

УДК 615.322

ИЗУЧЕНИЕ НЕАЛКАЛОИДНОЙ ПРИРОДЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ *DATURA INNOXIA*

© Э.А. Гараев^{1*}, А.К. Велиева¹, А.Н. Карамли², Н.М. Гусейнова²

¹Азербайджанский медицинский университет, ул. А. Гасымзаде, 14, Баку, AZ1022 (Азербайджан), e-mail: eldargar@mail.ru

²Институт продовольственной безопасности Азербайджана, ул. Г. Алиева, 115, Баку, AZ1033 (Азербайджан)

Целью данного исследования является изучение различных органов дурмана индийского (*Datura innoxia* Mill.) семейства пасленовых (*Solanaceae*) на содержание биологически активных соединений неалкалоидной природы и антимикробную активность растительных масел его семян и экстрактов. *D. innoxia* произрастает в природных условиях Азербайджанской Республики. Нами изучен химический состав различных органов растения на наличие в них биологически активных соединений, таких как тритерпеновые кислоты, эфирные масла, жирные кислоты, стерины и их аминокислотный состав. Масло из семян экстрагировали гексаном с использованием устройства Сокслета и анализировали методом ГХ-ПИД. После удаления масла из семян выделены тритерпеновые кислоты – олеаноловая и урсоловая кислоты и проанализированы методом ТСХ. Полученные из листьев растения путем гидродистилляции эфирные масла исследованы методом ГХ. При исследовании методом ВЭЖХ на аминокислотном анализаторе L-8800 (Hitachi, Ltd.) в надземной части растения идентифицировано 20 аминокислот, 12 из которых являются заменимыми и 8 – незаменимыми.

Исследована антимикробная активность растительных масел семян и этанольных экстрактов некоторых частей (корни, стебли, листья, цветки, плоды и семена) растения в отношении *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Bacillus anthracoides* и *Klebsiella pneumoniae*. Выявлена выраженная активность некоторых экстрактов (стебли, листья, плоды, семена) в отношении *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* и *B. anthracoides* и активность растительного масла в отношении *C. albicans*.

Ключевые слова: *Datura innoxia*, тритерпеновые кислоты, эфирные масла, растительные масла, жирные кислоты, стерины, аминокислотный состав, антимикробная активность.

Введение

D. innoxia является травянистым растением, принадлежащим к семейству пасленовых. У него крупные и овальные листья, растение однолетнее, высотой достигает приблизительно 2 метров [1]. Используется в народной и традиционной медицине при астме, кашле, ревматизме, болях в мышцах, нервных расстройствах, нейротоксических болях, воспалениях, геморрое, ожогах и т.д. [2, 3].

D. innoxia известна в литературе как алкалоидное растение [4, 5]. В образце *D. innoxia*, выращенной в Марокко, методом ГХ-МС было идентифицировано 53 алкалоида (скополамин, гиосциамин, атропин, псевдотропин, апогиоссиамин, апоскополамин, норапоатропин, метилэргонин и др.) [6–8].

D. innoxia является одним из основных источников алкалоидов атропина и скополамина, которые широко используются в медицине как мидриатическое, спазмолитическое, болеутоляющее, противорвотное средство [9, 10].

Гараев Эльдар Абдулла – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой общей и токсикологической химии, e-mail: eldargar@mail.ru
Велиева Адила Карам – фармацевт, докторант кафедры общей и токсикологической химии, e-mail: adile.velieva1992baku@gmail.com
Карамли Амалия Назим – химик-мастер, аналитик-эксперт, e-mail: keremli.amaliya@gmail.com
Гусейнова Нигяр Мустафа – врач терапевт, аналитик-эксперт, e-mail: nigarh07@gmail.com

Помимо алкалоидов в растении обнаружены и другие группы биологически активных веществ – сапонины, флавоноиды, терпеноиды, жирные кислоты, стерины и др. [9–12].

Стероиды визанолидной группы – визаметелинол, висаметелинон, датурацин – были получены из надземной части растения *D. innoxia*,

* Автор, с которым следует вести переписку.

растущего в Пакистане, а из метанольного экстракта листьев вида, выращиваемого в Мексике, получают диноксин Б [13–15].

Смесь датурадиола и датуралона была получена из пентациклических тритерпеноидов семян растения, произрастающего в Индии [16].

Флавоноиды лютеолина и кверцетина были обнаружены в листьях *D. innoxia*, произрастающей в Алжире [17].

Жирные кислоты (в основном линолеин, элаидин, пальмитиновая кислота), токоферолы (α -токоферол, γ -токоферол, δ -токоферол) и фитостерины (кампестерол, стигмастерол, ланостерол, β -ситостерол, Δ^5 -авенастерол, цитостанол, Δ^7 -стигмастерол, Δ^7 -авенастерол) были обнаружены в составе масел семян *D. innoxia*, растущей в Египте [18].

Аминокислотный состав был проанализирован в семенах *D. innoxia*, растущей в Нигерии, и было установлено, что его основная часть состоит из глицина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, лейцина, фенилаланина, аргинина, пролина, лизина, серина, изолейцина [19].

Экспериментальная часть

Сырье для исследования было собрано и высушено в окрестностях Баку в ноябре 2019 года.

Получение растительного масла из семян. Из 1.5 кг семян с помощью аппарата Сокслета гексаном были экстрагированы растительные масла. Количество масла, полученного из семян растения, составляет 25% от сухой массы семян.

Анализ жирных кислот и стеринов в масле семян проводили с использованием ГХ Aligent 7820A с детектором ПИД.

