
ИЗ ОПЫТА РАБОТЫ

Н.Н. Гаджиева, С.А. Фараджев

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В *REGANUM HARMALA*, ВЫЗВАННЫЕ ДЕЙСТВИЕМ γ -ОБЛУЧЕНИЯ

*Институт радиационных проблем НАН Азербайджана,
ул.Ф. Агаева, 9, AZ-1143, г. Баку, Республика Азербайджан*

Введение

В последнее время лекарственное растение *Peganum harmala L* помимо народной медицины широко применяется при лечении ряда более серьезных заболеваний, в том числе и раковых [1–5]. Эффективность использования гармалы в различных целях обусловлена наличием в ее составе β -карболиновых алкалоидов – гармина, гармалина и их производных [6–10]. В работах [4, 5, 10, 11] показано, что β -карболиновые алкалоиды являются биологически активными и оказывают цитотоксическое влияние на раковые клетки и спазмолитическое действие на дыхательные пути при бронхиальной астме. Динамика накопления алкалоидов и стабильность их содержания в составе *Peganum harmala* при длительном хранении сильно зависят от внешних факторов – температуры, электромагнитного поля, радиационного фона и т.д. [11, 12]. Низкотемпературная обработка (~80 К) гармалы сверхвысокочастотным электромагнитным СВЧ-полем (~600–1000 МГц) дает возможность улучшить ее вкусовые качества и спазмолитическое действие [12–14]. Однако до сих пор не исследовались влияние γ -радиации на состав и структуру *Peganum harmala* и связанные с ними изменения фармакологических свойств.

Поэтому в настоящей работе изучены структурные изменения в *Peganum harmala*, вызванные при воздействии γ -излучения с помощью методов радиотермолюминесценции (РТЛ) и ИК-спектроскопии.

Экспериментальная часть

В работе использовали мелкодисперсные порошкообразные образцы *Peganum harmala* Апшерона (Азербайджан) – листья, семена и стебли с размерами гранул ~80 мкм, охарактеризованные в [1, 15]. Для снятия спектров радиотермолюминесценции (РТЛ) получали таблетки из этих порошков по методике, описанной в [15]. Кривые РТЛ регистрировали на термолюминографе ТЛГ-69М в диапазоне температур 80–500К при скорости разогрева образцов 0,08 К/с. Для РТЛ анализа образцы облучались при температуре 77К [12].

ИК-спектры пропускания тонких пленок с толщиной ~1 мкм регистрировали на спектрофотометре Specord 71JR (Carl Zeiss) в области частот 2000–650 см⁻¹ при комнатной температуре. Тонкие пленки получали прессованием смеси монодисперсной порошкообразной гармалы в твердой матрице КВг при соотношении 1:1000 под давлением 600 кг/см² с предварительной откачкой при 1,33 Па с помощью специальной пресс-формы, предназначенной для оптических исследований [16].

Оптические спектры зеркального отражения листьев *Peganum harmala* измеряли в области 185–900 нм на спектрофотометре Specord UV VIS (Carl Zeiss) при 300 К. Для трех выбранных длин волн ($\lambda=500, 750$ и 830 нм) в видимой области спектра, свободной от собственных полос поглощения гармалы, определяли значения коэффициентов отражения R (альбедо). В предположении выполнения закона Гурьевича-Кубелки-Мунка [17] с учетом влияния поверхностной шероховатости вычисляли оптические плотности для $\lambda = 500, 750$ и 830 нм по формуле $D=\lg R/R_0$, где R_0 и R – коэффициенты отражения образцов до и после γ -облучения. Приведенные в работе значения D представляют собой среднюю арифметическую величину, полученную в трех параллельных независимых экспериментах.

Образцы облучали γ -квантами ⁶⁰Со мощностью дозы $dD_\gamma/dt=1,03$ Гр/с при температурах 77 и

300 К для РТЛ и спектральных измерений соответственно. Поглощенная доза, определяемая ферросульфатным дозиметром, варьировалась в пределах $D_\gamma = 0,5-50$ кГр.

