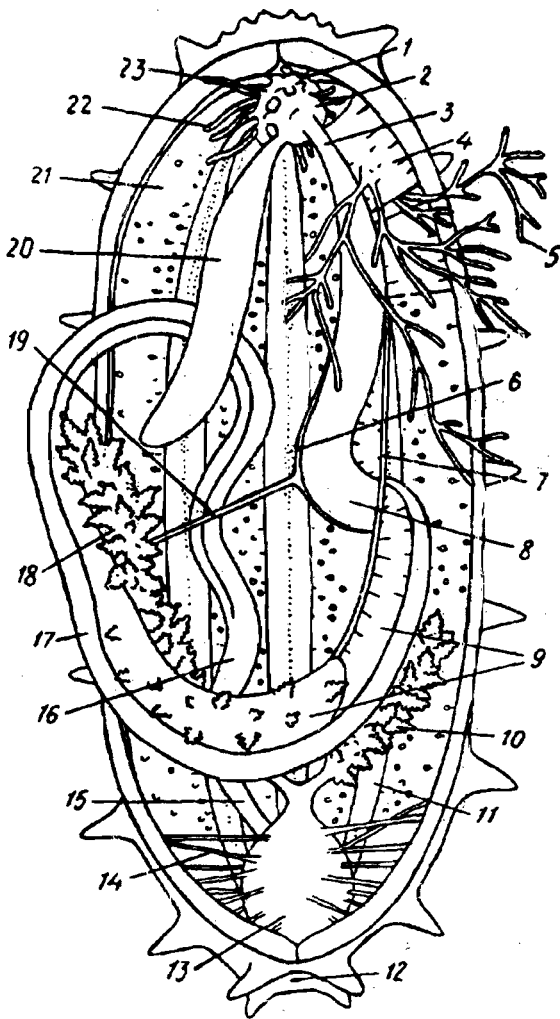


Рис. 1.1. Внутреннее строение дальневосточного трепанга (по: В. С. Левин, 1982). 1 - каменный канал; 2 - кольцевой канал амбулакральной системы; 3 - пищевод; 4 - мезентерий; 5 - половая железа; 6 - антмезентерияльный кровеносный сосуд; 7 - мезентерияльный кровеносный сосуд; 8 - переднее нисходящее колено кишки; 9 - "чудесная сеть"; 10 - правое водное легкое; 11 - продольные мышечные ленты; 12 - анальное отверстие; 13 - клоака; 14 - подвесочные тяжи клоаки; 15 - задняя кишка; 16 - заднее нисходящее колено кишки; 17 - среднее восходящее колено кишки; 18 - левое водное легкое; 19 - соединительный кровеносный сосуд; 20 - полиев пузырь; 21 - ампулы амбулакральных ножек; 22 - ампулы щупалец; 23 - окологлоточное скелетное кольцо

периодическим изменением объема внутренних органов и формы тела. В жидкости распределены многочисленные клетки-целомоциты нескольких типов: амeboциты, лимфоциты, морула-клетки и кристаллические клетки. Целомоциты принимают участие в процессе свертывания крови, пищеварении.

Амбулакральная система с функциональной точки зрения представляет собой гидравлическую систему, элементами которой является каменистый канал с мадрепоритом (заборное устройство), полиевы пузыри (гидроаккумуляторы), ампулы около-ротовых щупалец, амбулакральных ножек и некоторые участки крупных сосудов (гидронасос), щупальца и амбулакральные ножки (силовой гидроцилиндр). Основным локомоторным элементом системы является амбулакральная ножка и связанная с ней ампула. Отдельный элемент может отключаться от остальной части системы обратным клапаном, открываемым специальной внутренней мышцей. Повышение давления вызывает осевое удлинение амбулакральных придатков; их укорочение и изгибание осуществляется одновременным или односторонним сокращением соответствующих мышц.

Помимо локомоции амбулакральная система принимает участие в транспорте питательных веществ, выделении, дыхании и передаче раздражения от чувствительных окончаний.

Кровеносная система. Кровь голотурий представляет собой бесцветную жидкость, содержащую целомоциты. Функция кровеносной системы голотурий остается во многом неясной. Тесная связь ее с кишечником указывает на возможность участия крови в процессе пищеварения, но прямых доказательств такого участия нет. Кровеносная система играет определенную роль в процессе дыхания. Высказывается предположение (Herreid et al., 1976), что стенки кровеносных сосудов являются местом образования целомоцитов.

Нервная система. Роль центрального нервного аппарата выполняют окологлоточное нервное кольцо и вся система радиальных нервных стволов и субэпидермальных и субэпителиальных нервных сплетений. Так, импульсы, поступающие из нервного кольца и радиальных нервов, координируют волны сокращений

продольных и кольцевых мышц, участвующих в локомоции и действии структур, обеспечивающих дыхательные движения. Однако строение нервной системы обеспечивает значительную автономность отдельных участков тела. Ритмическая пульсация клоаки иннервируется из задней части тела. Нервные импульсы, поступающие из передней части тела, не являются обязательными даже для обеспечения такого сложного действия, как переворачивание тела в нормальное положение (райтинг).

Пищеварительная система лишена каких-либо специализированных железистых придатков, и локализация источника образования пищеварительных ферментов окончательно не выяснена. В составе ферментов присутствуют протеаза, амилаза, пектиназа, альгиназа, нуклеаза; сомнение вызывает присутствие целлюлазы. Эксперименты с изолированным кишечником показывают, что стенки пищеварительной трубки проницаемы в обоих направлениях для воды, но абсолютно непроницаемы для хлоридов, сахаров, мочевины, в связи с чем возникает вопрос о механизме всасывания питательных веществ. Имеются данные, что в транспорте нутриентов через стенку кишечника активно участвуют целомоциты. Помимо внеклеточного у голотурий показано и внутриклеточное пищеварение. Допускается также и возможность поглощения питательных веществ через покровы тела.

Время переваривания пищи зависит от особенностей строения пищеварительной системы, размера животных, состава пищи. В разных группах голотурий оно варьирует очень значительно - от нескольких часов до нескольких минут.

Характерная особенность голотурий - способность к эвисцерации - аутомии органов пищеварительной системы и других внутренних органов. В разных группах голотурий наблюдаются два основных типа эвисцерации: 1) разрыв пищеварительной трубки происходит в области пищевода и клоаки, отбрасываются также водные легкие (одно или оба) и гонада, реже - "чудесная сеть"; комплекс аутомированных органов выбрасывается наружу через анальное отверстие, 2) разрыв происходит по передней части глотки и клоаке, отбрасывается аквафарингеальный комп-

лекс и весь кишечник; органы выбрасываются через ротовое отверстие.

Эвисцерация вызывается разными факторами: часто (но не обязательно) механическим раздражением животного, повышением температуры воды, химическими агентами. Помимо эпизодической некоторым группам голотурий свойственна сезонная эвисцерация.

Дыхательная система. Основная часть потребляемого голотуриями кислорода и выделяемого углекислого газа поступает через покровы тела и амбулакральных придатков - амбулакральных ножек и окологротовых щупалец. У голотурий, обладающих водными легкими, эти структуры принимают значительное участие в дыхании. Их функционирование связано с пульсирующими движениями клоаки, обеспечивающими поступление воды в полость тела и ее отток. Стенки водных легких омываются снаружи целомической жидкостью, а левое легкое соприкасается (но не срачивается) с кровеносными сосудами "чудесной сети". Обеспечение обмена кислородом и углекислым газом осуществляется диффузией через стенку терминальных пузырьков, представляющих собой полупроницаемую мембрану. Дыхательные движения голотурий - сложный акт, в котором согласованно участвуют мышцы водных легких, клоаки и тела. Кроме дыхательной водные легкие выполняют и экскреторные функции и участвуют в поддержании тургора целомической жидкости.

Кювьеровы органы. В литературе широко распространено мнение, что общей функциональной особенностью кювьеровых органов является способность выбрасываться за пределы тела (Human, 1955; Halstead, 1965; Орлов, Гелашвилли, 1985; Lawrence, 1987; и др.). У некоторых видов голотурий при определенных условиях (чаще при механическом раздражении животного) происходит "разрядка" органов: витки коллагеновой спирали, образующей их поверхность, увеличиваются в диаметре и отходят друг от друга, вследствие чего поперечник и длина органов увеличиваются в два - три раза: покрывающий чехол лопается, обнажая клетки, содержащие клейкий секрет, и пучок

клейких нитей выбрасывается через анальное отверстие или, реже, разрыв стенки тела. Механизм разрядки не ясен. Высказывалось предположение, что она инициируется нагнетанием жидкости в полость кювьеровых органов. Однако таким образом нельзя объяснить функционирование структур, не имеющих полости.

Способность к разрядке кювьеровых органов демонстрирует только часть (около половины) видов голотурий, обладающих этими структурами. У многих видов кювьеровы органы не выбрасываются при любых механических раздражениях (Левин, 1979б, 1989а). Примечательно, что способность к разрядке не связана однозначно со строением органов - имеются виды голотурий, у которых строение кювьеровых органов достигает высокого совершенства и их спиральные структуры прекрасно развиты, однако они никогда не выбрасываются. Биологическую роль кювьеровых органов обычно связывают с очень высоким содержанием в них ихтиотоксичных тритерпеновых гликозидов (Halstead, 1965; Vakus, 1968, 1973; Орлов, Гелашвилли, 1985) и приписывают им защитную функцию. Однако без анализа распределения различных структурных вариантов тритерпеновых гликозидов в разных группах голотурий однозначно объяснить способность кювьеровых органов к выбрасыванию или отсутствие таковой, по нашему мнению, невозможно. Вопрос о биологической роли кювьеровых органов будет рассмотрен далее во взаимосвязи с эволюцией структур тритерпеновых гликозидов.

1.1.3. Общий химический состав

Для общего химического состава тканей голотурий характерно низкое содержание белков и углеводов и очень высокое - солей и воды. В соединительной ткани очень высокое содержание коллагена. Целомическая жидкость по составу близка к морской воде и содержит небольшое количество липидов, белкового и небелкового азота и сахаров. Из-за более высокого по сравнению с окружающей водой содержания CO_2 эта жидкость имеет более кислую реакцию, она обладает сильными буферными свойствами в

диапазоне рН 6,0 - 7,5 (карбонат-бикарбонатная система). Жидкость амбулакральной системы отличается от морской воды более высоким содержанием иона калия.

Скелетные элементы состоят из углекислого кальция в форме минерала кальцита ($MgCO_3$ в твердом растворе с $CaCO_3$). Величина кальций-магниевого отношения повышается по мере продвижения от экватора к более высоким широтам.

1.1.4. Образ жизни

Голотурии обитают в морях с нормальной океанической соленостью и только иногда встречаются в районах, где соленость может снижаться до 20‰. Температурный диапазон обитания очень велик - от постоянных отрицательных значений температуры воды до 50°C (тропические литоральные ванны). Голотурии способны выдерживать довольно значительное снижение содержания в воде кислорода, но обычно в местах их обитания кислород не является лимитирующим фактором.

Большинство голотурий - донные животные, но некоторые мелководные виды способны плавать, а среди глубоководных есть бентопелагические и даже планктонные формы. Донные голотурии освоили все типы грунта - от скал до жидких илов. Они живут на поверхности субстрата или закапываются в верхний слой рыхлого грунта. Характеристики грунта особенно важны для инфаунных видов, поскольку определяют не только условия питания, но и успешность закапывания.

Эпибентические голотурии значительно различаются по степени подвижности - от очень подвижных видов до практически неподвижных. Подвижность закапывающихся голотурий обычно очень ограничена.

Поведение многих видов мелководных голотурий подчиняется циркадным (внутрисуточным) и сезонным ритмам. Периоды снижения активности обычно связаны с ритмом размножения или/и питания; у разных видов они приходятся на разные периоды года, в связи с этим различают состояния летнего (эстивация) и зимнего (гибернация) гипобיוза. Периодические

колебания активности свойственны не только видам из умеренных вод, но и тропическим. В неактивный период голотуриям часто необходимы специальные условия, в частности наличие убежищ, обеспечивающих их безопасность.

1.1.5. Питание

Голотурии - трофически очень специализированная группа: это типичные микрофаги, потребляющие органическое вещество - детрит и мелкие организмы, - взвешенное в толще воды, осевшее на поверхности грунта и захороненное в его толще. Собственно пищу голотурий составляют микроорганизмы, ассоциированные с частицами детрита; по поводу использования этими животными самого детрита мнения разных исследователей расходятся. Информация о возможности использования голотуриями в пищу водорослей и трупов донных животных, по-видимому, ошибочна (Левин, 1989б).

Все голотурии используют для сбора пищевых частиц околоротовые щупальца, но способы питания в разных группах значительно варьируют. В отношении состава и локализации потребляемых пищевых частиц всех донных голотурий можно разделить на две основные трофические группы - депозитофагов, использующих осевшее на грунт и захороненное органическое вещество, и сестонофагов, использующих взвешенную органику.

Голотурии-депозитофаги используют пищевые частицы, состав и физические свойства которых очень изменчивы. Форма щупалец животных этой трофической группы наиболее разнообразна: простые, пальчатые, пальцевидные, щитовидные, грибовидные и др. Характерная особенность питания депозитофагов - очень высокая доля в пищевом комке "балластных" неорганических компонентов - песка, обломков раковин и др. Эпибентические депозитофаги собирают пищевые частицы с поверхности твердых и мягких грунтов, реже - колониальных живых организмов. Инфаунные голотурии питаются в толще грунта, откладывая фекалии на поверхности грунта (конвейерный тип питания) или в его толще (туннельный); воронкостро-

ящие голотурии и сбор пищевых частиц, и дефекацию осуществляют на разных горизонтах грунта.

Голотурии-сестонофаги - группа, трофически значительно более однородная. Строение щупалец у всех ее представителей довольно однообразно, сходен и способ добывания пищи. Эти животные используют сестон (детрит + планктон), пассивно оседающий из толщи воды на их расправленные щупальца. У некоторых видов голотурий наблюдается смешанное питание - в зависимости от условий происходит переключение с питания взвешенной органикой на осажденную, и наоборот.

Относительно механизма захвата пищевых частиц щупальцами существуют различные мнения (обзор: Левин, 1989б). По-видимому, наиболее достоверна механико-адгезионная модель захвата.

1.1.6. Размножение

Голотурии в большинстве раздельнополы, реже встречается гермафродитизм. Половой диморфизм не выражен. Сроки и продолжительность нереста варьируют в разных группах и по площади ареала. Оплодотворение наружное, половые продукты выбрасываются в воду. У некоторых видов наблюдается псевдокопуляция - попарное сближение нерестящихся особей разного пола. Оплодотворенные яйца падают на дно или всплывают к поверхности воды, реже собираются на щупальца или поверхность тела. У некоторых видов развитие происходит в полости тела.

Развитие с рядом личиночных стадий. Полный метаморфоз включает стадии: диплеврула (форма сплюсненно-яйцевидная, ресничный шнур без петель), аурикулярия (тело с боковыми лопастями, ресничный шнур с петлями и изгибами), долиолярия (тело бочонковидное, пять поперечных ресничных поясов), пентакула (тело округлое, пять хорошо развитых околоротовых щупалец). Во многих группах голотурий развитие укороченное - планктонные стадии частично или полностью выпадают.

Личинки имеют хорошо развитый дифференцированный на отделы кишечник. У диплеврулы и аурикулярии рот располагает-

ся в центре брюшной стороны в углублении - вестибуле, у долиолярии рот смещается к переднему концу тела. У аурикулярии начинает формироваться амбулакральная система и появляются две спиккулы. Развитие дефинитивных органов начинается на стадии пелагической личинки. У пентактулы кишечник приобретает изгибы, из выпячиваний стенки кишечника формируются водные легкие.

Рост у голотурий довольно быстрый. Наблюдаются значительные возрастные изменения формы тела, формы щупалец, количества, размеров и формы спиккул. Какие-либо регистрирующие структуры у голотурий отсутствуют, поэтому возраст животных может быть определен только на основании прямых наблюдений или анализа размерной структуры популяции. Данных о продолжительности жизни очень мало: известно, что некоторые виды живут до 10 лет.

Голотурии обладают высокой способностью к регенерации, легко восстанавливают органы, утраченные в процессе эвисцерации, и поврежденные части тела. Способность восстанавливать утраченные части тела обеспечила возможность бесполого размножения, довольно обычного у ряда видов, преимущественно тропических. При этом тело голотурии делится поперечной перегородкой на две части, каждая из которых регенерирует недостающие органы.

1.1.7. Распределение, роль в сообществах

Голотурии распространены по всему Мировому океану от тропиков до Арктики и Антарктики, встречаясь на всех глубинах - от верхних горизонтов литорали до ультраабиссали. Во многих донных сообществах они занимают доминирующее по численности и биомассе положение. На отдельных участках сублиторали голотурии образуют скопления, плотность поселения на которых достигает 600 экз., а биомасса - 9000 г на 1 м² дна.

В распределении голотурий на шельфе прослеживается отчетливая широтная зональность. На мелководье тропической зоны средняя биомасса голотурий-депозитофагов значительно

выше таковой сестонофагов: в умеренных водах основную долю биомассы составляют сестонофаги, на втором месте - инфаунные депозитофаги, биомасса эпибентических депозитофагов очень мала. Несколько иная картина наблюдается при рассмотрении не биомассы, а обилия глотурий. Сестонофаги в умеренных водах образуют обширные поселения с очень высокой плотностью, в тропиках же их скопления локальны и плотность в среднем значительно ниже. Эпифаунные депозитофаги в тропиках очень многочисленны, в умеренных водах их очень мало, а в высоких широтах нет вовсе. Характер распределения инфаунных депозитофагов близок к таковому сестонофагов, но среднее обилие этой группы значительно ниже.

Рассмотренный характер распределения глотурий обусловлен рядом факторов, важнейшими из которых являются широтные изменения обилия и состава пищевого материала, интенсивности волнового воздействия и механических свойств донных осадков.

Глотурии оказывают мощное средообразующее воздействие, не только снижая содержание органического вещества у границы раздела вода - дно, но и перемещая огромные массы осадочного материала и изменяя физико-механические свойства донных грунтов. В характере и масштабах биодифференциации глотуриями осадочного материала проявляется отчетливая широтно-географическая зональность. В тропическо-субтропической зоне основной вид воздействия - интенсивное горизонтальное перемещение материала; в умеренных широтах воздействие наиболее интенсивно и многообразно, включая биотурбацию толщи осадка и биоосаждение; в ледовых зонах отмечено преимущественно биоосаждение.

1.1.8. Враги

В капитальной сводке Л. Хаймен (Hutman, 1955) сообщается: враги глотурий немногочисленны, однако указанные сведения к настоящему времени во многом устарели. Отмечены случаи поедания глотурий ракообразными (Magikawa, 1933; Pawson,

1966). Голотуриями питаются некоторые брюхоногие моллюски, в первую очередь представители родов *Tonna* и *Charonia*.

Голотурий могут поедать рыбы, это наблюдалось как в тропических (Bakus, 1968, 1973), так и в умеренных водах (Pawson, 1966; Jespersen, Lutzen, 1971; Mottet, 1976; Muskat, 1983). На мелководье на них нападают птицы, известны случаи потребления голотурий млекопитающими - каланами, моржами, китами (Mottet, 1976).

Наиболее активными врагами голотурий являются морские звезды (Pawson, 1966; Menge, 1972; Левин, 1989а,б). Среди этих хищников имеются виды, специализирующиеся на питании голотуриями.

1.1.9. Хозяйственное значение

Голотурий используют для приготовления пищевых продуктов, которым издавна приписывают помимо гастрономических и лечебные качества. Фармакологическая ценность продуктов из голотурий обусловлена высоким содержанием в них биологически активных соединений - тритерпеновых гликозидов, липидов, гексозаминов.

Промыслом используется около 70 видов голотурий. Это главным образом тропические виды, в умеренных водах добывают только три вида в Пацифике и один - в Атлантике. В год добывают около 14 - 15 тыс. т этих животных.

В пищу идет в основном кожно-мышечный мешок, из которого с помощью специальной обработки получают полуфабрикат, именуемый трепанг. Главная масса этого продукта через Сингапур и Гонконг импортируется из многих стран Азии, Африки, островов южной Пацифики, из Японии, Австралии. Ввезенный продукт потребляется на месте или реэкспортируется в другие районы. В некоторых странах в пищу используют другие части тела голотурий, например в Японии и на островах Тихого океана - кишечник, в США - продольные мышечные ленты.

В последние годы расширяется использование голотурий для непищевых целей: для получения БАВ и фармакологических препаратов.

1.2. Систематика

1.2.1. Систематика: принципы и направления

Систематика и филогенетика - в настоящее время активно развивающиеся области биологии, и посвященный им массив литературы весьма велик. С сожалением приходится констатировать, однако, что причина многообразия концепций и парадигм во многих случаях объясняется не столько притоком новых идей, сколько концептуальной и терминологической неопределенностью и неоднозначностью; поэтому полемика с постоянным повторением доводов и аргументов продолжается и конца ей не предвидится. Мы считаем необходимым перед тем, как рассмотреть систему и филогению голотурий и далее обсудить хемотаксономические данные, определить наше понимание проблемы.

Существует множество определений систематики (или таксономии) и системы организмов. В строгом смысле этого слова таксономия - учение о принципах и практике классификации, и как таковая составляет часть систематики, но на практике термины "систематика" и "таксономия" часто используются как синонимы. Поскольку нас здесь интересуют прежде всего прикладные применения систематики, воспользуемся "прагматическим" определением А. П. Расницына (1992): система живых организмов нам нужна для организации биологического разнообразия таким образом, чтобы облегчить нашу деятельность в отношении этого разнообразия. По мнению этого автора, основные функции системы: 1) служить универсальным (междисциплинарным) языком, для чего она должна формировать таксоны максимально осмысленными (информативными) с самых различных точек зрения, т. е. максимально

однородными внутри себя и максимально различными между собой, 2) свертывание информации и 3) предсказание свойств организмов по их положению в системе.

Любая система строится на основании анализа признаков организмов. Среди множества определений признака выберем, пожалуй, наиболее общее: признак есть любая особенность, выделяемая нами в качестве характеристики объекта и выражаемая в нашем языке через конкретное описание или понятие (Уемов, 1971). Из определения следует, что признаком организма может быть **любая** характеристика организма; то, что систематика живых организмов с момента своего зарождения до настоящего времени оперирует преимущественно морфологическими (анатомическими) особенностями, объясняется не только их высокой операциональностью. Для этого есть и более глубокое основание - именно морфологическое разнообразие может служить выражением биологической специфичности (Любищев, 1982), что справедливо по крайней мере для высших организмов. Свидетельством тому является наблюдаемое совершенствование морфоструктур в ходе их эволюции. Все попытки построить систему высших организмов исключительно или преимущественно на неморфологических, прежде всего биохимических признаках были безуспешными и, надо думать, такими и останутся. Сказанное, разумеется, вовсе не означает, что в использовании "новых" признаков для верификации системы и уточнения филогений нет нужды. В настоящей книге мы попытаемся обосновать именно полезность использования "химических" признаков на конкретных примерах.

Важнейшая задача систематики и филогенетики - анализ "вечной" методологической проблемы - соотношения между сходством, родством и системой (Павлинов, 1992). От понимания взаимосвязей между этими категориями в значительной степени зависит практический результат таксономических и филогенетических построений.

В настоящее время выделяются несколько основных направлений систематики. Так, А. И. Шаталкин (1988) называет: а) типологию (в более узком смысле - классическую, или

традиционную, систематику), б) эволюционную таксономию, в) филогенетическую систематику (филогенетику, кладистику) и г) количественную (нумерическую) систематику, подразделяющуюся на количественную фенетику и количественную кладистику. Чаще выделяются три главных направления: фенетика (сходственная систематика); кладизм, или кладистика (филогенетическая систематика, иногда - филогенетика), и традиционное направление (эволюционная систематика, по Расницину (1992) - традистика).

Фенетика при построении системы исходит непосредственно из сходства и различия свойств организмов; в отношении решения упоминавшейся "вечной" проблемы систематики и филогенетики это наиболее откровенная и прямолинейная концепция.

Идеологическим ядром кладизма является утверждение, что любое типологическое упорядочение (классификация) групп организмов филогенетически осмыслено в той мере, в какой оно отражает историю этих групп (Павлинов, 1990а). Интерес к кладистике, основания которой заложены работами В. Хеннига (Hennig, 1966), вырос на фоне развившегося на рубеже 60 - 70-х годов кризиса как "новой систематики" Дж. Хаксли, так и фенетики. Это направление усиленно развивалось, одновременно перерабатываясь и модифицируясь. Сейчас некогда монолитная концепция кладизма разделилась на несколько ветвей, существенно различающихся по взглядам. По первичному подходу Хеннига таксоны, охарактеризованные апоморфиями (апоморфный признак - признак, выделяющий монофилетическую группу и унаследованный членами группы от их общего предка; в этом случае в понятии апоморфии совмещаются два значения - состояние продвинутости признака и его гомологичность; по другой точке зрения - только продвинутый признак), делают систему изоморфной филогенезу и кладограмма однозначно отображается как система генеалогических отношений таксонов. По альтернативной точке зрения (паттерн-кладизм), первична упорядоченность, а филогенетическая ее интерпретация вторична.

Третье направление систематики и филогенетики - кладистика - пытается соединить преимущества фенетики и кладизма путем прямого учета в структуре системы как родства, так и сходства (Расницын, 1992).

Таким образом, упомянутые направления существенно различаются в оценке соотношения двух аспектов - классификационного и филогенетического. При оценке достоинств и недостатков этих направлений высказываются очень разные, часто противоположные суждения (Татаринов, 1976; Ashlock, 1979; Любищев, 1982; Farris, 1979; Ax, 1987; Prospects..., 1988; Заренков, 1988; Старобогатов, 1989; Павлинов, 1990а, 1992; Шаталкин, 1988, 1990, 1991; Левченко, 1992; Расницын, 1992; и др.). Мы не будем увеличивать число участников этой дискуссии. Отметим только, что кладистическая парадигма сейчас наиболее популярна во всем мире (еще недавно следовало бы сказать - кроме нашей страны, но в последние годы это направление энергично развивается и отечественными специалистами); язык кладистики все более становится универсальным языком систематики и филогенетики. В рамках кладистического подхода решаются, в частности, важные проблемы филогении типа Echinodermata (см. раздел 1.3.2).

В то же время по практическим результатам традиционная систематика явно более значима, чем другие направления - хотя бы из-за значительно большего времени существования. Поскольку все известные нам системы класса Holothurioidea построены именно в рамках традиционной систематики, ее мы и будем придерживаться в дальнейшем.

Процедура построения традиционной системы в общем виде следующая (Расницын, 1992). Анализируемая совокупность таксонов любым доступным способом разбивается на группы, представляющиеся максимально однородными. Эти группы анализируются на предмет их монофилетичности (монофилетичным признается таксон, нижняя граница которого пресечена единственной линией предков). Если доступные методы анализа не обнаруживают серьезных свидетельств полифилии, работа на данном этапе заканчивается, в противном

случае рекомендуется расширить круг признаков, и процедуру повторяют.

Среди специалистов - даже биологов, но не занятых практической систематикой, широко распространено убеждение, что, затратив должные усилия, можно построить единственную "правильную" систему. Применительно к такой "идеальной" системе часто используется определение "естественная", хотя проблема естественности системы гораздо многозначнее (см.: Любищев, 1982). Изменения в системе, выполняемые в ходе таксономической деятельности, воспринимаются как результат использования недостаточно "объективных" приемов обработки данных, а то и прямого брака в работе. Разумеется, в работе систематиков бывают ошибки - неправильные определения видовой принадлежности, недостаточно обоснованные таксономические решения и др., но вопрос гораздо глубже, и даже использование новых "надежных" признаков, кладистических построений и современных количественных методов не меняет сути дела.

Действительно, таксономическая неопределенность - неотъемлемое свойство любого таксономического исследования. Можно выделить следующие взаимосвязанные элементы этой неопределенности (Заренков, 1988).

1. Непостоянное таксономическое значение, относительность признака. Один и тот же признак независимо от его природы (морфологический, кариологический, биохимический и др.) позволяет выделить таксоны разных рангов, и ни один взятый отдельно признак не может служить показателем ранга обладающей им группы. Ч. Дарвин (1952. С. 409) так объяснял это явление: "...Размер различий в разных ветвях или группах, находящихся на одной ступени кровного родства с общим предком, может колебаться весьма значительно, так как он зависит от разных степеней изменений, пройденных этими группами".

2. Взаимная неадекватность диагнозов одного ранга. Даже близкие таксоны одного ранга основаны на разных признаках и характеризуются неодинаковым размахом изменчивости одного и того же признака. Такая неадекватность диагнозов присуща

всем таксономическим направлениям, хотя они расходятся в понимании сущности и причин этого явления.

3. Неопределенность числа рангов (ступеней) таксономической иерархии. Факт прямой зависимости между числом видов в таксоне и числом ступеней иерархии хорошо известен. Существует мнение, что система тем совершеннее, чем больше выделено рангов. Понятна зависимость сложности системы от изученности таксона. По мнению Заренкова, разноречивые суждения систематиков по поводу системы таксонов как бы воспроизводят в логических формах природную неопределенность.

4. Непостоянство структуры таксона. На любых уровнях таксономической иерархии таксон не имеет определенного положения в системе. Это явление отражает установленную Дарвином неоднозначность связи между степенью сходства и уровнем “кровного” родства и является одним из наиболее важных открытий традиционной систематики.

5. Политетичность таксономических диагнозов заключается в невозможности однозначно установить принадлежность таксона к таксону более высокого ранга, в частности, из-за неопределенных характеристик наличия-отсутствия признака типа “обычно”, “иногда”. Политетичность находится в тесной связи с названными выше явлениями.

Таксономическая неопределенность может (и должна) быть по возможности снижена использованием тех или иных приемов (напр.: Васильева, 1989), но принципиально она неустранима, и избавить систему от неопределенности значит лишить ее биологического содержания. По удачному определению Заренкова, систематика объективна неопределенностью своих суждений. Таким образом, проблема единственности таксономических построений, с одной стороны, нерешаема, а с другой - ее решение только снизило бы значение систематики.

1.2.2. Диагностические признаки голотурий.

Любой организм обладает неисчислимым множеством признаков, однако для целей систематики используются только те из

них, которые определяют сущность отдельных групп организмов, дают им глубокую характеристику. Наиболее резко бросающиеся в глаза или вообще легко определяемые характеристические признаки называют диагностическими. При определении систематической принадлежности голотурий характеризуются основные особенности внешнего строения и некоторых внутренних структур. Перечислим наиболее важные диагностические признаки:

ПРИЗНАК	СОСТОЯНИЕ
Внешнее строение	
Околоротовые щупальца,	
Форма	Простые, вильчатые, пальчатые, пальцевидные, щитовидные, древовидные, древовидно-разветвленные
Количество	8 - 30
Расположение	1 - 3 круга
Форма тела,	
Общая характеристика	Крепкое, вытянутое, червеобразное, колбообразное
Поперечное сечение	Круглое, трапециевидное, с уплощенной подошвой
Степень изогнутости	Прямое, слегка изогнутое, сильно изогнутое, U-образное
Положение рта	
Выросты,	
Размер	Мелкие, средние, крупные
Форма	Конусовидные, листовидные, иной формы
Количество	Редкие, многочисленные
Амбулакральные ножки,	
Расположение	По всей поверхности тела, по радиусам, на брюшной поверхности
Модификация	Неизмененные, преобразованы в папиллы, в выросты

Внутреннее строение

Стенка тела	Толстая, тонкая
Ампулы щупалец	Свободно свешиваются в полость тела, не свешиваются
Радиальные каналы	Имеются, отсутствуют
Каменистый канал	Открывается во внешнюю среду, в полость тела
Водные легкие	Отсутствуют, имеются
“Чудесная сеть”	Отсутствует, имеется
Продольные мышечные ленты	Одинарные, двойные
Интроверт и мышцы-ретракторы	Отсутствуют, имеются
Гонада	Из одного пучка, из двух пучков
Прочие внутренние структуры,	
Кювьеровы органы	Отсутствуют, имеются
Ресничные воронки	Отсутствуют, имеются
Известковое окологлоточное кольцо,	
Степень развития	Слабое, плотное, массивное
Цельность	Цельное, мозаичное (из небольших кусков)
Задние отростки	Отсутствуют, имеются, сильно развиты
Спикулы кожи тела,	
Объемные	Башенки, стульчики, корзинки, решетчатые, эллипсоиды, булавообразные тела
Полуобъемные	Псевдопряжки
Плоские	Перфорированные пластинки, пряжки, палочки, розетки, якоря, якорные пластинки, колеса, С-, S- и σ -образные тела

Кроме перечисленных выше морфологических (анатомических) признаков используются данные по размножению, питанию, экологии, распространению. В последние годы в систематике накапливается опыт использования данных по химическому составу.

1.2.3. Система класса

История разработки системы класса *Holothurioidea* довольно полно разобрана А. В. Смирновым (1984), поэтому здесь она не рассматривается. Мы принимаем деление класса на шесть отрядов, приведенное в работе Д. Поусона и Б. Фелла (Pawson, Fell, 1965), плюс отряд Гефиротуриида (Смирнов; в печати) и присоединяемся к мнению А. В. Смирнова о преждевременности выделения в классе подотрядов.

Класс Holothurioidea de Blainvill, 1834

Описание приведено в разделе 1.1.1. Семь отрядов.

Отряд Aspidochirotida Grube, 1840

Щупальца щитовидные, у нескольких видов древовидно-разветвленные, псевдодревовидные, в количестве 10 - 20. Тело обычно крепкое, с хорошо выраженной брюшной поверхностью. Рот вентральный или субвентральный. Амбулакральные ножки имеются, на спинной стороне часто преобразованы в чувствительные папиллы. Стенка тела толстая. Ампулы щупалец, если имеются, свободно свешиваются в полость тела. Каменистый канал с мадрепоритом свешивается в полость тела или открывается наружу. Водные легкие имеются. Кровеносная система развита очень сильно, включая "чудесную сеть". Продольные мышечные ленты двойные или, реже, одинарные. Интроверт и мышцы-ретракторы отсутствуют. Гонада из одного или двух пучков трубок. У ряда видов имеются кювьеровы органы. Известковое окологлоточное кольцо простое, массивное. Спиккулы: башенки, пряжки, перфорированные пластинки, С- и S-образные тела и др. Развитие со стадией аурикулярия. В подавляющем большинстве эпибентические формы. Питаются осажженным и, очень редко, взвешенным органическим веществом. Распространены на шельфе и в батiali. Три семейства.

Семейство Holothuriidae Ludwig, 1894

Щупальца щитовидные или, редко, древовидно-разветвленные. Тело крепкое или вытянутое, в сечении трапециевидное или округлое. Спинные выросты небольшие. Ампулы щупалец имеются. Каменистый канал открывается в полость тела. Продоль-

ные мышечные ленты двойные. Гонада двойная. Могут присутствовать кювьеровы органы. Спиккулы: башенки, пряжки, шиповидные тела, палочки, розетки и др. Распространены почти исключительно в сублиторали тропической и субтропической зон. Пять родов.

Семейство Stichopodidae Haeckel, 1896

Щупальца щитовидные. Тело крепкое, в сечении трапециевидное. Спинные выросты обычно в виде высоких конусов, реже листовидные. Ампулы щупалец имеются. Каменистый канал открывается в полость тела. Продольные мышечные ленты двойные. Гонада из одного пучка. Кювьеровы органы отсутствуют. Спиккулы: С- и S-образные тела, разветвленные палочки, башенки. Распространены в тропиках, несколько видов - в умеренных водах. Восемь родов.

Семейство Synallactidae Ludwig, 1894

Щупальца щитовидные. Тело удлиненное, в сечении округлое или с уплощенной брюшной стороной. Ампулы щупалец не развиты. Каменистый канал прикрепляется к стенке тела и может открываться наружу. Продольные мышечные ленты одинарные. Гонада из одного или двух пучков. Кювьеровы органы отсутствуют. Спиккулы: столики с очень длинными лучами, иногда С-образные тела и пряжки. Широко распространены. Большинство представителей обитают на больших глубинах вплоть до ультраабиссали, ряд видов поднимается до сублиторали. Около 15 родов.

Отряд Dendrochirotida Grube, 1840

Щупальца древовидные, в количестве 10 - 30, расположены в один или несколько кругов, часто два ventральных короче остальных. Форма тела очень сильно варьирует - вытянутая, сигаровидная, изогнутая, U-образная, уплощенная. Рот располагается терминально или смещен на спинную сторону. Поверхность тела гладкая, иногда несет выросты или покрыта слоем пластинок. Амбулакральные ножки располагаются по радиусам, разбросаны по всему телу или имеются только на брюшной стороне. Стенка тела обычно толстая. Ампулы щупалец не свешиваются в полость тела. Каменистый канал с мадрепоритом открывается в полость

тела. Водные легкие имеются. Кровеносная система хорошо развита, "чудесная сеть" имеется, но не контактирует с водным легким. Продольные мышечные ленты одинарные. Имеются интроверт и мышцы-ретракторы. Гонада из двух пучков. Известковое окологлоточное кольцо различной формы, его пластинки сплошные или мозаичные. Спиккулы: перфорированные пластинки, столики, корзиночки, клубочки, розетки и др. Развитие без стадии аурикулярия. Эпибентические или закапывающиеся формы. Питаются взвешенным органическим веществом. Обитают от литорали до батиаля по всему Мировому океану, наиболее многочисленны в умеренных водах. Семь семейств, здесь рассматриваются четыре.

Семейство Cucumariidae Ludwig, 1894

Щупалец 10. Тело округлое или вытянутое, в сечении круглое. Рот терминальный. Амбулакральные ножки располагаются преимущественно по радиусам. Стенка тела обычно толстая, плотная. Известковое окологлоточное кольцо простое, задние отростки короткие или отсутствуют. Спиккулы: пластинки, корзиночки, реже башенки. В основном эпибентические формы. Распространены от литорали до нижних горизонтов шельфа, в основном в умеренных и холодных водах. Около 30 родов.

Семейство Phyllophoridae Otergren, 1907

Щупалец 10 - 25, в один - три круга. Тело обычно сильно изогнутое или U-образное, передняя часть может сильно отличаться от остальной части тела окраской и структурой покровов. Рот терминальный. Амбулакральные ножки чаще разбросаны по всему телу. Известковое окологлоточное кольцо с длинными задними отростками, обычно мозаичное. Спиккулы: пластинки, розетки, столики. В основном закапывающиеся формы. Распространены на шельфе и в батиаля умеренных и тропических районов. Около 17 родов.

Семейство Sclerodactylidae Panning, 1949

Щупалец 10 - 20. Тело вытянутое прямое или U-образное, в сечении часто пентагональное. Рот терминальный. Амбулакральные ножки чаще распределены по радиусам. Известковое окологлоточное кольцо с задними отростками средней длины, цельное

или подразделяется на несколько крупных частей, но не монотипное. Спиккулы: пластинки, столики, палочки. Эпибентические и закапывающиеся виды. Распространены в основном на шельфе умеренных вод Северного полушария, встречаются в тропиках. Около 15 родов.

Семейство *Psolidae* Perrier, 1902

Щупалец 10. Тело уплощенное, со спинной стороны и с боков покрыто чешуеобразно налегающими пластинками, брюшная сторона уплощена в подошву, затянутую мягкой кожей. Амбулакральные ножки расположены двумя - тремя рядами только на брюшной стороне. Рот и анус смещены на спинную сторону. Известковое окологлоточное кольцо простое, без задних отростков. Спиккулы брюшной подошвы: пластинки, клубочки, корзинки. Только эпибентические формы; прикрепляются к камням, раковинам моллюсков и пр. Распространены от сублиторали до батииали по всему Мировому океану.

Семейство *Placothuriidae* Pawson et Fell, 1965 (2 вида)

Семейство *Paracucumidae* Pawson et Fell, 1965 (1 вид)

Семейство *Heterothyonidae* Pawson, 1970. (2 вида)

(здесь не рассматриваются)

Отряд *Dactylochirotida* Pawson et Fell, 1965

Щупальца пальцевидные или пальчатые, в количестве 8 - 30. Тело веретеновидное, U-образное или колбовидное, покрыто чешуеобразно налегающими пластинками. Рот и анус по концам тела или сближены и располагаются на "горлышке колбы". Амбулакральные ножки обычно располагаются по радиусам. Ампулы щупалец обычно не свешиваются в полость тела. Каменистый канал с мадрепоритом свободный. Продольные мышечные ленты одинарные. Водные легкие имеются. Интроверт и мышцы-ретракторы имеются. Известковое окологлоточное кольцо простое, без задних отростков. Экология почти не известна. В основном глубоководные формы. Три семейства (здесь не рассматриваются).

Отряд Molpadiida Haeckel, 1886

Щупальца пальчатые или пальцевидные, в количестве 10 - 15. Тело бочонковидное, обычно с вытянутым хвостиком. Амбулакральные ножки отсутствуют, кроме видоизмененных в анальные папиллы. Радиальные каналы амбулакальной системы имеются. Ампулы щупалец свободно свешиваются в полость тела или не развиты. Каменистый канал с мадрепоритом открывается наружу или в полость тела. Водные легкие имеются. "Чудесная сеть" не развита. Продольные мышечные ленты двойные или одинарные. Интроверт и мышцы-ретракторы отсутствуют. Известковое окологлоточное кольцо простое, массивное, с задними отростками или без них. Спикулы: пластинки разной формы, якоря, чашечки. Только закапывающиеся формы. Питаются органическим веществом, захороненным в толщу грунта. Распространены от сублиторали до абиссали по всему Мировому океану. Три семейства.

Семейство Molpadiidae J. Muller, 1850

Щупальца пальчатые, в количестве 10 - 15. Хвостовой отдел тела короткий. В коже тела располагаются овальные "кровяные" тела. Ампулы щупалец имеются. Каменистый канал с мадрепоритом открывается наружу. Продольные мышечные ленты двойные. Известковое окологлоточное кольцо с задними отростками, радиальные сегменты обычно имеют отверстия для прохождения радиального нерва. Спикулы: "стульчики", розетки, якорьки, пластинки, палочки. Три - девять родов.

Семейство Caudinidae Heding, 1931

Щупальца простые или с одной - двумя парами отростков, в числе 15. Хвостовой отдел длинный, короткий или не выражен. Ампулы щупалец имеются. Каменистый канал с мадрепоритом свободно свешивается в полость тела. Продольные мышечные ленты двойные. Известковое окологлоточное кольцо с задними отростками, радиальные сегменты не имеют отверстия для прохождения радиального нерва. Спикулы: пластинки, столики, корзиночки и др. Четыре рода.

Семейство Eurygidae Semper, 1868

Щупальца простые, в количестве 15. Хвостовой отдел короткий. Ампулы щупалец не развиты. Каменистый канал слепо заканчивается в стенке тела. Продольные мышечные ленты одинарные. Известковое окологлоточное кольцо без задних отростков, радиальные сегменты с отверстием для прохождения радиального нерва. Спикулы: башенки с выростом из трех стоек. Один род.

Отряд Apodida Brandt, 1835 (=Synaptida Mac Bride, 1906)

Щупальца простые, вильчатые, пальчатые, пальцевидные или перистые, в количестве 8 - 27. Тело обычно червеобразное. Рот терминальный или субвентральный. Амбулакральные ножки отсутствуют. Радиальные каналы амбулакральной системы отсутствуют. Стенка тела тонкая. Ампулы щупалец не свешиваются свободно в полость тела. Мадрепорит располагается в проксимальной или дистальной части каменистого канала. Каменистый канал открывается наружу или в полость тела. Водные легкие отсутствуют. Продольные мышечные ленты одинарные. Интроверт и мышцы-ретракторы отсутствуют. Могут присутствовать прикрепленные к мезентерию ресничные воронки (урночки). Известковое кольцо простое, массивное. Спикулы: якоря, якорные пластинки, колеса, сигмоидные тела. Развитие с личиночной стадией аурикулярия. Эпибентические и закапывающиеся формы. Распространены от литорали до ультраабиссали по всему Мировому океану. Три семейства.

Семейство Synaptidae Burmeister, 1837

Щупальца перистые, пальцевидные и простые, в количестве 10 - 27. Мадрепорит располагается в дистальной части каменистого канала. Ресничные воронки имеются. Известковое окологлоточное кольцо из 10 - 27 сегментов, без зубца на наружном крае. Спикулы: якоря и якорные пластинки. Распространены в тропиках и субтропиках. 17 родов.

Семейство Chiridotidae Ostergren, 1898

Щупальца вильчатые, пальчатые или перистые, в количестве 10, 12 или 18. Мадрепорит располагается в дистальной части каменистого канала. Ресничные воронки имеются. Известковое окологлоточное кольцо из 10 - 18 сегментов, без зубца на наруж-

ном крае. Спиккулы: колеса с шестью спицами и мелкими зубцами по наружному краю, сигмоидные тела. Восемь родов.

Семейство Myriotrochidae Theel, 1877

Щупальца пальчатые, в количестве 10 - 12. Мадрепорит располагается в проксимальной части каменистого канала. Ресничные воронки отсутствуют. Известковое окологлоточное кольцо из десяти сегментов, с большими зубцами на наружном крае. Спиккулы: колеса с восемью и более спицами и крупными зубцами по наружному краю. Преимущественно глубоководные формы. Восемь родов.

Отряд Elasipodida Theel, 1882

Щупальца щитовидные или пальчатые, в количестве 10 - 20, не втягиваются в полость тела. Форма тела чрезвычайно изменчива, могут развиваться различные придатки и выросты. Рот и анус вентральные. Амбулакральные ножки по бокам тела немногочисленные и очень крупные, на спинной стороне они видоизменяются в придатки различной формы: "гребни", "хвосты", "паруса" и др. Ампулы ножек и спинных выростов увеличены в размерах и образуют систему внутренних карманов и полостей. Каменистый канал с madreporitom открывается наружу или подходит к стенке тела. Водные легкие отсутствуют. Продольные мышечные ленты одинарные. Интроверт и мышцы-ретракторы отсутствуют. Гонада из одного или двух пучков. Известковое окологлоточное кольцо простое, степень его кальцификации сильно варьирует. Спиккулы: перфорированные пластины, крестообразные и гантелевидные пластинки с расширениями на концах, колеса с четырьмя отверстиями и др. Эпибентические, реже бентопелагические и планктонные формы. Питаются осажженным и (реже) взвешенным органическим веществом. Кроме одного вида, глубоководные формы. Распространены по всему Мировому океану. Пять семейств (здесь не рассматриваются).

Отряд Gephyrothuriida Heding, 1935

Щупальца пальчатые, с двумя парами отростков, в количестве 17 - 20. Тело сильно удлиненное, в сечении округлое. На спинной стороне крупные папиллы, по всему телу обычно разбросаны

ножки, преобразованные в сократимые папиллы. Ампулы щупалец не свешиваются в полость тела. Каменистый канал обычно рудиментарен. Интроверт и мышцы-ретракторы отсутствуют. Водные легкие имеются. Продольные мышечные ленты одинарные. Известковое окологлоточное кольцо простое, массивное. Спикулы: в стенке тела палочки, располагающиеся только в районе ануса, чаще полностью отсутствуют; в щупальцах прямые или изогнутые палочки с гладкой или шиповатой поверхностью и удлиненные перфорированные пластинки. Тело обычно покрыто посторонними частицами - песчинками, спикулами губок и пр. Только глубоководные формы. Одно семейство - *Gephirothuriidae* Kochler et Vaney, 1905.

Система отряда разработана недостаточно. Принадлежность к нему некоторых родов сомнительна; в частности, род *Pseudostichopus*, возможно, правильнее относить к сем. *Synallactidae* отряда *Aspidochirotida*.

1.3. Филогения

1.3.1. Филогенетика: общие соображения

Как уже отмечалось, взаимоотношение родства и системы - одна из важнейших биологических проблем. отождествление естественной и филогенетической систем чрезвычайно популярно и многими представляется едва ли не единственно возможным. Тем не менее огромное количество фактов не укладывается в эту концепцию и показывает, что филогенетическое родство является лишь одним из множества возможных критериев систематического единства и система должна отвечать определенным требованиям как к внутреннему единству, так и к ее эвристическим качествам (Любищев, 1982; Мейен, Чайковский, 1982). К сожалению, устойчивость основных таксономических проблем в биологии поразительна. снова и снова повторяются одни и те же

альтернативы, сменяются аргументы в пользу каждой из альтернатив, но "естественный отбор" разных взглядов оказывается неэффективным (Мейен, 1978).

Однако как ни расценивать значимость филогенетических построений, используются они очень широко. Считается, что цель филогенетики - дать развернутую панораму эволюционных преобразований, воссоздать общую картину морфологических изменений, раскрыть их природу, выявить специфические особенности и закономерности (Воробьева, 1986). В более узком значении филогенетика - метод построения филогенетических древ - кладограмм. Генеалогическая история организмов - филогенез - не подлежит прямому наблюдению, а может быть только реконструирована по его более или менее отдаленным результатам. В основе такой реконструкции лежит анализ унаследованности наблюдаемого сходства.

Согласно кладистской методологии пытаются различить унаследованное сходство (синапоморфное - гомологическое сходство, присутствующее в самой точке ветвления, т. е. возникшее у ближайшего общего предка, и симплезиоморфное - обусловленное признаками, унаследованными у более далекого предка) и сходство, приобретенное независимо в форме конвергенции, параллелизма, реверсии (гомоплазию).

Обратим внимание на одно существенное обстоятельство, касающееся кладограмм. В силу особенностей используемых в филогенетике методов узловую точку на кладограмме нельзя рассматривать как реально существующего предка. На данном уровне развития науки поиск реальных предков - задача, практически не решаемая (Шаталкин, 1988).

Кладисты исходят из презумпции познаваемости филогенеза: сходство следует считать унаследованным, пока и поскольку нет серьезных свидетельств противного. Это положение, сформулированное Хеннигом, может считаться центральным в филогенетике (Расницын, 1992).

А. И. Шаталкин (1990) полагает, что убеждение о соответствии сходства и родства, приводящее в целом к ошибочной практике обращения сходственных классификаций в генеа-

логические схемы, происходит из-за смешения разных понятий: роста и степени близости по родству. Представление о родстве дает генеалогия - схема, описывающая последовательность возникновения и замещения форм в процессе эволюции; близость по родству характеризует удаленность элементов генеалогии друг от друга. Сходственные классификации отражают не саму генеалогию (родство), а различные меры близости по родству, поэтому анализ сходства недостаточен для воссоздания картины родственных связей. О структуре генеалогий, точнее, о процессе расхождений форм в ходе эволюции можно обоснованно судить по апоморфным признакам.

Многие исследователи уверены, что постулируемая кладистами возможность при изучении сходства на кладограммах получить представление о родстве - иллюзия. Действительно, сходство и родство - принципиально не взаимозаменяемые отношения. Сходство - симметричное отношение: если "а" похоже на "б", то "б" похоже на "а"; родство же - несимметричное отношение: если "а" происходит от "б", их нельзя поменять местами. Любое сходство, в том числе биохимическое, остается сходством, потому что оно не отделяет предка от потомка (Заренков, 1988). Содержательный анализ причин, которыми может обуславливаться сходство, помимо родства, выполнил А. А. Любищев (1982).

Анализ сходства, как отмечалось, пытается ответить на вопрос о родстве. Цель анализа различия иная: выяснить направление изменений, определить, какие признаки являются примитивными (плезиоморфными), а какие - продвинутыми (апоморфными). Выявление направленности изменений, или поляризация морфоклины, может проводиться с использованием разных методов: палеонтологического, онтогенетического, метода аналогий и внегруппового сравнения. Последний основан на предположении, что модальность (состояние) признака, возникшая у более отдаленного предка, имеет шансы сохраниться у более широкого круга потомков. Поэтому модальность, найденную только внутри какой-то группы, с большой вероятностью

можно считать апоморфной по отношению к той, которая встречается также и за пределами этой группы (Расницын, 1992).

Несмотря на разнообразие используемых методов вопрос о разграничении признаков на исходные (примитивные) и производные (прогрессивные) остается одним из основных “камней преткновения” в практической филогенетике. Несомненно, что это отражает недостаточную прочность концептуального фундамента - неразработанность понятия прогрессивности в эволюции.

Наиболее широко распространено понимание биологического прогресса как морфологического усложнения систем и функций (Левченко, 1992). При этом прогресс связывается и даже отождествляется (напр., Заренков, 1988) с усовершенствованием приспособлений - представление, восходящее к концепции Ч. Дарвина, развитой А. Н. Северцовым. Эволюция понимается как процесс совершенствования и усложнения организации живых организмов. Главными направлениями эволюционного совершенствования принимаются ароморфозы - принципиальные изменения морфофизиологии, поднимающие организацию животного на более высокую ступень, и идиоадаптации - частные приспособления при сохранении общего уровня организации (Северцов, 1939).

Однако целый ряд крупных ученых, наиболее последовательным из которых был А. А. Любищев (1982), возражают против отождествления прогресса организмов с усовершенствованием приспособлений. Любищев выделяет три этапа эволюционного развития: очень быстрая прогрессивная эволюция, частный случай которой - ароморфозы; консервативная эволюция, в которой идиоадаптации - частный случай, поскольку эволюция может и не быть адаптивной; регрессивный этап: потеря изменчивости, регрессивное развитие и вымирание. В качестве примера того, что эволюция не всегда прогрессивна, Любищев приводит тип Echinodermata (подробнее об этом в следующих разделах).

При построении филогений используются различные методы, три из которых - сравнительно-анатомический, эмбриологический и палеонтологический можно считать классическими. Каждый из этих методов имеет целый ряд ограничений как частного, так и

общего характера (например, палеонтология бессильна в выявлении “тайной эволюции” - педоморфоза, то есть эволюции на основе педогенеза, при котором неоплодотворенные яйцеклетки развиваются еще в теле личинки - “личиночное развитие”), и ни один из них не обеспечивает достоверных результатов. Совместный анализ данных, полученных разными методами, повышает надежность выводов. Как отметил А. А. Любищев (1982. С. 207), преимущество имеет филогения “...которая строится не на основе изолированных ”достоверных” сравнений, а на объединении в комплексе ряда показаний, каждое из которых может обладать сравнительно небольшой вероятностью, но при объединении давать показания, близкие к достоверности”.

1.3.2. Филогения типа Echinodermata

Филогенетические отношения крупных таксонов иглокожих являются предметом многолетних дискуссий, но и в настоящее время в филогении этой группы имеется целый ряд спорных положений, в том числе и по принципиально важным вопросам.

Иглокожие относятся к числу очень хорошо изученных групп беспозвоночных, тем не менее их система интенсивно пересматривается, особенно в последние десятилетия. Вопросы систематики и филогении иглокожих являются в значительной степени предметом внимания палеонтологов, поскольку около 80% классов иглокожих - вымершие, а современные классы далеко не достаточно представительны для типа в целом (Арендт, 1983).

Подразделение типа Echinodermata на классы осуществляется на основании таких критериев, как план строения, ориентировка главной оси тела и ротовой стороны по отношению к субстрату, присутствие или отсутствие свободных лучей или рук, характер развития экстрасомальных органов (Соловьев, 1990). В настоящее время разные специалисты насчитывают до семи подтипов и 30 классов иглокожих, из которых валидными признаются минимум 20 классов (Арендт, 1983).

Система современных групп имеет более устойчивый характер. Наиболее принято включение в состав типа пяти современных классов: голотурии (Holothurioidea), морские лилии (Crinoidea), морские ежи (Echinoidea), морские звезды (Asteroidea) и офиуры (Ophiuroidea). Некоторые авторы рассматривают Asteroidea и Ophiuroidea как подклассы класса Stelleroidea или Somasteroidea, но такое понижение ранга указанных таксонов не меняет структуры системы. Оправданность выделения нового класса Concetricycloidea (Baker et al., 1986) вызывает сомнения у ряда специалистов. Так, Г. М. Беляев (1987) считает, что Concetricycloidea имеют ранг не выше отдельного отряда в системе Asteroidea.

До недавнего времени было широко распространено предложенное Ф. Бэзером (Bather, 1900) деление Echinodermata на подтипы Pelmatozoa, куда из современных классов входят морские лилии, и Eleuterozoa, включающий остальные четыре класса; в последние годы число сторонников выделения этих подтипов сильно уменьшилось. Х. Матсумото (Matsumoto, 1929) предложил деление иглокожих на три подтипа - Crinozoa (из современных классов - Crinoidea), Asterozoa (классы Asteroidea и Ophiuroidea) и Echinozoa (классы Echinoidea и Holothurioidea), в основу которого положены общая форма тела и положение рта по отношению к субстрату. Позже Х. Фелл (Fell, 1963) включил в "филетическую" характеристику указанных подтипов ростовые градиенты.

Неоднократно высказывались сомнения в филетической строгости этой системы. Б. Хог и Б. Белл (Haugh, Bell, 1980) отрицают систематическую значимость формы тела и указывают на "фантомность" концепции градиентов роста в их связи с симметрией. Тем не менее концепция сближения морских звезд и офиур получила очень широкое распространение и вошла во многие руководства (Treatise ..., 1978; и мн. др.).

В последние годы указанная схема получила поддержку сторонников кладистской методологии и в нее включены данные по сравнительной морфологии и эмбриологии (Treatise..., 1978;

Sprinkle, 1983; Paul, Smith, 1984; Smith, 1984, 1988), молекулярной биологии (Raff et al., 1988).

В схеме А. Смита (Smith, 1984) морские звезды, образующие надкласс Asterozoa, рассматриваются как примитивная сестринская группа по отношению к группе офиуры + морские ежи + голотурии (трактуемой как надкласс Cryptosyringida).

С начала века (Mac Bride, 1906) существует и концепция, согласно которой офиуры сближаются с морскими ежами. Эта схема основана преимущественно на значительном сходстве личинок ежей и офиур (эхино- и офиоплутеусы). Позиции эмбриологов как будто усилились после обнаружения в морских звездах и голотуриях специфических химических соединений - гликозидов (Stonik, Elyakov, 1988a, b). Такие же результаты дал анализ химического состава коллагена (Matsumura, Shigei, 1988).

Однако обоснование указанной концепции столкнулось со значительными трудностями. По мнению А. Н. Соловьева, возможности использования данных по личиночному развитию для анализа родства отдельных классов ограничены, что связано с независимой эволюцией раннего онтогенеза и ценогенетическими приспособлениями у личинок, отражающими зависимость от конкретных условий развития.

Гликозиды как показатель родственных отношений звезд и голотурий также имеют очень существенные недостатки: во-первых, стероидные гликозиды морских звезд и тритерпеновые гликозиды голотурий - соединения, химически достаточно отдаленные (Stonik, Elyakov, 1988a, b); во-вторых, накапливается все больше данных о возможности биохимических параллелизмов даже в отдаленных группах (подробнее см. в следующих разделах). Что же касается данных Матсумура и Шигеи, то имеющейся сейчас информации недостаточно для суждений о том, насколько химические характеристики коллагена отражают родственные отношения таксонов.

Положение голотурий в системе типа неоднократно менялось. Как уже отмечалось, наиболее распространено их объединение с морскими ежами в один подкласс Echinozoa. Однако эта схема поддерживается далеко не всеми исследователями. Л. Хаймен

(Huxley, 1955) полагала, что голотурии отделились от других иглокожих на очень ранней стадии и их эволюция проходила от общего ствола с криноидеями. Концепция примитивности голотурий долгие годы не имела сторонников и только в самое последнее время получила поддержку и развитие с использованием новых данных (Smiley, 1986, 1988). Построение системы Echinodermata выполнялось С. Смайли с кладистских позиций. По мнению этого исследователя, анализ гомологии должен обязательно включать онтогенетический компонент, который не может быть заменен другой информацией. Основные выводы сделаны им на основании исследования метаморфоза голотурии *Parastichopus californicus* (Smiley, 1986).

В схеме Смайли голотурии рассматриваются как самая примитивная группа, обособленная от остальных классов. Это положение он обосновывает такими характеристиками Holothurioidea, как особенности целомогенеза и конфигурации целома, отчетливая аксиальная симметрия, циркуморальная позиция первичных буккальных ножек и присутствие перивисцеральных целомических пор.

Гипотеза о примитивности голотурий встретила возражения Смита (Smith, 1988). Из высказанных им доводов наиболее убедительным представляется сомнение в примитивности такого признака, как окологотовые щупальца (см. ниже). В этом споре отчетливо прослеживается уязвимая черта кладистской методологии - она совершенно объективно выстраивает систему на основании анализа установленных примитивных и производных признаков, но та или иная трактовка примитивности некоторых признаков приводит к существенной перестройке кладограммы.

При обсуждении проблем эволюции Echinodermata необходимо принимать во внимание крайнее своеобразие исторического развития этого типа. В отличие от Mollusca, где легко проследить повышение организации от таких глубоко архаичных форм, как моноплакофоры, до "приматов моря" - головоногих, здесь расстояние "по вертикали" от примитивных до продвинутых групп очень мало; более того, сами эти понятия в применении к иглокожим довольно условны. Эту поразительную особенность

иглокожих прекрасно сформулировал наш крупнейший морфолог В. Н. Беклемишев (1964): "...Неисчерпаемые преобразования, непрерывная перестройка, громадное разнообразие направлений развития и почти полное отсутствие прогресса".

Применительно к иглокожим очень трудно выделить такие направления развития, как ароморфозы - разнообразные морфологические преобразования в этой группе осуществляются на одном адаптивном уровне. Крайне медленный прогресс иглокожих не связан с непосредственным влиянием среды. Более того, общие для животного царства закономерности связи образа жизни, прежде всего степени подвижности, с планом строения здесь не соблюдаются. Так, "упорный консерватизм" (термин А. А. Любищева, 1982) в сохранении радиальной симметрии, обычно присущий сидячим организмам, проявляют наиболее подвижные иглокожие - морские звезды и офиуры. Напротив, менее подвижные голотурии и морские ежи приобрели вторичную двустороннюю симметричность.

При анализе строения иглокожих создается впечатление, что какое-то важное ограничение препятствует их морфологическому совершенствованию и, лишённые возможности прогрессировать, они "занялись" бесконечными морфологическими преобразованиями. По нашему убеждению, это ограничение связано с уникальной в животном царстве морфологической особенностью иглокожих - амбулакральной системой; обоснование этого мнения выходит за рамки настоящей книги.

1.3.3. Филогения *Holothurioidea*

В отличие от остальных классов *Echinodermata*, в прослеживание исторического развития которых палеонтология вносит весьма существенный вклад, ископаемых свидетельств эволюции голотурий очень немного, и их исследование представляет значительные трудности. Действительно, известны только две палеозойские находки тел голотурий - из верхнего карбона и нижнего девона (Seilacher, 1961). Значительно чаще встречаются спикулы этих животных. Описаны находки спикул

Dendrochirotida и *Elasipodida* из девонских отложений, *Aspidochirotida* и *Molpadida* - из юрских, *Synaptida* - карбонских. Однако эти сведения в некоторых случаях вызывают сомнения, и нижнепалеозойские находки, по мнению Смита, могут принадлежать другим группам иглокожих. Достигнуты определенные успехи в соотношении ископаемых склеритов голотурий и спикул рецентных таксонов в *Apodida* (Смирнов, 1987, 1989) и *Elasipodida* (Гебрук, 1990). Исследование ископаемых склеритов голотурий - быстро развивающаяся область современной микропалеонтологии, но для суждения о родственных связях отдельных отрядов в пределах класса *Holothurioidea* сведений пока не достаточно. Поэтому при анализе филогении голотурий приходится главным образом прибегать к данным сравнительной морфологии, эмбриологии, биохимии.

Анализ строения голотурий наглядно демонстрирует отмеченную выше особенность эволюции *Echinodermata* в целом - морфологическое разнообразие и невыраженность прогресса. Обращает на себя внимание кажущаяся бесцельность приобретения (и потери) этими животными отдельных органов и их комплексов, в том числе и функционально как будто важных, таких, как амбулакральные ножки (отсутствуют у *Apodida* и *Molpadiida*), водные легкие (отсутствуют у *Apodida* и *Elasipodida*), мышцы-ретракторы (имеются только у *Dendrochirotida*), кювьеровы органы (имеются только у некоторых *Holothuriidae*). Разумеется, крупные утраты органов известны во многих таксонах животного царства, но там, как правило, их адаптивное значение легко прослеживается: например, змеи утратили конечности и смогли резко расширить свою адаптивную зону по сравнению с занимаемой другими рептилиями.

Ничего подобного не наблюдается у голотурий (и других иглокожих). То очень ограниченное число адаптивных зон, которое занимают эти животные, не требует существенных морфологических и физиологических перестроек. Трофическая специализация в тех немногих случаях, когда она наблюдается, достигается очень простыми морфофункциональными средствами, например увеличением размера щупалец (сем.

Holothuriidae) или изменением угла их наклона (сем. Cucumariidae) (Левин, 1989б). И только в тех единичных случаях, когда произошел прорыв голотурий в новую адаптивную зону - пелагиаль (такие случаи известны в нескольких семействах отряда Elaspodida и в сем. Synallactidae отряда Aspidochirotida) можно отметить некоторые анатомические перестройки, связанные с переходом к новому образу жизни (Гебрук, 1990).

Указанное обстоятельство очень затрудняет построение филогении голотурий. Необходимо также отметить, что разные таксоны изучены крайне неравномерно. Поэтому имеющаяся информация позволяет с большей или меньшей определенностью высказаться в отношении только некоторых проблем их родственных отношений.

Как было отмечено в предыдущем разделе, класс Holothurioidea подразделяется на семь отрядов. Установление взаимоотношений этих отрядов в пределах класса - одна из основных проблем при разработке их филогении. В частности, весьма важным вопросом является выяснение отношений отрядов Aspidochirotida и Dendrochirotida.

В литературе распространено представление о большей относительной древности дендрохиротид. Можно сформулировать следующие основные положения, на которых основано это утверждение: а) древовидные щупальца являются первичными по отношению к щитовидным, б) фоссилии дендрохиротид наиболее древние из известных науке и в) наиболее ранние иглокожие были сестонофагами, как и дендрохиротиды.

В фундаменте представления о примитивности древовидных щупалец лежит понимание щупалец современных голотурий как первичных структур - видоизмененных амбулакральных ножек. Действительно, голотурии - единственный класс иглокожих, у которого сохранилась оригинальная функция амбулакральной системы - поддержка циркуморальных пищевых щупалец (Bather, 1900; Human, 1955; Беклемишев, 1964; Paul, Smith, 1984). Однако вопрос о гомологии щупалец голотурий весьма сложен, и полемика по нему ведется уже столетие (Semon, 1888; Bury, 1895; Mac Bride, 1914; Иванова-Казас, 1978; Smiley, 1986,

1988; Smith, 1988). Доказано, что окологотовые щупальца голотурий закладываются независимо от радиальных каналов амбулакральной системы (Edwards, 1909; Newth, 1916, Oshima, 1918, 1921; Иванова-Казас, 1978; Smiley, 1986) и не являются их продолжением, как первичные ножки других иглокожих.

С. Смайли считает циркуморальную позицию первичных щупалец голотурий примитивной чертой. Возражая ему, С. Смит (Smith, 1988) пишет, что у наиболее древней палеозойской *Paleosucumaria* оральные трубчатые ножки расположены рядами по амбулакрам, а не кольцом, как у всех современных голотурий. Таким образом, кольцо буккальных ножек - производная черта в продвинутых группах голотурий. Отсюда следует, что использовать строение щупалец современных видов голотурий как аргумент при установлении отношений таксонов весьма затруднительно.

Совершенно не обосновано положение о морфологической примитивности древовидных щупалец (Roberts, 1982). Ошибочно также мнение этого автора о том, что древовидно разветвленные щупальца представителей подродов рода *Holothuria*: *Selenokothuria* и *Semperothuria* - являются промежуточными между древовидными и щитовидными - в действительности это вторично модифицированные щитовидные щупальца (Левин, 1989б). Несомненно, что и щитовидные и древовидные щупальца - очень совершенные, претерпевшие длительную эволюцию структуры; и те и другие - производные от каких-то первичных щупалец предковых голотурий.

Положение о том, что первые бентические организмы были сестонофагами, нельзя признать достаточно хорошо обоснованным, как, соответственно, и мнение о том, что сестонофагия современных дендрохиротид - анцестральная черта.

Довод о том, что наиболее древние голотурии - дендрохиротиды (кукумарииды), следовательно, вряд ли можно считать доказанным, и для решения этого вопроса необходима дополнительная информация.

Кратко рассмотрим отношения других отрядов класса *Holothurioidea*.

О положении элазиподид среди других отрядов голотурий высказываются очень различающиеся суждения. Некоторые исследователи, как упоминает А. В. Гебрук (1990), воспринимают ряд особенностей строения элазиподид как сходное с организацией строения личинок голотурий, что дает им основание располагать эльпидиид очень низко на эволюционном стволе голотурий и предполагать их педоморфное происхождение от общей для всех голотурий предковой формы. По мнению А. В. Гебрука, определенное сходство элазиподид, и в частности эльпидиид, с личинками голотурий носит, скорее всего, чисто внешний характер. Он полагает, что одна из причин такого сходства - прогрессивное упрощение (термин по: Миклин, 1983) некоторых структур. Гебрук считает, что морфологическая организация элазиподид свидетельствует об их продвинутом положении среди других голотурий.

Существует представление (Pawson, Fell, 1965) о близости *Elasipodida* и *Aspidochirotida*. А. В. Смирнов (1984) полагает, что мнение о близости *Aspidochirotida* и *Elasipodida* необоснованно. Признаки, сходные у обеих групп (вентральное расположение венчика щупалец, черты билатеральной симметрии, видоизменение дорсальных амбулакральных ножек в папиллы, или выросты), возникли конвергентно, а такие анатомические особенности *Elasipodida*, как расположение кишечного мезентерия, отсутствие свободно свешивающихся в полость тела ампул около ротовых щупалец, отсутствие водных легких, одинарные продольные мышечные ленты, резко отличают их от *Aspidochirotida*.

