

ЭКОЛОГИЯ / ECOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.50.7>ПРИРОДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ СЕМЯН СИБИРСКИХ ВИДОВ *ACONITUM SPP.*

Научная статья

Тельнова Т.Ю.¹, Моргунова М.М.², Шашкина С.С.³, Имидоева Н.А.⁴, Шелковникова В.Н.⁵, Уколов Д.А.⁶,
Аксёнов-Грибанов Д.В.^{7,*}¹ ORCID : 0000-0003-2606-3766;² ORCID : 0000-0002-7939-1432;³ ORCID : 0000-0002-3378-5671;⁴ ORCID : 0000-0002-6327-5517;⁵ ORCID : 0000-0002-4411-7521;⁶ ORCID : 0009-0002-9440-3697;⁷ ORCID : 0000-0003-2020-6084;^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7} Иркутский государственный университет, Иркутск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (denis.axengri[at]gmail.com)

Аннотация

Растения рода *Aconitum* spp. широко используются в народной медицине в качестве лекарственных средств для лечения различных заболеваний. В состав природных соединений, продуцируемых *Aconitum* spp., входят алкалоиды, которые обладают разнообразной биологической активностью. Однако исследования компонентного состава экстрактов семян растений рода *Aconitum* spp. немногочисленны и разрозненны. Целью данного исследования являлись оценка состава алкалоидов и других низкомолекулярных природных соединений семян рода *Aconitum* spp. и оценка антимикробных эффектов полученных экстрактов. В составе экстрактов семян исследуемых видов обнаружены неолин, 12-эпинапеллин, 14-ацетилталатизамин, хазманин, фузилин, кондельфин, коринеин. При оценке состава низкомолекулярных органических соединений были идентифицированы жирные кислоты и их эфиры, алканы, спирты, фенолы и терпены. При оценке антимикробной активности показано, что экстракты семян рода *Aconitum* spp. проявляют выраженную антибиотическую активность. Содержание алкалоидов и природных соединений в составе семян указывает на наличие эволюционных и экологических механизмов сохранения, распространения и защиты изученных растений. Также выявленные в составе семян природные соединения и обнаруженные антимикробные эффекты подтверждают значимость растений *Aconitum* spp. и их потенциал для фармацевтики и медицины.

Ключевые слова: акониты, семена, низкомолекулярные соединения, алкалоиды, антимикробная активность.

NATURAL COMPOUNDS OF SEEDS OF SIBERIAN SPECIES OF *ACONITUM SPP.*

Research article

Telnova T.Y.¹, Morgunova M.M.², Shashkina S.S.³, Imidoeva N.A.⁴, Shelkovnikova V.N.⁵, Ukolov D.A.⁶, Aksenov-
Gribanov D.V.^{7,*}¹ ORCID : 0000-0003-2606-3766;² ORCID : 0000-0002-7939-1432;³ ORCID : 0000-0002-3378-5671;⁴ ORCID : 0000-0002-6327-5517;⁵ ORCID : 0000-0002-4411-7521;⁶ ORCID : 0009-0002-9440-3697;⁷ ORCID : 0000-0003-2020-6084;^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7} Irkutsk state university, Irkutsk, Russian Federation

* Corresponding author (denis.axengri[at]gmail.com)

Abstract

Plants of the genus *Aconitum* spp. are widely used in folk medicine as drugs for the treatment of various diseases. Natural compounds produced by *Aconitum* spp. include alkaloids, which have a variety of biological activity. However, studies on the component composition of seed extracts of plants of the genus *Aconitum* spp. are few and scattered. The aim of this research was to evaluate the composition of alkaloids and other low molecular weight natural compounds of seeds of the genus *Aconitum* spp. and to assess the antimicrobial effects of the extracts obtained. Neolin, 12-epinapellin, 14-acetylthalatisamine, hazmanin, fusilin, condelfin, and corinein were found in the composition of seed extracts of the studied species. In evaluating the composition of low molecular weight organic compounds, fatty acids and their esters, alkanes, alcohols, phenols and terpenes were identified. In the evaluation of antimicrobial activity, seed extracts of the genus *Aconitum* spp. were shown to exhibit pronounced antibiotic activity. The content of alkaloids and natural compounds in the seeds indicates the presence of evolutionary and ecological mechanisms of conservation, propagation and defence of the studied plants. Also, the natural compounds identified in the seeds and the antimicrobial effects detected confirm the importance of *Aconitum* spp. plants and their potential for pharmaceuticals and medicine.

Keywords: aconites, seeds, low molecular weight compounds, alkaloids, antimicrobial activity.

