

© Коллектив авторов, 2011

Е. А. Абизов¹, О. Н. Толкачёв²

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАГЕНТА НА ПРАКТИЧЕСКИЙ ВЫХОД β -КАРБОЛИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ ИЗ КОРЫ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА *ELAEAGNUS* L.

¹ ГОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, Москва, Россия;

² ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений РАСХН, Москва, Россия

Изучено влияние различных экстрагентов и режимов экстракции на практический выход суммы β -карболиновых алкалоидов из сырья *Elaeagnus angustifolia* L., *E. multiflora* Thunb и *E. argentea* Pursh. Подобран экстрагент — смесь разнополярных растворителей хлороформ — этанол, определены оптимальные параметры экстрагирования: температура экстракции — 40 °С; плотность загрузки (ρ) — 0,5 г/см³; измельченность (D) — 1–3 мм; соотношение массовых частей сырья — экстрагент ($m_c:m_s$) — 1:30. Результаты настоящего изучения открывают возможность более исчерпывающего извлечения алкалоидов из сырья видов рода *Elaeagnus* L.

Ключевые слова: экстрагенты, β -карболиновые алкалоиды, *Elaeagnus*, лох.

Многие представители семейства Elaeagnaceae Juss. являются перспективными источниками алкалоидов группы индола [1]. К ним относятся производные β -карболина: гарман, дигидрогарман, тетрагидрогарман (элеагинин), используемые в фармацевтической промышленности ряда стран мира для производства препаратов, применяемых в психиатрии [2].

В 80-е годы прошлого века β -карболины стали изучаться специалистами разных областей нейробиологии, так как они оказались важным инструментом нейрхимического исследования, так называемых бензодиазепиновых рецепторов (БДР). Последние являются участками аллостерического регулирования рецепторов γ -аминомасляной кислоты (P_A -ГАМК), образующих функциональные комплексы с хлорными ионофорами в мембранах нервных клеток. Как модуляторы рецептор-ионофорных мембранных комплексов β -карболины используются для нейрофизиологических исследований ГАМК-ергического торможения на разных уровнях центральной нервной системы позвоночных. Кроме того, наряду с другими лигандами БДР и специфическими лигандами 1A-серотониновых рецепторов β -карболины служат для анализа клеточных и молекулярных (патофизиологических и биохимических) механизмов тревоги и страха, которые представляют собой важнейшие компоненты эмоционально-стрессовых реакций человека и животных. Данные по молекулярной фармакологии и нейрофизиологии β -карболинов в последние годы привлекаются к обоснованию новых концепций патогенеза распространённых психопатологических состояний. Наконец, β -карболины — перспективный класс веществ для изыскания транквилизаторов и обладающих противотревожной, противотревожной (анксиолитической) активностью и стресс-протективными свойствами.

В настоящее время препараты на основе синтетических β -карболинов (амбокарб и абекарнил) эффективно применяются в качестве корректоров настроения и уровня тревожности, а также противосудорожных средств [3].

В России источником сырья для производства подобных препаратов вполне могут использоваться кора и корни интродуцированных азиатских представителей рода лох (*Elaeagnus* L.) [4].

С целью расширения сырьевых источников было проведено сравнительное изучение количественного содержания β -карболинов в коре видов лоха, культивируемых на территории России.

Для этого нами проведены исследования влияния различных экстрагентов и режимов экстракции на практический выход суммы этих алкалоидов из сырья *Elaeagnus angustifolia* L., *E. multiflora* Thunb и *E. argentea* Pursh.

Экспериментальная часть

Кору стеблей лоха узколистного, л. многоцветкового и л. серебристого заготавливали в Ботанических садах Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова (Москва), Белгородского государственного университета (Белгород), а также на опытных участках ГНУ Всероссийского научно-исследовательского института садоводства им. И. В. Мичурина (Мичуринск, Тамбовская обл.). Заготовку материала осуществляли согласно нормативной документации по сбору и сушке соответствующего сырья. Сушку проводили воздушно-теневым способом [5]. Для измельчения образцов использовали мельницу зерновую лабораторную “Микма” (Россия).

