

*НИКА ТОДУА <sup>1</sup>, ДАВИД ЧИНЧАРАДЗЕ <sup>1</sup>, НИНА ВАЧНАДЗЕ <sup>2</sup>*

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУММ АЛКАЛОИДОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ MAHONIA (СЕМ. BERBERIDACEAE), ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ГРУЗИИ**

<sup>1</sup>Тбилисский Государственный Медицинский Университет; <sup>2</sup> Тбилисский Государственный Медицинский Университет, Институт Фармакохимии им. И. Кутателадзе

*NIKA TODUA <sup>1</sup>, DAVID CHINCHARADZE <sup>1</sup>, NINA VACHNADZE <sup>2</sup>*

**COMPARATIVE ANALYSIS OF THE SUMS OF ALKALOIDS OF SOME SPECIES OF MAHONIA (FAMILY BERBERIDACEAE), INTRODUCED ON THE TERRITORY OF GEORGIA**

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, <sup>2</sup>Tbilisi State Medical University, I. Kutateladze Institute of Pharmacochemistry

doi: <https://doi.org/10.52340/jecm.2022.03.08>

**SUMMARY**

Approaching on comparative phytochemical screening tests of six species of Genus Mahonia Nuttall (Family Berberidaceae), which are introduced on the territory of Georgia, by productivity of biologically active alkaloids our attention deserves: Mahonia aquifolium (Pursh) Nutt., Mahonia bealei (Fort.) Carr; Mahonia japonica (Thunb.) DC.; Mahonia wagneri Join.

After studying samples with alkaloids on thin layer chromatography compared with standard solutions, there were identified isoquinoline alkaloids such as: berberine, jatrorrhizine, palmatine, magnoflorine, berbamine and colchicine.

The total substance obtained from the vegetative organs of Mahonia aquifolium (Oregon grape) were evaluated for in vitro cytotoxicity against cells of lung carcinoma lines (A-549), colon adenocarcinoma (DLD-1) and normal human fibroblasts (WS-1). As a result, the investigated fractions showed pronounced activity against all cell lines.

**Keywords:** Mahonia Nutt., isoquinolin alkaloids, cytotoxic activity.

Литературные данные по изучению флоры Грузии включают в себя сведения о более 4150 видах характерных для горной, степной, лесной, субальпийской, субтропической, альпийской растительностей [1,2,3].

Многообразии биоэкологических и почвенно-климатических условий Грузии дает возможность к осуществлению интродукции многих ценных иноземных лекарственных растений. Одним из таких видов является род Mahonia, принадлежащий к семейству Berberidaceae, которое включает девять родов и 590 видов, произрастающих в северном полушарии и Южной Америке [4].

Род Mahonia Nuttall, который является вторым по величине родом сем. Berberidaceae, насчитывает около 60 видов, 35 из которых распространены в Китае [6]. Растения этого рода на протяжении долгого времени широко используются в традиционной медицине для лечения туберкулеза, пародонтита, дизентерии, желтухи, фаринголарингита, экземы, ран и т.д. Шесть видов этого рода: Mahonia aquifolium (Pursh) Nutt.; Mahonia bealei (Fort.) Carr; Mahonia fortune (Lindl. Fedde); Mahonia japonica (Thunb.) DC.; Mahonia lomariifolia Takeda; Mahonia wagneri Join. интродуцированы на территории Грузии (Тбилисский и Батумский Ботанические сады) [7, 8].

Как известно, в современной медицине особое место занимают биологически активные соединения природного происхождения. На основании сведений литературы и результатов предварительно проведенных поисковых работ, было установлено, что основными составляющими во всех вегетативных органах выше приведенных растений являются изохинолиновые алкалоиды, которые в ответе за большинство видов фармакологических активностей, которые проявляют растения вида Магонии [9,10]. В свою очередь, современные фармакологические исследования подтвердили, что выделенные биологически активные основания и их производные, выше указанного рода, проявляют широкий спектр фармакологических активностей: антипсориазную, цитостатическую, антифунгицидную, гепатопротекторную противомикробную, антимуtagenную, противовоспалительную и многие др. [11-17].

Целью наших исследований явился скрининг выше перечисленных видов рода *Mahonia*, интродуцированных на территории Грузии, с установлением их достоверности на алкалоидоноспособность, а также сравнительный анализ выделенных биологически активных суммарных субстанций для выявления наиболее перспективного объекта с его последующим углубленным фитохимическим изучением и оценкой его биологической и фармакологической активностей.

