

О. Н. Толкачев<sup>1</sup>, Е. А. Абизов<sup>1</sup>, Е. В. Абизова<sup>2</sup>, С. Д. Мальцев<sup>3</sup>

## ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРЫ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА ELAEAGNACEAE JUSS. КАК ПРИРОДНОГО ИСТОЧНИКА ИНДОЛЬНЫХ АЛКАЛОИДОВ РЯДА $\beta$ -КАРБОЛИНА

<sup>1</sup> ГУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений РАСХН, Москва;

<sup>2</sup> ГОУ ВПО Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова;

<sup>3</sup> Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва

Определены качественный состав и количественное содержание алкалоидов производных  $\beta$ -карболина в коре *Hippophaë rhamnoides* L., *Elaeagnus angustifolia* L., *E. orientalis* L., *E. umbellata* Thunb., *E. multiflora* Thunb. и *E. argentea* Pursh., культивируемых на территории РФ. Из коры облепихи и четырех видов лоха алкалоиды — производные  $\beta$ -карболина выделены впервые. Результаты фитохимического изучения коры шести видов лоховых показали, что облепиха крушиновидная, лох узколистый, л. восточный и л. зонтичный могут являться перспективными природными источниками сырья для получения  $\beta$ -карболинов, а также для создания лекарственных средств на их основе.

В народной медицине стран Центральной и Юго-Восточной Азии препараты коры облепихи, а также лоха в виде настоек, отваров, порошков применяются для снятия подавленности и улучшения настроения [1]. Галеновые препараты из побегов, корней, а также коры облепихи (*Hippophaë rhamnoides* L.), в зависимости от дозировки и способа приготовления, проявляют седативное или тонизирующее действие. В литературе имеются сведения о гипотензивном и холиномиметическом действии настойки коры, а также корней лоха узколистого [2]. По мнению авторов в механизме гипотензивной реакции лежит седативное действие настойки коры лоха узколистого на ЦНС. При химическом изучении коры и побегов *Elaeagnus angustifolia* L. и *Hippophaë rhamnoides* L. рядом исследователей были выявлены алкалоиды группы индола из облепихи — триптофан и серотонин, а из лоха узколистого были выделены 6 производных  $\beta$ -карболина — гарман, дигидрогарман, тетрагидрогарман (элеагнин), N-метил-1,2,3,4-тетрагидро- $\beta$ -карболин, тетрагидрогармол и N-метилтетрагидрогармол (рисунок) [3 – 5]. В литературе отсутствуют данные о выделении подобных соединений из других видов лоха.

Нейрофармакологический анализ синтетических  $\beta$ -карболинов [6] показал, что они являются универсальными модуляторами функций ГАМК- и моноаминергических синапсов мозга.

Эндогенные  $\beta$ -карболины, в том числе гарман, содержание которого в мозге достигает десятков наногرامмов на 1 г ткани, имеют экстранейрональное происхождение: они образуются в результате биотрансформации триптофана.

Эти соединения являются транс- и постсинаптическими модуляторами функций моноаминергических и (или) ГАМК-ергических синапсов, усиливают импульсное высвобождение норадреналина, дофамина и серотонина, воздействуя на аксонные терминалы моноаминергических нейронов. Повышая внутрисинапти-

ческую концентрацию названных аминов,  $\beta$ -карболины проявляют антидепрессивные свойства и воспроизводят фармакологические эффекты классических антидепрессантов (имипрамина, амитриптилина), способность которых нормализовать настроение (тимоаналептическое действие) используется в лечении депрессий и депрессивных состояний.

В официальной медицине препараты на основе синтетических  $\beta$ -карболинов (амбокарб и абекарнил) эффективно применяются в качестве корректоров настроения и уровня тревожности, а также как противосудорожные средства [6].