Практический выход суммы β -карболиновых алкалоидов в % из коры лоха узколистного при разных режимах экстрагирования

Параметры экстрагирования				Экстрагенты				
t , °C	ρ , г/см ³	D , мм	$m_c:m_s$	Хлороформ	Дихлорэтан	60 % этанол	CHCl ₃ -C ₂ H ₅ OH	
20	0,25	1	1:15	0,24 ± 0,02	0,26 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,27 ± 0,01	
			1:30	0,28 ± 0,02	0,30 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,32 ± 0,03	
			1:60	0,29 ± 0,02	0,32 ± 0,02	0,27 ± 0,03	0,35 ± 0,01	
		3	1:15	0,20 ± 0,03	0,23 ± 0,03	0,17 ± 0,01	0,24 ± 0,01	
			1:30	0,25 ± 0,01	0,27 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,29 ± 0,01	
			1:60	0,26 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,30 ± 0,03	
		7	1:15	0,16 ± 0,03	0,19 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,20 ± 0,02	
			1:30	0,22 ± 0,03	0,23 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,25 ± 0,03	
			1:60	0,22 ± 0,03	0,25 ± 0,02	0,20 ± 0,02	0,26 ± 0,01	
		0,5	1	1:15	0,25 ± 0,02	0,27 ± 0,03	0,22 ± 0,02	0,29 ± 0,03
				1:30	0,27 ± 0,03	0,29 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,33 ± 0,02
				1:60	0,28 ± 0,02	0,31 ± 0,03	0,25 ± 0,03	0,32 ± 0,03
	3		1:15	0,24 ± 0,02	0,26 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,28 ± 0,03	
			1:30	0,26 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,23 ± 0,02	0,30 ± 0,03	
			1:60	0,27 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,24 ± 0,03	0,31 ± 0,03	
	7		1:15	0,17 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,14 ± 0,03	0,21 ± 0,02	
			1:30	0,22 ± 0,03	0,24 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,26 ± 0,02	
			1:60	0,23 ± 0,02	0,26 ± 0,01	0,21 ± 0,03	0,27 ± 0,03	
	1,0		1	1:15	0,25 ± 0,03	0,25 ± 0,03	0,22 ± 0,02	0,29 ± 0,01
				1:30	0,27 ± 0,03	0,29 ± 0,02	0,24 ± 0,03	0,31 ± 0,01
				1:60	0,28 ± 0,03	0,30 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,32 ± 0,03
		3	1:15	0,24 ± 0,01	0,26 ± 0,03	0,21 ± 0,02	0,28 ± 0,02	
			1:30	0,26 ± 0,03	0,28 ± 0,02	0,23 ± 0,03	0,30 ± 0,02	
			1:60	0,27 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,24 ± 0,03	0,31 ± 0,03	
7		1:15	0,16 ± 0,03	0,20 ± 0,01	0,14 ± 0,03	0,21 ± 0,03		
		1:30	0,22 ± 0,03	0,23 ± 0,03	0,22 ± 0,01	0,26 ± 0,03		
		1:60	0,23 ± 0,03	0,26 ± 0,03	0,21 ± 0,03	0,27 ± 0,01		
40		0,25	1	1:15	0,27 ± 0,02	0,30 ± 0,02	0,25 ± 0,03	0,29 ± 0,03
				1:30	0,28 ± 0,03	0,31 ± 0,02	0,26 ± 0,02	0,32 ± 0,03
				1:60	0,29 ± 0,03	0,32 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,33 ± 0,02
	3		1:15	0,27 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,24 ± 0,03	0,30 ± 0,02	
			1:30	0,27 ± 0,03	0,30 ± 0,03	0,25 ± 0,03	0,32 ± 0,02	
			1:60	0,28 ± 0,01	0,32 ± 0,03	0,27 ± 0,02	0,32 ± 0,02	
	7		1:15	0,24 ± 0,02	0,27 ± 0,03	0,22 ± 0,02	0,28 ± 0,03	
			1:30	0,25 ± 0,02	0,28 ± 0,03	0,23 ± 0,02	0,29 ± 0,03	
			1:60	0,26 ± 0,01	0,29 ± 0,03	0,24 ± 0,01	0,30 ± 0,03	
	0,5		1	1:15	0,25 ± 0,03	0,29 ± 0,02	0,23 ± 0,03	0,31 ± 0,03
				1:30	0,28 ± 0,03	0,31 ± 0,01	0,26 ± 0,03	0,33 ± 0,03
				1:60	0,29 ± 0,02	0,32 ± 0,03	0,27 ± 0,03	0,33 ± 0,03
		3	1:15	0,26 ± 0,03	0,29 ± 0,02	0,24 ± 0,03	0,30 ± 0,03	
			1:30	0,29 ± 0,02	0,30 ± 0,02	0,25 ± 0,03	0,31 ± 0,02	
			1:60	0,28 ± 0,01	0,31 ± 0,03	0,26 ± 0,03	0,32 ± 0,03	
		7	1:15	0,24 ± 0,02	0,27 ± 0,03	0,25 ± 0,01	0,28 ± 0,02	
			1:30	0,25 ± 0,02	0,32 ± 0,03	0,23 ± 0,02	0,29 ± 0,02	
			1:60	0,26 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,24 ± 0,02	0,30 ± 0,03	
		1,0	1	1:15	0,25 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,18 ± 0,02
				1:30	0,25 ± 0,03	0,28 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,29 ± 0,02
				1:60	0,29 ± 0,01	0,32 ± 0,03	0,27 ± 0,03	0,33 ± 0,03
	3		1:15	0,20 ± 0,03	0,23 ± 0,02	0,19 ± 0,03	0,25 ± 0,02	
			1:30	0,24 ± 0,03	0,27 ± 0,02	0,22 ± 0,03	0,28 ± 0,02	
			1:60	0,27 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,21 ± 0,01	0,32 ± 0,02	
7	1:15		0,20 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,19 ± 0,03	0,24 ± 0,01		
	1:30		0,22 ± 0,03	0,27 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,26 ± 0,02		
	1:60		0,23 ± 0,03	0,26 ± 0,02	0,21 ± 0,03	0,23 ± 0,03		
60	0,25		1	1:15	0,17 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,22 ± 0,01

