

УДК 577.1

## **ERUCASTRUM ARMORACIOIDES (BRASSICACEAE) – НОВЫЙ ИСТОЧНИК СЫРЬЯ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА МЕДИЦИНСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ИНДОЛ-3-КАРБИНОЛА**

© 2014 М.Р. Ахметова<sup>1</sup>, Н.И. Федоров<sup>1</sup>, С.П. Иванов<sup>2</sup>, Р.Р. Хафизова<sup>2</sup><sup>1</sup> Институт биологии Уфимского научного центра РАН<sup>2</sup> Институт органической химии Уфимского научного центра РАН

Поступила в редакцию 26.05.2014

Методом ВЭЖХ в наземной части *Erucastrum armoracioides* обнаружено достаточно высокое содержание индол-3-карбинола. Вид легко может быть интродуцирован и является новым перспективным источником сырья для производства высокоэффективных противоопухолевых препаратов.

Ключевые слова: глюкозинолаты, индол-3-карбинол, *Erucastrum armoracioides*, Brassicaceae, алкалоиды

Семейство *Brassicaceae* Burneett объединяет 338 родов, включающих 3350 видов растений, распространенных по всему земному шару [1]. Представители этого семейства содержат различные биологические активные вещества, в том числе глюкозинолаты, фитоалексины и алкалоиды [2]. Одним из перспективных биологически активных веществ является индол-3-карбинол (I3C) – продукт распада 4-метоксиглюкобрассицина (индолсодержащий алкалоид горчичных масел) [3], который обладает антиканцерогенным, антиоксидантным, антиантерогенным эффектом [4, 5]. Содержится в незначительных количествах в растениях родов *Arabidopsis*, *Brassica*, *Isatis*, *Reseda*, *Sinapis* и некоторых других [3, 6]. На его основе производится лекарственный препарат «Индинол форте» для лечения эстрогензависимых опухолей и ряд биологически активных добавок: индинол, индогрин, индол форте. Действующее вещество для этих препаратов получают двумя способами: путем дорогостоящего химического синтеза или из проростков брокколи. Наиболее оптимальным сырьем являются 8-12-ти дневные проростки [7]. К сожалению, биомасса таких проростков очень мала в

связи с чем необходим поиск других растений-источников сырья индол-3-карбинола, которые можно использовать на более поздних стадиях сезонного развития при высоком достаточно высоком содержании целевого продукта.

**Цель исследования:** анализ потенциальной возможности использования вида *рогачка хреновидная* как источника сырья для производства медицинских препаратов на основе I3C.

**Материал и методы.** Объектом исследования было травянистое растение *рогачка хреновидная* (*Erucastrum armoracioides* (Czern. ex Turcz.) Cruchet (сем. Brassicaceae Burnett) – двулетнее или малолетнее травянистое растение высотой от 30 до 100 см. Рогачка хреновидная – европейско-западно-азиатский вид, его ареал вида охватывает территорию Юго-Восточной Европы, Малой Азии, Ирана, Средиземноморья, Южной половины европейской части бывшей СССР, Крыма, Кавказа, Западной Сибири, Казахстана [8]. На территории Республики Башкортостан встречается в степных и лесостепных районах [9]. Так как этот вид ранее относили к роду *Brassica*, было предположение, что в нем содержится типичное для этого рода соединение 4-метоксиглюкобрассицин и I3C, поэтому на предварительном этапе исследования было установлено методом хроматомасспектрометрии наличие I3C в наземной части *E. armoracioides*.

Для исследования была собрана наземная часть растений этого вида в июне 2013 г. на стадии цветения на степном участке вблизи озера Асликуль Давлекановского района Республики Башкортостан. Сумму алкалоидов из воздушно-сухого сырья извлекали методом исчерпывающей экстракции [10]. Для анализа на содержание суммы алкалоидов брали измельченные образцы массой 50 г (точная навеска). В качестве

Ахметова Миляуша Ринатовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологии растительных ресурсов. E-mail: akhmetova@anrb.ru.

Федоров Николай Иванович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией экологии растительных ресурсов. E-mail: fedorov@anrb.ru.

Иванов Сергей Петрович, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории физико-химических методов анализа. E-mail: ivanov\_sp@anrb.ru

Хафизова Регина Рифовна, младший научный сотрудник лаборатории физико-химических методов анализа

экстрагента использовали 70%-ный водный ацетон. Экстракцию повторяли до полного извлечения алкалоидов. Полнота экстракции проверялась качественной реакцией на третичный азот в молекуле алкалоидов с кремневольфрамовой кислотой. Объединенные вытяжки фильтровали на воронке Бюхнера, затем ацетон отгоняли на роторном испарителе, остаток подкисляли 3%-ным раствором серной кислоты до pH = 1-3, экстрагировали из них дихлорэтаном органические соединения неалкалоидного характера. Водный раствор, содержащий алкалоиды, подщелачивали до pH = 9-12 карбонатом натрия или аммиаком. Далее алкалоиды исчерпывающе экстрагировали дихлорэтаном и высушивали с помощью безводного сульфата натрия. Органический растворитель отгоняли сначала на роторном испарителе, затем его остатки удаляли в глубоком вакууме. Доведенный до постоянной массы сухой остаток взвешивали на аналитических весах.