Метилвые эфиры были приготовлены для анализа жирных кислот в масле методом ГХ в соответствии с методом ISO-12966-2-2017. 5 мл раствора KOH – MeOH (0.5 M) добавляли к 100 мкл растительного масла в пробирке на 10 мл и смесь нагревали при 60 °С в течение 15 мин. на водяной бане. После охлаждения до комнатной температуры добавляли 3 мл *n*-гексана и 2 мл дистиллированной воды и центрифугировали. Экстракт *n*-гексана был выделен и использован для ГХ-анализа [20].

Использовалась капиллярная колонка HP-88 со следующими характеристиками 100 м × 0.25 мм × 0.25 мкм. Температура источника тепла была запрограммирована от 70 до 250 °С, с повышением на 10 °С/мин. Температура источника ионов повышалась до 280 °С, электронная ионизация проводилась при 70 эВ. Скорость носителя – потока газообразного водорода составляла 28 мл/мин, скорость потока воздуха – 300 мл/мин. 1 мкл образца был введен для анализа. Результаты рассчитывались на основе времени удержания стандартных образцов и площади полученных пиков. Стандартный образец жирных кислот состоит из смеси 37 различных жирных кислот (Сигма Алдрич, Германия).

Изучение стеринов масла семян. Стерины в маслах семян анализировали в сравнении со стандартными образцами (стандарт – Сигма Альдрич, Германия). Анализ проводился по стандартной методике ISO 18252:2012.

Подготовка образца. Омыление – 1 мл стандартного раствора 5- α -холестана и 10 мл KOH (2 моль в метаноле) добавляли к исследуемому образцу. Кипятили в круглодонной колбе, которая была присоединена к дефлегматору в течение 1 ч при температуре 80 °С на водяной бане. Для экстракции немыльной части колбу охлаждали до 35 °С и анализируемый раствор переносили в делительную воронку. Добавляли 10 мл диэтилового эфира, 20 мл дистиллированной воды и встряхивали. После расслоения водную часть отделяли и вновь обрабатывали 10 мл диэтилового эфира. Эфирные слои объединяли и дважды промывали 10 мл дистиллированной водой. Полученные эфирные экстракты обезвоживали и фильтровали через безводный сульфат натрия на фильтровальной бумаге. Упаривали на водяной бане при 40 °С, растворяли в 3 мл *n*-гексане и использовали для ГХ-анализа.

При этом размер капиллярной колонки HP-88 составлял 25 м × 0.32 мм × 0.25 мкм. Температура источника тепла была запрограммирована на повышение от 70 до 280 °С с повышением на 5 °С/мин. Температура источника ионов составляла макс. 330 °С, электронная ионизация проводилась при 70 эВ. Газообразный водород в качестве носителя добавляют к образцу объемом 1 мкл с разделенным режимом 1 : 40. Результаты рассчитывали на основании времени удержания веществ в сравнении со стандартными образцами и полученной площади пика.

Выделение и ТСХ тритерпеновых кислот. После обезжиривания семена были экстрагированы 95%-ным этанолом. Экстракт концентрировали до 500 мл и после хранения при комнатной температуре в течение одних суток, на дне колбы наблюдали белый осадок (Соединение 1). Экстракт концентрировали до 200 мл и после хранения в холодильнике (8 °С) в течение одного дня наблюдалось прилипание белого осадка ко дну колбы (Соединение 2).

Выделенные соединения 1 и 2 идентифицировали на основе сравнением со стандартными образцами. Дифференциацию проводили по методике пред хроматографической дериватизации с йодом. ТСХ пластинку (Силикагель GF254, 50 мм × 100 мм × 0.2 мм, Мерк, Германия) с нанесенными образцами в стартовой линии погружали в горизонтальной камере в 1%-ный раствора йода в хлороформе. После подъема растворителя на 1.2 см пластинку вынимали из камеры и хранили в темном месте до высыхания. Затем пластинку хроматографировали в другой камере с подвижной фазой: петролейный эфир – этилацетат – ацетон (8.2 : 1.8 : 0.1). После поднятия растворителя на 7 см пластинку вынимали и сушили. После сушки пластинку опрыскивали 10%-ным раствором H₂SO₄, сушили 10 мин. и затем нагревали до 120 °С в течение 3 мин [21].

Получение и анализ эфирного масла листьев. Эфирное масло было получено из 110 г образцов листьев путем экстракции методом гидродистилляции в течение 8 ч. Полученное эфирное масло желто-зеленого цвета имеет острый, неприятный запах и маслянистую консистенцию. Количество в сухом сырье составляет 0.01%. 10 мг эфирного масла разводили в 1 мл *n*-гексана (1 : 100) и использовали для анализа.

При анализе использовалось оборудование Agilent 5977A/7890B GC-MS Hewlett Packard ГХ в сочетании с детектором HP Hewlett Packard MS. Размер капиллярной колонки HP-5MS составлял 30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм. Температура источника тепла программировалась от 70 до 240 °С с увеличением на 5 °С/мин. Температура источника ионов повышалась до 280 °С, электронная ионизация проводилась при 70 эВ. В качестве газа-носителя использовался гелий. Диапазон сканирования составлял от 35 до 500 а.е.м. Образцы объемом 1 мкл вводились в инжектор ГХ. Результаты сравнивались с литературной базой данных масс-спектра библиотеки Wiley 275, основанной на времени удерживания и молекулярной массе [22].

Аминокислотный анализ. Предварительно с помощью ТСХ на пластинках «Silufol» с обнаружением спиртовым раствором нингидрина было установлено присутствие аминокислот в водных извлечениях из исследуемых образцов сырья (подвижной фазы – *n*-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды в объемном соотношении (4 : 1 : 5)), которые проявлялись в виде красно-фиолетового пятна.