Таблица 1 (продолжение)

Параметры экстрагирования				Экстрагенты			
t , °C	ρ , г/см ³	D , мм	$m_c:m_s$	Хлороформ	Дихлорэтан	60 % этанол	CHCl ₃ -C ₂ H ₅ OH
0,5	1,0	3	1:30	0,20 ± 0,01	0,27 ± 0,02	0,20 ± 0,02	0,26 ± 0,03
			1:60	0,23 ± 0,02	0,28 ± 0,02	0,24 ± 0,02	0,30 ± 0,02
			1:15	0,16 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,20 ± 0,03
			1:30	0,20 ± 0,02	0,23 ± 0,01	0,18 ± 0,02	0,25 ± 0,02
			1:60	0,22 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,20 ± 0,01	0,23 ± 0,02
			1:15	0,14 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,16 ± 0,02
		7	1:30	0,19 ± 0,02	0,21 ± 0,03	0,16 ± 0,01	0,23 ± 0,03
			1:60	0,20 ± 0,03	0,23 ± 0,03	0,18 ± 0,03	0,24 ± 0,03
			1:15	0,13 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,21 ± 0,03
			1:30	0,15 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,29 ± 0,02
			1:60	0,21 ± 0,01	0,27 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,28 ± 0,03
			1:15	0,16 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,20 ± 0,02
	1	3	1:30	0,21 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,25 ± 0,02
			1:60	0,22 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,20 ± 0,03	0,26 ± 0,03
			1:15	0,14 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,18 ± 0,01
			1:30	0,19 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,23 ± 0,02
			1:60	0,20 ± 0,02	0,22 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,24 ± 0,03
			1:15	0,13 ± 0,02	0,16 ± 0,03	0,10 ± 0,02	0,17 ± 0,03
		7	1:30	0,18 ± 0,03	0,20 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,22 ± 0,02
			1:60	0,19 ± 0,03	0,22 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,23 ± 0,02
			1:15	0,13 ± 0,03	0,16 ± 0,02	0,10 ± 0,03	0,17 ± 0,02
			1:30	0,15 ± 0,02	0,20 ± 0,03	0,19 ± 0,03	0,22 ± 0,01
			1:60	0,19 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,17 ± 0,02	0,23 ± 0,02
			1:15	0,10 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,07 ± 0,03	0,14 ± 0,03
1,0	7	1:30	0,15 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,12 ± 0,03	0,19 ± 0,02	
		1:60	0,16 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,14 ± 0,03	0,20 ± 0,02	