Неправомерно и представление о близости отрядов *Apodida* и *Molpadiida* (см. Смирнов, 1984). Признаки, сходные у этих групп - отсутствие амбулакральных ножек, наличие простых пальцевидных или перистых щупалец, присутствие у некоторых видов спикул в виде якорей, - чисто внешние, развившиеся конвергентно в результате сходного образа жизни. Ископаемые находки (Frizzel, Exline, 1955, 1966; Pawson, 1966) позволяют предположить, что *Apodida* - более древняя группа, чем *Molpadiida*. В пользу указанного положения свидетельствуют палеоэкологические данные, согласно которым закапывающиеся де-

позитофаги появились позже других экологических групп (Sprinkle, 1983). Положение о большем геологическом возрасте *Apodida* по сравнению с *Molpadiida* согласуется и с анатомическими сведениями - у первой группы редукции подверглись не только амбулакральные ножки, но и радиальные каналы амбулакральной системы.

В то же время несомненна определенная близость отрядов *Aspidochirotida* и *Molpadiida*. Их объединяют такие признаки, как наличие двойных мышечных лент, свободно свешивающиеся в полость тела ампулы щупалец, водные легкие, сходное расположение мезентерия, определенное сходство объемных спикул. Признаки же, различающиеся у обеих групп, по мнению А. В. Смирнова, явно связаны с образом жизни.

Филогенетические отношения некоторых групп голотурий более низкого ранга обсуждаются при рассмотрении химических данных.

2. БИОХИМИЯ ГОЛОТУРИЙ

2.1. Некоторые общие сведения о составе фракций и строении первичных и вторичных метаболитов иглокожих

Как уже отмечалось, химический состав тканей голотурий характеризуется низким содержанием органических соединений и высоким - солей и воды. Такая особенность хорошо известна и в отношении многих других морских беспозвоночных. Интересно, что как концентрация белков, липидов, углеводов, вторичных соединений, так и обводненность тканей голотурий подвержены значительным сезонным колебаниям. Максимумы в содержании тех или иных веществ обычно тесно связаны с периодами нереста и со способностью некоторых голотурий впадать в состояние гипобиоза. Например, количество воды в тканях *Apostichopus japonicus* варьирует в течение года от 86 до 96%, а содержание липидов - от 0,1 до 0,9 % от массы животных. В состоянии гипобиоза количество воды в тканях *Apostichopus japonicus*, например, растет, а концентрации липидов, белков и углеводов уменьшаются (Левин, 1982). Сезонные колебания характерны и для вторичных метаболитов голотурий. Так, Т. Матсуно и соавторы (Matsuno et al., 1973) установили резкие изменения в концентрации токсичных тритерпеновых гликозидов в различных тканях голотурий, собранных у побережья Японии. Максимально высокое содержание этих веществ наблюдалось в яичниках животных в конце лета. Сотрудники Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН, изучая колебания в содержании подобных веществ в различных возрастных группах *Cusumaria* (=Eupentacta) *fraudatrix*, показали, что концентрация этих гликозидов закономерно изменяется в зависимости от стадии индивидуального развития и достигает максимума при вступлении животных в стадию половой зрелости (Левин, Стоник, 1976). Подобные изменения концентрации тех или иных метаболитов, хотя они и глубоко затрагивают всю биохимию го-

лотурий, не являются чем-то исключительным и известны для многих групп как наземных, так и морских беспозвоночных.

С другой стороны, имеется целый ряд особенностей в протекании биохимических реакций в голотуриях и в иглокожих в целом, если сравнивать их с другими животными. Одной из таких особенностей следует считать интенсивность и глубину сульфатирования самых различных субстратов. Сульфатирование более характерно для морских беспозвоночных по сравнению с наземными. Однако даже среди морских беспозвоночных только в некоторых группах губок оно, по-видимому, достигает такой интенсивности и широты охвата различных субстратов, как в голотуриях. На долю сульфатных функций здесь может приходиться до 20 % и более от молекулярного веса метаболита, а среди сульфатированных производных идентифицированы самые различные по своему биогенезу соединения - от гликопротеинов до стероидов. Высокое содержание сульфат-ионов (до 300 мг%) в *Apostichopus japonicus* было найдено Е. Таникава и Т. Вакаса (Tanikawa, Wakasa, 1955). Список сульфатированных метаболитов голотурий включает мукополисахариды типа хондроитин-сульфата, полифукан сульфаты, сульфатированные стерины, сульфатированные алифатические спирты и сульфатсодержащие гликозиды (Tanikawa, 1955; Tanaka et al., 1972; Goad, 1976; Еляков, Стоник, 1988; Elyakov et al., 1990).

Состав фракций, химическое строение метаболитов и их биохимические превращения в иглокожих столь же необычны, как и многие черты биологии этих животных. При этом первичные метаболиты голотурий принципиально не отличаются от первичных метаболитов других животных, а для большинства вторичных метаболитов эти различия очевидны и существенны. В связи с этим, а также из-за меньшей изученности первичных метаболитов иглокожих по сравнению с их вторичными метаболитами последним в нашей монографии уделяется больше внимания.

2.2. Первичные метаболиты, включая биополимеры и их биосинтетические предшественники

Содержание различных белков в голотуриях может достигать 8 - 10 % от их сырой массы (Левин, 1982). В суммарной белковой фракции наибольшая доля приходится на белки соединительной ткани. Последние относятся к группе коллагеноподобных белков и характеризуются высоким содержанием глицина, пролина и аспаргиновой кислоты. Из других аминокислот в состав коллагенов, например в *Apostichopus japonicus*, входят аргинин, лизин, глутаминовая кислота, треонин - всего 17 аминокислот, причем около трети аминокислотных остатков принадлежит незаменимым аминокислотам (Наседкина и др., 1973).

Часть белков соединительной ткани представлена гликопротеинами и различными конъюгатами с полисахаридами. Важнейшими из этих соединений являются, очевидно, хондроитинсульфаты и полифукан-сульфат-белковые комплексы. Хондроитин-сульфаты относятся к группе сульфатированных мукополисахаридов, характерных для хрящевой ткани млекопитающих. Как правило, углеводная часть хондроитин-сульфатов построена из остатков β -D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил- β -D-галактозамина, сульфатированного либо по C-4, либо по C-6. Повторяющимся звеном в полисахаридной цепи является биозид, в котором эти моносахаридные остатки соединены между собой 1,3-связями. Углеводные компоненты связаны с белковыми составляющими молекул O-гликозидными связями и присоединены к гидроксильным группам остатков L-треонина или L-серина. В месте присоединения обычно находятся несколько остатков нейтральных сахаров - чаще всего D-глюкозы и D-ксилозы. Полисахаридные компоненты гликопротеинов этого типа известны под названием гликозаминогликанов, а их присутствие является типичным для соединительной ткани многих животных. Поскольку эти структурные фрагменты являются полианионами, их пространственная структура сильно зависит от противоионов при карбоксильной и сульфатной группах, в частности от природы и концентрации катионов, присутствующих в тканях животных.

Наиболее изучены к настоящему времени гликозаминогликаны из *Apostichopus japonicus* и *Holothuria grisea*. Дальневосточный трепанг *A. japonicus* - основной промысловый вид голотурий, и изучению его химического состава традиционно уделяется много внимания в Японии. Первым в очищенном состоянии получил гликозаминогликан из этого животного Т. Мотохиро (Motohiro, 1960a). Он же показал, что приблизительно такое же соединение присутствует и в тканях *Cucumaria japonica* (Motohiro, 1960a,b). По данным Мотохиро, в полученном соединении гексозамин, уроновая кислота и сульфат находятся в соотношении 1:1:1. Недавнее повторное исследование (Kagiya et al., 1990) показало, что в этой голотурии имеется, по-видимому, два структурных типа хондроитин-сульфатов. Поскольку основной компонент этой фракции не гидролизуется обычными хондроитиназами, предполагается, что он имеет структурные отличия от хондроитин-сульфатов из других источников. В частности, в его составе много нейтральных сахаров. Химический состав этого гликопротеина приведен в табл. 2.1.

Таблица 2.1.

Химический состав хондроитин-сульфата из *A. japonicus*

Компонент	Содержание, %
Гликозаминогликан	82
Глюкуроновая кислота*	19
Галактозамин ацетат*	33
Сульфат*	30
Глюкозамин	2,7
Нейтральные сахара	7,4
Пептид	3,1

*Эти соединения входят в состав гликозаминогликана.

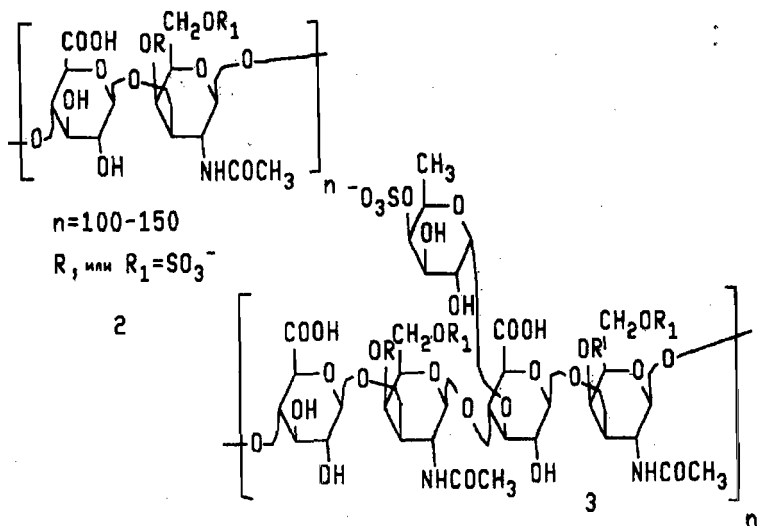


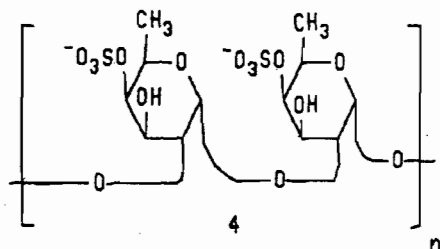
Рис. 2.1. Типичное строение гликозамингликана из хондроитин-сульфатов млекопитающих (2) и предполагаемое строение гликозамингликана (3) из *Holothuria (Ludwigothuria) grisea*

Пептидная часть гликопротеина богата серином и глицином, содержит кроме этих аминокислот еще и аспаргин, треонин, глутаминовую кислоту, аланин и тирозин. Интересно, что некоторые свойства тканей голотурий, по-видимому, определяются наличием в них именно хондроитин-сульфатов. Так, изменения упругости и других физико-химических свойств мышечных стенок при засолке или обработке их кислотами связаны с тем, что в этих условиях меняется степень ассоциации надмолекулярных комплексов, которые образуются из нескольких молекул хондроитин-сульфата.

Следует обратить внимание на более высокую степень сульфатирования хондроитин-сульфатов из голотурий по сравнению с аналогичными соединениями из млекопитающих (рис. 2.1) Высокий процент сульфатных групп найден не только в мукополисахаридах из *A. japonicus* и *C. japonica*, но и в хондроитин-сульфате

из *Holothuria grisea*. Обнаружено (Cassaro, Dietrich, 1977) высокое содержание сульфатных групп в гликозаминогликани из этой голотурии. Позже было установлено, что соответствующее соединение представляет собой мукополисахарид необычного строения, у которого приблизительно в половине остатков глюкуроновой кислоты к С-3 присоединены сульфатированные фукопиранозильные остатки (Viera, Moura, 1988). Гипотетическая формула (3) для соответствующего гликозаминогликана дана выше. Полифукоза-сульфат-белковый комплекс в соединительной ткани голотурий впервые обнаружил Мотохиро (Motohiro, 1960б) при исследовании мукопротеинов из *Cucumaria japonica*. В настоящее время определена структура для полисахаридной составляющей такого комплекса только из одного вида голотурий - *Thyone briareus* (Katzmann, Jeanloz, 1973). Полисахарид, названный тионатаном (4), построен из сульфатированных по С-4 L-фукопиранозных остатков, связанных между собой α -(1 \rightarrow 2)-гликозидными связями. Это новый тип природных полисахаридов.

Ферменты голотурий изучены весьма слабо. Список выделенных из этих животных или идентифицированных в них ферментов насчитывает около двух десятков соединений. Среди них



энзимы, расщепляющие белки, например кислая протеаза (Tanaka, 1958); несколько карбогидраз, в частности амилаза (Choe, 1963), ламинариназа (Sova et al., 1970), глюкозидаза (Elyakova et al., 1974), альгиназа (Franssen, Jeuniaux, 1965); такие нуклеазы, как кислая РНК-аза и нейтральная ДНК-аза (Галкин, Бердышев, 1969, 1971), а также фосфолипаза А и лизофосфолипаза (Vaskovsky, Suppes, 1972; Латышев, Васьковский,

1977). Являясь продуктами длительного эволюционного процесса, эти соединения при значительном сходстве с аналогичными ферментами из других источников имеют и определенные структурные особенности (они определяются главным образом заменами одних аминокислотных остатков на другие). Анализ изменчивости ферментов из различных таксонов и степени сходства и различия между такими соединениями могут использоваться при обосновании филогенетических отношений таксонов. Такого рода работа выполнена И. Мочизуки и С. Хори (Mochizuki, Hori, 1980) для иглокожих при изучении взаимодействия антисывороток против гексакиназ из двух видов морских звезд с гексакиназами из животных того же класса и нескольких других классов Echinodermata. Установлено, что гексокиназы из *Cuscutaria japonica* серологически отличаются от гексакиназ морских звезд примерно так же, как и от гексокиназ полухордовых и позвоночных. Сходство, естественно, наблюдается между ферментами из животных одного класса (в нашем случае - Asterozoa), а наибольшее сходство - между ферментами представителей одного и того же семейства. Гексакиназы морских звезд и офиур оказались более близкими друг к другу, чем ферменты из морских звезд и голотурий или из морских звезд и морских ежей.

Сравнение структур и свойств гемоглобинов голотурий между собой и с гемоглобинами позвоночных дало интересные для формирования современных представлений о химической эволюции результаты (Terwilliger, 1975; Roberts et al., 1984). Полипептидные цепи гемоглобинов позвоночных и иглокожих достаточно сходны между собой, что указывает на их происхождение от одного и того же предкового полипептида. Химическая эволюция гемоглобинов в иглокожих, весьма протяженная во времени, протекала медленнее, чем в позвоночных, хотя, судя по ископаемым остаткам склеритов, по крайней мере четыре современных отряда голотурий существовало уже в конце палеозоя (Frizzel, Exline, 1955). По степени дивергенции гемоглобинов иглокожие значительно уступают позвоночным, что свидетельст-

вует о меньшем давлении отбора и о большей консервативности структур таких первичных метаболитов в Echinodermata по сравнению с Vertebrata. С другой стороны, степень дивергенции внутри родов голотурий была существенно меньше, чем в надродовых таксонах. А в целом данные по дивергенции структур гемоглобинов для девяти видов голотурий из отрядов Dendrochirotida и Molpadida прекрасно согласовывались с принятой таксономической системой, построенной на основе морфологических признаков. Хемотаксономический анализ такого рода весьма полезен, особенно для установления конгенеричности видов-или решения проблемы видов-двойников (Manwell, 1966). Сходный анализ выполнялся также и при изучении изоэнзимного состава фракций глутамат-оксала-трансаминазы для голотурий рода *Cusumaria* (Rutherford, 1977).

Свободные аминокислоты являются, как известно, биосинтетическими предшественниками белков. В тканях и полостных жидкостях морских беспозвоночных содержание свободных аминокислот обычно выше, чем у других животных. Это весьма характерно и для иглокожих (Severin et al., 1972). В голотуриях особенно велико содержание таурина, глутаминовой кислоты и глицина. Интересно, что среди свободных аминокислот в некоторых голотуриях, как и в других беспозвоночных, присутствуют D-аминокислоты. Содержание таких аминокислот велико и в морской воде, где их от 2 до 44% от суммы растворимых аминокислот. D-аминокислоты имеют, вероятно, микробиальное происхождение. У некоторых беспозвоночных обнаружены специфические биохимические транспортные системы, с помощью которых они сорбируют эти необычные соединения из морской воды с последующей их утилизацией. Особенно много таких соединений накапливают аннелиды. *Cusumaria frondosa* также способна к накоплению D-аминокислот и близка по своей потенции в этом отношении к некоторым моллюскам (Preston, 1987).

2.3. Вторичные метаболиты из голотурий.

Значительно лучше исследованы по сравнению с другими группами соединений липиды и различные стероиды из голотурий, хотя наиболее изученной категорией вторичных метаболитов голотурий все-таки являются их тритерпеновые гликозиды (выделены из более чем 50 видов), которым посвящены другие разделы монографии. Липиды *Holothurioidea* характеризуются присутствием C_{12} - C_{24} жирных кислот, значительная часть которых относится к полиненасыщенным. Эйкозаеновая (20:1 ω 6), арахидоновая (20:4 ω 6) и эйкозапентаеновая (20:5 ω 6) жирные кислоты обнаружены во многих исследованных животных (Svetashev et al., 1991). В липидах всех изученных видов найдены также стеариновая и пальмитиновая кислоты. В голотуриях из умеренных вод содержание эйкозапентаеновой кислоты выше, чем арахидоновой, а в тропических видах - наоборот. Арахидоновая кислота в тропических голотуриях, кроме *Euapta godeffroyi*, является главным компонентом соответствующих фракций (табл. 2.2).

Таблица 2.2.

Основные жирные кислоты липидов голотурий (Svetachev et al., 1991)

Вид	Жирные кислоты, %				
	16:0	18:0	20:1 ω 6	20:4 ω 6	20:5 ω 3
<i>Holothuria leucospilota</i> *	5,4	3,8	12,9	27,2	5,6
<i>H. atra</i> *	7,8	5,8	11,0	26,6	7,5
<i>H. impatiens</i> *	9,6	7,6	15,9	16,3	4,9
<i>H. pardalis</i> *	9,5	5,2	14,0	22,3	3,5
<i>Actinopyga lecanora</i> *	8,6	5,3	13,6	22,4	5,5

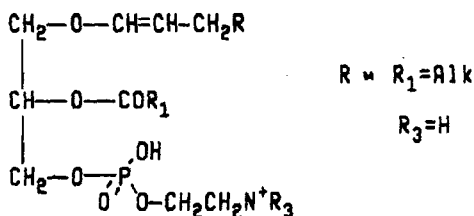
Вид	Жирные кислоты, %				
	16:0	18:0	20:1 ω 6	20:4 ω 6	20:5 ω 3
<i>Pearsonothuria graeffei</i> *	13,1	9,0	7,1	15,0	11,8
<i>Bohadschia argus</i> *	13,1	8,6	11,5	16,8	8,8
<i>Stichopus chloronotus</i> *	14,3	7,0	9,3	20,2	8,3
<i>S. moebi</i> *	9,0	6,1	12,4	23,0	5,4
<i>Еuарта godeffroyi</i> *	12,1	7,8	12,0	13,0	16,5
<i>Apostichopus japonicus</i>	11,6	6,4	5,3	8,0	15,4
<i>Eupentacta fraudatrix</i>	2,2	3,7	3,1	3,1	28,7

* Тропические виды

Поскольку утилизация поступающих с пищей соединений является одним из важных направлений липидогенеза в иглокожих, обычно наблюдаются некоторые различия в жирнокислотном составе между сестонофагами и депозитофагами, а также между видами из тропических и умеренных вод, где состав фитопланктона далеко не сходен. В частности, эти различия могут проявляться в концентрации разветвленных в цепи и содержащих нечетное число атомов углерода жирных кислот. Например, в липидах сестонофага *Eupentacta fraudatrix* найдено много разветвленной в углеводородной цепи 15:0 кислоты. Обычно в липидах тропических видов разветвленных кислот значительно меньше, чем в животных из умеренных вод (Svetachev et al., 1991; Kaneniwa et al., 1986). К числу редких жирных кислот из липидов голотурий относится, например, цис-14-трикозеновая кислота (23:1 ω 9) (Kaneniwa et al., 1986) и так называемые "non-methylene interrupted" жирные кислоты, имеющие, как правило, сравнительно "далеко" разнесенные друг от друга двойные связи в цепи. Эти кислоты найдены во многих морских беспозвоночных, включая иглокожих, причем содер-

жание 20:2 $\Delta^{5,11}$, 20:3 $\Delta^{5,11,14}$ и 20:4 $\Delta^{5,11,14,17}$ кислот из иглокожих минимально именно в голотуриях (Капенива et al., 1986).

Главными фосфолипидами голотурий являются, по-видимому, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин (Svetachev et al., 1991). Интересно, что значительная часть фосфатидилэтаноламина в голотуриях, как и в некоторых других иглокожих, находится в так называемой плазмалогенной форме (общая формула (5) (Дембицкий, Васьковский, 1976; Дембицкий, 1979; Костецкий, Сергеюк, 1985).



Плазмалогены представляют собой алкениловые эфиры глицерина. Кроме них в иглокожих найдено много алкиловых эфиров глицерина. С. Исай и сотрудники (Isay et al., 1976) установили, что такие эфиры широко представлены не только в иглокожих, но и во многих других группах беспозвоночных. Такого типа соединения, в отличие от плазмалогенов, присутствуют как в фосфолипидах, так и в неполярных липидах. По сравнению с другими беспозвоночными иглокожие, включая голотурий, имеют более высокое содержание гликолипидов (Vaskovsky et al., 1970). Цереброзиды являются, по-видимому, одним из основных классов гликолипидов в иглокожих, где их содержание настолько высоко, что может быть сравнено только с уровнем этих веществ в нервных тканях млекопитающих. Из голотурий цереброзиды выделяли из *Cucumaria japonica* и *Apostichopus japonicus* (Батраков и др., 1983). В первом из этих видов цереброзиды представлены β -D-глюкопиранозилцерамидами, имеющими в качестве сфингозиновых оснований 16-метил- $\Delta^{4,11}$ -гептадекасфингадиенин, 14-метил- Δ^4 -гексадекасфингенин, 16-метил-

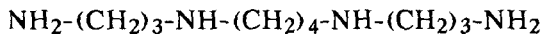
Δ^4 -гептадекасфингенин и 16-метил- Δ^4 -сфингенин. Таким образом, жирные основания этих липидов имеют разветвления в углеводородной цепи. Из всех беспозвоночных ганглиозиды были найдены только в Echinodermata (Vaskovsky et al., 1970). Однако к настоящему времени ганглиозиды голотурий изучены хуже, чем других иглокожих.

Э. Я. Костецкий и Н. И. Герасименко (1984) исследовали полярные липиды из 25 видов иглокожих и сравнили полученные данные с результатами анализа липидного состава 175 видов других беспозвоночных. Эти авторы показали, что полярные липиды представителей двух классов Echinodermata, именно: морских звезд и офиур - более сходны друг с другом, чем с липидами из других групп иглокожих, включая голотурии. По сравнению с другими беспозвоночными липиды иглокожих содержат больше холинсодержащих компонентов и сфинголипидов.

Полиамины - типичные метаболиты экстрактов из беспозвоночных. Ряд соединений этой серии найдены только в морских беспозвоночных, а некоторые - исключительно в голотуриях. Обычно в высших морских беспозвоночных (иглокожие и туникаты) находят спермидин (6), спермин (7), норспермидин (8) и норспермин (9). В голотуриях *Apostichopus japonicus* (Hamana et al., 1991) и *Holothuria tubulosa* (Zappia et al., 1978) были идентифицированы эти соединения, а в первом из названных видов - еще и ряд высших аминов: канаваламин (10), калдопентамин (11), аминопропилканаваламин (12) и др.



6



7



8



9



10



11

В отличие от них позвоночные не содержат ни (8) и (9), ни пентааминов.

Пигменты голотурий представлены в основном двумя группами: каротиноидами и меланинами. Голотурии умеренных вод редко бывают ярко окрашенными. Одно из исключений из этого правила - голотурия *Psolus fabricii* (алый псолус), которая остается ярко-красной даже на глубине 25 - 30 м., тогда как другие иглокожие на таких глубинах обычно теряют цвет. Выяснено, что пигменты этого животного представляют собой главным образом окисленные каротиноидные соединения - астаксантин, кантаксантин и соответствующие эфиры (Bullock, Dawson, 1970). Аналогичные пигменты найдены в *Cucumaria lubrica* (Fox, Hopkins, 1966). В то же время с пищей голотурии получают в основном малоокисленные каротины, что предполагает существование в этих беспозвоночных систем окислительного метаболизма каротиноидных пигментов. В *Cucumaria rufescens* найден комплекс белка с нафтохиноидным пигментом - производным спинохрома E (Thomson, 1971). Хиноидные пигменты широко представлены в морских ежах и кроме названной голотурии найдены еще только в отдельных видах морских звезд и офиур. Можно предположить, что такая черта вторичного метаболизма, как биосинтез хиноидных соединений, возникла в древних предковых формах иглокожих, сохранившись у большинства современных морских ежей и в некоторых представителях других классов типа Echinodermata. В таком случае в голотуриях хиноидные пигменты являются своеобразными "химическими ископаемыми".

Стероидные производные из голотурий представлены главным образом стеринами, а также сульфатами и моногликозидами стеринов. В нескольких пионерных работах на стеринах из иглокожих (Bergmann, 1962; Gupta, Scheuer, 1968) было установлено, что морские звезды и голотурии в отличие от других классов Echinodermata не содержат в стериновых фракциях Δ^5 -стеринов, а вместо этих типичных для других животных соединений имеют стерины Δ^7 -ряда. Затем установили, что

стериновые фракции голотурий исключительно сложны по составу не только по сравнению с такими фракциями из морских ежей, морских лилий и офиур, но и из морских звезд. Выяснили, что наряду с Δ^7 -производными здесь присутствуют соединения с насыщенным стеринным ядром - станолы и небольшие (как правило) количества Δ^5 -стеринов. В середине 80-х годов в Тихоокеанском институте биоорганической химии (Калиновская и др., 1984), а также канадскими и английскими учеными (Findlay et al., 1984a; Goad et al., 1985) было неожиданно найдено, что в некоторых голотуриях главными стеринными компонентами являются ранее неизвестные 14α -метилхолест-9(11)-ен-3 β -ол (13) и 4α , 14α -диметилхолест-9(11)-ен-3 β -ол (14).

Примером сложной стериновой фракции является сумма стеринов из дальневосточной голотурии *Eupentacta fraudatrix* (Makarieva et al., 1993), в которой было идентифицировано более 20 стеринов (13 - 33) (рис. 2.2, таб. 2.3).

В таблице 2.3 приведены данные об основных стеринах изученных голотурий.

Таблица 2.3.

Стерины голотурий

Вид	Основные стерины	Источник
<i>Apostichopus japonicus</i>	26	Kalinovskaya et al., 1983a
<i>Benthodes lingua</i>	22, 31	Ballantine et al., 1981
<i>Bohadschia argus</i>	нд	Cordeiro, Djerassi, 1990
<i>Chiridota discolor</i>	22, 31	Дмитренко и др., 1988
<i>Cucumaria elongata</i>	26, 29	Goad et al., 1972
<i>C. frondosa</i>	13	Findlay et al., 1984a
<i>C. hydriani</i>	26, 29	Goad et al., 1972
<i>C. japonica</i>	13	Калиновская и др., 1984
<i>C. planci</i>	26	Goad, 1976, 1978
<i>Eupentacta fraudatrix</i>	13, 14	Makarieva et al., 1993; Угленко, Стоник, 1978

Вид	Основные стерины	Источник
<i>H. arenicola</i>	26, 28	Cordeiro et al., 1990
<i>H. atra</i>	26	Gupta, Scheuer, 1968
<i>H. mexicana</i>	13	Cordeiro, Djerassi, 1990
<i>H. tubulosa</i>	26	Goad, 1976, 1978
<i>Mesothuria verrilli</i>	26, 22, 31	Ballantine et al., 1981
<i>Psölus phantapus</i>	13	Ambia et al., 1987
<i>P. fabricii</i>	13	Goad et al., 1985, 1986
<i>Parastichopus californicus</i>	26	Cordeiro, Djerassi, 1990
<i>P. tremulus</i>	31, 22	Ballantine et al., 1981
<i>Stichopus regalis</i>	29, 31, 26	Goad, 1978
<i>Synallactes chuni</i>	31, 27, 22	Дмитренко и др., 1988

Из данных таблицы 2.3 видно, что у части видов, главным образом из отр. *Dendrochirotida* (сем. *Psolidae* и *Cucumariidae*), основными являются 14α -метилстерины $\Delta^{9(11)}$ -серии. Подобные соединения найдены и у ряда других голотурий, но не являются в этих случаях преобладающими компонентами соответствующих стериновых фракций. В изученных голотуриях отрядов *Aspidochirotida*, *Apodida* и *Elasipodida* (например, относящихся к сем. *Holothuridae*, *Stichopodidae*, *Chiridotidae*, *Synallactidae* и др.) преобладают либо соединения Δ^7 -ряда, либо полностью насыщенные в полициклической системе стероиды - станолы. Особенно характерны станолы для детритофагов, обитающих на больших глубинах.

Известно, что на больших глубинах существуют восстановительные условия, и Δ^5 -стерины быстро превращаются в станолы. Таким образом, глубоководные виды голотурий получают станолы с пищей. Так, собранная на глубине 430 м в Охотском море голотурия *Synallactes chuni* содержала свыше 60 % станолов в стериновой фракции (Дмитренко и др., 1988).

Процессы восстановления двойных связей в ядре происходят и в ходе метаболизма стеринового материала в организмах некото-

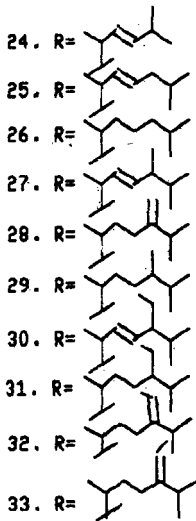
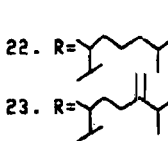
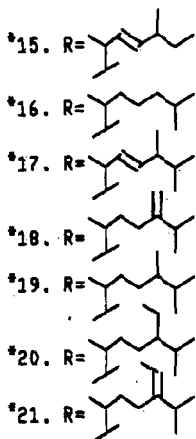
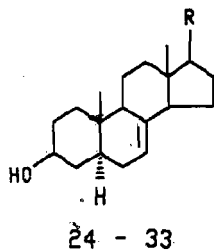
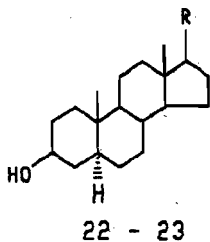
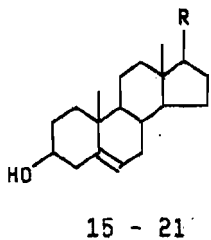
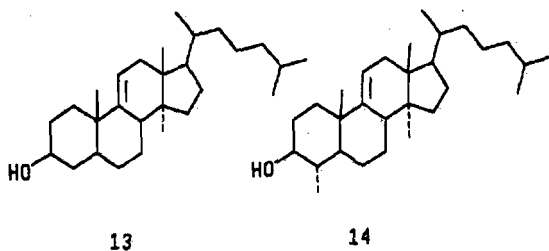


Рис. 2.2. Стерины *Eupentastia fraudatrix*, звездочкой помечены минорные компоненты

рых голотурий. Для голотурий, а точнее для них и морских звезд, стероидный метаболизм характеризуется превращением поступающих с пищей Δ^5 -стеринов в станолаы и затем в Δ^7 -стерины. В опытах М. Кордейро и К. Джерасси (Cordeiro, Djerassi, 1990) в целомическую полость *Parastichopus californicus* вводили радиоактивно меченные стерины Δ^5 -ряда. Независимо от структуры их боковой цепи они превращались в организме голотурии в соединения Δ^7 -серии. Холестанол так же, как и холестерин, трансформировался при этом в холест-7-ен- 3β -ол (латостерин). В ранней работе И. Шейха и К. Джерасси (Sheikh, Djerassi, 1977) установлено, что трансформация $\Delta^5 \rightarrow \Delta^7$ -стерины может происходить и через промежуточные $\Delta^{5,7}$ -соединения (рис. 2.3).

Очевидно, существует два основных метаболических пути, по которым в организме голотурий пищевые Δ^5 -соединения превращаются в Δ^7 -стерины. Первый из них был более подробно исследован при изучении стероидного метаболизма в морской звезде *Asterias rubens* (Goat et al., 1972) и состоит в трансформации Δ^5 -стеринов (34) в 3-кето-4(5)-ненасыщенные промежуточные соединения (35) с последующим восстановлением двойной связи, а затем и кетогруппы. В образовавшийся при этом станол (общая формула (37) на заключительном этапе метаболизма вводится с помощью соответствующей десатуразы 7(8)-двойная связь. Второе направление биосинтеза связано с превращением Δ^5 -стеринов в $\Delta^{5,7}$ -соединения и последующим восстановлением 5(6)-двойной связи.

С другой стороны, часть голотурийных стеринов образуется не модификацией пищевых соединений, а путем биосинтеза de novo. Таких стеринов очень немного, к ним относятся: $\Delta^{9(11)}$ -производные (13) и (14), латостерин (26) и, возможно, небольшие количества холестерина (16) для нужд его трансформации в стероидные гормоны. Причем $\Delta^{9(11)}$ -стерины биосинтезируются из таких простых предшественников, как ацетат и мевалоновая кислота, через промежуточные сквален (40), сквален-оксид (41), гипотетический карбокатион (42) и паркеол (43), а латостерин

(26) через циклизацию сквалена в ланостерин (44) (Cordeiro, Djerassi, 1990; Makarieva et al., 1993) (рис. 2.3).

Интересной особенностью химического состава многих голотурий является аномально низкое по сравнению с другими животными содержание свободных стероидов. В то же время в голотуриях и близких к ним по ряду особенностей биохимии морских звездах, как правило, находят необычно большие количества сульфатированных стероидов. В этих беспозвоночных фракции

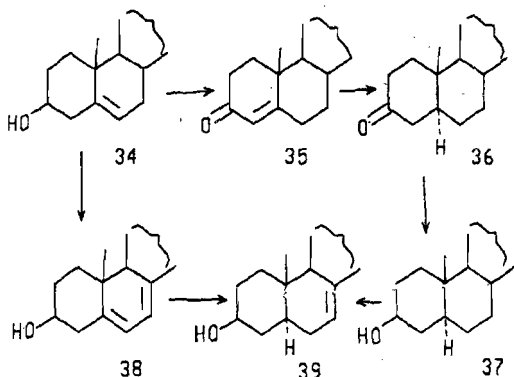


Рис. 2.3. Гипотетические пути $\Delta^5 \rightarrow \Delta^7$ модификации стероидов в голотуриях

сульфатированных стероидных спиртов по массе, как правило, эквивалентны фракциям свободных стероидов, тогда как в других животных на сульфаты стероидов обычно приходится только несколько процентов от массы суммы свободных стероидов. Более того, неожиданно оказалось, что по типу ненасыщенности стероидного ядра свободные и сульфатированные стероиды в голотуриях (так же, как и в морских звездах) отличаются друг от друга. Так, свободные стероиды голотурий в основном представлены, как указывалось выше, либо метилированными по С-14 $\Delta^{9(11)}$ -соединениями, либо Δ^7 -производными и станолами. В то же время в *Apostichopus japonicus* (Kalinovskaya et al, 1983b), *Parathyone* sp. (Сметанина и др., 1981), *Eupentacta fraudatrix* (Makarieva et al., 1993), *Cucumaria japonica* (Батраков и др., 1984а) и других видах (Goodfellow, Goad, 1983) основными компонентами

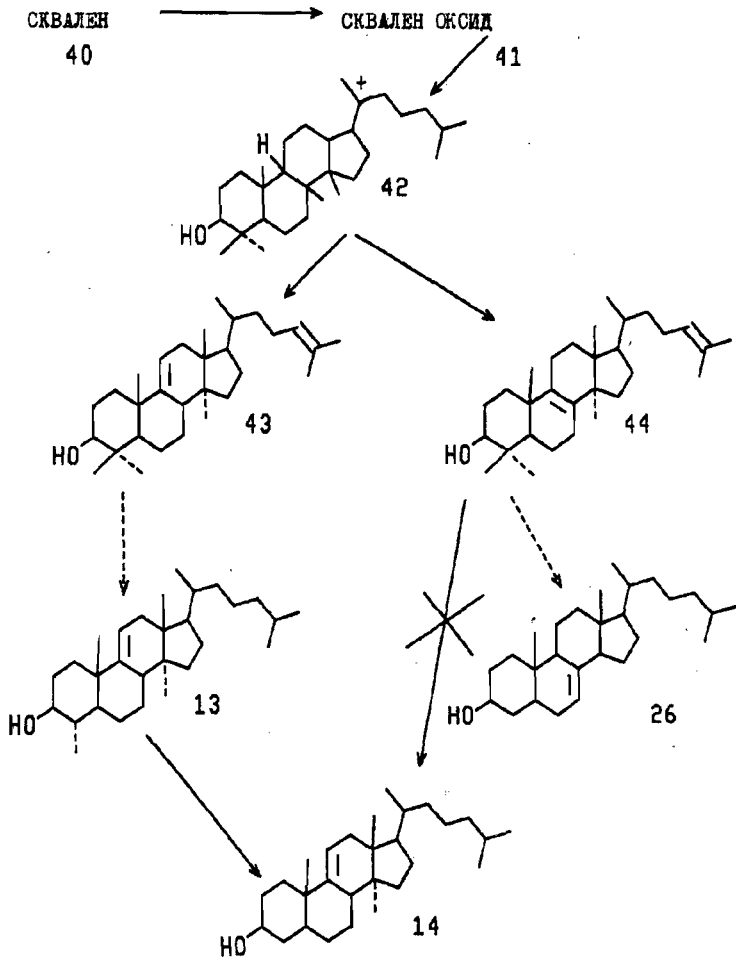


Рис. 2.4 Схема биосинтеза стерина в голотуриях

фракций сульфатированных стерина были сульфат холестерина и сульфаты других Δ^5 -стерина. Другой особенностью этих фракций было более или менее значительное преобладание в них C_{27} -соединений. Понятно, что сульфатированные стерина получаются в голотуриях путем сульфатирования свободных стерина. Следовательно, это сульфатирование происходит здесь

с весьма заметной избирательностью: ему подвергаются не все стероидные компоненты, а преимущественно Δ^5 -производные, и в первую очередь холестерин.

В качестве примера сульфатированных стероидов (45 - 77) из голотурий мы приводим ниже формулы такого рода соединений, найденных в *Eupentacta fraudatrix* (рис. 2.5). Еще одна форма, в которой присутствуют стероиды в голотуриях, - моноксилозиды. Следует заметить, что такого рода соединения пока не найдены в других иглокожих, в том числе и в морских звездах. В то же время они обнаружены в экстрактах *Apostichopus japonicus* (Elyakov et al., 1980), *Isostichopus badionotus* (Еляков и др., 1979), *Eupentacta fraudatrix* (Makarieva et al., 1993) и *Cucumaria japonica* (Батраков и др., 1984б). Ниже даны формулы стероидных моногликозидов, обнаруженных в *Eupentacta fraudatrix* (рис. 2.6).

В моноксилозидных фракциях преобладают β -ксилозиды Δ^7 -стеринов и станолов. Интересно, что только следы производных 14α -метилованных $\Delta^{9(11)}$ -стеринов найдены в этих фракциях. Следовательно, гликозилирование свободных стеринов также протекает в голотуриях избирательно: ему подвергаются главным образом Δ^7 -стерины и станолы.

Наконец, наименее изученным типом стероидных производных из голотурий являются, очевидно, стероидные эфиры. Эти конъюгаты с жирными кислотами широко представлены в животном мире. Из голотурий такие фракции выделяли только эпизодически. Так, Н. И. Калиновская с соавторами (Kalinovskaya et al., 1983b) исследовали эфиры стеринов из голотурии *Apostichopus japonicus*, а Л. Гoad и сотрудники (Goad et al., 1986) - из *Psolus fabricii*. Судя по полученным данным, и в этом случае наблюдается некоторая избирательность - в эфиры трансформируются преимущественно Δ^5 -стерины и станолы, хотя и другие структурные типы свободных стеринов также включаются в этот процесс.

Необычно широкий спектр самых различных стероидных соединений (их может быть в одном животном более 100) - это черта биохимии голотурий, отличающая их от других групп живот-

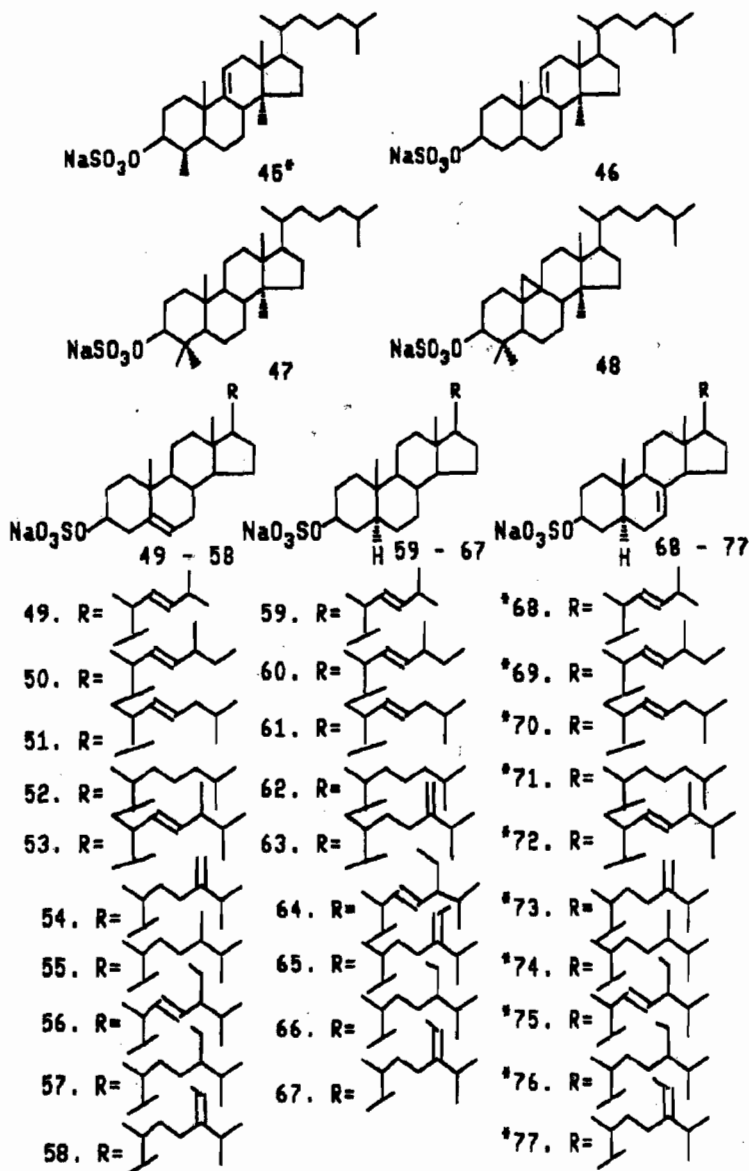


Рис. 2.5. Сульфатированные стеринны из голотурии *Cuscutaria* (=Eupentacta) *gradatrix*. Звездочкой помечены минорные соединения.

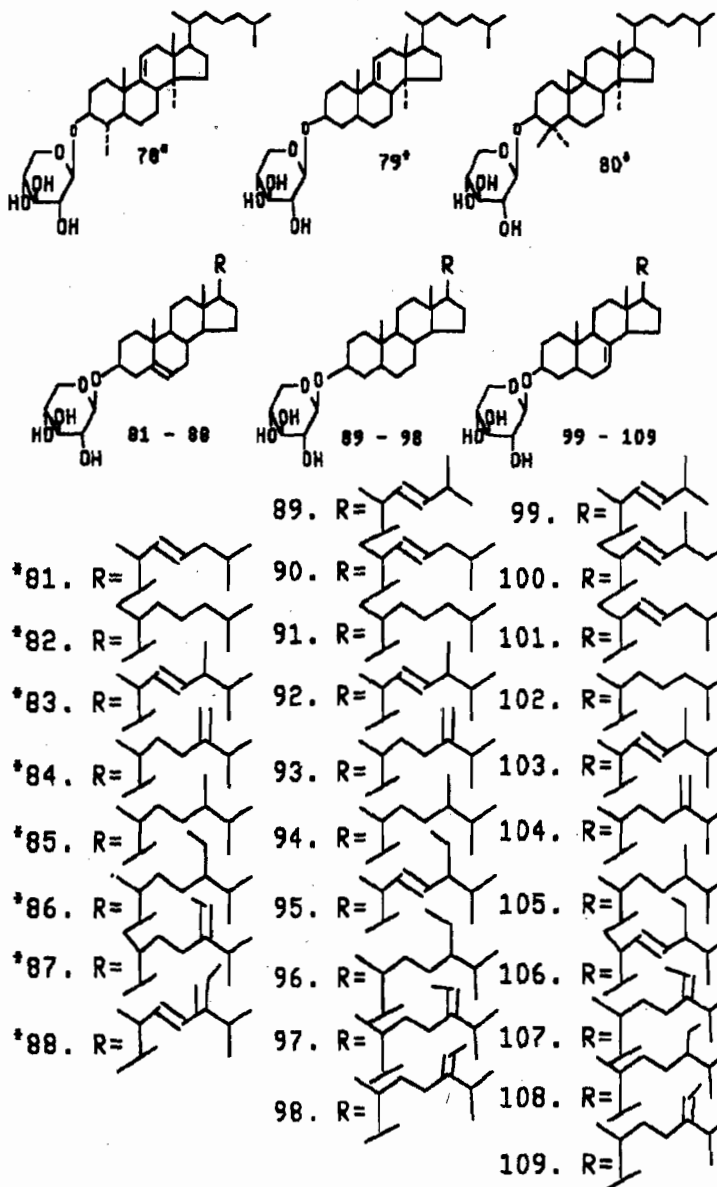


Рис. 2.6. Стероидные гликозиды *Cuscutaria* (=Eupentacta) *fraudatrix*. Звездочкой помечены минорные соединения

ных. Низкое содержание свободных стеринов, практическое отсутствие в этих фракциях единственного резко преобладающего компонента (каковым является, например, холестерин в позвоночных), несовпадение по структуре главных стериновых компонентов пищи и основных стеринов самой голотурии - все эти особенности стероидогенеза и стероидного метаболизма могут в то же время найти достаточно обоснованное объяснение. По нашему мнению, они связаны с присутствием во многих голотуриях больших количеств токсичных тритерпеновых гликозидов. Действительно, токсичные гликозиды (сапонины) у целого ряда видов являются едва ли не основным типом органических молекул. Их содержание может достигать 3 - 5 % от сухой массы тела и более. По сути дела, такие голотурии являются уникальными биохимическими реакторами, производящими, по-видимому непрерывно, эти гликозиды. Поскольку токсическое действие сапонинов основано на взаимодействии со свободными стеринами биомембран, то устойчивость самих голотурий к действию эндотоксинов можно связать с низким содержанием свободных стеринов в мембранах их собственных клеток. С другой стороны, свободные стеринны в биомембранах голотурий не просто являются относительно минорными соединениями - они отличаются строением от стеринов других животных и, самое главное, имеют пониженную по сравнению со стеринами других животных способность образовывать комплексы с токсичными гликозидами. Так, А. М. Попов с соавторами (1983), М. М. Анисимов с соавторами (1983б) и Д. Л. Аминин и соавторами (1990в) показали, что устойчивость клеточных мембран к действию токсичных тритерпеновых гликозидов из *A. japonicus* или *E. fraudatrix* возростала (за счет связывания гликозида) при добавлении к клеткам одновременно с гликозидами еще и свободных стеринов. Причем наибольшей нейтрализующей способностью и, следовательно, наибольшей аффинностью к гликозидам обладал холестерин, на втором месте была смесь различных Δ^5 -стеринов, более слабо связывались с гликозидами станола, Δ^7 - и $\Delta^9(11)$ -стерины, а еще слабее - стерил- β -ксилозиды. И наоборот - введение в искусствен-

ные мембраны вместо холестерина или Δ^5 -стеринов таких характерных для голотурий стероидов, как сульфат холестерина или холест-7-ен-3 β -ол, увеличивало устойчивость этих мембран к литическому действию гликозидов.

Существуют, по-видимому, несколько направлений биохимических превращений, нейтрализующих токсическое действие собственных токсинов (эндотоксинов) в голотуриях. Первое из них заключается в синтезе вместо Δ^5 -стеринов станолов и Δ^7 -стеринов, достаточно "индифферентных" к действию эндотоксинов (т.е. плохо образующих комплексы). Одновременно или несколько ранее возникает и синтез "индифферентных" $\Delta^{9(11)}$ -стеринов. Первый биохимический процесс связан с более широким использованием пищевых стероидов. Это стало возможным после возникновения биохимических систем трансформации пищевых Δ^5 -стеринов частично в станола и Δ^7 -стерины, а частично - в сульфаты. Для другого типа превращений (синтеза $\Delta^{9(11)}$ -стеринов) понадобилось отклониться от общего для всех животных пути стероидогенеза. Наконец, еще один тип превращений - это удаление избытка свободных стероидов в виде моногликозидов и сульфатов. Все эти процессы отражены на гипотетической схеме стероидогенеза, данной ниже (рис. 2.7).

А. Маки и сотрудники (Mackie et al., 1977) установили сходное, но не идентичное влияние на стероидогенез в морских звездах присутствия в них токсичных стероидных сапонинов. Хотя стероидные сапонины морских звезд существенно отличаются от тритерпеновых гликозидов голотурий своим биогенезом и структурами, обе группы соединений обладают близкими механизмами токсического действия. И те и другие токсины образуют комплексы с мембранными стеринами, нарушая свойства мембран. Для морских звезд, имеющих токсичные стероидные сапонины (астеросапонины), также характерна трансформация пищевых Δ^5 -стеринов в станола и Δ^7 -стерины. Во фракциях свободных стероидов таких морских звезд, как правило, можно обнаружить только небольшие количества Δ^5 -стеринов, а избыток пищевых Δ^5 -стеринов, и особенно холестерина, здесь, как и в голотуриях, сульфатируется. Станола и Δ^7 -стерины морских звезд

значительно слабее взаимодействуют с астеросапонинами, чем Δ^5 -стерины. Интересно, что морская звезда *Euretaster insignis* не содержит токсичных стероидных сапонинов, и в ее свободных стеринах мало Δ^7 -стеринов (D'Augia et al., 1984).

Более того, в некоторых высших растениях (Cucurbitaceae, Solanaceae), как и в голотуриях, совместно присутствуют токсичные тритерпеновые или стероидные гликозиды и 14α -

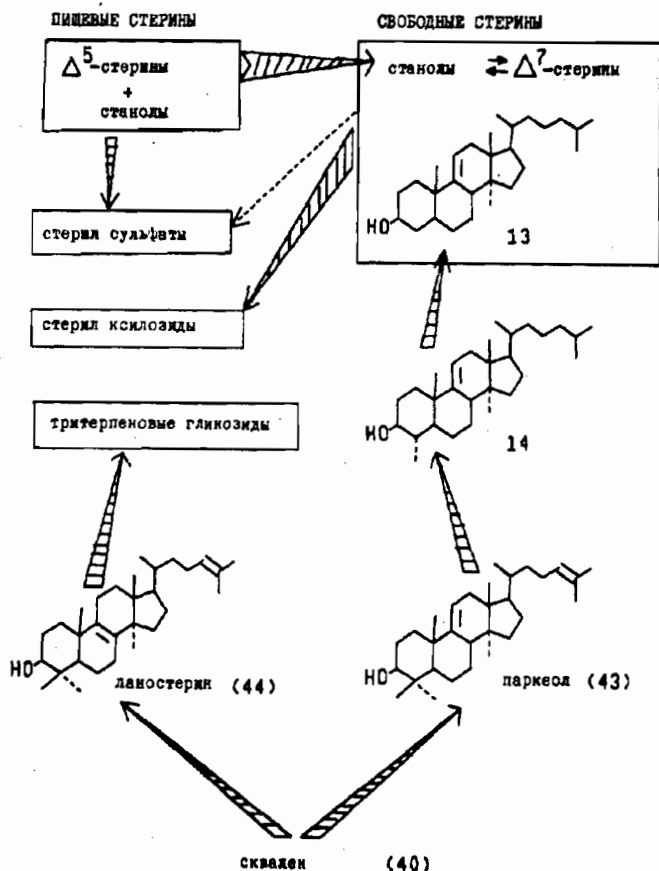


Рис. 2.7. Гипотетическая схема биогенеза и метаболизма стероидов в голотуриях

метил- $\Delta^{9(11)}$ -стерины, хотя и их гликозиды существенно отличаются строением от гликозидов голотурий, и стерины, в отличие от голотурийных стеринов, как правило, имеют дополнительные алкильные разветвления в боковой цепи (Akihisa et al., 1987; Itoh et al., 1978).

Таким образом, в голотуриях, в морских звездах и в некоторых высших растениях наблюдается взаимообусловленное присутствие совершенно разных групп соединений - своеобразная "сцепленность" химических признаков. Сапонины и Δ^7 -стерины или сапонины и 14α -метил- $\Delta^{9(11)}$ -стерины - это примеры таких пар "сцепленных" химических признаков. Это явление, по-видимому, распространено шире, чем представляется на современном уровне биохимических знаний. Мы предлагали назвать его биохимической координацией (Калинин, Стоник, 1990).

Биохимия голотурий в целом сходна с биохимией других иглокожих. Она характеризуется своеобразными особенностями в структурах белков и гликопротеинов соединительной ткани, появлением в липидных фракциях (в отличие от других беспозвоночных) сфинголипидов. С другой стороны, имеется некоторое сходство между биохимическими процессами в голотуриях и многих других морских беспозвоночных (например, в липидогенезе, синтезе полиаминов и т.п.). На ряд особенностей биохимии голотурий, по-видимому, оказало глубокое влияние появление на каком-то этапе эволюции голотурий токсичных тритерпеновых гликозидов. Поскольку данные токсины действуют на мембранном уровне, это прежде всего сказалось на биосинтезе и метаболизме таких структурных компонентов мембран, как стерины и их производные.

3. ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ГОЛОТУРИЙ

3.1. Отряд *Aspidochirotida*

3.1.1. Семейство *Holothuriidae*

В начале 70-х годов в Тихоокеанском институте биоорганической химии были выполнены первые работы по сравнительному изучению тритерпеновых гликозидов голотурий, собранных в тропической зоне Тихого океана и в Карибском море. В то время данные о полных структурах тритерпеновых гликозидов и даже о строении их нативных агликонов отсутствовали, поэтому исследование было проведено на хроматографическом уровне (Elyakov et al., 1973, 1975b). Гликозидные суммы, а также продукты их кислотного гидролиза были проанализированы тонкослойной хроматографией, моносахаридный состав - методом газо-жидкостной хроматографии. Для *Holothuria atra*, *H. pervicax*, *H. cinerascens* и *Actinopryga mauritiana* и карибских голотурий проводилась также масс-спектрометрическая идентификация артефактных агликонов. Было показано отличие гликозидного состава голотурий семейства *Holothuriidae* от гликозидов семейства *Stichopodidae*, причем в пределах *Holothuriidae* также были обнаружены определенные различия в составе гликозидных сумм (табл. 3.1). Был сделан вывод о наличии тесной связи между систематическим положением животных и составом их гликозидных фракций. В одной и той же систематической группе (чаще всего на уровне родов и групп родов) количественное содержание отдельных гликозидов в зависимости от места сбора животных изменялось, иногда значительно, вплоть до почти полного отсутствия тех или иных веществ, однако качественный состав фракций оставался примерно одним и тем же.

Так, в *Holothuria atra*, собранной в районе Новой Гвинеи, о. Эфате (Новые Гебриды), Новой Каледонии, у о. Уполу (Самоа), о-ва Маракки (о-ва Гилберта), а позднее и в различных частях Индийского океана (Сейшельские о-ва, Мальдивские о-ва и др.) гликозидные суммы состояли из голотуринов типа А и типа В (иногда с преобладанием одного из них, вплоть до полного отсутствия другого). То же самое можно проследить для различных сборов любого другого из изученных видов. Таким образом была показана таксономическая специфичность этих веществ.

Таблица 3.1

Гликозидный состав и продукты гидролиза гликозидных фракций из сем. *Holothuriidae* (по: Elyakov et al., 1973, 1975b)

Вид	Район сбора	Содержание ¹ (%)	Голотурины			Продукты гидролиза ²				
			А	В	С	Генин	Glc	3-OMe-Glc	Xyl	Quin
<i>Actinopyga agassizi</i>	Куба	нд	+++	-	-	110,111	+++	+++	+++	+++
<i>A. echinites</i>	Новая Каледония	0,7	+++	+++	-	110,111	++	++	+++	+++
<i>A. lecanoga</i>	Новая Каледония	1,5	++	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
<i>A. mauritiana</i>	Новая Гвинея	0,2	+++	+++	-	110,111	++	++	+++	+++
—	о. Науру	0,5	+++	+++	-	110,111	++	++	+++	+++
—	о. Маракки (о-ва Гилберта)	0,2	++	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
<i>A. miliaris</i>	о. Уполу (Самоа)	0,8	++	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
<i>Actinopyga sp.</i>	о. Бутаритари (о-ва Гилберта)	0,6	+	+++	-	110,111	+	+	+++	+++

Вид	Район сбора	Содержание ¹ (%)	Голотурины			Продукты гидролиза ²				
			А	В	С	Генин	Glc	3-ОМе-Glc	Xyl	Quin
<i>Bohadschia argus</i>	Новая Гвинея	1,0	-	-	+	113	+++	+++	+++	+++
—	о. Эфате (Новые Гебриды)	5,0	-	-	+	113	+++	+++	+++	+++
—	Новая Каледония	2,3	-	-	+	113	+++	+++	+++	+++
<i>B. (=P.) graeffei</i>	Новая Гвинея	1,5	++	+++	-	113	+	+	+++	+++
<i>B. marmorata</i>	о. Маракки (о-ва Гилберта)	3,0 ³	-	-	+	113	+++	+++	+++	+++
<i>Bohadschia sp.</i>	о. Эфате (Новые Гебриды)	0,5	-	-	+	113	+++	+++	+++	+++
<i>Holothuria atra</i>	Новая Гвинея	0,5	-	+++	-	110,111	-	-	+++	+++
—	о. Науру	0,6	+++	+++	-	110,111	++	++	+++	+++
—	о. Эфате (Новые Гебриды)	0,8	+++	+++	-	110,111	++	++	+++	+++
—	Новая Каледония	2,0	++	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
—	о. Уполу (Самоа)	2,1	+++	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
—	о. Фунафути (о-ва Эллис)	0,6	+++	+++	-	110,111	++	++	+++	+++
—	о. Маракки (о-ва Гилберта)	2,5	+++	++	-	110,111	+++	+++	+++	+++
<i>H. arenicola</i>	о. Лорд-Хау	2,7	+++	-	-	110	+++	+++	+++	+++

Вид	Район сбора	Содержание ¹ (%)	Голотурины			Продукты гидролиза ²				
			A	B	C	Генин	Glc	3-OMe-Glc	Xyl	Quin
—	Куба	нд	+++	-	-	110,111	+++	+++	+++	+++
<i>H. cinerascens</i>	о. Фунафути (о-ва Эллис)	0,1	+++	-	-	110,111	+++	+++	+++	+++
<i>H. coluber</i>	о. Эфате (Новые Гебриды)	0,9	+	+++	-	110,111	-	-	+++	+++
<i>H. cubana</i>	Куба	нд	+++	-	-	110,111	+++	+++	+++	+++
<i>H. difficilis</i>	о. Лорд-Хау	0,85	+++	-	-	110	+++	+++	+++	+++
<i>H. edulis</i>	о. Маракен о-ва Гилберта	4,0	+++	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
<i>H. fuscocinerea</i>	о. Лорд-Хау	2,0	++	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
<i>H. gracilis</i>	Новая Каледония	2,0	++	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
<i>H. grisea</i>	Куба	нд	+++	+	-	110,111, 112	+++	+++	+++	+++
<i>H. hilla</i>	о. Уполу (Самоа)	2,3	+++	+++	-	110,111	++	++	+++	+++
<i>H. impatiens</i>	о. Уполу (Самоа)	0,2	+++	-	-	110	+++	+++	+++	+++
<i>H. leucospilota</i>	о. Эфате (Новые Гебриды)	1,1	+	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
<i>H. mexicana</i>	Куба	нд	+++	+	-	110,111, 112	+++	+++	+++	+++

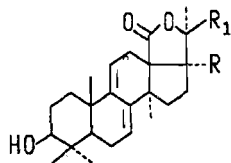
Вид	Район сбора	Содержание ¹ (%)	Голотурины			Продукты гидролиза ²				
			А	В	С	Генин	Glc	3-OMe-Glc	Xyl	Quin
<i>H. nobilis</i>	о. Вити Леву (Фиджи)	2,0	+++	-	-	110	+++	+++	+++	+++
<i>H. pervicax</i>	Новая Каледония	1,2	+	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
<i>H. pulla</i>	о. Фунафути (о-ва Эллис)	5,0	++	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
<i>H. scabra</i>	о. Эфате (Новые Гебриды)	2,2	-	+++	-	110,111	-	-	+++	+++
<i>Holothuria</i> sp.	Новая Гвинея	1,0	++	+++	-	110,111	+	+	+++	+++
<i>H. surinamensis</i>	Куба	нд	+++	-	-	110	+++	+++	+++	+++





¹ Содержание гликозидной фракции к сухой массе животного.

² Glc = глюкоза, 3-O-Me-Glc = 3-O-метилглюкоза, Xyl = ксилоза, Quin = хиновоза.

³ Содержание в кюльеровых органах 20 %.

Кроме того, для трех видов средиземноморских представителей *Holothuriidae* - *Holothuria tubulosa*, *H. forskali* и *H. polii* - Г. Габермейль и Г. Фольквейн (Habermehl, Volkvein, 1971) идентифицировали артефактные агликоны (110) и (111), а также несколько минорных агликонов. Для *B. koellikeri*, собранной у побережья Сейшельских о-вов, П. Роллер и соавторы идентифицировали агликон (113) в качестве основного компонента фракции артефактных агликонов после гидролиза гликозидной суммы (Roller et al., 1969). Позднее этот же агликон идентифицировали французские исследователи после гидролиза



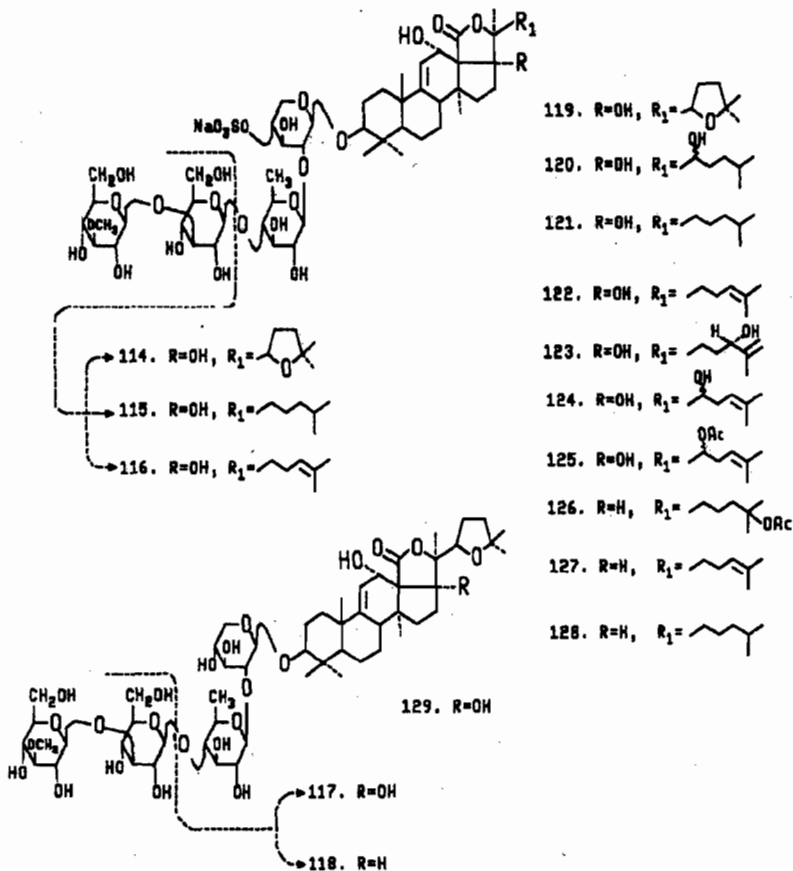
110. R=OH, R₁=
111. R=H, R₁=
112. R=OH, R₁=
113. R=H, R₁=

гликозидов *Bohadschia vitiensis*, собранной у побережья Новой Каледонии (Clastres et al., 1978).

Эти результаты показали наличие определенной таксономической специфичности для гликозидов *Holothuriidae*. Так, с одной стороны, все исследованные представители родов *Holothuria* и *Actinopurga* содержат только хроматографически идентичные гликозидные фракции - так называемые "голотурин А" и "голотурин В", а голотурии рода *Bohadschia* содержат отличающийся по хроматографическому поведению "голотурин С". Исключение представляла только *Bohadschia graeffei*, содержащая "голотурин А" и "голотурин В". Состав этих фракций, как показали последующие исследования, оказался достаточно сложным. Тем не менее полученная информация о полных структурах тритерпеновых гликозидов подтвердила основные выводы, сделанные на хроматографическом уровне.

Из фракций "голотуринов В" были выделены голотурины В (114) и В₁ (115), а также 24-дегидроэхинозид В (116). Голотурин В (114) выделен из *Holothuria leucospilota* (Kitagawa et al., 1981a), *H. atra* (Стоник и др., 1979; Олейникова и др., 1986; Kobayashi et al., 1991a), *H. edulis* (Калинин и др., 1981). Он представляет собой сульфатированный биозид. Его агликон относится к голостановому ряду и имеет 12 α -окси-9(11)-еновый фрагмент, а также гидроксильную группу в 17 α -положении. В боковой цепи агликона этого гликозида имеется 22,25-эпоксигруппа.

Голотурин В₁ (115), найденный в *Holothuria mexicana* (В. А. Стоник, Л. Я. Коротких, неопубликованные результаты), *H.*

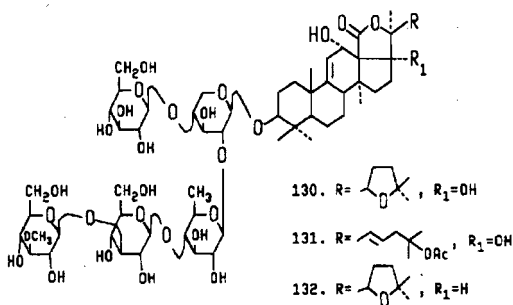


floridana (Кузнецова и др., 1982), *H. atra* (Олейникова и др., 1986; Kobayashi et al., 1991a), *Actinopyga mauritiana* (Kobayashi et al., 1991a) и *A. echinites* (Kitagawa et al., 1985), японские авторы называют эхинозидом В. Это вещество отличается от голотурина В только отсутствием 22,25-эпоксигруппы в агликоне. 24-дегидроэхинозид В (116), выделенный из *Actinopyga mauritiana* (Kobayashi et al., 1991a), отличается от голотурина В₁ (115) присутствием двойной связи в боковой цепи агликона.

К этой группе веществ близко примыкают по структуре десульфатированное производное голотурина В (117),

идентифицированное в *Holothuria atra* (Олейникова и др., 1986), и голотуринозид D (118) из *Holothuria forskali* (Rodrigues et al., 1991), отличающийся от (117) отсутствием 17 α -гидроксила.

Подробное исследование "голотурина А" также привело к получению целого ряда близких по строению компонентов. Голотурин А (119), обнаруженный в *Holothuria leucospilota*, (Kitagawa et al., 1981b), *H. atra* (Олейникова и др., 1986; Kobayashi et al., 1991a), *H. squamifera* (Иванова и др., 1984), *H. scabra*, *H. edulis*,



H. axiologa (Kobayashi et al., 1991a), *H. mexicana* (Cordeiro, Djerassi, 1990), *Actinopyga agassizi* (Kitagawa et al., 1982), *A. flammea* (Bhatnagar et al., 1985) и *Pearsonothuria* (= *Bohadschia*) *graeffei* (Иванова и др., 1985; Kobayashi et al., 1991a), является сульфатированным тетраозидом. Он отличается от голотурина В (114) наличием дополнительного биозидного фрагмента 3-О-метилглюкоза-(1→3)-глюкоза в углеводной цепи. Голотурин А₁ (120) из *Holothuria floridana* и *H. grisea* (Олейникова и др., 1982a), а также *Actinopyga flammea* (Bhatnagar et al., 1985) близок по строению к голотурину А (119), однако содержит 22-оксигруппу, а не 22,25-эпоксигруппу в боковой цепи агликона. Голотурин А₂ (121), (японское название - эхинозид А), имеет насыщенную и незамещенную боковую цепь. Он найден в *Holothuria edulis* (Калинин, Стоник, 1982a), *H. floridana* (Олейникова и др., 1982b), *H. atra*, *H. scabra*, *H. axiologa* (Kobayashi et al., 1991a), *Actinopyga echinites* (Kitagawa et al., 1985), *A. flammea* (Bhatnagar et al., 1985) *A. mauritiana* (Kobayashi

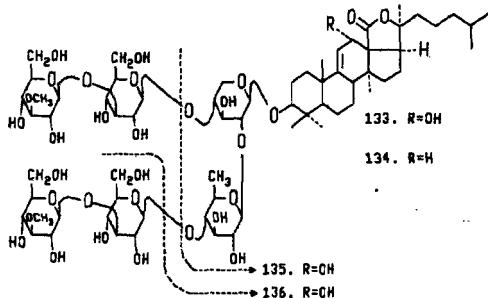
et al., 1991a) и *Pearsonothuria* (= *Bohadschia*) *graeffei* (Калинин и др., 19826; Kobayashi et al., 1991a).