Введение

Растения рода *Aconitum* spp. (Борец) широко используются в народной медицине в качестве лекарственных средств для лечения различных заболеваний. Так, в народной медицине Тибета, Монголии и Китая данные растения используются для лечения ревматизма, боли в суставах, гастроэнтерита и других заболеваний [1]. Два вида этого рода, такие как *A. carmichaelii* и *A. kusnezoffii*, официально входят в Государственную фармакопею Китая в качестве фармацевтических субстанций растительного происхождения [2].

Природные соединения, синтезируемые растениями *Aconitum* spp. подробно описаны в литературе. Особое внимание уделено алкалоидам как веществам, обладающим разнообразной биологической активностью. В некоторых исследованиях приведен сравнительный анализ содержания алкалоидов в листьях, корнях, цветах и стебле растений [1]. В то же время исследования компонентного состава экстрактов семян растений рода Борец немногочисленны и разрозненны.

Целью данного исследования являлись оценка состава алкалоидов и других низкомолекулярных природных соединений семян рода *Aconitum* spp. и оценка антимикробных эффектов полученных экстрактов.

Методы и принципы исследования

Образцы семян трех сибирских видов: *Aconitum sajanense* Kuminova, *A. macrorhynchum* Turcz. ex Ledeb., и *A. sczukinii* Turcz были получены из Центрального сибирского ботанического сада СО РАН (Россия, г. Новосибирск). Экстракцию низкомолекулярных соединений из измельченных семян выполняли методом Фолча [3]. Для последующего анализа растворитель отгоняли, а экстракт перерастворяли в гексане. Также были получены экстракты посредством многократной и последовательной экстракции ацетонитрилом, метанолом и циклогексаном при воздействии ультразвука [4].

Состав гексанового экстракта анализировали методом ГХ-МС [5] на хроматографе Agilent 7820A с масс-спектрометрическим детектором HP 5975 при следующих условиях: энергия ионизации – 70 эВ, температура сепаратора –280 °С, ионного источника – 230 °С. Кварцевая колонка 30000 × 0,25 мм со стационарной фазой (95% диметил – 5% дифенилполисилоксан). Идентификацию компонентов выполняли с использованием спектральной библиотеки NIST 14 (Национальный институт стандартов и технологий, США) при значениях фактора схожести не менее 900, и вероятности 96%.

Анализ состава алкалоидов и распространенных природных соединений в ацетонитрильном, метанольном и циклогексановом экстрактах семян *Aconitum* spp. проводили методом ЖХ-МС на жидкостном хроматографе Infinity II и масс-спектрометрическим детектором 6470 (Agilent). Для разделения использовали колонку Poroshell C18, размером 2,1 x 50 мм (Agilent). Разделение проводили как описано в [6]. Идентификацию соединений выполняли в режиме мониторинга множественных реакций и МС/МС регистрации.

Для испытания антибиотических свойств экстрактов были выбраны четыре бактериальные тест-культуры: *Bacillus subtilis* ATCC 66337, *Staphylococcus carnosus* ATCC 51365, *Enterococcus mundtii* ATCC 43186 и *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. Исследование проведено диско-диффузионным методом [7]. Отрицательным контролем выступила смесь используемых растворителей, предварительно высушенных на бумажном диске.

Основные результаты

В ходе проведенного исследования показано, что состав экстрактов семян *Aconitum* spp. во многом зависит от экстрагирующего растворителя и биологического вида растения. Были обнаружены следующие алкалоиды в составе экстрактов семян исследуемых видов (ESI-MS/MS): неолин (1) m/z 438.3 $[M + H]^+ \rightarrow 388.2, 420.3$; 12-эпинапеллин (2) m/z 360.3 $[M + H]^+ \rightarrow 324.2, 342.3$; 14-ацетилталатизамин (3) m/z 464.3 $[M + H]^+ \rightarrow 372.2, 400.2, 432.3$; хазманин (4) m/z 452.3 $[M + H]^+ \rightarrow 420.3, 388.2$; фузилин (5) m/z 454.3 $[M + H]^+ \rightarrow 404.2, 436.3$; кондельфин (6) m/z 450.3 $[M + H]^+ \rightarrow 420.8, 438.3$; коринеин (7) m/z 196.1 $[M + H]^+ \rightarrow 91.1, 119.0, 137.1$ (см. табл. 1).