Обсуждение результатов

Облучение γ -квантами при 77 К *Peganum harmala* приводит к появлению интенсивного пика РТЛ при 175 К и слабых пиков при 320 и 445 К (рис. 1, кривая 1). Низкотемпературный широкий пик (полуширина $T_{1/2} \approx 110$ К) при 175 К с энергией активации $E_a \approx 0,07-0,10$ эВ может быть связан как с наличием алкалоидов в составе гармалы, так и с молекулярной водой, находящейся в стерическом окружении алкалоидов (структуры некоторых типов алкалоидов *Peganum harmala* приведены на рис. 2). При облучении УФ-светом с $\lambda = 254$ нм β -карболинов, выделяемых из корней *Oxalis tulerioza* L, визуально наблюдалась голубовато-пурпурная флуоресценция [18]. Причем установлено, что основными флуоресценцирующими компонентами являются гармин (7-метокси-1-метил- β -карболин) и гармалин (3,4-дигидрогармин). Гидроксильные (ОН)-группы и кислород конденсированной воды в γ -облученных биологических объектах также дают термолюминесценцию при 160–180 К [19]. Происхождение и природа пиков термовысвечивания при 320 и 445К пока не установлены и выясняются.

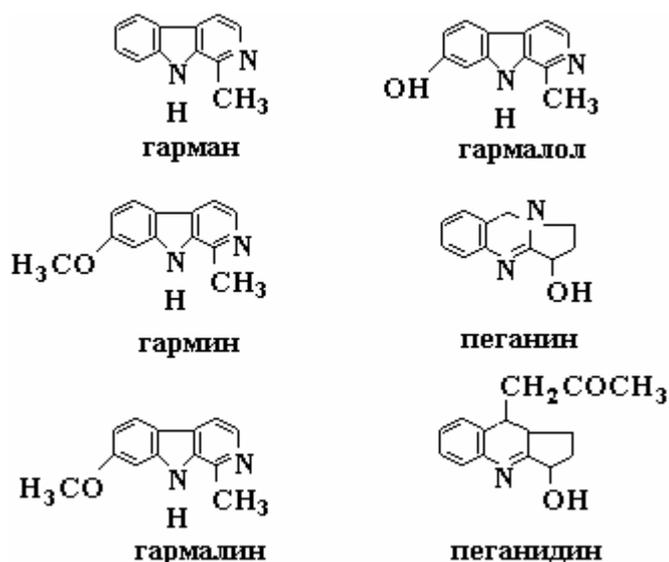
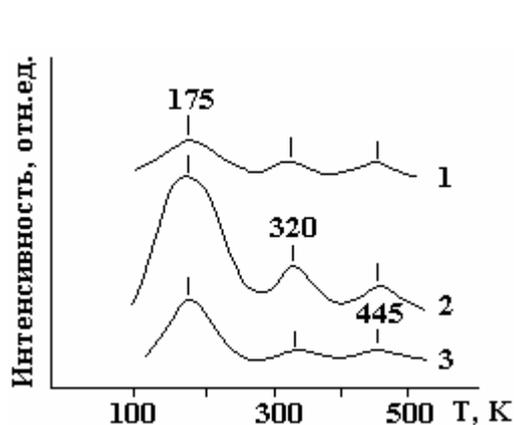


Рис. 1. Кривые термовысвечивания γ -облученной гармалы при дозах $D_\gamma=1(1)$, 10(2) и 50 кГр(3)

Рис.2 Структуры некоторых типов алкалоидов *Peganum harmala*

Низкотемпературный широкий пик РТЛ с максимумом при 175 К имеет ряд особенностей, так как его спектральные параметры (интенсивность и полуширина) зависят от дозы γ -облучения (рис.1, кривые 2 и 3). При увеличении дозы γ -облучения от 0,5 до 25 кГр ($0,5 < D_\gamma \leq 25$ кГр) интенсивность пика термовысвечивания увеличивается почти на порядок. Дальнейшее увеличение дозы облучения до 50 кГр ($25 < D_\gamma \leq 50$ кГр) сопровождается монотонным уменьшением интенсивности данного пика и его сужением в ~ 2 раза (полуширина уменьшается на 60 К). При этом форма полосы остается неизменной и близкой к гауссовой. Дозовые зависимости интегральной интенсивности I РТЛ пика при 175К его полуширины $T_{1/2}$ в виде диаграмм приведены на рис. 3. На основе их анализа можно заключить, что в области сравнительно малых доз ($0,5 < D_\gamma \leq 25$ кГр) происходят слабые структурные изменения, связанные в основном с конформационными превращениями алкалоидов, а в области доз $25 < D_\gamma \leq 50$ кГр – сильные структурные изменения, вплоть до их частичного распада.