Δ^{24} -Эхинозид А (122) отличается от предыдущего вещества только наличием двойной связи в боковой цепи агликона. Он найден в *Actynopyga agassizi* (Kitagawa et al., 1982), *A. flammea* (Bhatnagar et al., 1985), *A. mauritiana* и *Holothuria scabra* (Kobayashi et al., 1991a). Серия минорных гликозидов, близких к предыдущим по структуре, а именно: 24(S)-гидрокси-25-дегидроэхинозид А (123), 22 ξ -гидрокси-24-дегидроэхинозид А (124), 22 ξ -ацетокси-24-дегидроэхинозид А (125) - выделена французскими исследователями из экстрактов *Actinopyga flammea*. Первикозиды А (126), В (127) и С (128), отличающиеся от остальных "голотуринов А" отсутствием 17 α -гидроксила в агликоне, идентифицированы японскими исследователями в *Holothuria pervicax* (Kitagawa et al., 1989b).

Из атлантического сбора *Holothuria forskali* испанскими исследователями выделена серия гликозидов, не имеющих сульфатной группы (Rodriguez et al., 1991). Это десульфатированное производное голотурина А (129) и пентаозиды, у которых дополнительный глюкозный остаток присоединен ("вместо" обычной для "голотуринов А" сульфатной группы) в положение 4 при первом ксилозном остатке. Их назвали голотуринозиды А (130), В (131) и С (132).

Исследование "голотурина С", проведенное как сотрудниками ТИБОХ РАН, так и японскими исследователями, также привело к идентификации нескольких компонентов.

Бивиттозид D (133), агликон которого, как и большинство агликонов "голотуринов А" и "В", содержит 12 α -окси-9(11)-еновый фрагмент, является гексаозидом и не содержит сульфатных групп. Он идентифицирован в качестве основного компонента гликозидных фракций *Bohadschia bivittata* (Kitagawa et al., 1989a), *B. argus* (Антонов, Стоник, 1986; Cordeiro, Djerassi, 1990; Kobayashi et al., 1991a), *B. marmorata*, *B. vitiensis* и *B. tenuissima* (Антонов, Стоник, 1986). Минорный бивиттозид С (134), являющийся 12-дезоксипроизводным гликозида (133) найден в *B. bivittata* (Kitagawa et al., 1989a) и *B. argus* (Антонов, Стоник, 1986; Kobayashi et al., 1991a), а также в *B. marmorata*, *B. vitiensis* и *B. tenuissima* (Антонов, Стоник, 1986). Бивиттозиды В (135) и А (136), являющиеся несульфатированными тетраозидом и биоидом соответственно, идентифицированы как минорные



компоненты гликозидной фракции *V. bivittata* (Kitagawa et al., 1989a). Они также имеют 12α -окси-9(11)-еновый фрагмент в агликоне. Кроме того, бивиттозид В (135) обладает не линейной, как, например, гликозиды серии “голотурина А”, а разветвленной углеводной цепью. Только один изученный представитель рода *Bohadshia* - *Bohadshia graeffei* содержит, как уже отмечалось выше, сульфатированные “голотурины А” и не имеет бивиттозидов в составе своей гликозидной фракции. Эти отличия столь существенны, что (учитывая морфологические, физиологические и экологические особенности) *V. graeffei* была выделена нами во вновь установленный род *Pearsonothuria* (Левин и др., 1984).

Результаты структурных исследований гликозидов голотурий семейства *Holothuriidae* приведены в таблице 3.2. В нее включены только вещества, для которых установлено полное строение.

Таблица 3.2

Распределение тритерпеновых гликозидов в сем. *Holothuriidae*

Вид	Район сбора	Гликозиды	Источник
<i>Actinopyga agassizi</i>	Багамские о-ва	119,122	Kitagawa et al., 1982
<i>A. echinites</i>	о. Окинава (Япония)	115,121	Kitagawa et al., 1985
<i>A. flammea</i>	Новая Каледония	114,119,120,121,122, 123,124,125	Bhatnagar et al., 1985
<i>A. mauritiana</i>	о. Окинава (Япония)	115,116,121,122	Kobayashi et al., 1991a

Вид	Район сбора	Гликозиды	Источник
<i>Bohadschia argus</i>	Индийский океан	133,134	Антонов, Стоник, 1986
—	Большой барьер- ный риф, Австралия	133	Cordeiro, Djerassi, 1990
—	о. Окинава (Япония)	133,134	Kobayashi et al., 1991a
<i>B. bivittata</i>	о. Окинава (Япония)	133,134,135,136	Kitagawa et al. 1989a
<i>B.</i> (=Pearsonothuria) <i>graeffei</i>	Мальдивские о-ва	121	Калинин, Стоник, 1982b
—	Северный Вьетнам	119	Иванова и др., 1985
—	о. Окинава (Япония)	119,121	Kobayashi et al., 1991a
<i>B. marmorata</i>	Индийский океан	133,134	Антонов, Стоник, 1986
<i>B. vitiensis</i>	Индийский океан	133,134	Антонов, Стоник, 1986
<i>B. tenuissima</i>	Индийский океан	133,134	Антонов, Стоник, 1986
<i>Holothuria atra</i>	Тихий и Индийский океан	114	Стоник и др., 1979
—	Мадагаскар	114,115,117,119	Олейникова и др., 1986
—	о. Окинава (Япония)	114,115,119,121	Kobayashi et al., 1991a
<i>H. axiologa</i>	о. Окинава (Япония)	119,121	Kobayashi et al., 1991a
<i>H. edulis</i>	о. Хадуматулу (Мальдивские о-ва)	114,121	Калинин и др., 1981; Калинин и др., 1982a

Вид	Район сбора	Гликозиды	Источник
—	о. Окинава (Япония)	119	Kobayashi et al., 1991a
<i>H. floridana</i>	Куба	115,120,121	Кузнецова и др., 1982; Олейникова и др., 1982a,б
<i>H. forskali</i>	Галисия (северо- западное побере- жье Испании)	118,129,130,131, 132	Rodriguez et al., 1991
<i>H. grisea</i>	Куба	120	Олейникова и др., 1982a
<i>H. leucospilota</i>	Преф. Миядзаки, Япония	114,119	Kitagawa et al., 1981a,b
<i>H. mexicana</i>	Куба	115	В. А. Стоник, Л. Я. Коротких, неопубл. рез.
—	Багамские о-ва	119	Cordeiro, Djerassi, 1990
<i>H. pervicax</i>	Преф. Вакаяма, Япония	126,127,128	Kitagawa et al., 1989b
<i>H. scabra</i>	о. Окинава (Япония)	119,121,122	Kobayashi et al., 1991a
<i>H. squamifera</i>	Большой барьер- ный риф, Австралия	119	Иванова и др., 1984

Таким образом, из 21 вида голотурий семейства Holothuriidae к настоящему времени выделено 23 гликозида с установленной полной структурой. Несмотря на фрагментарность изучения этих биологических объектов, а именно выделение не всех, а только части гликозидов из каждого вида, эти вещества можно сгруппировать по структурным характеристикам следующим образом.

Первую группу составляют голотурины - сульфатированные биозиды и тетраозиды, обычно имеющие 17-оксигруппу в аглико-

не. Существуют голотурины и без 17-оксигруппы, но они, за исключением гликозидной фракции *Holothuria pervicax* (табл. 3.2), являются минорными компонентами в соответствующих смесях и идентифицируются обычно только в виде артефактных агликонов в продуктах кислотного гидролиза (Elyakov et al., 1973). Десульфатированные голотурины типа А и В встречаются крайне редко и в минорных количествах. Они служат, по-видимому, "горячими" (активными) метаболитами, то есть предшественниками других гликозидов, часто не накапливаются в соответствующих фракциях.

Следующая группа представлена бивиттозидами (или бохадшиозидами) (Еляков, Стоник, 1986). Они имеют по два, четыре или шесть моносахаридных остатков, причем основными компонентами в природных суммах являются гексаозиды. Сульфатной группы бохадшиозиды не имеют. У них также отсутствует гидроксильная группа при С-17 агликона. Бохадшиозиды с 17-оксигруппой, вероятно, существуют лишь в минорных количествах. Так, сообщалось о выделении следовых количеств праслиногенина, артефактного генина с 17-оксигруппой, из продуктов кислотного гидролиза гликозидной суммы *Bohadschia koellikeri* (Roller et al., 1969). Минорные количества генинов с 17-оксигруппой обнаружены также и в *B. vitiensis* (Clastres et al., 1978). Однако до настоящего времени ни одного окисленного по С-17 гликозида из *Bohadschia* в индивидуальном состоянии не было выделено.

Промежуточной группой между этими двумя сериями гликозидов являются голотуринозиды, выделенные из *Holothuria forskali* (Rodriguez et al., 1991). Они имеют от двух до пяти сахаров в углеводных цепях, причем пентаозиды - основные компоненты гликозидной фракции. Эти вещества не обладают сульфатной группой, однако по своему строению они несколько ближе к голотуринам, так как имеют более окисленные агликоны, чем у бохадшиозидов.

Голотурины составляют фракции тритерпеновых гликозидов *Holothuria* и *Actinopyga*. Бохадшиозиды встречаются только в голотуриях рода *Bohadschia*. Как отмечалось выше, *B. graeffei*,

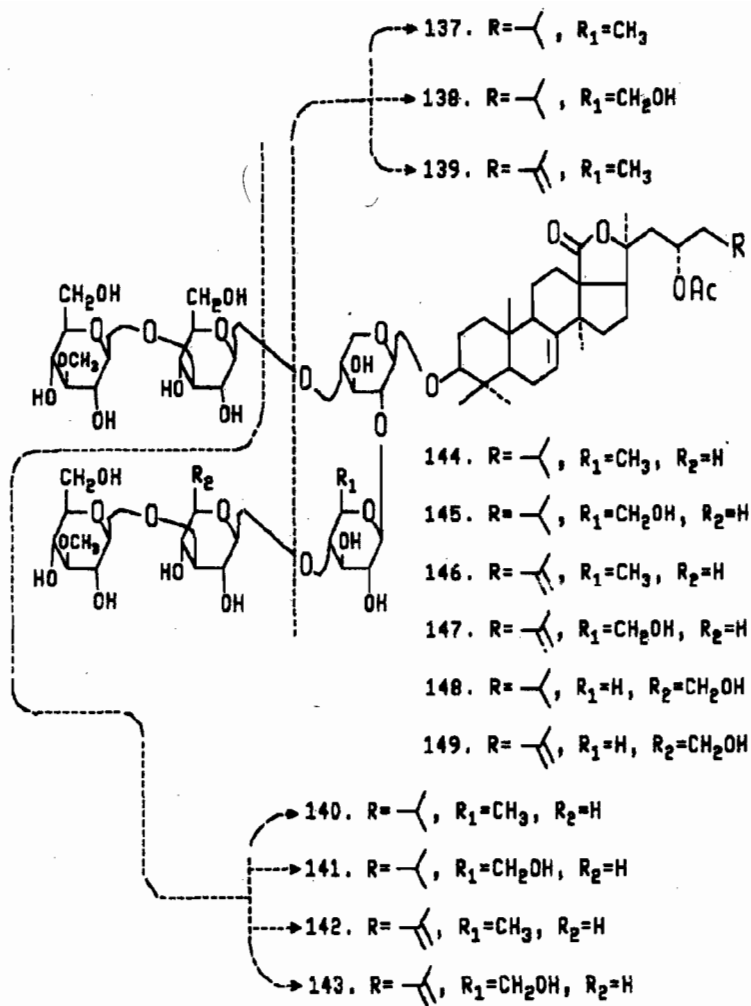
“отклоняющаяся” по строению тритерпеновых гликозидов от других видов этого рода, была выведена из его состава.

Анализ географического распределения тритерпеновых гликозидов голотурий (табл. 3.2) убедительно показывает, что они имеют таксономическую специфичность и их строение не связано с районом сбора голотурий.

3.1.2 Семейство Stichopodidae

В 1973 г. Еляков с соавторами, изучив гликозидные фракции тихоокеанских голотурий *Stichopus chloronotus*, *S. variegatus*, *Thelenota ananas* и *Apostichopus japonicus* и продукты их кислотного гидролиза на хроматографическом уровне, показали, что гликозиды из Stichopodidae отличаются от гликозидов из Holothuriidae. Кроме того, было установлено, что по строению агликона гликозиды из *Apostichopus japonicus* отличаются от других химически изученных к тому времени Stichopodidae, а именно: *S. chloronotus*, *S. variegatus* и *Thelenota ananas* (Elyakov et al., 1973). Несколько позже было найдено, что карибская голотурия *Astichopus multifidus* содержит гликозиды, близкие к гликозидам из *S. chloronotus*, *S. variegatus* и *Thelenota ananas* (Elyakov et al., 1975b). Примерно в то же самое время было показано, что обитающий у западного побережья США *Parastichopus californicus* содержит гликозиды, дающие при кислотном гидролизе тот же агликон, что и гликозиды из *A. japonicus* (Tan et al., 1975; Sheikh, Djerassi, 1976).

Последующее установление полной структуры гликозидов из голотурий сем. Stichopodidae подтвердило сделанные на хроматографическом уровне выводы об их таксономическом распределении. Всего для этой группы голотурий определено строение 15 веществ. Стихопозиды А (137) и В (138), выделенные из *Stichopus chloronotus*, являются биозидами, имеющими одинаковый агликон, но разные углеводные цепи (Шарыпов и др., 1981). Агликон характеризуется присутствием 7(8)-двойной связи в голостановом ядре и ацетоксигруппы в положении 23. Стихопозид А в смеси с его 25(26)-дегидропроизводным (139) обнаружен так-

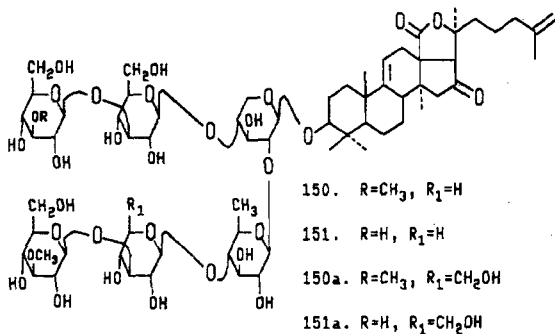


же в *Thelenota anapas* (Стоник и др., 1982в). Теленотозиды А (140) и В (141), а также их 25(26)-дегидропроизводные (142) и (143) представляют собой тетраозиды, отличающиеся от стихопозидов А и В наличием дополнительного биозидного фрагмента 3-О-метилглюкоза-(1→3)-ксилоза, присоединенного к положению 4 хиновозы или глюкозы соответственно (Стоник и др.,

1982в). Эти гликозиды, скорее всего, связаны со стихопозидами А и В биогенетически.

Стихопозиды С (144) и D (145), называемые японскими авторами стихлорозидами С₁ и В₁, по-видимому, также биогенетически связаны с теленотозидами и представляют собой гексаозиды, образованные присоединением к положению 4 ксилозного остатка теленотозидов А и В биозидной составляющей: 3-О-метилглюкоза-(1→3)-глюкоза. Стихопозиды С и D обнаружены и в *Stichopus variegatus* в смеси с их 25(26)-дегидропроизводными (146) и (147), по японской номенклатуре стихлорозидами С₂ и В₂ соответственно. 25(26)-дегидропроизводное стихопозида С было определено как основной компонент гликозидной фракции *Astichopus multifidus* (Стоник и др., 1982а). Кроме того, стихопозид С и его 25(26)-дегидроаналог были выделены из экстрактов *Thelenota ananas* (Стоник и др., 1982в). Стихопозиды С и D обнаружены в *S. chloronotus* (Стоник и др., 1982а,б).

Стихопозид Е (148) (стихлорозид А₁) является гексаозидом, углеводная цепь которого состоит из биозидного блока “ксилоза-(1→2)-ксилоза” с двумя присоединенными к С-4 в ксилозных остатках биозидными составляющими: 3-О-метилглюкоза-(1→3)-глюкоза. Агликон стихопозида Е идентичен агликону других стихопозидов и теленотозидов. Стихопозид Е был выделен из *S. chloronotus*, а также в сумме с 25(26)-дегидроаналогом (149) (стихлорозид А₂) из *Stichopus variegatus* (Мальцев и др., 1983). Интересно, что в *S. chloronotus*, собранных на Большом барьерном рифе, обнаружены стихопозиды С, D и Е без их 25(26)-дегидропроизводных, а японские авторы выделили из животных того же вида, собранных у побережья Японии, как эти гликозиды, так и их 25,26-дегидроаналоги (Kitagawa et al., 1981с). Этими же авторами идентифицированы стихопозиды С, D, и Е вместе с их соответствующими дегидропроизводными в *Stichopus hermanni* и *Thelenota ananas*, собранных у побережья Окинавы (Kobayashi et al., 1991а). Сумма стихопозидов С, D и Е, но без их 25(26)-дегидроаналогов идентифицирована в *Thelenota anax* (Kobayashi et al., 1991а).



Гликозиды северотихоокеанских голотурий *Stichopus* (=Apostichopus) *japonicus* и *S.* (=Parastichopus) *californicus* - голотоксины - структурно заметно отличаются от стихопозидов и теленотозидов. Агликон голотоксинов имеет двойную связь в положении 9(11), а не 7(8) и, кроме того, кетогруппу в положении 16 и двойную связь в положении 25. 23-ацетоксигруппа у этого агликона отсутствует. Углеводная цепь голотоксина А₁ (150) идентична углеводной цепи стихопозида С. Голотоксин В₁ (151) отличается от голотоксина А₁ тем, что вместо терминальной 3-О-метилглюкозы в верхней полуцепи углеводной составляющей имеет глюкозу (Maltsev et al., 1984; Левин и др., 1986).

Японскими авторами выделены из *A. japonicus*, собранного у побережья Японии, голотоксины А (150а) и В (151а), отличающиеся от (150) и (151) моносахаридным составом, а именно наличием в нижней полуцепи остатка глюкозы вместо ксилозы (Kitagawa et al., 1978). Исходя из того, что практически все химически изученные представители *Stichopodidae* содержат в качестве основных компонентов вещества с идентичными углеводными цепями, а также из наличия веществ (150) и (151) в *P. californicus* - виде, морфологически близком к *A. japonicus*, мы полагаем, что японские авторы ошиблись в установлении структуры голотоксинов. Это тем более вероятно, что они не приводят в своих работах по тритерпеновым гликозидам из представителей семейства *Stichopodidae* данных ЯМР¹³С спектроскопии.

Все голотоксины, теленотозиды и стихопозиды не имеют сульфатной группы, при этом для большинства представителей *Stichopodidae* характерно накопление в качестве основных компонентов гликозидных фракций гексаозидов. По составу гликозидных фракций все химически изученные представители *Stichopodidae* распределяются на две группы (табл. 3.3). Первая объединяет виды, содержащие стихопозиды и теленотозиды, в нее входят *S. chloronotus*, *S. variegatus*, *S. hermanni*, *A. multifidus*, *T. anapas* и *T. anax*. Вторая - это голотурии, содержащие голотоксины: *A. japonicus* и *P. californicus*.

Таблица 3.3

Распределение тритерпеновых гликозидов голотурий сем. *Stichopodidae*

Вид	Район сбора	Гликозиды	Источник
<i>Astichopus multifidus</i>	Куба	146	Стоник и др., 1982a
<i>Apostichopus</i> (= <i>Stichopus</i>) <i>japonicus</i>	Зал. Посьета (Японское море)	150,151	Maltsev et al., 1984
—	Внутреннее море (Япония)	150,151	Kitagawa et al, 1978
<i>Parastichopus</i> (= <i>Stichopus</i>) <i>californicus</i>	Фрайди-Харбор, Западное побережье США	150,151	Левин и др., 1986
<i>S. chloronotus</i>	Большой барьерный риф (Австралия)	144,145,148	Стоник и др., 1982a,б, Мальцев и др., 1983,
—	о. Коэтиви (Сейшельские о-ва)	137,138	Шарыпов и др., 1981
—	о. Окинава (Япония)	144,145,146,147, 148,149	Kitagawa et al., 1981c
<i>S. hermanni</i>	о. Окинава (Япония)	144,145,146,147, 148,149	Kobayashi et al., 1991a
<i>S. variegatus</i>	Большой барьерный риф (Австралия)	144,145,146,147, 148,149	Стоник и др., 1982a,б, Мальцев и др., 1983

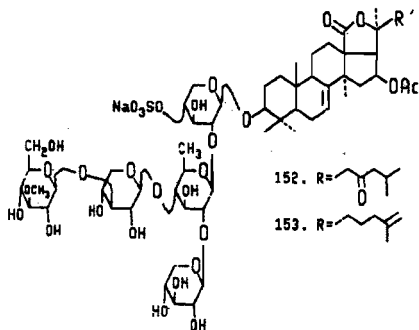
Вид	Район сбора	Гликозиды	Источник
<i>Thelephota anapas</i>	Сейшельские о-ва	137,139,140,142, 143,144,146	Стоник и др., 1982в
—	о. Окинава (Япония)	144,145,147,148, 149	Kobayashi et al., 1991a
<i>T. anax</i>	о. Окинава (Япония)	144,145,148	Kobayashi et al., 1991a

3.2. Отряд *Dendrochirotida*

Отряд *Dendrochirotida* в химическом отношении изучен хуже, чем *Aspidochirotida*. Он значительно уступает последнему по числу изученных видов, однако по количеству установленных к настоящему времени полных структур между ними наблюдается полное равенство (см. таблицы 3.2, 3.3 и 3.4).

Только для одной дальневосточной голотурии *Cuscumaria japonica* (сем. *Cuscumariidae*) уже установлено строение 11 тритерпеновых гликозидов. Это животное содержит очень сложную смесь гликозидов, отличающихся друг от друга строением как агликона, так и углеводной цепи. Общими чертами для всех выделенных к настоящему времени соединений этой группы является наличие пентасахаридной, разветвленной по второму моносахаридному звену (хиновозе) углеводной цепи, сульфатной группы в положении 4 ксилозного остатка и 7(8)-двойной связи в агликоне. Кукумариозиды серий A_0 (152, 153, 154), A_1 (155), A_7 (160, 161, 162) являются минорными компонентами, содержание кукумариозида A_4-2 (159) несколько выше, кукумариозид A_2-2 (156) можно считать основным компонентом гликозидной суммы, а близкие к нему по структуре и хроматографическому поведению соединения A_2-3 (157) и A_2-4 (158) также минорные.

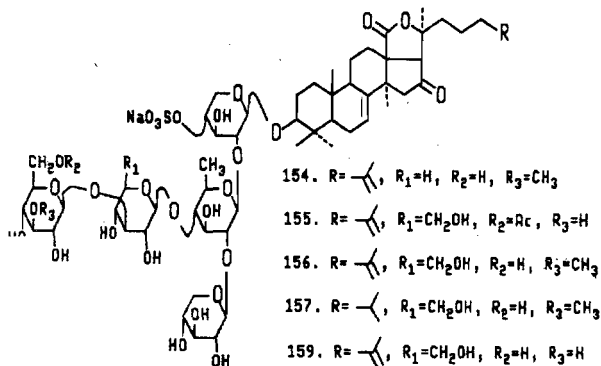
Интересной особенностью кукумариозида A_0-1 (152) (Дроздова и др., 1993а) является одновременное наличие как 23-кетогруппы, так и 16β -ацетата в агликоне. Этот гликозид, как и остальные представители группы A_0 , в отличие от большинства



компонентов фракции, содержит в качестве третьего моносахаридного остатка в углеводной цепи ксилозу, а не глюкозу. Кукумариозид А₀-2 (153) (Дроздова и др., 1992б) не имеет кетогруппы в боковой цепи агликона, но содержит 25(26) терминальную двойную связь. Кукумариозид А₀-3 (154) отличается от (153) присутствием 16-кетогруппы, характерной для большинства гликозидов из *Cucurmaria japonica* (Дроздова и др., 1993а).

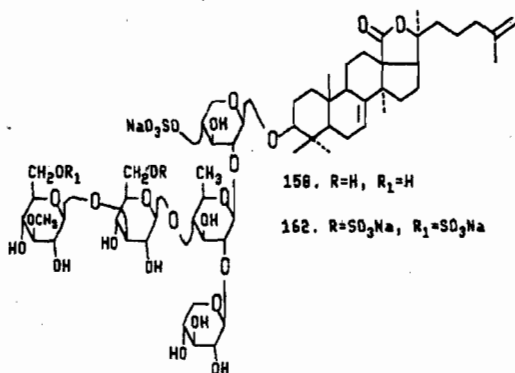
Кукумариозид А₁-2 (155) (Дроздова и др., 1992а) интересен наличием 6-О-ацетатной группы в терминальном остатке глюкозы, что является пока уникальным случаем для гликозидов голотурий.

Кукумариозид А₂-2 (156), основной компонент фракции (Авилов и др., 1990б), содержит 16-кетогруппу и 25(26) терминальную двойную связь в агликоне. Кукумариозиды А₂-3



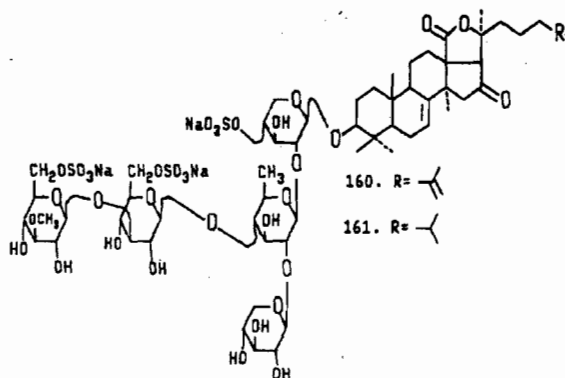
(157) и А₂-4 (158) являются 25,26-дигидро- и 16-дезоксо-аналогами гликозида (156) (Авилов и др., 1990б).

Кукумариозид А₄-2 (159) имеет глюкозу в качестве терминального моносахаридного остатка в углеводной цепи, чем отличается от других веществ из этой фракции, содержащих, как и большинство других тритерпеновых гликозидов голотурий, терминальную 3-О-метилглюкозу (Авилов и др., 1990б).



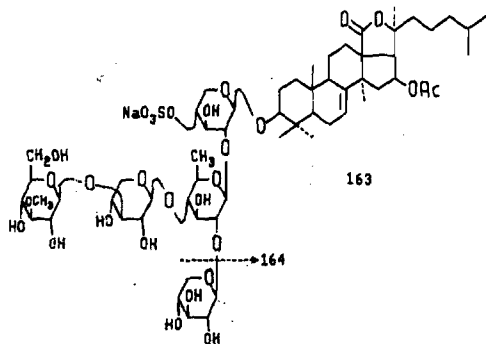
Кукумариозиды А₇-1 (160), А₇-2 (161) и А₇-3 (162) по структуре очень близки к веществам (156), (157) и (158) соответственно. Однако помимо сульфатной группы в положении 4 при первом ксилозном остатке они имеют еще две дополнительные сульфатные группы при С-6 остатков глюкозы и 3-О-метилглюкозы (Дроздова и др., 1993б).

Гликозиды североатлантической голотурии *Siscumagia frondosa*, морфологически очень близкой к *S. jarpocica*, сходны по



своей структуре и с ее тритерпеновыми гликозидами. Однако если основные компоненты гликозидной фракции из *C. japonica* содержат глюкозу в качестве третьего моносахаридного остатка в углеводной цепи и 16-кетогруппу в агликоне, то гликозиды *C. frondosa* - ксилозу и 16 β -ацетат соответственно.

Основной компонент гликозидной фракции *C. frondosa* - фрондозид А (163) (Girard et al., 1990; Авилов и др., 1993) имеет пять моносахаридных звеньев. Он очень близок к минорному гликозиду (153) из *C. japonica*, однако, в отличие от него, у (163) насыщенная боковая цепь в агликоне. Минорный фрондозид А₁ (164) (Авилов и др., 1993) содержит четыре моносахаридных



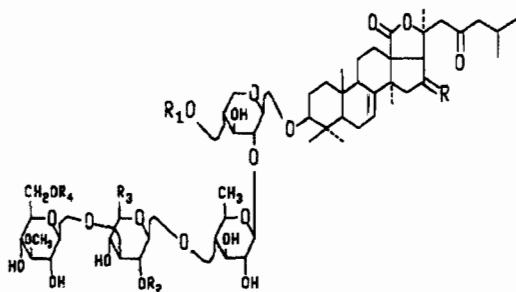
остатка и является, по-видимому, биосинтетическим предшественником фрондозида А. Следует отметить полное совпадение структур основного компонента гликозидной фракции *C. frondosa*, собранной у атлантического побережья Канады (Girard et al., 1990) и у кольского побережья Баренцева моря (Авилов и др., 1993).

Из *Cuscutaria echinata* японскими исследователями выделены шесть полярных тритерпеновых гликозидов - кукумехинозиды А, В, С, D, Е и F (165 - 170) (Miyamoto et al., 1990). Все эти вещества имеют линейную тетрасахаридную углеводную цепь, содержащую остатки как глюкозы, так и ксилозы в качестве третьего моносахаридного остатка, 7(8)-двойную связь и 23-кетогруппу в агликоне, а также сульфат в положении 4 при первом ксилозном остатке. Кукумехинозиды А - С (165 - 167) содержат по две суль-

фатные группы в углеводной цепи - при первом и третьем моносахаридных остатках. Содержащий в качестве третьего моносахаридного звена ксилозу кукумехинозид В (166) имеет сульфатную группу, присоединенную к С-2 этого ксилозного остатка, что является уникальным для гликозидов голотурий. Для кукумехинозидов А (165) и В (166) характерно наличие 16-кетогруппы, в то время как кукумехинозид С (167) является 16-дезоксопроизводным вещества (165).

Кукумехинозиды D (168), E (169) и F (170) имеют дополнительную по сравнению с веществами (165), (166) и (167) сульфатную группу при С-6 терминального остатка 3-О-метилглюкозы, являясь, таким образом, трисульфатированными гликозидами.

Из атлантической голотурии *Cuscutaria lefevrei* испанскими исследователями выделено четыре олигогликозида - ле-

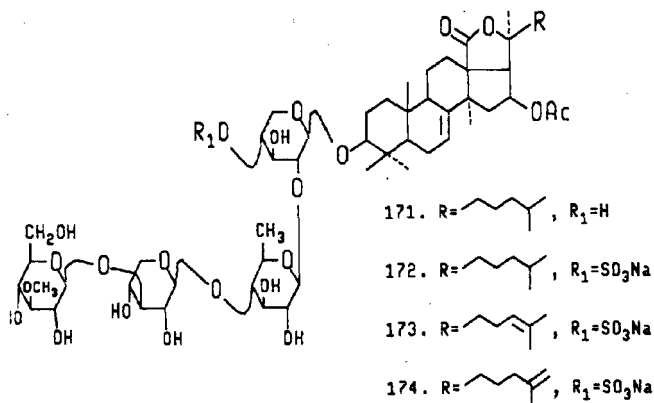


165. $R=O$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=H$, $R_3=CH_2OSO_3Na$, $R_4=H$
 166. $R=O$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=SO_3Na$, $R_3=H$, $R_4=H$
 167. $R=H_2$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=H$, $R_3=CH_2OSO_3Na$, $R_4=H$
 168. $R=O$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=H$, $R_3=CH_2OSO_3Na$, $R_4=SO_3Na$
 169. $R=O$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=SO_3Na$, $R_3=H$, $R_4=SO_3Na$
 170. $R=H_2$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=H$, $R_3=CH_2OSO_3Na$, $R_4=SO_3Na$

февриозиды А₁ (171), А₂ (172), В (173) и С (174) (Rodriguez, Riguera, 1989). Эти вещества имеют линейную тетрасахаридную углеводную цепь, содержат ксилозу в качестве третьего моносахаридного остатка, 7(8)-двойную связь и 16β-ацетоксигруппу в агликоне. Боковая цепь агликона у левефриозидов А₁ и А₂ насыщенная, однако левефриозид А₂ содержит сульфатную группу в

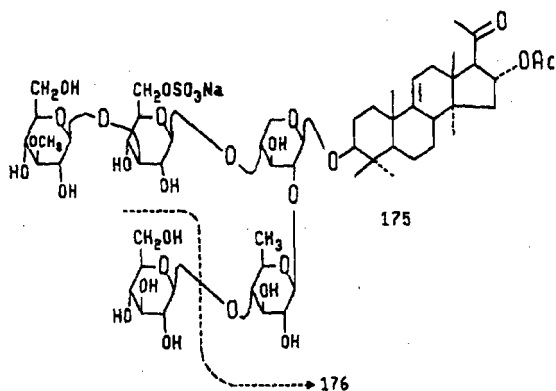
углеводной цепи, а в лефевриозиде А₁ она отсутствует. Лефевриозиды В и С оба сульфатированы по С-4 первого ксилозного остатка, различаясь между собой лишь характером ненасыщенности боковой цепи, они имеют 24(25) и 25(26)- двойную связь соответственно.

В оригинальной статье (Rodriguez, Riguera, 1989) для лефевриозидов А₁, А₂, В и С приводится α -конфигурация 16-О-ацетатной группы в агликоне. При этом авторы установили ее, сравнивая спектроскопические данные веществ (171), (172), (173) и (174) и агликона гликозидов из *C. frondosa* - фрондогенина (Findlay et al., 1984a). Поскольку в настоящее время ка-



надские авторы пересмотрели свои результаты и определили соответствующую конфигурацию как β (Girard et al., 1990), мы также приводим в настоящей работе β -конфигурацию для этой функциональной группы в формулах всех веществ этой серии.

Рассмотренные выше голотурии рода *Cuscutaria* относятся к подсемейству *Cuscutariinae*. Гликозиды тихоокеанской голотурии *Duasmodyctyla kurilensis* (подсем. *Thyonidiinae*) - курилозиды А (175) и С (176) существенно отличаются по своему строению от других изученных гликозидов голотурий. Агликон курилозидов, являющийся гексанорланостановым производным, содержит 9(11)-двойную связь, 16 α -ацетоксигруппу, а вместо боковой цепи в положении 17 - ацетильный радикал. Достаточно своеобразна и углеводная цепь курилозидов (Авилов и др, 1991a).

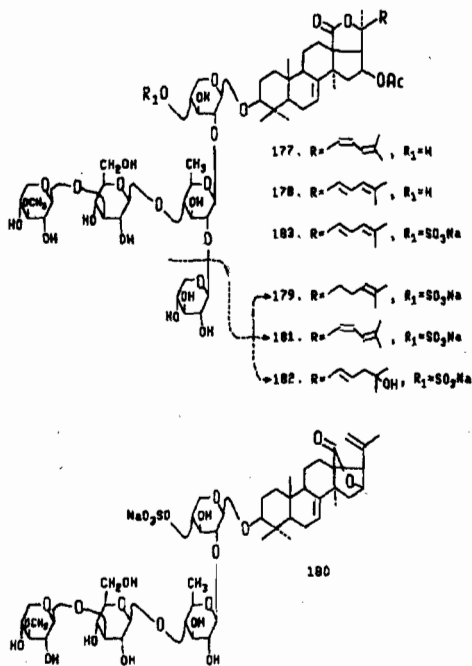


Курилозид А содержит пять моносахаридных звеньев, причем углеводная цепь разветвлена по первой ксилозе и сульфатирована по С-6 глюкозного остатка верхней полуцепи. Курилозид С является сульфатированным разветвленным тетраозидом и, по-видимому, биосинтетическим предшественником курилозида А.

Дальневосточная голотурия *Eupentacta* (= *Cucumaria*) *fraudatrix* (сем. *Sclerodactylidae*, подсем. *Sclerodactylinae*) имеет экстремально высокое содержание тритерпеновых гликозидов - до 10% от сухой массы животного. Качественный состав соответствующей фракции весьма сложен. К настоящему времени в *E. fraudatrix* идентифицировано семь тритерпеновых гликозидов. Все они содержат 7(8)-двойную связь в агликоне.

Кукумариозиды C_1 (177) и C_2 (178) являются несulfатированными пентаозидами (Афиятуллоу и др., 1987). Их углеводная цепь по своей "архитектуре" аналогична таковой гликозидов *Cucumaria japonica* и *C. frondosa*. Эти вещества содержат 16 β -ацетат и 22(23),24(25)-диеновый фрагмент в агликоне. Гликозид (177) имеет цис-, а (178) - транс-конфигурацию 22(23)-двойной связи. Интересно, что в качестве терминального моносахаридного остатка у этих веществ выступает 3-О-метилсилоза, а не 3-О-метилглюкоза, как у большинства других тритерпеновых гликозидов голотурий. Кукумариозид C_2 также идентифицирован в *Eupentacta pseudoquinquesemita* (Калинин и др., 1988).

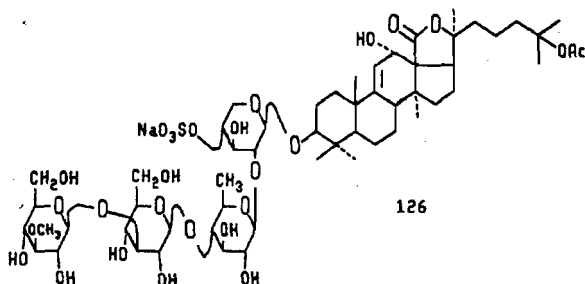
Все кукумариозиды группы G имеют линейную тетрасахаридную углеводную цепь с С-4 сульфатом при первой ксилозе и терминальной 3-О-метилксилозой. Кукумариозид G₁ (179) является основным компонентом гликозидной фракции. Его агликон имеет 16β-ацетат и 24(25)-двойную связь (Афиятуллов и др., 1985). Агликон минорного кукумариозида G₂ (180) существенно отличается по своему строению от агликонов остальных исследованных тритерпеновых гликозидов голотурий (Авилов и др., 19916). Он содержит необычный 18(16)-лактон и относится к ранее неизвестному пентанорланостановому ряду. Минорный кукумариозид G₃ (181) близок к кукумариозиду G₁, но имеет 22(23),24(25)-диеновый фрагмент с цис-конфигурацией 22(23)-двойной связи в боковой цепи (Калинин и др., 1992а). Кукумариозид G₄ (182) имеет в боковой цепи агликона 23(24)-двойную связь и 25-оксигруппу (Калинин и др., 1992б). Кукумариозид Н (183) является сульфатированным по С-4 первого ксилозного остатка производным кукумариозида С₂ (178). Он найден и в гликозидной фракции из *Eupentacta*



pseudoquinquesemita, где является основным компонентом (Калинин и др., 1988).

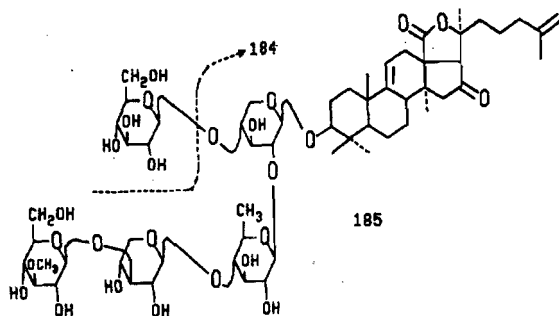
Собранная в Калифорнийском заливе голотурия *Neothyone gibbosa* (подсем. *Sclerodactylinae*) содержит в качестве основного компонента гликозидной фракции неотиозид (126) (Encarnacion et al., 1989), по своей структуре идентичный первикозиду А (126) из *Holothuria pervicax* (Kitagawa et al., 1989b).

12 α -окси-9(11)-еновый фрагмент этого гликозида характерен для сем. *Holothuriidae* (отр. *Aspidochirotida*), и его нахождение в



представителе другого отряда представляет особый интерес.

Гликозиды *Cladolabes* sp., собранной у о. Занзибар (сем. *Sclerodactylidae*, подсем. *Cladolabinae*) - кладолозид А (184) и

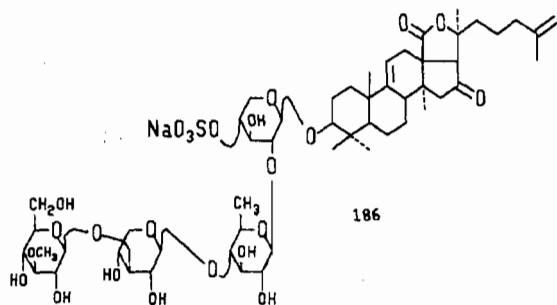


кладозозид В (185) сходны по строению с голотоксином А₁ (150) из *Apostichopus japonicus* (Maltsev et al., 1984). Эти вещества отличаются от него только отсутствием двух или, соответственно,

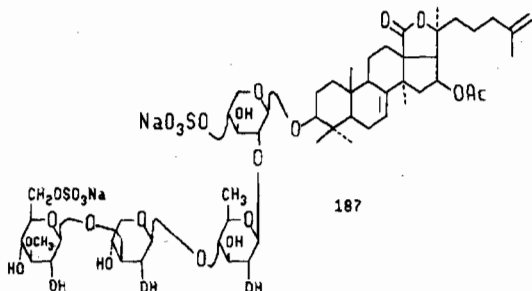
одного моносахаридного звена в верхней полуцепи углеводной составляющей (Авилов, Стоник, 1988).

Из сем. Phyllophoridae к настоящему времени изучалась химически только тропическая голотурия *Neothyonidium magnum*. Французские исследователи выделили из голотурий, собранных у Новой Каледонии, неотионидиозид (186) (Zurita et al., 1986). Он содержит голотоксиногенин, т. е. агликон, идентичный генину голотоксинов, а также линейную тетрасахаридную углеводную цепь, сульфатированную по С-4 первой ксилозы и имеющую ксилозу в качестве третьего моносахаридного звена.

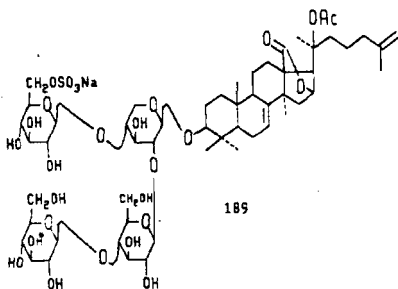
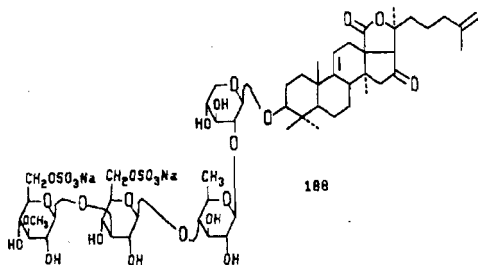
Из образца этой же голотурии, собранной у побережья южного



Вьетнама, был выделен другой гликозид - неотионидиозид С (187) (Авилов и др., 1990а). В отличие от неотионидиозид (186) полученный гликозид содержит 7(8)-двойную связь, 16 β -ацетоксигруппу и дополнительную сульфатную группу в углеводной цепи при С-6 терминальной 3-О-метилглюкозы.



Из семейства Psolidae к настоящему времени химически изучено два вида - *Psolus fabricii*, распространенный в северной части Тихого и Атлантического океанов, и *Psolus* sp., собранный в б. Кратерная на о-вах Ушишир (Курильские о-ва). Псолюсозид А (188) - основной компонент гликозидной фракции *P. fabricii*, собранного у побережья о. Онекотан, Курильские о-ва, имеет голтоксिनогенин в качестве агликона. Линейная тетрасахаридная углеводная цепь (188) содержит две сульфатные группы при С-6 остатков глюкозы и 3-О-метилглюкозы (Калинин и др., 1985). Канадские авторы из того же вида, собранного у атлантического побережья Канады, выделили так называемый псолютурин А. Он также имеет две сульфатные группы в тетрасахаридной углеводной цепи и голтоксिनогенин (Gagneau et al., 1983). Это вещество отличается от выделенного сотрудниками ТИБОХ ДВО РАН псолюсозида А только последовательностью расположения моносахаридных звеньев. Поскольку приводимые канадскими авторами данные ЯМР¹³С спектров совпадают с таковыми для псолюсозида А, структура которого была установлена частичным кислотным гидролизом с получением всех возможных для него



прогенинов, мы считаем, что канадские авторы ошиблись при установлении структуры псолютурина А и приводим для него в табл. 3.4 структуру (188). Псолюсозид А также идентифицирован в качестве минорного компонента в гликозидах *Psolus sp.* (Калинин и др., 1989а).

Псолюсозид В (189) - минорный гликозид из *Psolus fabricii* и основной компонент гликозидной фракции из *Psolus sp.* (Калинин и др., 1989а) весьма необычен по своему химическому строению. Его агликон содержит 7(8)-двойную связь, 18(16)-лактон (в отличие от 18(20)-лактона у большинства тритерпеновых гликозидов голотурий), 20(S)-ацетоксигруппу и терминальную 25(26)-двойную связь в боковой цепи. Углеводная цепь псолюсозида В также нетривиальна. Она состоит из одного остатка ксилозы и трех глюкоз, разветвлена по первому остатку ксилозы и содержит сульфатную группу при С-6 терминальной глюкозы в верхней полуцепи.

Распределение гликозидов в исследованных представителях *Dendrochirotida* показано в таблице 3.4

Таблица 3.4.

Распределение тритерпеновых гликозидов в отряде *Dendrochirotida*

Таксон	Район сбора	Гликозиды	Источник
Сем. Cucumariidae			
Подсем. Cucumariinae			
<i>Cucumaria echinata</i>	Внутреннее море (Япония)	165,166,167,168, 169,170	Miyamoto et al., 1990
<i>C. frondosa</i>	Атлантическое побережье Канады	163	Girard et al., 1990
—	Кольское побережье Баренцева моря	163,164	Авилов и др., 1993
<i>C. japonica</i>	Зал. Посыета (Японское море)	152,153,154,155, 156,157,158,159, 160,161,162	Авилов и др., 1990б, Дроздова и др., 1992а,б, Дроздова и др., 1993в

Таксон	Район сбора	Гликозиды	Источник
<i>C. lefevrei</i>	Галисия (северо-западное побережье Испании)	171,172,173,174	Rodriguez Riguera, 1989
Подсем. Thyonidiinae			
<i>Duasmodactyla kurilensis</i>	о. Онекотан (Курильские о-ва)	175,176	Авилов и др., 1991а
Сем. Sclerodactylidae			
Подсем. Sclerodactylinae			
<i>Eupentacta fraudatrix</i>	Залив Посьета (Японское море)	177,178,179,180, 181,182,183,184	
<i>E. pseudo-quinquesemita</i>	о-ва Ушишир (Курильские о-ва)	178,183	Калинин и др., 1988
<i>Neothyone gibbosa</i>	Калифорнийский залив	126	Encarnacion et al., 1989
Подсем. Cladolabinae			
<i>Cladolabes</i> sp.	о. Занзибар (Восточная Африка)	184,185	Авилов, Стоник, 1988
Сем. Phyllophoridae			
<i>Neothyonidium magnum</i>	Новая Каледония	186	Zurita et al., 1986
—	Южный Вьетнам	187	Авилов и др., 1990а
Сем. Psolidae			
<i>Psolus fabricii</i>	о. Онекотан (Курильские о-ва)	188,189	Калинин и др., 1985; Калинин и др., 1989а
—	Атлантическое побережье Канады	188	Garneau et al., 1983
<i>Psolus</i> sp.	о-ва Ушишир (Курильские о-ва)	188,189	Калинин и др., 1989а

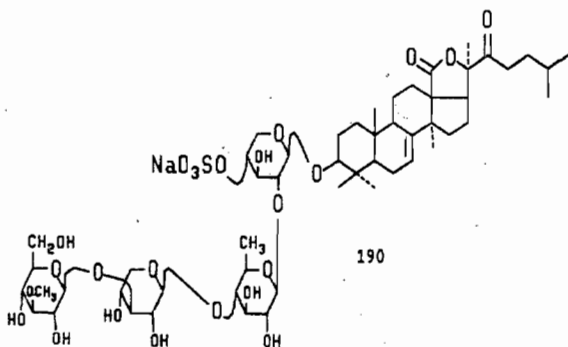
Всего из 12 изученных представителей отряда выделено 38 гликозидов - столько же, сколько из 29 видов *Aspidochirotida*. Это уже само по себе свидетельствует о большем структурном разнообразии гликозидов *Dendrochirotida*. Действительно, некоторые из этих гликозидов содержат 18(16)-лактон вместо 18(20)-лактона. У некоторых он отсутствует вообще. Имеются укороченные боковые цепи в агликонах. Гликозиды в основном менее окислены, чем соответствующие вещества из других таксонов голотурий, содержат более разветвленные углеводные цепи, сульфатированные часто по С-6 глюкозных остатков, а не по С-4 ксилозных. Между представителями родственных таксонов здесь нередко существуют значительные различия в структуре тритерпеновых гликозидов. Кроме того, гликозидные фракции сами по себе зачастую имеют очень сложный состав. Так, очень трудно найти структурное сходство между псолюзозидами А и В, выделенными из одного и того же сбора голотурий *Psolus fabricii*. Достаточно велик разброс между структурами гликозидов из представителей родов *Eupentacta* и *Neothyonidium*.

Вместе с тем закономерности, связанные с постоянством состава гликозидных фракций у близкородственных или принадлежащих к одному виду животных независимо от места сбора, хорошо прослеживаются на примере родов *Eupentacta*, *Psolus*, разных сборов *Cuscutaria frondosa*. Однако высокая степень сложности гликозидных сумм и колебания в количественном соотношении их компонентов заставляют с большой осторожностью использовать данные о строении "дендрохиротидных" гликозидов для целей систематики.

3.3. Химически малоисследованные группы *Holothurioidea*

Из других таксономических групп голотурий только для *Pseudostichopus trachus* (сем. *Gephirothuriidae*, отряд *Gephirothuriida* или сем. *Synallactidae*, отряд *Aspidochirotida*) установлена полная структура основного компонента гликозидной фракции - псевдостихопозида А (190) (Калинин и др., 1989б). Агликон этого гликозида содержит 7(8)-двойную связь и 22-ке-

тогруппу. Углеводная цепь является линейной тетрасахаридной, имеет в качестве третьего моносахаридного остатка ксилозу, а также сульфат в положении 4 первого ксилозного остатка.



Для представителя отряда Molpadiida - дальневосточной голотурии *Paracaudina gansonetii* (сем. Caudinidae) установлена только структура нативного агликона, который оказался идентичен голотоксиногенину из гликозидов *Apostichopus japonicus* (Калинин и др., 1986). Изучались также два вида из отряда Apodida - *Synapta maculata* (сем. Synaptidae) (Кузнецова и др., 1985) и *Chiridota* sp. (сем. Chiridotidae). Было показано, что нативным генином основного компонента гликозидной фракции *S. maculata* является агликон, содержащий 7(8)-двойную связь и 23-кетогруппу. Для *Chiridota* sp., по предварительным данным, в качестве нативного генина определен голотоксиногенин.

Таким образом, к настоящему времени установлено 77 полных структур тритерпеновых гликозидов голотурий.

4. ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ И СИСТЕМАТИКА ГОЛОТУРИЙ

4.1. Общие соображения

Современную систему класса Holothurioidea можно считать относительно совершенной, тем не менее в ней, как и в системе любого крупного таксона, существуют как более устойчивые, надежные блоки, так и такие, по поводу которых суждения отдельных систематиков расходятся. Один из наиболее распространенных приемов повышения надежности таксономических выводов - увеличение количества вовлеченных в анализ признаков.

В этом отношении значительный интерес представляет использование химической информации. Важность ее для систематики в разные годы оценивалась по-разному. За свою примерно вековую историю хемосистематика пережила уже и период расцвета, когда считалось, что только ей под силу решить все основные проблемы систематики и эволюции и период если не упадка, то трезвой оценки ограниченности ее возможностей. Явно наметившийся в последнее время отказ адептов хемосистематики от претензий на владение истиной в последней инстанции в систематике и филогенетике (см. напр.: Prospects..., 1988) дает повод скорее для оптимизма, чем для пессимизма: в признании ограниченности - один из источников саморазвития науки (Павлинов, 1992).

Одна из причин снижения интереса систематиков и филогенетиков к "новым", в том числе и биохимическим признакам, - накопление фактов о том, что они обладают теми же "недостатками", что и морфологические, - у них наблюдается изменчивость, параллелизм и конвергенция.

Рассмотрим возможность использования в таксономических целях структуры тритерпеновых гликозидов голотурий. Заметим, что материалы, представленные в гл. 3, относились к сравнительной биохимии - химическим особенностям тех или иных таксонов. Естественно, заманчиво использовать такую

информацию для решения обратной задачи - в целях химической таксономии, то есть строить и корректировать систему с использованием химических данных. Однако для этого нужно предварительно выяснить характеристики структуры гликозидов как таксономического признака.

Сам по себе факт таксономической специфичности тритерпеновых гликозидов не вызывает сомнений, она отражается и в названиях соединений: голотурины, стихопозиды, бохадшиозиды и др. Состав гликозидов, таким образом, является таксономическим признаком. Вопрос состоит в определении таксономической ценности этого признака.

Как было отмечено выше, ни один признак не может служить показателем ранга обладающей им группы. Материалы гл. 3 показывают, что в одних группах голотурий состав гликозидов характеризует виды, в других - роды и даже таксоны надродового ранга. Действительно, гликозиды двух близких видов *Cucumaria japonica* и *Cucumaria frondosa* заметно различаются между собой по структуре, в то время как для голотурий рода *Bohadschia* (за исключением обсуждаемой далее *Bohadschia graeffei*) строение гликозидов постоянно. Относительно сходный состав гликозидов характерен для родов *Holothuria*, *Actinopyga* и *Pearsonothuria* сем. *Holothuriidae*. Примеры различного таксономического веса гликозидов голотурий можно было бы продолжить.

Явные несоответствия структуры гликозидов существующей системе таксона могут свидетельствовать о таксономической недоработанности соответствующего участка системы. Однако необходимо учитывать и другие возможности. Так, из разных сборов голотурии *Neothyonidium magnum* сотрудниками ТИБОХ ДВО РАН и французскими исследователями выделены очень несходные между собой гликозиды (см. таблицу 3.4). Здесь могут быть по меньшей мере три объяснения. Первое - это уже упоминавшаяся возможность внутривидовой изменчивости, полиморфизма данного химического признака. Второе - возможность того, что разными группами исследователей просто изучались разные компоненты гликозидной суммы, которая очень сложна по составу. Но возможно и третье объяснение. В ходе

определения *N. magnus* из вьетнамских сборов мы обнаружили, что описание *N. magnus*, с которым работали французские химики, отличается от оригинального описания этого вида. Имеются и существенные отличия изображения на цветной фотографии из французского определителя (Feral, Cherbonier, 1986) и вьетнамских особей; резко различаются они и экологически. Поскольку морфологические характеристики голотурий из наших сборов полностью соответствуют оригинальному описанию вида, можно допустить, что французские химики работали не с *N. magnus*, а с другим, хотя и близким к нему видом. Возможно и суммирование обеих причин - химической и таксономической гетерогенности. Таким образом, чтобы делать конкретные таксономические выводы, необходимо детально изучить если не все компоненты гликозидных фракций сравниваемых животных, то хотя бы основные их гликозиды и обратить специальное внимание на определение видовой принадлежности.

С другой стороны, сведения о структуре тритерпеновых гликозидов, полученные в ходе проведенных исследований, уже позволили уточнить некоторые вызывающие разногласия моменты систематики голотурий.

4.2. Пересмотр таксономического статуса *Bohadschia graeffei*

Химическое исследование голотурий сем. *Holothuriidae* (см. гл. 3) показало специфичность химического состава на уровне рода. Заметным исключением был один вид рода *Bohadschia*, а именно *Bohadschia graeffei*, существенно отличающийся по составу тритерпеновых гликозидов от других бохадший (см. таблицу 3.2).

Действительно, основными компонентами гликозидных фракций *B. graeffei* являются голотурины A_2 (121) и A (119) (Калинин, Стоник, 1982б; Иванова и др., 1985; Kobayashi et al., 1991a), широко распространенные в представителях родов *Holothuria* и *Actinopyga*. В этих гликозидах имеется 12α -окси-9(11)-еновый фрагмент и присутствует гидроксильная группа

при С-17. В тетраозидной углеводной цепи этого голотурина имеется сульфатная группа при ксилозном остатке.

Основной компонент гликозидных фракций из других представителей рода *Bohadschia* - бивиттозид D (133) (таб. 3.2), хотя и имеет некоторое структурное сходство с голотуринами А₂ и А (наличие 12 α -окси-9(11)-енового фрагмента в агликоне), тем не менее существенно отличается от них. У него менее окислен агликон (в частности, нет гидроксила при С-17), отсутствует сульфатная группа при ксилозном остатке, имеется шесть, а не четыре моносахаридных остатка.

Таким образом, у гликозидов *B. graeffei*, с одной стороны, и у гликозидов *B. argus*, *B. marmorata*, *B. vitiensis*, *B. tenuissima* и *B. bivittata*, с другой, имеются значительные структурные различия.

Столь существенные химические различия могли иметь только два объяснения: а) возможность существования различных гликозидов в пределах одного рода, б) таксономическую сборность рода *Bohadschia*. Детальный анализ биологических особенностей показал большую вероятность второго предположения. Действительно, морфологически *B. graeffei* существенно отличается от других видов рода *Bohadschia*. Тело этой голотурии вытянуто и имеет по всей длине почти одинаковую ширину, тогда как тело бохадший, как правило, крепкое, более или менее сигарообразное. Весьма существенна разница в количестве и расположении амбулакральных придатков, на что впервые обратил внимание Т. Пирсон (Pearson, 1913, 1914). В отличие от большинства бохадший, амбулакральные ножки которых небольшие и беспорядочно распределены по брюшной стороне, *B. graeffei* имеют ножки очень крупные и собранные в три резко отграниченных ряда. У *B. graeffei* имеется 25 щупалец, тогда как у остальных бохадчий по 20. Щупальца *B. graeffei* чрезвычайно крупные, их относительная сухая масса у исследованных нами особей составила $3,1 \pm 0,1\%$, тогда как средний показатель для группы видов *B. argus*, *B. marmorata*, *B. paradoxa*, *B. tenuissima* и *B. vitiensis* $0,3 \pm 0,1\%$ (Левин, 1980). Спикулы кожи *B. graeffei* резко отличаются от таковых других бохадший (и всех других голотурий) наличием весьма своеобразных булавообразных (их на-

зывают также ракеткообразными и башнеобразными) тел. Связь этих образований со спикулами других типов голотурий неясна. Мы присоединяемся к мнению Пирсона (Pearson, 1913), что булавообразные тела не гомологичны спикулам типа "башенки" других *Aspidochirotida*.

V. graeffei существенно отличаются от остальных *Bohadschia* функционированием кювьеровых органов. Эти структуры у бохадший отлично развиты и выбрасываются при малейшем раздражении животного, иногда только при приближении к нему пловца. Кювьеровы органы у *V. graeffei* морфологически прекрасно развиты, однако не выбрасываются даже при самом сильном механическом раздражении животного - явление, отмеченное только у некоторых видов *Actinopryga* (Левин, 1979б).

V. graeffei выделяется и экологическими особенностями. Большинство бохадший обитает на открытых участках песка или у оснований коралловых колоний и ведет открытый образ жизни или периодически закапывается в песок. В отличие от них подавляющее большинство особей *V. graeffei* обитает вблизи колоний живых кораллов и непосредственно на самих колониях. Очень крупные щупальца с широкой пластинкой дают возможность этому виду собирать мелкие пищевые частицы с поверхности колоний (Левин, 1980).

Исходя из этого комплекса морфологических, экологических и химических данных *V. graeffei* была выделена в отдельный вновь установленный род *Pearsonothuria* Levin. Диагноз рода приведен в работе: (Левин и др., 1984). Впоследствии эта ревизия рода *Bohadschia* была признана видным специалистом по систематике голотурий Г. Шербонье (Feral, Cherbonnier, 1986). В состав рода Шербонье также включил красноморскую голотурию *Pearsonothuria* (= *Bohadschia*) *draschii*, морфологически очень близкую к *Pearsonothuria graeffei*. К сожалению, данные о составе гликозидной фракции этого животного отсутствуют. Однако исходя из накопленной информации мы можем легко дать прогноз о том, что в *P. draschii* должны присутствовать голотурины типа А и В.

4.3. О таксономическом статусе североатлантической голотурии *Holothuria forskali*

Holothuria forskali занимает изолированное положение в пределах рода *Holothuria* (Rowe, 1969). Она существенно отличается от всех других *Holothuria* чрезвычайно сильной редукцией спикул. Этот вид выделяется и экологией. *Holothuria forskali*, в отличие от других *Holothuria*, распространение которых ограничивается тропической зоной, поднимается от Средиземного моря до Англии и Скандинавии.

Как уже отмечалось в разделе 3.1.1, гликозиды *H. forskali* занимают промежуточное положение между гликозидами *Bohadschia* и остальных *Holothuriidae*. Они имеют от двух до пяти сахаров, причем пентаозиды - основные компоненты гликозидной фракции. Эти вещества не обладают сульфатной группой, как голотурины, однако по своему строению они несколько ближе к голотуринам, чем к бохадшиозидам, так как имеют более окисленные агликаны, чем бохадшиозидами.

Морфологические, экологические данные, а также информация о строении тритерпеновых гликозидов позволяют, по нашему мнению, поставить вопрос о выделении *H. forskali* в отдельный род.

4.4. О таксономическом статусе северотихоокеанских стихоподид

Химические исследования нескольких представителей сем. *Stichopodidae* показало, что гликозиды двух северотихоокеанских видов - *Apostichopus* (= *Stichopus*) *japonicus* и *Parastichopus* (= *S.*) *californicus* (голотоксины) существенно отличаются от стихопозидов и теленотозидов из *Stichopus chloronotus*, *S. variegatus*, *S. hermanni*, *Thelenota ananas*, *T. anax* и *Astichopus multifidus* (табл. 3.3) по строению агликана. Агликон голотоксинов содержит двойную связь в положении 9(11), имеет кетогруппу в положении 16. У него отсутствует 23-ацетоксигруппа,

в то время как агликоны стихопозидов и теленотозидов имеют 7(8)-двойную связь, 23-ацетоксигруппу и не содержат кетогруппы в положении 16 (Левин и др., 1986).

Сравнение морфологических характеристик *A. japonicus* и *P. californicus* показало их отчетливое морфологическое сходство друг с другом и существенные отличия от типового вида рода *S. chloronotus*, широко представленного в тропической зоне Тихого и Индийского океанов. У *A. japonicus* и *P. californicus* в коже тела исходно присутствуют только два типа спикул - башенки и пряжки, тогда как у *S. chloronotus* и близких к нему видов вместо пряжек имеются С-образные тела и розетки. Башенки у *A. japonicus* с возрастом редуцируются, но особи в возрасте до одного года содержат в коже тела тот же набор спикул, что и *P. californicus* (Левин, 1982). В щупальцах этих видов располагаются шиповатые палочки. Палочки в спикулах *S. chloronotus* резко отличны от них - они прямые и гладкие. Спикулы клоаки и опорные элементы ножек у *P. californicus* и *A. japonicus* имеют отчетливое сходство, в то же время резко отличаясь от спикул типового вида.

Таким образом, *P. californicus* и *A. japonicus* содержат идентичные тритерпеновые гликозиды и очень сходны морфологически, в то же время весьма существенно отличаясь от *S. chloronotus*. Сравнительный анализ химических и морфологических признаков *P. californicus*, *A. japonicus* и *S. chloronotus* показывает, что оба первых вида совершенно правильно выведены из состава рода *Stichopus*.

Однако вопрос о том, к какому роду их относить, таксономически весьма не прост. В 1937 г. Э. Дейхман (Deichmann, 1937) отнесла обитающих у западного побережья США *S. californicus* и *S. parvimensis* к роду *Parastichopus*, установленному Х. Кларком (Clark, 1922) для *Stichopus tremulus* (северо-восточная Атлантика) и *S. nigripunctatus* (Япония). Эта ревизия была принята не всеми, и до сих пор во многих работах *P. californicus* и *P. parvimensis* рассматриваются как *Stichopus*. Химические данные показывают, что Дейхман была права и их следует включить в состав рода *Parastichopus*. Дальневосточный трепанг *S.*

jaronicus был выделен во вновь установленный род *Apostichopus* Ляо Юлинем в 1980 г. (Liao, 1980). К сожалению, при этом китайский исследователь выполнил сравнение *S. jaronicus* только с типовым видом *S. chlogonotus*, не рассмотрев статуса других "сомнительных" представителей семейства.

Отмеченное выше химическое и морфологическое сходство *A. jaronicus* и *P. californicus* позволяет ставить вопрос об их конгенеричности; в этом случае по праву приоритета род *Apostichopus* (поскольку он монотипический и содержит только один вид *A. jaronicus*) перейдет в синоним рода *Parastichopus*. Однако до выполнения химического исследования *P. parvimensis* и *P. tremulus* такие таксономические действия представляются преждевременными.

Как показано рядом авторов, существует определенное сходство фауны Японского моря с фауной Орегонской зоогеографической провинции (Кафанов, 1982). В этой части Тихого океана 10 - 14 млн лет назад ареалы относительно теплолюбивых видов, ранее широко представленных как у азиатского, так и у американского побережий, оказались разорванными из-за похолодания. В результате последующей изоляции образовались пары видов, очень сходных друг с другом. Сходство *Apostichopus jaronicus* и *Parastichopus californicus* и характер их распространения можно, по-видимому, считать результатом образования такой пары.

4.5. Другие группы

Распределение гликозидов в *Dendrochirotida* изучено пока недостаточно, чтобы делать какие-либо серьезные обобщения по систематике и филогении таксонов в пределах этого отряда. Тем не менее такие обобщения могут быть сделаны в будущем, по мере дальнейшего химического изучения *Dendrochirotida*. Наиболее важным хемотаксономическим результатом, достигнутым для этого отряда с использованием сведений о тритерпеновых гликозидах, является обнаружение достоверных различий в

структурах гликозидов *Cusumaria frondosa* и *C. japonica* (таб. 3.4) - животных, которых систематики долгое время относили к одному виду (см. Авилов и др., 1993). Совпадение структур гликозидов для разных видов *Eupentacta* или *Psolus* также представляет определенный интерес, подтверждая общую для гликозидов голотурий закономерность о генетическом контроле структур и независимости их от места сбора и разного рода экологических факторов.

Анализ распределения гликозидов (табл. 3.4) вызывает некоторые сомнения в правомерности выведения *Eupentacta* spp. из семейства *Cusumariidae*, поскольку по структуре гликозидов представители этого рода очень близки к *Cusumaria frondosa* и *C. japonica*, и, наоборот, в правильности отнесения к этому семейству *Duasmodactyla kurilensis*, гликозиды которой пока вообще не имеют аналогов среди изученных гликозидов голотурий. Вполне возможно, что система *Dendrochirotida*, предложенная Д. Поусоном и Х. Феллом (Pawson, Fell, 1965), нуждается в корректировке, а более старая система А. Паннинга (Panning, 1949; и др.), если принять во внимание химические данные, более обоснована.

Одна из спорных проблем системы класса - положение рода *Pseudostichopus*. Как уже отмечалось, одни авторы относят его к отряду *Gephyrothuriida*, тогда как другие - *Aspidochirotida*. Имеющиеся химические данные не показывают каких-либо принципиальных отличий гликозидов единственного изученного представителя этого рода от гликозидов *Aspidochirotida*, однако отсутствие химических данных для других *Gephyrothuriida* и сем. *Synallactidae* отряда *Aspidochirotida* не позволяет сделать какие-либо определенные таксономические выводы.

4.6. Структура тритерпеновых гликозидов и филогения *Holothurioidea*

К числу наиболее полно изученных групп голотурий относится сем. *Holothuriidae* (отр. *Aspidochirotida*) (Левин, 1979а). В пределах этого семейства хорошо выражены различия в форме тела и строении спикул. Относительно легко выстроить ряд морфологических преобразований спикул, с одного края которого будут располагаться простые плоские палочки, а с другого - сложные

объемные структуры. Значительно сложнее указать направление этих преобразований, то есть поляризовать морфоклину.

Для выяснения направлений морфоэкологической эволюции *Holothuriidae* необходимо попытаться установить исходный для семейства морфоэкологический тип. В данном случае для определения возраста таксона можно использовать биогеографический анализ, несмотря на известные ограничения этого метода (Красилов, 1977).

Наибольший интерес в этом отношении представляют два сверхширокораспространенных, пантропических вида - *Holothuria impatiens* и *H. arenicola*. Эти виды обитают по обе стороны Панамского перешейка, что дает возможность оценить их минимальный возраст. Поскольку закрытие Панамского пролива произошло не позднее среднего миоцена, их возраст по меньшей мере не менее 3 - 5 млн лет. Мнения о древности указанных видов придерживалась и Э. Дейхман (Deichmann, 1957).

Таким образом, *Holothuria* (*Thymiosycia*) *impatiens* и *H. (Th.) arenicola*, как и весь подрод *Thymiosycia*, можно рассматривать в качестве "исходного" таксона в морфоэкологической эволюции рода (Левин, 1987). Поэтому морфологические характеристики этого подрода: вытянутое круглое в сечении тело и спикулы кожи тела в форме правильных башенок - можно рассматривать как первичные в эволюции рода *Holothuria*, а возможно, и всего семейства. Этот вывод подтверждает установление положения двух подродов рода *Holothuria*: *Selenkothuria* и *Semperothuria*, обладающих спикулами кожи тела в виде пластинок и палочек и необычным для аспидохиротид способом питания - сестонофагией. Анализ морфологических и экологических данных показывает, что селенкотурии и семперотурии - не примитивные, а эволюционно продвинутые группы, приспособившиеся к своеобразным трофическим условиям прибойной литорали, где имеется большое количество взвешенных и дефицит осажденных частиц. Для семперотурий, кроме того, имеются химические данные, показывающие, что один из представителей этого подрода - *Holothuria* (*Semperothuria*) *cinerascens* - имеет тритерпеновые гликозиды, не отличающиеся по хроматографическому пове-

дению и строению артефактного агликона от гликозидов остальных представителей *Holothuria* (см. табл. 3.1). Таким образом, ряд морфологической изменчивости в процессе эволюции сем. *Holothuriidae* известен достаточно полно.

