

# ТАННИНЫ И АЛКАЛОИДЫ ИЗ КОРЫ ОБЛЕПИХИ *HIPPORHAE RHAMNOIDES* И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

М.П. Чернов, И.А. Щепеткин, А.И. Хлебников, О.Н. Клубачук, Бьянг Се Квон

*Облепиха Hipporhae Rhamnoides широко распространена в Алтайском крае. В течение столетий это растение используется как лекарственное. В настоящей работе экстракт коры облепихи был фракционирован на алкалоидную и танниновую фракции. Исследовано влияние этих фракций на пролиферацию лимфоцитов и продукцию цитокинов мыши in vitro.*

## ВВЕДЕНИЕ

Современная химия не может соперничать с растениями по способности создания биологически активных соединений, поэтому растительный мир является источником множества эффективных средств для лечения и профилактики заболеваний. В связи с этим продолжается более глубокое изучение лекарственных растений с целью эффективного их использования.

В последние 30–40 лет облепиха (*Hipporhae Rhamnoides L.*) вызывает повышенный интерес химиков и фармакологов в связи с обнаружением в ее плодах, коре и листьях ценных биологически активных веществ. Сообщалось об антимутагенном и противоопухолевом свойствах масла и соков из плодов облепихи [1]. Спиртовый экстракт из коры облепихи входит в состав противораковых препаратов [2]. В работе [3] нами было изучено влияние спиртового экстракта из коры облепихи на пролиферацию лимфоцитов мыши *in vitro*.

Контрольные величины включения [<sup>3</sup>H]-тимидина в ДНК лимфоцитов составляли около 2,1 % от уровня показателя в клетках, обработанных ConA. Обработка клеток различными концентрациями экстракта вызывала дозозависимое подавление пролиферации лимфоцитов. Таким образом, нами было выявлено цитотоксическое действие экстракта из коры облепихи на лимфоциты мыши. Возможно, что экстракт содержит соединения, оказывающие антипролиферативное или мембранотоксическое действие.

В ходе предварительных исследований было установлено, что кора облепихи содержит значительное количество дубильных веществ, представляющих собой водорастворимые танины.

Известно, что танины обладают широким спектром биологической активности, в том числе противоопухолевым, антибактериальным, антимутагенным и антигипертензивным действием [4, 5]. Антипролиферативная актив-

ность танинов рассматривается как основа для создания противоопухолевых препаратов. В работе [5] было показано, что цитотоксическое действие танинов из листьев *Eugenia Jambous L.* (Myrtaceae) в отношении опухолевых клеток в 3 раза выше, чем в отношении нормальных лимфоцитов. Поэтому целью настоящей работы явилось извлечение водного экстракта из коры облепихи, разделение его на фракции для выделения танинов и изучение биологической активности этих фракций.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве сырья использовали кору однолетних побегов с верховьев Оби. Кора была собрана и высушена при температуре не выше 40°C.

**Получение экстракта и его фракционирование.** Экстракцию воздушно-сухой коры облепихи проводили дистиллированной водой в противоточном аппарате. Экстракт очищали от механических примесей и делили на две фракции. Для этой цели экстракт пропускали через катионит. Танины выходили в виде фильтрата, для их идентификации использовался хлорид железа. О полноте насыщения катионита судили по реакции фильтрата с фосфорновольфрамовой кислотой. Колонка с катионитом промывалась дистиллированной водой и элюировалась раствором соляной кислоты. В результате алкалоиды выделялись в виде хлоргидратов. Фильтрат и элюат сгущали в вакууме при температуре не выше 50°C, затем высушивали над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> при комнатной температуре.

**Исследование пролиферации лимфоцитов.** Суспензия лимфоцитов была получена из селезенки мышей C57B1/6 и клетки инкубировали в 96-луночном планшете в концентрации 2·10<sup>5</sup> кл/луночку в среде RPMI в присутствии различных концентраций экстракта, буфера (контроль) или конканавалина А (ConA) (позитивный контроль). Через 48 часов в среду инкубации клеток был добавлен [<sup>3</sup>H]-тимидин (1 микрокю-

## ТАННИНЫ И АЛКАЛОИДЫ ИЗ КОРЫ ОБЛЕПИХИ *HIPPORHAE RHAMNOIDES* И ИХ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

ри/ лунку), и спустя 12 часов клетки были собраны на фильтры для исследования включения [<sup>3</sup>H]-тимидина в ДНК.