Таблица 1 - Алкалоиды, обнаруженные в семенах сибирских видов *Aconitum* spp

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.50.7.1>

Экстрагирующий растворитель	Растение (семена)		
	<i>A. macrorhynchum</i>	<i>A. sczukinii</i>	<i>A. sajanense</i>
Ацетонитрил	(1), (2), (3)	(3)	(3), (4)
Метанол	(1), (3), (5)	(3), (6)	(1), (3), (5), (7)
Циклогексан	-	-	-

При оценке состава низкомолекулярных летучих органических соединений с применением метода ГХ-МС, были идентифицированы жирные кислоты и их эфиры, алканы, спирты, фенолы и терпены (см. табл. 2).

Таблица 2 - Природные соединения, обнаруженные в гексановых экстрактах семян *A. macrorhynchum*, *A. sczukinii* и *A. sajanense*

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.50.7.2>

Класс соединений	Растение (семена)
------------------	-------------------

	<i>A. macrorhynchum</i>	<i>A. szukinii</i>	<i>A. sajanense</i>
Жирные кислоты	16:0 18:1 18:0 20:2 18:2	16:0 <i>isopropyl</i> (16:0) 18:2	<i>isopropyl</i> (13:0) 16:0 18:0 18:2 <i>iso</i> (18:2)
Алканы	циклододекан эйкозан генэйкозан	тетратриаконтан тетратетраконтан	пентадекан тетракозан
Спирты	октадеканол	гептадеканол	додеканол октадеканол
Фенолы	2,4-бис(1,1- диметилэтил)-фенол	-	2,4-бис(1,1- диметилэтил)-фенол
Терпены	сквален	-	сквален

Одним из значимых алкалоидов, выявленных в составе растений рода *Aconitum* является неолин. Это соединение было обнаружено в *A. macrorhynchum* и *A. sajanense*. Известно, что неолин присутствует во многих видах *Aconitum* и обладает большим спектром биологической активности. Известно, что данный метаболит проявляет антиоксидантную активность, нейтрализуя молекулы DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) на 65,3%. *S. Vegum* с соавторами описана и противоопухолевая активность неолина: IC50 для неолина составляет 34,2% [8]. Обнаружено, что неолин оказывает значительное влияние и на нервную систему. Например, это соединение подавляет невропатическую боль, индуцированную аллодиниями или оксалиплатином [9]. Описаны результаты, подтверждающие, что лечение неолином может помочь при болезни Альцгеймера: доказано, что неолин улучшает когнитивные функции, такие как пространственное обучение и память [10]. Также показано, что данное соединение способно оказывать лучшее противотревожное действие, чем донепезил. Анализ показал значительное влияние неолина и на формирование β -амилоидов: уровень β -амиоида А β -42 был значительно снижен после лечения мышей с болезнью Альцгеймера высокими дозами неолина по сравнению с мышами, не получавшими лечения. Неолин также значительно уменьшал отложение амилоидов в префронтальной коре и гиппокампе. Длительное лечение неолином значительно снижало уровни экспрессии А β -42, снижало уровень фосфорилирования тау-белка и активность β -секретазы 1 в гиппокампе [10].

Также в ходе проводимых работ в составе семян *A. szukinii* был выявлен кондельфин. Кондельфин присутствует не только среди видов рода *Aconitum*, но и у растений рода *Delphinium*. По своей химической структуре кондельфин схож с неолином, однако проявляет отличный от последнего спектр биологической активности. Показано, что кондельфин, подобно йадварину-Б, способен неконкурентно ингибировать активность ацетил- и бутилхолинэстераз [11].

При оценке антимикробной активности, представленной в таблице 3, показано, что ацетонитрильные экстракты семян *A. sajanense* и *A. macrorhynchum*, а также метанольные экстракты *A. sajanense*, *A. macrorhynchum* и *A. szukinii* проявляют выраженную антибиотическую активность против бактерий и грибов (см. табл. 3).

Таблица 3 - Антибактериальная и противогрибковая активность экстрактов семян *A. macrorhynchum*, *A. szukinii* и *A. sajanense*

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.50.7.3>

Растворитель	Вид	Тест-культуры, зона подавления роста, мм			
		<i>B. subtilis</i>	<i>S. carnosus</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Ацетонитрил	<i>A. sajanense</i>	7	10	7	7
	<i>A. szukinii</i>	-	-	-	-
	<i>A. macrorhynchum</i>	7	-	7	-
Метанол	<i>A. sajanense</i>	-	7	-	-
	<i>A. szukinii</i>	-	7	-	-
	<i>A. macrorhynchum</i>	-	7	-	-
Циклогексан	<i>A. sajanense</i>	-	-	-	-
	<i>A. szukinii</i>	-	-	-	-
	<i>A. macrorhynchum</i>	-	-	-	-