При решении спорных филогенетических проблем очень существенную помощь могут оказать химические данные. К числу таких проблем относится выяснение отношений родов *Actinopyga* и *Bohadschia* в сем. *Holothuriidae*. Т. Пирсон (Pearson, 1914) на основании анализа данных по расположению амбулакральных придатков, форме спикул и глоточного кольца высказал заключение о близком родстве этих групп и их значительном отличии от других родов семейства. Химические данные, свидетельствующие, с одной стороны, о существенных различиях строения гликозидов *Actinopyga* и *Bohadschia* и, с другой - о сходстве химического состава *Actinopyga*, *Holothuria* и *Pearsonothuria*, не позволяют с этим согласиться (Левин и др., 1985). Противоречат заключению Пирсона и сведения о развитии кювьеровых органов в этих группах голотурий (Левин, 1979б). Кроме того, данные по распределению паразитических ракообразных среди настоящих голотурий (Левин, 1987) также свидетельствуют о сходстве *Holothuria*, *Pearsonothuria* и *Actinopyga*, с одной стороны, и обособленности *Bohadschia*, с другой. По нашим данным, морфологическое сходство бохадший и актинопиг - результат конвергентной или параллельной эволюции в близких условиях коралловых мелководий тропической зоны океана.

Как уже отмечалось выше, гликозиды *Holothuria forskali* несколько отличаются от гликозидов остальных представителей этого рода тем, что вместо сульфатной группы в четвертом положении первой ксилозы содержат присоединенный в это же самое место остаток глюкозы и не содержат сульфатной группы. Однако по всем остальным признакам - наличию 1-7 α -гидроксильной группы для основных компонентов, окисленности боковой цепи и др. - они достаточно близки к остальным гликозидам *Holothuriidae* и более близки к *Holothuria*, чем к *Bohadschia*, занимая промежуточное положение между этими группами.

Гликозиды *Bohadschia* имеют определенное сходство с гликозидами *Stichopodidae*. У тех и других общая архитектура углеводной цепи и относительно небольшая окисленность агликона, что может свидетельствовать в пользу наибольшей примитивности этой группы по сравнению с другими представителями *Holothriidae*.

Сем. *Stichopodidae* по морфологическим данным более примитивно, чем *Holothuriidae*. На это, в частности, указывает строение гонады стихоподид, состоящей из двух пучков. Этому не противоречат и данные биохимии. Действительно, степень окисленности тритерпеновых агликонов гликозидов стихоподид ниже, чем у *Holothuriidae*.

Поскольку *P. californicus* и *A. japonicus* содержат голотоксиногенин, агликон, весьма характерный для гликозидов *Dendrochirotida* (табл. 3.4), то химическое строение гликозидов этих стихоподид можно расценивать как примитивный признак. Тогда *A. japonicus* и *P. californicus* - наиболее примитивны среди других химически изученных представителей семейства.

Рассматриваемые семейства - *Holothuriidae* и *Stichopodidae* - заметно различаются размахом морфологической изменчивости и, несомненно, характером эволюции. У видов сем. *Holothuriidae* очень выражена изменчивость размеров, формы тела, образа жизни. Среди них встречаются открыто живущие, укрывающиеся и закапывающиеся животные. Стихоподиды - группа несравненно более однородная. В большинстве это средних размеров или крупные (иногда очень крупные) голотурии с очень сходной формой тела - крепкое, с хорошо выраженной ползательной подошвой. Сюда входят только открыто живущие или периодически прячущиеся животные, среди них нет закапывающихся форм.

Сравнение двух рассматриваемых семейств отряда *Aspidochirotida* показывает, что хотя в обоих шло энергичное формообразование, его характер различался. Голотурииды значительно превосходят стихоподид по числу видов, но уступают по числу родов (5 против 9). При этом формообразование у них имело явно менее адаптивный характер, затрагивая преиму-

щественно такие биологически малозначимые структуры, как спикулы. Таким образом, в этом семействе последствия “малоадаптивного” увеличения морфологического разнообразия выражены значительно сильнее, чем прогрессивная эволюция.

Интересно, что характер эволюции тритерпеновых гликозидов в этих семействах также несколько различается (табл. 3.2, 3.3). Для сем. *Holothuriidae* характерно большое разнообразие гликозидов, отличающихся деталями строения боковой цепи агликона, при этом как ядро агликона, так и углеводные цепи остаются обычно неизменными. Для сем. *Stichopodidae*, напротив, количество агликонов значительно меньше, но различия между ними более значительны. По составу углеводных цепей гликозидов также имеются некоторые различия. Если углеводные цепи гликозидов сем. *Holothuriidae* различаются главным образом количеством моносахаридных звеньев, то в углеводных цепях гликозидов сем. *Stichopodidae* качественный моносахаридный состав варьирует в значительно большей степени.

Строение гликозидов в *Dendrochirotida* отличается большим разнообразием, чем в *Aspidochirotida*. Если для *Aspidochirotida* гликозиды являются таксономическими маркерами групп близкородственных родов, то для *Dendrochirotida* различия по составу гликозидных фракций между представителями даже очень близких видов, как, например, *Cucumaria japonica* и *C. frondosa*, бывают достаточно велики.

Гликозиды *Dendrochirotida* часто содержат структурные фрагменты, весьма необычные для других изученных тритерпеновых гликозидов голотурий (таб. 3.4). Так, гликозиды из *C. japonica*, *C. frondosa* и *Eupentacta* spp. имеют пентасахаридные углеводные цепи, разветвленные по остатку хиновозы. Многие гликозиды содержат по несколько сульфатных групп. Часто положение сульфатной группы отличается от обычного местонахождения сульфата при С-4 первой ксилозы. Псолюсозид В (189) и кукумариозид G₂ (180) имеют 18(16), а не 18(20)-лактон. Даже в пределах одной гликозидной фракции различия между веществами бывают очень большими. Наиболее ярким примером, безусловно, являются основные компоненты гликозидных сумм *Psolus* spp. -

псолюсозиды А (188) и В (189). Сходство между этими веществами обнаружить, на первый взгляд, труднее, чем различия. Псолюсозид В имеет 18(16)-лактон, псолюсозид А - 18(20); у псолюсозиды В 7(8)-двойная связь в агликоне, в то время как у псолюсозиды А - 9(11); у псолюсозиды В углеводная цепь состоит только из остатков ксилозы и глюкозы и разветвлена, в то время как псолюсозид А содержит линейную углеводную тетрасахаридную цепь с классическим для гликозидов голотурий набором моносахаридов: глюкоза, ксилоза, 3-О-метилглюкоза и хиновоза.

Таким образом, налицо явно больший разброс в структуре гликозидов *Dendrochirotida* по сравнению с *Aspidochirotida*. В этой связи обратимся к сравнению варибельности биологических характеристик рассматриваемых отрядов. Отчетливо видно, что морфологическое разнообразие дендрохиротид значительно выше. Все многообразие формы тела аспидохиротид можно выстроить в ряд от *Labidodemas* (тело вытянутое, в сечении пентагональное, амбулакральные ножки строго по радиусам) до *Stichopus* (тело крепкое, с покрытыми ножками брюшной подошвой, по спинным радиусам только папиллы на выростах). Среди дендрохиротид можно указать формы, габитуально соответствующие всем членам этого ряда, при этом в некоторых случаях наблюдается поразительный параллелизм; один из наиболее ярких примеров - удивительное сходство представителей рода *Pentacta* (отр. *Dendrochirotida*) и стихоподид. Но изменчивость дендрохиротид выходит далеко за пределы этого ряда. Указанный отряд включает и такие резко уклоняющиеся и не имеющие аналогов в других отрядах группы, как *Psolidae* и *Neothyonidium*.

При этом особенно интересно, что экологически *Dendrochirotida* значительно однороднее, чем *Aspidochirotida*. Дендрохиротиды трофически более специализированы, это исключительно сестонофаги, тогда как аспидохиротиды используют разнообразные пищевые частицы с поверхности и из толщи грунта, а селенкотурии и семперотурии - факультативные сестонофаги.

Таким образом, тенденция увеличения разнообразия форм у дендрохиротид по сравнению с аспидохиротидами выражена значительно более явно. И здесь на уровне отрядов подтверждается закономерность, отмеченная в сем. *Holothuriidae* и *Stichopodidae* - высокому уровню морфологического разнообразия соответствует и высокий уровень разнообразия химических показателей.

Такой разброс в структурах гликозидов отчасти может быть связан с интенсивным эволюционным поиском наиболее удачных структурных вариантов. Чем ближе таксон к тому эволюционному этапу, на котором формировалась данная морфофункциональная система, тем больше конструктивное многообразие этой системы в данном таксоне. В подобных случаях таксономический ранг структурных образований в филогенезе должен возрастать (Мамкаев, 1991). Большую интенсивность формообразования и таксонообразования в группах, находившихся у основания филогенетических стволов, по сравнению с эволюционно продвинутыми группами отмечают также многие палеонтологи (Rensch, 1960). Соответственно, по мере удаления от центров формирования морфофункциональных систем их конструктивное многообразие в таксонах уменьшается. Возможно, подобная ситуация наблюдается при сравнительном анализе таксономического распределения гликозидов в *Dendrochirotida* и *Aspidochirotida* (см. таблицы 3.2 - 3.4). Однако без рассмотрения адаптивной роли тритерпеновых гликозидов голотурий и проведения соответствующего морфофункционального анализа вывод о большей филогенетической древности *Dendrochirotida* остается не более чем гипотезой.

Гликозиды дендрохиротид, как правило, менее окислены, что можно рассматривать как показатель их примитивности (Gottlieb, 1982). В частности, гликозиды из *Duasmodyla kurilensis* вообще не содержат кислородной функции в положении 18. Однако единственный однозначный вывод, который можно из этого сделать - строение гликозидов аспидохиротид - апоморфный признак, то есть рассматриваемые соединения прошли больше ступеней эволюционного пути по сравнению с гликозидами

дендрохиротид. Это, конечно, довод в пользу продвинутости аспидохиротид, но отнюдь не доказательство, поскольку для него нужны по крайней мере свидетельства одинаковой скорости эволюции гликозидов в этих группах, а их нет. Таким образом, имеющегося комплекса сравнительно-морфологических и химических данных недостаточно, чтобы подтвердить или опровергнуть гипотезу о большей примитивности дендрохиротид.

Суммируя имеющиеся химические данные, можно предложить гипотетическую схему филогенетических отношений химически изученных представителей *Aspidochirotida* (схема 4.1). Эта схема построена только на основе сопоставления структур тритерпеновых гликозидов с системой *Holothurioidea*, без привлечения каких-либо данных об адаптивной роли тех или иных веществ. Однако прежде чем перейти к обсуждению этой роли и морфофункциональному анализу химических данных для проверки этой схемы, рассмотрим основные направления эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий.

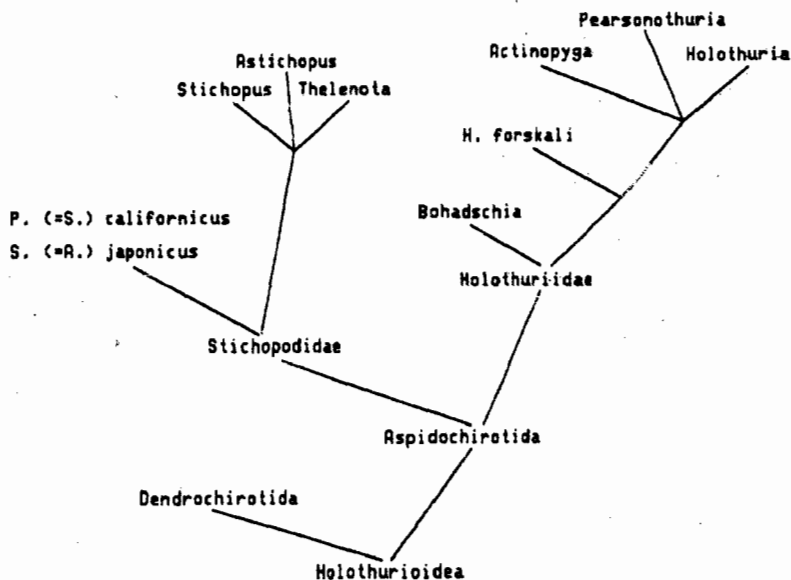


Схема 4.1. Гипотетическая схема филогенетических отношений химически изученных представителей *Aspidochirotida*

4.7. Основные направления эволюции тритерпеновых гликозидов *Holothurioidea*

4.7.1. Общие соображения

Биологическая эволюция включает в себя несколько компонентов, один из которых - номогенетический - подразумевает наличие специфических законов развития или ограниченности формообразования (Любищев, 1982). Одно из важнейших обобщений, относящихся к этой проблеме, - закон гомологических рядов в наследственной изменчивости - принадлежит Н. И. Вавилову, который сформулировал его в 1920 - 1921 гг. (Вавилов, 1987а. С. 52). "...Линнеоны и роды, более или менее близкородственные друг другу, характеризуются сходными рядами в наследственной изменчивости с такой правильностью, что, зная последовательность разновидностей в одном роде и линнеоне, можно предсказать существование сходных форм и даже сходных генотипических различий у других родов или линнеонов..." "Целые ... семейства характеризуются определенным циклом (рядом) изменчивости, который сходным образом проходит через все роды семейства", - отмечал Н. И. Вавилов, указывая при этом, что само подразделение на роды и виды также подчиняется этому закону. При рассмотрении химических признаков, и в частности состава вторичных метаболитов морских беспозвоночных, примеры действия этого закона могут быть обнаружены даже чаще, чем при анализе более сложных признаков, например морфологических (Калинин, Стоник, 1990). Это объясняется тем, что структуры биосинтезируемых молекул более непосредственно связаны с гомологичными мутациями генов у родственных таксонов, чем изменения в строении органов, скелетных систем и т. д. (Татаринов, 1987).

Явления биохимического параллелизма не ограничиваются только действием закона гомологических рядов, поскольку известны и весьма отдаленные филогенетические параллелизмы в строении тех или иных вторичных метаболитов. Очень яркими

примерами здесь служат сходство в структурах окисленных терпеноидов цембранового ряда у горгонарий, альционарий и хвойных деревьев, наличие гормона линьки насекомых и ракообразных - крустэксдизона в некоторых шестилучевых кораллах и наземных растениях. Свойства химического субстрата делают возможными не любые его превращения, а только сравнительно ограниченное их число. Это, безусловно, является одной из причин распространенности биохимических параллелизмов, в том числе и отдаленных, не исключая при этом даже и параллелизмы в эволюции ДНК (Калинин, Стоник, 1990).

А. А. Любищев (1982) видел в появлении сходных форм проявление сходных законов формообразования. По справедливому мнению Ю. А. Урманцева (1976), сходство может быть обязано не родству, а системной общности объектов природы.

4.7.2. Гомологическая изменчивость и направленность в эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий

Анализ распределения и химического строения тритерпеновых гликозидов голотурий, приведенный в главе 3, указывает на существование гомологических рядов в наследственной изменчивости этих структур, сформировавшихся в процессе эволюции их биосинтеза, и позволяет предположить определенную направленность такой эволюции. Основные наиболее вероятные направления эволюции агликонов гликозидов *Holothurioidea* представлены на схеме 4.2 и в табл. 4.1.

Наибольший интерес для выявления основных направлений эволюции агликонов представляют данные, полученные для отряда *Dendrochirotida*. Так, в гликозидах *Duasmodyctyla kurilensis* (табл. 3.4) основным компонентом является агликон (191), который относительно близок к ланостерину (44) - биосинтетическому и, скорее всего, филогенетическому предшественнику всех агликонов гликозидов голотурий (Sheikh, Djerassi, 1976). Мы полагаем, что химическая эволюция агликонов в гликозидах голотурий шла с постепенным возрастанием степени окисленности ланостанового предшественника от не име-

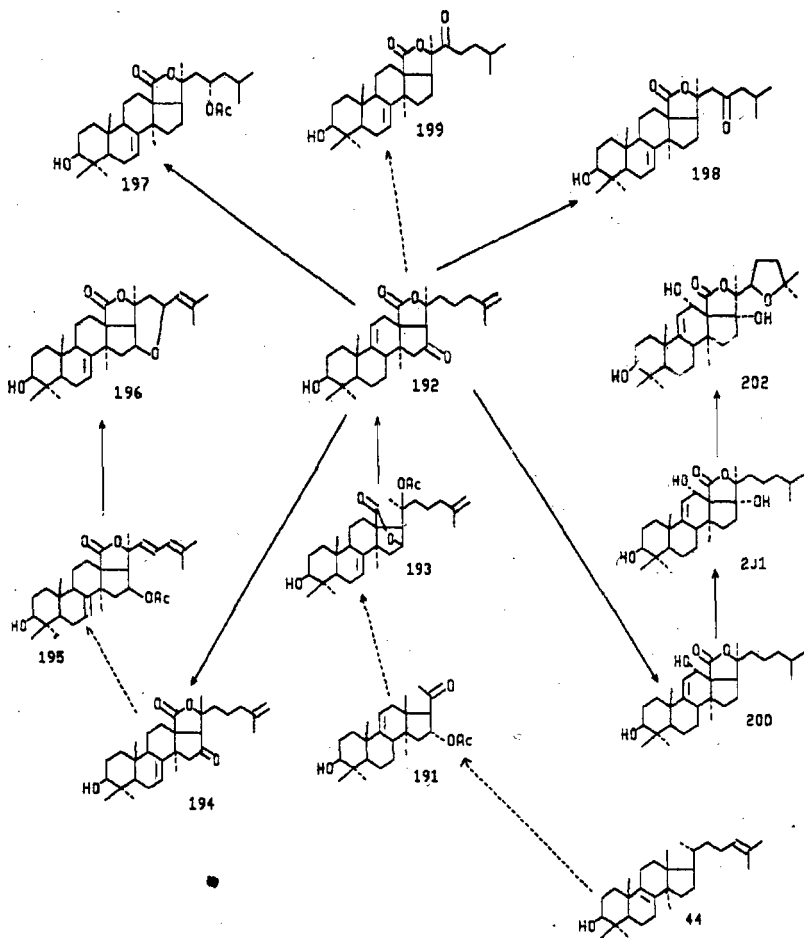


Схема 4.2. Основные направления эволюции агликонов тритерпеновых гликозидов голотурий

ющих лактонных циклов к лактосодержащим гликозидам. Гликозиды многих голотурий имеют в качестве агликона содержащий 18(20)-лактон голотоксиногенин (192). В частности, гликозиды *Psolus fabricii* и *Psolus sp.* (сем. *Psolidae*) также построены на основе (192). Наряду с голотоксиногенином в этих животных обнаружен 25(26)-дегидроонекотаногенин (193), име-

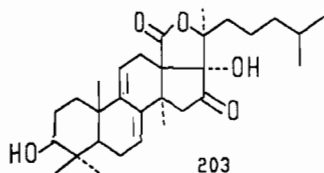
ющий в отличие от большинства известных тритерпеновых агликонов гликозидов голотурий 18(16)-лактон. Мы полагаем, что последний агликон или близкие к нему по структуре вещества являются филогенетическими предшественниками агликонов голостанового ряда.

Голотоксиногенин у *Psolus* spp., *Neothyonidium magnum*, *Cladolabes* sp. (отр. *Dendrochirotida*), у *Apostichopus japonicus* и *Parastichopus californicus* (отр. *Aspidochirotida*), у *Paracaudina ransonetii* (отр. *Molpadiida*), а также у *Chiridota* sp. (отр. *Apodida*), следовательно, имеет независимое происхождение. 25(26)-дегидроонекотаногенин (193) или близкие к нему вещества занимают тогда в филогенезе агликонов промежуточное положение между агликонами типа (191) и голотоксиногенином. Нахождение (192) в представителях четырех достаточно далеко отстоящих друг от друга отрядов свидетельствует о том, что образование голотоксиногенина является эволюционным уровнем (градой), через который в своем развитии прошли параллельно и независимо многие группы голотурий в процессе химической эволюции гликозидов.

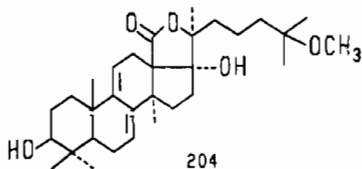
В отряде *Dendrochirotida* наблюдается переход к гликозидам с агликонами, имеющими 7(8)-ненасыщенность. Все известные агликоны из гликозидов *Cuscutaria* spp., например (194) из *Cuscutaria japonica*, а также агликоны (195) из *Eupentacta* spp. или (196) из *Parathyone* sp. (Сметанина и др., 1983), содержат именно такую двойную связь. Переход к агликонам с 7(8)-двойной связью параллельно и независимо происходит и в других отрядах. Так, в сем. *Stichopodidae* отряда *Aspidochirotida* гликозиды из *Stichopus* spp., *Thelenota* spp., *Astichopus multifidus* содержат агликон (197), в отряде *Apodida* *Synapta maculata* имеет гликозиды с синаптогенином (198), а представитель отряда *Gephyrothuriida* *Pseudostichopus trachus* содержит гликозиды урупогенина (199). Все эти агликоны обладают 7(8)-ненасыщенностью. Независимо возникает и окисление по С-23 атому в представителях разных отрядов. Так, 23-кислородную функцию содержат и агликон (197) из гликозидов *Aspidochirotida*, и агликон (198) из *Apodida*. Агликон (198) с 23-кетогруппой обнаружен

также и в гликозидах из животных отряда Dendrochirotida - *Cucumaria echinata* (Miyamoto et al., 1990). У агликонов (197), (198), (199) отсутствует 16-кислородная функция. Ее нет также у (200), (201), (202) из гликозидов голотурий сем. Holothuriidae (отр. Aspidochirotida).

У Holothuriidae в тритерпеновых агликонах сохраняется 9(11)-двойная связь, но окисляется С-12 атом с образованием 12 α -оксигруппы. Прямое происхождение этих веществ от содержащего 16-кетогруппу голотоксिनогенина подтверждено обнаружением в гликозидах *Actinopyga flammea* наряду с (201) и (202) небольшого количества артефактного агликона (203), содержащего как кетогруппу, так и 7(8),9(11)-диеновую систему, образовавшуюся при дегидратации в ходе кислотного гидролиза 12 α -окси-9(11)-енового фрагмента (Bhatnagar et al., 1985). Мы считаем это соединение своего рода химическим рудиментом.



В агликонах гликозидов из родов *Actinopyga*, *Holothuria* и *Pearsonothuria*, как правило, имеется 17 α -гидроксильная группа. Голотурии рода *Bohadschia* ее практически не содержат, основным генином их гликозидов является (200). Отсутствие 17 α -гидроксильной группы в основных гликозидах - один из диагностических признаков рода (Левин и др., 1984). Однако следовые количества агликонов с 17 α -гидроксилем, например (204), обнаружены в некоторых *Bohadschia* (Tursch et al., 1970; Clastres et al., 1978).



Здесь наблюдается, по терминологии Н. И. Вавилова, характерный случай “захождения признаков” (Вавилов, 1988а), что также является параллелизмом. В этих случаях признак, очень

редкий для представителей одного таксона, является нормой для другого ("закон родственных отклонений", или "правило Кренке") (Мейен, 1978).

Таким образом, в историческом развитии голотурий существуют уровни (грады), через которые независимо проходит эволюция тритерпеновых агликонов. Это, по-видимому, окисление положения 16 и окислительное отщепление боковой цепи, окисление положения С-18 и С-16 с образованием 18(16)-лактона и, в дальнейшем, блокировка окислительного отщепления боковой цепи, окисление С-18 и С-20 с образованием 18(20)-лактона и дальнейшим окислением положения 16, что ведет к голотоксиногенину (192) и другим голостановым производным. Далее, видимо, следовало введение двойной связи в положение 7(8), окисление боковой цепи по С-23 и С-22, блокирование окисления положения 16 и, наконец, окисление по С-12 и С-17 атомам. Эти уровни различные таксоны голотурий проходят асинхронно, в результате чего и образуется мозаичное разнообразие агликонов. Закон гомологических рядов, следовательно, и в этом случае допускает наличие большого числа форм, на что указывал еще сам Н. И. Вавилов (1987а). Общая схема изменчивости тритерпеновых агликонов представлена в таб. 4.1.

Таблица 4.1

Общая схема изменчивости тритерпеновых агликонов некоторых родов класса *Holothurioidea*

Варирующие детали строения агликонов	Aspidochirotida			Apodida			Molpadiida
	Parastichopus, Apostichopus	Stichopus, Astichopus, Thelenota	Holothuria, Actinopyga, Pearsonothuria	Bohadschia	Synapta	Chiridota	Paracaudina

18,20-лактон + + + + + + +

18,16-лактон - - - - - - -

Отсутствие лактона - - - - - - -

16-кето-группа + - + - - + -

Варьирующие детали строения агликонов	Aspidochirotida			Apodida			Molpadiida
	Parastichopus, Apostichopus	Stichopus, Astichopus, Thelenota	Holothuria, Actinopyga, Pearsonothuria	Bohadschia	Synapta	Chiridota	Paracaudina
$\Delta^9(11)$	+	-	+	+	-	+	+
$\Delta^7(8)$	-	+	-	-	+	-	-
$\Delta^{24(25)}$	-	-	+	-	-	-	-
$\Delta^{25(26)}$	+	+	+	-	-	+	+
$\Delta^{22,24}$	-	-	-	-	-	-	-
23-[O]-	-	+	-	-	+	-	-
22-[O]-	-	-	+	-	-	-	-
16-OAc	-	-	-	-	-	-	-
12 α -OH	-	-	+	+	-	-	-
17 α -OH	-	-	+	+	-	-	-
Отсутствие 16-[O]-	-	+	+	+	+	-	-

Продолжение табл. 4.1

Варьирующие детали строения агликонов	Dendrochirotida								Gephyrothuriida
	Cucumaria	Duasmodyctyla	Eupentacta	Neothyone	Parathyone	Cladobates	Neothyonidium	Psolus	Pseudostichopus
18,20-лактон	+	-	+	+	+	+	+	+	+
18,16-лактон	-	-	+	-	-	-	-	+	-
Отсутствие лактона	-	+	-	-	-	-	-	-	-

Варьирующие детали стро- ения агликонов	Dendrochirotida								Gephyro- thuriida
	Cucu- maria	Duas- modac- tyla	Eupen- tacta	Neo- thyone	Para- thyone	Clas- dolabes	Neo- thyo- nidium	Psolus	Pseudo- sticho- pus
16-кето- группа	+	-	-	-	-	+	+	+	-
$\Delta^{9(11)}$	-	+	-	+	-	+	+	+	-
$\Delta^{7(8)}$	+	-	+	-	+	-	+	+	+
$\Delta^{24(25)}$	+	-	+	-	+	-	-	-	-
$\Delta^{25(26)}$	+	-	-	-	-	+	+	+	-
$\Delta^{22,24}$	-	-	+	-	-	-	-	-	-
23-[O]-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
22-[O]-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
16-OAc	+	+	+	-	-	-	+	-	-
12 α -ОН	-	-	-	+	-	-	-	-	-
17 α -ОН	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Отсутствие 16-[O]-	+	-	-	+	-	-	-	-	+

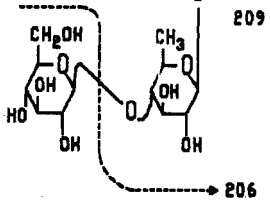
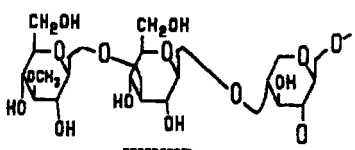
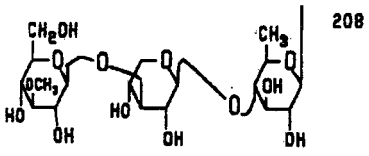
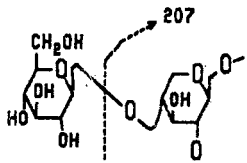
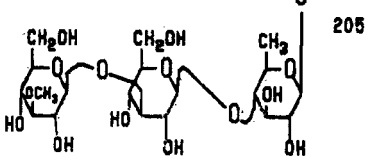
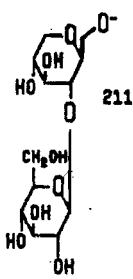
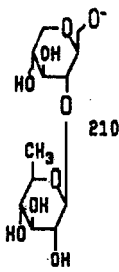
В углеводных цепях тритерпеновых гликозидов, строение которых специфично для родов и подсемейств голотурий, имеются повторяющиеся в ряде случаев параллельно и независимо фрагменты (таб. 4.2).

Так, псолюсозид А (188) из голотурий рода Psolus (сем. Psolidae, отр. Dendrochirotida) и голотурины А (119 - 128) из Holothuria, Actinopyga и Pearsonothuria (сем. Holothuriidae, отр. Aspidochirotida) различаются по строению углеводных цепей лишь положением и числом сульфатных групп. Они имеют общий с кукумариозидом А₂-2 (156) из Cucumaria japonica (сем. Cucumariidae, отр. Dendrochirotida) фрагмент (205). Гликозиды

(136) из голотурий рода *Bohadschia* (сем. *Holothuriidae*, отр. *Aspidochirotida*) и (176) из *Duasmodyctyla kurilensis* (сем. *Cucumariidae*, отр. *Dendrochirotida*) имеют в качестве углеводных цепей (206), отличаясь друг от друга на сульфатную группу в глюкозном остатке. Неотионидиозид (186) из *Neothyonidium magnum* (сем. *Phyllophoridae*, отр. *Dendrochirotida*) и псевдостихопозид А (190) из *Pseudostichopus trachus* (сем. *Gephyrothuriidae*, отр. *Gephyroturiida*) имеют совершенно идентичные углеводные цепи. Они обладают общим с гликозидами некоторых животных семейства *Stichopodidae* (отр. *Aspidochirotida*) фрагментом (207). Пентасахаридный фрагмент (208), в свою очередь, является общим для ряда гликозидов голотурий сем. *Stichopodidae* (отр. *Aspidochirotida*) и гликозида (185) из *Cladolabes* sp. (сем. *Sclerodactylidae*, отр. *Dendrochirotida*).

Независимо в разных группах голотурий идет сульфатирование по первому ксилозному остатку в положение 4. Такую сульфатную группу имеют, например, кукумариозид А₂ - 2 (156) из *C. japonica*, неотионидиозид (186) из *N. magnum*, голотурины А (119 - 128) из *Holothuriidae*, псевдостихопозид А (190) из *P. trachus* и ряд других гликозидов.

Большинство гликозидов голотурий содержит хиновозу в качестве второго моносахаридного остатка. Однако стихопозид D (145) из *Stichopus chloronotus* и *S. variegatus* и псолюзозид B (189) из *Psolus fabricii* и *Psolus* sp. в этом положении имеют глюкозу. Возможно, что такие углеводные цепи предшествовали в филогенезе цепям, содержащим хиновозу. В таком случае образование углеводных цепей, содержащих хиновозу, могло произойти независимо в различных отрядах голотурий, так же как и замена сульфатирования по С-6 глюкоз на сульфатирование по С-4 ксилозы.



Общая схема изменчивости углеводных цепей тритерпеновых гликозидов
некоторых родов класса Holothurioidea

Варьирующие структурные фрагменты	Aspidochirotida				Dendrochirotida	
	Parastichopus, Apostichopus	Stichopus, Astichopus, Thelenota	Holothuria, Actinopyga, Pearsonothuria	Bohadschia	Cucumaria	Duasmodyctyla
210	+	+	+	+	+	+
211	-	+	-	-	-	-
205	-	-	+	+	+	-
207	+	+	-	-	+	-
206	+	+	-	+	-	+
208	+	+	-	-	-	-
209	-	-	-	+	-	+
6-О-сульфат при остатке глюкозы или 3-О-метилглюкозы	-	-	-	-	+	+
4-О-сульфат при первом ксилозном остатке	-	-	+	-	+	-
3-О-метилксилоза	-	-	-	-	-	-
Ксилоза-(1→2)-ксилоза	+	-	-	-	-	-

Варьирующие структурные фрагменты	Dendrochirotida					Gephyrothuriida
	Eupentacta	Neothyone	Cladolabes	Neothyonidium	Psolus	Pseudostichopus
210	+	+	+	+	+	+
211	-	-	-	-	+	-
205	-	+	-	-	+	-
207	-	-	+	+	-	+
206	-	-	-	-	-	-
208	-	-	+	-	-	-
209	-	-	-	-	-	-
6-О-сульфат при остатке глюкозы или 3-О-метилглюкозы	-	-	-	+	+	-
4-О-сульфат при первом ксилозном остатке	+	+	-	+	-	+
3-О-метилксилоза	+	-	-	-	-	-
Ксилоза-(1→2)-ксилоза	-	-	-	-	-	-

В целом направление эволюции углеводных цепей в гликозидах голотурий, ее уровни представляются нам следующим образом: переход от цепей, состоящих из глюкозы и ксилозы, к цепям, содержащим хиновозу; переход от высокоразветвленных и содержащих нечетное количество моносахаридных фраг-

ментов к фрагментам, имеющим менее разветвленное строение и два, четыре или шесть моносахаридных остатков; переход от сульфатированных по С-6 глюкозных и 3-О-метилглюкозных остатков углеводных цепей к цепям, имеющим сульфатную группу при С-4 ксилозы или не обладающим сульфатной группой.

Из сопоставления табл. 4.1 и 4.2 видно, что если гликозиды из голотурий разных таксономических подразделений имеют идентичные агликоны, то, как правило, у них не одинаковые углеводные цепи и наоборот, хотя в очень редких случаях можно встретить очевидное сходство не только агликонов, но и углеводных цепей.

Так, гликозид (185) из *Cladolabes* sp. (сем. Sclerodactylidae, отр. Dendrochirotida) отличается от голотоксинов А₁ и В₁ (150. 151) из *Apostichopus japonicus* и *Parastichopus californicus* (сем. Stichopodidae, отр. Aspidochirotida) только количеством моносахаридных звеньев. У (185) их пять, а у голотоксинов - шесть. Еще более удивительным случаем является полная идентичность структуры превикозида А (126) из *Holothuria pervicax* (сем. Holothuriidae, отр. Aspidochirotida) и неотионозида из *Neothyone gibbosa* (сем. Sclerodactylidae, отр. Dendrochirotida).

Биохимические параллелизмы, поскольку в их реализации участвуют метаболиты белковой природы, тесно связаны с генотипическими изменениями (Татаринев, 1985). Биосинтез агликонов и углеводных цепей осуществляется разными группами ферментов, кодирующихся соответственно различными группами структурных генов. Поэтому филогенезы как агликонов, так и углеводных цепей относительно независимы и проходят асинхронно. Закон гомологических рядов и здесь не ограничивает многообразия. Вероятность одновременного совпадения структур и агликонов и углеводных цепей у гликозидов из далеко отстоящих друг от друга таксономических групп, как видно из имеющихся данных, мала, что в определенной мере страхует от грубых таксономических ошибок при интерпретации химических данных.

Таким образом, хотя таксономическое распределение тритерпеновых гликозидов изучено крайне неравномерно, тем не менее

не вызывает сомнений, что в разных отрядах голотурий имеются сходные направления наследственной изменчивости гликозидов. Исходя из этого, ранее мы сделали ряд прогнозов (Калинин и др., 1989б, 1990). Так, если гликозиды с 18(16)-лактоном являются филогенетическими предшественниками гликозидов голостанового ряда, то возможно их обнаружение не только в голотуриях рода *Psolus*, но и среди представителей других таксономических групп. Действительно, впоследствии мы обнаружили гликозид с 18(16)-лактоном в спиртовом экстракте *Eupentacta fraudatrix* (сем. *Sclerodactylidae*, отр. *Dendrochirotida*). Мы предположили, что в отряде *Apodida* будут найдены гликозиды, содержащие в агликоне 9(11)-двойную связь и 16-кетогруппу, поскольку из *Synapta maculata* ранее были выделены гликозиды, содержащие в агликоне 7(8)-двойную связь и 23-кетогруппу. Действительно, как мы установили недавно, в более примитивном семействе этого отряда - *Chiridotidae* (Смирнов, 1983), а именно в *Chiridota* sp., собранной в Охотском море, обнаружены гликозиды, содержащие голотоксिनогенин (192). В *Paracaudina ransonetii* идентифицированы гликозиды, содержащие голотоксिनогенин. Соответственно, в более продвинутых представителях отряда *Molpadiida* можно ожидать нахождение гликозидов с 7(8)-двойной связью в агликоне и кислородной функции в положении 23. Подобные прогнозы можно было бы продолжить.

Исходя из строгой специфичности структур гликозидов для небольших таксономических групп, а также из имеющихся данных о большом числе повторяющихся параллельно и асинхронно относительно независимых структурных фрагментов как в агликонах, так и в углеводных цепях, должно, согласно закону Вавилова, существовать множество разнообразных структурных вариантов для гликозидов голотурий. Здесь имеются большие перспективы для дальнейшего химического изучения. Следует, однако, помнить, что при прогнозировании появления того или иного структурного варианта существует своего рода "принцип неопределенности" - чем более точно мы можем предсказать строение гликозида, тем (в малоизученных группах голотурий) менее точно может быть предсказана его локализация в том или

инном конкретном роде или подсемействе. Возможность лишь вероятностного прогнозирования хода эволюции, как полагает Л. П. Татаринов (1985), в полной мере отвечает ее незапрограммированному и нежестко детерминированному характеру.

Наличие сходных циклов изменчивости в разных отрядах голотурий свидетельствует о том, что эти отряды длительное время развивались параллельно. Дальнейшее изучение таксономического распределения, структуры и свойств гликозидов голотурий позволит уточнить и дополнить эти циклы.

Данные о строении тритерпеновых гликозидов дают ценную информацию о филогении внутри семейств и отрядов класса Holothurioidea. Однако действие закона гомологических рядов существенно затрудняет подобный анализ для межотрядных отношений. Наличие параллелизмов требует тщательной увязки данных сравнительной биохимии с морфологическими и палеонтологическими сведениями. Только комплексный анализ разных уровней гомологии в различных органах и системах, по мнению Н. В. Тимофеева-Ресовского с соавторами (1977), позволяет делать выводы о характере развития группы.

В чем же причины направленности и параллелизмов в эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий? В этой связи уместно вспомнить слова Н. И. Вавилова о параллелизмах и гомологиях: "Природа такого рода явлений, - указывает он, - обусловливается филогенетическим родством" и "параллелизм проходит через органы, имеющие ту же функцию" (Вавилов, 1987б. С. 190; 1987а. С. 91). Следуя им, необходимо рассмотреть "функцию" гликозидов, то есть их биологическую роль и физиологическую активность (см. гл. 5).

4.7.3. Зависимость между химическим и морфологическим разнообразием

Несомненно, что существует связь между эволюцией таксонов голотурий и эволюцией тритерпеновых гликозидов в этих таксонах; также несомненно и то, что такая связь не может быть однозначной. Выяснение соотношения традиционной - организменной,

или морфологической, биологии с молекулярной - одна из новых проблем в эволюционной теории (Черепанов, 1989). Преобразования морфологических и молекулярных структур в эволюции организмов не всегда согласованы и обычно не равномерны.

Материалы предыдущих глав дают основание говорить о взаимозависимости биологических характеристик (степени морфологического разнообразия и размаха экологического, в частности трофоэкологического спектра) и химических характеристик (степени вариабельности состава гликозидов и степени видоспецифичности, точнее, таксоноспецифичности этого состава).

Сравнение химического состава экстрактов из животных, относящихся к отрядам *Aspidochirotida* и *Dendrochirotida* (см. разд. 3), показывает, что изменчивость состава гликозидов и ранг таксона, который они "маркируют", находятся в обратной зависимости. Гликозиды наиболее изменчивы в отряде с высоким уровнем формообразования и слабой выраженностью результатов прогрессивной эволюции. Сходная зависимость отмечалась и в семействах *Holothuriidae* и *Stichopodidae*.

Для повышения уверенности в существовании такой зависимости обратимся к другому классу иглокожих - *Asteroidea*, содержащему в сходные по физическим свойствам с тритерпеновыми гликозидами химические соединения - стероидные гликозиды (астеросапонины). Обращают на себя внимание существенные различия в таксономической специфичности химического состава этих двух групп иглокожих: если у голотурий гликозиды значительно разнообразнее и различаются иногда на уровне родов и даже видов, у морских звезд специфичность обнаружить вообще очень сложно (Elyakov et al., 1976; Stonik, Elyakov, 1988a; Калинин, Стоник, 1990).

В то же время экологический спектр морских звезд значительно шире, чем голотурий. В частности, морские звезды - трофически наиболее генерализованный класс. Это - мега-, мак-

ро и микрофаги, потребляющие все виды органического вещества, тогда как голотурии - облигатные микрофаги, узко специализированные на потреблении взвешенного и осажденного ОВ.

Однако у морских звезд столь широкая экологическая пластичность не сопровождается столь же широким морфологическим разнообразием. Несомненно, что такое несовпадение связано с уникальной физиологической особенностью астероидей - способностью питаться, выворачивая желудок и осуществляя экстраоральное пищеварение.

С другой стороны, наибольшая вариабельность вторичных метаболитов наблюдается из всех морских беспозвоночных для губок - пожалуй самых морфологически пластичных организмов из животных. В то же время их трофозоологический спектр намного уже, чем у иглокожих, поскольку губки могут питаться только взвешенным и растворенным ОВ, а также микроорганизмами. Их эволюция не является прогрессивной, эта группа находится, по существу, в эволюционном тупике (Колтун, 1987). Вторичные метаболиты являются в этом случае маркерами внутривидового и видового уровней и чрезвычайно редко - более высоких таксономических уровней (Еляков, Стоник, 1986; Faulkner, 1991; и др.)

Таким образом, на уровне классов и даже типов проявляется та же закономерность, что и на уровне отрядов и семейств: размах разнообразия состава гликозидов и других вторичных метаболитов коррелирует с морфологическим разнообразием в пределах таксона. Очевидно, факторы, ведущие к увеличению разнообразия в обоих процессах, имеют одну и ту же природу. Процесс формообразования не связан жестко с прогрессивной эволюцией; по образному выражению Б. С. Кузина (1992), эволюция идет как бы сквозь мультимодацию (этим термином Кузин обозначил увеличение морфологического разнообразия). Повышение многообразия связано с освоением новых для группы сред обитания,

то есть имеет адаптивный характер, но здесь присутствуют и специфические закономерности формообразования, накладывающие свои ограничения и приводящие к параллелизмам.

Косвенным подтверждением сказанного является установление удивительной близости среднего уровня фенотипической изменчивости организмов в популяции к уровню их биохимической изменчивости (Черепанов, 1989).

5. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ТРИТЕРПЕ-НОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ГОЛОТУРИЙ

Тритерпеновые гликозиды голотурий имеют широкий спектр биологического действия. Они обладают антигрибковой, противоопухолевой, гемолитической, цитостатической, иммуномодулирующей активностями (Stonik, Elyakov, 1988b). В восточной медицине традиционно применяют всевозможные продукты из голотурий, приписывая им целебное действие, связанное, по-видимому, с наличием гликозидов (Левин, 1982). Данные по биологической активности и биологической роли гликозидов голотурий приводятся в ряде обзоров (Анисимов, 1987; Анисимов, Чирва, 1980; Burnel, ApSimon, 1983, Еляков, Стоник, 1986; Stonik, Elyakov, 1988b; Kitagawa, 1988; Левин, 1989а). За последние годы появились новые сведения для серий веществ с установленной структурой.

5.1. Биологическая активность гликозидов

5.1.1. Токсические свойства гликозидов

Ихтиотоксичность и общая токсичность

Многие виды биологической активности тритерпеновых гликозидов голотурий являются следствием проявления этими веществами цитотоксической активности, то есть их способности вызывать нарушения в функционировании и гибель клеток.

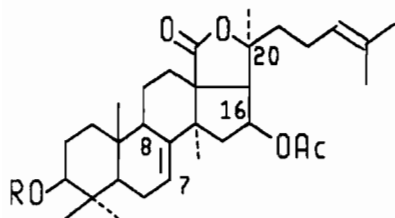
К числу таких видов биологической активности относится, в частности, ихтиотоксичность. Исследователи, занимавшиеся изучением водных экстрактов голотурий, давно обратили внимание на их сильное ихтиотоксическое действие (Nigrelli, 1952; Yamanouchi, 1955; Nigrelli, Jakowska, 1960). На Гуаме и в других регионах Индо-Пацифики туземцы использовали некоторые виды голотурий, например *Bohadschia argus* и *Holothuria atra*, для отравления рыбы в небольших лагунах на коралловых рифах при отливе (Frey, 1951). Т. Яманоучи (Yamanouchi, 1955) и Р. Нигрелли (Nigrelli, Jakowska, 1960) показали наличие

ихтиотоксических веществ в 30 видах голотурий, относящихся к четырем отрядам. Гликозидные фракции, выделенные американскими исследователями из *Actinopyga agassizi* (Chanley et al., 1959) и японскими из *Holothuria leucospilota* (= *H. vagabunda*) (Yamanouchi, 1955) и известные как "голотурин", также изучались в отношении ихтиотоксического действия. Гистологический анализ показал, что причиной гибели рыб является повреждение их жаберных капилляров (Nigrelli, 1952). Яма-ноучи (Yamanouchi, 1955) определил летальные дозы "голотурина" для земляных червей, лягушек и мышей. Например, LD₅₀ для мышей, определенная при действии голотурина в течение 24 ч, оказалась равной 0,75, 70 и 400 мг/кг соответственно при внутривенном, подкожном и пероральном введении (Yamanouchi, 1955).

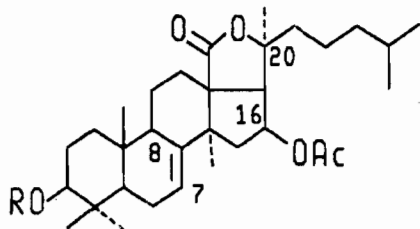
Гемолитическое действие

В самых первых работах по изучению "голотурина" было установлено его сильное гемолитическое действие (Yamanouchi, 1955; Nigrelli, Jakowska, 1960). Гемолитический индекс "голотурина" в 6 - 7 раз превышает соответствующий индекс так называемого "сапонина", представляющего собой смесь растительных гликозидов. Добавление к инкубационной смеси холестерина уменьшает гемолитическое действие "голотурина". Как показал К. Трон (Thron, 1964), "голотурин" имеет более высокую гемолитическую активность по сравнению с исследованными им растительными гликозидами.

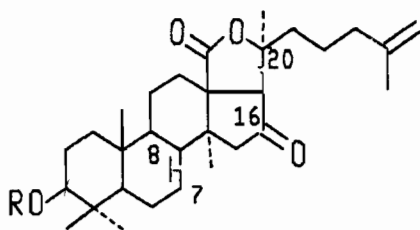
Нами было изучено гемолитическое действие серии тритерпеновых гликозидов и их производных из голотурий отряда *Dendrochirotida* (Kalinin et al., 1992).



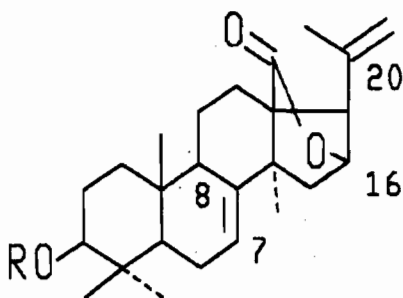
- 212. R=H
- 213. R=Xyl (здесь и далее, как и другие моносахариды - α , β -D)
- 214. R=Quin(1→2)-Xyl
- 215. R=Quin(1→2)-4-O-SO₃ Na-Xyl
- 216. R=3-O-Me-Xyl(1→3)-Glc(1→4)-Quin(1→2)-Xyl
- 179. R=3-O-Me-Xyl(1→3)-Glc(1→4)-Quin(1→2)-4-O-SO₃ Na-Xyl



217. R=3-O-Me-Xyl(1→3)-Glc(1→4)-
-Quin(1→2)-Xyl
218. R=3-O-Me-Xyl(1→3)-Glc(1→4)-
-Quin(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl
219. R=[3-O-Me-Xyl(1→3)-Glc(1→4)]-
-[Xyl(1→2)]-Quin(1→2)-Xyl
120. R=[3-O-Me-Xyl(1→3)-Glc(1→4)]-
-[Xyl(1→2)]-Quin(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl
162. R=[3-O-Me-Glc(1→3)-Xyl(1→4)]-
-[Xyl(1→2)]-Quin(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl



159. R=[Glc(1→3)-Glc(1→4)]-
-[Xyl(1→2)]-Quin(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl
221. R=Xyl(1→2)-Quin(1→2)-4-
-OSO₃Na-Xyl



180. R=3-O-Me-Xyl(1→3)-Glc(1→4)-
-Quin(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl

Кукумариозид G₁ (179) и кукумариозид G₂ (180) являются нативными гликозидами *Eupentacta fraudatrix*. Вещества (212),

(213), (214), (215), (216), (217), и (218) - производные кукумариозида G₁. Вещества (219) и (220) - дигидропроизводные кукумариозидов С₂ и Н из *E. fraudatrix*, соответственно. Фрондозид А (163) - гликозид из *Cucumaria frondosa*, кукумариозид А₄-2 (160) - гликозид из *Cucumaria japonica*, а вещество (221) является производным кукумариозида А₄-2. Полученные результаты представлены в табл. 5.1.

Таблица 5.1

Гемолитическая активность тритерпеновых гликозидов и их производных из голотурий отряда *Dendrochirotida*

Вещество	ED ₅₀ (М)	Время задержки, с	Наклон кривой, с ⁻¹	V _K ^{**} (μМ/мин)
212	$>1,12 \times 10^{-5}$	(нет гемолиза в течение 4 мин)		0,5
213	$0,64 \times 10^{-5}$	105*	0,004	3
214	$0,25 \times 10^{-5}$	11*	0,043	6
215	$0,78 \times 10^{-6}$	8	0,041	150
216	$0,25 \times 10^{-6}$	12	0,040	120
179	$0,25 \times 10^{-6}$	9	0,31	140
217	$0,10 \times 10^{-6}$	8	0,041	60
218	$0,10 \times 10^{-6}$	3	0,63	100
219	$0,60 \times 10^{-6}$	46	0,014	30
220	$0,40 \times 10^{-6}$	27	0,025	35
163	$0,25 \times 10^{-6}$	15	0,039	24
159	$0,20 \times 10^{-5}$	3*	0,160	3
221	$0,10 \times 10^{-5}$	1,5*	0,250	2
180	$0,35 \times 10^{-5}$	24*	0,010	0,5

* Концентрация вещества 1×10^{-5} М, в других случаях - 1×10^{-6} М

** Скорость выхода K⁺ при концентрации вещества 1×10^{-6} М

Показано, что гемолитическая активность зависит от структуры как агликона, так и углеводной цепи. Наибольшее значение имеет наличие линейного тетрасахаридного фрагмента в углевод-

ных цепях, причем сульфатная группа, присоединенная в четвертое положение первого ксилозного остатка, не оказывает существенного влияния на активность. Пентасахаридные, разветвленные по второму моносахаридному остатку производные несколько менее активны по сравнению с тетрасахаридными. Сульфатированный по первому ксилозному остатку биоид (215) при десульфатировании в отличие от тетрасахаридных производных менее активен. Для агликонной части в отношении гемолитической активности важно наличие 18(20)-лактона.

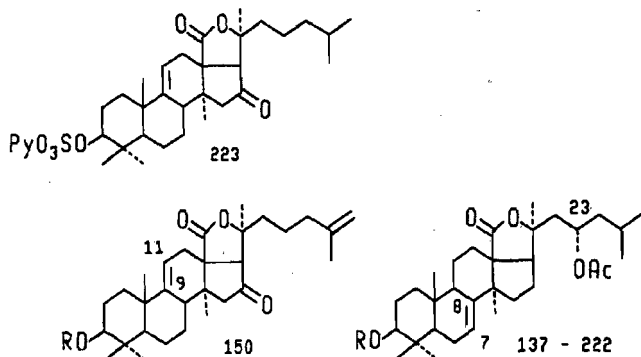
Антифунгальное действие

Антифунгальное действие тритерпеновых гликозидов голотурий впервые обнаружил С. Шимада (Shimada, 1969). Гликозидная фракция из *Apostichopus japonicus*, названная им "голотоксином", проявляла активность в отношении грибов в концентрациях от 2,78 до 16,7 мкг/мл и была неактивной к грамположительным и грамотрицательным бактериям. Сотрудниками ТИБОХ ДВО РАН установлено, что антигрибковый эффект характерен для большинства гликозидов голотурий (Анисимов и др., 1972, 1973; Щеглов и др., 1979а, Anisimov et al., 1980; Kuznetsova et al., 1982). В этих работах было показано, что гликозидные фракции голотурий родов *Bohadschia*, *Holothuria*, *Actinopyga*, *Stichopus*, *Thelenota*, а также из *Eupentacta* (= *Cucumaria*) *fraudatrix* обладают высокой антигрибковой активностью. Сумма тритерпеновых гликозидов из *Cucumaria japonica* хотя и проявляет ингибирующую активность в отношении *Candida albicans* и *C. tropicalis* (30 - 50 мкг/мл), но значительно уступает по действию на эти тест-организмы гликозидным суммам из других изученных голотурий (Батраков и др., 1980). Антифунгальные свойства гликозидов голотурий связывают с их взаимодействием со стеринами клеточных мембран грибов. Действительно, добавление стерина в культуральную среду существенно уменьшает антифунгальное действие гликозидов из *Apostichopus japonicus* (Анисимов и др., 1974). Голотоксин А₁ (150) из *A. japonicus* и гликозиды из *E. fraudatrix*, *Bohadschia* sp. и *Holothuria mexicana* вызывают утечку через мембраны клеток дрожжей *Saccharomyces carlsbergensis* ионов K⁺

и веществ нуклеотидного пула (Анисимов и др., 1981), аминокислот (Анисимов и др., 1978а) и ортофосфата (Щеглов и др., 1979б).

Голотоксин А₁ оказывает ингибирующее действие на биосинтез РНК в *S. albicans* и *S. carlsbergensis*, что было зарегистрировано по уменьшению включения ¹⁴С-уридина в кислотонерастворимую фракцию клеток. Подобные результаты были получены для гликозидных фракций из 14 видов тихоокеанских голотурий (Баранова и др., 1973). По-видимому, ингибирование биосинтеза РНК в *Saccharomyces carlsbergensis* связано с утечкой нуклеотидов из клеток дрожжей при обработке гликозидами. Голотоксин А₁ ингибирует также биосинтез сквалена, ланостерина и эргостерина в *S. carlsbergensis* (Анисимов и др., 1978б).

Сотрудниками ТИБОХ ДВО РАН была изучена антигрибковая активность восьми гликозидов и их производных из голотурий сем. Stichopodidae (Мальцев и др., 1985, табл. 5.2). Стихопозиды А (137), С (144), D (145), Е (148) из голотурии *Stichopus chloronotus*, теленотозиды А (140) и В (141) из *Thelenota ananas* и



137. R=Quin-(1→2)-Xyl
 144. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-[3-O-Me-Glc(1→3)-Xyl-(1→4)-Quin-(1→2)]-Xyl
 145. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-[3-O-Me-Glc-(1→3)-Xyl-(1→4)-Glc-(1→2)]-Xyl
 148. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-[3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Xyl-(1→2)]-Xyl
 140. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Xyl-(1→4)-Quin-(1→2)-Xyl
 141. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Xyl-(1→4)-Glc-(1→2)-Xyl
 222. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Xyl
 150. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-[3-O-Me-Glc-(1→3)-Xyl-(1→4)-Quin-(1→2)]-Xyl

производное (222), полученное при деградации (144), по Смиту имеют один и тот же агликон. Голотоксин А₁ (150) из *A. japonicus* по строению углеводной цепи не отличается от (144), но имеет другой агликон. Вещество (223) является производным голотоксина А₁.

Таблица 5.2.

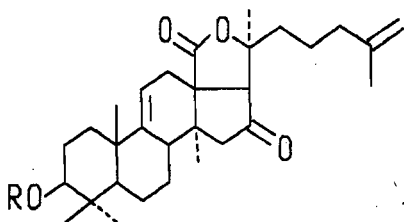
Спектр антимикробного действия тритерпеновых гликозидов из голотурий сем. Stichopodidae

Вещество	Минимальная микостатическая концентрация мкг/мл						
	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Torula utilis</i>	<i>Penicillium niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Hormodendro pedrosol</i>	<i>Trychophyton mentagraphytes</i>
137	12,5	>100	12,5	>100	>100	>100	>100
144	1,55	6,25	1,55	12,5	6,25	12,5	1,55
145	12,5	25,0	12,5	6,25	12,5	50,0	6,25
148	6,25	12,5	6,25	12,5	25,0	25,0	25,0
140	1,55	6,25	1,55	1,55	0,75	12,5	0,75
141	6,25	25,0	6,25	25,0	6,25	25,0	6,25
122	12,5	25,0	12,5	>100	25,0	12,5	12,5
150	3,12	12,5	3,12	25,0	6,25	6,25	3,12
223	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

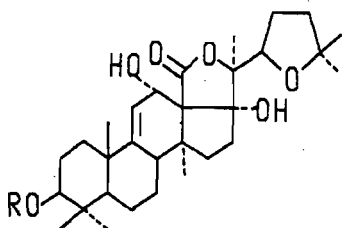
Как показано в упомянутой работе, сульфатированный агликон (223) не обладал антигрибковой активностью. Это подтверждало вывод о значительном вкладе в активность углеводной цепи. Было установлено, что оптимальное количество моносахаридных звеньев - четыре. Активность гексаозидов не превышала таковую тетраозидов. Кроме того, хиновозусодержащие гликозиды (144) и (140) оказались в 2 - 8 раз активнее, чем вещества (145) и (141), содержащие глюкозу вместо хиновозы. В то же время голотоксин А₁ (150), имеющий 9(11)-двойную связь и 16-

кетогруппу в агликоне, менее активен, чем стихопозид С (144), имеющий 7(8)-двойную связь и ацетат при С-23.

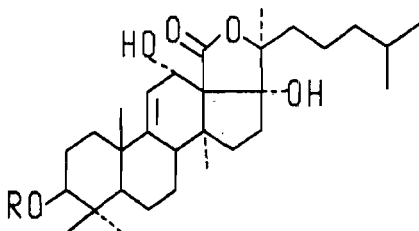
Группа И. Китагавы исследовала антигрибковую активность 27 тритерпеновых гликозидов и их производных из голошурий, собранных у побережья Японии (Kitagawa et al., 1985, 1989 a,b; Kitagawa, 1988).



224. R=Quin-(1→2)-Xyl
 225. R=[3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)]-[Quin-(1→2)]-Xyl
 184*. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Xyl-(1→4)-Quin-(1→2)-Xyl
 150*. R=[3-O-Me-Glc-(1→3)-Xyl-(1→4)-Quin-(1→2)]-[3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)]-Xyl
 151*. R=[3-O-Me-Glc-(1→3)-Xyl-(1→4)-Quin-(1→2)]-[Glc(1→3)-Glc(1→4)]-Xyl



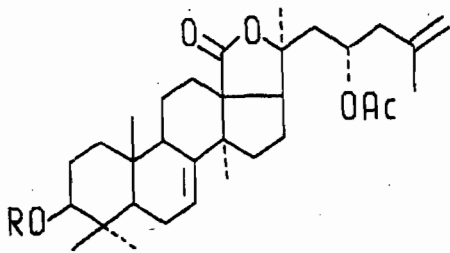
129. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-Xyl



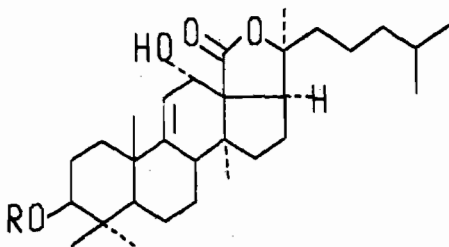
226. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-Xyl
 227. 12-oxo, R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-Xyl
 228**. 24-dehydro, R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-Xyl

* - Приведены структуры исправленные в соответствии с работой: Maltsev et al., 1983

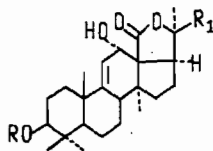
** - Структура исправлена в соответствии с работами (Kitagawa et al., 1982; Kobayashi et al., 1991a)



146. R=[3-O-Me-Glc-(1→3)-
-Xyl-(1→4)-Quin-(1→2)]-
-[3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)]-
-Xyl



135. R=[3-O-Me-Glc-(1→3)-
-Glc-(1→4)]-[Quin-(1→2)]-Xyl

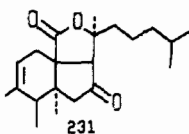


229. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-Xyl, R₁=

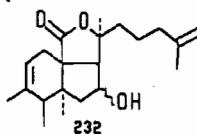
230. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-Xyl, R₁=

[3-O-Me-Glc-(1→3)-Xyl-(1→4)-Quin-(1→2)]-[3-O-Me-Glc-(1→3)-

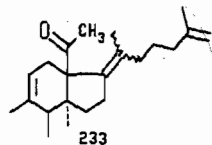
-Glc-(1→4)]-Xyl-O-



231



232



233

Вещества (224), (225) и (184) - производные голотоксина А₁ из *Aprostichopus japonicus*, (151) - голотоксин В₁, (129) - десульфатированное производное голотурина А из *Holothuria leucospilota*, (226) - десульфатированное производное эхинозида А из *Actinopyga echinites*, (227) - 12-оксопроизводное десульф-

фатированного эхинозида А. Вещество (228) - десульфатированное производное 24-дегидроэхинозида А из *Actinopyga agassizi*, (146) - стихлорозид С₂ из *S.chloronotus*, (135) - бивиттозид В из *V. bivittata*, (229) - десульфатированный первикозид В из *H. pervicax*, (230) - десульфатированный первикозид С из *H. pervicax*, (231), (232) и (233) - производные голотоксина А₁ из *A. japonicus*. Результаты исследования их антигрибковой активности представлены в таблице 5.3.

Таблица 5.3

Минимальная концентрация гликозидов, ингибирующая рост грибов (мкг/мл)*

Микроорганизм	Соединения							
	224	225	150	184	151	129	226	227
<i>Aspergillus niger</i>	>100	>100	0,78	3,12	6,25	6,25	1,56	6,25
<i>Aspergillus oryzae</i>	>100	>100	1,56	6,25	12,5	12,5	1,56	6,25
<i>Penicillium chrysogenum</i>	>100	>100	1,56	3,12	6,25	6,25	3,12	6,25
<i>Penicillium citrinum</i>	>100	>100	12,5	12,5	12,5	12,5	1,56	25
<i>Mucor spinenscence</i>	>100	>100	>100	12,5	25	12,5	100	>100
<i>Cladosporium herbarum</i>	>100	>100	12,5	25	12,5	50	100	>100
<i>Rhodotorula rubra</i>	>100	>100	25	12,5	12,5	12,5	3,12	>100
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	>100	>100	12,5	6,25	1,56	12,5	6,25	>100
<i>Trichophyton rubrum</i>	>100	50	12,5	<1,56	0,78	6,25	3,12	12,5
<i>Candida albicans</i>	>100	>100	>100	12,5	6,25	25	50	>100
<i>Candida utilis</i>	>100	>100	6,25	3,12	3,12	12,5	3,12	12,5

Микроорганизм	Соединения							
	228	146	135	229	230	231	232	233
<i>Aspergillus niger</i>	1,56	12,5	12,5	1,56	6,25	3,12	50	>100
<i>Aspergillus oryzae</i>	1,56	12,5	50	3,12	6,25	12,5	50	>100
<i>Penicillium chrysogenum</i>	1,56	6,25	12,5	1,56	3,12	3,12	50	>100
<i>Penicillium citrinum</i>	3,12	12,5	50	1,56	6,25	12,5	>100	>100
<i>Mucor spinescence</i>	>100	>100	>100	6,25	12,5	>100	25	>100
<i>Cladosporium herbarum</i>	3,12	25	>100	6,25	12,5	25	100	>100
<i>Rhodotorula rubra</i>	3,12	12,5	>100	3,12	6,25	6,25	>100	>100
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	3,12	6,25	>100	1,56	6,25	6,25	50	>100
<i>Trichophyton rubrum</i>	1,56	6,25	50	1,56	6,25	0,78	25	>100
<i>Candida albicans</i>	12,5	25	>100	6,25	12,5	12,5	50	>100
<i>Candida utilis</i>	1,56	12,5	50	6,25	12,5	3,12	25	>100

* Здесь и в следующих таблицах МЭД₁₀₀

В таблице 5.4 отдельно представлены данные по антигрибковой активности гликозидов голотурии *Bohadschia bivittata* и для сравнения приведена активность 12-оксопроизводного бивиттозида D (234) и десульфатированного производного эхинозида A (226) (Kitagawa et al., 1989a).

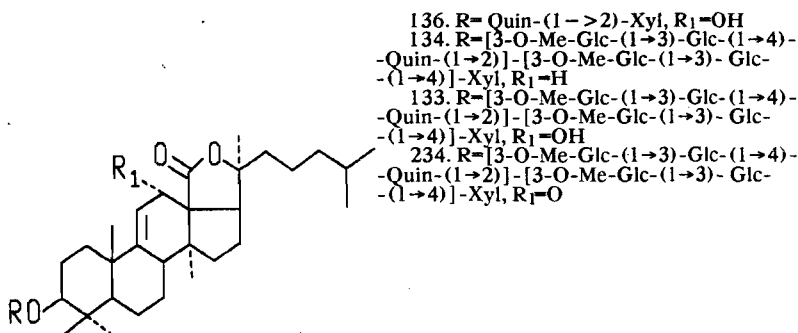
Таблица 5.4

Минимальная концентрация гликозида, ингибирующая рост грибов (мкг/мл)

Микроорганизм	Бивиттозид					
	A (136)	B (161)	C (134)	D (133)	234	226
<i>Aspergillus niger</i>	>100	12,5	>100	6,25	25	1,56
<i>Aspergillus oryzae</i>	6,25	50	>100	3,12	25	1,56

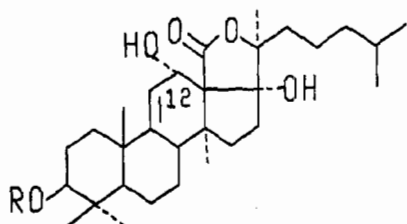
Микроорганизм	Бивиттозид					
	A (136)	B (161)	C (134)	D (133)	234	226
<i>Penicillium citrinum</i>	>100	50	>100	6,25	>100	3,12
<i>Penicillium chrysogenum</i>	6,25	12,5	>100	1,56	12,5	1,56
<i>Mucor spinescens</i>	>100	>100	>100	>100	>100	100
<i>Cladosporium herbarum</i>	>100	>100	>100	50	50	100
<i>Rhodotorula rubra</i>	>100	>100	>100	6,25	25	3,12
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	>100	>100	>100	6,25	25	6,25
<i>Trichophyton rubrum</i>	25	12,5	>100	3,12	6,25	3,12
<i>Candida albicans</i>	>100	>100	>100	12,5	>100	50
<i>Candida utilis</i>	>100	50	>100	6,25	12,5	3,12

В табл. 5.5 представлены результаты исследования антигрибковой активности эхинозидов А (121) и В (115) и их производных из *Actinopyga echinites* (Kitagawa et al., 1985).



Минимальная концентрация гликозидов, ингибирующая рост микроорганизмов (мкг/мл)

Микроорганизм	Эхинозид			Эхинозид		
	235	В (115)	236	226	А (121)	227
<i>Aspergillus niger</i>	25	3,12	>100	1,56	3,12	6,25
<i>Aspergillus oryzae</i>	25	3,12	6,25	1,56	3,12	6,25
<i>Penicillium citrinum</i>	>100	3,12	>100	3,12	3,12	25
<i>Penicillium chrysogenum</i>	50	3,12	>100	1,56	3,12	6,25
<i>Mucor spinescence</i>	>100	>100	>100	100	50	>100
<i>Cladosporium herbarum</i>	>100	>100	>100	100	25,0	>100
<i>Rhodotorula rubra</i>	100	12,5	>100	3,12	6,25	>100
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	>100	12,5	>100	3,12	6,25	12,5
<i>Trichophyton rubrum</i>	100	6,25	100	3,12	6,25	12,5
<i>Candida albicans</i>	>100	>100	>100	50	12,5	>100
<i>Candida utilis</i>	>100	12,5	>100	3,12	6,25	12,5



115. R=Quin-(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl
 235. R=Quin-(1→2)-Xyl
 236. 12-оксо, R=Quin-(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl
 121. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl

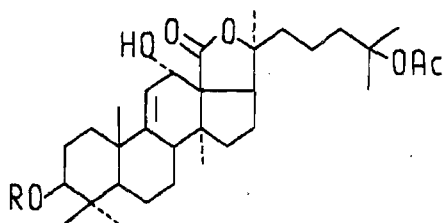
Вещество (235) является десульфатированным производным эхинозида В, (236) - продукт окисления эхинозида В по С-12 атому агликона.

В табл. 5.6 представлены данные исследования антигрибковой активности десульфатированных производных первикозидов А (237), В (229) и С (230), полученных из *Holothuria peregrina* (Kitagawa et al., 1989b).