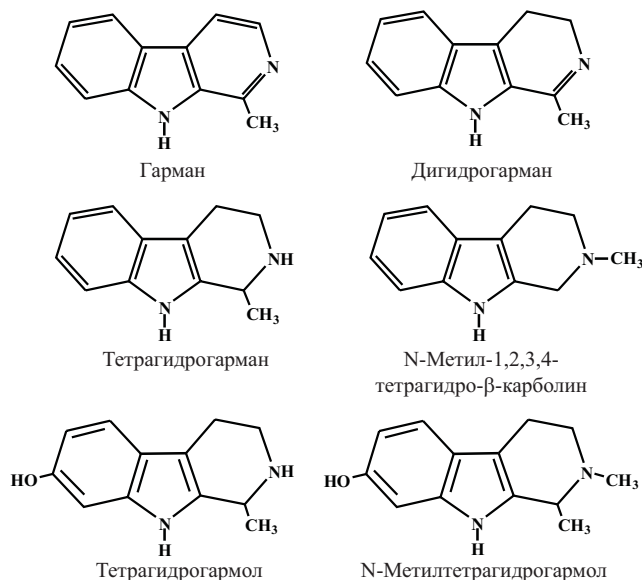
Таким образом, на основании приведенных литературных материалов можно заключить, что индольные алкалоиды, а именно производные  $\beta$ -карболина, содержащиеся в коре облепихи крушиновидной и лоха (л.) узколистого, обуславливают их применение в народной медицине. В настоящее время поиск природных источников сырья для получения этих соединений является актуальной задачей современной фармации.

Целью нашей работы являлось определение алкалоидов производных  $\beta$ -карболина в коре *Hippophaë rhamnoides* L., *Elaeagnus angustifolia* L., *E. orientalis* L., *E. umbellata* Thunb., *E. multiflora* Thunb. и *E. argentea* Pursh., культивируемых на территории РФ.

### Экспериментальная часть

Кору облепихи крушиновидной, лоха многоцветкового и л. серебристого заготавливали в Ботаническом саду Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова. Сырье л. узколистого, л. восточного, а также л. зонтичного получали из Еревана (Армения). Сушку проводили воздушно-теньевым способом. Для измельчения образцов использовали мельницу зерновую лабораторную “Микма”.

Выделение суммы алкалоидов производили по модифицированной методике [3]. Измельченную кору в



Индольные алкалоиды – производные β-карболина, обнаруженные в коре представителей семейства *Elaeagnaceae* L.

количестве 1 кг загружали в перколяторы и смачивали 10 % раствором аммиака, через 30 мин заливали дихлорэтаном 1:10. Дихлорэтановое извлечение через 24 ч сливали. Данную процедуру повторяли дважды. Из полученного экстракта алкалоиды извлекали 10 % соляной кислотой до отрицательной реакции с 1 % раствором кремне-вольфрамовой кислоты. Солянокислые извлечения фильтровали, фильтрат подщелачивали 25 % раствором гидрата окиси аммония до pH 10 и алкалоиды исчерпывающе извлекали хлороформом. Хлороформные извлечения объединяли, затем отгоняли растворитель на роторном испарителе *Waterbath-480* фирмы *Büchi* (Швейцария) под вакуумом при температуре водяной бани 60 – 90 °С. Сумму алкалоидов высушивали в эксикаторе над  $MgSO_4$ . Затем ее растворяли в 5 % серной кислоте, нерастворившуюся часть отфильтровывали, фильтрат охлаждали до + 4 °С и подщелачивали 20 % раствором едкого натра до pH 10. Осадок отфильтровывали, промывали водой до нейтральной реакции и высушивали в эксикаторе под вакуумом до постоянной массы (фракция 1). Раствор переносили в делительную воронку и исчерпывающе извлекали диэтиловым эфиром до получения бесцветных извлечений, дающих отрицательную реак-

цию с 1 % раствором кремне-вольфрамовой кислоты. Эфирные извлечения сушили безводным поташом и растворитель отгоняли (фракция 2). Затем проводили дальнейшее извлечение водно-щелочного раствора хлороформом (фракция 3).

Разделение суммы алкалоидов из алкалоидной фракции проводили методом препаративной двухмерной хроматографии.

Идентификацию веществ проводили с помощью ТСХ, в качестве свидетелей использовались синтетические β-карболины (гарман, тетрагидрогармол, тетрагидрогармол и N-β-метилтетрагидрогармол), любезно предоставленные С. Д. Мальцевым из ИОХ им. Н. Д. Зелинского, за что мы выражаем ему свою признательность. Наряду с этим строение выделенных алкалоидов уточняли по данным ИК- и  $^1H$  ЯМР спектров.