**Объекты и методы.** Объектами исследований были вегетативные органы шести видов *Mahonia*, собранные на побережье Черного моря в Ботаническом саду г. Батуми (*Mahonia fortune* (Lindl. Fedde); *Mahonia japonica* (Thunb.) DC.; *Mahonia lomariifolia* Takeda; *Mahonia wagneri* Join.) и на территории экспериментального опытного поля института фармакохимии им. Иовела Кутателадзе (*Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt.). Сбор растений осуществлялся в фазе начала вегетации, плодоношения (надземные и подземные органы), массового цветения (цветы), а также в фазе зрелых семян (семена). Экспериментальный материал был собран в 2020 году.

Для проведения качественного анализа на содержание алкалоидов 15г воздушно-сухих вегетативных органов растений экстрагировали этиловым спиртом при нагревании водяной бани и настаивали в течение 24 часов. Затем фильтровали, упаривали под вакуумом, растворяли в 2N HCl и проводили реакции осаждения алкалоидов реактивами: Драгендорфа, Вальсера, Зоненштеина, Майера, а также кремневольфрамовой и пикриновой кислотами, в результате чего, все виды Магонии были отнесены к достоверно алкалоидоносным растениям.

С целью получения суммы алкалоидов для проведения фитохимического скрининга надземных и подземных органов воздушно-сухих измельченных вегетативных частей растения, их предварительно подвергали трехкратной фор экстракции этилацетатом и гексаном соответственно, после чего из высушенного сырья, при предварительном подщелачивании 12% NH<sub>4</sub>OH, алкалоиды исчерпывающее извлекали хлороформом. Объединенные экстракты промывали дистиллированной водой, обезвоживали и сгущали до 1/5 первоначального объема. Суммарный остаток от экстрактивных веществ очищали 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Сернокислые извлечения подщелачивали 25% NH<sub>4</sub>OH до pH 8-9, одновременно переводя алкалоиды в виде оснований в органический растворитель. Экстракты промывали дистиллированной водой, обезвоживали, сгущали на вакуум - ротационном аппарате до 1/5 первоначального объема и высушивали до сухого остатка в вакуум сушильном шкафу.

Качественный анализ суммы алкалоидов проводили методом тонкослойного хроматографирования на пластинках Silicagel<sub>254</sub>, Merck в системе хлороформ - метанол -10% NH<sub>4</sub>OH (15:4:1); детектором служил реактив Драгендорфа; свидетелями служили стандартные образцы алкалоидов: берберин, ятроноризин, пальматин, магнофлорин, гидростин, колхицин. В семенах вечнозеленых видов магонии помимо алкалоидов, была идентифицирована фракция липидов. Согласно качественному анализу, проведенному методом тонкослойного хроматографирования (пластинки Silicagel LS 5/40; система: петролейный эфир-диэтиловый эфир-ледяная уксусная кислота (85:14:1); детекторы: пары йода, 1,0 % спиртовой раствор вольфрамо молибденовой кислоты и 30,0% серная кислота с последующим подогревом до получения цветной реакции) в присутствии достоверных свидетелей, установили, что, в состав группы нейтральных липидов входят углеводороды, триглицериды и жирные кислоты.

**Результаты и обсуждения.** Результаты оценки содержания суммы алкалоидов в различных вегетативных органах в анализируемых видах Магонии приведены в **таблице 1**.

Согласно приведенным данным по продуктивности, внимание заслуживают следующие виды рода Магонии: *Mahonia aquifolium* (Pursh) Nutt., *Mahonia bealei* (Fort.) Carr; *Mahonia japonica* (Thunb.) DC.; *Mahonia wagneri* Join., интродуцированные на территории Грузии.

Сравнительный фитохимический скрининг показал, что помимо алкалоидов, отмечено присутствие фракции нейтральных липидов.

На данном этапе исследований, при изучении суммы алкалоидов в тонком слое в присутствии истинных свидетелей, были идентифицированы следующие изохинолиновые

алкалоиды: берберин, ятрооризин, пальматин, магнофлорин, бербамин, гидростин, а также колхицин.