Таблица 5.6

Минимальная концентрация гликозидов, ингибирующая рост микроорганизмов (мкг/мл)

Микроорганизм	DS-первикозид	DS-первикозид	DS-первикозид
	А (237)	В (229)	С (230)
<i>Aspergillus niger</i>	12,5	1,56	6,25
<i>Aspergillus oryzae</i>	12,5	3,12	6,25
<i>Penicillium chrysogenum</i>	6,25	1,56	3,12
<i>Penicillium citrinum</i>	6,25	1,56	6,25
<i>Mucor spinenscence</i>	12,5	6,25	12,5
<i>Cladosporium herbarum</i>	50	6,25	12,5
<i>Rhodotorula rubra</i>	100	3,12	6,25
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	12,5	1,56	6,25
<i>Trichophyton rubrum</i>	12,5	1,56	6,25
<i>Candida albicans</i>	100	6,25	12,5
<i>Candida utilis</i>	100	6,25	12,5



237. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-Xyl

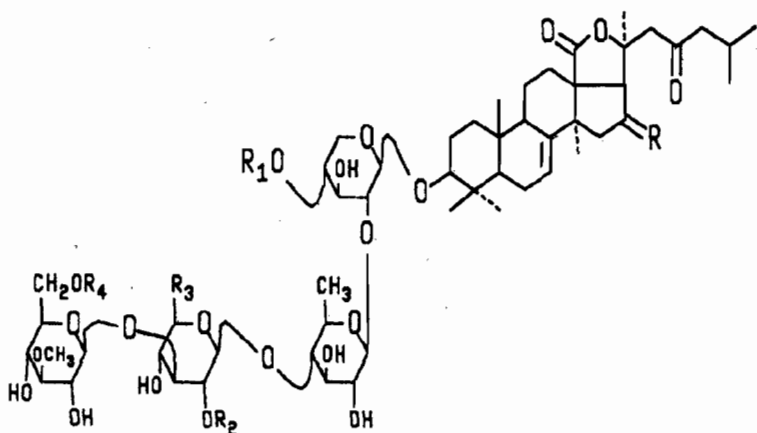
На основании своих исследований антигрибковой активности Китагава делает ряд выводов о зависимости биологической активности от структуры гликозидов голотурий (Kitagawa, 1988; Kitagawa et al., 1985, 1989a). Для проявления активности важна структура как агликона, так и углеводной цепи. В агликоне необходимо наличие 18(20)-лактона, поскольку производное (233), у которого отсутствует этот лактон, активностью не обладает. Обязательно также присутствие хотя бы одной кислородной функции вблизи 18(20)-лактона, а именно в положениях 12, 16 или 23. Бивиттозид С (134), не имеющий таких функций, в использованных биотестах неактивен (Kitagawa et al., 1989a).

В углеводных цепях обязательно наличие линейного тетрасахаридного фрагмента. Действительно, разветвленный тетраозид - бивиттозид В (135) обладает значительно меньшей активностью, чем линейные тетраозиды (140, 141). Разветвленный прогенин (225), полученный из голотоксина А₁ (150), не проявляет антигрибковую активность в концентрации до 100 мкг/мл.

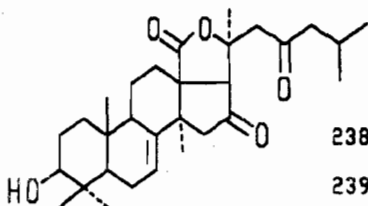
Сульфатная группа при С-4 первого ксилозного остатка не оказывает значительного влияния на биологическую активность в тетрасахаридных производных, что видно из сравнения данных по эхинозиду А (121) и его десульфатированному производному (227) (Kitagawa et al., 1985). Однако эта сульфатная группа вносит большой вклад в антигрибковую активность биозидов, что следует из сравнения антифунгального действия эхинозида В (115) и его десульфатированного производного (235) (Kitagawa et al., 1985).

Значимость линейного тетрасахаридного фрагмента и 18(20)-лактона, отсутствие заметного вклада 4-О-сульфата при первой ксилозе в биологическую активность тетраозидов и, наоборот, его существенная роль для биологической активности биозидов отмечалась также нами (Kalinin et al., 1992) и для гемолитического действия тритерпеновых гликозидов голотурий, что свидетельствует об общем механизме их действия на мембраны как эритроцитов, так и клеток грибов.

Другая группа японских исследователей (Miyamoto et al., 1990) изучила антифунгальную и антипротозойную активность гликозидов из *Cuscutaria echinata* и их производных (табл. 5.7).



165. $R=O$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=H$, $R_3=CH_2OSO_3Na$, $R_4=H$
 166. $R=O$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=SO_3Na$, $R_3=H$, $R_4=H$
 167. $R=H_2$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=H$, $R_3=CH_2OSO_3Na$, $R_4=H$
 168. $R=O$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=H$, $R_3=CH_2OSO_3Na$, $R_4=SO_3Na$
 169. $R=O$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=SO_3Na$, $R_3=H$, $R_4=SO_3Na$
 170. $R=H_2$, $R_1=SO_3Na$, $R_2=H$, $R_3=CH_2OSO_3Na$, $R_4=SO_3Na$
 240. $R=O$, $R_1=H$, $R_2=H$, $R_3=CH_2OH$, $R_4=H$
 241. $R=O$, $R_1=H$, $R_2=H$, $R_3=H$, $R_4=H$
 242. $R=H_2$, $R_1=H$, $R_2=H$, $R_3=CH_2OH$, $R_4=H$



238. $R=O$

239. $R=H_2$

Минимальная концентрация гликозидов, ингибирующая рост микроорганизмов (мкг/мл)

Микроорганизм	165	166	167	168	169	170	240	241	242	238	239	150
<i>Trichomonas foetus</i>	^a	-	-	-	-	10	2,5	-	2,5	-	-	1,0
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	5,0	-	5,0	-	-	1,0
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	-	-	-	-	-	-	2,5	-	2,5	-	-	1,0
<i>Aspergillus niger</i> (FA9959)	-	-	-	-	-	20	1,0	-	0,5	-	-	0,5
<i>Aspergillus niger</i> (FA24199)	-	-	-	-	-	20	1,0	-	0,5	-	-	0,5
<i>Mucor hiemalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	-	-	-	-	-	-	5,0	-	2,5	-	-	2,5

^aНет активности в концентрации 20 мкг/мл

Кукумэхинозиды А (165), В (166), С (167), D (168), Е (169) и F (170) - нативные гликозиды, вещества (240) - (242) - десульфатированные производные соответствующих гликозидов, а (238) и (239) - артефактные агликоны. Заметным антигрибковым действием обладают только десульфатированные производные (240) и (242); соответствующие нативные гликозиды, содержащие по две или три сульфатные группы, не проявляют активность в дозах до 20 мкг/мл. Ранее было показано, что сульфатная группа при С-4 первой ксилозы не влияет существенным образом на антимикробную активность веществ с линейной тетрасахаридной углеводной цепью. Следовательно, можно сделать вывод о резком снижении биологической активности нативных гликозидов из-за влияния сульфатных групп, присоединенных к С-6 в остатках глюкозы и 3-О-метилглюкозы и к С-2 в третьем моносахаридном остатке (ксилозы).

Нарушение раннего эмбриогенеза морских ежей

Одним из проявлений цитотоксического эффекта тритерпеновых гликозидов голотурий является их действие на ранний эмбриогенез морских ежей. Г. Ругьери и Р. Нигрелли (Ruggieri, Nigrelli, 1960) показали, что "голотурин" и "голотурин А" из *Actinopyga agassizi* вызывают аномалии в развитии эмбрионов морского ежа *Arbacia punctilata*, остановку дробления или лизис blastomeres.

Позднее было установлено, что голотоксин A_1 из *Apostichopus japonicus* (Anisimov et al., 1972, 1973), "кукумариозид С" из *Eupentacta (=Cucumaria) fraudatrix* (Anisimov et al., 1974), а также гликозиды из *Holothuria mexicana* и кукумариозид G_1 (179) из *E. fraudatrix* (Anisimov et al., 1980) оказывают аналогичное действие на оплодотворенные яйцеклетки морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*. Добавление в инкубационную среду холестерина и липидов из эмбрионов морского ежа приводило к снижению цитотоксического действия голотоксина A_1 (Anisimov et al., 1979).

С помощью радиоактивных предшественников было показано, что голотоксин A_1 ингибирует биосинтез ДНК, РНК и белков, причем ингибирование не носит характер прямого воздействия на соответствующие ферментные системы (Анисимов и др., 1977, Anisimov et al., 1978). Действительно, голотоксин A_1 не оказывал ингибирующего действия на биосинтез ДНК в изолированных ядрах и митохондриях зародышей морских ежей и в то же время увеличивал активность кислых и щелочных нуклеаз в субклеточных фракциях эмбрионов морских ежей. Был сделан вывод, что цитотоксическое действие тритерпеновых гликозидов голотурий в отношении эмбрионов морского ежа связано с ингибированием синтеза биополимеров, обусловленным уменьшением в клетках концентрации предшественников нуклеиновых кислот и белков из-за нарушения их мембранного транспорта и "вымывания" через плазматические мембраны (Anisimov et al., 1978).

Изучалась также зависимость цитотоксического действия тритерпеновых гликозидов голотурий на ранний эмбриогенез морского ежа от структуры гликозидов (Анисимов и др., 1983а). Установлено, что взаимосвязь структура-цитотоксическая

активность для пяти изученных гликозидов семейства Stichopodidae по отношению к цитотоксической активности аналогична таковой для антигрибковой активности (табл. 5.2), хотя и выражена значительно менее резко. Полученные результаты представлены в таблице 5.8.

Таблица 5.8

Минимальная концентрация гликозидов, вызывающая остановку дробления на стадии зиготы оплодотворенных яйцеклеток морского ежа *Strongylocentrotus intermedius* (мкг/мл)

Вещество	МЭД ₁₀₀	Вещество	МЭД ₁₀₀
137	3,1	145	1,6
144	0,8	148	1,6
150	1,5		

Действительно, стихопозид А (137), имеющий биозидную углеводную цепь, среди изученных гликозидов наименее активен, тогда как содержащий хиновозу гексаозид - стихопозид С (144) - наиболее активен. Промежуточное положение занимают не имеющие хиновозы гексаозиды - стихопозиды D (145) и E (148). Голотоксин А₁ (150), отличающийся от стихопозидов С (144) только строением агликона, несколько менее активен, чем (144).

Недавно мы изучили цитотоксическое действие на ранний эмбриогенез морского ежа *S. intermedius* 14 гликозидов и их производных из голотурий отряда Dendrochirotida (табл. 5.9) (Н. Г. Прокофьева и др., неопубликованные данные). Эта серия веществ была исследована ранее на гемолитическую активность (табл. 5.1) (Kalinin et al., 1992).

Таблица 5.9

Минимальная концентрация гликозидов (М), вызывающая остановку дробления на стадии зиготы оплодотворенных яйцеклеток морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*

Вещество	МЭД ₁₀₀	Вещество	МЭД ₁₀₀
212	$>10 \cdot 10^{-5}$	218	$0,25 \cdot 10^{-5}$
213	$>10 \cdot 10^{-5}$	219	$0,6 \cdot 10^{-5}$

Вещество	МЭД ₁₀₀	Вещество	МЭД ₁₀₀
214	$5 \cdot 10^{-5}$	220	$0,25 \cdot 10^{-5}$
215	$2,5 \cdot 10^{-5}$	163	$0,12 \cdot 10^{-5}$
216	$0,25 \cdot 10^{-5}$	159	$0,12 \cdot 10^{-5}$
179	$0,12 \cdot 10^{-5}$	221	$2,5 \cdot 10^{-5}$
217	$0,25 \cdot 10^{-5}$	180	$1,5 \cdot 10^{-5}$

Характер зависимости активности от структуры в данном случае близок к такой зависимости для гемолитической активности, однако изменения в активности не столь резко выражены. Действительно, агликон (212) и монозид (213) не обладают активностью. У биозида (214) появляется слабая активность. Присоединение к биозиду сульфатной группы увеличивает активность вдвое. Увеличение количества моносахаридов до четырех в производных (216) и (179) вызывает рост активности на порядок, причем сульфатированное производное (179) - несколько активнее. Присоединение пятого сахара ко второму моносахаридному остатку в соединениях (219) и (220) несколько снижает активность.

Таким образом, цитотоксическое действие на ранний эмбриогенез морского ежа зависит от длины углеводной цепи, причем оптимальной является линейная тетрасахаридная цепь.

Зависимость цитотоксической активности от структуры агликона выражена слабее, чем для гемолиза. Так, гемолитическая активность веществ (219), (220) и (163), имеющих агликон с 16β -ацетатом, на порядок выше таковой кукумариозида А₄-2 (159), тогда как по цитотоксическому действию на ранний эмбриогенез морского ежа они различаются гораздо меньше. Продукт ферментативной деградации кукумариозида А₄-2 (221), имеющий три моносахаридных звена и сульфат, а также гликозид (180), имеющий 18(16)-лактон и укороченную боковую цепь, проявляет незначительную активность.

Таким образом, определенное сходство в зависимости биологической активности гликозидов голотурий от структуры

для антифунгального действия, нарушения в раннем эмбриогенезе морского ежа и гемолитической активности позволяет предположить сходство в механизме действия гликозидов голотурий на соответствующие тест-системы.

Противоопухолевая активность

Противоопухолевое действие гликозидов голотурий было обнаружено Нигрелли (Nigrelli, 1952). Он установил, что подкожные инъекции раствора "голотурина" в зону опухолевого роста Sarcoma-180 ингибируют рост опухолевых клеток и вызывают регрессию опухоли. Введение обработанных "голотурином" клеток асцитной опухоли Кребс-2 здоровым мышам не вызывало заметного роста опухоли в течение 60 сут (Sullivan et al., 1955). "Голотурин", по данным Нигрелли, при концентрации 5 мкг/мл ингибирует рост опухолевых клеток эпидермальной карциномы KB in vitro (Nigrelli et al., 1967). Г. Петти и сотрудники показали, что очищенная сумма тритерпеновых гликозидов из *Stichopus chloronotus* и *Thelepena ananas* ингибирует развитие лимфоцитарной лейкемии P-388, а так называемый "актиностафин" из *Actinopyga mauritiana* оказывает ингибирующий эффект на культуры клеток KB и лимфоидной лейкемии L 1210 (Pettit et al., 1976). Антиопухолевое действие гликозидных фракций голотурий, собранных у Большого барьерного рифа (Австралия) и Западного Самоа, было изучено сотрудниками ТИБОХ (Kuznetsova et al., 1982). Гликозиды 19 исследованных видов голотурий семейств Holothuriidae и Stichopodidae в концентрациях от 6,2 до 100 мкг/мл ингибировали развитие опухолевых клеток Sarcoma-37 in vitro.

Было также изучено влияние стихопозидов А (137), С (144), D (145), Е (148) на жизнеспособность клеток опухоли Эрлиха. Минимально эффективные концентрации гликозидов составили 3,1 - 12,5 мкг/мл, причем наименее активны в этом тесте оказались стихопозид А, содержащий два моносахаридных остатка, и стихопозид Е, имеющий остаток ксилозы в качестве второго моносахаридного остатка (Анисимов и др., 1983а).

Исследовалось также противоопухолевое действие других индивидуальных гликозидов из голотурий семейства

Stichopodidae (Анисимов и др., 1983а; Прокофьева и др., 1988). Так, было показано, что голотоксин А₁ (150) из *Apostichopus japonicus* в дозах 1.25 и 2.50 мг/кг при четырехкратном внутривнутрибрюшинном введении мышам ингибирует рост солидной формы опухоли Эрлиха и саркомы-37 на 37 - 65 и 13 - 53 % соответственно.

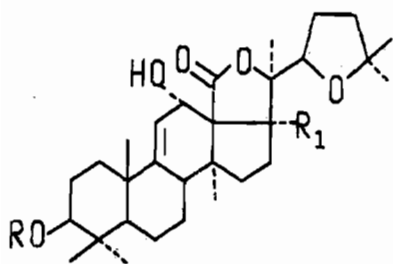
А. М. Попов и соавторы (1981) добились увеличения чувствительности опухолевых клеток к голотоксину А₁, обрабатывая их липосомами, содержащими холестерин, что свидетельствует о холестеринзависимом механизме цитотоксического действия гликозидов голотурий. Холестерин ингибировал цитотоксическое действие голотоксина А₁ в отношении опухолевых клеток, причем Δ^7 -стерины, сульфаты Δ^5 -стеринов и ксилозиды Δ^7 -стеринов в значительно меньшей степени влияли на эту активность (Попов и др., 1983).

В низких концентрациях голотоксин А₁ индуцировал утечку из опухолевых клеток ионов калия, а в более высоких - К⁺, а также веществ нуклеотидного пула и белков, что указывает на нарушение гликозидом избирательной проницаемости мембран опухолевых клеток (Прокофьева и др., 1988).

Для выявления механизма цитостатического действия гликозидов голотурий изучали ингибирование биосинтеза нуклеиновых кислот и белка в культуре клеток костного мозга крыс (Анисимов и др., 1971). Введение голотоксина А₁ (150) в инкубационную среду (2,5 - 5 мкг/мл) ингибирует включение в кислотонерастворимую фракцию клеток ¹⁴С-аланина в большей степени, чем ¹⁴С-тимидина и ¹⁴С-уридина (Elyakov et al., 1972). Было показано (Прокофьева и др., 1981) отсутствие ингибирования включения ¹⁴С-аланина в аминоксил-т-РНК. Наиболее выраженное снижение радиоактивности при действии гликозидов отмечено в интрацеллюлярном аминокислотном пуле, что указывает на значительное ингибирование поступления аминокислот из среды в клетку.

Испанские исследователи изучили антиопухолевую активность тритерпеновых гликозидов *Holothuria forskali* (Rodriguez et al., 1991).

Голотуринозиды А (130), С (132) и D (118) являются нативными веществами, (243) - производное, полученное при частичном кислотном гидролизе голотуринозида А. Данные по



130. R=[3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)]-[Glc-(1→4)]-Xyl, R₁=OH
 132. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-Xyl, R₁=H
 118. R=Quin-(1→2)-Xyl, R₁=H
 243. R=[Glc-(1→4)-Quin-(1→2)]-[Glc-(1→4)]-Xyl, R₁=OH

антиопухолевой активности этих гликозидов и производных представлены в таблице 5.10.

Таблица 5.10

Концентрации гликозидов и их производных, ингибирующие рост опухолевых клеток *in vitro* (ED₅₀мкг/мл)

Опухолевые клетки	130	132	118	243
P 388	0,46	0,34	2,00	2,00
A 549	0,33	0,16	2,50	5,00
HeLa	0,86	0,47	,	
B-16	0,71	0,93	,	

Эти данные показывают особое значение для высокой цитотоксической активности наличия линейного тетрасахаридного фрагмента. Действительно, голотуринозид А (130), имеющий пентасахаридную углеводную цепь, и голотуринозид С (132) с тетрасахаридной линейной цепью обладают примерно равной и наиболее высокой среди изученной серии соединений активностью. Значительно менее активен биозид, голотуринозид D (118). Интересно, что тетрасахаридное производное (243), имеющее разветвленную углеводную цепь, еще менее активно, чем биозид.

Таким образом, и в этом случае подтверждается сделанный ранее И. Китагавой для антигрибковой активности вывод о том, что для биологической активности гликозидов голотурий важно не столько количество моносахаридных звеньев, сколько конфигурация углеводной цепи (Kitagawa, 1988).

Японскими исследователями изучалась противоопухолевая активность в отношении клеток L 1210 и KB гликозидов из *Cuscutaria echinata* и их производных (Miyamoto et al., 1990) (табл. 5.11).

Таблица 5.11

Концентрации гликозидов и их производных, ингибирующие рост опухолевых клеток *in vitro* (ED₅₀мкг/мл)

Опухолевые клетки	165	166	167	168	169	170	240	241	242	238	239
L 1210	1,7	2,9	2,8	8,4	20,0	2,7	0,34	0,32	0,26	14,0	3,9
KB	4,0	6,3	4,0	7,6	36,0	3,6	1,2	0,7	1,1	50,0	16,0

Эти данные показывают, что десульфатированные производные (240), (241) и (242) примерно на порядок активнее, чем нативные гликозиды, имеющие сульфатные группы при С-6 глюкозных и 3-О-метилглюкозных остатках и С-2 ксилозного остатка. Интересно, что гликозиды (165), (166) и (167), не имеющие сульфатной группы при С-6 терминальной 3-О-метилглюкозы, более активны, чем вещества (168), (169) и (170), обладающие такой группой. Агликоны (238) и (239) малоактивны.

Таким образом, данные по цитотоксической по отношению к опухолевым клеткам активности гликозидов голотурий в целом коррелируют с данными по другим активностям, а именно: антигрибковой, гемолитической, а также цитотоксической по отношению к оплодотворенным яйцеклеткам морского ежа.

Нейротоксическое действие

С. Фрис и сотрудники (Friess et al., 1959, 1960) показали, что "голотурин А" из *Actinopyga agassizi* необратимо блокирует рас-

пространение нервного импульса в седалищном нерве лягушки и в нервно-диафрагменных препаратах крысы и кошки. По эффективности голотурин сравним с такими блокирующими агентами, как прокаин, физостигмин, кокаин, однако в отличие от последних эффект его необратим. При концентрации 1×10^{-4} М "голотурин А" оказывает прямое контрактурное действие на мышцу и блокирует судорожный рефлекс при прямой (на мышцу) и непрямой (на нерв) стимуляции. Дальнейшие исследования показали, что необратимое действие голотуринна на хеморецепторы нейромышечного синапса млекопитающих снимается следовыми концентрациями (10^{-9} - 10^{-10} М) классических протекторов - физостигмина и неостигмина (Thron et al., 1964b; Friess et al., 1965). С. Фрис и соавторы провели сравнительное изучение нейротоксического действия "голотуринна А" и его десульфатированного производного (Friess et al., 1967, 1968, 1970; Friess, 1972). При действии на различные периферические нейромышечные рецепторы оба соединения вызывают необратимую инактивацию возбуждения *in vitro* и *in vivo*, причем действующая концентрация для "голотуринна А" на порядок ниже. Авторы связывают этот эффект с отрицательным зарядом "голотуринна А" (Friess et al., 1970; Friess, 1972).

Было изучено действие голотуринна на мембранный потенциал и электропроводность гигантского аксона кальмара (De Groof, Narahashi, 1976). Показано, что действие голотуринна в концентрации 2×10^{-4} М на внешнюю сторону интактного аксона вызывает необратимую деполяризацию мембраны, при этом ее потенциал приближается к нулю. При удалении Na^+ с внешней стороны мембраны или одновременно с обеих сторон происходит частичная реполяризация. На этом основании предполагается, что в основе деполяризации мембран гликозидами может лежать увеличение проницаемости биомембран для ионов Na^+ .

Взаимодействие с липидами и барьерные свойства модельных мембран

Уменьшение мембранотропной активности гликозидов голотурин в отношении различных биологических тест-систем при добавлении в инкубационную среду холестерина свидетельству-

ет, что мембранотропное действие этих веществ основано на их способности образовывать комплексы со стеринами мембран.

Сравнительное изучение ИК-спектров голотоксина A_1 (150), холестерина, их комплексов и механических смесей показало, что в спектре комплекса наблюдается сдвиг полос поглощения ОН-групп в область более низких частот на 10 см^{-1} и СО-группы в область более высоких частот на 5 см^{-1} по сравнению с положением этих полос в спектре механической смеси голотоксина A_1 , холестерина. Результаты этих исследований указывают на образование водородной связи между 3β -ОН группой холестерина и СО-группой лактонного кольца голотоксина A_1 в этом комплексе (Анисимов и др., 1974). Было показано, что гликозиды голотурий способны образовывать комплексы со стеринами, входящими в состав модельных мембран (Лихацкая и др., 1985). В диапазоне концентраций от 1×10^{-7} до 8×10^{-6} М голотурина A_2 (121) (эхинозид А) не оказывает существенного влияния на фазовый переход липидных мембран, не содержащих холестерин, что было показано микрокалориметрией. Введение холестерина в мембрану вызывает уширение пика основного фазового перехода липида и уменьшение его интенсивности. При добавлении голотурина A_2 к мембранам, содержащим холестерин, происходит частичное восстановление пика. Максимальный эффект наблюдается при молярном отношении гликозид-холестерин 1:2, что указывает на образование комплекса гликозида с холестерином в модельной мембране. Свободный голотуриногенин образует комплексы с холестерином в модельных мембранах, что также было показано методом микрокалориметрии (Лихацкая и др., 1991). Дестабилизирующее действие голотурина A_2 и голотоксина A_1 было зарегистрировано также по изменению вероятности образования черных пятен в стеринсодержащих БЛМ (Попов и др., 1982б). Свободный голотуриногенин не проявляет стеринзависимого дестабилизирующего действия на БЛМ (Лихацкая и др., 1990).

Было показано, что голотурин A_2 в концентрациях до 10^{-5} М не влияет на ионную проницаемость БЛМ, не содержащих стерина. В то же время холестеринсодержащие БЛМ характеризуются

увеличением проводимости в 100 раз при концентрации голотурина A_2 9×10^{-7} М. Полученные данные свидетельствовали об образовании неселективных пор в стеринсодержащих мембранах, обработанных тритерпеновыми гликозидами (Корепанова и др., 1980). По мнению этих авторов, для формирования канала необходимо четыре молекулы гликозида.

В случае действия голотурина A_2 на липосомальные или биологические мембраны достаточно одной полупоры, так как толщина гидрофобной части этих мембран значительно меньше, чем у БЛМ (Иванов и др., 1981; Попов и др., 1982а). Двусторонний характер действия голотурина A_2 на стеринсодержащие БЛМ указывает, что образуемый канал складывается из двух полупор (Попов и др., 1982в). Увеличение дозы голотурина A_2 с 0,1 до 1 нг/мл приводило к регистрации простого суммирования включений и отключений большого числа одиночных голотурин-холестериновых каналов. Дальнейшее увеличение дозы до 10 нг/мл приводило к образованию в БЛМ высокопроводящего комплекса (поры) большего размера (Попов и др., 1982в). В случае БЛМ, содержащей вместо холестерина эргостерин, граница перехода от одиночных каналов проводимости, имеющих малые размеры, к порам больших размеров имеет более резкий характер, причем эта граница находится примерно в интервале 0,1 - 1 нг/мл действующих концентраций гликозида (Попов и др., 1982в). Эти результаты коррелируют с данными, полученными на оплодотворенных яйцеклетках морского ежа (холестеринсодержащие плазматические мембраны) и дрожжах (эргостеринсодержащие мембраны) (Анисимов и др., 1981). Действительно, для оплодотворенных яйцеклеток морского ежа существует большая разница в концентрациях, вызывающих выход K^+ , и концентрациях, вызывающих выход УФ-поглощающих веществ. Для дрожжей *Saccharomyces carlbergensis* такой разницы в концентрациях гликозидов почти нет.

Изучалась также чувствительность липосом к мембранотропному действию тритерпеновых гликозидов (Иванов и др., 1981; Попов и др., 1982а). Было показано, что эффективность освобождения K^+ из липосом зависит как от содержания холестерина в

мембране, так и от концентрации гликозида в среде. Ионная проницаемость липосом, не содержащих холестерина, была неотличима от контроля даже при высоких концентрациях исследуемых гликозидов. Интересно отметить, что голотурин А₂, содержащий линейный тетрасахаридный фрагмент и сульфатную группу, несколько более эффективен в отношении индуцирования выхода К⁺ из липосом, чем голотурин В₁ (115), имеющий только два моносахарида и сульфат, что коррелирует с данными по антигрибковой и гемолитической активности.

Таким образом, зависимость гемолитической, антигрибковой и противоопухолевой активности, а также цитотоксического действия на ранний эмбриогенез морского ежа тритерпеновых гликозидов голотурий от структуры примерно одинакова, поскольку каждая из этих активностей вызвана мембранотропным действием гликозидов на стеринсодержащие мембраны клеток-мишеней.

Для антигрибковой и гемолитической активности зависимость от структуры гликозидов выражена более резко. Это может быть связано с тем, что в случае гемолиза, включая выход К⁺ из эритроцитов, наблюдается непосредственный результат действия гликозида на мембрану клетки-мишени, тогда как, для цитотоксического действия на оплодотворенные яйцеклетки морского ежа и опухолевые клетки обнаруживается только опосредованный результат нарушения мембранной проницаемости с последующим нарушением клеточного метаболизма и остановкой клеточного деления.

В случае антигрибковой активности более резкие изменения в зависимости от структуры гликозидов связаны с наличием эргостерина, а не холестерина в клеточных мембранах грибов.

5.1.2. Другие виды биологической активности

Влияние на транспорт Са²⁺ через мембраны

Б. В. Рубцов с соавторами (1980) изучили влияние тритерпеновых гликозидов голотурий на параметры активного транспорта

ионов Ca^{2+} в везикулах саркоплазматического ретикулума скелетных мышц кролика и на проницаемость липосомальной мембраны, сформированной из фосфолипидов. Было показано, что при низких концентрациях (10^{-7}M) голотурин из *Holothuria grisea* и гликозиды из *Cucumaria japonica* вызывают снижение активности Ca^{2+} -АТФазы без заметного изменения проницаемости мембран. Начиная с концентрации $5 \times 10^{-6}\text{M}$ происходит резкое увеличение проницаемости мембран клеток саркоплазматического ретикулума для ионов Ca^{2+} , а при концентрациях выше 10^{-5}M наблюдается выход Ca^{2+} и из липосом. Авторы считают, что снижение АТФазной активности связано с взаимодействием гликозидов либо с белковыми компонентами мембран саркоплазматического ретикулума, либо с близлежащими к АТФазе липидами. При более высоких концентрациях преобладает действие гликозидов на липидную фазу мембран, приводящее к увеличению проницаемости.

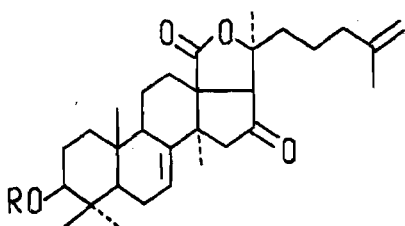
И. Китагава (Kitagawa, 1988) приводит данные о том, что тритерпеновые гликозиды голотурий вызывают сокращение гладкой мускулатуры морской свинки, аорты кролика и полового члена морской свинки, связывая это с увеличением проницаемости соответствующих мембран для внешнего Ca^{2+} . Показано также, что эхинозиды А (121) и В (115) и голотурины А (119) и В (121) стимулируют пассивный транспорт Ca^{2+} из везикул сердечной сарколеммы (Yamasaki et al., 1987).

Ингибирование Na^+ , K^+ -АТФазы мозга крыс

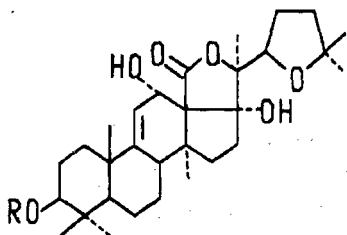
Ингибирование Na^+ , K^+ -АТФазы мозга крыс тритерпеновыми гликозидами голотурий подробно исследовалось сотрудниками ТИБОХ ДВО РАН (Gorshkov et al., 1982; Gorshkova et al., 1989a,b). Как показали их исследования, гликозиды ингибируют Na^+ , K^+ -АТФазу, и Mg^{2+} -АТФазу мозга крыс *in vitro* (Gorshkov et al., 1982). Были изучены физико-химические характеристики взаимодействия мембранных препаратов АТФазы с тритерпеновыми гликозидами голотурий. Рентгеноструктурный анализ показал, что тритерпеновые гликозиды, а именно голотурин А₂ (121) и астихопозид С (стихлорозид С₂) (146), образуют комплексы с мембранным холестерином. Используя электронную

микроскопию, Горшкова и соавторы обнаружили уменьшение размера везикул нервных мембран, содержащих АТФазу из мозга крысы, при действии тритерпеновых гликозидов. Полуширина сигнала фосфатидилхолинового N-метильного протона в спектре ^1H ЯМР в присутствии гликозида не менялась. С помощью флюоресцентных зондов было установлено изменение при обработке тритерпеновыми гликозидами конформации встроенной в мембрану Na^+, K^+ -АТФазы, а также увеличение микровязкости мембраны.

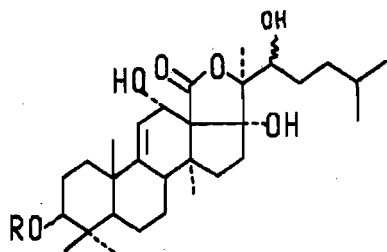
Таким образом, механизм ингибирования активности ферментов связан со способностью гликозидов образовывать комплексы с холестерином в липидном окружении АТФазы, что приводит к изменению конформации соответствующих белков (Gorshkova et al., 1989b). Авторами изучалась зависимость степени ингибирования Na^+, K^+ -АТФазы от структуры тритерпеновых гликозидов при концентрации гликозидов 10^{-4} М. Исследованные гликозиды - бивиттозиды А (135) и В (136), голотурины А (119) и А₂ (121), кукумариозиды А₂-2 (156) и G₁ (179), стихопозид С (144), астихопозид С (146), теленотозид А (140), а также голо-



156. R=[3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)]-[Xyl-(1→2)]-Quin-(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl



119. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl



120. R=3-O-Me-Glc-(1→3)-Glc-(1→4)-Quin-(1→2)-4-OSO₃Na-Xyl

токсины A₁ (150) и B₁ (151) ингибировали Na⁺,K⁺-АТФазную активность на 40 - 60 %.

Не содержащие хиновозу в качестве второго моносахаридного остатка стихопозиды D (145) и E (148), а также теленотозид B (141) обладали более слабым действием, ингибируя активность фермента на 19 - 27 %. Голотурин A₁(120) из *Holothuria floridana*, содержащий гидроксильную группу в боковой цепи агликона, ингибировал активность АТФазы только на 16%. По-видимому, отсутствие хиновозы в качестве второго моносахаридного остатка или наличие дополнительной гидроксильной группы в боковой цепи агликона голотурина A₁ несколько затрудняет проникновение соответствующих гликозидов в мембрану и, как следствие, ослабляет действие гликозида на АТФазу. Данные об ингибировании Na⁺,K⁺-АТФазной активности эхинозидом А (голотурин A₂) (121) и его производными приводит И. Китагава (Kitagawa et al., 1985). Согласно этим результатам отсутствие сульфатной группы и уменьшение количества моносахаридных звеньев до двух резко снижают активность, что отчасти противоречит данным сотрудников ТИБОХ (Gorshkov et al., 1982; Gorshkova et al., 1989a).

Контрацептивная активность

В опытах на крысах показано, что сумма голотоксинов A₁ и B₁ в отличие от голотурина А (119) обладает контрацептивным действием при подкожном введении в дозах 0,1 и 1 мг/кг, предупреждая беременность в 50 и 28 % случаев соответственно (Мац и др., 1990).

Иммунотомодулирующие свойства

Действие гликозидов голотурий при их введении в организм в низких концентрациях, представляет большой научный и прикладной интерес. Так, известно, что сумма гликозидов из *Actinopyga agassizi* в опытах *in vitro* в концентрациях 0,1 - 6,0 мкг/мл оказывает стимулирующее действие на миграцию лейкоцитов, а в концентрации 4 - 100 мкг/мл стимулирует фагоцитоз *Staphylococcus aureus* лейкоцитами крови человека (Lasley, Nigrelli, 1970). Сырой голотурин из *A. agassizi* стимулировал гемопоэз в костном мозге лягушки (Nigrelli, Jakowska, 1960). Показано, что сырой кукумариозид из *Cuscutaria japonica* в минимальной иммуномодулирующей дозе (0,05 мкг/кг) вызывает задержку митоза клеток печени крысы на 28 и 32 ч после гепатэктомии, а на 40 и 44 ч - компенсаторное усиление митотической активности (Турищев и др., 1991). Авторы этой работы полагают, что тритерпеновые гликозиды можно рассматривать как вещества, способные регулировать пролиферативные процессы.

А. М. Седов и соавторы (1984а) установили, что в дозах 0,4 - 40 мкг/мышь при внутрибрюшинном введении сырой кукумариозид из *Cuscutaria japonica* повышает устойчивость мышей к инфекции, вызываемой *Salmonella typhimurium*, причем после введения кукумариозида фагоцитарная активность клеток перитонеального экссудата мыши возрастает. Кукумариозиды из *C. japonica* оказывают выраженное адьювантное действие, вызывая увеличение количества антител при действии корпускулярной коклюшной вакцины, а также усиливают защитное действие вакцины (Седов и др., 1984б). Этими же исследователями установлено, что кукумариозид оказывает неспецифическое протективное антибактериальное действие по отношению к целому ряду грамотрицательных микроорганизмов - как типичных представителей энтеробактерий родов *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*, так и грамотрицательных кокков рода *Neisseria* (Седов и др., 1990). Кукумариозид обладает лечебным действием на мышей в случае приобретенного иммунодефицита, вызванного радиационным облучением (Гришин и др., 1990).

По данным испанских исследователей (Rodriguez et al., 1991), голотуринозиды из *Holothuria forskali* обладают некоторым антивирусным действием (20% ингибирования цитопатического эффекта, вызываемого вирусом везикулярного стоматита в культуре клеток в концентрации 20 мкг/мл).

Кукумариозиды из *S. japonica* также обладают противовирусным действием (Гришин и др., 1991; Grishin et al., 1991). Так, кукумариозид оказывал лечебное действие на норок, зараженных вирусом алеутской болезни (Гришин и др., 1991). Авторы полагают, что наблюдаемый эффект кукумариозида обусловливается двумя механизмами. Во-первых, усиливается взаимодействие Т- и В-лимфоцитов и гуморальный иммунный ответ у животных, стимулируется пролиферация стволовых клеток. Другой возможный механизм - противовирусная защита на стадии взаимодействия вирус - клетка. Реализация такого способа защиты подтверждается опытами по ингибированию кукумариозидами цитопатического эффекта, вызываемого вирусами везикулярного стоматита, полиомиелита и другими в культуре клеток (Grishin et al., 1991). Кукумариозид А₂-2 (156) действовал в значительно меньшей дозе, чем кукумариозид А₄-2 (159), а кукумариозид G₁ (179) из *Eupentacta fraudatrix* был вообще неактивен в этом биологическом тесте. Данные по иммуномодулирующему действию гликозидов из *S. japonica* могут представлять значительную практическую ценность, поскольку сумма кукумариозидов этой голотурии не обладает мутагенной активностью (Поликарпова и др., 1990) и разрешена к практическому применению в ветеринарии.

5.2. Биологическая роль гликозидов

5.2.1. Устойчивость клеточных мембран голотурий к действию собственных тритерпеновых гликозидов

Вопрос о биологической роли гликозидов отчасти связан с вопросом об устойчивости клеток голотурий к эндотоксинам -

тритерпеновым гликозидам, обладающим сильным мембранолитическим действием. Клеточные мембраны голотурий устойчивы к действию как собственных тритерпеновых гликозидов, так и гликозидов растительного происхождения. Для *Apostichopus japonicus* показано, что ооциты, неоплодотворенные яйцеклетки, а также эмбрионы на 40-часовой стадии развития нечувствительны к действию голотоксина A_1 в концентрациях свыше 100 мкг/мл (Анисимов и др., 1983б; Аминин и др., 1986), а также к действию тритерпеновых и стероидных гликозидов растительного происхождения (Аминин и др., 1986). Устойчивость клеток голотурий к действию эндотоксинов связывают с низким содержанием свободных стероидов в липидах мембран и наличием Δ^7 -стероидов вместо Δ^5 -стероидов, а также присутствием сульфатированных и гликозилированных стероидов (Kalinovskaya et al., 1983b; Stonik, Elyakov, 1988a). Цитотоксическая активность голотоксина A_1 в отношении раннего эмбриона морских ежей нейтрализуется в значительно меньшей степени Δ^7 -стеринами, β -ксилозидами Δ^7 -стероидов, чем холестерином, а сульфаты Δ^5 -стероидов не влияют на нее вообще (Анисимов и др., 1983б). Следовательно, стероидные компоненты липидных мембран голотурий действительно слабо взаимодействуют с тритерпеновыми гликозидами. Липосомальные мембраны с Δ^7 -стеринами, β -ксилозидами Δ^7 -стероидов и сульфатированными Δ^5 -стеринами также были более устойчивы к голотоксину A_1 , чем мембраны, содержащие холестерин (Анисимов и др., 1983б; Попов и др., 1983; Kalinovskaya et al., 1983b). Аналогичная зависимость наблюдалась и в отношении опухолевых клеток (Попов и др., 1983). Установлено, что голотоксин A_1 резко увеличивает ионную проницаемость модельных липидных бислоев, содержащих холестерин, и мало эффективен в отношении бислоевых липидных мембран, содержащих Δ^7 -стерины, β -

ксилозиды Δ^7 -стеринов и сульфатированные Δ^5 -стерины (Аминин и др., 1990в). В состав мембран некоторых голотурий входят необычные стерины, содержащие 9(11)-двойную связь и дополнительные метильные группы в стероидном ядре (Калиновская и др., 1984). Бислойные липидные мембраны, содержащие такие стерины, а именно 14 α -метилхолест-9(11)-ен-3 β -ол и 4 α ,14 α -диметилхолест-9(11)-ен-3 β -ол, выделенные из *Eupentacta fraudatrix*, резистентны к действию кукумариозида G₁ из той же голотурии (Аминин и др., 1990в).

Таким образом, резистентность клеточных мембран голотурий к действию эндотоксинов (тритерпеновых гликозидов) связана с химической природой мембранных стероидных компонентов.

5.2.2. Регуляция размножения - внутренняя функция гликозидов голотурий

Изменение в содержании тритерпеновых гликозидов в различных тканях голотурий в зависимости как от сезона, так и от возраста животных позволяло предположить участие гликозидов в регуляции размножения. Так, японские исследователи (Matsuno, Ishida, 1969) показали, что содержание гликозидов, которое они оценивали по гемолитическому индексу, в стенках тела *Holothuria leucospilota* постбоянно в различные сезоны года, в то время как в гонадах самок оно достигало наивысшего уровня в августе и резко падало перед началом нереста в сентябре. Сходным образом, хотя и менее резко менялось содержание гликозидов в кювьеровых органах. Эти же авторы обнаружили подобную зависимость содержания гликозидов от сезона в гонадах самок *Apostichopus japonicus* (Matsuno et al., 1973). В. С. Левин и В. А. Стоник (1976) установили, что содержание гликозидов в стенках тела *Eupentacta fraudatrix* не меняется в различные сезоны; в то же время с декабря по май содержание гликозидов в гонадах значительно уменьшается. Количество гликозидов в начальный период роста голотурий, до достижения

половозрелости, увеличивается, а при дальнейшем росте почти не меняется. Д. Л. Аминин и М. М. Анисимов (1987) также показали, что содержание гликозидов в гонадах самок *A. japonicus* резко увеличивается в период, предшествующий нересту. Причем при инкубации фрагментов гонад в присутствии различных концентраций гликозидов, не происходит “спонтанного” созревания ооцитов. Было найдено, что созревание ооцитов *A. japonicus* регулируется наличием Ca^{2+} . Голотоксин A_1 блокировал как накопление Ca^{2+} в ооцитах, так и созревание ооцитов (Аминин, Анисимов 1990а). Голотоксин A_1 увеличивал микровязкость модельных липосомальных мембран, содержащих Δ^7 -стерины, β -ксилозиды Δ^7 -стеринов и сульфаты Δ^5 -стеринов, а также теней ооцитов (Аминин и др., 1989). Д. Л. Аминин с соавторами показали на модельных бислойных липидных мембранах, составленных из фосфолипидов *A. japonicus*, что липиды голотурий содержат собственный кальциевый ионофор, ингибируемый голотоксином A_1 , причем это ингибирование связано с увеличением микровязкости мембран (Аминин и др., 1990б).

Таким образом, гликозиды голотурий играют важную роль в регуляции размножения голотурий, синхронизируя процессы созревания ооцитов (Аминин, Анисимов, 1992).

У голотурий известно своеобразное нерестовое поведение, названное В. Н. Беклемишевым псевдокопуляцией; оно документально прослежено, например, у *Apostichopus japonicus* (Левин, 1982). Учитывая отмеченную у ряда видов голотурий повышенную концентрацию гликозидов в гонадах в период, непосредственно предшествующий нересту, вполне допустима возможность выделения их в воду и осуществления ими сигнальной функции для агрегирования особей. Заметим, что у морских ежей, у которых гликозиды отсутствуют, хотя и происходит синхронизация нереста у особей на одном участке, однако сближения, тем более попарного, нерестующихся особей не отмечалось. Следует подчеркнуть, что эту возможную функцию гликозидов нельзя считать внутренней, она скорее “внутривидовая”.

5.2.3. Внешние функции тритерпеновых гликозидов голотурий

Сильное мембранотропное действие и высокая гидрофильность большинства тритерпеновых гликозидов голотурий, связанная с наличием моносахаридных остатков, сульфатных групп, а также кислородных функций в агликоне, позволяют предположить, что эти вещества играют какую-то важную для организмов-продуцентов “внешнюю” роль. Действительно, высокая ихтиотоксическая активность, связанная с повреждением жаберных капилляров хищных рыб, известна для тритерпеновых гликозидов голотурий с самого начала их изучения (см. разд. 5.2). Дж. Бакус, последовательно развивающий гипотезу экологической обусловленности возникновения токсичности тропических морских беспозвоночных (Bakus, 1968, 1970, 1981), связывает эволюцию гликозидов голотурий с защитным действием против хищных рыб. Некоторые голотурии сем. *Holothuriidae* при нападении хищника выбрасывают через анальное отверстие клейкие трубчатые образования - кювьеровы органы, которые содержат экстремально высокие количества токсичных тритерпеновых гликозидов - до 10 - 20% от сухой массы (Elyakov et al., 1973), что, безусловно, может привести к гибели, или, по крайней мере, к отпугиванию хищника.

Вопрос о биологической роли гликозидов голотурий достаточно сложен. Против упрощенной трактовки защитной функции гликозидов и, соответственно, кювьеровых органов можно выдвинуть ряд возражений (Левин, 1989а). К ним относятся следующие:

1. В конце 50-х годов, сразу после обнаружения в кювьеровых органах голотурии *Actinopyga agassizi* “голотурина”, К. Мошер (Mosher, 1956) убедительно показала, что токсичность этой голотурии для рыб не снижается и после удаления у нее кювьеровых органов. Основная масса этих структур - соединительная ткань, каких-либо железистых клеток в них не найдено (Mosher, 1956; Endean, 1957). Гликозиды содержатся практически во всех тканях голотурий, а в некоторых тканях в определенный сезон их со-

держание не ниже, чем в кювьеровых органах. Ряд весьма токсичных видов (например, *Holothuria atra*, используемая аборигенами для "глушения" рыбы в лагунах атоллов) лишен кювьеровых органов.

2. Далеко не у всех видов голотурий кювьеровы органы обладают способностью выбрасываться при раздражении. Наиболее хорошо функционально развиты они у *Bohadschia* и некоторых *Holothuria*. У представителей морфологически и экологически близкого к *Bohadschia* рода *Actinopurga* кювьеровы органы разряжаются только при очень сильном раздражении животного. У *Pearsonothuria graeffei* кювьеровы органы не выбрасываются при любых, даже травмирующих раздражениях. Не выбрасывают кювьеровы органы и некоторые *Holothuria* s. l., например, недавно описанная гигантская *H. thomasi* (Pawson, Caycedo, 1980). У некоторых видов, например *A. agassizi*, поверхность выброшенных кювьеровых органов не обладает клеящей способностью.

3. Как показывают наблюдения одного из авторов над почти 40 видами голотурий в различных районах Тихого и Индийского океанов и на Кубе, после разрядки кювьеровых органов выбросившая их голотурия никуда не уплывает и остается на месте по крайней мере несколько часов, а в некоторых случаях и не менее суток.

4. Зарегистрированы случаи, когда функционально деятельные кювьеровы органы не выбрасываются именно в ситуациях, когда, казалось бы, потребность в защитном оружии максимальна. Так, при нападении специализированного хищника *Tonna perdx* на *H. hilla* никакой разрядки хорошо развитых у этого вида кювьеровых органов не происходило, хотя нападение заканчивалось гибелью голотурии (Kropp, 1982). У *H. difficilis*, которая днем укрывается под коралловыми глыбами и появляется на поверхности только ночью, именно ночью не удастся экспериментально вызвать разрядку кювьеровых органов, что легко удастся днем (Вакус, 1968).

5. Известны многочисленные случаи поедания голотурий морскими звездами и гастроподами родов *Tonna* и *Charonia*.

6. Многие голотурии, обладающие токсичными гликозидами, ведут закапывающийся образ жизни и практически вообще не сталкиваются с рыбами.

7. Наконец сама методика определения токсичности, используемая Бакусом (Bakus, 1968, 1981; и др.) (добавление в сосуд с рыбами этанольных экстрактов тканей и кормление рыб кусочками тканей) не позволяет получить прямую информацию об обусловленности токсичности присутствием гликозидов.

В то же время эти данные можно более или менее рационально объяснить и с точки зрения о защитной функции как гликозидов, так и кювьеровых органов. Разберем возражения против защитной роли в порядке от менее значимых к более значимым.

Действительно, эксперименты Бакуса не дают прямой информации о связи ихтиотоксичности тканей и этанольных экстрактов голотурий с содержанием в них тритерпеновых гликозидов. Однако в голотуриях, хотя их химия изучалась достаточно интенсивно, до сих пор не найдено каких-либо других сильных ихтиотоксинов. В то же время известно о широкой распространенности и высоком содержании тритерпеновых гликозидов у большинства голотурий экосистем коралловых рифов. Следовательно, результаты Бакуса достаточно корректно связывать именно с наличием тритерпеновых гликозидов.

То, что токсичность *A. agassizi* существенно не снижается после выбрасывания кювьеровых органов можно объяснить тем, что хотя содержание гликозидов в кювьеровых органах примерно в два - три раза выше, чем в других органах и тканях голотурии, однако общая масса этих структур значительно ниже, чем остальных органов и тканей. Отсутствие в кювьеровых органах каких-либо железистых клеток и наличие гликозидов в голотуриях, не имеющих кювьеровых органов, свидетельствует о том, что, по-видимому, эти органы не отвечают за выработку токсичных гликозидов. Однако это не противоречит сведениям о возможности накопления этими органами гликозидов, которые являются достаточно стабильными веществами.

После выбрасывания кювьеровых органов голотуриям нет особой нужды покидать место контакта с хищником, поскольку

гликозиды, из-за своего токсического и раздражающего действия на органы дыхания, должны вызвать у него "реакцию избегания". Кроме того, в тканях голотурий, выбросивших кювьеровы органы, остается еще достаточное количество гликозидов, чтобы причинить значительный вред хищнику.

Причины, обуславливающие возможность поедания голотурий морскими звездами, совершенно очевидны - эти животные содержат подобно голотуриям Δ^7 -, а не Δ^5 -стерины, а также сульфатированные Δ^5 -стерины, что делает их клеточные мембраны резистентными к действию тритерпеновых гликозидов голотурий (Stonik, Elyakov, 1988a). Поедание голотурий некоторыми брюхоногими моллюсками можно объяснить тем, что гастроподы обладают высокоактивными ферментами карбогидразами, и за счет этого некоторые из них вполне могут нейтрализовать токсическое действие гликозидов голотурий, расщепляя их углеводные цепи с помощью карбогидраз (Elyakova, 1972; Sova et al., 1970). Отдельные факты поедания голотурий рыбами можно объяснить значительными сезонными вариациями в содержании гликозидов в голотуриях-жертвах, как следствие, резкими колебаниями их концентрации в воде и, соответственно, в отпугивающем действии. При пероральном введении токсичность гликозидов значительно снижается, а небольшие их количества не могут в этом случае нанести хищнику какой-либо вред. Специализированные хищники могли приобрести резистентность к гликозидам. Не чувствительны, например, к токсическому действию гликозидов некоторые виды рыб (сем. *Carapidae*), обитающие в полости тела голотурий; более того, на этих рыб гликозиды оказывают привлекающее действие.

Многочисленные отклонения от "нормального" функционирования кювьеровых органов и даже полное их отсутствие в некоторых *Holothuriidae*, можно, по-видимому, связать с химическими "отклонениями". Действительно, гликозиды голотурий рода *Bohadschia*, содержащие развитые и легко выбираемые кювьеровы органы, обладают наименее окисленными агликонами по сравнению с гликозидами остальных представителей сем. *Holothuriidae* (Калинин и др., 1990; Левин и др., 1985;

Stonik, Elyakov, 1988b; Kobayashi et al., 1991a). Кроме того, гликозиды представителей этого рода не содержат сульфатной группы. В то же время гликозиды *Holothuria*, *Pearsonothuria* и *Actinopurga* имеют дополнительные кислородные функции в агликоне и сульфатную группу в углеводной цепи, что приводит к более высокой гидрофильности и, следовательно, более высокой скорости выхода этих веществ в воду. Концентрация гликозидов, создаваемая вокруг животных, в таком случае должна быть достаточно заметна и без выброса кювьеровых органов (Калинин, 1992). Экстремально высокое содержание гликозидов в стенках тела *Holothuriidae*, в сотни раз превышающее нормальные физиологические концентрации других метаболитов, большая гидрофильность и сильное мембранотропное действие в очень низких концентрациях однозначно свидетельствует об их эффективном отпугивающем действии, по крайней мере на расстояниях в несколько сантиметров от поверхности тела этих голотурий. Следует также иметь в виду, что защитный эффект не обязательно означает действие, вызывающее гибель хищника; более того, он включает не только токсическую компоненту, но часто и пищевое детеррентное воздействие на хищников (для наземных тритерпеновых гликозидов такое воздействие на растительноядных животных хорошо известно). Возвращаясь к возможной защитной роли кювьеровых органов, можно вспомнить, что случаи утраты весьма развитых систем химической обороны и нападения достаточно широко известны в природе. Многие змеи, например, утратили ядовитые железы. Известно также, что в отдельных случаях при наличии таких желез зарастание протоков в ядовитых зубах змей делает невозможным использование ими ядов, хотя соответствующие железы в этих животных вполне развиты.

Наиболее трудно поддается интерпретации наличие больших количеств высокоактивных гликозидов в ведущих скрытый образ жизни или закапывающихся видах голотурий семейства *Holothuriidae*. Здесь можно предположить, что наличие этих токсичных веществ дает некоторые селективные преимущества голотуриям в тех относительно редких ситуациях, когда им

приходится на короткое время покидать свои убежища или появляться на поверхности. Кроме того, и само закапывание может быть связано не только с необходимостью защиты от специализированных хищников, резистентных к гликозидам, но и с особенностями питания голотурий. Недостаток сведений об образе жизни и деталях филогенеза этих видов не позволяет пока сделать более определенные выводы.

Гликозиды голотурий, таким образом, являются мощным защитным средством против разного рода хищников, хотя эффективность его, как и любого защитного механизма, имеет существенные ограничения.

Гликозиды голотурий могут угнетать развитие личинок морских организмов, содержащих холестерин в клеточных мембранах, в частности эмбрионов морских ежей (см. раздел 5.2). Морские ежи и голотурии занимают разные экологические ниши и не являются конкурентами, поэтому вряд ли можно говорить о специфической функции гликозидов, заключающейся в подавлении их развития (Левин, 1989а). В то же время эмбрионы морских ежей в лабораторных условиях могут служить хорошей моделью для изучения аллелопатического действия тритерпеновых гликозидов голотурий. Недавно подобное действие гликозидов *Cucumaria echinata* в отношении двустворчатых моллюсков было описано японскими авторами (Miyamoto et al., 1989).

Гликозиды голотурий несомненно играют важную роль в защите поверхности этих животных от посторонних организмов. Так, поверхность тела большинства малоподвижных голотурий не заселяется какими-либо обрастателями, в то время как покрытые известковым панцирем и имеющие относительно малотоксичные гликозиды голотурии рода *Psolus* часто бывают покрыты водорослями, губками и другими обрастателями (Левин, 1989а).

Высокая антифунгальная активность гликозидов голотурий позволяет предположить их возможное защитное действие против разного рода грибов.

Голотурии достоверно известны со среднего ордовика. Первые же рыбы появились в силуре, спустя 80 - 100 млн лет. Именно

этим можно объяснить малотоксичность некоторых, наиболее древних гликозидов, более позднее возникновение высокоактивных голостановых производных и даже примерно датировать переход к соединениям, имеющим голостановый агликон. По современным представлениям (Уголев, 1987), в процессе биохимического и функционального филогенеза может происходить изменение значимости тех или иных функциональных эффектов. При этом, если какое-либо химическое соединение выполняет и внешние для организма, и внутренние функции, то первичными будут последние. По видимому, в процессе эволюции произошло расширение функций тритерпеновых гликозидов, которые первоначально выполняли лишь регуляторную функцию для организма-продуцента, а разного рода внешние функции возникли вторично, как эволюционный ответ на выедание голотурий хищниками (Калинин и др., 1990).

5.3. Некоторые выводы

Тритерпеновые гликозиды голотурий оказывают сильное мембранотропное действие на любые клеточные и модельные мембраны, содержащие Δ^5 -стерины. Этим объясняется широкий спектр их биологического действия. Так, в основе гемолитической, антифунгальной, противоопухолевой активности, а также действия на ранний эмбриогенез морского ежа лежит образование комплекса с холестерином мембран клеток-мишеней, образование одиночных ионных каналов и более крупных пор, а также нарушение мембранной проницаемости. Выход из клеток ионов, аминокислот и веществ нуклеотидного пула приводит к нарушениям в клеточном метаболизме, остановке деления клеток и их гибели.

Для мембранотропного действия тритерпеновых гликозидов голотурий важно наличие в ланостановом агликоне 18(20)-лактона и хотя бы одной кислородной функции в непосредственной близости от него (при С-23, С-22, С-16 или С-12). В углеводных цепях определяющим является линейный тетрасахаридный

фрагмент, причем наиболее активны гликозиды, содержащие хиновозу в качестве второго моносахаридного остатка. Сульфатная группа при С-4 первого ксилозного остатка для гликозидов, содержащих линейный тетрасахаридный фрагмент, не оказывает существенного влияния на активность, тогда как для биоидов отсутствие такой сульфатной группы при С-4 снижает мембранотропное действие более чем на порядок. Сульфатные группы, присоединенные к С-6 остатков глюкоз и 3-О-метилглюкоз, существенно снижают активность.

Ингибирование мембранных ферментов тритерпеновыми гликозидами связано с модифицирующим действием последних на структурную организацию биомембран и во многом также зависит от образования комплексов с холестерином. Внутренняя, регуляторная функция гликозидов - ингибирование созревания ооцитов организма-продуцента - также связана с модифицирующим действием гликозидов на мембраны яйцеклеток, хотя отсутствие или очень низкое содержание в них Δ^5 -стеринов предполагает несколько иную природу такой модификации.

Данные по биологической активности тритерпеновых гликозидов, приведенные в этой главе, а также физические свойства этих веществ однозначно свидетельствуют об их важной внешней защитной функции для организмов-продуцентов, причем эта функция должна коррелировать с мембранотропным действием гликозидов на модельные биологические тест-системы.

В фармакологическом плане наиболее интересно иммуномодулирующее действие гликозидов голотурий в сверхнизких концентрациях. Можно предположить, что такое действие связано с очень слабым, но в то же время специфическим модифицирующим действием на мембраны соответствующих клеток-мишеней.

Таким образом, в основе широкого спектра биологической активности тритерпеновых гликозидов голотурий, а также их биологической роли лежит способность различным образом модифицировать структурную организацию клеточных мембран (Анисимов, 1987).

6. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КОНЦЕПЦИИ И ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ЭВОЛЮЦИИ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ГОЛОТУРИЙ И ИХ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОТНОШЕНИЙ

6.1. Общие соображения

Проблема соотношения структуры и функции является одной из центральных в биоорганической химии. На анатомическом уровне накоплен большой опыт морфофункционального анализа. Применение морфологических концепций на молекулярном уровне позволяет лучше понять динамику эволюции функций биологически активных веществ, выявить ее движущие силы и пути, а главное - не решать заново уже решенные на анатомическом уровне проблемы.

Морфологами-анатомами показана неоднозначность связи между формой и функцией, наличие сложной иерархии их взаимоотношений, что придает организмам большую эволюционную пластичность. Принято различать функцию морфологической структуры, то есть ее специфическое действие (активность), и ее адаптивную роль, которые часто могут не совпадать (Иорданский, 1990). В то же время ряд авторов полагают, что на молекулярном уровне форма и функция как бы сливаются, "совпадают" (Бляхер, 1962). Однако известно, что многие вторичные метаболиты мультифункциональны. Так, мембранолитическое действие тритерпеновых гликозидов голотурий может приводить: 1) к разрушению жабр хищных рыб; 2) к невозможности заселения поверхности тела организмов-продуцентов микроорганизмами и прикрепляющимися животными; 3) к аллелопатическому действию против пищевых конкурентов (см. раздел 5.4). Во всех этих случаях один и тот же эффект - мембра-

нолитическое действие - выполняет множественную адаптивную роль. Более того, сходный адаптивный эффект могут давать совершенно различные химические структуры, и в этом случае также проявляется известная морфологам неоднозначность структурно-функциональных отношений. Тритерпеновые гликозиды голотурий, имеющие, например, различные варианты строения агликона и углеводной цепи, часто обладают очень близкими значениями биологической активности (см. соответствующие таблицы главы 5). Весьма сходную активность демонстрируют и стероидные гликозиды (сапонины) из морских звезд. Многочисленные примеры подобных явлений приводит О. Готтлиб (Gottlieb, 1982).

Более того, известны случаи, когда одну и ту же активность проявляют метаболиты, совершенно различные по биогенезу и продуцируемые в организмах, относящихся к весьма далеким друг от друга таксономическим группам. В частности, приблизительно такой же активностью, как и тритерпеновые гликозиды голотурий, обладают и полиеновые антибиотики. Эти соединения продуцируются микроорганизмами, а их биологическая активность также связана с взаимодействием с мембранными стеринами с последующим образованием комплексов и нарушениями мембранной проницаемости.

Кроме того, изменение микровязкости мембран клеток-мишеней, не содержащих значительные количества Δ^5 -стеринов, под действием тритерпеновых гликозидов голотурий ведет к ингибированию Ca^{2+} -транспорта через мембраны ооцитов и, как следствие, тормозит их созревание. В этом случае мультифункциональность связана с разными физико-химическими эффектами одной и той же группы веществ, а не только с изменениями их адаптивной роли. Таким образом, биологические проблемы, проявляющиеся на высоких уровнях организации живого, существуют и на молекулярном уровне. И

поэтому биохимические данные, в том числе и данные геносистематики, нельзя противопоставлять данным анатомии, палеонтологии и т. д.

6.2. Холистский или системно-теоретический подход к описанию структурно-функциональных отношений тритерпеновых гликозидов голотурий

Реальная картина соотношений между различными структурными и функциональными характеристиками любой живой системы бывает достаточно сложной. Для ее описания в сравнительной анатомии наиболее перспективен холистский, или системно-теоретический подход, развиваемый школой Ван-дер-Клааува - Дуллемеяера (Dullemeijer, 1974, 1980).

Ван-дер-Клааув (Van Der Klaauw, 1945) предложил подразделять морфофункциональные комплексы живых организмов на функциональные компоненты. По его определению функциональным компонентом является любая группа морфологических элементов, обеспечивающая одну функцию. Термин "элемент" используется для каждой части, которая легко может быть выделена без необходимости использования критерия функции, системы или ткани. Он используется как нейтральный термин для обозначения любой части организма на любом уровне его организации. Графически морфофункциональный комплекс представляют в виде сетевой диаграммы, где различными типами отношений связывают структурные элементы и активности. При этом разные функциональные компоненты часто перекрываются своими структурными элементами и, кроме того, функциональные компоненты могут связываться напрямую, если один тип активности непосредственно вытекает из другого. Классическим примером такой диаграммы служит схема морфофункциональных отношений головы гадюки (Dullemeijer, 1974). Наличие функциональных связей (обозначаемых стрелками) доказывают, делая соответствующие элементы нефункциональными, а результаты такого мысленного эксперимента сравнивают затем с

экспериментальными данными. Связи, наиболее важные для проявления какой-либо активности, выделяют жирными линиями. Компоненты или элементы, которые являются наиболее важными для выполнения какой-либо функции и часто определяют строение других, называют доминантными. Доминантные элементы, как правило, структурно обособлены и образуют так называемый центр реализации. Подчиненные элементы и компоненты составляют так называемую функциональную периферию.

Легко представить, что общий вид диаграммы во многом будет определяться способом выделения соответствующих "активностей" и "элементов". Такое выделение всегда несколько произвольно, но в любом случае ее построение более наглядно демонстрирует обычно достаточно сложную картину отношений структура-функция.

Построим диаграмму гипотетических взаимоотношений функциональных компонентов и структурных элементов для тритерпенового гликозида из голотурий сем. *Holothuriidae* - голотурина A_2 (121) (см. схему 6.1). В качестве образца используем диаграмму взаимосвязи морфологических и функциональных показателей разных уровней структурной организации скелетно-мышечного комплекса, составленную Н. Н. Иорданским (1990).

В левой части схемы изображены в виде блоков структурные элементы гликозида, соединенные химическими связями, опорными для этих блоков. Опорные связи, обозначенные стрелками с треугольной вершиной, направлены к блокам, на которые "опираются" другие блоки. Блоки, оказавшиеся между другими блоками, например первый, второй и третий моносахаридные звенья углеводной цепи, не только служат для них "опорами", но и сами "опираются" на эти блоки (в этих случаях, стрелкам придана двойная направленность). В правой части диаграммы отображены дискретные активности, которые связаны со структурными элементами их определяющими. Направления стрелок, показывающих связи между структурными элементами и активностями, также сделаны двойными, поскольку необходимо показать, с одной стороны, вклад структурного элемента в соответствующую активность, а с другой - функциональный "запрос", эволюционно детерминирующий этот структурный эле-

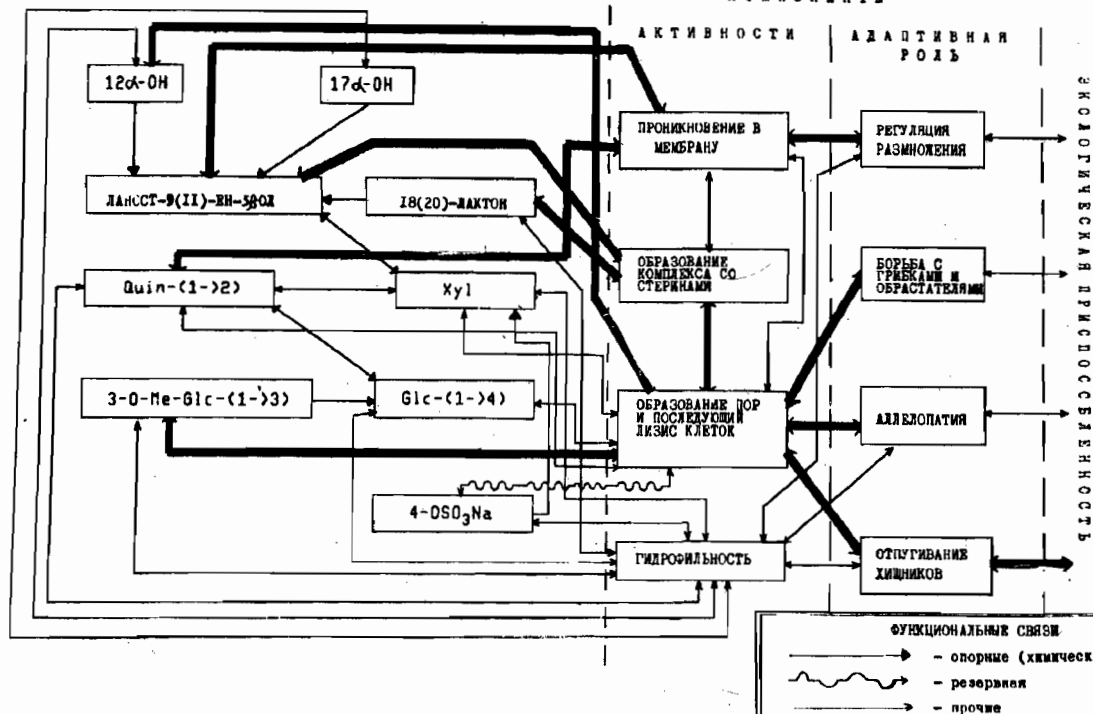


Схема 6.1. Диаграмма гипотетических взаимоотношений функциональных компонентов и структурных элементов для тритерпенового гликозида из голотурий сем. *Holothuriidae* - голотурина A_2 (121)

мент. Эти активности связаны также с соответствующими биологическими или адаптивными ролями, а они, в свою очередь, уже определяют вклад гликозида в экологическую приспособленность организма-продуцента.