Для определения качественного состава и количественного содержания аминокислот анализ растения проводили соответствии с ГОСТ 32195-2013 (ISO 13903:2005).

Образцы замораживали в жидком азоте и измельчали в ступке. В ампулу для гидролиза взвешивали навеску сухого измельченного образца массой порядка 10–15 мг. Затем к навеске добавляли 200 мкл гидролизной смеси. По окончании гидролиза содержимое ампулы переносили в пластиковую пробирку на 1.5 мл, сушили на роторном испарителе, полученный сухой остаток растворяли в 1000 мкл 0.02 N HCl. В виалу для анализа отбирали 200 мкл образца и объем доводили до 1 мл 0.02 N HCl.

Испытание проводили методом ионообменной хроматографии с использованием постколоночной дериватизации. Элюент А: (Merck Hitachi, AAA pH-1 Buffer AN0-8706); Элюент В: (Merck Hitachi, AAA pH-2 Buffer AN0-8707); Элюент С: (Merck Hitachi, AAA pH-3 Buffer AN0-8708); Элюент D: (Merck Hitachi, AAA pH-4 Buffer AN0-8709); Элюент E: (0.2 M раствор NaOH. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 500 мл воды, прибавляют 200 мл 1 M раствора натрия гидроксида, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0.45 мкм. Срок годности раствора – 30 сут.).

В качестве калибровочной смеси использовали ампулированные концентрированные стандартные смеси 18 аминокислот (Стандарт аминокислоты, AAS18-5 мл аналитический стандарт, Сигма, Германия).

В пластиковую пробирку помещают 32 мкл раствора аминокислот с концентрацией 2.5 mM каждой (кроме цистина – 1.25 mM), добавляют 968 мкл 0.02 M раствора хлористоводородной кислоты. Получается раствор, содержащий в 50 мкл 4 нмоль каждой аминокислоты (цистина – 2 нмоль). Срок годности раствора (при температуре 20 °С) – 30 суток.

Растворы стандартных образцов и испытуемые растворы хроматографируют в следующих условиях:
– прибор – аминокислотный анализатор, модель L-8800 (Hitachi, Ltd.), колонка – Hitachi Ion-Exchange Column 2622SC(PH) (Hitachi, Ltd., P/N 855-4508), стальной, 4.6 × 60 мм, температура колонки – 57 °С; скорость потока – 0.4 мл/мин; объем вводимой пробы – 50 мкл испытуемого раствора или раствора стандартного образца.

Режим элюирования – ступенчатый градиент элюентов А, В, С, D и E (табл. 1).

Постколоночная дериватизация. Скорость потока – 0.35 мл/мин.; температура – 136 °С; длина волны – 570 нм и 440 нм – для пролина; нингидриновый буфер R2 и раствор нингидрина R1 (1 : 1) (Ninhydrin Reagent Wako Amino Acid Automated Analyzer Kit for Hitachi, Wako Pure Chemical Industries, P/N 298-69601).

Расчет содержания соответствующей аминокислоты в испытуемом растворе и отнесение пиков в нмоль/на пробу осуществляется автоматически на основании анализа стандартных образцов. Содержание соответствующей аминокислоты в образце (%) рассчитывали по формуле

$$C_i = \frac{N_i \times 2.5 \times MW_i}{m_s \times 10 \times V},$$

где MW_i – молекулярный вес соответствующей аминокислоты, m_s – масса образца, использованная для гидролиза (мг), V – объем вводимой пробы испытуемого раствора (40 мкл), 2.5 – коэффициент разведения гидролизата, N_i – содержание соответствующей аминокислоты в испытуемом растворе, нмоль/на пробу.

Методы пробоподготовки растительного сырья для определения аминокислот – образцы замораживали в жидком азоте и измельчали в ступке. В ампулу для гидролиза взвешивали навеску сухого измельченного образца массой порядка 10–15 мг. Затем к навеске добавляли 200 мкл гидролизной смеси. По окончании гидролиза содержимое ампулы переносили в пластиковую пробирку на 1.5 мл, сушили на ротаторном испарителе, полученный сухой остаток растворяли в 1000 мкл 0.02 N HCl. В виалу для анализа отбирали 200 мкл образца и объем доводили до 1 мл 0.02 N HCl.

Состав гидролизной смеси: при перемешивании к 0.01 мл β-меркаптоэтанола (2-Mercaptoethanol, M6250-100 ml, Сигма Алдрич) добавляют 6.67 мл концентрированной соляной кислоты (Hydrochloric acid, 320331-500 мл, Сигма Алдрич) и 3.33 мл концентрированной трифторуксусной кислоты (Trifluoroacetic acid, 91707-250 мл, Сигма Алдрич).

Условия гидролиза: гидролиз проводили в течение 1 ч при температуре 155 °С.

Для исследования *антимикробной активности* подготовили по 10 г измельченных образцов корней, стеблей, листьев, цветов, плодов, семян *D. innoxia*. Каждый образец экстрагировали 3 раза 95%-ным этанолом, растворитель выпаривали до получения сухого остатка. Сухие остатки по 200 мг растворяли в 1 мл смеси воды и диметилсульфоксида в соотношении (1 : 9), сам растворитель использовали в качестве контрольного образца. 20 г измельченных семян экстрагировали гексаном в течение 4 ч с помощью аппарата Сокслета, растворитель выпарили и получили 5 г масла. Пробу масла использовали для прямого анализа без дополнительного разбавления растворителем.