Структурные изменения в γ -облученных образцах *Peganum harmala* контролировали также по ИК-спектрам поглощения. На рис. 4 представлены ИК-спектры поглощения исходных (кривая 1) и облученных γ -квантами при различных дозах (кривые 2–3) образцов *Peganum harmala* в области частот 1800–1200 см^{-1} . Эта аналитическая область спектра характеризуется набором близлежащих полос поглощения, относящихся в основном к различным видам алкалоидов в составе гармалы. Об этом свидетельствует наличие карбонильсодержащих $\text{C}=\text{O}$ ($\nu \sim 1750-1700$ см^{-1}), $\text{C}=\text{C}$ и азотсодержащих – $\text{N}=\text{C}$ групп ($\nu \sim 1690-1500$ см^{-1}) в ароматических циклах. А полосы при 1600, 1580 (сопряженные кольца), 1500 и 1450 см^{-1} характерны для самого кольца. С учетом сложного химического состава и справочных данных по ИК-спектрам индивидуальных алкалоидов гармалы полосы поглощения с частото-

тами 1725, 1700, 1690 и 1625 см^{-1} были отнесены к гармину, пеганидину, гармалину и пеганину соответственно (рис. 4, кривая 1) [9, 20–23].

При облучении образцов *Reganum harmala* ИК-спектры трансформируются: в области сравнительно малых доз ($0,5 < D_\gamma \leq 25$ кГр) происходит перераспределение интенсивностей полос поглощения алкалоидов, сопровождающееся увеличением интенсивностей полос поглощения гармина и гармалина (1725 и 1690 см^{-1}), и, наоборот, – уменьшением интенсивностей полос поглощения пеганина и пеганидина (1700 и 1625 см^{-1}) (рис. 4, кривые 2–3). Дальнейшее увеличение дозы облучения от 25 до 50 кГр приводит к уменьшению интенсивностей всех полос поглощения. Наблюдаемую особенность гармина, гармалина и их производных в ИК-спектрах γ -облученной *Reganum harmala* в аналитической области алкалоидов можно объяснить структурными конформационными изменениями, приводящими к увеличению концентрации (количества) гармина и гармалина (область сравнительно малых доз $0,5 < D_\gamma \leq 25$ кГр) и частичному их разложению (область $25 < D_\gamma \leq 50$ кГр).

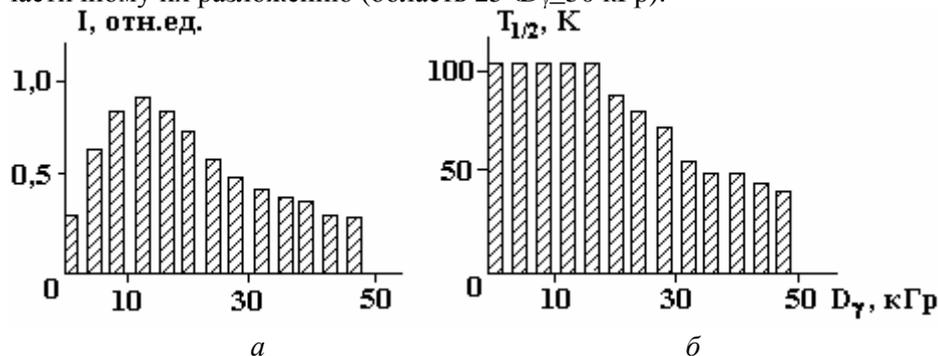


Рис.3 Зависимости суммарной интегральной интенсивности I пика РТЛ гармалы при $T=175\text{K}$ (а) и его полуширины $T_{1/2}$ (б) от дозы γ -облучения

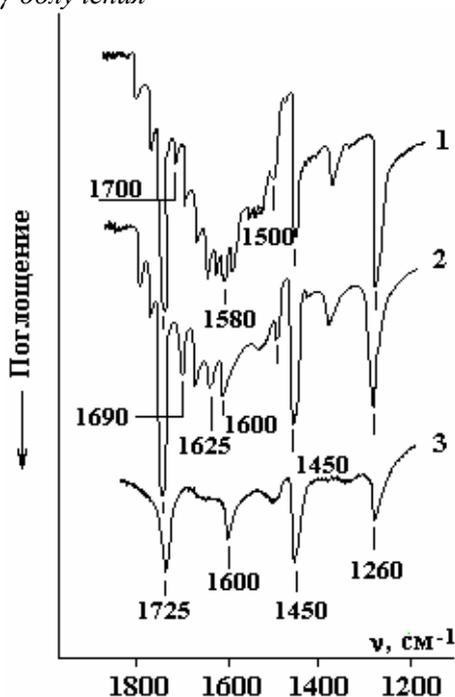


Рис.4. ИК-спектры поглощения гармалы: исходной (1) и γ -облученной при $D_\gamma=10$ (2) и 50 кГр(3)

Таким образом, РТЛ и ИК-исследования показали, что в области сравнительно малых доз ($0,5 < D_\gamma \leq 25$ кГр) не происходят существенные структурные изменения и ее можно использовать для проведения радиационной стерилизации *Reganum harmala*.