Как упоминалось в разделе 5.3, внутренней функцией тритерпеновых гликозидов голотурий, по-видимому, является ингибирование созревания ооцитов, что связано с увеличением микровязкости мембран ооцитов под действием гликозида, вызывающего ингибирование транспорта Ca^{2+} . Биологический смысл подобного ингибирования, очевидно, заключается в синхронизации процессов нереста у голотурий и, таким образом, в регуляции размножения. Поскольку мембраны клеток голотурий практически не содержат Δ^5 -стеринов, образующих наиболее прочные комплексы с тритерпеновыми гликозидами, а содержание других типов свободных стеринов в этих мембранах крайне мало, логично предположить, что эта адаптивная роль связана не с комплексообразованием, а с модификацией структуры мембран ооцитов. Проникновение гликозида в мембрану ооцита зависит от гидрофобной части молекулы, то есть от ланостанового ядра агликона. Кроме того, более высокое мембранотропное действие гликозидов, содержащих хиновозу в качестве второго моносахаридного остатка, а не глюкозу или ксилозу, дает основание предположить важную роль хиновозного остатка в проникновении в мембрану клетки-мишени. Это отчасти подтверждается аналогичной зависимостью для ингибирования Na^+, K^+ -АТФазы мозга крыс (см. разд. 5.3). В последнем случае активность прямо не связана с образованием одиночных каналов или неселективных пор. Она зависит только от образования комплекса холестерина мембранного препарата АТФазы с изучаемым гликозидом, поэтому сходство в зависимости активности от структуры можно связать именно с проникновением гликозида в мембранный препарат. Таким образом, два структурных элемента - ланостановое ядро агликона и остаток хиновозы образуют функциональный компонент, определяющий проникновение гликозида в мембраны клеток-мишеней. Он также частично совпадает с компонентом "регуляция размножения". Для быстрого

снятия ингибирования транспорта Ca^{2+} регулятор должен обладать некоторой гидрофильностью. Поэтому блок “регуляция размножения” соединен с функциональным компонентом, определяющим гидрофильность.

Принято считать, что наиболее экологически важными функциями являются те, выполнение которых требуется организму постоянно в “ежедневной жизни” (Wainwright, 1991). Поэтому адаптивная роль гликозидов голотурий, связанная с отпугиванием хищников, представляется наиболее важной для экологической приспособленности (соответствующее отношение показано жирной стрелкой). Для отпугивания хищников необходимо мембранотропное действие гликозидов на жаберные капилляры рыб, то есть образование в мембранах соответствующих клеток-мишеней одиночных селективных ионных каналов, а затем и неселективных пор большего размера при больших концентрациях гликозида и наконец при еще больших концентрациях гликозида - лизис этих мембран (функциональные компоненты “отпугивание хищников” и “образование каналов, пор, последующий лизис” соединены жирной стрелкой). Образование каналов и пор связано прежде всего с образованием комплекса гликозида со стеринами мембран (функциональные компоненты “образование каналов, пор, последующий лизис” и “образование комплекса со стеринами мембран” соединены жирной стрелкой). При достаточно больших концентрациях гликозида возможен лизис мембран и без образования комплекса со стеринами, а только за счет детергентных свойств (блоки “проникновение в мембрану” и “образование каналов, пор, последующий лизис” соединены стрелкой напрямую).

Образование комплекса со стеринами мембран, безусловно, требует проникновения гликозида в саму мембрану (соответствующие блоки соединены стрелкой). Образование комплекса, поскольку комплекс может образовывать не только гликозид, но и свободный агликон (Лихацкая и др., 1991), свяжем со структурными элементами, относящимися к агликонной части молекулы гликозида. Ланостановое ядро, а точнее его стереохимия, играет ведущую роль в этом комплексе, важным также является

наличие 18 (20)-лактона (эти функциональные связи выделены жирными стрелками). При образовании и функционировании каналов и пор большую роль играет углеводная цепь. Ее строение во многом определяет размеры и форму каналов и пор (Лихацкая и др., 1991), поэтому, все моносахаридные звенья связаны с блоком “образование каналов, пор, последующий лизис”.

Для функционирования канала критическое значение имеет наличие линейного тетрасахаридного фрагмента, который в случае голотурин A_2 и является собственно углеводной цепью. Действительно, как уже упоминалось в разделе 5.2, любые разветвленные тетраозиды, не говоря уже о триозидных, биозидных и монозидных производных, малоактивны. Чтобы показать особое значение линейного тетрасахаридного фрагмента соединительная стрелка от терминальной 3-О-метилглюкозы выделена жирной линией. 4-О-сульфатная группа, присоединенная к первому моносахаридному остатку (ксилозе), практически не влияет на мембранотропную активность. При десульфатировании активность подобных гликозидов не меняется, однако эта сульфатная группа обладает своеобразной компенсаторной или резервной функцией. Так, если “удалить” из молекулы голотурин A_2 два последних моносахаридных остатка, то активность полученного производного (ему соответствует существующий в природе голотурин B_1 (115)) снизится не слишком сильно. Но если десульфатировать голотурин B_1 или какой-либо иной биозид, то его активность либо уменьшится на порядок, либо исчезнет вообще (см. разд. 5.2). Таким образом сульфатная группа в голотурине B_1 в какой-то мере компенсирует отсутствие двух моносахаридов, если сравнивать активности голотуринов A_2 и B_1 между собой. Связь между этой сульфатной группой и блоком “образование каналов, пор, последующий лизис” обозначена волнистой линией, отражающей иной, “резервный” характер этой связи.

Примеры подобного резервирования функций широко известны в природе. Так, орнитологи отмечают, что в одном из парков города Вены долго жила пара птиц-инвалидов и даже в течение нескольких сезонов успешно выводила птенцов. У обеих птиц не хватало по одной ноге, но они использовали в качестве опоры, при

передвижении по земле, соответствующие оторванным ногам крылья (см. Кокшайский, 1980).

Наличие 12α -гидроксильной группы, а для других типов гликозидов - кислородных функций в положении 16 или 23, то есть в ближайшем соседстве с 18(20)-лактоном, также важно для мембранотропного действия. По-видимому, эти кислородные функции влияют на размеры и, как следствие, эффективность функционирования одиночных каналов или неселективных пор (Лихацкая и др., 1991). Соответствующая связь показана жирной линией.

Для того чтобы токсическое вещество могло отпугнуть хищника на расстоянии, оно должно обладать определенными транспортными свойствами, то есть высокой скоростью выхода в воду, в данном случае - гидрофильностью, а также стабильностью (стрелки, соединяющие функциональные компоненты "гидрофильность" и "отпугивание хищников"). На гидрофильность будут оказывать положительное действие все полярные структурные элементы: моносахариды, кислородные функции в агликоне, а также сульфат (соответствующие стрелки).

Аллелопатическое действие гликозидов голотурий связано с теми же функциональными компонентами, что и отпугивание хищников - "образование каналов, пор, последующий лизис" и "растворимость". Борьба с грибами и обрастателями связана только с блоком "образование каналов, пор, последующий лизис", поскольку транспортное действие здесь практически не требуется.

Исходя из рассмотренной сетевой диаграммы, отражающей систему структурно-функциональных отношений голотурина A_2 , гликозид является единым адаптивным комплексом, объединенным общими адаптивными ролями (по: Иорданский, 1986): основной (защита от хищников) и второстепенной (ингибирование созревания ооцитов). Схема показывает достаточно сложный, многовариантный характер действия естественного отбора на структурные характеристики гликозида, возможного только через вход в систему. Отбор оказывает "давление" не

на сами структурные элементы гликозида, а на адаптивные роли, те в свою очередь на активности, а они уже, причем самым различным образом, на структурные элементы. Иными словами более или менее сходные функциональные запросы на входе в систему могут реализовываться через самые разные функциональные пути (Иорданский, 1986), что видно на представленной выше схеме.

Доминантным функциональным компонентом в этой диаграмме является “защита от хищников”, остальные функциональные компоненты имеют подчиненное значение. Среди них в свою очередь доминантными будут “образование каналов, пор, последующий лизис” и “образование комплекса со стеринами мембран”. Какого-то “центра реализации” они практически не образуют, поскольку связаны как со многими структурными элементами, так и с функциональными компонентами слишком большим числом связей.

По-видимому, такой анализ будет наиболее результативен для биологически активных соединений высокой и средней молекулярной массы. Например, его можно применить к бактериальным белковым токсинам субъединичного строения, для которых к настоящему времени определены участки молекул, ответственные за связывание с клетками-мишенями, за образование каналов и др. (Naberghann, 1992). Для веществ с малой степенью перекрытия функциональных компонентов (к ним можно отнести не только высокомолекулярные токсины, но и ферменты, иммуноглобулины и др.) можно выделить своего рода “активные центры” или “центры реализации” по Дуллемеьеру. Низкомолекулярные и вторичные метаболиты из-за значительной степени перекрытия функциональных компонентов будут менее удобными объектами для применения такого подхода. Действительно, для многих соединений биологическая активность в значительной степени определяется не какими-то отдельными элементами, а общей геометрией молекул. Например, анемотоксины обладают многоцентровым механизмом токсического действия (Mahnir, Kozlovskaya, 1991).

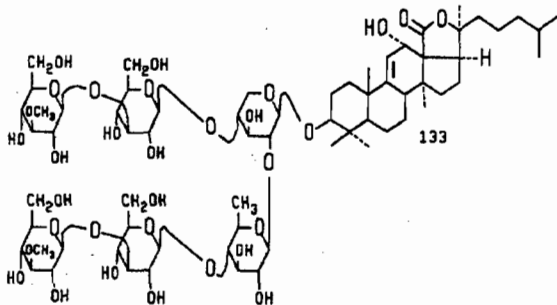
Молекулы со значительной степенью перекрытия функциональных компонентов должны в ходе эволюции сохра-

нять, причем очень жестко, общий план строения и все функциональные связи, меняя лишь элементы, не нарушая при этом системную гомологию, по терминологии Н. Н. Иорданского (1990). Для таких молекул значимость общего плана строения для сохранения геометрического соответствия мишени или рецептору напоминает важность общей формы морфофункциональной системы (пример - голова баклана, форма которой очень существенна для заглатывания добычи: Dullemeijer, 1974).

Для веществ, имеющих более четко выраженные "центры реализации", и, соответственно, меньшую степень перекрывания функциональных компонентов, таких, например, как разнообразные ферменты, в ходе эволюции стабилен "центр реализации", а функциональная периферия достаточно изменчива.

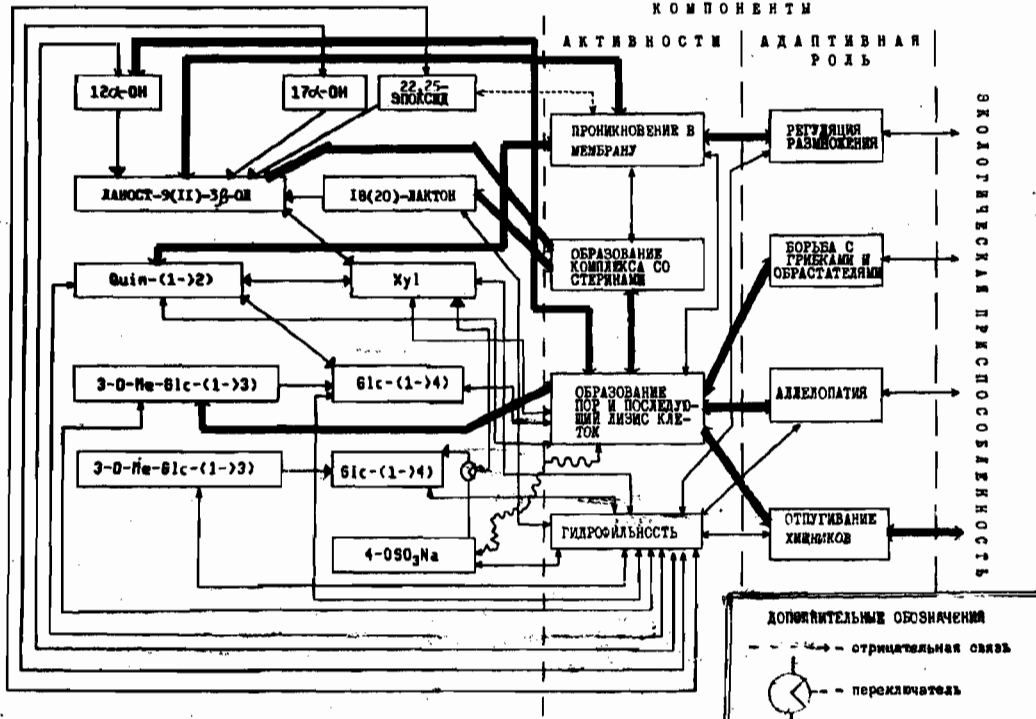
Такой анализ можно было бы распространить в эволюционном или, точнее, типологическом измерении, то есть составить обобщенную модель. Трансформации каких-либо частей такой модели могли бы соответствовать мысленным или эволюционным трансформациям биомолекулы. Так, упомянутая схема является схемой структурно-функциональных отношений не только голотурина A_2 , но и для голотурина B_1 (115), достаточно только убрать "лишние" структурные элементы, их функциональные связи, а также заменить резервную связь 4-О-сульфат-"образование каналов, пор, последующий лизис" на обычную.

Составим более общую схему (схема 6.2), отражающую структурно-функциональные отношения не только голотуринов A_2 и B_1 , но и родственных им голотурина A (119), бохадшиозида D (133) и других близких по структуре гликозидов. Для этого до-



СТРУКТУРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ



205

Схема 6.2. Диаграмма структурно-функциональных отношений гликозидов голотурий сем. Holothuriidae

бавим еще два моносахаридных остатка - 3-О-метилглюкозу и глюкозу. Чтобы присоединить эту биозидную составляющую в четвертое положение первой ксилозы, необходимо ввести в диаграмму какое-то новое обозначение, поскольку в это же самое положение уже присоединена сульфатная группа.

Два разных заместителя не могут быть присоединены одновременно в одно и то же положение, поэтому используем новый символ - переключатель. С его помощью можно присоединять к первой ксилозе либо сульфат, либо моносахаридные звенья, либо не присоединять вообще никакого заместителя, при этом будут отключаться или, наоборот, подключаться соответствующие функциональные связи.

Понадобится также ввести новый тип функциональных связей. На схемах Дуллемеяера имеются только положительные связи. Мы считаем необходимым ввести также отрицательные связи, их можно обозначить пунктиром. Например, эпоксидная группировка в молекуле голотуринина А (в голотурине А₂ ее нет) негативно влияет на образование и время жизни каналов и пор (Лихацкая и др., 1991), но увеличивает растворимость гликозида, то есть улучшает его транспортные свойства. Здесь имеется адаптивный компромисс, который можно показать соответственно отрицательной и положительными связями. Этот пример не единственный в эволюции гликозидов.

Построение более общей схемы структурно-функциональных отношений заметно усложняет диаграмму. Нецелесообразно строить подобную схему для всех известных гликозидов голотурий. Более рационально составлять схемы для групп веществ, близких по структуре.

Предлагаемые схемы носят предварительный характер, поскольку нуждаются в более подробном обосновании прямыми биофизическими экспериментальными данными. Однако они удовлетворительно описывают все виды мембранотропной активности, известные для голотуринов и бивиттозидов (бохадшиозидов), и позволяют уверенно предсказывать мембранотропное действие как для природных веществ этой серии, так и для их производных.

Системно-теоретический подход можно применить к описанию и анализу структурно-функциональных отношений не только природных, но и синтетических веществ, использовать его в биохимической фармакологии, заменив, к примеру, “биологическую роль” на “фармакологический эффект”, а также при исследованиях, направленных к “улучшению” свойств природных соединений путем их направленной химической модификации или полного синтеза аналогов.

Моделирование структурно-функциональных отношений биомолекул должно иметь и определенное общеметодологическое значение, так как молекулярные системы намного проще анатомических, и при их анализе более наглядно видны особенности системно-теоретического или холистского подхода.

6.3. Морфологические закономерности в эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий

6.3.1. Общие соображения

Положение о том, что никакой научный факт не может быть принят вне объясняющей его теоретической схемы (Роррег, 1969), является одним из краеугольных камней современного естествознания. “Любое исчерпывающее представление о биохимической структуре приобретает смысл только в том случае, если имеется гипотеза возникновения этой структуры. Такая гипотеза столь же необходима для современной биохимии, как сто лет назад была необходима идея об эволюционном древе для биологической систематики”, - писал Дж. Бернал (1966, цит. по: Мирзоян, 1974. С. 255). Кроме того, филогенетическое осмысление данных о наличии или отсутствии тех или иных химических веществ в сравниваемых таксонах составляет научную базу хемосистематики. По мнению О. Готлиба, только такой подход к анализу химической информации может превратить хемосистематику из искусства в науку (Gottlieb, 1982). При конструировании филогенетических структурных рядов сравниваемых

биомолекул существуют определенные трудности. Критическими проблемами, на наш взгляд, являются: 1) проблема полярности таксономических признаков (сравнительные анатомы называют ее проблемой обратимости морфологического ряда), поскольку такой ряд можно “читать” с обеих сторон; 2) несовпадение филогенетических рядов с последовательностью биосинтетических стадий. Эти проблемы частично решаются в рамках биогенетического подхода, развиваемого Дж. Харборном и особенно школой О. Готлиба (Gottlieb, 1982). Существует огромный опыт решения подобных проблем морфологами-анатомами, совершенно не учитываемый хемосистематиками. Во второй половине XIX - первой половине XX вв. сравнительными анатомами были выведены наиболее общие закономерности эволюции структур и функций (Dohrn, 1875; Kleinenberg, 1886; Plate, 1925; Северцов, 1939; Шмальгаузен, 1982; и мн. др.), называемые А. Н. Северцовым (1939) морфологическими закономерностями эволюции.

В настоящем разделе рассматривается использование концепции модусов органогенеза для анализа эволюционного разнообразия тритерпеновых гликозидов голотурий, и в частности решения проблемы таксономической полярности химического признака. Рассматривается также применимость теории филэмбриогенезов для изучения эволюции биосинтеза природных соединений. Кроме того, мы попытаемся описать общий ход эволюции биомолекул (вторичных метаболитов) в понятиях и терминах эволюционной морфологии.

6.3.2. Концепция модусов органогенеза

Проблему таксономической полярности можно во многих случаях решать с использованием морфофункционального анализа, включая количественное определение соответствующей биологической активности. Одним из наиболее современных способов морфофункционального анализа является построение диаграмм структурно-функциональных отношений в рамках систем-

но-теоретического (холистского) подхода, разрабатываемого школой П. Дуллемейера (см. разд. 6.3.1). Этот подход достаточно удовлетворительно описывает статику структурно-функциональных отношений, однако распространение его на филогенетическую динамику эволюции структур и функций приводит к большому усложнению соответствующих диаграмм, и практически для этих целей он малопригоден. Для анализа эволюции функций уже более 100 лет морфологи-анатомы применяют теорию модусов органогенеза. Эволюционное преобразование анатомических структур происходит, согласно этой теории, по определенным типам - "модусам органогенеза", число которых достаточно велико, но не бесконечно (Северцов, 1939).

Модусом или типом филогенетического изменения органов является "...способ развития активной функции или пассивного приспособления в полезном для всего организма направлении" (Северцов, 1939. С. 344 - 345). В настоящее время различают 18 модусов органогенеза (Северцов, 1990). Филогенетические трансформации молекулярных структур также проходят по этим модусам (Голдовский, 1972, 1973; Воронцов, 1989; Калинин, и др., 1990; Калинин, Стоник, 1990, 1991; Калинин, 1992; Kalinin, 1991).

По А. Н. Северцову (1939), в основе всех известных типов филогенетического преобразования лежат, во-первых, способность каждой из известных функций меняться в течение органогенеза количественно и, во-вторых, общее свойство живого организма, состоящее в том, что каждый орган, точно так же как и каждая часть органа, по существу своему мультифункциональны.

Наиболее важный модус органогенеза - принцип интенсификации функций Л. Платэ, входящий составной частью в большинство других модусов органогенеза (Platé, 1925). Действительно, эволюция биомолекул, например вторичных метаболитов морских организмов, о которой можно делать какие-то предположения, анализируя химическое строение и биологическую активность сравниваемых веществ из разных таксономических групп, ведет к усилению защиты организмов-продуцентов от хищников или паразитических организмов. Такую за-

кономерность можно установить, например, для тритерпеновых гликозидов голотурий, пептидных токсинов кишечнорастворимых, галогенированных терпеноидов красных водорослей и т. д. Так, для тритерпеновых гликозидов голотурий показано, что при переходе от веществ, содержащих 9(11)-двойную связь и 16-кетогруппу к веществам с 7(8)-двойной связью и 23-ацетоксигруппой происходит рост антигрибковой активности в два - три раза. При переходе к веществам, содержащим хиновозу, активность возрастает в четыре - восемь раз (см. раздел 5.2).

Как уже отмечалось в ходе системно-теоретического анализа структурно-функциональных отношений тритерпеновых гликозидов голотурий, увеличение биологической активности гликозидов достижимо разными способами: путем филогенетических трансформаций как тритерпеновых агликонов, так и углеводных цепей. Это также дает возможность проследить в эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий многие модусы органогенеза. Очевидно, что интенсификация защитной функции является движущей силой эволюции большинства известных групп вторичных метаболитов, что необходимо учитывать при построении филогенетических рядов этих веществ. В ходе филогенетических преобразований гликозидов биологическая активность обычно увеличивается, или, как минимум, не уменьшается. Исключения довольно редки и мы их обсудим далее.

В эволюции гликозидов голотурий отчетливо проявляется принцип расширения функций Л. Плате (Plate, 1925). Так, при переходе от гликозидов, не содержащих лактон или имеющих 18(16)-лактонный цикл, к веществам голостанового ряда, характеризующимся наличием 18(20)-лактона, мембранотропное действие (гемолиз) возрастает на один - два порядка (см. разд. 5.2). Логично предположить, что первичная функция гликозидов голотурий - ингибирование созревания ооцитов в ходе эволюции была дополнена защитной функцией против хищных рыб. По видимому, на ранних этапах своей эволюции голотурии не испытывали давления со стороны хищных рыб, которое возникло несколько позже. Сохранение же малотоксичных гликозидов у некоторых рецентных таксонов голотурий можно объяснить выработкой у них иной стратегии защиты, а именно закапывание в грунт, укрытие под камнями, образование мощного известкового панциря (у сем. *Psolidae*), а также наличием у тех же голотурий и других, значительно более активных гликозидов, как, например, в случае *Eupentacta fraudatrix*. Голостановые производные могли

входить в качестве минорных компонентов в состав гликозидных фракций голотурий на самом раннем этапе их эволюции. Более того, они могли накапливаться (и в значительных количествах), поскольку были способны ингибировать созревание ооцитов. Наличие 18(20)-лактона, таким образом, являлось своего рода преадаптацией к возникшему позже давлению хищников.

Морфофункциональная преадаптация является важнейшим механизмом преобразования сложных адаптивных комплексов, постепенно подготавливающим их к выполнению новой адаптивной роли (Иорданский, 1986). При этом, как отмечает Н. Н. Иорданский, в процессе контролируемого отбором постепенных морфофункциональных перестроек, совершенствующих выполнение прежней адаптивной роли, как побочный и случайный результат формируется преадаптивное состояние, когда и для организма появляется возможность использовать этот комплекс по-новому. Эволюционный момент, когда структура приобретает новую адаптивную роль, и, в соответствии с этим, происходит изменение направления отбора, был обозначен В. Боксом (Wosk, 1959) как преадаптационный порог. После приобретения органом новой адаптивной роли отбор начинает приспособлять его морфофункциональные особенности для более совершенного выполнения этой роли (так называемая постадаптация к новой адаптивной роли - Wosk, 1959). Образование 18(20)-лактона в процессе эволюции гликозидов голотурий соответствует такому преадаптационному порогу.

В эволюции гликозидов голотурий в некоторых случаях можно выявить действие принципа компенсации функций Н. Н. Воронцова (1963). Так, курилозид А (175), с наиболее "примитивным" агликоном, не имеющим лактонного цикла, и кукумариозид G₂ (180), содержащий 18(16)-лактон, имеют "прогрессивные", включающие хиновозу углеводные цепи, а стихопозид D (145), с "прогрессивным" голостановым агликоном, не содержит хиновозы.

В эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий также очень важны и широко распространены филогенетические замещения. Это понятие было введено в научный оборот Н. Клейненбергом и развито А. Н. Северцовым (Kleinenberg, 1886; Северцов, 1939). При трансформации по типу клейненберговской субституции органов замещающий орган располагается на том же месте, что и замещаемый, и выполняет ту же функцию (например, позвоночник филогенетически вытесняет хорду). При эволюции по

способу северцовской субституции функций замещающий орган располагается в другом месте. Классическим примером субституции функций считается переход рептилий от бега к ползанию, где функцию редуцирующихся ног замещают мышцы ребер (рис. 6.1). Границы между этими и другими видами субституции весьма расплывчаты.

Эволюция, сходная с клейненберговской субституцией органов, широко распространена на молекулярном уровне. Принцип субституции органов Н. Клейненберга - один из важнейших и самых распространенных типов филогенетических изменений органов (Северцов, 1939). Почти любое филогенетическое изменение в структуре тритерпеновых гликозидов можно отнести к этому принципу, поскольку "замещающий" гликозид, как правило, будет находиться "на том же самом месте" и выполнять "ту же самую функцию". Любая эволюционная модификация биомолекулы при сохранении ее "места" и роли относится именно к этому модусу органогенеза. Принцип субституции органов Клейненберга для молекулярного уровня был фактически перетоткрыт и широко применяется при конструировании филогенетических структурных рядов Дж. Харборном и О. Готтлибом. Так, Харборн постулировал эволюционное "замещение" флавонолов флавонами (Harborne, Turner, 1984), что соответствует "первому случаю" Клейненберга, так как данные молекулы гомологичны, поскольку имеют глубокое структурное сходство и общее биогенетическое происхождение. О. Готтлиб подчеркивает возможность замещения в родственных таксономических группах одних типов вторичных метаболитов другими, синтезирующимися совершенно иными биосинтетическими путями, причем замещающие метаболиты сохраняют биологическую функцию замещаемых (Gottlieb, 1982). Это соответствует "второму случаю" Клейненберга.

Возможно рассмотрение филогенетических трансформаций биомолекул как бы на двух уровнях. Реальные трансформационные процессы проходят на уровне некоего множества тех или иных молекул в пределах организма и популяции. Соответственно, необходимо рассматривать такие процессы на уровне множества молекул, то есть на молекулярном уровне. Однако возможен и другой подход - исследовать такие трансформации как бы в пределах одной молекулы, то есть на субмолекулярном уровне. Подобное абстрагирование является, на наш взгляд, вполне допустимым. Отчасти оно аналогично организменному или орган-

ному уровню анализа в сравнительной анатомии, хотя реальные процессы эволюционных изменений проходят на уровне некоего множества организмов, а именно популяции.

При рассмотрении филогенетических трансформаций отдельных частей сложных молекул, то есть трансформации на субмолекулярном уровне, также можно выявить эволюцию по типу клейненберговской субституции органов. В эволюции агликонов гликозидов голотурий указанный принцип на субмолекулярном уровне встречается не очень часто. Пожалуй, в наиболее чистом виде он наблюдается при переходе от 16-ацетатных групп к 16-кетогруппам, и наоборот. В углеводных цепях таких примеров намного больше. Это уже упоминавшийся переход от гликозидов, содержащих глюкозу в качестве второго моносахаридного остатка, к хиновозусодержащим гликозидам - местоположение замещающего моносахаридного остатка не изменяется. В принципе все замены любых моносахаридных звеньев при сохранении порядка связывания сахаров друг с другом относятся к данному модусу органогенеза. Правда, обсуждение вопроса о функции каждого моносахарида представляется весьма проблематичным, но функция, связанная, например, с обеспечением растворимости и "бифильности" гликозида, а также опорная для следующих сахаров, в данном случае сохраняется. Углеводные цепи гликозидов голотурий достаточно вариабельны, но их общий план строения чрезвычайно стабилен, и перечислять здесь все подобные случаи мы не считаем необходимым (Калинин и др., 1990). Поскольку стереохимически и биосинтетически все моносахариды гликозидов голотурий - глюкоза, ксилоза, хиновоза, 3-О-метилглюкоза и 3-О-метилксилоза - близки, то приведенные примеры соответствуют так называемому "первому случаю" Н. Клейненберга, когда замещающий орган гомологичен замещаемому. В принципе любые аминокислотные, нуклеотидные или моносахаридные замены во многих биополимерах и олигомерах также можно отнести к этому модусу органогенеза вне зависимости от функциональной значимости этих замен, поскольку и здесь сохраняется опорная роль для соседних аминокислотных звеньев.

Приведем примеры использования принципа субституции на субмолекулярном уровне при конструировании филогенетических структурных серий. Недавно мы изучили гемолитическую активность специально подобранного ряда тритерпеновых гликозидов (Kalinin et al., 1992). Мы предположили, что

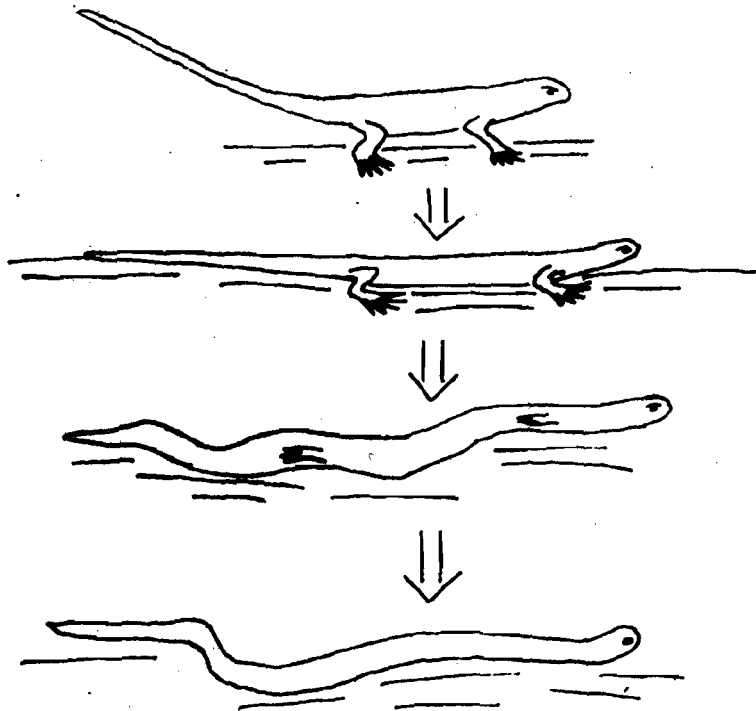


Рис. 6.1. Субституция функций при эволюционном переходе рептилий от бега к ползанию (по Северцов, 1939).

вещества, имеющие более сильное гемолитическое действие, наиболее эффективны для отпугивания хищников. Гидрофильность молекул гликозидов также должна вносить вклад в защиту против хищников, поскольку она может влиять на скорость выделения этих токсинов в морскую воду и перемещение в ней. Полученные данные показывали, что эволюция углеводных цепей гликозидов голотурий рода *Eupentacta* шла от пентасахаридных цепей к пентасахаридным сульфатированным и затем к линейным тетрасахаридным сульфатированным цепям, то есть от (244) к (245) и далее к (246) (а не наоборот), по типу субституции функций по Северцову (1939) (рис. 6.1, 6.2).

Наши данные по гемолитической активности (Kalinin et al., 1992), а также данные Китагавы (Kitagawa, 1988) по антифунгальной активности показывают значимость линейного тетраса-

харидного фрагмента для мембранотропной активности. Следовательно, ксилозный остаток, прикрепленный к положению 2 хиновозы в (244), несет в основном функцию, связанную с увеличением растворимости. При переходе от (244) к (245) происходит незначительное увеличение скорости гемолиза. Вещество (245), обладающее как сульфатной группой, так и дополнительной ксилозой, есть эволюционный интермедиат. Переход к линейному сульфатированному тетраозиду (246) дает некоторое увеличение гемолитической активности. В этом случае сульфат, присоединенный в положение 4 первого ксилозного остатка, замещает в ходе эволюции ксилозный остаток, который был связан с хиновозой. В результате сульфатная группа

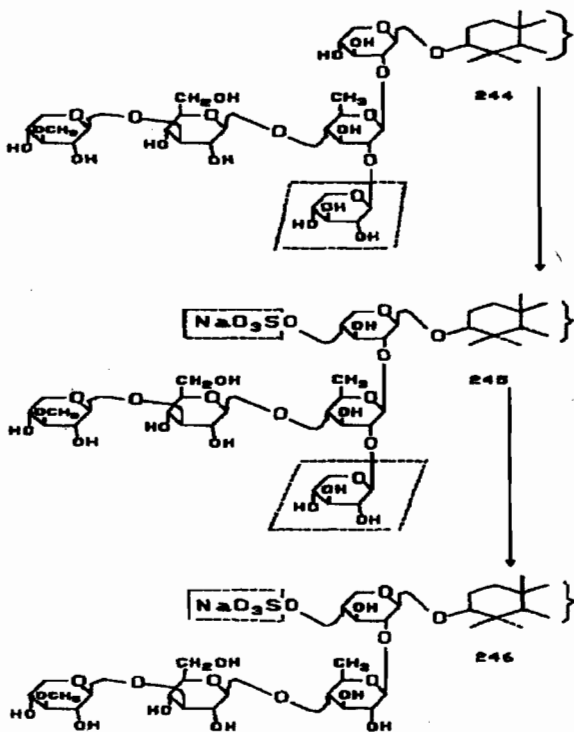


Рис. 6.2. Филогенетическое замещение ксилозного остатка сульфатной группой в Eupentacta

принимает на себя добавочную функцию растворимости, которая ранее выполнялась вытесняемой ксилозой. Замещение ксилозы сульфатной группой в углеводной цепи дает некоторый выигрыш в гемолитической активности и, более того, в "метаболической стоимости", поскольку оно связано с использованием меньшего числа стадий для введения сульфатной группы по сравнению с введением моносахаридного остатка.

Сопоставление субституции функций по Северцову (рис. 6.1) и данных о структуре и гемолитической активности серии гликозидов из *Eupentacta* позволило: 1) подобрать серию веществ для биотестирования; 2) определить направление эволюции от (244) к (246), а не наоборот.

В гликозидах голотурий сем. *Holothuriidae* происходит переход от гексасахаридной углеводной цепи в гликозидах рода *Bohadschia* к сульфатированной тетрасахаридной углеводной цепи в гликозидах остальных *Holothuriidae* и далее к сульфатированным биозидам (рис. 6.3).

Так, при переходе от (247) к (248) биологическая активность, по данным И. Китагавы (Kitagawa, 1988), не меняется, как и при десульфатировании (248). Очевидно, биозидная составляющая при С-4 первой ксилозы в гликозидах *Bohadschia* и сульфат при С-4 первой ксилозы в гликозидах остальных *Holothuriidae* выполняют роль, связанную в основном с растворимостью. Переход от (247) к (248) происходит по типу клейненберговой субституции органов с выигрышем в метаболической цене.

При переходе от сульфатированного тетраозида (248) к сульфатированному биозиду (249) некоторая потеря в гемолитической (Kalinin et al., 1992) или в антифунгальной активности (Kitagawa, 1988) компенсируется выигрышем в метаболической цене, поскольку здесь сульфат вытесняет два моносахаридных остатка. В этом случае сульфат выполняет функции, связанные как с дополнительной растворимостью, так и с биологической активностью. Действительно, согласно нашим данным (Kalinin et al., 1992) и результатам Китагавы (Kitagawa et al., 1985), активность при десульфатировании биозида (249) падает более чем на порядок. Переход от (248) к (249) также очень напоминает северцовскую субституцию функций (рис. 6.1). В этих случаях сопоставление структур и таксономического распределения

гликозидов с данными по биологической активности и соответствующими моделями из сравнительной анатомии позволило нам поляризовать структурный филогенетический ряд.

При филогенетическом переходе от гликозидов, содержащих сульфаты в положении 6 глюкозных или 3-О-метилглюкозных остатков, к сульфатированным по С-4 первого остатка ксилозы веществам также происходит субституция функций. Это связано, по-видимому, с тем, что гликозиды с С-6-сульфатами намного менее активны, чем их десульфатированные производные (Miyamoto et al., 1990). Гликозид (187) из *Neothyronidium magnum*

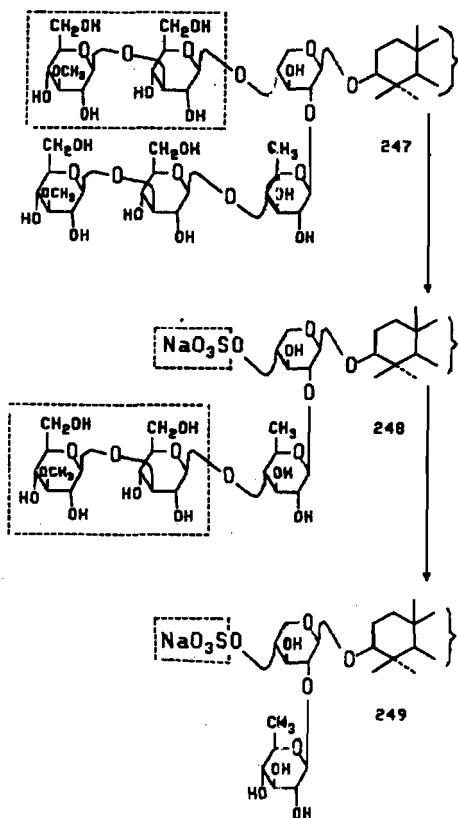


Рис. 6.3. Переход от субституции органов по Н. Клейненбергу к субституции функций по Северцову при последовательном эволюционном замещении биозидных компонентов сульфатной группой в *Holothuriidae*

представляет собой промежуточный вариант, имеющий сульфатные группы в обоих положениях (рис. 6.4).

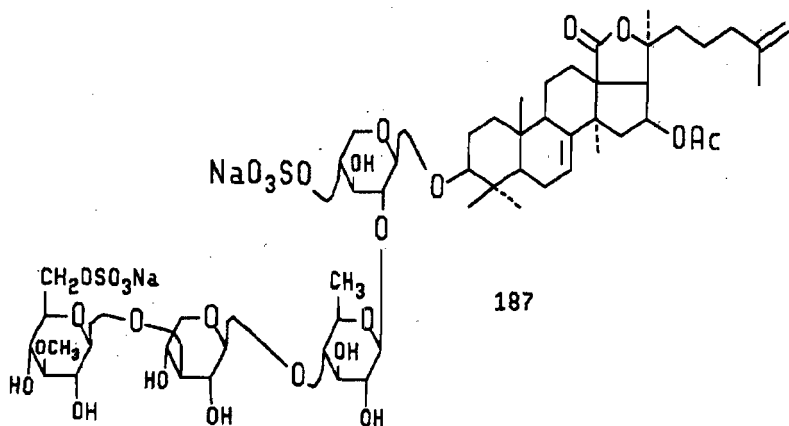


Рис 6.4. Промежуточная стадия филогенетического замещения С-6 сульфата при глюкозе на С-4 сульфат при ксилозе

Филогенетическое замещение по типу северцовской субституции функций наблюдается также в агликонах гликозидов голотуррий (рис. 6.5) (Калинин, 1992). Как показал И. Китагава (Kitagawa, 1988), отсутствие кислородных заместителей в агликоне ведет к потере биологической активности. Поэтому при редукции кислородного заместителя при С-16, например в (250) или (251), он замещается аналогичными кислородсодержащими заместителями при С-12 или С-23 как в (254) и (255). При этом (252) и (253) являются филогенетическими интермедиатами. Японские авторы выделили гликозиды с набором агликонов, соответствующим такому замещению, изображенному на рисунке 6.5. (Miamoto et al., 1990).

Увеличения биологической активности, то есть интенсификации функций, здесь не происходит, явного выигрыша в “метаболической цене” также нет. По нашему мнению, движущей силой этих процессов является исключение возможности образования 18(16)-лактонного цикла при нарушениях в

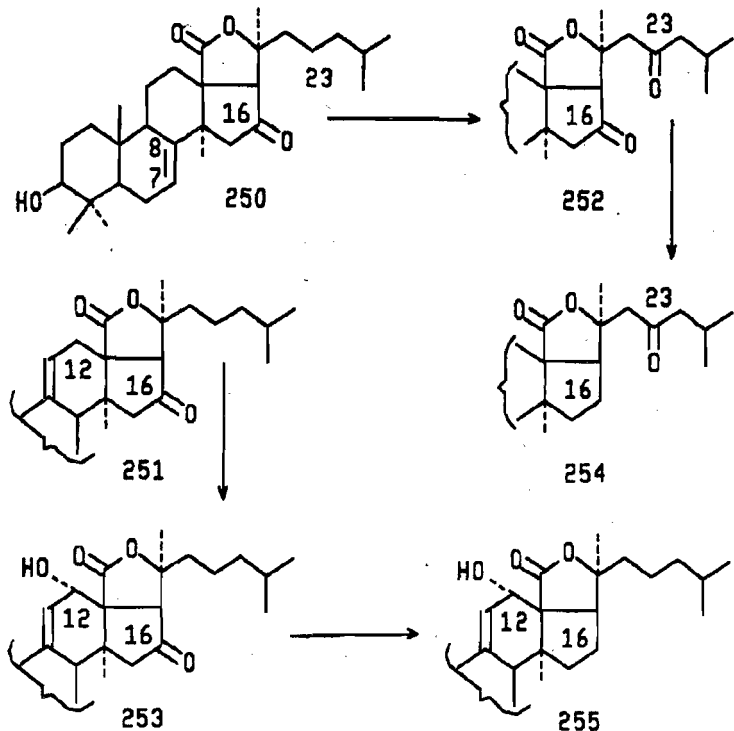


Рис. 6.5. Филогенетическое замещение кислородных функций в положении 16 кислородными функциями в положениях 23 и 12

последовательности биосинтетических реакций, что привело бы к потере защитных свойств гликозида. Подобные циклизации происходят в том случае, если имеются свободная карбоксильная группа при С-18 и гидроксильные группы при С-18 и С-16, преимущественно с образованием 18(16)-лактона (Ильин и др., 1985; Шарыпов и др., 1985). Отсутствие кислородной функции при С-16 абсолютно исключает такую циклизацию наподобие жесткой механической блокировки. По-видимому, здесь проявляется эволюция по новому, не описанному ранее модусу органогенеза, который можно назвать **эволюционной блокировкой**. Такой тип филогенетического преобразования имеет некоторое сходство с принципом эволюционной стабилизации функций

Н. В. Кокшайского (Kokshaysky, 1973), отличаясь тем, что функция стабилизируется не против воздействия факторов внешней или внутренней среды, а против самой возможности такого воздействия. Возможно, предложенная нами биохимическая модель нового типа филогенетической трансформации может помочь морфологам-анатомам в анализе структурно-функциональных отношений морфологических структур более высоких уровней организации.

Другим не менее значимым случаем проявления субституции функций по А. Н. Северцову в эволюции агликонов гликозидов голотурий является переход от агликонов с укороченной боковой цепью, не имеющих лактонного цикла, то есть с неокисленной С-18 метильной группой, к агликонам с 18(16)-лактоном и далее

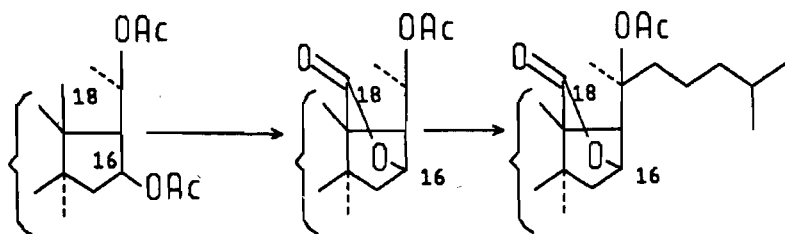


Рис 6.6. Субституция функций при переходе от агликонов не имеющих боковой цепи и 18(16)-лактона, к веществам, у которых блокировано окислительное отщепление боковой цепи

к веществам, у которых блокировано окислительное отщепление боковой цепи (рис. 6.6).

По-видимому, в данном случае для обеспечения оптимальной "бифильности", необходимой для обратимого ингибирования Ca^{2+} -транспорта и, соответственно, для ингибирования созревания ооцитов, боковая цепь в агликоне была укорочена. Примером таких веществ могут служить гликозиды из *Duasmodyctyla kurilensis* (Авилов и др., 1991a). Затем в результате окисления С-18 атома в агликоне и образования 18(16)-лактона гидрофильность гликозидов существенно увеличилась и необходимость в много-стадийном окислительном отщеплении боковой цепи отпала.

Промежуточными стадиями этой филогенетической трансформации могли быть гликозиды с 18(16)-лактоном, но с укороченной боковой цепью типа кукумариозида G₂(180) из *Eupentacta fraudatrix*, а далее осуществлялся переход к веществам с 18(16)-лактоном и нормальной боковой цепью, как у псолюсозида В (189) из *Psolus fabricii*. Субституция функций и здесь крайне своеобразна - функция, связанная с уменьшением гидрофобности, которое достигалось удалением боковой цепи, замещается функцией увеличения гидрофильности и, соответственно, уменьшения гидрофобности, связанной с наличием 18(16)-лактона, необходимость в удалении боковой цепи из ланостанового предшественника отпадает, и боковая цепь как бы появляется вновь.

Можно предположить, что в эволюции гликозидов голотурий проявляется и принцип фиксации фаз А. Н. Северцова (Северцов, 1939). Действительно, сезонные колебания в содержании гликозидов, связанные с их регуляторной функцией, достигают, например у дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus*, одного - двух порядков. Соответственно, и защитные функции гликозидов должны быть наиболее эффективны в период, непосредственно предшествующий нересту голотурий. В случае же более сильной угрозы нападения, например для более мелких животных, таких, как *Eupentacta fraudatrix*, или для голотурий, обитающих в сообществах коралловых рифов, столь резких колебаний в содержании гликозидов не происходит, и защитное действие постоянно большое. А. Н. Северцов предполагал, что принцип фиксации фаз для пассивных приспособлений не имеет значения. Однако, по-видимому, он имеет более широкую применимость: действительно, трудно представить пассивное приспособление, появляющееся периодически, как это происходит с гликозидами у некоторых голотурий.

Принципы активации и иммобилизации функций А. Н. Северцова (Северцов, 1939) в эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий на субмолекулярном уровне не выполняются, но на уровне организменном, без изменения структуры гликозидов, как и в случае фиксации фаз, действуют. Так, представители сем. *Holothuriidae* накапливают большие количества гликозидов в

кьюберовых органах, которые при раздражении могут выбрасываться в воду. Таким образом, гликозиды из пассивного защитного приспособления стали выполнять в некоторых видах голотурий роль активного средства обороны. Произошла так называемая активация функций. В дальнейшем некоторые *Holothuriidae* утратили способность выбрасывать кьюберовы органы, а у некоторых они редуцировались вообще (Левин, 1989а), то есть гликозиды вернулись к пассивной защитной роли, произошла иммобилизация функций. В данном случае происходит изменение не столько структуры гликозидов, сколько способа их применения. Однако иммобилизация функций была, по-видимому, преадаптирована возрастом окисленности и, следовательно, растворимости в ходе эволюции тритерпеновых гликозидов у представителей семейства *Holothuriidae*. Побочным результатом возрастания окисленности у гликозидов из этих голотурий является некоторое снижение биологической активности, как, например, при переходе от веществ с неокисленной боковой цепью к веществам, содержащим 22,25-эпоксид, характерном для представителей этого семейства. Тем не менее каналобразующим действием эти гликозиды обладают, хотя время существования канала намного меньше (Лихацкая и др., 1991). Возможно, отпугивающее действие здесь не прямо связано с цитотоксичностью. Подобные случаи зафиксированы, например, для терпеноидов из альционарий (Sammarco, Coll, 1988). Здесь, по-видимому, уменьшение активности компенсируется увеличением гидрофильности гликозида за счет введения дополнительной кислородной функции, то есть наблюдается своеобразный "адаптивный компромисс". Вследствие увеличения гидрофильности выход гликозидов в воду; безусловно, увеличивается и усиливается "защитное поле" из токсичных веществ вокруг голотурий.

В качестве модуса органогенеза упоминают нередко и полимеризацию органов В. А. Догеля (Тимофеев-Ресовский и др., 1977), которая сходна с интенсификацией функций увеличением числа компонентов, из которых состоит данный орган (по А. Н. Северцову). Простое увеличение содержания гликозидов (в не-

которых видах голотурий до 10 % от сухой массы животных) вряд ли можно отнести к этому принципу. В случае увеличения количества ДНК, рассматриваемом Н. Н. Воронцовым (1989), одну молекулу ДНК действительно можно сравнивать с органом, и аналогия с принципом полимеризации органов вполне оправдана. Для выполнения вторичными метаболитами какой-либо биологической функции необходима не одна молекула, а какая-то минимальная концентрация вещества, то есть множество молекул. Соответственно, рост концентрации здесь можно уподобить простому механическому росту органа, а не полимеризации.

С несколько большей обоснованностью можно отнести к полимеризации органов увеличение числа компонентов в гликозидной сумме на качественном уровне. Все гликозиды в той или иной степени гомологичны, но увеличения общей концентрации гликозидов здесь не происходит, увеличивается лишь структурное разнообразие "гомологичных частей". Некоторые измененные гликозиды будут более активны, чем другие компоненты, что приведет к общему повышению активности.

При переходе к морфологически более продвинутым таксономическим группам, например от отряда *Dendrochirotida* к отряду *Aspidochirotida* или, в пределах последнего, от семейства *Stichopodidae* к семейству *Holothuriidae*, состав гликозидных сумм упрощается. При этом отбираются "лучшие" структуры; таким образом, число гомологичных компонентов уменьшается, а функция оставшихся интенсифицируется. Это уменьшает метаболическую цену синтеза биологически важных веществ. Подобная тенденция соответствует принципу олигомеризации органов В. А. Догеля.

Морфофункциональный анализ основных тенденций эволюции гликозидов в *Dendrochirotida* и *Aspidochirotida* показывает, таким образом, что направления их эволюции: от гликозидов, не имеющих лактона, и с укороченной боковой цепью агликона к имеющим 18(16)-лактон и далее к веществам, обладающим нормальной боковой цепью в агликоне, и голостановым производным с 18(20)-лактоном; от агликонов, обладающих 16-кислородными

функциями к веществам с кислородными функциями в положениях 12 или 23; от разветвленных углеводных цепей к менее разветвленным и линейным углеводным цепям; от углеводных цепей, сульфатированных по положениям С-6 глюкозных и 3-О-метилглюкозных остатков, к углеводным цепям, имеющим сульфат в положении С-4 первого ксилозного остатка или не имеющим сульфата вообще, - отмеченные при сравнении таксономического распределения тритерпеновых гликозидов голотурий с системой класса (см. разд. 4.7.2), а также переход от фракций гликозидов, содержащих большее число компонентов, к содержащим меньшее число компонентов, имеют важное адаптивное значение для совершенствования защитной функции гликозидов против хищников, обрастателей, пищевых конкурентов и т. д. По нашему мнению, совершенствование защитной функции тритерпеновых гликозидов голотурий при переходе от *Dendrochirotida* к *Aspidochirotida* может свидетельствовать о большей филогенетической древности дендрохиротид.

Существует точка зрения, что теория модусов органогенеза, сформулированная А. Н. Северцовым, во многом утратила свою актуальность в связи с развитием более современных системно-теоретических концепций (Н. Н. Иорданский, личное сообщение). Возможно, хотя с этим и трудно согласиться, сравнительная анатомия уже прошла тот этап развития, на котором применение теории модусов органогенеза было целесообразно. В области сравнительной биохимии, на наш взгляд, подобная ситуация еще не наступила, и утратившая отчасти свою актуальность для анатомов концепция может еще сослужить определенную службу при эволюционном осмыслении хемотаксономических данных и систематизации данных по биологической активности природных соединений.

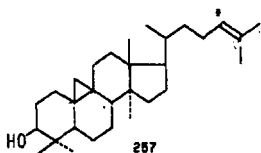
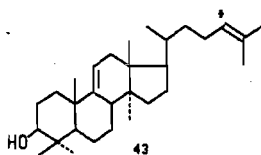
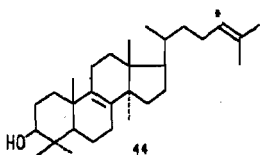
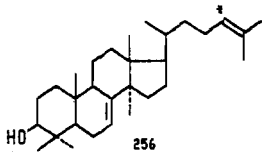
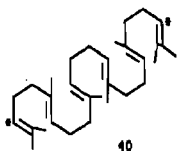
Таким образом, с помощью концепции модусов органогенеза можно объяснять результаты биохимического эволюционного процесса, его движущие силы и решать проблему полярности хемотаксономических признаков (обратимости морфологического ряда).

6.4. Морфологические закономерности в эволюции биосинтеза гликозидов голотурий

6.4.1. Биосинтез тритерпеновых гликозидов голотурий

Возможность биосинтеза тритерпеновых гликозидов голотуриями *de novo* впервые была показана сотрудниками Тихоокеанского института биоорганической химии. Они обнаружили включение радиоактивного ацетата в агликонные части тритерпеновых гликозидов *Apostichopus japonicus* (Elyakov et al., 1975a), однако уровень включения метки был крайне низок. Аналогичные данные были получены также бельгийскими исследователями для агликонных частей гликозидов *Thelenota ananas* (Kelecom et al., 1976). Как показали Ю. Шейх и К. Джерасси (Sheikh, Djerassi, 1976), включение радиоактивности из меченного тритием ланостерина в агликонные части гликозидов *Parastichopus californicus* в 200 раз превышало включение метки из ацетата. Эти результаты свидетельствовали о том, что биосинтетическим предшественником гликозидов голотурий является ланостерин. Однако позднее М. Л. Кордейро и К. Джерасси (Cordeiro, Djerassi, 1990), используя в качестве предшественников радиоактивно меченные сквален, ланостерин, паркеол и мевалонат, не смогли зарегистрировать включение радиоактивной метки в индивидуальные гликозиды из *Holothuria mexicana* и *Bohadschia argus*.

Недавно сотрудниками ТИБОХ совместно с учеными Стэнфордского университета (США) - Карлом Джерасси (Carl Djerassi) и М. Лусиндой Кордейро (M. Lusinda Cordeiro) были выполнены исследования биосинтеза гликозидов в *Eupentacta fraudatrix* (Makarieva et al., 1993). В ходе этих экспериментов при использовании в качестве меченых предшественников сквалена (40) ланостерина (44), ланоста-7,24-диен-3 β -ола (256), циклоартенола (257) и паркеола (43) не удалось зарегистрировать заметной радиоактивности для тритерпеновых гликозидов. Однако после гидролиза предварительно гидрированных фракций тритерпеновых гликозидов радиоактивность была обнаружена в агликонах в опытах с меченым ланостерином. Оказалось, что гликозиды голотурий в отличие от агликонов обладают свойством "тушить" сцинтилляцию при регистрации радиоактивности сцинтилляционным методом. По-видимому, именно этим объяс-



няется отсутствие радиоактивности гликозидов в опытах Кордейро и Джерасси (Cordeiro, Djerassi, 1990). Эксперименты, проведенные на *E. fraudatrix*, подтвердили, что биосинтетическим предшественником тритерпеновых гликозидов голотурий является именно ланостерин. Наиболее вероятной причиной отсутствия включения радиоактивности в агликоны гликозидов *E. fraudatrix* в опыте с ланоста-7,24-диен-3 β -олом является различие конфигураций в полициклическом ядре между ланоста-7,24-диен-3 β -олом (9 α -H) и агликонами гликозидов (9 β -H) (Ильин и др., 1985; Калиновский и др., 1983).

В соответствии с гипотетической схемой (схема 6.3), предложенной на основе этих данных, гликозиды *Eupentacta fraudatrix* биосинтезируются из ланостерина гидроксилированием С-20, С-16 и окислением метильной группы С-18 до карбоксила. Последний процесс подобен окислению СH₃-30, СH₃-31 или СH₃-32 в ланостерине при биосинтезе стероидов в животных. Как следствие мозаичного типа биосинтеза агликонов здесь можно выделить не определенную последовательность реакций, а два основных направления биотрансформации ланостерина в агликоны гликозидов голотурий. Первое реализуется в случае, когда С-20 окисление предшествует С-16 окислению. Этот путь ведет к

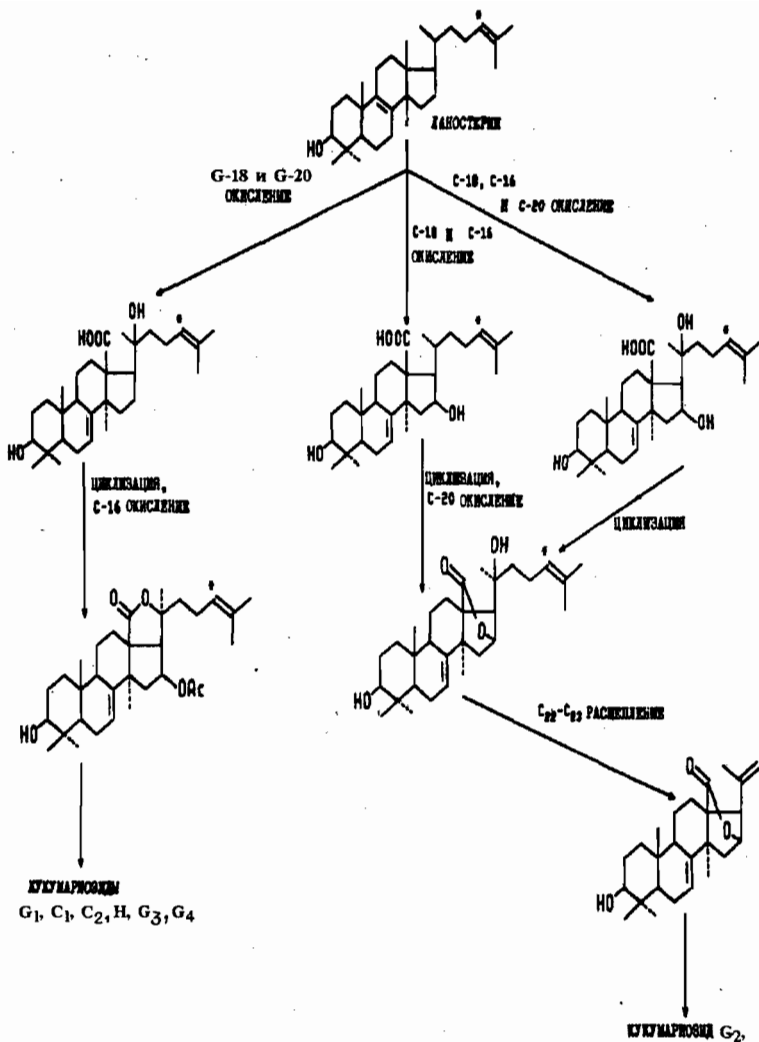


Схема 6.3. Гипотетическая схема биосинтеза тритерпеновых гликозидов *Eupentacta fraudatrix*, составленная по результатам экспериментов с мечеными предшественниками

голостановым сапонином. Второе направление реализуется в случаях, когда С-16 окисление предшествует С-20 окислению или оба положения - как С-20, так и С-16 - окислены. Как уже отмечалось, экспериментальные данные показывают преобладание циклизации с образованием 18(16)-лактона, когда гидроксилы присутствуют в С-16 и С-20 положениях одновременно (Ильин и др., 1985; Шарыпов и др., 1985).

Интересно отметить, что ланостерин является предшественником агликонов как с 9(11)-двойной связью (Sheikh, Djerassi, 1976), так и с 7(8)-двойной связью (Makarieva et al., 1993).

6.4.2. Теория филэмбриогенезов

Концепция модусов органогенеза не дает ответа на вопрос, каким образом и на каких стадиях биосинтеза, то есть как и когда происходит процесс филогенетической трансформации. Подобные вопросы морфологи-анатомы или, по крайней мере русская школа морфологов, обычно обсуждают в рамках теории филэмбриогенезов А. Н. Северцова. В основе теории филэмбриогенезов А. Н. Северцова лежит положение о том, что филогенез - результат эволюции онтогенезов. Онтогенез может изменяться следующими модусами филэмбриогенеза: 1) путем надставки конечных стадий (анаболия); 2) путем изменения онтогенеза на средних стадиях развития (девиация); 3) изменением начальных стадий онтогенеза (архаллаксис); 4) гетерохронией, то есть изменением времени закладки органов, а именно ретардацией (замедлением) и акцелерацией (ускорением). Существуют определенные проблемы в применении этой теории, поскольку очень сложно объективно оценить, какая стадия онтогенеза является конечной, и, соответственно, строго определить, где заканчивается стадия морфогенеза и начинается стадия роста и т. д. (Gould, 1977). Тем не менее как сама теория, так и близкие к ней подходы достаточно широко применяются в настоящее время (см. Гебрук, 1990; Lövttrup, 1978).

В одной из своих последних работ А. Н. Северцов (1939) применил эту теорию к процессам гистогенеза. Распространить ее и на молекулярный уровень ему, вероятно, помешало тогдашнее

состояние биохимии. Казалось бы, трудно найти аналогию между процессами развития, например от икринки через головастика к лягушке, и биосинтезом природных соединений. Однако между биосинтезом и индивидуальным развитием (онтогенезом) существует не просто аналогия, а глубокое внутреннее сходство, поскольку биосинтез, так же как и онтогенез, является постадийным процессом развертывания генетической программы. Применимость теории филэмбриогенезов здесь очевидна, так как филогенез биомолекулы действительно не что иное как эволюция ее биосинтеза. При филэмбриогенетическом подходе к анализу эволюции биомолекул, безусловно, нельзя забывать о том, что вторичные метаболиты, идентичные по структуре, могут биосинтезироваться в различных организмах разными путями (Калинин, Стоник, 1990). Однако для серий родственных веществ, присутствующих в связанных генетическим родством организмах, например для тритерпеновых гликозидов из различных таксономических групп голотурий, существенные различия в путях биосинтеза маловероятны. Чтобы убедиться в сравнимости процессов биосинтеза и онтогенеза, сопоставим модусы эволюции биосинтеза, упоминаемые Дж. Харборном и О. Готтлибом, и модусы филэмбриогенезов (Gottlieb, 1982; Северцов, 1939).

Действительно, Харборн и Готтлиб описывают эволюцию биосинтеза вторичных метаболитов увеличением реакционной последовательности, что соответствует северцовской анаболии. К эволюции, идущей по модусу анаболии, относятся филогенетические трансформации, подчиняющиеся закону Бэра, который в формулировке А. Н. Северцова гласит: "Последовательность появления в онтогенезе характерных признаков взрослого животного соответствует последовательности появления этих признаков в филогенезе предков этого животного" (Северцов, 1939. С. 499). Для нашего случая это можно сформулировать примерно так: последовательность трансформации промежуточных соединений в биосинтезе молекулы соответствует последовательности появления этих веществ в филогенезе. В таких случаях по ходу биосинтеза проявляются так называемые рекапитуляции и построение филогенетического ряда относительно просто. Хороший пример рекапитуляции биосинтетических путей фитотоксинов, связанный с увеличением фунгиотоксичности, приве-

ден Дж. Харборном и Б. Тернером (Harborne, Turner, 1984). Биосинтетический переход от изофлавонола к изофлаванону, птерокарпану и далее к изофлавану, упомянутый в этой работе, соответствует и последовательности появления этих веществ в филогенезе.

Показано, что ранние метаболические этапы синтеза стероидов, каротиноидов, некоторых других вторичных метаболитов у многих растений и животных сходны, что также является рекапитуляцией.

Известно, что жирные кислоты бактерий более насыщены, чем у многоклеточных организмов. Это соответствует и биосинтезу ненасыщенных жирных кислот из насыщенных.

Согласно второму принципу микромолекулярной эволюции О. Готтлиба (Gottlieb, 1982) филогенетические трансформации вторичных метаболитов идут обычно от менее окисленных к более окисленным веществам, причем в ходе биосинтеза окисленных метаболитов первыми стадиями являются малоокисленные вещества, что также является рекапитуляцией. Кроме того, окислительные циклизации чаще всего наблюдаются на более поздних стадиях биосинтеза, чем циклизации под действием неокислительных агентов типа H^+ , Br^+ , и т. д., и, соответственно, в более молодых таксонах.

Наиболее четкие рекапитуляции наблюдаются преимущественно, на начальных стадиях органогенеза, поскольку, как утверждает И. И. Шмальгаузен (1982), за свою длительную историю они оказались связаны большим числом морфогенетических корреляций с другими жизненно важными органогенезами и малейшее их нарушение приведет к летальному исходу. Биохимики давно и независимо пришли к аналогичному выводу для биосинтеза вторичных метаболитов, исходными соединениями в биосинтезе которых часто служат самые тривиальные продукты первичного метаболизма. В живой природе нет, пожалуй, ничего более устойчивого, чем первичный метаболизм, который и определяет единство всех форм жизни. Малейшие изменения в первичном метаболизме, как правило, делают не-

возможным само функционирование клетки и приводят к летальному исходу.

Для тритерпеновых гликозидов голотурий стадии биосинтеза до моносахаридов и ланостерина постоянны и отражают их филогенетическое происхождение. По модусу анаболии, очевидно, происходит эволюция агликонов в семействе Holothuriidae от (200) к (201) и далее (202): здесь филогенетические трансформации будут соответствовать биосинтетической последовательности превращений (рис. 6.7). По-видимому, анаболическим

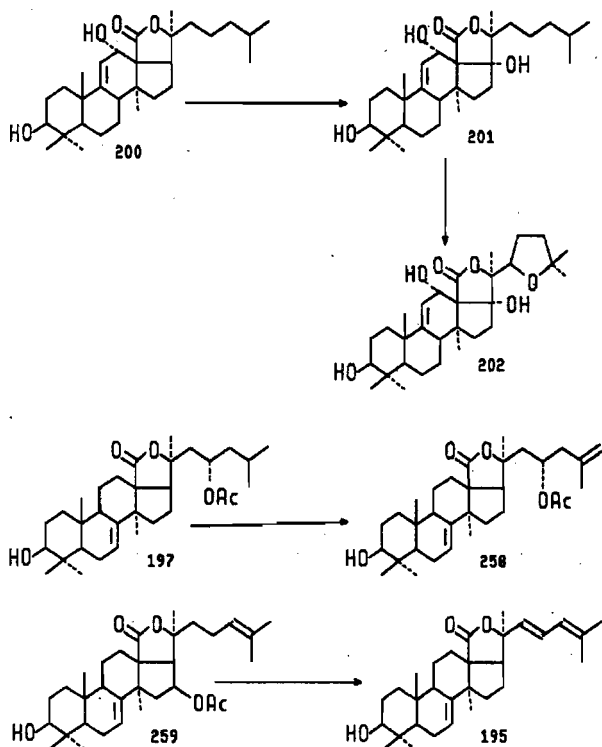


Рис. 6.7. Примеры эволюции биосинтеза гликозидов голотурий по модусу анаболии

является введение двойных связей в боковую цепь, как, например, переходы (197) → (258) или (259) → (195) (рис. 6.7).

О. Готтлиб упоминает об эволюции вторичных метаболитов уменьшением реакционной последовательности (что соответствует отрицательной анаболии по Северцову), а также переключением биосинтетических путей в начале или середине анцестральной биосинтетической последовательности (архаллаксис или девиация по Северцову) (Gottlieb, 1982; Северцов, 1939).

Понятие архаллаксиса для эволюции вторичных метаболитов из-за стабильности первичного метаболизма, строго говоря, неприменимо, здесь речь должна идти о девиации. Можно, конечно, считать первую стадию перехода от первичного метаболита ко вторичному своеобразной “биохимической дифференцировкой” и принять ее за начальную стадию биогенеза, но, на наш взгляд, это вряд ли всегда целесообразно. В случае тритерпеновых гликозидов такой девиацией является переход от агликонов с 9(11)-двойной связью к веществам с 7(8)-двойной связью, который из-за чисто химических причин может произойти только на стадии миграции двойной связи в тетрациклическом ядре ланостерина (Ильин и др., 1991). По типу девиации идет эволюционный переход от одних типов циклических систем к другим у терпеноидов (Еляков, Стоник, 1986).

В выше названных и подобных случаях последовательность биосинтетических стадий и филогенетический ряд не будут совпадать. Следовательно, необходимо различать филогенетические и биосинтетические “предшественники”. Морфологи-анатомы при построении морфологических (филогенетических) рядов стараются сравнивать признаки всех онтогенетических стадий развития организмов и их структур, то есть всей онтогенетической траектории какого-либо организма и его отдельных признаков, а не только взрослых форм. О. Готтлиб также рекомендует сравнивать не только терминальные стадии, но и биогенетические пути целиком (третий принцип О. Готтлиба) (Gottlieb, 1982).

Кроме того, нельзя забывать и об онтогенетической траектории эволюции химических структур. В разные периоды индивидуального развития, то есть онтогенеза, характер биосинтеза может меняться. Это может привести по крайней мере

к сезонным вариациям в содержании тех или иных природных соединений в организме-продуценте. Наличие или отсутствие тех или иных природных соединений в организме в тот или иной промежуток времени определяется как бы равнодействующей между процессами биосинтеза и онтогенеза. Проблемами биохимической эволюции онтогенеза давно занимаются в рамках самостоятельной дисциплины - химической эмбриологии, и поэтому здесь мы их не рассматриваем.

Имеется значительное сходство между упоминаемыми Готлибом способами эволюционных трансформаций биосинтеза вторичных метаболитов и соответствующими сравнительно-анатомическими моделями (Gottlieb, 1982; Северцов, 1939). Однако Готлиб не приводит еще один возможный способ эволюции биосинтеза, а именно выпадение каких-либо средних его этапов, при котором не затрагиваются остальные реакции в этой последовательности. Его можно соотнести с отрицательной девиацией по Северцову. Примером такой отрицательной девиации является, на наш взгляд, редукция кислородной функции в положении 16, поскольку она могла произойти лишь после появления замещающих групп при С-22, С-23 или С-12. Соответственно, наблюдаемая рекапитуляция (260) → (200), соответствующая распределению гликозидов в *Bohadschia bivittata* (Kitagawa et al., 1989a), и (261) → (198), наблюдающаяся в распределении гликозидов *Synapta maculata* (Кузнецова и др., 1985), является вторичной, по терминологии Б. С. Матвеева (Северцов, 1939), то есть не отражающей прямого филогенетического перехода (рис. 6.8).