Для оценки содержания ИЗС в сырье использовали метод ВЭЖХ. Анализ проводили на

жидкостном хроматографе Waters Breeze со спектрофотометрическим детектором при длине волны 225 и 280 нм. Подвижная фаза ацетонитрил – вода. Хроматографический анализ проводили при градиентном элюировании на колонке Luna C18 (250 x 4,6 мм; 5 мкм). Концентрация ацетонитрила в элюенте увеличивается от 15 до 85 об.%. Скорость подвижной фазы составляла 1 мл/мин, а объем инжектируемой пробы – 10 мкл. Продолжительность анализа 40 мин. Для приготовления элюентов, а также растворения стандартного испытуемого препарата использовали ацетонитрил (HPLC-gradient grade фирмы Panreac) и бидистиллированную воду. Идентификацию проводили путем сопоставления времени удерживания компонентов смеси и стандарта. Использовались градуировочные графики, построенные по стандартному образцу ИЗС (Sigma-Aldrich), с концентрациями 0,25, 0,5 и 1 мг/мл. На рис. 1 и 2 приведены хроматограммы стандартного и исследуемого образца, соответственно.

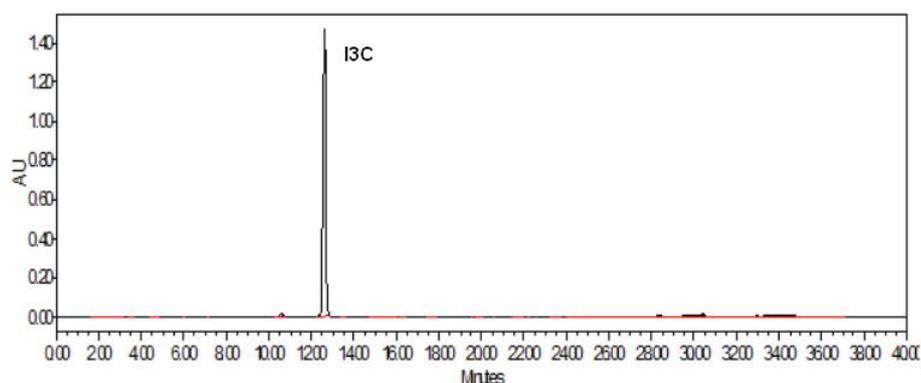


Рис. 1. Хроматограмма стандартного образца индол-3-карбинола

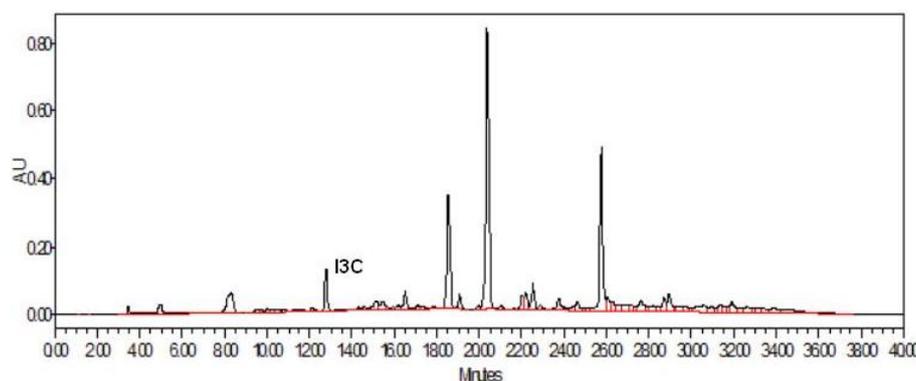


Рис. 2. Хроматограмма образца суммы алкалоидов надземной части *Erucastrum armoracioides*

**Результаты и обсуждение.** В проанализированных образцах надземной части *E. armoracioides* на стадии цветения содержание суммы алкалоидов было 0,19% от сухого веса, однако ранее в надземной части и корнях *E. armoracioides* было выявлено более высокое содержание суммы алкалоидов на стадии бутонизации 0,60% в

надземной части от сухого веса [11]. При проведении анализа образцов надземной части этого вида методом ВЭЖХ установлено содержание ИЗС  $0,37 \pm 0,04$  мкмоль/г от сухого веса, что всего в два раза меньше, чем в 60-ти дневных проростках *Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis* ( $0,63 \pm 0,21$  мкмоль/г), и больше в три раза, чем в 40 дневных

проростках *B. juncea* var. *integrifolia* ( $0,13 \pm 0,04$  мкмоль/г). Выявленное содержание можно считать высоким, так как выделения ИЗС проведено из сухого сырья без ферментизации, повышающим содержание в сырье целевого продукта [12]. Исходя из того, что содержание ИЗС выше в растениях на более ранней стадии развития, можно предположить, что его содержание на стадии розетки и бутонизации будет близко к содержанию в *Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*.