Для определения оптимальных дозовых границ области радиационной стерилизации спектры зеркального отражения исходных и γ -облученных листьев *Reganum harmala* измеряли в видимой области ($\lambda \sim 400\text{--}950$ нм). Зависимости изменений оптических плотностей трех выбранных длин волн ($\lambda=500, 750$ и 830 нм) от дозы γ -облучения приведены на рис. 5. Как видно из рисунка, после определенного значения дозы при $D_\gamma \geq 2,5$ кГр наблюдается увеличение значений оптических плотностей для трех λ , что обусловлено ростом отражательной способности поверхности листьев гармалы вследст-

вие радиационной очистки ее от загрязнений, обусловленных микроорганизмами [24]. При значениях дозы γ -облучения $D_\gamma \geq 7,5$ кГр наступает область насыщения. Нижней и верхней границами радиационной стерилизации выбрали значения доз, соответствующие началу и концу линейной области, то есть 2,5 и 7,5 кГр.

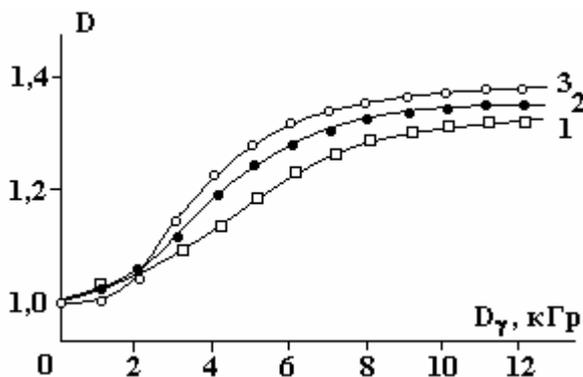


Рис.5. Дозовые зависимости оптических плотностей длин волн $\lambda=500(1)$, $750(2)$ и 830 нм (3) по спектрам зеркального отражения листьев гармалы

Заключение

Используя кинетические особенности пика РТЛ при 175 К с энергией активации $E_a=0,07-0,1$ эВ и изменений ИК-спектров в аналитической области поглощения алкалоидов ($\nu=2000-1000$ см^{-1}) в зависимости от дозы γ -облучения ($D_\gamma=0,5-50$ кГр), установили, что в области сравнительно малых доз ($0,5 < D_\gamma \leq 25$ кГр) не происходят существенные структурные изменения в *Peganum harmala*, а в области $25 < D_\gamma \leq 50$ кГр наблюдаются сильные структурные изменения, вплоть до частичного разложения алкалоидов. Показана возможность использования области сравнительно малых доз ($0,5 < D_\gamma \leq 25$ кГр) для радиационной стерилизации. По дозовой зависимости изменений коэффициента зеркального отражения листьев *Peganum harmala* в видимой области спектра ($\lambda=400-900$ нм) определены ее нижняя и верхняя границы.

Авторы выражают благодарность Ф.М. Махмудзаде за оказанную помощь при проведении экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дамиров И.А., Применко Л.Н., Шукюров Д.З., Керимов Ю.Б. Лекарственные растения Азербайджана. Баку: Маариф. 1983, 319 с.
2. Преображанский В. Все о лекарственных растениях ПКФ «БАО». Донецк, 2001, 592 с.
3. Mc.Kenna A.J., Towers A.J.T. UV-mediated cytotoxicity of beta-carbolines alkaloids // *Phytochemistry*, 1981, 20, p.1001–1004.
4. Perez J.M. Martin, Labrador V., Fernandez Freire P. et al. Ultrastructural changes induced in Hella cells after phototoxic treatment with harmine // *Journal of Applied Toxicology*, 2004, v.24(3), p.197–201.
5. Sobhani A.M., Ebrahimi S.A., Mahmoudian M. Ana vitro evaluation of human DNA topoisomase I inhibition by *Peganum harmala* L. seeds extract and its beta carboline alkaloids // *J.Pharm.Sci.* 2002, v.5(1), p.19–23.
6. Faskhutdinov M.F., Telezhenetskaya M.V., Levkovich M.G. and Abdullayev N.D. Alkaloids of *Peganum harmala* // *Chemistry of Natural Compounds*, 2000, v.36, N 6, p. 602–605.
7. Корецкая Н.И. Алкалоиды *Peganum harmala* L. // *Журнал органической химии*, 1957, 27, с. 3361–3364.
8. Harsh Pal Bais, Sang-Wook Park, Frank R.Stermits et al. Exudation of fluorescent β -carbolines from *Oxalis tuberosa* L. roots // *Phytochemistry*, v.61, 2002, p.539–543.
9. Юнусов С.Ю. Алкалоиды. Справочник. Ташкент: Фан, 1974. С.168–180.
10. Chuen-Chao Shi, Jyh-Fei Liao, Chieh-Fu Chen. Spasmolytic effects of three Harmala alkaloids on Guinea-Pig isolated Trachea // *Pharmacology and Toxicology*, 2001, v.89, p.259.
11. Патент А20040259 А61К35/78 Азерб. Способ низкотемпературной сверхвысокочастотной обработки гармалы / Н.Н. Гаджиева, С.А. Фараджев, А.М. Магеррамов, Э.Р. Гамидов, Э.С. Джафаров. Оpubл. 13.12.2004 Бюл. №1.