Количественное определение алкалоидов производных β-карболина проводили спектрофотометрическим методом на регистрирующем спектрофотометре EP-3T фирмы *Hitachi* при длине волны ( $\lambda$ ) 280 нм. Для этого 10 г измельченного, проходящего сквозь сито с диаметром отверстий 1 мм (точная навеска) сырья, исчерпывающе экстрагировали 96 % этанолом в аппарате Сокслета, экстракт количественно переносили в мерную колбу на 200 мл и доводили до метки. Наносили 10 мл полученного раствора (в несколько приемов) с помощью микропипетки на линию старта хроматографической пластинки фирмы *Merck G-60-TLC* на стеклянной подложке размером 10 × 10 см по 3 полосы, высушивали на воздухе, хроматографировали восходящим способом в системе 3 % раствора метанола в хлороформе; высушивали и просматривали в УФ-свете при длине волны 280 нм. Отмеченные зоны алкалоидов собирали в приемник, элюировали 25 мл 96 % этанола при 40 – 50 °С, фильтровали через стеклянный фильтр № 4 и определяли оптическую плотность растворов.

Расчет содержания алкалоидов в сырье производили по формуле:

$$X = \frac{D \cdot V_1 \cdot V_2}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot l \cdot m \cdot V}$$

где  $D$  — оптическая плотность растворов алкалоидов;  $V_1$  — объем исследуемого раствора (мл);  $V_2$  — объем спирта, использованного для элюирования алкалоидов

**Среднее содержание алкалоидов производных β-карболина в коре представителей семейства *Elaeagnaceae* L., культивируемых на территории РФ (%),  $n = 5$**

| β-Карболин                            | Вид                  |                        |                      |                     |                      |                    |
|---------------------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|--------------------|
|                                       | <i>H. rhamnoides</i> | <i>E. angustifolia</i> | <i>E. orientalis</i> | <i>E. umbellata</i> | <i>E. multiflora</i> | <i>E. argentea</i> |
| Гарман                                | 0,186                | 0,125                  | 0,134                | 0,142               | 0,065                | 0,054              |
| Дигидрогарман                         | 0,122                | 0,109                  | 0,097                | 0,079               | 0,049                | 0,045              |
| Тетрагидрогарман                      | 0,104                | 0,052                  | 0,075                | 0,085               | 0,072                | 0,065              |
| N-Метил-1,2,3,4-тетрагидро-β-карболин | 0,007                | 0,021                  | 0,026                | –                   | следы                | –                  |
| Тетрагидрогармол                      | 0,017                | 0,008                  | 0,010                | 0,005               | следы                | –                  |
| N-Метилтетрагидрогармол               | –                    | 0,005                  | 0,003                | следы               | –                    | –                  |

с хроматограммы (мл);  $l$  — толщина кюветы (см);  $m$  — навеска (г);  $V$  — количество раствора, нанесенного на пластинку (мл).

Учитывая тот факт, что в области рабочих концентраций (10–60 мг/мл) поглощение элюатов подчиняется закону Бугера — Ламберта — Бэра, для расчета нами был использован удельный показатель поглощения  $E_{1\text{см}}^{1\%}$ .

### Результаты и их обсуждение

Выход суммы алкалоидов из сырья исследованных видов составлял в среднем  $0,28 \pm 0,03$  %. Результаты качественного и количественного состава алкалоидов производных  $\beta$ -карболина в коре представителей семейства *Elaeagnaceae* L. сведены в таблицу.

Структурные формулы выделенных и идентифицированных алкалоидов показаны на рисунке.

Как видно из таблицы, гарман, дигидрогарман и тетрагидрогарман (элеагинин) по количественным показателям преобладают над *N*-метил-1,2,3,4-тетрагидро- $\beta$ -карболином, тетрагидрогармолем, а также *N*-метилтетрагидрогармолем в коре всех исследованных видов.