**Таблица 1.** Содержание алкалоидов в различных вегетативных органах растений рода *Mahonia*, встречающихся на территории Грузии

№	Виды <i>Mahonia</i>	Вегетативные органы растения	Содержание алкалоидов в %	Место сбора
1	<i>Mahonia fortune</i> (Lindl. Fedde)	Корни Многолетние ветки Молодые ветки Листья Цветоножка Зеленные бутоны	0,5 0,3 0,11 0,06 0,02 0,02	Бот. сад г. Батуми
2	<i>Mahonia japonica</i> (Thunb.) DC.	Корни Многолетние ветки Молодые ветки Листья Цветы Цветоножка Плоды Семена	0,98 0,99 0,2 0,091 0,38 0,3 0,21 0,15	Бот. сад г. Батуми
3	<i>Mahonia lomariifolia</i> Takeda	Молодые ветки Листья Цветы Цветоножка (многоцветковые кисти)	0,14 0,073 0,12 0,20	Бот. сад г. Батуми
4	<i>Mahonia wagneri</i> Join.	Многолетние ветки Молодые ветки Листья Цветы Цветоножка	0,67 0,2 0,064 0,72 1,72	Бот. сад г. Батуми
5	<i>Mahonia bealei</i> (Fort.) Carr	Молодые ветки Листья Зеленные бутоны Цветоножка	0,074 0,07 0,078 0,063	Бот. сад г. Батуми
6	<i>Mahonia aquifolium</i> (Pursh) Nutt.	Корни Многолетние ветки Молодые ветки Листья Цветы Цветоножки плоды	0,6 0,21 0,02 0,02 0,3 0,17 0,3	Бот. сад г. Тбилиси

Суммарные субстанций полученных из вегетативных органов (корни, многолетние ветки, молодые ветки, листья, цветы, цветоножки) Магонии поддуболистной были оценены на цитотоксичность *in vitro* против клеток линий карциномы легкого (A-549), аденокарциномы толстой кишки (DLD-1) и нормальных человеческих фибробластов (WS-1), в результате исследуемые фракции проявили выраженную активность против всех линий клеток. Выявленная цитотоксичность была выражена как концентрация алкалоидов в мг/мл, препятствующая росту клеток на 50% (IC50). Клетки линии A-549, DLD-1, WS-1 были получены из Американской коллекции типовых культур (ATCC). Скрининг на выявление специфической фармакологической

активности проведен в Канаде, г. Шикутиме в университете Квебека, в отделении фундаментальных наук в лаборатории LASEVE.

### Литература:

1. Димитриева А.А. Определитель растений Аджарии. Тбилиси, Мецниереба, 1990, 1, 328.
2. Пилипенко Ф.С. Иноземные деревья и кустарники на Черноморском побережье Кавказа. Л., Наука, 1978, 286.
3. Флора Грузии, Тбилиси, Мецниереба, 1983, 376.
4. Jian-Ming He, Qing Mu. The medicinal uses of the genus Mahonia in traditional Chinese medicine: An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 175, 668–683.
5. Flora of China Editorial Committee, 2001. Flora of China. Science Press, Beijing.
6. Editorial Board of Zhong Hua Ben Cao, 1999. Zhong Hua Ben Cao (China Herbal). Shanghai Science and Technology Press, Shanghai.
7. С.А. Романадзе, М.В.Метревели. Биоэкология видов рода магония (Mahonia Nutt.) в батумском ботаническом саду. 17-ая международная конференция: Экологические проблемы XXI века. Минск, Сборник трудов конф., 2017, т. 2, 42-43.
8. <http://www.theplantlist.org/>
9. Ловкова М.Я. Биосинтез и метаболизм алкалоидов в растениях. Изд. Наука, М. 1981, 59-64.
10. Eun-Jeong Lee Peter J. Facchini. Tyrosine Aminotransferase Contributes to Benzylisoquinoline Alkaloid Biosynthesis in Opium Poppy, Plant Physiol., 2011, 157(3), 1067–1078
11. He, K.J., Liu, B.M., Lu, W.J., 2008. Chemical constituents from Mahonia duclouxiana Gagnep (I). West China Journal of Pharmaceutical Sciences 23, 172-173.
12. Hsieh, T.-J., Chia, Y.-C., Wu, Y.-C., Chen, C.-Y., Chemical constituents from the stems of Mahonia japonica. Journal-Chinese chemical society Taipei. 2004, 51, 443-446.
13. Ji, X.H., Pei, M.W., Tian, J.M., Yan, Y.N., Li, J.S., 2003. Study on alkaloids from stem of Mahonia eurybracteata Takeda. Chinese Traditional and Herbal Drugs 34, 980-981.
14. Lv, G.H., Chen, J.M., Wang, L.W., Xiao, P.G., 1995. A study on the chemical constituents of Mahonia gracilipes (oliv.) Fedde. West China Journal of Pharmaceutical Sciences 10, 202-204.
15. Lv, G.H., Wang, L.W., Chen, J.M., Xiao, P.G., 1999. Determination of seven alkaloids in Mahonia species by HPLC. Chinese Journal of Pharmaceutical analysis 19, 271-274.
16. P.Goetz, K.Ghedira. Mahonia aquifolium (Pursh.) Nutt. (Berberidaceae): Mahonia. Phytotherapie, 2014, 12, 189-193;
17. Dejan Godevac, Ana Damjanovic, Tatjana P.Stanojkovic, Boban Andelkovic, Gordana Zdunic. Identification of cytotoxic metabolites from Mahonia aquifolium using <sup>1</sup>H NMR – based metabolomics approach. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 150, 9-14.