По сравнению с традиционным сырьем (проростки брокколи 3-5 см высотой) побеги *E. armoracioides* имеют в десятки раз большую биомассу. Этот вид сорное растение растет на полях, по дорогам у строений, на нарушенных местах, залежах, в рудеральных местообитаниях [8, 9]. Он способен произрастать на щебнистых и глинистых почвах, засухоустойчив. Все это свидетельствует о том, что при его введении в плантационную культуру практически не потребуются специальных мероприятий (посадки через рассадку, прополки, химической обработки и полива), семена обладают высокой схожестью. Поэтому *E. armoracioides* можно рассматривать в качестве перспективного источника ИЗС. Для его введения в культуру с последующим использованием в качестве лекарственного сырья необходимы дополнительные исследования по популяционным и сезонным закономерностям содержания ИЗС в растениях.

Благодарность: хроматографический анализ выполнен на оборудовании ЦКП «Химия» ИОХ УНЦ РАН.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Mitchell-Olds, T. Crucifer evolution in the post-genomic era / T. Mitchell-Olds, I. Al-Shehbaz, M. Koch, T. Sharbel // *Plant Diversity Evolut.* 2005. № 8. P. 119-137.
2. Brock, A. Brassicaceae contain nortropane alkaloids / A. Brock, T. Herzfeld, R. Paschke et al. // *Phytochemistry*. 2006. Vol. 67, № 18. P. 2050-2057.
3. Michnovicz, J.J. Induction of estradiol metabolism by dietary indole-3-carbinol in humans / J.J. Michnovicz, H.L. Bradlow // *J. Natl. Cancer Inst.* 1990. №82. P. 947-950.
4. Weng, J.-R. Indol-3-carbinol as a chemopreventive and anti-cancer agent / J.-R. Weng, Ch.-H. Tsai, S.K. Kulp, Ch.-Sh. Chen // *Cancer letters*. 2008. №262. P. 153-163.
5. Преображенская, М.М. Индольные соединения в овощах семейства Крестоцветных (Cruciferae) / М.М. Преображенская, А.М. Королев // *Биоорганическая химия*. 2000. Т. 26, №2. С. 97-111.
6. Fahey, J.W. The chemical diversity and distribution of glucosinates and isothiocyanates among plants / J.W. Fahey, A.T. Zalcmann, P. Talalay // *Phytochemistry*. 2001. №56. P. 5-51.
7. Baenas, N. Selecting sprout of Brassicaceae for optimum phytochemical composition / N. Baenas, A.D. Moreno, C. Carcia-Viguera // *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012. №60. P. 11409-11420.
8. Губанов, И.А. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т. 2 / И.А. Губанов, К.В. Киселева, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров. – М.: Т-во научных изданий КМК, 2003. 702 с.
9. Алексеев, Ю.Е. Определитель высших растений Башкирской АССР / Ю.Е. Алексеев, А.Х. Галеева, И.А. Губанов и др. В 2-х т. – М.: Наука, 1989. Т.2. 375 с.
10. Орехов, А.П. Химия алкалоидов. – М., 1955. 859 с.
11. Ахметова, М.Р. Алкалоидоносные виды растений семейства *Brassicaceae* на Южном Урале / М.Р. Ахметова, О.И. Михайленко, Я.О. Гуркова // *Известия Уфимского научного центра Российской академии наук*. 2013. №3. С. 64-67.
12. Lee, S.Y. Determination of Indol-3-carbinol and Indol-3-acetonitrile in Brassica vegetables using High-performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection / S.Y. Lee et al. // *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 2010. № 53(2). P. 249-252.

## **ERUCASTRUM ARMORACIOIDES (BRASSICACEAE) – THE NEW SOURCE OF RAW MATERIALS FOR PRODUCTION THE MEDICINES ON THE BASIS OF INDOLE-3-CARBINOL**

© 2014 M.R. Akhmetova<sup>1</sup>, N.I. Fedorov<sup>1</sup>, S.P. Ivanov<sup>2</sup>, R.R. Hafizova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biology Ufa Scientific Center RAS

<sup>2</sup> Institute of Organic Chemistry Ufa Scientific Center RAS

By HPLC-method in elevated part of *Erucastrum armoracioides* the rather high contents of indole-3-carbinol is revealed. Species can be easily introduced and is a new perspective source of raw materials for production the highly effective antineoplastic preparations.

Key words: *glucosinates*, *indole-3-carbinol*, *Erucastrum armoracioides*, *Brassicaceae*, *alkaloids*

Milyausha Akhmetova, Candidate of Biology, Senior Research Fellow at the Laboratory of Plants Resources Ecology. E-mail: akhmetova@anrb.ru; Nikolay Fedorov, Doctor of Biology, Chief of the Laboratory of Plants Resources Ecology. E-mail: fedorov@anrb.ru; Sergey Ivanov, Candidate of Chemistry, Senior Research Fellow at the Laboratory of Physical-chemical Methods of Analysis. E-mail: ivanov\_sp@anrb.ru; Regina Hafizova, Minor Research Fellow at the Laboratory of Physical-chemical Methods of Analysis