Кроме того, тетрагидрогармол не был выделен из сырья л. серебристого, а у л. многоцветкового обнаружен в следовых количествах. Таким образом, последнее по содержанию можно отнести к минорным алкалоидам. Наиболее богата гарманом и его производными оказалась кора *Hippophaë rhamnoides* L., самое низкое содержание зафиксировано в сырье *Elaeagnus argentea* Pursh., кроме того в нем не обнаружено минорных алкалоидов.

Сравнительно высокие количественные показатели алкалоидов облепихи крушиновидной, л. узколистной, л. восточного, а также л. зонтичного, возможно, обусловлены морфолого-анатомическими характеристиками сырья. По размерам куски коры этих растений разительно отличались от образцов л. многоцветкового и л. серебристого. Возможно, это связано с особенностями жизненной формы этих растений.

Предшественниками в биосинтезе производных  $\beta$ -карболина, представленных на рисунке, являются более простые по строению триптамин и триптофан. Последний вместе с серотонином ранее был выделен из коры облепихи крушиновидной [4]. Как известно, триптофан является незаменимой аминокислотой, входящей в состав большинства белков, а также служит биосинтетическим предшественником триптамин-, индол- и 2,3-дигидроиндол-содержащих вторичных метаболитов, один из которых — 5-гидрокситриптамин (серотонин) — гормон, выполняющий нейротрансмиттерную функцию в ЦНС.

Таким образом, предположение о взаимосвязи нейрофизиологической активности препаратов коры некоторых представителей семейства *Elaeagnaceae* L., применяемых в традиционной медицине, содержащих  $\beta$ -карболиновые алкалоиды, на наш взгляд, в настоящей работе нашло свое обоснование.

Результаты фитохимического изучения коры 6 видов лоховых показали, что облепиха крушиновидная, л. узколистной, л. восточный и л. зонтичный могут являться перспективными природными источниками сырья для получения  $\beta$ -карболинов, а также для создания лекарственных средств на их основе.

### ЛИТЕРАТУРА

1. В. К. Лавренов, Г. В. Лавренова, *Полная энциклопедия лекарственных растений*, Том 1, “Нева”, Санкт-Петербург, “ОЛМА-ПРЕСС”, Москва (1999), сс. 696–697.
2. А. В. Нелегатская, А. М. Макарова, *Научные записки Ужгородского университета*, Ужгород (1962), сс. 46–47.
3. А. Г. Николаева, А. П. Прокопенко, П. Е. Кривенчук, *Химия природ. соедин.*, № 6, 708–711 (1970).
4. М. Ф. Петрова, Г. П. Меньшиков, *Журн. общей химии*, XXXI (ХСIII) (7), 2413–2415 (1961).
5. Т. Ф. Платонова, А. Д. Кузовков, П. С. Масагетов, *Журн. общей химии*, XXVI (LXXXVIII) (11), 3220–3223 (1956).
6. В. И. Дуленко, И. В. Комиссаров, А. Т. Долженко, Ю. А. Никулюкин,  *$\beta$ -Карболины. Химия и нейробиология*, Наукова Думка, Киев (1992), сс. 4–192.

Поступила 19.11.07

## PHYTOCHEMICAL STUDY OF THE BARK OF SOME PLANTS FROM *Elaeagnaceae* FAMILY AS NATURAL SOURCE OF INDOLE ALKALOIDS OF THE $\beta$ -CARBOLINE SERIES

O. N. Tolkachev<sup>1</sup>, E. A. Abizov<sup>1</sup>, E. V. Abizova<sup>3</sup>, and S. D. Mal'tsev<sup>3</sup>

<sup>1</sup> All-Russia Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Sechenov Medical Academy, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow

We have studied the qualitative and quantitative composition of indole alkaloids, which have been isolated for the first time from the bark of *Hippophaë rhamnoides* L., *Elaeagnus angustifolia* L., *E. orientalis* L., *E. umbellata* Thunb., *E. multiflora* Thunb., and *E. argentea* Pursh. plants occurring in Russia. The results of the phytochemical study showed that the bark of all these plants contains alkaloids representing  $\beta$ -carboline derivatives. Four of these plants can be promising sources of  $\beta$ -carboline alkaloids for the creation of drugs.