Антимикробную активность этанольных экстрактов различных частей растительного сырья и гексановых экстрактов растительного масла из семян растения изучали на следующих видах микроорганизмов: *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. anthracoides*, *K. pneumoniae*, *C. albicans*. Активность экстрактов определяли методом диффузии на агаре (для бактерий – мясо-пептонный; для *C. albicans* – Сабуро) с диском. Образцы для анализа (по 0.025 мл) добавляли на диски, обработанные микробами, выдерживали их в инкубаторе в течение 24–48 ч. (37 °С для бактерий, 28 °С для грибов). Результаты были рассчитаны на основе диаметра области, где рост микробной культуры был ингибирован соединениями экстрактов в этой среде.

Таблица 1. Режим элюирования

Время, мин	Элюент А, %	Элюент В, %	Элюент С, %	Элюент D, %	Элюент E, %
0	100	0	0	0	0
3.0	100	0	0	0	0
3.1	0	100	0	0	0
4.5	0	100	0	0	0
4.6	0	0	100	0	0
14.3	0	0	100	0	0
14.4	0	0	0	100	0
27.0	0	0	0	100	0
27.1	0	0	0	0	100
31.0	0	0	0	0	100
31.1	0	100	0	0	0
32.0	0	100	0	0	0
32.1	100	0	0	0	0
42.0	100	0	0	0	0

Обсуждение результатов

Результаты анализа масла семян по содержанию жирных кислот в составе масел семян *D. innoxia* представлены в таблице 2.

Результаты анализа стероидов в составе масел семян *D. innoxia* представлены в таблице 3.

Также были определены другие свойства масел семян:

Йодное число – 123.83% (ISO-3961-2018), число омыления – 194.07 мг КОН/г (ISO-3657-2013), перекисное число – 12.33 (ГОСТ-26593-85), кислотное число – 7.88 (ГОСТ-31933), pH – 5.43, показатель преломления – 1.463.

Анализ выполнен в лаборатории Института продовольственной безопасности Азербайджана.

Результаты анализа тритерпеновых кислот. Тритерпеновые кислоты были обнаружены в виде фиолетовых пятен на пластинках ТСХ (урсоловая кислота – R_f 0.25, олеаноловая кислота – R_f 0.45).

Соединение **1** – Олеаноловая кислота (CAS No.508-02-1), элементный состав $C_{30}H_{48}O_3$, игольчатые кристаллы, т.пл. 305–310 °С (этанол), $[\alpha]_D^{20} + 82^\circ$ (0.60, хлороформ).

Соединение **2** – Урсоловая кислота (CAS No.77-52-1), элементный состав $C_{30}H_{48}O_3$, белый порошок или игольчатые кристаллы, т.пл. 284–286 °С (этанол), $[\alpha]_D^{20} + 68^\circ$ (0.90, хлороформ).

Результаты анализа эфирного масла. В составе эфирного масла, полученного из листьев растения, были установлены 13 различных компонентов, процентное содержание вещества в образце рассчитано на основе площади полученных пиков. Результаты приведены в таблице 4.

Основными компонентами эфирного масла, получаемого из листьев растений, являются (E,7R,11R)-3,7,11,15-тетраметилгексадек-2-ен-1-ол и 6,10,14-триметилпентадекан-2-он.

Таблица 2. Жирные кислоты в масле семян

Пик	Стандарт, жирные кислоты	Время удерживания, мин.	Количество вещества, %
1	Каприновая кислота C10:0	6.413	0.0147
2	Лауриновая кислота C12:0	7.769	0.0160
3	Миристиновая кислота C14:0	9.548	0.1157
4	Пентадекановая кислота C15:0	10.670	0.0145
5	15:1	11.145	0.0152
6	16	12.078	11.2332
7	16:1	12.992	0.4739
8	17	13.700	0.0706
9	17:1	14.797	0.0802
10	18	15.926	1.8832
11	18:1t	16.854	0.0431
12	18:1c	17.244	26.0197
13	18:2t	18.656	0.0539
14	18:2c	19.185	58.2762
15	20	20.450	0.1616
16	18:3n6	21.333	0.0148
17	20:1	21.441	0.0728
18	18:3n3	22.422	0.0155
19	21:0	22.966	0.0295
20	22:0	24.214	0.0460
21	20:3n3	26.136	0.0182
22	23:0	26.396	0.5972
23	24:0	28.299	0.0487
24	20:5n3	28.792	0.0244
25	22:6n3	33.049	0.0253

Таблица 3. Наличие стероидов в маслах семян

Пик	Субстанция	Время удерживания RT, мин.	Результат
1	5-альфа-холестан	13.579	+
2	Холестерин	16.581	–
3	Кампестерин	17.810	+
4	Стигмастерин	18.197	+
5	β-ситостерин	18.840	+

Анализ выполнен на кафедре фармацевтической химии Азербайджанского медицинского университета.

Результаты аминокислотного анализа. Хроматограммы, полученные из аминокислотного стандарта и анализа образцов растений, показаны на рисунках 1 и 2.

Количество отдельных аминокислот в надземной части растения приведено в таблице 5.

Масса образца, использованного для гидролиза, составила 11.38 мг.

В надземной части растения было идентифицировано 20 аминокислот, 12 из которых являются заменимыми и 8 – незаменимыми. Общее содержание обнаруженных в образце аминокислот составляет 22.019%. Основную часть аминокислот растений составляли аспарагиновая кислота (4.597%), глутаминовая кислота (2.572%), лейцин (1.561%), пролин (1.416%), валин (1.310%), лизин (1.306%), фенилаланин (1.227%), аланин (1.141%), аргинин (1.080%), глицин (1.024%), серин (1.023%). Меньше всего оказалось гидроксизина (0.275%), метионина (0.163%), цистеина (0.056%), орнитина (0.03%).