Проводилось изучение влияния экстрагентов (хлороформа, дихлорэтана, 80 % водного этанола, смеси разнополярных растворителей хлороформ – этанол (1:1)) на количественный выход суммы алкалоидов и скорость их экстракции в зависимости от температуры, плотности загрузки, измельченности сырья, а также соотношения массовых частей (сырьё – экстрагент).

Навески (2,5; 5; 10 г) измельченного и просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 1; 3 или 7 мм сырья помещали в конические колбы вместимостью 250 мл с притёртыми пробками, добавляли по 5 мл 25 % раствора гидрата окиси аммония, тщательно перемешивали стеклянной палочкой до полного увлажнения, закрывали стеклянными пробками и оставляли при температуре 20 °C на 30 мин, затем добавляли по 100 мл экстрагента, закрывали пробками и помещали в термостат на 1 – 24 ч., определяя скорость экстракции в зависимости от природы растворителя. Затем пипеткой отбирали по 50 мл экстракта, переносили в круглодонные колбы на 100 мл и отгоняли растворитель на роторном испарителе Watterbath-480, фирмы Büchi (Швейцария) под вакуумом при температуре водяной бани 60 – 90 °C. Сухой остаток растворяли в 5 мл хлороформа. На линию старта хроматографической пластинки силикагеля марки Merck G-60-TLC на стеклянной подложке размером 10 × 10 наносили микропипеткой полученные растворы на 3 полосы по

0,07 мл, затем 0,01 мл 25 % раствора гидрата окиси аммония. Высушенные в течение 20 мин пластинки помещали в насыщенную в течение 1 ч камеру со смесью растворителей хлороформ – метанол (90:10) и хроматографировали восходящим способом при температуре 25 °C. После этого зоны сорбента, содержащие гарман, дигидрогарман и тетрагидрогарман, количественно переносили в 3 колбы вместимостью по 50 мл со шлифами, прибавляли по 10 мл подкисленного 1 % H₂SO₄ метанола, перемешивали в течение 5 мин, затем сливали в центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 20 мин. Количественное определение алкалоидов проводили спектрофотометрическим методом на регистрирующем спектрофото-

Таблица 2
Сравнительные данные по влиянию экстрагента на выход суммы алкалоидов производных β -карболина из измельченной коры *Elaeagnus angustifolia* L., *E. multiflora* Thunb. и *E. argentea* Thunb.

Экстрагент	Выход суммы алкалоидов производных β -карболина, %, из:		
	<i>E. angustifolia</i> L.	<i>E. multiflora</i> Thunb.	<i>E. argentea</i> Thunb.
Хлороформ	0,29 ± 0,03	0,16 ± 0,03	0,13 ± 0,03
Дихлорэтан	0,32 ± 0,02	0,19 ± 0,03	0,16 ± 0,02
60 % этанол	0,27 ± 0,03	0,14 ± 0,02	0,11 ± 0,03
CHCl ₃ -C ₂ H ₅ OH	0,33 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,17 ± 0,02

метре EP-3T фирмы Hitachi (Япония) при длине волны 280 нм.

Расчёт содержания алкалоидов в сырье проводили по формуле:

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

где D — оптическая плотность растворов алкалоидов; V_1 — объём исследуемого раствора (мл); V_2 — объём спирта, использованного для элюирования алкалоидов с хроматограммы (мл); l — толщина кюветы (см); m — навеска (г); V — количество раствора, нанесённого на пластинку (мл); $E_{1\text{см}}^{1\%}$ — удельный показатель поглощения.

Учитывая тот факт, что в области рабочих концентраций (10 – 60 мг/мл) поглощение элюатов подчиняется закону Бугера – Ламберта – Бера, для расчёта нами был использован удельный показатель поглощения.