Таким образом, показано, что ацетонитрильный экстракт *A. sajanense* проявляет наибольшую активность против *S. carnosus*, зона подавления роста составляла 10 мм, а иных используемых тест-культур – 7 мм. Ацетонитрильные экстракты семян *A. macrorhynchum* подавляли рост только двух культур – *B. subtilis* и *E. mundtii*, тогда как метанольные экстракты семян *A. sajanense*, *A. macrorhynchum* и *A. sczukinii* подавляли рост *S. carnosus*. Циклогексановые экстракты не проявляли выраженной антибактериальной активности и не содержали алкалоидов. Все типы экстрактов не подавляли роста тестовой культуры дрожжей.

Заключение

В ходе исследования впервые рассмотрены природные соединения семян сибирских видов *Aconitum* spp. Наличие алкалоидов и природных соединений в составе семян указывает на наличие эволюционных и экологических механизмов сохранения, распространения и защиты изученных растений. Также выявленные в составе семян природные соединения и обнаруженные антимикробные эффекты подтверждают значимость растений *Aconitum* spp. и их потенциал для фармацевтики и медицины.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Российского Научного Фонда № 22-76-10036.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Funding

The study was financially supported by the Russian Science Foundation project No. 22-76-10036.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

- Li M. A systematic review of pharmacological activities, toxicological mechanisms and pharmacokinetic studies on Aconitum alkaloids / M. Li, L. Yu-Chen, S. Meng-Ru [et al.] // Chinese Journal of Natural Medicines. — 2021. — № 1. — P. 505-520. — DOI: 10.1016/S1875-5364(21)60050-X.
- Xinyi X. Development of the general chapters of the Chinese Pharmacopoeia 2020 edition: A review / X. Xinyi, X. Huayu, R. Yue [et al.] // Journal of Pharmaceutical Analysis. — 2021. — № 4. — P. 398-404. — DOI: 10.1016/j.jpha.2021.05.001.
- Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / J. Folch, J. Lees, G. Sloane Stanley // Journal of Biological Chemistry. — 1957. — № 1. — P. 497-509. — DOI: /10.1016/S0021-9258(18)64849-5.
- Sarker S.D. Natural Products Isolation / S.D. Sarker, A.I. Gray. — New York: Springer Protocols, 2005. — 516 p. — DOI: 10.1385/1592599559.
- Shah N. An investigation on changes in composition and antioxidant potential of mature and immature summer truffle (*Tuber aestivum*) / N. Shah, A. Usvalampi, S. Chaudhary // European Food Research and Technology. — 2020. — № 1. — P. 723-731. — DOI: 10.1007/s00217-020-03438-7.
- Pereliaeva E.V. The use of Baikal psychrophilic actinobacteria for synthesis of biologically active natural products from sawdust waste / E.V. Pereliaeva, M.E. Dmitrieva, M.M. Morgunova [et al.] // Fermentation. — 2022. — № 8. — DOI: 10.3390/fermentation8050213.
- Mahajan G.B. Sources of antibiotics: Hot springs / G.B. Mahajan, L. Balachandran // Biochemical Pharmacology. — 2017. — № 1. — DOI: 10.1016/j.bcp.2016.11.021.
- Begum S. Pharmacologically active C-19 diterpenoid alkaloids from the aerial parts of *Aconitum laeve* Royle / S. Begum, M. Ali, A. Latif [et al.] // Records of Natural Products. — 2014. — № 8. — P. 83-92.
- Suzuki T. Processed aconite root and its active ingredient neoline may alleviate oxaliplatin-induced peripheral neuropathic pain / T. Suzuki, K. Miyamoto, N. Yokoyama [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. — 2016. — № 186. — P. 44-52. — DOI: 10.1016/j.jep.2016.03.056.
- Feng Liu Q. Neoline Improves Memory Impairment and Reduces Amyloid- β Level and Tau Phosphorylation Through AMPK Activation in the Mouse Alzheimer's Disease Model / Q. Feng Liu, K. Suganya, L. Jinhyuk [et al.] // Journal of Alzheimer's Disease. — 2021. — № 81. — P. 507-516. — DOI: 10.3233/JAD-201614.
- Kumar A. Potential of natural alkaloids from *Jadwar* (*Delphinium denudatum*) as inhibitors against main protease of COVID-19: a molecular modeling approach / A. Kumar, M. Sharma, C. Richardson [et al.] // Frontiers in Molecular Bioscience. — 2022. — № 10. — DOI: 10.3389/fmolb.2022.898874.