**Исследование продукции цитокинов**  
Влияние алкалоидной и танниновой фракций на продукцию цитокинов (интерлейкин-2 и гамма-интерферон) от спленоцитов BALB/c было измерено с помощью ферментативно связанного иммуносорбентного анализа (ELISA).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что разделение экстракта на фракции позволяет получить две группы веществ. Одна из них представлена десятью соединениями, в основном таннинами. Другая - содержит два алкалоида, один из которых идентифицирован как гиппофаин. Противоопухолевое действие коры облепихи некоторые авторы связывают именно с гиппофаином.

Пролиферация лимфоцитов в присутствии алкалоидной и танниновой фракции была оценена путём измерения включения [<sup>3</sup>H]-тимидина в ДНК спленоцитов BALB/c. Исследование влияния алкалоидной и танниновой фракций на пролиферацию лимфоцитов показало, что танниновая фракция обладает концентрационно-зависимой цитотоксичностью. При повышении концентрации эта фракция обнаруживает цитотоксичное действие, а при концентрации 1 мг/мл полностью подавляет пролиферацию клеток (рис. 1)

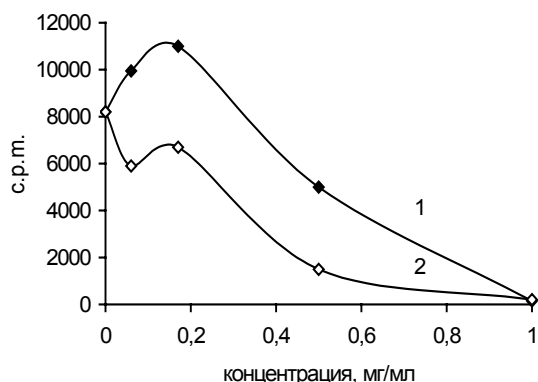


Рис. 1. Влияние фракций экстракта из коры облепихи на пролиферацию лимфоцитов мыши (с.р.м. – число сцинтилляций в минуту): 1 - алкалоидная фракция, 2- танниновая фракция

С другой стороны, в диапазоне концентраций от 0 до 0,2 мг/мл алкалоидная фракция уве-

личивает пролиферацию лимфоцитов до 37%. В том же диапазоне концентраций (0,1 мг/мл) алкалоидная фракция увеличивает продукцию только гамма-интерферона. Танниновая фракция при этой концентрации (0,1 мг/мл) не оказывает влияния на продукцию интерлейкина-2, интерлейкина-4 и гамма-интерферона (рис.2).

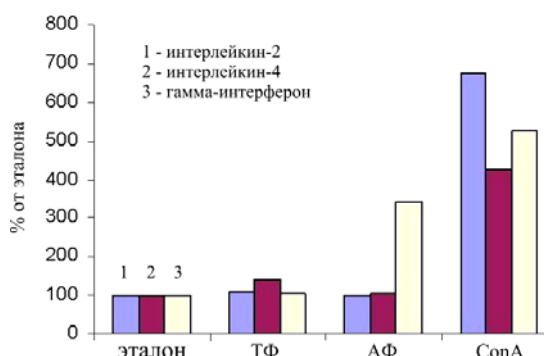


Рис. 2. Влияние фракций экстракта из коры облепихи на продукцию цитокинов: ТФ – танниновая фракция, АФ - алкалоидная фракция

Антипролиферативное действие таннинов, рассматриваемое в настоящей работе, может служить основой для разработки противоопухолевых препаратов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты показывают, что кора облепихи является потенциальным источником биологически активных веществ, обладающих цитотоксическим и иммуномодулирующим действием.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нерсисян А.К., Зильфиан В.Н., Кумкумадзиан В.А., Прошиан Н.В. //Генетика, 1990. Т. 26. № 2. С. 378-380.
2. Балицкий К.П., Воронцова А.П., Карпухина А.М. Лекарственные растения в терапии злокачественных опухолей. Киев, 1966. С. 152-154.
3. Щелеткин И.А., Чернов М.П., Хлебников А.И., Клубачук О.Н., Бьянг Се Квон // Материалы научно-практической конференции «Химия и технология лекарственных препаратов и полупродуктов». Новокузнецк, 2002, С. 109-111.
4. Athar M, Khan W.A, Mukhtar H. // Cancer Res. 1989. V. 49. P. 5784-5788.
5. Yang L.-L., Lee C.-Y, Yen K.-Y. // Cancer Letters. 2000. V. 157. P. 65-75.