Аминокислотный анализ проведен на химическом факультете МГУ им. М.В. Ломоносова.

Антимикробная активность. Значительная активность экстракта листьев *D. innoxia* наблюдалась на *B. anthracoides* и *S. aureus*, экстракт стебля – на *B. anthracoides*, а экстракт плодов и семян – на *C. albicans* соответственно. Результаты приведены в таблице 6.

Исследования антибактериальной активности проводились на кафедре микробиологии Азербайджанского медицинского университета.

Таблица 4. Идентифицированные компоненты в эфирном масле, полученном из листьев

№	Соединение	Время удерживания, мин	Количество вещества, %
1	1-(2,6,6-триметилциклогекса-1,3-диен-1-ил)бут-2-ен-1-он	20.909	1.73
2	(E)-4-(2,6,6-триметилциклогексен-1-ил)бут-3-ен-2-он	24.069	2.006
3	(E)-4-(2,4,4-триметилциклогекса-1,5-диен-1-ил)бут-3-ен-2-он	26.792	1.539
4	1-(1,1,5,5-тетраметил-2,3,5,6-тетрагидро-s-индацен-4-ил)этанол	33.345	2.015
5	6,10,14-триметилпентадекан-2-он	34.008	18.885
6	бис(2-метилпропил)бензол-1,2-дикарбоксилат	34.538	4.769
7	метил 14-метилпентадеканоат	36.017	1.976
8	3,7,11,15-тетраметилгексадек-1-ен-3-ол	36.539	2.308
9	1-О-бутил-2-О-(2-этилгексил)бензол-1,2-дикарбоксилат	36.829	0.538
10	2,3-дигидроксипропилоктадека-9,12,15-триеноат	40.086	2.492
11	(E,7R,11R)-3,7,11,15-тетраметилгексадек-2-ен-1-ол	40.377	45.606
12	2-трет-бутил-6-[(3-трет-бутил-2-гидрокси-5-метилфенил)метил]-4-метилфенол	46.732	1.674
13	бис(6-метилгептил)бензол-1,2-дикарбоксилат	49.256	1.965

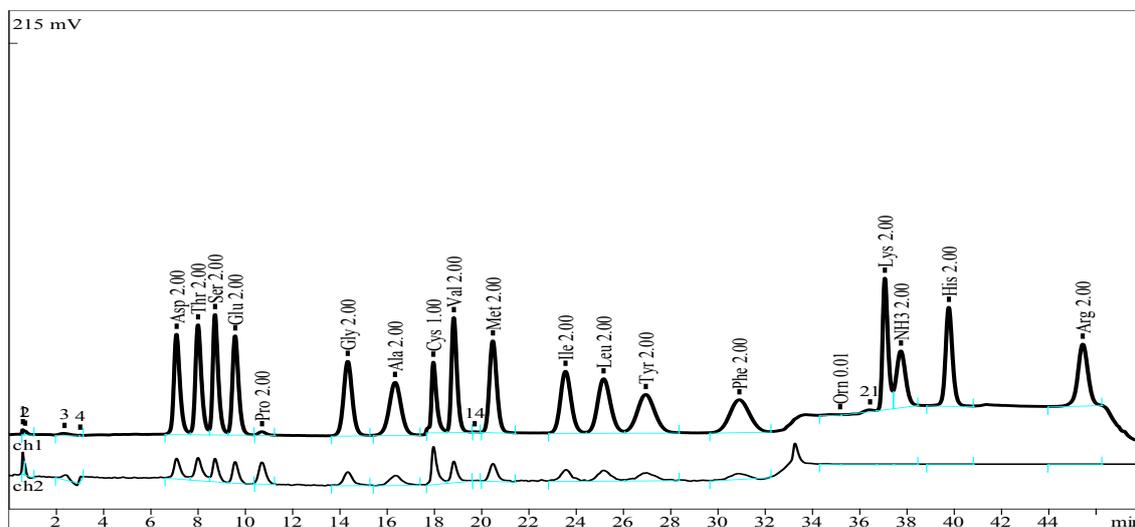


Рис. 1. Хроматограмма стандартной смеси аминокислот (ch1 – детектирование на 570 нм, ch2 – детектирование на 440 нм)

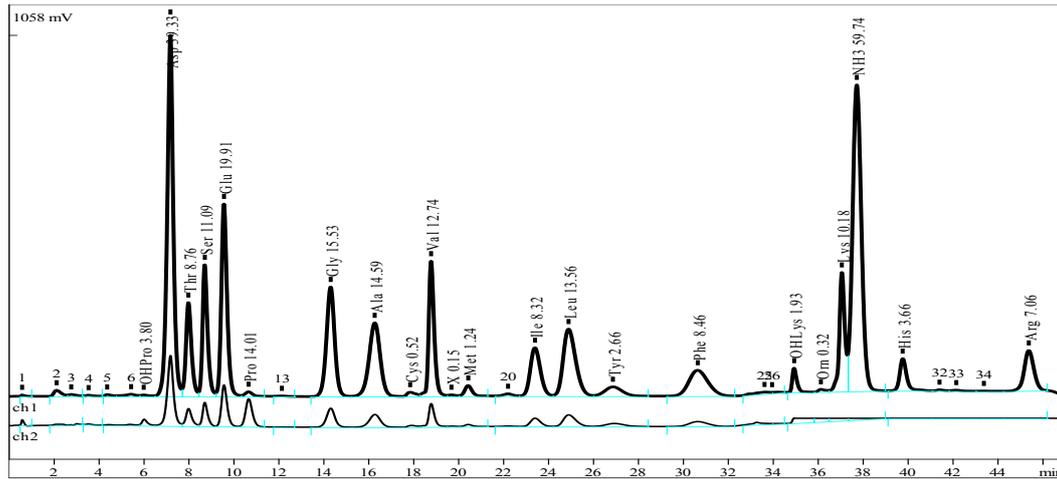


Рис. 2. Хроматограмма надземной части *D. innoxia* (ch1 – детектирование на 570 нм, ch2 – детектирование на 440 нм)