Другим примером вторичной рекапитуляции, вызванной отрицательной девиацией, являются рекапитуляции типа ланостерин → С₃₀-агликоны. Как уже отмечалось, в эволюции агликонов веществам с нормальной боковой цепью, по-видимому, предшествовали агликоны с укороченными боковыми цепями, и наличие боковой цепи, гомологичной таковой ланостерина, - вторичное появление анцестрального признака.

Многие морфологи, генетики, специалисты в области биологии развития подчеркивают особую важность гетерохроний для эволюции (Gould, 1977; Raff, Kaufman, 1983). Однако ни Дж. Хар-

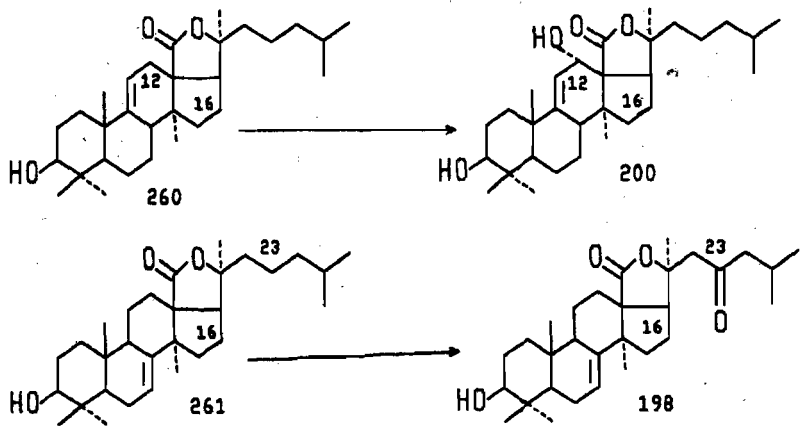


Рис. 6.8. Примеры вторичной рекапитуляции в эволюции гликозидов гологурий, возникшей из-за отрицательной девиации (блокировка окисления С-16)

борн, ни О. Готлиб не обращают внимание на этот важный фактор, вызывающий отклонения от анаболического типа эволюции биомолекул, существенно затрудняющий понимание хода филогенетической трансформации молекул. Например, углеводные цепи, причем вполне развитые, мы находим и в гликозидах с самыми примитивными агликонами. В таком случае, согласно закону Бэра, биосинтез агликонов должен идти и после формирования углеводных цепей. Но у представителей семейств Stichopodidae и Holothuriidae среди гликозидов встречаются биозиды и тетраозиды с вполне развитыми агликонами и в то же время гексаозиды с 12 α -гидроксильными группами и без, с 25(26)-двойными связями и без, с окисленными и не окисленными боковыми цепями. В гликозидах *Eupentacta fraudatrix* диеновые системы в боковой цепи агликонов преимущественно имеются у пентасахаридных гликозидов, однако недавно мы нашли в минорных количествах гликозид и с диеновой системой, и с четырьмя сахарами, а также с сульфатом.

Подобные случаи производят впечатление, что почти все филогенетические изменения в структуре гликозидов, возникнув путем анаболии, сдвигаются путем акцелераций на все более и

более ранние стадии биосинтеза, и в конечном итоге все реакции происходят почти одновременно, и наблюдаемые иногда рекапитуляции оказываются вторичными. Подобная тенденция в органогенезе называется автономизацией и придает ему дополнительную устойчивость (Шишкин, 1984). Мы полагаем, что и в рассматриваемом случае происходит нечто подобное.

Таким образом, выявление рекапитуляций на уровне всей молекулы гликозида имеет не слишком большой смысл: эволюцию агликонов необходимо рассматривать отдельно от эволюции углеводных цепей. Однако и на уровне агликонов гетерохронии, хотя и в меньшей степени, дают о себе знать. Так, окисление боковой цепи с последующим образованием 22,25-эпоксигруппы в *Holoturiidae* идет, как правило, после окисления C-17. Однако известны миноры и без C-17 гидроксила, но с эпоксигруппой

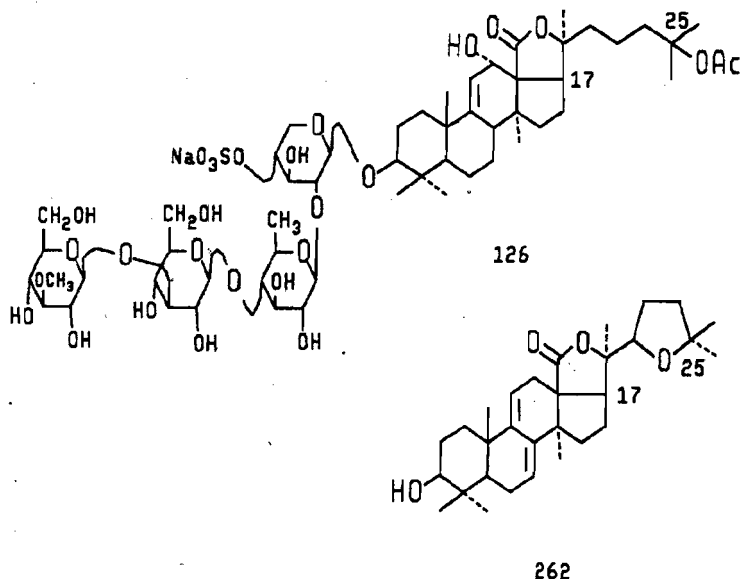


Рис. 6.9. Примеры гетерохроний в эволюции гликозидов голотурий

(262) (Chanley et al., 1966) или C-25 ацетатной группой (126) (Kitagawa et al., 1989b) (рис. 6.9).

Различают мозаичные и регуляторные онтогенезы. В мозаичных онтогенезах из-за относительной независимости отдельных органогенезов нет базы для возникновения рекапитуляций в широком масштабе, такие онтогенезы будут отличаться большой пластичностью в относительно малозначащих признаках, но в то же время большим консерватизмом в своих организационных формах (Шмальгаузен, 1982). Подобно мозаичным и регуляторным онтогенезам процессы биосинтеза также могут идти либо независимо от последовательности промежуточных реакций, либо, наоборот, с жестко детерминированной такой последовательностью. Так, большинство стадий биосинтеза тритерпеновых гликозидов голотурий относятся к мозаичному типу, а биосинтез их предшественников - ланостерина и моносахаридов, безусловно, процесс регуляторный. В ходе эволюции мозаичных биосинтезов различные их стадии могут смещаться во времени, усложняя картину филогенеза и приводя к мозаичному структурному разнообразию природных соединений. В то же время общий план строения гликозидов голотурий чрезвычайно консервативен (Калинин и др., 1990). Соответственно, для регуляторных или зависимых биосинтезов эволюция будет идти по типу анаболий, а для мозаичных - по типу девиаций и гетерохроний.

Рассмотрим два случая замедления в "закладке" функциональных групп, то есть ретардаций, которые, помимо всего прочего, в данных примерах, нарушая топографические корреляции, ведут и к новым химическим реакциям между функциональными группами. Термин "закладка" взят в кавычки, поскольку на уровне одной отдельно взятой молекулы разницы между "закладкой" функциональной группы и ее "ростом", как правило, просто нет. Однако на уровне гликозидной суммы, то есть множества молекул, его применение может быть оправдано.

Переход от агликонов с 16-ацетоксигруппой и 22(23),24(25)-диеновой системой к агликону с необычным 16,23-эпоксидом, известным для гликозидов *Parathyone* sp. (Сметанина и др., 1983), мы представляем себе как ретардацию в закладке гидроксильной группы в положение 16 и, соответственно, задер-

жку ее ацетилирования (рис. 6.10). Логично предположить, что введение дополнительной двойной связи в положение 22(23) идет через аллильное окисление С-23 и последующую дегидратацию.

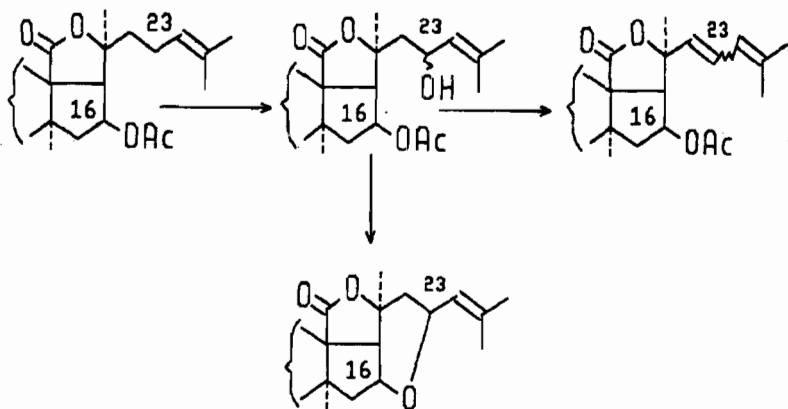


Рис. 6.10. Образование 16(23)-эпоксида в результате гетерохронии

Взаимодействие С-23 гидроксила с гидроксильной группой при С-16 и приведет к образованию соответствующего цикла.

Пожалуй, наиболее биологически важный случай гетерохронии в эволюции гликозидов голотурий - переход от 18(16)- к 18(20)-лактонам, процесс, который можно было бы назвать "го-лостанизацией" (рис. 6.11). Как показали химические исследования, проведенные в ТИБОХ ДВО РАН (Ильин и др., 1985; Шарыпов и др., 1985), в случае образования интермедиата с С-18 карбоксилем и гидроксилами при С-20 и С-16 происходит замыкание лактона на С-16, а не на С-18. Поэтому образование 18(20)-лактона может происходить лишь в отсутствии С-16 гидроксила. В пользу этой гипотезы говорит и дальнейшая полная редукция С-16-кислородных функций в ходе дальнейшего филогенеза, поскольку это соответствует давно известному в сравнительной анатомии правилу Менерта (Mehner, 1897) о том, что органы, закладка которых задерживается по времени, в ходе дальнейшей эволюции редуцируются.

Ретардация в "закладке" 16-кислородной функции также может привести к появлению вторичных рекапитуляций (по Б. С.

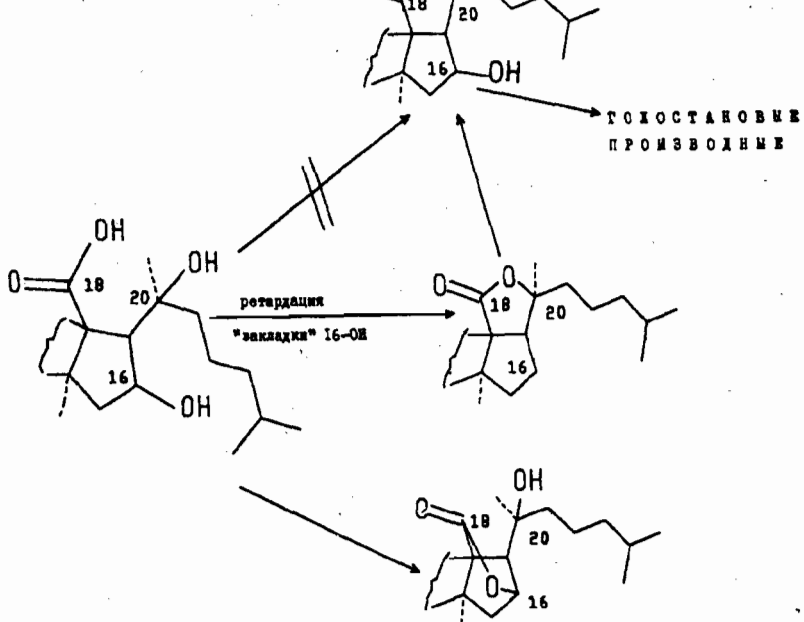


Рис. 6.11. Образование гомостановых производных путем ретардации "защелкивания" 16-OH группы

Матвееву). Так, в гликозидах *Sisymbrium jaronica* (Шарыпов и др., 1985) наряду с основным агликоном, имеющим 16-кетогруппу, обнаружены минорные количества генина, у которого кислородной функции при С-16 нет. По-видимому, это биосинтетический предшественник основного агликона. В таком

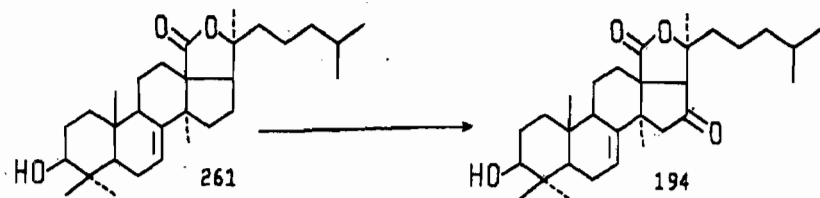


Рис. 6.12. Пример вторичной рекапитуляции, вызванной ретардацией в закладке С-16 кислородной функции

случае наблюдаемая рекапитуляция (261)→(194) также не отражает прямого филогенеза (рис. 6.12)

Здесь уместно рассмотреть и проблему химической редукции функциональных групп в филогенезе. Говорить о редукции путем рудиментации на уровне отдельно взятой молекулы бессмысленно. Однако для гликозидной суммы в целом это понятие имеет биологический смысл. Вещества, содержащие “рудиментарные” функциональные группы, просто становятся минорными компонентами, утрачивая биологическую значимость. Примерами таких рудиментов являются агликон (203) из *Actinopyga*

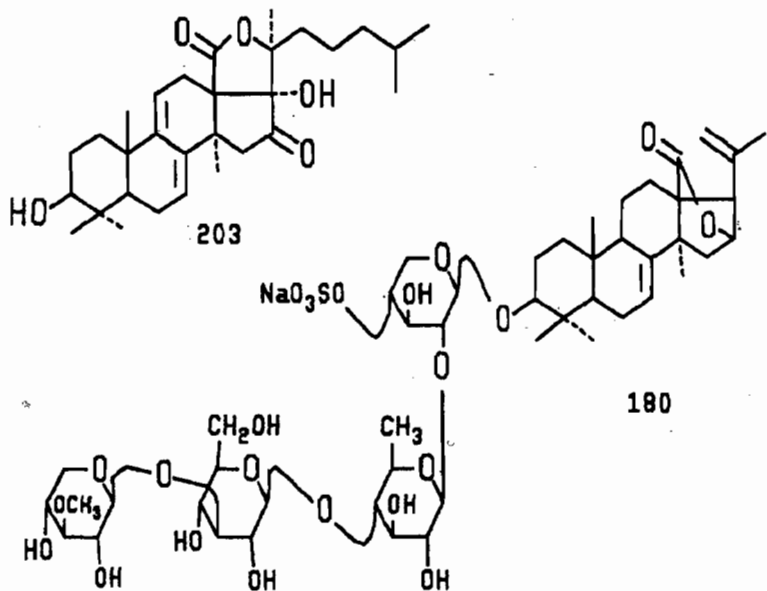


Рис. 6.13. Примеры химических рудиментов

flammea (Bhatnagar et al., 1985) и гликозид (180) из *Eupentacta fraudatrix* (Авилов и др., 1991б) (рис. 6.13). Среди минорных компонентов, следовательно, будут не только “горячие” метаболиты-предшественники или вещества, отражающие какие-то тенденции дальнейших филогенетических преобразований, но, в значительной степени, и химические рудименты, характеризующие

ющие самые древние эволюционные процессы и несущие уникальную информацию о филогенезе. Поскольку морфологические рудименты сохраняются целые геологические эпохи, то и химические рудименты должны сохраняться достаточно долго. Их поиск - очень интересная и перспективная задача для специалистов в области химии природных соединений.

6.5. Общий ход филогенеза тритерпеновых гликозидов голотурий

Для применения морфологических закономерностей эволюции при построении филогенетических рядов биомолекул, и в частности тритерпеновых гликозидов голотурий, полезно представить общий ход их эволюции в терминах и понятиях эволюционной морфологии.

Общий ход филогенеза морфологи-анатомы рассматривают в рамках теории ароморфоза и идиоадаптаций А. Н. Северцова (в западной литературе часто используют эквивалентные термины Ренша - анагенез и кладогенез) (Rensch, 1960). Под ароморфозом понимается такое изменение морфологической организации, которое ведет к качественно новым возможностям в расширении адаптивных зон и общему морфофизиологическому прогрессу. Признаки, приобретаемые в ходе ароморфоза, чрезвычайно консервативны, а дальнейшая эволюция идет путем идиоадаптаций, то есть мелких частных приспособлений.

Нам представляется полезным использовать понятие биохимического ароморфоза, сходного с понятием арохимоза, предложенным ранее А. В. Благовещенским (1966). Биохимический ароморфоз в нашем понимании - это такое эволюционное изменение биомолекулы, которое ведет к изменению самой ее организации, то есть взаиморасположения частей (резкому изменению скелетной системы). Это приводит, как следствие, к значительному изменению ее биологической активности. В ходе дальнейшей эволюции такие молекулы подвергаются многочисленным модификациям, но без изменения их

организации и, соответственно, без столь резких изменений в биологической активности, которые можно отнести к идиоадаптациям (рис. 6.14). Здесь следует сделать некоторую оговорку. Небольшие изменения в структурах, общее увеличение разнообразия молекул какого-либо типа далеко не всегда, как уже отмечалось, может иметь непосредственное адаптивное значение хотя бы потому, что одна и та же биологическая задача может быть примерно с одинаковым успехом решена разными вариантами какой-либо структуры, на что обращали внимание многие морфологи-анатомы (Иорданский, 1986, 1990). Однако для упрощения терминологии мы также будем относить подобные случаи к идиоадаптациям, хотя использование более широкого и, соответственно, в данном случае более точного понятия кладогенез, введенного Б. Реншем (Rensch, 1960), здесь было бы вполне уместно.

Особенно наглядно концепция ароморфоза и идиоадаптаций проявляется на примере вторичных метаболитов, которые образуют структурные (биосинтетические) группы, тесно привязанные к тем или иным достаточно крупным таксонам. Наличие

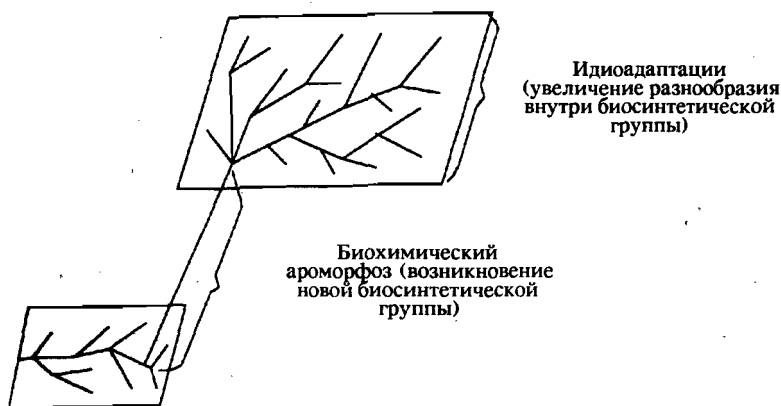


Рис. 6.14. Графическая иллюстрация применения концепции ароморфоза и идиоадаптаций к биохимическому уровню (с использованием схемы из: Северцов, 1939)

таких групп веществ является признаком биохимических ароморфозов.

Биохимические ароморфозы часто связаны с возникновением в процессе эволюции эффективных средств межвидовой борьбы, а именно химических средств нападения или защиты, которые сохраняются практически у всех или большинства эволюционных потомков. В первом случае это повышает энергию жизнедеятельности за счет более эффективной добычи пищи, во втором - позволяет занять новые адаптивные зоны, что также является признаком биохимических ароморфозов.

С концепцией ароморфоза и идиоадаптаций в некоторой степени коррелирует первый принцип эволюции микромолекул О. Готлиба, согласно которому группы вторичных метаболитов образуются блокированием реакционной последовательности первичных метаболитов и последующей диверсификацией внутри образовавшейся новой биогенетической группы веществ (Gottlieb, 1982).

Однако концепция ароморфоза шире, поскольку новая группа или "подгруппа" вторичных метаболитов может происходить и от другой группы вторичных метаболитов, что не упоминается О. Готлибом (Gottlieb, 1982).

Таким случаем являются, например, переходы между различными структурными типами гликозидов голотурий, в частности от тритерпеновых агликонов с 18(16)-лактоном к веществам с 18(20)-лактоном. Подавляющее большинство гликозидов голотурий содержат 18(20)-лактон в агликоне, то есть являются так называемыми голостановыми производными. При переходе от одних голостановых производных к другим происходит относительно небольшое изменение биологической активности, тогда как при переходе от веществ, не имеющих лактона вообще или имеющих 18(16)-лактон, к голостановым производным гемолитическая активность повышается почти на два порядка. Приобретение эффективных средств химической защиты от хищников дает голотуриям значительные селективные преимущества. Даже в условиях жесточайшей борьбы за пищевые ресур-

сы в сообществах коралловых рифов многие токсичные голотурии-детритофаги могут питаться совершенно открыто, образуя большие скопления. Фильтрующие животные также могут располагаться более открыто в местах наибольшего изобилия пищевых ресурсов.

“Все прогрессивные изменения в органах движения, нападения и защиты, - указывает А. Н. Северцов, - имеют хотя и косвенное, но постоянное влияние на способ питания, то есть на качество и количество потребляемой пищи, таким образом, все они косвенным путем повышают энергию жизнедеятельности эволюционных форм ... Всякий ароморфоз, раз появившись, остается у потомков данной формы в качестве весьма постоянного признака.” (Северцов, 1939. С. 294 - 295). И действительно, как отмечалось выше, подавляющее большинство известных к настоящему времени гликозидов голотурий - голостановые.

Переход к голостановым производным в эволюции гликозидов голотурий сыграл важную адаптивную роль в эволюции этих животных, однако он не вызвал при этом общего повышения их морфологической организации. Для подобных случаев Н. Н. Иорданский (1990) предлагает ввести понятие эпектоморфоза - частной адаптации общего значения. По его мнению, большинство биохимических ароморфозов являются именно эпектоморфозами (Н. Н. Иорданский, личное сообщение).

В ходе эволюции вторичных метаболитов в периоды биохимических ароморфозов происходят в основном изменения их циклических систем, при этом возникают первые представители новой биогенетической (структурной) группы веществ. Филогенез в этих случаях происходит главным образом аналогично таким модусам филэмбриогенеза, как архаллаксис и девиация (отклонения на начальных и средних стадиях биосинтеза), а также гетерохрония. О блокировке начальных стадий биосинтеза при образовании новых биогенетических групп веществ говорит и О. Готлиб (первый принцип). В этот период происходит смена или расширение функций этих веществ.

В периоды идиоадаптаций происходит увеличение структурной диверсификации внутри биосинтетической группы, возникает куст из новых соединений близкой структуры. При этом эволюция идет в основном по анаболическому типу (увеличением биосинтетической последовательности) с последующими гетерохрониями. В этот период обычно происходит интенсификация функций. Она может реализовываться путем увеличения соответствующей биологической активности. Для сигнальных или защитных соединений интенсификация функций возможна и без увеличения биологической активности, путем улучшения транспортных свойств (растворимости или летучести).

Интенсификация функций реализуется в периоды идиоадаптаций через филогенетические субституции. Основными типами эволюции здесь будут процессы, подобные клейненберговской субституции органов, на молекулярном уровне. На субмолекулярном уровне будут проходить процессы, сходные с клейненберговской субституцией органов и северцовской субституцией функций. Если в ходе филогенетической субституции не происходит интенсификация функций, то имеет место либо выигрыш в "метаболической цене", либо эволюционная блокировка нежелательных отклонений в ходе биосинтеза.

Резкое изменение условий среды, адаптация к новым условиям могут вновь привести к повторению биохимического ароморфоза, то есть к образованию новой структурной группы веществ и последующим идиоадаптациям. В результате возникает своеобразная лестница химических форм с площадками - структурными группами, причем нижние площадки постепенно сокращают свою площадь, то есть количество соединений на них уменьшается, а оставшиеся переходят в минорные компоненты и являются "химическими рудиментами" (рис. 6.14). Естественно, что информация об "исчезнувших" соединениях может храниться в "молчащих" генах и в некоторых случаях быть востребована при изменении условий среды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

ХИМИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ - НОВЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОТНОШЕНИЙ БИОМОЛЕКУЛ И ИХ ЭВОЛЮЦИИ

Сформулируем общую процедуру применения морфологических закономерностей эволюции для построения филогенетических рядов биомолекул. Для составления такого ряда необходимо: 1. Сопоставить структуры и таксономическое распределение сравниваемых биомолекул и исходя из этого построить гипотетический ряд. 2. Провести биотестирование выбранного ряда веществ на активность, близкую по механизму к природной функции. 3. Сопоставить биологические активности членов ряда с сравнительно-анатомическими моделями эволюции функций (модусами органогенеза), а именно с филогенетической субституцией органов (по Клейненбергу) или функций (по Северцову); при этом учесть модус интенсификации функций. Если увеличение биологической активности в выбранном ряду не происходит или происходит незначительное снижение биологической активности, то необходимо учесть возможности: а) интенсификации функций за счет улучшения транспортных свойств (растворимости или летучести), б) выигрыш в метаболической цене, в) эволюционную блокировку нежелательных отклонений в биосинтезе. В случае необходимости скорректировать ряд. 4. Сопоставить эволюционный ряд биомолекул с возможными способами трансформаций их биосинтеза. Учесть при этом способы, вызывающие отклонения от анаболического пути эволюции биосинтеза.

Полная реализация этой процедуры возможна далеко не во всех случаях. Например, очень часто невозможно выбрать модель для биотестирования соответствующей природной функции веществ, не всегда ясна и сама эта функция. Экспериментальные данные по биосинтезу тех или иных соединений часто отсутствуют. В подобных случаях необходимо пользоваться отдельными

этапами описанной выше процедуры, допустима перемена последовательности ее стадий. В любом случае гипотетический филогенетический ряд биомолекул полезно сопоставить с сформулированными общими закономерностями филогенетической трансформации биомолекул.

Филогенетическая трансформация молекул идет по тем же моделям (морфологическим закономерностям), что и эволюционная трансформация анатомических структур. Способы эволюции биомолекул, установленные Дж. Харборном и О. Готлибом, полностью соответствуют этим моделям, но не исчерпывают их. Использование сравнительно-анатомических моделей филогенетических структурных трансформаций позволяет систематизировать данные по структурному разнообразию, таксономическому распределению и биологической активности природных соединений и дать им филогенетическую интерпретацию.

Авторам не хотелось, чтобы их рассуждения были приняты на веру без критического осмысления. В случае использования понятий ароморфоза и идиоадаптации, а также теории модусов органогенеза мы основываемся на сравнительно-биохимических данных и данных по биологической активности, количественных и воспроизводимых. Но здесь, например, мы сознательно ограничиваемся только двумя возможными функциями тритерпеновых гликозидов - регуляцией размножения и защитной. Кроме того, не затрагивается возможность выполнения разными компонентами гликозидных сумм разных функций, то есть эволюция типа разделения органов и функций по А. Н. Северцову. В случае теории филэмбриогенезов большинство рассуждений у нас построены главным образом на сравнительно-биохимических данных; биодинамические доказательства по исследованию тех или иных последовательностей биосинтетических реакций (эксперименты с мечеными предшественниками и др.) немногочисленны и явно недостаточны. Это сопоставимо с недостатком эмбриологических данных в эволюционной морфологии животных.

Тем не менее мы считаем, что сама логика доказательств, возможность их увязки друг с другом наглядно показывают применимость морфологических подходов к анализу биохимических данных, что позволяет зачастую глубже понять природу биохимической эволюции, по-новому рассмотреть проблемы взаимоотношения химической структуры и биологической функции в динамике филогенеза биомолекул.

Вместе с тем отдельные разработки из сравнительной биохимии, как представляется, могут быть полезными и на сравнительно-анатомическом уровне. Так, на биохимических примерах хорошо видно, что для решения одной и той же биологической задачи существует не одно, а множество биохимических (структурных) решений. Подобным случаем, например, является вырожденность генетического кода. Анатомы же ограничивают необходимые условия филогенеза, как правило, только двумя - возможностью количественных изменений функций и мультифункциональностью органов. Н. Н. Иорданский (1982) отмечает случаи разных решений одной и той же биологической задачи на разных уровнях организации органов и систем. Множество подобных явлений отмечал и В. Н. Беклемишев (1964. Т. 2). Приведенные примеры показывают, что эти явления носят общий характер, возможна множественность решений на одном и том же уровне организации систем. Этот принцип предлагается назвать условием морфологической вырожденности биологических функций.

Расширение "территории" приложения какой-либо концепции относительно той области, где она первоначально сформировалась, ведет прежде всего к усилению ее обобщающей и предсказующей силы (Калакуцкий, 1984). Некоторые спорные моменты теории филэмбриогенезов также лучше разрешимы на химическом уровне. На примере эволюции вторичных метаболитов гораздо четче просматриваются все модусы филэмбриогенеза, поскольку процесс биосинтеза, в отличие от онтогенеза, не нужно делить на стадии "морфогенеза" и "роста" (Gould, 1977), для него не имеет смысла понятие ценогенеза (эмбрионального приспособления). Многие эволюционисты,

справедливо подчеркивая важность гетерохроний, вообще отрицают анаболическую эволюцию, то есть изменения по типу добавления стадий (Gould, 1977; Raff, Kaufman, 1983). Многочисленные химические данные, в том числе приведенные в работах Г. Б. Елякова и В. А. Стоника (1986, 1988), показывают, напротив, что анаболия является одним из основных типов эволюции. М. А. Шишкин (1984) отрицает возможность эволюции морфологических структур путем девиации, допуская лишь анаболию и гетерохронии (Шишкин, 1984). Однако в эволюции биомолекул, и в частности вторичных метаболитов, девиации - наоборот, чрезвычайно распространенный модус филэмбриогенеза. Совершенно невозможно объяснить, как уже отмечалось, например, эволюцию биосинтеза разнообразнейших циклических систем терпеноидов без понятия девиации (Еляков, Стоник, 1986). Н. Н. Иорданский также отмечает недооценку М. А. Шишкиным девиаций и архаллакисов, указывая, что многие перестройки челюстного аппарата должны были возникнуть как изменения более или менее ранних стадий морфогенеза соответствующих структур (Иорданский, 1986). Распространение морфологических подходов на химический уровень организации живого позволит дать более целостную картину организма в его эволюционной динамике (Dunker, 1983).

Таким образом, мы видим, что возможен и полезен поток идей как от анатомов к биохимикам, так, по-видимому, и в противоположном направлении.

Нижним пределом морфологического анализа, безусловно, является молекулярный и даже субмолекулярный уровень. В то же время на этом структурном уровне действуют и свои, чисто химические законы. Возникающий на стыке эволюционной морфологии и сравнительной биохимии подход, заключающийся в применении сравнительно-морфологического метода на молекулярном уровне с целью выявления общеморфологических закономерностей биохимической эволюции мы предлагаем назвать химической морфологией.

Объект анализа химической морфологии тот же, что у сравнительной биохимии, - биомолекулы. Основной метод

анализа - гомологический метод сравнения - общий для морфологии (сравнительной анатомии) и сравнительной биохимии. Совпадают даже критерии гомологии, в том числе структурный, а также критерий "положения" и наличия переходных форм между сопоставляемыми органами и, соответственно, молекулами. Кроме того, если в морфологии важнейшим методом установления гомологий является эмбриология, а соответствующий критерий называется онтогенетическим, то сравнительная биохимия пользуется очень сходным биогенетическим критерием (Флоркен, 1947; Бляхер, 1976). Основное различие между химической морфологией и сравнительной биохимией заключается в цели анализа: химическая морфология выявляет наиболее общие закономерности биохимической эволюции, в то время как сравнительная биохимия - главным образом ее конкретные, частные пути.

Морфологические закономерности, как мы полагаем, являются наиболее общими законами биохимической эволюции, а химическая морфология, соответственно, своего рода теоретической эволюционной биохимией. Именно химическая морфология может стать базой для окончательного оформления хемосистематики как научной дисциплины.

ЛИТЕРАТУРА

Авилов С. А., Стоник В. А. Новые тритерпеновые гликозиды из голотурии *Cladolabes* sp. // Химия природ. соединений. 1988. N 5. С. 764 - 765.

Авилов С. А., Калиновский А. И., Стоник В. А. Новый тритерпеновый гликозид из голотурии *Neothyonidium magnum* // Химия природ. соединений. 1990а. N 1. С. 53 - 57.

Авилов С. А., Стоник В. А., Калиновский А. И. Структура четырех новых тритерпеновых гликозидов из голотурии *Cucumaria japonica* // Химия природ. соединений. 1990б. N 6. С. 787 - 792.

Авилов С. А., Калиновский А. И., Стоник В. А. Два новых тритерпеновых гликозида из голотурии *Duasmodyctyla kurilensis* // Химия природ. соединений. 1991а. N 2. С. 221 - 226.

Авилов С. А., Калинин В. И., Калиновский А. И., Стоник В. А. Кукумариозид G₂ - минорный тритерпеновый гликозид из голотурии *Eupentacta fraudatrix* // Химия природ. соединений. 1991б. N 3. С. 438 - 439.

Авилов С. А., Калинин В. И., Дроздова О. А., Калиновский А. И., Стоник В. А., Гудимова Е. Н. Тритерпеновые гликозиды голотурии *Cucumaria frondosa* // Химия природ. соединений. 1993. N 2. С. 49 - 52.

Аминин Д. Л., Анисимов М. М., Мокрецова Н. Д., Стригина Л. И., Левина Э. В. Влияние тритерпеновых и стероидных гликозидов на овоциты, яйца и эмбрионы голотурии *Stichopus japonicus* и морского ежа *Strongylocentrotus nudus* // Биол. моря. 1986. N 3. С. 49 - 52.

Аминин Д. Л., Анисимов М. М. Содержание голотоксина в тканях голотурии *Stichopus japonicus* в разные сезоны года и их влияние на созревание овоцитов // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1987. Т. 23, N 4. С. 545 - 547. Аминин Д. Л., Осипов А. Н., Корепанова Е. А., Анисимов М. М. Влияние голотоксина А₁ на микровязкость модельных и биологических мембран // Биофизика. 1989. Т. 34, N 2. С. 318 - 319.

Аминин Д. Л., Анисимов М. М. Влияние голотоксина А₁ на транспорт Са²⁺ и мейотическое созревание овоцитов голотурии *Stichopus japonicus* // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1990а. Т. 26, N 1. С. 9 - 13.

Аминин Д. Л., Лебедев А. В., Левицкий Д. О. Влияние голотоксина А₁ на перенос ионов кальция через липидные модели биологических мембран // Биохимия. 1990б. Т. 55, N 2. С. 270 - 275.

Аминин Д. Л., Анисимов М. М., Попов А. М., Корепанова Е. А., Осипов А. Н., Калиновская Н. И., Афиятуллоев Ш. Ш. Влияние тритерпеновых гликозидов голотоксина А₁ и кукумариозида G₁ на липидные бислои, содержащие стероиды // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1990в. N 5. С. 657 - 662.

Анисимов М. М. Тритерпеновые гликозиды и структурно-функциональные свойства мембран // Биол. науки. 1987. N 10. С. 49 - 63.

Анисимов М. М., Прокофьева Н. Г., Кузнецова Т. А., Перетолчин Н. В. Влияние некоторых тритерпеновых гликозидов на синтез белка в культуре клеток костного мозга крыс // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1971. N 1. С. 137 - 140.

Анисимов М. М., Щеглов В. В., Стоник В. А., Кульга А. Л., Левина Э. В., Левин В. С., Еляков Г. Б. Сравнительное изучение антигрибковой активности тритерпеновых гликозидов тихоокеанских голотурий // Докл. АН СССР. 1972. Т. 207, N 3. С. 711 - 713.

Анисимов М. М., Щеглов В. В., Кузнецова Т. А., Еляков Г. Б. Чувствительность клеток *Candida albicans* к действию тритерпеновых гликозидов дальневосточного трепанга *Stichopus japonicus* Selenka // Микробиол. 1973. Т. 42, N 4. С. 667 - 671.

Анисимов М. М., Щеглов В. В., Дзизенко С. Н., Стригина Л. И., Уварова Н. И., Ошиток Г. И., Кузнецова Т. А., Четырина Н. С., Сокольский Н. Н. Влияние некоторых стероинов на антимикробную активность тритерпеновых гликозидов растительного и животного происхождения // Антибиотики. 1974. N 7. С. 625 - 629.

Анисимов М. М., Гафуров Н. Н., Баранова С. И., Щеглов В. В., Парсницкая А. И., Рассказов В. А. Влияние тритерпеновых гликозидов на активность некоторых ферментов субклеточных фракций печени крыс и эмбрионов морских ежей // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1977. N 2. С. 301 - 303.

Анисимов М. М., Щеглов В. В., Киселева М. И. Влияние некоторых тритерпеновых гликозидов на проницаемость плазматических мембран для аминокислот в дрожжевых клетках *Saccharomyces carlsbergensis* // Антибиотики. 1978а. N 1. С. 66 - 69.

Анисимов М. М., Щеглов В. В., Дзизенко С. Н. Влияние некоторых тритерпеновых гликозидов на биосинтез стероидов и жирных кислот у дрожжей *Saccharomyces carlsbergensis* // Прикл. биохимия и микробиология. 1978б. Т. 14, N 4. С. 573 - 582.

Анисимов М. М., Чирва В. Я. О биологической роли тритерпеновых гликозидов // Успехи современной биол. 1980. N 6. С. 573 - 582.

Анисимов М. М., Иванов А. С., Попов А. М., Киселева М. И., Себко И. Г., Коротких Л. Я., Антонов А. С., Стоник В. А., Антонов В. Ф. Влияние некоторых тритерпеновых гликозидов и полиеновых антибиотиков на проницаемость клеточных мембран для ионов K^+ и УФ-поглощающих веществ // Прикл. биохимия и микробиология. 1981. Т. 17, N 6. С. 890 - 895.

Анисимов М. М., Аминин Д. Л., Киселева М. И., Агафонова И. Г., Прокофьева Н. Г., Мальцев И. И., Стоник В. А. Изучение цитостатической активности тритерпеновых гликозидов из тропической голотурии *Stichopus chloronotus* // Проблемы научных исследований и освоения Мирового океана: Тез. докл. IV Всесоюз. конф. Владивосток, 1983а. С. 155 - 156.

Анисимов М. М., Аминин Д. Л., Ровин Ю. Г., Лихацкая Г. Н., Попов А. М., Кузнецова Т. А., Калиновская Н. И., Еляков Г. Б. Об устойчивости клеток голотурии *Stichopus japonicus* S. к действию эндотоксина - стихопозида А // Докл. АН СССР. 1983б. Т. 270, N 4. С. 991 - 993.

Антонов А. С., Стоник В. А. Гликозиды голотурий рода *Bohadschia* // Химия природ. соединений. 1986. N 3. С. 379 - 380.

Афиятуллоев Ш. Ш., Тищенко Л. Я., Стоник В. А., Калиновский А. И., Еляков Г. Б. Структура кукумариозида G₁ - нового тритерпенового гликозида из голотурии *Cucumaria fraudatrix* // Химия природ. соединений. 1985. N 2. С. 244 - 248.

Афиятуллоев Ш. Ш., Калиновский А. И., Стоник В. А. Строение кукумаринидов С₁ и С₂ - двух новых тритерпеновых гликозидов из голотурии *Eupentacta fraudatrix* // Химия природ. соединений. 1987. N 6. С. 831 - 837.

Арендт Ю. А. Система иглокожих. 1, 2 // Зоол. журн. 1983. Т. 62, вып. 9. С. 1301 - 1313; Вып. 10. С. 1445 - 1456.

Баранова С. И., Кульга А. Л., Анисимов М. М., Стоник В. А., Левина Э. В., Левин В. С., Еляков Г. Б. Сравнительное изучение влияния гликозидных фракций тихоокеанских голотурий на биосинтез РНК в культуре дрожжевых клеток // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1973. N 2. С. 284 - 286.

Барбье М. Введение в биохимическую экологию. М.: Мир, 1978. 229 с.

Батраков С. Г., Гиршович Е. С., Дрожжина Н. С. Тритерпеновые гликозиды с антигрибковой активностью, выделенные из морской кубышки *Cucumaria japonica* // Антибиотики. 1980. N 6. С. 408 - 411.

Батраков С. Г., Муратов В. Б., Саканделидзе О. Г., Сулима А. В., Розынов Б. В. Церебросиды дальневосточной голотурии *Cucumaria japonica* // Биоорг. химия. 1983. Т. 9, N 4. С. 539 - 552.

Батраков С. Г., Муратов В. Б., Саканделидзе О. Г., Решетова О. С., Розынов Б. В. Сульфаты стериннов из дальневосточной голотурии *Cucumaria japonica* // Химия природ. соединений. 1984а. N 4. С. 470 - 477.

Батраков С. Г., Муратов В. Б., Саканделидзе О. Г., Розынов Б. В. Гликозиды стериннов из дальневосточной голотурии *Cucumaria japonica* // Химия природ. соединений. 1984б, N 5. С. 615 - 621.

Беклемишев В. Н. Основы сравнительной анатомии беспозвоночных. М.: Наука, 1964. Т. 1. Проморфология. 432 с; Т. 2. Органология. 446 с.

Беляев Г. М. Новый класс иглокожих // Природа. 1987. N 7. С. 100 - 101.

Благовещенский А. В. Биохимическая эволюция цветковых растений. М.: Наука, 1966. 327 с.

Бляхер Л. Я. Очерк истории морфологии животных. М.: Изд-во АН СССР, 1962, 256 с.

Бляхер Л. Я. Проблемы морфологии животных. Исторические очерки. М.: Наука, 1976. 358 с.

Вавилов Н. И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости // Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. Л.: Наука, 1987а. С. 56 - 100. Вавилов Н. И. Пути советской растениеводческой науки (ответ критикам) // Там же. Л.: Наука, 1987б. С. 189 - 205.

Васильева Л. Н. Типологическая школа систематики // Методологические проблемы биологии и экологии. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 1989. С. 26 - 43.

Воробьева Э. И. Эволюционная морфология и теория эволюции // Морфология и экология животных. М.: Наука, 1986. С. 5 - 29.

Воронцов Н. Н. Неравномерность темпов преобразования органов и принцип компенсации функций // Зоол. журн. 1963. Т. 52, Вып. 9. С. 1289 - 1305.

Воронцов Н. Н. О методологии морфологии и уровнях морфологического анализа // Журн. общ. биологии. 1989. Т. 50, N 6. С. 737 - 745.

Галкин В. В., Бердышев Г. Д. Состав оснований и физико-химические свойства дезоксирибонуклеиновой кислоты Молок трепанга // 2-й Дальневосточный симп. по биоорганической химии. Владивосток, 1969. С. 29.

Галкин В. В., Бердышев Г. Д. Характеристика рибонуклеиновых кислот трепанга // Гидробиол. журн. 1971. Т. 7, N 6. С. 67 - 71.

Гебрук А. В. Глубоководные голотурии семейства эльпидиид. М.: Наука, 1990. 160 с.

Голдовский А. М. О закономерностях биохимических изменений организмов при их морфологическом усложнении // Закономерности прогрессивной эволюции. Л.: Ин-т истории естествознания и техники АН СССР, 1972. С. 83 - 94.

Голдовский А. М. Биохимия и проблемы эволюции // Проблемы эволюции. 1973. Т. 3. С. 57 - 82.

Гришин Ю. И., Беседнова Н. Н., Стоник В. А., Ковалевская А. М., Авиллов С. А. Регуляция гемопоза и иммуногенеза тритерпеновыми гликозидами из голотурий // Радиобиология. 1990. Т. 30, N 4. С. 556.

Гришин Ю. И., Ковалевская А. М., Стоник В. А., Авиллов С. А., Влазнев В. П., Слугин В. С. Иммуностимуляторы для звероводства КМ и КМ-2 // Новости звероводства. 1991. N 2. С. 19 - 23.

Дарвин Ч. Происхождение видов. М.: Сельхозгиз, 1952. 483 с.

Дембицкий В. М., Васьяковский В. Е. Распределение плазмалогенов в различных классах фосфолипидов морских беспозвоночных // Биол. моря. 1976. N 1. С. 68 - 72.

Дембицкий В. М. Плазмалогены в липидах морских беспозвоночных // Биология моря 1979. N 5. С. 86 - 907.

Дмитренко П. С., Шубина Л. К., Макарьева Т. Н., Стоник В. А. Стерины голотурий *Chiridota discolor* и *Synallactes chuni* // Химия природ. соединений. 1988. N 2. С. 303 - 304.

Дроздова О. А., Авиллов С. А., Калиновский А. И., Стоник В. А. Новый ацетилованный гликозид из голотурии *Cucumaria japonica* // Химия природ. соединений. 1992а. N 5. С. 590 - 591.

Дроздова О. А., Авиллов С. А., Калиновский А. И., Стоник В. А. Минорный гликозид из голотурии *Cucumaria japonica* // Химия природ. соединений. 1992б. N 5. С. 593.

Дроздова О. А., Авиллов С. А., Калиновский А. И., Стоник В. А., Мильгром Ю. М., Рашкес Я. В. Новые гликозиды из голотурии *Cucumaria japonica* // Химия природ. соединений. 1993а. N 2. С. 242 - 248.

Дроздова О. А., Авиллов С. А., Калиновский А. И., Стоник В. А., Мильгром Ю. М., Рашкес Я. В. Трисульфатированные гликозиды из голотурии *Cucumaria japonica* // Химия природ. соединений. 1993б. N 3. С. 369 - 374.

Еляков Г. Б., Кузнецова Т. А., Конде К., Калиновская Н. И., Калиновский А. И., Сметанина О. Ф. Гликозиды морских беспозвоночных. VIII. Стероидные гликозиды голотурии *Isostichopus badionotus* // Химия природ. соединений. 1979. N 6. С. 799 - 802.

Еляков Г. Б., Стоник В. А. Терпеноиды морских организмов. М.: Наука, 1986. 270 с.

Еляков Г. Б., Стоник В. А. Стероиды морских организмов. М.: Наука, 1988. 208 с.
Заренков Н. А. Теоретическая биология. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1988. 213 с.
Зубов Н. Н. Основы учения о приливах Мирового океана. М.: Географгиз, 1956.

Иванов А. С., Мольнар А. А., Петров В. В., Попов А. М., Анисимов М. М. Действие тритерпеновых гликозидов на проницаемость липосомальных и эритроцитарных мембран // Липосомы. Взаимодействие с клетками и тканями. Материалы Всесоюз. симпоз. М.: Наука, 1981. С. 115 - 123.

Иванова Н. С., Кузнецова Т. А. Голотурин А - основной тритерпеновый гликозид кювьеровых органов голотурии *Bohadschia graeffei* // Химия природ. соединений. 1985. N 1. С. 123 - 124.

Иванова Н. С., Сметанина О. Ф., Кузнецова Т. А. Гликозиды морских беспозвоночных. XXVI. Голотурин А из тихоокеанской голотурии *Holothuria squamifera*. Выделение нативного агликона // Химия природ. соединений. 1984. N 4. С. 448 - 451.

Иванова-Казас О. М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Иглокожие и полухордовые. М.: Наука, 1978. 166 с.

Ильин С. Г., Решетняк М. В., Африятуллоев Ш. Ш., Стоник В. А., Еляков Г. Б. Кристаллическая и молекулярная структура диацетата голост-8(9)-ен-3 β ,16 β -диола // Докл. АН СССР. 1985. Т. 284, N 2. С. 356 - 359.

Ильин С. Г., Шарыпов В. Ф., Стоник В. А., Антипин М. Ю., Стручков Ю. Т., Еляков Г. Б. Кристаллическая и молекулярная структура (23S)-ацетокси-9 β -го-лост-7-ен-3 β -ола и стереохимические особенности миграции двойной связи из положения 7(8) в 8(9) и 9(11) в тритерпеноидах голостанового ряда // Биоорг. химия. 1991. Т. 17, N 8. С. 1123 - 1128.

Иорданский Н. Н. Форма, функция и биологическая роль органов и структур. К методологии морфофункционального анализа // Проблемы развития морфологии животных. М.: Наука, 1982. С. 112 - 121.

Иорданский Н. Н. Механизмы эволюционных перестроек сложных адаптивных комплексов // Морфология и эволюция животных. М.: Наука, 1986. С. 38 - 49.

Иорданский Н. Н. Эволюция комплексных адаптаций: Челюстной аппарат амфибий и рептилий. М.: Наука, 1990. 310 с.

Калакуцкий Л. В. Микробиология и развитие эволюционных представлений // Вопросы эволюции бактерий: Сб. научн. трудов. Пушкино: Научный центр биологических исследований АН СССР, 1984. С. 3 - 24.

Калинин В. И. Морфологические закономерности в эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий (*Holothurioidea*, *Echinodermata*) // Журн. общ. биологии. 1992. Т. 53, N 5. С. 672 - 688.

Калинин В. И., Стоник В. А., Авилов С. А., Еляков Г. Б. Гликозиды голотурии *Holothuria edulis* // Химия природ. соединений. 1981. N 3. С. 403 - 404.

Калинин В. И., Стоник В. А. Гликозиды морских беспозвоночных. Структура голотурина А₂ из голотурии *Holothuria edulis* // Химия природ. соединений. 1982а. N 2. С. 215 - 219.

Калинин В. И., Стоник В. А. Гликозиды голотурии *Bohadschia graeffei* // Химия природ. соединений. 1982б. N 6. С. 789 - 790.

Калинин В. И., Калиновский А. И., Стоник В. А. Структура псолусозида А - основного тритерпенового гликозида из голотурии *Psolus fabricii* // Химия природ. соединений. 1985. N 2. С. 212 - 217.

Калинин В. И., Малютин А. Н., Стоник В. А. Каудинозид А - новый тритерпеновый гликозид из голотурии *Paracaudina ransonetii* // Химия природ. соединений. 1986. Т 3. С. 378 - 379.

Калинин В. И., Афиятуллов Ш. Ш., Калиновский А. И. Тритерпеновые гликозиды голотурии *Eupentacta pseudoquinquesemita* // Химия природ. соединений. 1988. N 2. С. 221 - 225.

Калинин В. И., Калиновский А. И., Стоник В. А., Дмитренко П. С., Елькин Ю. Н. Структура псолусозида В - неголостанового тритерпенового гликозида из голотурий рода *Psolus* // Химия природ. соединений. 1989а. N 3. С. 361 - 368.

Калинин В. И., Стоник В. А., Калиновский А. И., Исаков В. В. Структура псевдостихопозида А - основного тритерпенового гликозида из голотурии *Pseudostichopus trachus* // Химия природ. соединений. 1989б. N 5. С. 678 - 684.

Калинин В. И., Стоник В. А., Авиллов С. А. Гомологическая изменчивость и направленность в эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий (Holothurioidea, Echinodermata) // Журн. общ. биологии. 1990. Т. 51, N 2. С. 247 - 260.

Калинин В. И., Стоник В. А. Эволюция вторичных метаболитов морских организмов: параллелизмы, конвергенция, биохимическая координация, химическое детерминирование // Вестник ДВО АН СССР. 1990. N 2. С. 120 - 129.

Калинин В. И., Стоник В. А. Химическая морфология - новый подход к изучению биохимической эволюции // Вестник ДВО АН СССР. 1991. N 1. С. 54 - 65.

Калинин В. И., Авиллов С. А., Калиновский А. И., Стоник В. А. Кукумариозид G3 - минорный тритерпеновый гликозид из голотурии *Eupentacta fraudatrix* // Химия природ. соедин. 1992а. N 5. С. 729 - 730.

Калинин В. И., Авиллов С. А., Калиновский А. И., Стоник В. А., Мильгром Ю. М., Рашкес Я. В. Кукумариозид G4 - новый тритерпеновый гликозид из голотурии *Eupentacta fraudatrix* // Химия природ. соединений. 1992б. N 6. С. 691 - 694.

Калиновская Н. И., Калиновский А. И., Кузнецова Т. А., Стоник В. А., Еляков Г. Б. Необычный стероидный спирт из голотурии *Cucumaria japonica* // Докл. АН СССР. 1984. Т. 278, N 3. С. 629 - 633.

Калиновская Н. И., Кузнецова Т. А., Афиятуллов Ш. Ш., Еляков Г. Б. Новый стероидный спирт из тихоокеанской голотурии *Cucumaria fraudatrix* (Echinodermata, Holothurioidea, Cucumariidae) // Химия природ. соединений. 1986. N 2. С. 185 - 187.

Калиновский А. И., Шарыпов В. Ф., Афиятуллов Ш. Ш., Кузнецова Т. А., Стоник В. А., Еляков Г. Б. Изучение некоторых вопросов стереохимии агликонов гликозидов голотурий методом спектроскопии ¹³С ЯМР // Биоорг. химия. 1983. Т. 9, N 11. С. 1558 - 1564.

Кафанов А. И. Кайнозойская история малакофаун шельфа северной Пацифики // Морская биогеография М.: Наука, 1982. С. 134 - 176.

Ковганко Н. В., Ахрем А. А. Стероиды: Экологические функции. Минск: Наука і техника. 1990. 224 с.

Кокшайский Н. В. О соотношениях между формой и функцией и их преобразованиях в филогенезе // Морфологические аспекты эволюции. М.: Наука, 1980. С. 37 - 52.

Колтун В. М. Развитие индивидуальности и становление индивида у губок // Губки и кишечнополостные: Современное состояние и перспективы исследования. Л.: Наука, 1987. С. 24 - 34.

Корепанова Е. А., Попов А. М., Анисимов М. М., Сидоров Е. П., Мольнар А. А., Антонов В. Ф. Действие тритерпеновых гликозидов на ионную проницаемость холестеринсодержащих бислойных липидных мембран // Докл. АН СССР. 1980. Т. 252, N 5. С. 1261 - 1263.

Костецкий Э. Я., Герасименко Н. И. Фосфолипидный состав и филогения иглокожих // Биол. моря. 1984. N 1. С. 39 - 46.

Костецкий Э. Я., Сергеюк Н. Н. Фосфолипиды и их плазмалогены в мышечной ткани морских беспозвоночных // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. 1985. Т. 21. С. 235 - 241.

Красилов В. А. Эволюция и биостратиграфия. М.: Наука, 1977. 256 с.

Кузин Б. С. Упадок систематики. I. Система, эволюция, мультимодация // Природа. 1992. N 5. С. 80 - 88.

Кузнецова Т. А., Калиновская Н. И., Калиновский А. И., Олейникова Г. К., Ровных Н. В., Еляков Г. Б. Гликозиды морских беспозвоночных. XIV. Строение голотурина В₁ из голотурии *Holothuria floridana* // Химия природ. соедин. 1982. N 4, С. 482 - 484.

Кузнецова Т. А., Калиновская Н. И., Калиновский А. И., Еляков Г. Б. Строение синаптогенина В - артефактного агликона гликозидов голотурий *Synapta maculata* // Химия природ. соединений. 1985. Т. 5. С. 667 - 669.

Латышев Н. А., Васьковский В. Е. Фосфолипазы морских беспозвоночных. II. Распространение лизофосфолипаз // Биол. моря. 1977. N 3. С. 72 - 74.

Левин В. С. Видовой состав и распределение щитовиднощупальцевых голотурий верхней сублиторали Индостпацифики // Биол. моря. 1979а. N 5. С. 17 - 23.

Левин В. С. Некоторые особенности кювьеровых органов голотурий // Материалы IV Всесоюз. colloquium по иглокожим. Тбилиси, 1979б. С. 121 - 123.

Левин В. С. Сравнительное изучение степени развития щупалец и спикул щитовиднощупальцевых голотурий верхней сублиторали Индостпацифики // Биол. моря. 1980. N 3. С. 50 - 55.

Левин В. С. Жизненные формы и экологическая эволюция мелководных *Aspidochirota (Holothurioidea)* // Зоол. журн. 1987. Т. 66, Вып. 11. С. 1706 - 1715.

Левин В. С. Дальневосточный трепанг. Владивосток: Дальневост. кн. изд-во, 1982. 192 с.

Левин В. С. О биологической роли и происхождении токсичных гликозидов иглокожих // Журн. общ. биологии. 1989а. Т. 50, N 2. С. 207 - 212.

Левин В. С. Трофозология голотурий прибрежной зоны моря: Дис...д-ра биол. наук / Ин-т. океанол. АН СССР. М., 1989б. 324 с.

Левин В. С., Стоник В. А. Изменение содержания тритерпеновых гликозидов с ростом голотурии *Cucumaria fraudatrix* // Биол. моря. 1976. N 2. С. 73 - 75.

Левин В. С., Калинин В. И., Стоник В. А. Опыт использования химических признаков при пересмотре таксономического статуса голотурии *Bohadschia graeffei* с выделением нового рода // Биол. моря. 1984. N 3. С. 33 - 38.

Левин В. С., Калинин В. И., Мальцев И. И., Стоник В. А. Строение тритерпеновых гликозидов и систематика щитовиднощупальцевых голотурий // Биол. моря. 1985. N 2. С. 3 - 11.

Левин В. С., Калинин В. И., Федоров С. Н., Смаيلي С. Структура тритерпеновых гликозидов и систематическое положение двух видов голотурий семейства *Stichopodidae* // Биол. моря. 1986. N 4. С. 72 - 77.

Левченко В. Ф. Направленность биологической эволюции как следствие развития биосферы // Журн. общ. биологии. 1992. Т. 53, N 1. С. 58 - 70.

Лихацкая Г. Н., Яровая Т. П., Руднев В. С., Попов А. М., Анисимов М. М., Ровин Ю. Г. Образование комплекса тритерпенового гликозида голотурина А с холестерином в липосомальных мембранах // Биофизика. 1985. Т. 30, N 2. С. 358 - 359.

Лихацкая Г. Н., Попов А. М., Одиноква Л. Э., Атопкина Л. И., Уварова Н. И., Кузнецова Т. А., Анисимов М. М. Влияние свободных тритерпеноидов на свойства модельных липидных мембран // Известия АН СССР. Сер. биол. 1990. N 6. С. 942 - 946.

Лихацкая Г. Н., Попов А. М., Аминин Д. Л., Агафонова И. Г., Олейникова Г. К., Калинин В. И., Кузнецова Т. А., Анисимов М. М. Влияние голотуринов и их генинов на пролиферацию клеток и свойства модельных и биологических мембран // Всесоюзное совещание "Биологически активные вещества гидробионтов - новые лекарственные, лечебно-профилактические и технические препараты": Тез. докл. Владивосток, 1991. С. 98.

Любищев А. А. Проблемы формы, систематики и эволюции организмов. М.: Наука, 1982. 278 с.

Мальцев И. И., Стоник В. А., Калиновский А. И. Гликозиды морских беспозвоночных. Структура нового тритерпенового гликозида из голотурий семейства *Stichopodidae* - стихопозида Е // Химия природ. соединений. 1983. N 3. С. 308 - 312.

Мальцев И. И., Стехова С. И., Шенцова Е. Б., Анисимов М. М., Стоник В. А. Противомикробная активность гликозидов из голотурий семейства *Stichopodidae* // Хим.-фармацевт. журн. 1985. N 1. С. 54 - 56.

Мамкаев Ю. В. Методы и закономерности эволюционной морфологии // Современная эволюционная морфология. М.: Наука, 1991. С. 33 - 55.

Мац М. Н., В. В. Корхов, В. Р. Степанов, Е. В. Купера, Г. К. Олейникова, Анисимов М. М. Контрацептивная активность тритерпеновых гликозидов - суммы голотоксина А₁ и В₁ и голотурина А в эксперименте // Фармакология и токсикология. 1990. Т. 53, N 2. С. 45 - 47.

Мейен С. В. Основные аспекты типологии организмов // Журн. общ. биологии. 1978. Т. 39, N 4. С. 495 - 508.

Мейен С. В., Чайковский Ю. В. О работах А. А. Любищева по общим проблемам биологии // Любищев А. А. Проблемы формы, систематики и эволюции организмов. М.: Наука, 1982. С. 5 - 23.

Миклин А. М. Критерии прогрессивной эволюции // Развитие эволюционной теории в СССР (1917 - 1970-е годы). Л.: Наука, 1983. С. 358 - 363.

Мирзоян Э. Н. Развитие учения о рекапитуляции. М.: Наука, 1974. 368 с.

Наседкина Е. А., Касьяненко Ю. И., Слуцкая Т. Н. Особенности химического состава мяса иглокожих // Рыб. хоз-во. 1973. Т. 7. С. 81 - 82.

Олейникова Г. К., Кузнецова Т. А., Иванова Н. С., Калиновский А. И., Ровных Н. В., Еляков Г. Б. Гликозиды морских беспозвоночных. XV. Новый тритерпеновый гликозид - голотурин А₁ из карибских голотурий семейства *Holothuriidae* // Химия природ. соединений. 1982а. N 4. С. 464 - 469.

Олейникова Г. К., Кузнецова Т. А., Ровных Н. В., Калиновский А. И., Еляков Г. Б. Гликозиды морских беспозвоночных. XVIII. Голотурин А₂ из карибской голотурии *Holothuria floridana* // Химия природ. соединений. 1982б. N 4. С. 527 - 528.

Олейникова Г. К., Кузнецова Т. А. Гликозиды голотурии *Holothuria atra* // Химия природ. соединений. 1986. N 5. С. 652.

Орлов Б. Н., Гелашвили Д. Б. Зоотоксинология (Ядовитые животные и их яды). М.: Высш. школа, 1985. 280 с.

Паавер К. Л. Проблемы развития теоретической морфологии // Проблемы развития морфологии животных. М.: Наука, 1982. С. 32 - 39.

Павлинов И. Я. Кладистический анализ (методологические проблемы). М.: Изд-во Моск. ун-та. 1990а. 160 с.

Павлинов И. Я. [Рецензия] // Журн. общ. биологии. 1990б. Т. 51, N 6. С. 850 - 852. Рец. на кн.: *The Hierarchy of Life. Molecules and Morphology in Phylogenetic Analysis* / Eds. Ferholm B., Bremner K., Jornvall H. Amsterdam: Elsevier Sci. Publ, 1989. 499 p.

Павлинов И. Я. [Рецензия] // Журн. общ. биологии. 1992. Т. 53, N 1. С. 136 - 140. Рец. на кн.: *Prospects in Systematics* / Ed. Hawksworth D. L. The systematic Association Spec. N 36. Oxford: Clarendon Press, 1988. 457 p.

Поликарпова С. И., Волкова О. Н., Седов А. М., Стоник В. А., Лиходед В. Г. Цитогенетическое изучение мутагенности кукумариозида // Генетика. 1990. Т. 26, N 9. С. 1682 - 1684.

Попов А. М., Лоенко Ю. Н., Анисимов М. М. Изменение чувствительности опухолевых клеток к действию тритерпеновых гликозидов липосомами // Антибиотики. 1981. Т. 26, N 3. С. 127 - 129.

Попов А. М., Ровин Ю. Г., Лихацкая Г. Н., Анисимов М. М., Руднев В. С., Особенности действия тритерпенового гликозида голотурина А на бислойные липид-стериновые мембраны // Докл. АН СССР. 1982а. Т. 264, N 4. С. 987 - 990.

Попов А. М., Анисимов М. М., Иванов А. С., Корепанова Е. А., Антонов В. Ф. Особенности мембранной активности некоторых тритерпеновых гликозидов // Антибиотики. 1982б. Т. 26, N 4. С. 276 - 280.

Попов А. М., Ровин Ю. Г., Анисимов М. М., Лихацкая Г. Н., Стригина Л. И. Влияние тритерпеновых гликозидов на стабильность бислойных липидных мемб-

Попов А. М., Калиновская Н. И., Кузнецова Т. А., Агафонова И. Г., Анисимов М. М. Роль стернов в мембранотропной активности тритерпеновых гликозидов // Антибиотики. 1983. Т. 28. С. 655 - 659.

Прокофьева Н. Г., Лоенко Ю. Н., Анисимов М. М. Влияние некоторых тритерпеновых гликозидов на включение ^{14}C -аланина в клетки костного мозга крыс // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1981. N 5. С. 794 - 797.

Прокофьева Н. Г., Агафонова И. Г., Киселева М. И., Кузнецова Т. А., Анисимов М. М. Противоопухолевые свойства голотоксина А₁, выделенного из дальневосточной голотурии // Медико-социальные аспекты проблемы "человек - океан": Тез. докл. науч.-практ. конф., посвящ. 30-летию ВФМИ (1958 - 1988). Владивосток, 1988. С. 272 - 273.

Расницын А. П. Принципы филогенетики и систематики // Журн. общ. биологии. 1992. Т. 53, N 2. С. 176 - 185.

Рубцов Б. В., Ружицкий А. О., Клебанов Г. И., Седов А. М., Владимиров Ю. А. Действие некоторых тритерпеновых гликозидов морских беспозвоночных на проницаемость биологических и искусственных мембран // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1980. N 3. С. 402 - 407.

Северцов А. Н. Морфологические закономерности эволюции. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1939. 610 с.

Северцов А. С. Направленность эволюции. М.: Изд-во МГУ, 1990. 272 с.

Седов А. М., Елкина С. И., Сергеев В. В., Калина Н. Г., Саканделидзе О. Г., Батраков С. Г., Гиршович Е. С. Способность тритерпеновых гликозидов из голотурий стимулировать антибактериальную устойчивость на модели экспериментального сальмонеллеза мышей // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии 1984а. N 5. С. 55 - 58.

Седов А. М., Шепелева И. Б., Захарова Н. С., Саканделидзе О. Г., Сергеев В. В., Мошиашвилли И. Я. Влияние кукумариозида (тритерпенового гликозида из голотурий *Cucumaria japonica*) на развитие иммунного ответа мышей на корпускулярную коклюшную вакцину // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1984б. N 9. С. 100 - 104.

Седов А. М., Аполлонин А. В., Севастьянова Е. К., Алексеева И. А., Батраков С. Г., Саканделидзе О. Г., Лиходед В. Г., Стоник В. А., Авилов С. А., Купера Е. В. Стимуляция тритерпеновыми гликозидами голотурий неспецифической антибактериальной резистентности мышей к условно-патогенным грамотрицательным микроорганизмам // Антибиотики и химиотерапия. 1990. Т. 35, N 1. С. 23 - 26.

Сметанина О. Ф., Найт Э., Кузнецова Т. А., Еляков Г. Б. Сульфатированные производные из морских организмов. II. Сульфатированные стероидные спирты из голотурии *Parathiona* sp. (Holothurioidea, Cucumariidae) // Химия природ. соединений. 1981. N 5, С. 585 - 588.

Сметанина О. Ф., Калиновский А. И., Кузнецова Т. А., Стоник В. А., Еляков Г. Б. Гликозиды морских беспозвоночных XVII. Новые генины гликозидов из карибской голотурии *Parathyona* sp. (Holothurioidea, Cucumariidae) // Химия природ. соединений. 1983. N 1. С. 64 - 68.

- Смирнов А. В. Голотурии отряда *Apoda* (Система, эволюция, филогения) // Сравнительная морфология, эволюция и распространение современных и вымерших иглокожих. V Всесоюз. симпоз. по иглокожим: Тез. докл. Львов, 1983. С. 62 - 63.
- Смирнов А. В. К вопросу о системе класса *Holothurioidea* // Зоол. журн. 1984. Т. 63, вып. 4. С. 547 - 553.
- Смирнов А. В. К вопросу о соотношении системы ныне живущих голотурий с системой ископаемых склеритов // Проблемы филогении и систематики иглокожих. VI Всесоюз. симпоз. по иглокожим: Тез. докл. Таллин, 1987. С. 81 - 82.
- Смирнов А. В. Соотношение систем ископаемых и современных голотурий семейства *Synaptidae* // Проблемы изучения ископаемых и современных иглокожих. Таллин, 1989. С. 203 - 217.
- Смирнов А. В. Голотурии // Фауна мира. М.: Агропромиздат. 1993. В печати.
- Соловьев А. Н. О высших таксонах иглокожих // Систематика и филогения беспозвоночных. М.: Наука, 1990. С. 132 - 146.
- Старобогатов Я. И. Естественная система, искусственные системы и некоторые принципы филогенетических и систематических исследований // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 1989. Т. 206. С. 191 - 222.
- Стоник В. А., Чумак А. Д., Исаков В. В., Белогорцева Н. И., Чирва В. Я., Еляков Г. Б. Гликозиды морских беспозвоночных VII. Строение голотурина В из *Holothuria atra* // Химия природ. соединений. 1979. N 2. С. 522 - 527.
- Стоник В. А., Мальцев И. И., Калиновский А. И., Кондэ К., Еляков Г. Б. Гликозиды морских беспозвоночных. XI. Два новых тритерпеновых гликозида из голотурий семейства *Stichopodidae* // Химия природ. соединений. 1982а. N 2. С. 194 - 199.
- Стоник В. А., Мальцев И. И., Калиновский А. И., Еляков Г. Б. Гликозиды морских беспозвоночных. XII. Структура нового тритерпенового олигогликозида из голотурий семейства *Stichopodidae* // Химия природ. соединений. 1982б. N 2. С. 200 - 204.
- Стоник В. А., Мальцев И. И., Еляков Г. Б. Строение теленотозидов А и В из голотурии *Thelenota ananas* // Химия природ. соединений. 1982в. N 5. С. 624 - 627.
- Татаринов Л. П. Морфологическая эволюция териодонтов и общие вопросы филогенетики. М.: Наука, 1976. 257 с.
- Татаринов Л. П. Направленность филогенетических процессов и прогнозируемость эволюции // Журн. общ. биологии. 1985. Т. 46, N 1. С. 3 - 17.
- Татаринов Л. П. Очерки по теории эволюции. М.: Наука, 1987. 251 с.
- Телитченко М. М., Остроумов С. А. Введение в проблемы биохимической экологии: Биотехнология, сельское хозяйство, охрана среды. М.: Наука, 1990. 288 с.
- Тимофеев-Ресовский Н. В., Воронцов Н. Н., Яблоков А. В. Краткий очерк теории эволюции. М.: Наука, 1977. 297 с.
- Турищев С. Н., Большакова Г. Б., Саканделидзе О. Г. Влияние комплексов тритерпеновых гликозидов из голотурий на реперацию печени // Изв. СССР. Сер. биол. 1991. N 2. С. 306 - 310.
- Угленко А. В., Стоник В. А. Выделение астеростерина из голотурии *Cucumaria fraudatrix* // Химия природ. соединений. 1978. N 12. С. 813 - 814.