Результаты и их обсуждение

Экспериментально нами было установлено влияние температуры на скорость экстракции: для хлороформа при температуре 20 °С время полной экстракции составляет 8 ч, а при 40 °С — 2,5 ч; для дихлорэтана — 10 и 4 ч; для 60 % этанола — 12 и 5 ч; для смеси $\text{CHCl}_3 - \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (1:1) 10 ч при 20 °С и 3 ч — при 40 °С соответственно.

Нами обрабатывались различные режимы экстрагирования алкалоидов из коры 3 видов лоха для установления наиболее оптимального из них. В качестве иллюстрации практический выход суммы β -карболиновых алкалоидов в % из коры лоха узколистного при разных вариантах экстрагирования представлен в табл. 1.

Найдено, что увеличение температуры с 20 до 40 °С ускоряет процесс экстракции, однако при дальнейшем увеличении до 60 °С наблюдается снижение выхода продукта (см. табл. 1).

Слабая тенденция к снижению полноты экстракции наблюдалась при увеличении размера частиц экстрагируемого сырья (D) с 1 до 7 мм.

Выявлена корреляционная зависимость выхода продукта от плотности загрузки (ρ) и массовом соотношении сырья к экстрагенту ($m_c:m_s$).

Показано, что хлороформ превосходит другие растворители по скорости экстрагирования, однако по полноте экстракции уступает смеси хлороформ – этанол.

Как видно из табл. оптимальные результаты были получены при плотности загрузки в интервале от 0,25 до 0,5 г/см³ и соотношении растворителей в среднем между 1:20 – 1:40.

Результаты изучения влияния различных экстрагентов на выход суммы алкалоидов производных β -карболина из измельчённой коры лоха узколистного, л. многоцветкового и л. серебристого представлены в табл. 2.

Наибольший выход суммы алкалоидов гармана, дигидрогармана и тетрагидрогармана был отмечен при экстрагировании $\text{CHCl}_3 - \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (1:1) из коры *E. angustifolia* L. — 0,33 %, *E. multiflora* Thunb. — 0,20 %, а *E. argentea* Thunb. — 0,17 %.

В результате проведённого исследования выяснилось, что из испытанных растворителей по выходу суммы алкалоидов группы индола производных β -карболина лучшие результаты показала смесь разнополярных растворителей хлороформ – этанол.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения их химический состав, использование*, Т. П. Надежина, Н. С. Бобылёва, В. Ф. Богаткина (ред.), Наука, Ленинград (1988), сс. 201 – 202.
2. О. Н. Толкачёв, Е. А. Абизов, Е. В. Абизова, С. Д. Мальцев, *Хим.-фарм. журн.*, **42**(11), 27 – 29 (2008).
3. В. И. Дуленко, И. В. Комиссаров, А. Т. Долженко, Ю. А. Николюкин, *β -карболины. Химия и нейробиология*, Наукова Думка, Киев (1992), сс. 4 – 192.
4. Е. А. Абизов, О. Н. Толкачёв, Е. В. Абизова, *Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты*, Сборник научных трудов РАЕН, Вып. 15, 178 – 184 (2007).
5. Е. А. Абизов, *Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами и создания функциональных продуктов*, Матер. IV Российской научно-практической конференции, РАЕН, Москва (2007), с. 76.

Поступила 16.02.10

EFFECTS OF EXTRACTANT TYPE ON PRACTICAL YIELD OF β -CARBOLINE ALKALOIDS FROM BARK OF ELAEAGNUS SPECIES

E. A. Abizov¹ and O. N. Tolkahev²

¹ Sechenov State Medical Academy, Moscow, Russia

² All-Russia Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), Moscow, Russia

We have studied the influence of various extractants and extraction regimes on the yield of the total β -carboline alkaloids from the bark of various *Elaeagnus* species, including *E. angustifolia* L., *E. multiflora* Thunb and *E. argentea* Pursh. The adopted extractant represents a mixture of solvents with opposite polarities (chloroform – ethanol). The optimum regime of extraction is as follows: temperature, 40°C; charge density, 0.5 g/cm³; particle size, 1 – 3 mm; raw material – extractant ratio, 1 : 30. The proposed method ensures more exhaustive isolation of β -carboline alkaloids from *Elaeagnus* species.

Key words: extractants, β -carboline alkaloids, *Elaeagnus* species