Таблица 5. Аминокислотный состав надземной части *D. innoxia*

№	Аминокислота	Время удерживания, мин	Количество вещества в пике (нмоль/инж.)	Молекулярная масса	Найденное содержание в образце, %
1	Гидроксипролин (OHPro)	6.121	3.796	131	0.437
2	Аспарагиновая кислота (Asp)	7.132	39.33	133	4.597
3	Треонин (Thr)	8.035	8.759	119	0.916
4	Серин (Ser)	8.747	11.09	105	1.023
5	Глутаминовая кислота (Glu)	9.587	19.91	147	2.572
6	Пролин (Pro)	10.70	14.01	115	1.416
7	Глицин (Gly)	14.31	15.53	75	1.024
8	Аланин (Ala)	16.29	14.59	89	1.141
9	Цистеин (Cys)	17.96	0.525	121	0.056
10	Валин (Val)	18.82	12.74	117	1.310
11	Метионин (Met)	20.46	1.244	149	0.163
12	Изолейцин (Ile)	23.51	8.324	131	0.958
13	Лейцин (Leu)	25.12	13.56	131	1.561
14	Тирозин (Tyr)	26.89	2.657	181	0.423
15	Фенилаланин (Phe)	30.84	8.462	165	1.227
16	Гидроксилизин (OHlys)	35.11	1.934	162	0.275
17	Орнитин (Orn)	36.01	0.3164	132	0.037
18	Лизин (Lys)	37.05	10.18	146	1.306
19	Гистидин (His)	39.75	3.665	155	0.499
20	Аргинин (Arg)	45.39	7.062	174	1.080
Сумма					22.019

Таблица 6. Антимикробная активность этанольных экстрактов и масел семян

Экстракты/Микроорганизмы	Диаметры зон угнетения роста тест-штаммов микроорганизмов (в мм)						Масло семян
	Корень	Стебель	Листья	Цветок	Плоды	Семена	
<i>S. aureus</i>	0	6	35	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	0	8	0	0	0	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. albicans</i>	0	8	6	0	15	20	8
<i>B. anthracoides</i>	0	20	33	0	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0

Выводы

В результате проводимых исследований изучен неалкалоидный химический состав различных органов (листья, семена) дурмана индийского (*Datura innoxia* Mill.) на наличие биологически активных соединений – тритерпеновые кислоты, эфирные масла, жирные кислоты, стерины и аминокислотный состав. Изучена также антимикробная активность масел семян и этанольных экстрактов некоторых органов (корни, стебли, листья, цветки, плоды и семена) растения.

Полученные в ходе проведенного исследования данные указывают на перспективность применения растения в качестве источника данных групп биологически активных веществ.