Уголев А. М. Естественные технологии биологических систем. Л.: Наука, 1987. 317 с.

Уемов А. И. Логические основы метода моделирования. М.: Мысль, 1971. 312 с.

Урманцев Ю. А. О биологической изомерии // Журн. общей биологии. 1976.

Т. 37. N 2. С. 216 - 229.

Флоркен М. Биохимическая эволюция. М.: ИЛ, 1947. 178 с.

Харборн Дж. Введение в экологическую биохимию. М.: Мир, 1985. 311 с.

Черепанов В. В. [Рецензия] // Журн. общей биологии. 1989. Т. 50, N 6. С. 843 - 845. Рец. на кн.: Красилов В. А. Нерешенные проблемы теории эволюции.

Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1986. 140 с.

Шарыпов В. Ф., Чумак А. Д., Стоник В. А., Еляков Г. Б. Гликозиды морских беспозвоночных. X. Строение стихопозидов А и В голотурии *Stichopus chloronotus* // Химия природ. соединений. 1981. N 2, С. 181 - 184.

Шарыпов В. Ф., Калиновский А. И., Стоник В. А., Авилов С. А., Еляков Г. Б. Выделение нативных агликонов из тритерпеновых гликозидов тихоокеанской голотурии *Cucumaria japonica* // Химия природ. соединений. 1985. N 1. С. 55 - 59.

Шаталкин А. И. Биологическая систематика. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1988. 184 с.

Шаталкин А. И. Сходство и классификация // Журн. общ. биологии. 1990. Т. 51, N 5. С. 610 - 618.

Шаталкин А. И. Кладистика и эволюционная систематика: точки расхождения // Журн. общ. биологии. 1991. Т. 52, N 4. С. 584 - 597.

Шишкин М. А. Индивидуальное развитие и естественный отбор // Онтогенез. 1984. Т. 42, N 1. С. 38 - 54.

Шмальгаузен И. И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии: Избр. труды. М.: Наука, 1982. 383 с.

Щеглов В. В., Баранова С. И., Анисимов М. М., Антонов А. С., Афиятуллоев Ш. Ш., Левина Э. В., Шарыпов В. Ф., Стоник В. А., Еляков Г. Б. Изучение антимикробного спектра действия некоторых тритерпеновых и стероидных гликозидов // Антибиотики. 1979а. N 4, С. 270 - 273.

Щеглов В. В., Анисимов М. М., Шенцова Е. Б. Распределение аккумулярованных из среды тритерпеновых гликозидов в дрожжевой клетке и влияние их на выход из клеток ортофосфата и аминного азота // Приклад. биохимия и микробиология. 1979б. Т. 40, N 3. С. 375 - 382.

Akihisa T., Tamura T., Matsumoto T. 14 α -Methyl-5 α -Ergosta-9(11),24(28)-dien-3 β -ol, a Sterol from *Gynostemnia pentaphyllum* // Phytochemistry. 1987. V. 26. P. 2412 - 2413.

Alston R. E. Chemotaxonomy or biochemical systematics? // Comparative Phytochemistry/ Ed. Swain T. London: Academic Press, 1966. P. 337.

Ambia K., Goad L. J., Hkycko S., Garneau F.-X., Belanger J., ApSimon J. W. The Sterols of the Sea Cucumber *Psolus phantapus* // Comp. Biochem. Physiol. 1987. V. 86B. P. 191 - 192.

Aminin D. L., Anisimov M. M. Biological Function of Holotoxins in Body of Holothurian *Stichopus japonicus* // Recent Advances in Toxinology Research / Eds.

Gopalakrishnakone P., Tan C. K. Singapore: Venom and Toxin Research Group, National University of Singapore, 1992. V. 2. P. 562 - 575.

Anisimov M. M., Kuznetsova T. A., Shirokov V. P., Prokofyeva N. G., Elyakov G. B. The Toxic Effect of Stichoposide A₁ from *Stichopus japonicus* Selenka on Early Embryogenesis of the Sea Urchin // *Toxicon*. 1972. V. 10. P. 187 - 188.

Anisimov M. M., Fronert E. B., Kuznetsova T. A., Elyakov G. B. The Toxic Effect of Triterpene Glycosides from *Stichopus japonicus* Selenka on Early Embryogenesis of the Sea Urchin // *Toxicon*. 1973. V. 11. P. 109 - 111.

Anisimov M. M., Scheglov V. V., Stonik V. A., Fronert E. B., Elyakov G. B. The Toxic Effect of Cucumarioside C from *Cucumaria fraudatrix* on Early Embryogenesis of Sea Urchin // *Toxicon*. 1974. V. 12. P. 327 - 329.

Anisimov M. M., Shentsova E. B., Scheglov V. V., Shumilov Yu. N., Rasskazov V. A., Strigina L. I., Chetyrina N. S. Elyakov G. B. Mechanism of Cytotoxic Action of Some Triterpene Glycosides // *Toxicon*. 1978. V. 16. P. 207 - 218.

Anisimov M. M., Popov A. M., Dsizenko S. N. The Effect of Lipids from Sea Urchin Embryos on Cytotoxic Activity of certain Triterpene Glycosides // *Toxicon*. 1979. V. 17. P. 319 - 321.

Anisimov M. M., Prokofieva N. G., Korotkikh L. Y., Kapustina I. I., Stonik V. A. Comparative Study of Cytotoxic Activity of Triterpene Glycosides from Marine Organisms // *Toxicon*. 1980. V. 18. P. 221 - 223.

Ashlock P. D. An Evolutionary Systematicist's View of Classification // *Syst. Zool.* 1979. V. 28. P. 441 - 450.

D'Auria V., Fenimore E., Minale L., Pizza C., Riccio R., Zollo F., Pusset M., Tirard P. Steroids from Starfish *Euretaster insignis*: Novel Group of Sulphated 3 β ,21-dihydroxysteroids // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*. 1984. V. 10. P. 2277 - 2282.

Ax P. The Phylogenetic System. The Systematization of Organisms on the Basis of Their Phylogenesis. Chichester: Wiley and Sons, 1987. 340 p.

Baker A. N., Rowe F. W. E., Clark H. E. S. A New Class of Echinodermata from New Zealand // *Nature*. 1986. V. 321, N 6073. P. 862 - 864.

Bakus G. J. Defensive Mechanisms and Ecology of Some Tropical Holothurians // *Mar. Biol.* 1968. V. 2, N 1. P. 23 - 32.

Bakus G. J. An Ecological Hypothesis for Evolution of Toxicity in Marine Organisms // *Toxicon*. 1970. V. 8, N 2. P. 120.

Bakus G. J. The Biology and Ecology of Tropical Holothurians // *Biology and Geology of Coral Reefs*. V. 2: Biology. Pt. 1. N. Y.: Academic. Press, 1973. P. 325 - 367.

Bakus G. J. Chemical Defence Mechanisms on the Great Barrier Reef, Australia // *Science*. 1981. V. 211. P. 497 - 499.

Ballantine J. A., Lavis A., Morris R. J. Marine Sterols. XV. Sterols of Some Oceanic Holothurians // *J. Exp. Mar. Biol. and Ecol.* 1981. V. 53. P. 89 - 103.

Bather F. A. The Echinodermata // *A Treatise on Zoology* / Ed. Lankester E. R. Pt. 3. London: A. and C. Black, 1900. 344 p.

Bergmann W. Sterols: Their Structures and Distribution // *Comparative Biochemistry* / Eds. Florkin M., Mason H. S. N. Y.: Academic Press, 1962. V. 3. P. 103.

Bhatnagar S., Dudoet B., Ahond A., Poupat C., Thoison O., Clastres A., Laurent D., Potier P. Invertebres marins du lagon neocaledonien IV. Saponines et sapogenines d'une holothurie, *Actinopyga flammea* // Bull. Soc. Chim. France. 1985. N 1. P. 124 - 129.

Bock W. J. Preadaptation and Multiple Evolutionary Pathways // Evolution. 1959. V. 13, N 2. P. 194 - 211.

Bullock E., Dawson C. J. Carotenoid Pigments of the Holothurian *Psolus fabricii* Duben et Koren (the Scarlet Psolus) // Comp. Biochem. Physiol. 1970. V. 34. P. 799 - 804.

Burnell D. J., ApSimon J. W. (1983). Echinoderm Saponins // Marine Natural Products Chemistry. Chemical and Biological Perspectives / Ed. Scheuer P. J. N. Y.: Academic Press, 1983. V. 5. P. 287 - 389.

Bury H. The Metamorphosis of Echinoderms // Quqrt. J. Micr. Sci. 1895. V. 38. P. 45 - 135.

Cassaró C. M. F., Dietrich C. P. Distribution of Sulfated Mucopolysaccharide in Invertebrates // J. Biol. Chem. 1977. V. 252. P. 2254 - 2261.

Chanley J. D., Ledeen R., Wax J., Nigrelli R. F., Sobotka H. Holothurin. 1. The Isolation, Properties and Sugar Components of Holothurin A // J. Am. Chem. Soc. 1959. V. 81. P. 5180 - 5183.

Chanley J. D., Mezzetti T., Sobotka H. The Holothurinogenins // Tetrahedron. 1966. V. 22. P. 1857 - 1884.

Choe S. Biology of the Japanese Common Sea Cucumber *Stichopus japonicus* Selenka. Tokyo: Kaibundo, 1963. 226 p.

Clark H. L. Holothurians of the Genus *Stichopus* // Bull. Mus. Comp. Zool. Harv. 1922. V. 65. P. 39 - 74.

Clastres A., Ahond A., Poupat C., Potier P., Intes A. Marine Invertebrates from New-Caledonian Lagoon. I. Structural Study of a New Sapogenin Isolated from a Sea Cucumber: *Bohadschia vitiensis* Semper // Experientia. 1978. V. 34. P. 973 - 974.

Cordeiro M. L., Kerr R. G., Djerassi C. Biosynthetic Studies of Marine Lipids. 15. Conversion of Parkeol (Lanosta-9(11),24-dien-3 β -ol) to 14 α -methylcholest-9(11)-en-3 β -ol) in the Sea Cucumber *Holothuria arenicola* // Tetrahedron Lett. 1988. V. 29, N 18. P. 2159 - 2162.

Cordeiro M. L., Djerassi C. Biosynthetic Studies of Marine Lipids. 25. Biosynthesis of $\Delta^9(11)$ Sterols and Saponins in Sea Cucumbers // J. Org. Chem. 1990. V. 55. P. 2806 - 2813.

Deichmann E. Holothurians from the Gulf of California. The Templeton Crooker Expedition, 9 // Zoologica. New York Zool. Soc. 1937. V. 22. P. 161 - 176.

Deichmann E. The Littoral Holothurians of the Bahama Islands // Amer. mus. novit. 1957. N 1821. P. 1 - 20.

Dohrn A. Der Ursprung der Wirbeltiere und das Prinzip des Funktionswechsels. Leipzig, 1875.

Dullemeijer P. Concepts and approaches in animal morphology. Assen, The Netherlands: VanCorcum & Comp. B. Y., 1974. 264 p.

Dullemeijer P. Functional Morphology and Evolutionary Biology // Acta Biotheoretica. 1980. V. 29. P. 151 - 250.

Dunker H.-R. Functional Morphology in Vertebrates // Fortsh. Zool. 1983. V. 30. P. 3 - 18.

Edwards C. L. Development of *Holothuria floridana* // J. Morphol. 1909. V. 20. P. 211 - 230.

Elyakov G. B., Anisimov M. M., Prokofieva N. G., Kuznetsova T. A., Fronert E. B. Sensitivity of Rat Marrow Cells in Culture to the Toxic Effect of Stichoposide A₁ from *Stichopus japonicus* Selenka // Toxicon. 1972. V. 10. P. 229 - 300.

Elyakov G. B., Stonik V. A., Levina E. V., Slanke V. P., Kuznetsova T. A., Levin V. S. Glycosides of Marine Invertebrates-I. A Comparative Study of Glycoside Fraction of Pacific Sea Cucumbers // Comp. Biochem. Physiol. 1973. V. 44B. P. 325 - 336.

Elyakov G. B., Stonik V. A., Levina E. V., Levin V. S. Glycosides of Marine Invertebrates-III. Biosynthesis of Stichoposides from Acetate // Comp. Biochem. Physiol. 1975a. V. 52B. P. 321 - 323.

Elyakov G. B., Kuznetsova T. A., Stonik V. A., Levin V. S., Albores R. Glycosides of marine invertebrates-IV. A Comparative Study of the Glycosides from Cuban Sublittoral Holothurians // Comp. Biochem. Physiol. 1975b. V. 52B. P. 413 - 417.

Elyakov G. B., Levina E. V., Levín V. S., Kapustina I. I. Glycosides of Marine Invertebrates-V. A Comparative Study of Glycoside Fractions from Starfish // Comp. Biochem. Physiol. 1976. V. 55B. P. 57 - 60.

Elyakov G. B., Kalinovskaya N. I., Stonik V. A., Kuznetsova T. A. Glycosides of Marine Invertebrates-VI. Steroid Glycosides from Holothurian *Stichopus japonicus* // Comp. Biochem. Physiol. 1980. V. 65B. P. 309 - 314.

Elyakov G. B., Stonik V. A., Levina E. V. Marine Tetracyclic Isoprenoids: Structure and Biosynthesis // Pure and Appl. Chem. 1990. V. 62, N 7. P. 1259 - 1262.

Elyakova L. A. Distribution of Cellulases and Chitinases in Marine Invertebrates // Comp. Biochem. Physiol. 1972. V. 43B. P. 67 - 70.

Endean R. The Cuvierian Tubules of *Holothuria leucospilota* // Quart. J. Microscop. Sci. 1957. V. 98, Pt 4. P. 455 - 472.

Encarnacion R., Carrasco G., Espinosa M., Anthoni U., Nielsen P. H., Christophersen C. Neothyoside A, Proposed Structure of a Triterpenoid Tetraglycoside from the Pacific Sea Cucumber *Neothyone gibbosa* // J. Nat. Prod. 1989. V. 52, N 2. P. 248 - 251.

Farris J. S. The Information Content of the Phylogenetic System // Syst. Zool. 1979. V. 28. P. 483 - 519.

Faulkner D. J., Ghiselin M. T. Chemical Defence and Evolutionary Ecology of Dorid Nudibranchs and Some Other Opisthobranch Gastropods // Mar. Ecol. Progr. Ser. 1983. V. 13. P. 295 - 301.

Faulkner D. J. Marine Natural Products Review // Nat. Prod. Rev. 1991. V. 8, N 2. P. 97 - 147.

Fell H. B. The Evolution of the Echinoderms // Smitson. Inst., Ann. Rept. 1962. 1963. P. 457 - 490.

Feral J. P., Cherbonier G. Les Holothurides // Guide des 'Etoiles de Mer, Oursins et Autres 'Echinodermes du Lagon de Nouvelle-Caledonie / Eds. Guille A., Laboute P., Menou J.-F. Paris: ORSTOM, 1986. P. 57 - 107.

Findlay J. A., Daljet A. Frondogenin, a New Aglycone from the Sea Cucumber *Cucumaria frondosa* // J. Nat. Prod. 1984a. V. 47. P. 320 - 324.

Findlay J. A., Daljeet A.; Matsukokas J., Moharir E. A. Constituents of the Sea Cucumber *Cucumaria frondosa* // J. Nat. Prod. 1984b. V. 47. P. 560.

Fox D. L., Hopkins T. S. The Comparative Biochemistry of Pigments // Physiology of Echinodermata / Ed. Booloottian R. A. N.Y.: Interscience, 1966. P. 277 - 300.

Franssen J., Jeuniaux Ch. Digestion de L'Acide Alginique Chez les Invertebres // Can. Biol. Mar. 1965. V. 6. P. 1 - 21.

Frey D. G. The Use of Sea Cucumber in Poisoning Fishes // Copeia. 1951. N 2. P. 175 - 176.

Friess S. L., Standaert F. G., Whitcomb E. R., Nigrelli R. F., Chanley J. D., Sobotka H. Some Pharmacologic Properties of Holothurin A, a Glycosidic Mixture from the Sea Cucumber // J. Pharmacol. Exp. Therap. 1959. V. 126. P. 323 - 329.

Friess S. L., Standaert F. G., Whitcomb E. R., Nigrelli R. F., Chanley J. D., Sobotka H. Some Pharmacologic Properties of Holothurin A, a Glycosidic Mixture from the Sea Cucumber // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1960. V. 90. P. 893 - 901.

Friess S. L., Durant R. C., Chanley J. D., Mezzetti T. Some Structural Requirements Underlying Holothurin A Interactions with Synaptic Chemoreceptors // Biochem. Pharmacol. 1965. V. 14. P. 1237 - 1247.

Friess S. L., Durant R. C., Chanley J. D., Fash F. J. Role of the Sulphate Charge Center in Irreversible Interaction of Holothurin A with Chemoreceptors // Biochem. Pharmacol. 1967. V. 16. P. 1617 - 1625.

Friess S. L., Durant R. C., Chanley J. D. Further Studies on Biological Actions of Steroidal Saponins Produced by Poisonous Echinoderms // Toxicol. 1968. V. 6. P. 81 - 84.

Friess S. L., Chanley J. D., Hudak W. V., Weems H. B. Interactions of Echinoderm Toxins Holothurin A and Its Desulfated Derivative with the Cat Superiorcervical Ganglion Preparation // Toxicol. 1970. V. 8. P. 211 - 219.

Friess S. L. Mode of Action of Marine Saponins on Neuromuscular Tissues // Fed. Proc. 1972. V. 31, N 3. P. 1146 - 1149.

Frizzel D. L., Exline H. Monograph of Fossil Holothurian Sclerites // Bull. Univ. Missouri School Mines Metall. Tehsn. Ser. 1955. N 89. P. 1 - 204.

Frizzel D. L., Exline H. Holothurioidea - Fossil Record // Treatise on Invertebrate Paleontology / Ed. Moore R. C. Pt U. Echinodermata 3. V. 2. N. Y.: Geol. Soc. Amer. and Univ. Kansas Press, 1966. P. 646 - 672.

Garneau F.-X., Simard J. L., Harvey O., ApSimon J. W., Girard M. The Structure of Psoluturin A, the Major Triterpene Glycoside of the Sea Cucumber *Psolus fabricii* // Can. J. Chem. 1983. V. 61, N 7. P. 1465 - 1471.

Girard M., Belanger J., ApSimon J. W., Garneau F.-X., Harvey C., Brisson J.-R. Frondoside A. A Novel Triterpene Glycoside from the Holothurian *Cucumaria frondosa* // Can. J. Chem. 1990. V. 68, N 1. P. 11 - 18.

Goat L. J. The Steroids of Marine Algae and Invertebrate Animals // Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology / Eds. Mallins D. C., Sargent J. R. N. Y.: Academic Press, 1976. V. 3. P. 213 - 318.

Goad L. J. The Sterols of Marine Invertebrates. Composition, Biosynthesis and Metabolites // Marine Natural Products. Chemical and Biological perspectives / Ed. Scheuer P. J. N.Y.: Academic Press, 1978. V. 2. P. 76 - 172.

Goad L. J., Rubinstein I., Smith A. G. The Sterols of Echinoderms // Proc. Royal Soc. London, B. 1972. V. 180. P. 223 - 226.

Goad L. J., Garneau F.-X., Simard J.-L., ApSimon J. W., Girard M. Isolation of $\Delta^{9(11)}$ Sterols from the Sea Cucumber *Psolus fabricii* // Tetrahedron Lett. 1985. N 26. P. 3513 - 3517.

Goad L. J., Garneau F.-X., Simard J.-L., ApSimon J. W., Girard M. Composition of the Free, Esterified and Sulphated Sterols of the Sea Cucumber *Psolus fabricii* // Comp. Biochem. Physiol. 1986. V. 84B. P. 189 - 196.

Goodfellow R. M., Goad L. J. The Steryl Sulfate Content of Echinoderms and Some Other Marine Invertebrates // Comp. Biochem. Physiol. 1983. V. 76B, N 3. P. 575 - 578.

Gorshkov B. A., Gorshkova I. A., Stonik V. A., Elyakov G. B. Effect of Marine Glycosides on Adenosinetriphosphatase activity // Toxicon. 1982. V. 20, N 3. P. 655 - 658.

Gorshkova I. A., Gorshkov B. A., Stonik V. A. Inhibition of Rat Brain $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase by Triterpene Glycosides from Holothurians // Toxicon. 1989. V. 27, N 8. P. 927 - 936.

Gorshkova I. A., Kalinovsky A. I., Ilyin S. G., Gorshkov B. A., Stonik V. A. Physicochemical Characteristics of Interaction of Toxic Triterpene Glycosides from Holothurians with Rat Brain $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase // Toxicon. 1989b. V. 27, N 8. P. 937 - 945.

Gottlieb O. R. Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology. Berlin; Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 1982, 170 p.

Gould S. J. Ontogeny and Phylogeny. Cambridge: Harvard University Press, 1977. 501 p.

Grishin Yu., Morozov E., Avilov S. Preliminary Studies of Antiviral Activity of Triterpene Glycosides from Holothurians // 8th Conference of Young Scientists on Organic and Bioorganic Chemistry. Latvian Academy of Sciences, Institute of Organic Synthesis, Riga, 1991, P. 181.

De Groof R. C., Narahashi T. The Effects of Holothurin A on the Resting Membrane Potential and Conductance of Squid Axon // Europ. J. Pharmacol. 1976. V. 36. P. 337 - 346.

Gupta K. C., Scheuer P. J. Echinoderm Sterols // Tetrahedron. 1968. V. 24. P. 5831 - 5837.

Jespersen A., Lutzen J. On the Ecology of the Aspidochirote Cucumber *Stichopus tremulus* (*Gunnerus*) // Norw. J. Zool. 1971. V. 19, N 2. P. 117 - 132.

Habermann E. Why are the Most Poisons That Poisonous? // Recent Advances in Toxinology Research / Eds. Gopalakrishnakone P., Tan C. K. Singapore: Venom and Toxin Research Group, National University of Singapore, 1992. V. 1. P. 1 - 18.

Habermehl G., Volkvein G. Aglycones of the Toxins from the Cuvierian Organs of *Holothuria forskali* and a New Nomenclature for the Aglycones from Holothurioidea // Toxicon, 1971. V. 9. P. 319 - 326.

Halstead B. W. Poisonous and venomous marine animals of the world. V. 1. Invertebrates. Wash.: U. S. Gov. Print off., 1965. 535 p.

Hamana K., Niitsu M., Samejima K., Matsuzaki S. Novel Tetramines, Pentamines and Hexamines in Sea Urchin, Sea Cucumber, Sea Squirt and Bivalves // *Comp. Biochem. Physiol.* 1991. V. 100B. P. 59 - 62.

Harborne J. B., Turner B. L. *Plant Chemosystematics*. New York; London: Academic Press, 1984. 562 p.

Haugh B. N., Bell B. M. Classification Schemes. Echinoderms. Notes for a Short Course. Univ. Tennessee, Dep. Geol. Sci., Stud. Geol. 1980. N 3. P. 94 - 105.

Hennig W. *Phylogenetic Systematics*. Urbana: Univ. Illinois Press, 1966. 263 p.

Herreid C. J., Larussa V. F., DeFesi Ch. R. Blood Vascular System of the Sea Cucumber *Stichopus moebi* // *J. morphol.*, 1976. V. 150. P. 423 - 452.

Hyman L. H. *The Invertebrates*. V. Echinodermata. N. Y.: McGraw-Hill, 1955. 763 p.

Isay S. V., Makarchenko M. A., Vaskovsky V. E. A Study of Glycerol Ethers-I. Content of α -Glycerol Esters in Marine Invertebrates from The Sea of Japan and Tropical Regions of the Pacific Ocean // *Comp. Biochem. Physiol.* 1976. V. 55B, P. 301 - 305.

Itoh T., Ishi T., Tamura T., Matsumoto T. Four New and Other 4α -Methylsterols in the Seeds of Solanacea // *Phytochemistry*. 1978. V. 17. P. 971 - 977.

Jespersen A., Lutzen J. On Ecology of the Aspidochirote Sea Cucumber *Stichopus tremulus* (Gunnerus) // *Norw. J. Zool.* 1971. V. 19, N 2. P. 117 - 132.

Kalinin V. I. Chemical Morphology - New Approach to Analysis of Structure-Function Relation of Biomolecules and Their Evolution // 8-th Conference of Young Scientists on Organic and Bioorganic Chemistry. Abstracts. Riga, Latvia: Latvian Academy of Sciences, Institute of Organic Synthesis, 1991. P. 197 - 198.

Kalinin V. I., Volkova O. V., Likhatskaya G. N., Prokofieva N. G., Agafonova I. G., Anisimov M. M., Kalinovskiy A. I., Avilov S. A., Stonik V. A. Hemolytic Activity of Triterpene Glycosides from Cucumariidae Family Holothurians and Evolution of This Group of Toxins // *J. Nat. Toxins*. 1992. V. 1, N 2. P. 17 - 30.

Kalinovskaya N. I., Kuznetsova T. A., Elyakov G. B. Sterol Composition of Pacific Holothurian *Stichopus japonicus* Selenka // *Comp. Biochem. Physiol.* 1983a. V. 74B. P. 597 - 601.

Kalinovskaya N. I., Kuznetsova T. A., Popov A. M., Antonov A. S., Elyakov G. B. Steroid Metabolites of the Far Eastern Holothurian *Stichopus japonicus* Selenka. // *Comp. Biochem. Physiol.* 1983b. V. 76B, N 1, P. 167 - 171.

Kaneniwa M., Itabashi Y., Endo S., Takagi T. Fatty Acids in Holothurioidea: Occurrence of Cis-14-tricosenoic Acid // *Comp. Biochem. Physiol.* 1986. V. 84B, N 4. P. 451 - 455.

Kariya Y., Watabe S., Ochiai Y., Hashimoto K., Murata K. Glycosamino-Glycan from the Body Wall of the Sea Cucumber *Stichopus japonicus* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1990. V. 95B, N 2. P. 387 - 392.

Katzmann R. L., Jeanloz R. W. Thyonatan 4-sulfate {(1-2)- α -L-fucopyranan 4-sulfate} // *J. Biol. Chem.* 1973. V. 248. P. 50 - 55.

Kelekom A., Daloz D., Tursch B. Chemical Studies of Marine Invertebrates-XXI. Six Triterpene Genins Artifacts from Thelothurins A and B, Toxic Saponins of the Sea

Cucumber *Thelenota ananas* Jaeger (Echinodermata). Biosynthesis of the Thelothurins // *Tetrahedron*. 1976. V. 32. P. 2353 - 2359.

Kitagawa I. Research of Biologically Active Marine Natural Products // *Yakugaku Zasshi*. 1988. V. 108, N 5. P. 398 - 416.

Kitagawa I., Yamanaka H., Kobayashi M., Nishino T., Yosioka I., Sugawara T. Saponin and Sapogenol XXVII. Revised Structures of Holotoxin A and Holotoxin B, two Antifungal Oligoglycosides from the Sea Cucumber *Stichopus japonicus* Selenka // *Chem. Pharm. Bull.* 1978. V. 26, N 12. P. 3722 - 3731.

Kitagawa I., Nishino T., Kobayashi M., Matsuno T., Akutsu H., Kyogoku Y. Marine Natural Products. VII. Bioactive Triterpene-Oligoglycosides from the Sea Cucumber *Holothuria leucospilota* Brandt (1). Structure of Holothurin B // *Chem. Pharm. Bull.* 1981a. V. 29, N 7. P. 1942 - 1950.

Kitagawa I., Nishino T., Kobayashi M., Kyogoku Y. Marine Natural Products. VIII. Bioactive Triterpene-Olygoglycosides from the Sea Cucumber *Holothuria leucospilota* Brandt (2). Structure of Holothurin A // *Chem. Pharm. Bull.* 1981b, V. 29, N 7. P. 1951 - 1956.

Kitagawa I., Kobayashi M., Inamoto T., Yosuzawa T., Kyogoku Y. The Structure of Six Antifungal Oligoglycosides, Stichlorosides A₁, A₂, B₁, B₂, C₁ and C₂ from the Sea Cucumber *Stichopus chloronotus* (Brandt) // *Chem. Pharm. Bull.* 1981c. V. 29, N 8, P. 2387 - 2391.

Kitagawa I., Kobayashi M., Kyogoku Y. Marine Natural Products. IX. Structural Elucidation of Triterpenoidal Oligoglycodides from the Bahamean Sea Cucumber *Actinopyga agassizi* Selenka // *Chem. Pharm. Bull.* 1982. V. 30, N 6. P. 2045 - 2050.

Kitagawa I., Kobayashi M., Inamoto T., Fuchida M., Kyogoku Y. Marine Natural Products. XIV. Structures of Echinosides A and B, Antifungal Lanostane-Oligosides from the Sea Cucumber *Actinopyga echinites* (Jaeger) // *Chem. Pharm. Bull.* 1985. V. 33, N 12. P. 5214 - 5224.

Kitagawa I., Kobayashi M., Hori M., Kyogoku Y. Marine Natural Products. XVIII. Four Lanostane-Type Triterpene Oligoglycosides, Bivittosides A, B, C, and D, from the Okinawan Sea Cucumber *Bohadschia bivittata* Mitsukuri // *Chem. Pharm. Bull.* 1989a. V. 37, N 1. P. 61 - 67.

Kitagawa I., Kobayashi M., Byeng Wha Son, Suzuki Sh., Kyogoku Y. Marine Natural Products. XIX. Pervicosides A, B, and C, Lanostane-Type Triterpene-Oligoglycoside Sulfates from the Sea Cucumber *Holothuria pervicax* // *Chem. Pharm. Bull.* 1989b. V. 37, N 5. P. 1230 - 1234.

Van Der Klaauw C. J. Cerebral Skull and Facial Skull // *Arch. Neerl. Zool.* 1945. V. 7. P. 16 - 37.

Kleinenberg N. Die Entstehung des Annelid aus der Larve von *Lobadorhynchus* // *Ztschr. Wissensch. Zoologie*. 1886. Bd 44. S. 1 - 227.

Kobayashi M., Hori M., Kan K., Yasuzawa T., Matsui M., Suzuki Sh., Kitagawa I. Marine Natural Products. XXVII. Distribution of Lanostane-Type Triterpene Oligoglycosides in Ten Kinds of Okinawan Sea Cucumbers // *Chem. Pharm. Bull.* 1991a. V. 39, N 9. P. 2282 - 2287.

Kobayashi M., Okamoto Y., Kitagawa I. Marine Natural Products. XXVIII. The Structures of Sarasinoides A₁, A₂, A₃, B₁, B₂, B₃, C₁, C₂ and C₃, Nine New

Norlanostane-Triterpenoidal Oligoglycosides from the Palauan Marine Sponge *Asteropus sarasinus* // Chem. Pharm. Bull. 1991b. V. 39, N 11. P. 2867 - 2877.

Kokshaysky N. V. Functional Aspects of Some Details of Bird Wing Konfiguration // Syst. Zool. 1973. V. 22, N 4. P. 442 - 450.

Kropp R. K. Responses of Five Holothurian Species to Attacks by a Predatory Gastropod *Tonna perdis* // Pacif. Sci. 1982. V. 3. N 4. P. 445 - 452.

Kuznetsova T. A., Anisimov M. M., Popov A. M., Baranova S. I., Afiyatullof Sh. Sh., Kapustina I. I., Antonov A. S., Elyakov G. B. A Comparative Study in vitro of Physiological Activity of Triterpene Glycosides of Marine Invertebrates of Echinoderm Type // Comp. Biochem. Physiol. 1982. V. 73C. N 1. P. 41 - 43.

Lasley B. J., Nigrelli R. F. The Effects of Crude Holothurin on Leucocyte Phagocytosis // Toxicol. 1970. V. 8. P. 301 - 306.

Lawrence J. M. A Functional Biology of Echinoderms. London; Sydney: Croom Helm. 1987. 340 p.

Liao Y. The Aspidochirote Holothurians of China with Erection of a New Genus // Echinoderms: Present and Past / Ed. M. Jangoux Rotterdam: A. A. Balkema, 1980. P. 115 - 120.

Lövtrup S. On von Baerian and Haeckelian Recapitulation // Syst. Zool. 1978. V. 27. P. 348 - 352.

MacBride E. W. Echinodermata // The Cambridge Natural History / Eds. Harmer S. F., Shirley A. E. London: MacMillan. 1906. V. 1. P. 425 - 623.

MacBride E. W. Text-Book of Embriology. V. 1. Invertebrata. London: MacMillan and Co. 1914. 692 p.

Mackie A. M., Singh H. T., Owen J. M. Studies on the Distribution, Biosynthesis and Function of Steroid Saponins in Echinoderms // Comp. Biochem. Physiol. 1977. V. 56B. P. 9 - 14.

Mahnir V. M., Kozlovskaya E. P. Structure-toxicity Relationships of Neurotoxin RTX-III from the Sea Anemone *Radianthus macrodactylus*: Modification of aminogroups // Toxicol. 1991. V. 29. N 7. P. 819 - 826.

Makarieva T. N., Stonik V. A., Kapustina I. I., Boguslavsky V. M., Dmitrenok A. S., Kalinin V. I., Cordeiro M. L., Djerassi C. Biosynthetic Studies of Marine Lipids. 42. Biosynthesis of Steroid and Triterpenoid Metabolites in the Sea Cucumber *Eupentacta fraudatrix* // Steroids. 1993. V. 58. P. 508 - 517.

Maltsev I. I., Stonik V. A., Kalinovsky A. I., Elyakov G. B. Triterpene Glycosides from Sea Cucumber *Stichopus japonicus* Selenka // Comp. Biochem. Physiol. 1984. V. 78B. N 2. P. 421 - 426.

Manwell C. Sea Cucumber Sibling Species: Polypeptide Chain Types and Oxygen Equilibrium of Hemoglobin // Science. 1966. V. 152. P. 1393 - 1395.

Marukawa H. Biological and Fishery Research on Japanese King-Crab *Paralithoides camtschatica* (Tilesius). Tokyo. 1933. 152 p.

Matsumoto H. Outline of a Classification of Echinodermata // Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ. Ser. 2. 1929. V. 12. P. 27 - 32.

Matsumura T., Shigei M. Collagen Biochemistry and Phylogeny of Echinoderms // Echinoderm Phylogeny and Evolutionary Biology / Eds. Paul C. R. C., Smith A. B. Oxford: Clarendon Press. 1988. P. 42 - 52.

Matsuno T., Ishida T. Distribution and Seasonal Variation of Toxic Principles of Sea Cucumber (*Holothuria leucospilota* Brandt) // *Experientia*. 1969. V. 25, N 12. P. 1261.

Matsuno T., Sakushima A., Ishida T. Seasonal Variation of Saponin and Its Distribution in the Body of Sea Cucumber *Stichopus japonicus* // *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 1973. V. 39, N 3. P. 307 - 310.

Mehnert E. Kainogenesis als Ausdruck Differenter Phylogenetischer Energien. Jena: Fisher, 1897. 158 p.

Menge B. A. Foraging Strategy of a Starfish in Relation to Actual Prey Availability and Environmental Predictability // *Ecol. Monogr.* 1972. V. 42. P. 25 - 50.

Miamoto T., Togawa K., Higuchi R., Komori T. Constituents of Holothurioidea. I. Isolation and Structures of Three Triterpenoid Aglycones, Cucumechinol A, B, and C, from the Sea Cucumber *Cucumaria echinata* // *Liebigs Ann. Chem.* 1989. P. 39 - 42.

Miamoto T., Togawa K., Higuchi R., Komori T., Sasaki T. Constituents of Holothurioidea II. Six Newly Identified Biologically Active Triterpenoid Glycoside Sulfates from The Sea Cucumber *Cucumaria echinata* // *Liebigs Ann. Chem.* 1990. P. 453 - 460.

Mochizuki Y., Hori S. H. Immunological Relationships of Starfish Hexokinases: Phylogenetic Implication // *Comp. Biochem. Physiol.* 1980. V. 65B. P. 119 - 125.

Mosher C. Observation on Evisceration and Visceral Regeneration in the Sea-Cucumber *Actinopyga agassizi* Selenka // *Zoologica (New York)*. 1956. V. 41, N 4. P. 17 - 26.

Motohiro T. Studies on Mucoprotein in Marine Products. I. Isolation of Mucoprotein from the Meats of *Stichopus japonicus* and *Cucumaria japonica* // *Nippon Suisan Gakkaishi*. 1960a, V. 26. P. 1171 - 1174.

Motohiro T. Studies on Mucoprotein in Marine Products - II. Isolation of Poly-Fucose Sulfate from the Mucoprotein in *Cucumaria japonica* // *Nippon Suisan Gakkaishi*. 1960b. V. 26. P. 1175 - 1178.

Mottet M. G. Technical Report on the Sea Urchin and Sea Cucumber // *Compl. Rep. Wash. Dep. Fish.* 1976. 247 p.

Muskat A. M. Population Dynamics and the Effect on the Infauna of Deposit-Feeding Holothurian *Parastichopus parvimensis* (Clark). Los Angeles: Univ. of South. Calif., 1983. 328 p.

Newth H. On Early Development of *Cucumaria* // *Proc. Zool. Soc. London*. 1916. V. 2. P. 631 - 641.

Nigrelli R. F. The Effects of Holothurin on Fish and Mice with Sarcoma 180 // *Zoologica (New York)*. 1952. V. 37. P. 89 - 90.

Nigrelli R. F., Jakowska S. Effects of Holothurin, a Steroid Saponin from The Bahamian Sea Cucumber (*Actinopyga agassizi*) on Various Biological System // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1960. V. 90. P. 884 - 892.

Nigrelli R. F., Stempien M. F., Ruggieri G. D., Liguori V. R., Cecil J. T. Substances of Potential Biomedical Importance from Marine Organisms // *Fed. Proc.* 1967. V. 26. P. 1197 - 1205.

Oshima H. Notes on the Development of *Cucumaria echinata* // *Annot. Zoolog. Japonenses*. 1918. V. 9, Pt. 4. P. 377 - 387.

- Oshima H. On the Development of *Cucumaria echinata* // *Quart. J. Micr. Sci.* 1921. V. 65. P. 173 - 246.
- Panning A. Versuch Einer Neordnung der Familie *Cucumariidae* // *Zool. Jb.* 1949. V. 78. P. 404 - 470.
- Paul C. R. C., Smith A. B. The Early Radiation and Phylogeny of Echinoderms // *Biol. Rev.* 1984. V. 59. P. 443 - 481.
- Pawson D. L. Phylogeny and Evolution of Holothuroids // *Treatise on Invertebrate Paleontology / Ed. More R. C. Pt U. Echinodermata 3. V. 2. N.-Y.: Geol. Soc. Amer. and Univ. Kansas Press, 1966. P. 641 - 646.*
- Pawson D. L., Fell H. B. A Revised Classification of the Dendrochirotian Holothurians // *Breviora.* 1965. N 214. P. 1 - 7.
- Pawson D. L., Caycedo I. E. *Holothuria (Thymiosycia) thomasi* - New Species, a Large Caribbean Coral Reef Inhabiting Sea Cucumber (Echinodermata: Holothurioidea) // *Bull. Mar. Sci.* 1980. V. 30, N 2. P. 454 - 459.
- Pearson J. Notes on Holothurioidea of the Indian Ocean // *Spolia Zeylan.* 1913. V. 9, Pt. 34. P. 49 - 100.
- Pearson J. Proposed Re-Classification of the Genera *Mulleria* and *Holothuria* // *Spolia Zeylan.* 1914. V. 9, Pt 35. P. 163 - 172.
- Pettit G. R., Herald C. L., Herald D. L. Antineoplastic agents XLV: Sea Cucumber Cytotoxic Saponins // *J. Pharm. Sci.*, 1976. V. 65, N 10. P. 1158 - 1559.
- Plate L. *Die Abstammungslehre.* Jena: Fisher, 1925.
- Popper K. R. *The Logic of Scientific Discovery.* London: Hutchinson, 1969. 480 p.
- Preston R. L. Occurrence of D-amino Acids in Higher Organisms. A Survey of the Distribution of D-amino Acids in Marine Invertebrates // *Comp. Biochem. Physiol.* 1987. V. 86B, N 1. P. 55 - 62.
- Prospects in Systematics / Ed. Hawksworth D. L. *The Systematic Association Spec. N 36.* Oxford: Clarendon Press, 1988. 457 p.
- Raff R. A., Kaufman T. C. *Embryos, Genes and Evolution. The Development-Genetic Basis of Evolutionary Change.* Macmillan Publishing Co., Inc., New York. 402 p.
- Raff R. A., Field K. G., Ghislin M. T., Lane D. J., Olsen G. J., Pace N. R., Parks A. L., Parr B. A., Raff E. C. Molecular Analysis of Distant Phylogenetic Relationships in Echinoderms // *Echinoderm Phylogeny and Evolutionary Biology / Eds. Paul C. R. C., Smith A. B. Oxford: Clarendon Press. 1988. P. 29 - 41.*
- Rensch B. *Evolution Above the Species Level.* N. Y.: Columbia University Press, 1960. 483 p.
- Roberts D. Classification and the Holothurian Tentacle // *Echinoderms: Proceed. Intern. Conf. / Ed. Lawrence J. M. Rotterdam: A. A. Balkema, 1982. P. 117 - 121.*
- Roberts R. S., Terwilliger R. C., Terwilliger N. B. Comparison of Sea Cucumber Hemoglobin Structures // *Comp. Biochem. Physiol.* 1984. V. 77B, P. 237 - 243.
- Rodriguez J., Riguera R. Lefevrosides: Four Novel Triterpenoid Glycosides from the Sea Cucumber *Cucumaria levevrei* // *J. Chem. Research (M).* 1989. P. 2620 - 2636.
- Rodriguez J., Castro R., Riguera R. Holothurinosides: New Antitumor Non Sulphated Triterpenoid Glycosides from The Sea Cucumber *Holothuria forskali* // *Tetrahedron.* 1991. V. 47, N. 26. P. 4753 - 4762.

- Roller P., Djerassi C., Cloetence R., Tursch B. Terpenoids. LXIY. Chemical Studies of Marine Invertebrates V. The Isolation of Three New Holothurinogenins and Their Chemical Correlation with Lanosterol // J. Am. Chem. Soc. 1969. V. 19, N 17. P. 4918 - 4920.
- Rowe F. W. E. A Review of the Family Holothuriidae (Holothurioidea: Aspidochirota) // Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.) Zool. 1969. V. 18, N 4. P. 119 - 170.
- Ruggieri G. D., Nigrelli R. F. The Effects of Holothurin, a Steroid Saponin from Sea Cucumber, on the Development of the Sea Urchin // Zoologica (New York). 1960. V. 45. P. 1 - 16.
- Rutherford J. C. Geographical Variation in Morphological and Electrophoretic Characters in the Holothurian *Cucumaria curata* // Marine Biology. 1977. V. 43. P. 165-174.
- Sullivan T. D., Ladue K. T., Nigrelli R. F. The Effect of Holothurin, a Steroid Saponin of Animal Origin, on Krebs-2 Ascites Tumors in Swiss Mice // Zoologica (New York). 1955. V. 40, N 1. P. 49 - 52.
- Sammarco P. W., Coll J. C. The Chemical Ecology of Alcionarian Corals (Coelenterata, Octocorallia) // Bioorganic Marine Chemistry / P. J. Scheuer (Ed). Berlin; Heidelberg; London; New York: Springer-Verlag, 1988. V. 2. P. 88 - 116.
- Scheuer P. J. Preface // Marine Natural Products, Chemical and Biochemical Perspectives / Ed. Scheuer P. J. New York; San-Francisco; London: Academic Press, 1978. V. 1. P. 1.
- Seilacher A. Holothurian im Hunsruckscheifer (Unter-Devon) // Sonderdruck aus dem Notizblatt des Hessischen Landesamtes für Bodenforschung Zu Wiesbaden. 1961. N 89. P. 66 - 72.
- Semon R. Die Entwicklung der *Synapta digitata* und ihre Bedeutung für die Phylogenie der Echinodermen // Jenaische Zeitschr. Naturwiss. 1888. N 22. P. 175 - 309.
- Severin S. E., Boldirev A. A., Lebedev A. V. Nitrogenous Extractive Compounds of Muscle Tissue of Invertebrates // Comp. Biochem. Physiol. 1972. V. 43B, N 2. P. 369 - 381.
- Sheikh Y. M., Djerassi C. Bioconversion of Lanosterol into Holotoxigenin a Triterpenoid from the Sea Cucumber *Stichopus californicus* // Chem. Commun. 1976. N 24. P. 1057 - 1058.
- Sheikh Y. M., Djerassi C. Biosynthesis of Sterols in the Sea Cucumber *Stichopus californicus* // Tetrahedron Lett. 1977. N 36. P. 3111 - 3114.
- Shimada S. Antifungal Steroid Glycoside from Sea Cucumbers // Science. 1969. V. 1. P. 148 - 167.
- Smiley S. Metamorphosis of *Stichopus californicus* (Echinodermata: Holothurioidea) and its Phylogenetic Implications // Biol. Bull. 1986. V. 171, N 3. P. 611 - 631.
- Smiley S. The Phylogenetic Relationships of Holothurians: a Cladistic analysis of the Extant Echinoderm Classes // Echinoderm Phylogeny and Evolutionary Biology / Eds. Paul C. R. C., Smith A. B. Oxford: Clarendon Press. 1988. P. 69 - 84.
- Smith A. B. Classification of the Echinodermata // Paleontology. 1984. V. 27, pt. 3. P. 431 - 459.

Smith A. B. Fossil Evidence for Relationships of Extant Echinoderm Classes and Their Times of Divergence // *Echinoderm Phylogeny and Evolutionary Biology* / Eds. Paul C. R. C., Smith A. B. Oxford: Clarenton Press. 1988. P. 85-97.

Sova V. V., Elyakova L. A., Vaskovsky V. E. The Distribution of Laminarinases in Marine Invertebrates // *Comp. Biochem. Physiol.* 1970. V. 32. P. 459 - 464.

Sprinkle J. Patterns and Problems in Echinoderm Evolution // *Echinoderm Studies*. V. 1 / Eds Jangoux M., Lawrence J. M. Rotterdam: A. A. Balkema, 1983. P. 1 - 18.

Stonik V. A., Elyakov G. B. Secondary Metabolites from Echinoderms as Chemotaxonomic Markers // *Bioorganic Marine Chemistry* / Ed. Scheuer P. J. Springer-Verlag, 1988a. V. 2. P. 43 - 86.

Stonik V. A., Elyakov G. B. Structure and Biologic Activities of Sponge and Sea Cucumber Toxins // *Handbook of Natural Toxins and Venoms* / Ed. Tu A. Marcel Dekker Inc., N. Y.: 1988b. P. 107 - 120.

Svetashev V. I., Levin V. S., Cham Ngok Lam, Do Tuet Nga. Lipid and Fatty Acid Composition of Holothurians from Tropical and Temperate Waters // *Comp. Biochem. Physiol.* 1991. V. 98B. P. 489 - 494.

Tan Wai Lee, Djerassi C., Fayos J., Clardy J. Terpenoids. LXX. The Structures of the Sea Cucumber Sapogenin Holotoxinogenin // *J. Org. Chem.* 1975. V. 40; N 4. P. 466 - 470.

Tanaka Y. Feeding and Digestive Processes of *Stichopus japonicus* // *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 1958. V. 9. P. 29 - 36.

Tanaka Y., Nishi C., Takaya M., Uchiyama T. A Hexosamine-Containing Polyfucose Sulfate - Protein Complex from *Stichopus japonicus* Selenka // *J. Biochem.* (Tokyo). 1972. V. 72, N 5. P. 1265 - 1267.

Tanikawa E. Studies on the Proteins of the Meat of Sea Cucumber (*Stichopus japonicus* Selenka) // *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 1955. V. 3, N 1. P. 1 - 91.

Tanikawa E., Wakasa T. Ditto VII. Inorganic Matter of the Meat in Sea Cucumber *Stichopus japonicus* // *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 1955. V. 6. P. 49 - 51.

Terwilliger R. C. Oxygen Equilibrium and Subunit Aggregation of a Holothurian Hemoglobin // *Biochem. Biophys. Acta.* 1975. V. 386. P. 62 - 68.

Thomson R. H. Naturally Occurring Quinones. N.Y.: Academic Press, 1971. 257 p.

Thron C. D. Hemolysis by Holothurin A, Digitonin and Quillaria Saponin Estimates of the Required Cellular Lysin Uptakes and Free Lysin concentrations // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1964. V. 145. P. 194 - 202.

Thron C. D., Durant R. C., Friess S. L. Neuromuscular and Cytotoxic Effects of Holothurin A and Related Saponins at Low Concentration Levels // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1964. V. 6. P. 182 - 196.

Treatise on Invertebrate Paleontology / Eds. More R. C., Teichert C. Pt I. Echinodermata 2. N. Y.: Geol. Soc. Amer. and Univ. Kansas Press, 1978. 1027 p.

Tursch B., Cloetens R., Djerassi C. Chemical Studies of Marine Invertebrates VI. Terpenoids LXV. Praslinogenin, a New Holothurinogenin from the Indian Ocean Sea Cucumber *Bohadschia koellikeri* // *Tetrahedron Lett.* 1970. N 7. P. 467 - 470.

Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Svetashev V. I., Zhukova I. G., Smirnova G. P. Glycolipids of Marine Invertebrates // *Comp. Biochem. Physiol.* 1970. V. 34. P. 163 - 177.

Vaskovsky V. E., Suppes Z. S. Phospholipases of Marine Invertebrates - I. Distribution of phospholipase A // *Comp. Biochem. Physiol.* 1972. V. 43B. P. 601 - 609.

Viera R. V., Mourao P. A. S. Occurrence of Unique Fucose-Branched Chondroitin Sulfate in the Body Wall of Sea Cucumber // *J. Biol. Chem.* 1988. V. 263. P. 176 - 183.

Wainwright P. C. Ecomorphology: Experimental Functional Anatomy for Ecological Problems // *Amer. Zool.* 1991. V. 31. N 4. P. 680 - 693.

Yamanouchi T. On The Poisonous Substance Contained in Holothurians // *Publ. Seto Marine Biol. Lab.* 1955. V. 4. P.183 - 203.

Yamasaki Y., Ito K., Enomoto Y., Sutko J. L. Alteration by Saponins of Passive Transport Ca^{2+} Permeability and $Na^{+} - Ca^{2+}$ Exchange Activity of Canine Cardiac Sarcolemmal Vesicles // *Biochim. Biophys. Acta.* 1987. V. 897. P. 481 - 487.

Zappia V., Porta R., Carteni-Farena M., De Rosa M., Gambacorta G. Polyamine Distribution in Eukaryotes: Occurrence of Sym-Norspermidine and Sym-Norspermine in Arthropods // *FEBS Lett.* 1978. V. 94. P. 161 - 165.

Zurita M. B., Ahond A., Poupat C., Potier P. Invertebres Marins du Lagon Neo-Caledonien, VII. Etude Structurale d'Un Nouveau Saponoside Sulfate Extrait de L'Holothurie *Neothypnidium magnum* // *J. Nat. Prod.* 1986. V. 49, N 5. P. 809 - 813.

УКАЗАТЕЛЬ ЛАТИНСКИХ НАЗВАНИЙ

- Actinopyga - 95, 117, 118, 120, 126, 131, 136, 137, 138, 139, 142, 154, 187, 190
- A. agassizi - 6, 84, 90, 91, 92, 151, 159, 167, 173, 181, 186, 187, 188
- A. echinites - 84, 89, 91, 92, 158, 161
- A. flammea - 90, 91, 92, 136, 239
- A. lecanora - 65, 84
- A. mauritiana - 83, 84, 89, 91, 93, 170
- A. miliaris - 84
- A. sp. - 85
- Apodida (=Synaptida) - 41, 52, 55, 56, 71, 115, 135, 137, 138, 145
- Apostichopus - 123, 137, 138, 142
- Apostichopus (=Stichopus) japonicus - 16, 57, 58, 59, 60, 61, 66, 67, 68, 70, 74, 76, 79, 96, 99, 100, 109, 115, 121, 122, 123, 127, 131, 135, 144, 154, 156, 159, 167, 171, 183, 184, 185, 221, 225
- Arbacia punctilata - 167
- Aspergillus niger - 156, 159, 160, 162, 166
- A. oryzae - 159, 160, 162, 163
- Aspidochirotida - 36, 43, 52, 53, 55, 71, 83, 101, 109, 114, 120, 124, 127, 128, 129, 130, 131, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 142, 144, 147, 223, 224
- Asteroidea - 48, 63, 147
- Asterozoa - 48, 49
- Asterias rubens - 73
- Astichopus - 131, 137, 138, 142
- A. multifidus - 96, 98, 100, 121, 135
- Bohadschia - 88, 92, 95, 117, 118, 119, 120, 121, 126, 127, 131, 136, 137, 138, 140, 142, 154, 187, 189, 216
- B. argus - 66, 70, 85, 93, 119, 150, 225
- B. bivittata - 91, 92, 93, 119, 159, 160, 233
- B. marmorata - 85, 91, 93, 119
- B. paradoxa - 119
- B. sp. - 85, 154
- B. tenuissima - 91, 92, 93, 119

- B. vitiensis* - 88, 91, 93, 95, 119
Benthoides lingua - 70
Candida albicans - 154, 156, 159, 160, 162, 163, 166
C. tropicalis - 154
C. utilis - 159, 160, 162, 163
 Carapidae - 189
 Caudinidae - 40, 115
 Charonia - 27, 187
 Chiridotidae - 41, 71, 115, 145
 Chiridota - 137, 138
Chiridota discolor - 70
Chiridota sp. - 115, 135, 145
 Cladolabinae - 109, 113
Cladolabes - 139, 143
Cladolabes sp. - 109, 113, 135, 144
Cladosporium herbarum - 159, 160, 161, 162, 163
 Concentricycloidea - 48
 Crinoidea - 48
 Crinozoa - 48
 Cryptosyringida - 49
 Cucumariidae - 38, 53, 71, 101, 112, 124, 140
 Cucumariinae - 106, 112
Cucumaria - 64, 106, 135, 138, 139, 142
C. echinata - 104, 112, 136, 165, 173, 191
C. elongata - 70
C. frondosa - 64, 70, 104, 106, 107, 112, 114, 117, 124, 128, 153
C. hydriani - 70
C. japonica - 60, 61, 62, 63, 67, 70, 74, 76, 101, 102, 104, 107, 112, 117, 124, 128, 135, 140, 153, 154, 178, 181, 182, 238
C. lefevrei - 105, 113
C. lubrica - 69
C. planci - 70
C. rufescens - 69
 Cucurbitaceae - 81
 Dactylochirotida - 39

Dendrochirotida - 36, 52, 53, 64, 71, 101, 112, 114, 123, 124, 127, 128, 129, 130, 131, 133, 135, 138, 139, 140, 142, 143, 144, 145, 147, 151, 152, 168, 223, 224

Duasmodyctyla - 138, 139, 142

D. kurilensis - 106, 113, 124, 130, 133, 140, 220

Echerichia - 181

Echinodermata - 1, 2, 3, 12, 31, 46, 47, 48, 50, 51, 52, 63, 64, 68,

69

Echinoidea - 48

Echinozoa - 48, 49

Elasipodida - 42, 52, 53, 55, 71

Eleuterozoa - 48

Euapta godeffroyi - 65, 66

Eupentacta - 114, 124, 128, 135, 138, 139, 143, 214, 215, 216

E. (=Cucumaria) fraudatrix - 57, 66, 70, 72, 74, 76, 77, 78, 79, 107, 113, 145, 153, 154, 167, 182, 184, 211, 221, 225, 226, 227, 234, 239

E. pseudoquinquesemita - 108, 109, 113

Eupyrgidae - 41

Eureaster insignis - 81

Gephyrothuriida - 42, 114, 124, 135, 138, 139, 143,

Gephyrothuriidae - 43, 114, 140

Heterothyonidae - 39

Holothurioidea - 1, 2, 3, 31, 36, 48, 51, 52, 53, 54, 65, 114, 116, 131, 132, 133, 137, 142, 146

Holothuriidae - 36, 52, 53, 83, 84, 87, 92, 94, 96, 109, 117, 118, 121, 124, 125, 126, 127, 128, 130, 131, 136, 139, 140, 144, 147, 170, 186, 189, 190, 197, 198, 205, 216, 217, 221, 222, 223, 231, 234

Holothuria - 54, 95, 117, 118, 121, 125, 126, 131, 136, 137, 138, 139, 142, 154, 187, 190

H. arenicola - 71, 86, 125

H. atra - 65, 71, 83, 84, 85, 88, 90, 91, 93, 150, 187

H. axiologa - 90, 91, 93

H. cinerascens - 83, 86, 125

H. coluber - 86

H. cubana - 86

- H. difficilis* - 86, 187
H. edulis - 86, 88, 90, 93
H. floridana - 89, 90, 94, 180
H. forskali - 87, 90, 91, 94, 95, 121, 126, 131, 171, 182
H. fuscocinera - 86
H. gracilis - 86
H. (Ludvigothuria) grisea - 60, 62, 86, 90, 94, 178
H. hilla - 86, 187
H. (Thymiosycia) impatiens - 86, 125
H. leucospilota (=vagabunda) - 6, 65, 86, 90, 94, 151, 158, 184
H. mexicana - 71, 87, 89, 90, 94, 154, 167, 225
H. nobilis - 87
H. pardalis - 65
H. pervicax - 83, 87, 91, 94, 109, 144, 159, 163
H. polii - 87
H. pulla - 87
H. scabra - 87, 90, 91, 94
H. squamifera - 90, 94
H. sp. - 87
H. surinamensis - 87
H. thomasi - 187
H. tubulosa - 68, 71, 87
Homodendron pedrosol - 156
Isostichopus badionotus - 76
Labidodemas - 129
Mesothuria verrili - 71
Mollusca - 50
Molpadiida - 40, 52, 55, 115, 135, 137, 138, 145
Molpadiidae - 40
Mucor hiemalis - 166
M. spinenscence - 159, 160, 161, 162, 163
Myriotrochidae - 42
Neisseria - 181
Neothyone - 138, 139, 143
N. gibbosa - 109, 113, 144
Neothyonidium - 114, 129, 138, 139, 143

- N. magnum* - 110, 113, 117, 118, 135, 140, 217
Ophiuroidea - 48
Paleocucumaria - 54
Paracaudina - 137, 138
P. ransonetii - 115, 135, 145
Paracucumidae - 39
Parastichopus - 122, 123, 137, 138, 142
P. (=Stichopus) californicus - 50, 71, 73, 96, 99, 100, 121, 122, 123, 127, 131, 135, 144, 225
P. (=S.) nigripunctatus - 122
P. (=S.) parvimensis - 122, 123
P. (=S.) tremulus - 71, 122, 123
Parathyone - 138, 139
Parathyone sp. - 74, 135, 236
Pearsonothuria - 92, 117, 120, 126, 131, 137, 138, 139, 142, 190
P. (=Bohadschia) draschii - 120
P. (=B.) graeffei - 66, 85, 90, 91, 92, 93, 95, 117, 118, 119, 120, 187
Pelmatozoa - 48
Penicillium chrysogenum - 159, 160, 161, 162, 163, 166
P. citrinum - 159, 160, 161, 162, 163,
P. niger - 156
Pentacta - 129
Phyllophoridae - 38, 110, 113, 140
Placothuriidae - 39
Proteus - 181
Pseudostichopus - 43, 124, 138, 139, 143
P. trachus - 114, 140,
Psolidae - 39, 71, 111, 113, 129, 134, 139, 210
Psolus - 114, 124, 128, 135, 138, 139, 143, 145, 191
P. fabricii - 69, 71, 76, 111, 112, 113, 114, 134, 140, 221
P. phantapus - 71
P. sp. - 111, 112, 113, 134, 140
Rhodotorula rubra - 159, 160, 161, 162, 163
Saccharomyces carlsbergensis - 154, 155, 156
Salmonella - 181

- S. typhimurium* - 181
Selenkothuria - 54, 125
Semperothurria - 54, 125
Sclerodactylidae - 38, 107, 109, 113, 140, 144, 145
Sclerodactylinae - 107, 109, 113
Solanaceae - 81
Staphylococcus aureus - 181
Somasteroidea - 48
Stelleroidea - 48
Stichopodidae - 37, 71, 83, 96, 99, 100, 121, 127, 128, 130, 131, 135, 140, 144, 147, 155, 168, 170, 223, 234
Stichopus - 122, 129, 131, 135, 137, 138, 142, 154
S. chloronotus - 66, 96, 98, 100, 121, 122, 123, 140, 155, 159, 170
S. hermanni - 98, 100, 121
S. moebii - 66
S. regalis - 71
S. variegatus - 96, 98, 100, 121, 140
Strongylocentrotus intermedius - 167, 168
Synallactidae - 37, 43, 53, 71, 114, 124
Synallactes chuni - 71
Synaptidae - 41, 115
Synapta - 137, 138
S. maculata - 115, 135, 145, 233
Thelenota - 131, 135, 137, 142, 154
T. ananas - 96, 98, 100, 101, 121, 155, 170, 225
T. anax - 98, 100, 101, 121
Thyonidiinae - 106, 113
Tonna - 27, 187
T. perdix - 187
Torula utilis - 156
Trichomonas foetus - 166
Trychophyton mentagrophytes - 156, 159, 160, 161, 162, 164, 166
T. rubrum - 159, 160, 161, 162, 163
Vertebrata - 64

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
1. БИОЛОГИЯ ГОЛОТУРИЙ.....	12
1.1. Общая характеристика	12
1.1.1. Морфология	12
1.1.2. Физиология	16
1.1.3. Общий химический состав	21
1.1.4. Образ жизни	22
1.1.5. Питание.....	23
1.1.6. Размножение	24
1.1.7. Распределение, роль в сообществах	25
1.1.8. Враги	26
1.1.9. Хозяйственное значение.....	27
1.2. Систематика	28
1.2.1. Систематика: принципы и направления	28
1.2.2. Диагностические признаки голотурий.....	33
1.2.3. Система класса	36
1.3. Филогения.....	43
1.3.1. Филогенетика: общие соображения.....	43
1.3.2. Филогения типа Echinodermata	47
1.3.3. Филогения Holothurioidea	51
2. БИОХИМИЯ ГОЛОТУРИЙ.....	57
2.1. Некоторые общие сведения о составе фракций и строении первичных и вторичных метаболитов иглокожих.....	57
2.2. Первичные метаболиты, включая биополимеры и их биосинтетические предшественники, из голотурий.....	59
2.3. Вторичные метаболиты из голотурий.....	65
3. ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ТРИТЕРПЕ- НОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ГОЛОТУРИЙ.....	83
3.1. Отряд <i>Aspidochirotida</i>	83
3.1.1. Семейство <i>Holothuriidae</i>	83
3.1.2. Семейство <i>Stichopodidae</i>	96
3.2. Отряд <i>Dendrochirotida</i>	101
3.3. Химически малоисследованные группы <i>Holothurioidea</i>	114
4. ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ И СИСТЕМАТИКА ГОЛО- ТУРИЙ	116
4.1. Общие соображения.....	116
4.2. Пересмотр таксономического статуса <i>Vohadschia graeffei</i>	118
4.3. О таксономическом статусе североатлантической голотурии <i>Holothuria forskali</i>	121
4.4. О таксономическом статусе северотихоокеанских стихоподид	121
4.5. Другие группы	123

4.6. Структура тритерпеновых гликозидов и филогения Holothurioidea.....	124
4.7. Основные направления эволюции тритерпеновых гликозидов Holothurioidea.....	132
4.7.1. Общие соображения.....	132
4.7.2. Гомологическая изменчивость и направленность в эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий.....	133
4.7.3. Зависимость между химическим и морфологическим разнообразием.....	146
5. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ГОЛОТУРИЙ.....	150
5.1. Биологическая активность гликозидов.....	150
5.1.1. Токсические свойства гликозидов.....	150
5.1.2. Другие виды биологической активности.....	177
5.2. Биологическая роль гликозидов.....	182
5.2.1. Устойчивость клеточных мембран голотурий к действию собственных тритерпеновых гликозидов.....	182
5.2.2. Регуляция размножения - внутренняя функция гликозидов голотурий.....	184
5.2.3. Внешние функции тритерпеновых гликозидов голотурий.....	186
5.3. Некоторые выводы.....	192
6. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КОНЦЕПЦИИ И ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ЭВОЛЮЦИИ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ ГОЛОТУРИЙ И ИХ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОТНОШЕНИЙ.....	194
6.1. Общие соображения.....	194
6.2. Холистский или системно-теоретический подход к описанию структурно-функциональных отношений тритерпеновых гликозидов голотурий.....	196
6.3. Морфологические закономерности в эволюции тритерпеновых гликозидов голотурий.....	207
6.3.1. Общие соображения.....	207
6.3.2. Концепция модусов органогенеза.....	208
6.4. Морфологические закономерности в эволюции биосинтеза гликозидов голотурий.....	225
6.4.1. Биосинтез тритерпеновых гликозидов голотурий.....	225
6.4.2. Теория филэмбриогенезов.....	228
6.5. Общий ход филогенеза тритерпеновых гликозидов голотурий.....	240
ЗАКЛЮЧЕНИЕ. ХИМИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ - НОВЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОТНОШЕНИЙ БИОМОЛЕКУЛ И ИХ ЭВОЛЮЦИИ.....	245
УКАЗАТЕЛЬ ЛАТИНСКИХ НАЗВАНИЙ.....	275

CONTENTS

PREFACE.....	3
INTRODUCTION.....	4
1. BIOLOGY OF SEA CUCUMBERS	11
1.1. General characteristics	12
1.1.1. Morphology	12
1.1.2. Physiology	16
1.1.3. General chemical composition.....	21
1.1.4. Way of life.....	22
1.1.5. Feeding.....	23
1.1.6. Reproduction.....	24
1.1.7. Distribution, role in communities	25
1.1.8. Enemies.	26
1.1.9. Economical significance	27
1.2. Systematics.....	28
1.2.1. Systematics: principles and directions	28
1.2.2. Diagnostic characters of sea cucumbers.....	33
1.2.3. System of class	36
1.3. Phylogeny.....	43
1.3.1. Phylogenetics: general consideration	43
1.3.2. Phylogeny of type <i>Echinodermata</i>	47
1.3.3. Phylogeny of <i>Holothurioidea</i>	51
2. BIOCHEMISTRY OF SEA CUCUMBERS	57
2.1. Some general information on composition of fractions and structures of primary and secondary metabolites of echinoderms.	57
2.2. Primary metabolites including biopolymers and their precursors from sea cucumbers.....	59
2.3. Secondary metabolites from sea cucumbers	65
3. TAXONOMICAL DISTRIBUTION OF TRITERPENE GLYCOSIDES OF SEA CUCUMBERS.....	83
3.1. Order <i>Aspidochirotida</i>	83
3.1.1. Family <i>Holothuriidae</i>	83
3.1.2. Family <i>Stichopodidae</i>	96
3.2. Order <i>Dendrochirotida</i>	101
3.3. Scratch chemically investigated groups of <i>Holothurioidea</i>	114
4. TRITERPENE GLYCOSIDES AND SYSTEMATICS OF SEA CUCUMBERS	116
4.1. General considerations	116
4.2. Revision of taxonomic status of <i>Bohadschia graeffei</i>	118
4.3. On taxonomic status of North Atlantic sea cucumber <i>Holothuria</i> <i>forskali</i>	121
4.4. On taxonomic status of North Pacific stichopodids	121
4.5. Other groups	123

4.6. The structure of triterpene glycosides and phylogeny of Holothurioidea	124
4.7. General trends of triterpene glycosides of Holothurioidea evolution	132
4.7.1. General considerations	132
4.7.2. Gomological variability and trend in sea cucumbers triterpene glycosides evolution	133
4.7.3. The correlation between chemical and morphological diversity	146
5. BIOLOGICAL ACTIVITIES AND BIOLOGICAL FUNCTIONS OF SEA CUCUMBERS TRITERPENE GLYCOSIDES	150
5.1. Biological activities of glycosides	150
5.1.1. Toxic properties of glycosides	150
5.1.2. Other types of biological activities	177
5.2. Biological functions of glycosides	182
5.2.1. Resistance ability of sea cucumbers cell membranes against action of their own triterpene glycosides	182
5.2.2. Regulation of reproduction - the inner function of sea cucumber glycosides	184
5.2.3. Internal function of sea cucumber triterpene glycosides	186
5.3. Some conclusions	192
6. MORPHOLOGICAL CONCEPTIONS AND APPROACHES TO SEA CUCUMBER TRITERPENE GLYCOSIDES EVOLUTION AND THEIR STRUCTURE-FUNCTION RELATIONSHIPS	194
6.1. General considerations	194
6.2. Holistic or system-theoretical approach to description of sea cucumber glycosides structure-function relationships	196
6.3. Morphological trends in sea cucumber triterpene glycosides evolution	207
6.3.1. General considerations	207
6.3.2. The conception of organogenesis modes	208
6.4. Morphological trends in evolution of biosynthesis of sea cucumber glycosides	225
6.4.1. Biosynthesis of sea cucumber triterpene glycosides	225
6.4.2. The theory of phylembryogeneses	228
6.5. General trends of sea cucumber triterpene glycosides phylogenesis	240
CONCLUSIONS. CHEMICAL MORPHOLOGY - A NEW APPROACH TO THE INVESTIGATION OF STRUCTURE-FUNCTION RELATIONSHIPS OF BIOMOLECULES	245
INDEX OF LATIN NAMES	275