ნიკა თოდუა<sup>1</sup>, დავით ჭინჭარაძე<sup>1</sup>, ნინა ვახნაძე<sup>2</sup>

საქართველოს ტერიტორიაზე ინტროდუცირებული Mahonia Nutt (ოჯ. Berberidaceae) ზოგიერთი სახეობის ალკალოიდების ჯამების შედარებითი ანალიზი.

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>თსსუ, ი. ქუთათელაძეს სახელობის ფარმაცოქიმიის ინსტიტუტი,

საქართველოს ტერიტორიაზე გვარი Mahonia Nuttall (ოჯ. Berberidaceae) ინტროდუცირებული ექვსი სახეობას შორის, ფიტოქიმიური შედარებითი სკრინინგის საფუძველზე, საყურადღებო აღმოჩნდა შემდეგი მცენარეები: Mahonia aquifolium (Pursh) Nutt., Mahonia bealei (Fort.) Carr; Mahonia japonica (Thunb.) DC.; Mahonia wagneri Join. ჭეშმარიტი მოწმეების თანდასწრებით თხელფენოვანი ქრომატოგრაფიული ანალიზის საფუძველზე დადგინდა, რომ ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებათა შორის იდენტიფიცირებულია

იზოქინოლინის ჯგუფის ალკალოიდები: ბერბერინი, იატრორიზინი, პალმატინი, მაგნოფლორინი, ბერბამინი, ჰიდროსტინი და კოლხიცინი.

ჭყორფოთოლას (*Mahonia aquifolium*) ვეგეტატიური ორგანოებიდან მიღებული ალკალოიდმემცველი სუბსტანციები შეფასდა ციტოტოქსიურობაზე *in vitro*: ფილტვის კარცინომის უჯრედების (A-549), მსხვილი ნაწლავის ადენოკარცინომის (DLD-1) და ნორმალური ადამიანის ფიბრობლასტების (WS-1) მიმართ, რის შედეგად, გამოკვლეულმა ფრაქციებმა აჩვენეს გამობატული აქტივობა ყველა უჯრედის ხაზის მიმართ.

*НИКА ТОДУА<sup>1</sup>, ДАВИД ЧИНЧАРАДЗЕ<sup>1</sup>, НИНА ВАЧНАДЗЕ<sup>2</sup>*

### **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУММ АЛКАЛОИДОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ МАНОНИА (СЕМ. BERBERIDACEAE), ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ НА ТЕРИТОРИИ ГРУЗИИ**

<sup>1</sup>Тбилисский Государственный Медицинский Университет; <sup>2</sup> Тбилисский Государственный Медицинский Университет, Институт Фармакохимии им. И. Кутателадзе

#### **РЕЗЮМЕ**

По сравнительным фитохимическим тестам скрининга шести спецификации рода *Mahonia Nuttall* (семейные *Berberidaceae*), которые вводятся на территории Грузии, по производительности биологически активных алкалоидов нашего внимания заслуживает: махония *Aquifolium* (пурш) *Karr*; *Mahonia japonica* (Thunb.) DC.; Махония Вагнери присоединяется.

После изучения образцов с алкалоидами на тонкослойной хроматографии по сравнению со стандартными растворами, были выявлены алкалоиды изокинолина, такие как: берберин, ятрорризин, пальматин, магнофлор, бербамин и колхицин.

Общее вещество, полученное из вегетативных органов Махония Аквифолий (виноград Орегона), были оценены для цитотоксичности *in vitro* против клеток линий карцинома легких (A-549), аденокарцинома толстой кишки (DLD-1) и нормальных фибробластов человека (WS-1). В результате исследуемые фракции показали выраженную активность против всех клеточных линий.