Список литературы

1. Haegi L. Taxonomic account of *Datura* L. (*Solanaceae*) in Australia with a note on *Brugmansia* Pers // Australian Journal of Botany. 1976. Vol. 24. Pp. 415–435. DOI: 10.1071/BT9760415.
2. Benitez G., Salas M.M., Kamel A.V., Jimenez U.C., Hernandez J., Osuna N.M., Chocano J.M., Carinanos P. The genus *Datura* L. (*Solanaceae*) in Mexico and Spain – Ethnobotanical perspective at the interface of medical and illicit uses // Journal of Ethnopharmacology. 2018. Vol. 219. Pp. 133–151. DOI: 10.1016/j.jep.2018.03.007.
3. Eftekhar F., Yousefzadi M., Tafakori V. Antimicrobial activity of *Datura innoxia* and *Datura stramonium* // Fitoterapia. 2005. Vol. 76. Pp. 118–120. DOI: 10.1016/j.fitote.2004.10.004.
4. Jakabova S., Vinczec L., Farkas A., Kilor F., Boros B., Felinger A. Determination of tropane alkaloids atropine and scopolamine by Liquid Chromatography – Mass Spectrometry in plant organs of *Datura* species // Journal of Chromatography A. 2012. Vol. 1232. Pp. 295–301. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.02.036.
5. Boros B., Farkas A., Jakabova S., Bacskay I., Kilar F., Felinger A. LC-MS Quantitative determination of atropine and scopolamine in the floral nectar of *Datura* species // Chromatographia. 2010. Vol. 71. Pp. 43–49. DOI: 10.1365/s10337-010-1524-y.
6. Bazaoui A.E., Bellimam A., Soulaymani A. Tropane alkaloids of *Datura innoxia* from Morocco // Verlag Der Zeitschrift Fur Naturforschung. 2012. Vol. 67. Pp. 8–14. DOI: 10.1515/znc-2012-1-202.
7. Doncheva T., Berkov S., Philipov S. Comparative study of the alkaloids in tribe *Datureae* and their chemosystematic significance // Biochemical Systematics and Ecology. 2006. Vol. 34. Pp. 478–488. DOI: 10.1016/j.bse.2006.01.008.
8. Berkov S., Zayed R. Comparison of Tropane alkaloid spectra between *Datura innoxia* grown in Egypt and Bulgaria // Z. Naturforsch. 2004. Vol. 59. Pp. 184–186. DOI: 10.1515/znc-2004-3-409.
9. Nandakumar A., Vaganan M.M., Sundararaju P., Udayakumar R. Phytochemical Analysis and Nematicidal activity of ethanolic leaf extracts of *Datura metel*, *Datura innoxia*, and *Brugmansia suaveolens* against *Meloidogyne incognita* // Asian Journal of Biology. 2017. Vol. 2(4). Pp. 1–11. DOI: 10.9734/AJOB/2017/34241.
10. Humaira F., Khan K., Zia M., Ur-Rehman T., Mirza B., Haq I. Extraction optimization of medicinally important metabolites from *Datura innoxia* Mill. an in vitro biological and phytochemical investigation // BMC Complementary and Alternative Medicine. 2015. Vol. 15. 376. DOI: 10.1186/s12906-015-0891-1.
11. Benabderrahima M.A., Sarikurkcü C., Elfalleh W., Ozer M.S. *Datura innoxia* and *Dipsacus laciniatus*: Biological activity and phenolic composition // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019. 101163. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101163.
12. Gajendran B., Durai P., Varier K.M., Chinnasamy A. A novel phytosterol isolated from *Datura innoxia*, Rinoxia B is a potential cure colon cancer agent by targeting BAX/Bcl2 pathway // Bioorganic and Medicinal Chemistry. 2020. Vol. 28(2). 115242. DOI: 10.1016/j.bmc.2019.115242.
13. Siddiqui B.S., Afreen S., Begum S. Two new withanolides from the aerial parts of *Datura innoxia* // Australian Journal of Chemistry. 1999. Vol. 52(9). Pp. 905–908. DOI: 10.1071/CH99033.
14. Vermillion K., Holguin F.O., Berhow M.A., Richins R.D., Redhouse T., O'Connell M.A., Posakony J., Mahajan S.S., Kelly S.M., Simon J.A. Dinoxin B, a withanolide from *Datura innoxia* leaves with specific cytotoxic activities // Journal Natural Products. 2011. Vol. 74(2). Pp. 267–271. DOI: 10.1021/np1004714.
15. Siddiqui B.S., Arfeen S., Begum S., Sattar F.A. Daturacin a new withanolide from *Datura innoxia* // Natural Product Research. 2005. Vol. 19. Pp. 619–623. DOI: 10.1080/14786410512331330620.
16. Kocor M., Pyrek J.S., Atal C.K., Bedi K.L., Sharma B.R. Triterpenes of *Datura innoxia* Mill. structure of daturadiol and daturaolone // Journal Organic Chemistry. 1973. Vol. 38 (21). Pp. 3685–3688. DOI: 10.1021/jo00961a005.
17. Rahmoune B., Zerrouk I.Z., Morsli A., Khelifi-Slaoui M., Khelifi L., Amarante L.D. Phenylpropanoids and fatty acids levels in roots and leaves of *Datura stramonium* and *Datura innoxia* // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Algeria. 2017. Vol. 9 (7). Pp. 150–154. DOI: 10.22159/ijpps.2017v9i7.15946.
18. Ramadan M.F., Zayed R., El-Shamy H. Screening of bioactive lipids and radical scavenging potential of some *Solanaceae* plants // Food Chemistry. 2007. Vol. 103 (3). Pp. 885–890. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.09.040.
19. Christiana K.A., Sunday I.G., Samaila B.J., Dayil D.A. Chemical composition of the seeds of *Datura innoxia* // International Journal of Innovative Science, Engineering and Technology. 2016. Vol. 3(2). Pp. 35–41.
20. Wang J., Wu W., Wang X., Wang M., Wu F. An effective GC method for the determination of the fatty acid composition in silkworm pupae oil using a two-step methylation process // Journal of the Serbian Chemical Society. 2015. Vol. 80. Pp. 9–20. DOI: 10.2298/JSC140401073W.

21. Wojciak-Kosior M. Separation and determination of closely related triterpenic acids by high performance thin-layer chromatography after iodine derivatization // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2007. Vol. 45. Pp. 337–340. DOI: 10.1016/j.jpba.2007.05.011.
22. Aboluwodi A.S., Avoseh O.N., Lawal O.A., Ogunwande I.A., Giwa A.A. Chemical constituents and anti-inflammatory activity of essential oils of *Datura stramonium* L. // Journal of Medicinal Plants Studies. 2017. Vol. 5(1). Pp. 21–25.

Поступила в редакцию 4 июня 2020 г.

После переработки 29 января 2021 г.

Принята к публикации 3 февраля 2021 г.

Для цитирования: Гараев Э.А., Велиева А.К., Карамли А.Н., Гусейнова Н.М. Изучение неалкалоидной природы биологически активных соединений *Datura innoxia* // Химия растительного сырья. 2021. №2. С. 163–172. DOI: 10.14258/jcrpm.2021027947.

Garaev E.A.^{1*}, Valiyeva A.K.¹, Karamli A.N.², Huseynova N.M.² INVESTIGATION NON-ALKALOIDAL BIOLOGICAL ACTIVE COMPOUNDS OF *DATURA INNOXIA*

¹ Azerbaijan Medical University, ul. A. Gasimzade 14, Baku, AZ1022 (Azerbaijan), e-mail: eldargar@mail.ru

² Food Safety Institution, ul. H. Aliyeva, 115, Baku, AZ1033 (Azerbaijan)

The purpose of the investigation is to study non-alkaloidal biological active compounds of various organs, the antimicrobial activity of plant oil and ethanolic extracts of *Datura innoxia* Mill. from nightshades (*Solanaceae*). *D. innoxia* grows in the natural environmental conditions of the Republic of Azerbaijan. We have studied presence of several biological active compounds – triterpenic acids, essential oils, fatty acids, sterols and amino acids in the content of various organs of plant. Oil was obtained by using Soxhlet apparatus and investigated by GC method. After removing the oil from the seeds, triterpenic acids - oleanolic and ursolic acids were isolated and identified by TLC. Essential oils were obtained from plant leaves by hydrodistillation and studied by GC-MS method. 20 amino acids were identified in the aerial part of the plant by the HPLC method, with amino acid analyzer L-8800 (Hitachi, Ltd.), 12 of them are non-essential, 8 are essential.

The antimicrobial activity of plant oils of seed and ethanolic extracts of some parts (roots, stems, leaves, flowers, fruits and seeds) were studied on *Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus anthracoides*, *Klebsiella pneumoniae* and *Candida albicans*. The significant activity of some extracts (stems, leaves, fruits and seeds) was observed against *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, *B. anthracoides* and plant oil against *C. albicans*.

Keywords: *Datura innoxia*, triterpenic acids, essential oils, plant oil, fatty acids, sterols, amino acids, antimicrobial activity.

* Corresponding author.

References

1. Haegi L. *Australian Journal of Botany*, 1976, vol. 24, pp. 415–435. DOI: 10.1071/BT9760415.
2. Benitez G., Salas M.M., Kamel A.V., Jimenez U.C., Hernandez J., Osuna N.M., Chocano J.M., Carinanos P. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018, vol. 219, pp. 133–151. DOI: 10.1016/j.jep.2018.03.007.
3. Eftekhari F., Yousefzadi M., Tafakori V. *Fitoterapia*, 2005, vol. 76, pp. 118–120. DOI: 10.1016/j.fitote.2004.10.004.
4. Jakabova S., Vincze L., Farkas A., Kilar F., Boros B., Felinger A. *Journal of Chromatography A*, 2012, vol. 1232, pp. 295–301. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.02.036.
5. Boros B., Farkas A., Jakabova S., Bacsakay I., Kilar F., Felinger A. *Chromatographia*, 2010, vol. 71, pp. 43–49. DOI: 10.1365/s10337-010-1524-y.
6. Bazaoui A.E., Bellimam A., Soulaymani A. *Verlag Der Zeitschrift Fur Naturforschung*, 2012, vol. 67, pp. 8–14. DOI: 10.1515/znc-2012-1-202.
7. Doncheva T., Berkov S., Philipov S. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2006, vol. 34, pp. 478–488. DOI: 10.1016/j.bse.2006.01.008.
8. Berkov S., Zayed R. *Z. Naturforsch.*, 2004, vol. 59, pp. 184–186. DOI:10.1515/znc-2004-3-409.
9. Nandakumar A., Vaganan M.M., Sundararaju P., Udayakumar R. *Asian Journal of Biology*, 2017, vol. 2(4), pp. 1–11. DOI: 10.9734/AJOB/2017/34241.
10. Humaira F., Khan K., Zia M., Ur-Rehman T., Mirza B., Haq I. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2015, vol. 15, 376. DOI: 10.1186/s12906-015-0891-1.
11. Benabderrahima M.A., Sarikurku C., Elfalleh W., Ozer M.S. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2019, 101163. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101163.
12. Gajendran B., Durai P., Varier K.M., Chinnasamy A. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2020, vol. 28(2), 115242. DOI: 10.1016/j.bmc.2019.115242.
13. Siddiqui B.S., Afreen S., Begum S. *Australian Journal of Chemistry*, 1999, vol. 52(9), pp. 905–908. DOI: 10.1071/CH99033.
14. Vermillion K., Holguin F.O., Berhow M.A., Richins R.D., Redhouse T., O'Connell M.A., Posakony J., Mahajan S.S., Kelly S.M., Simon J.A. *Journal Natural Products*, 2011, vol. 74(2), pp. 267–271. DOI: 10.1021/np1004714.
15. Siddiqui B.S., Arfeen S., Begum S., Sattar F.A. *Natural Product Research*, 2005, vol. 19, pp. 619–623. DOI: 10.1080/14786410512331330620.
16. Kocor M., Pyrek J.S., Atal C.K., Bedi K.L., Sharma B.R. *Jornal Organic Chemistry*, 1973, vol. 38 (21), pp. 3685–3688. DOI: 10.1021/jo00961a005.
17. Rahmoune B., Zerrouk I.Z., Morsli A., Khelifi-Slaoui M., Khelifi L., Amarante L.D. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Algeria*, 2017, vol. 9 (7), pp. 150–154. DOI: 10.22159/ijpps.2017v9i7.15946.
18. Ramadan M.F., Zayed R., El-Shamy H. *Food Chemistry*, 2007, vol. 103 (3), pp. 885–890. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.09.040.
19. Christiana K.A., Sunday I.G., Samaila B.J., Dayil D.A. *International Journal of Innovative Science, Engineering and Technology*, 2016, vol. 3(2), pp. 35–41.
20. Wang J., Wu W., Wang X., Wang M., Wu F. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 2015, vol. 80, pp. 9–20. DOI: 10.2298/JSC140401073W.
21. Wojciak-Kosior M. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, vol. 45, pp. 337–340. DOI: 10.1016/j.jpba.2007.05.011.
22. Aboluwodi A.S., Avoseh O.N., Lawal O.A., Ogunwande I.A., Giwa A.A. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 2017, vol. 5(1), pp. 21–25.

Received June 4, 2020

Revised January 29, 2021

Accepted February 3, 2021

For citing: Garaev E.A., Valiyeva A.K., Karamli A.N., Huseynova N.M. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 2, pp. 163–172. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021027947.