12. *Фараджев С.А., Магеррамов А.М., Гаджиева Н.Н., Джафаров Э.С.* Радиотермолюминесценция СВЧ-обработанной гармалы *Peganum harmala* Апшерона / Тез.докладов 4-й Баховской конференции по радиационной химии, Москва, 1-3 июня 2005, с.124.
13. *Фараджев С.А., Гаджиева Н.Н., Магеррамов А.М., Джафаров Э.С.* Низкотемпературная СВЧ-обработка гармалы Апшерона типа *Peganum harmala* / Abstracts of the third International Conference "Ecological Chemistry 2005" 20-21 may 2005, Chisinau, Republic of Moldova, p.435–436.
14. *Faradjov S.A., Magerramov A.M., Gadzhieva N.N., Djafarov E.S.* Ecotechnologic method of action of low-temperature SHF treatment on structure and taste quality of Apsheron harmala type *Peganum harmala* / Proceed.of the 8th Baku International Congress "Energy, ecology, economy" in association UNESCO&Urmia University/Iran, Baku, 1-3 june 2005, p.184–187.
15. *Гаджиева Н.Н., Магеррамов А.М., Фараджев С.А., Эюбова Н.А.* Особенности горения гармалы *Peganum harmala* // Журнал «Знание», Просвещение Азербайджанского общества, серия химия, биология, медицина, 2004, №6(22), с.48–55.
16. *Гаджиева Н.Н., Самедов Э.А., Абдуллаева Х.И.* Изучение адсорбции и радиолитиза метана на поверхности BeO методом ИК-спектроскопии // Журнал прикл.спект., 1995, т.62, №6, с.44–48.
17. *Розенберг Г.В., Сахновский М.Ю., Гуминевский С.Г.* О методах абсорбционной спектроскопии плоских образцов слабо поглощающих светорассеивающих веществ // Оптика и спектроскопия. 1967. Т.23. В.5. С.797–806.
18. *Кулешев В.И., Никольский В.Г.* Радиотермолюминесценция полимеров. М.: Наука, 1991. 223 с.
19. *Allen I.R.F., Holmstedt B.R.* The simple beta-carboline alkaloids. // *Phytochem.*, 1980, 19, p.573–582.
20. Ghada Mandi Juma'a. *Peganum harmala* Production // *European Journal of Scientific Research*, 2005, v.11, N1, p.6-12.
21. *Vigar Uddin Ahmad.* Application of spectroscopic methods in the structure elucidation of new natural products in studies in natural products chemistry, v.5. Structure elucidation (Part-B) (Ed.Atta-ur-Rahman), Elsevier Science Publisher, Amsderdam (1989), p.197.
22. *Atta-ur-Rahman and Vigar Uddin Ahmad.* 13C-NMR of natural products, Plenum Publishing Corporation, USA, 1992, v.1,2, p.210.
23. *Vigar Uddin Ahmad and Atta-ur-Rahman.* Handbook of natural products data. Elseiver Science Publisher, Amsterdam, 1994, v.2, p.164.
24. Presentations "The industrial applications of irradiation technology". Supported by International Atomic Energy Agency (IAEA), 2-3 june 2003, Baku, Azerbaijan, p. 23–32.

Поступила 19.01.07

Summary

The structure changes of *Peganum harmala* connected by the γ -irradiation influence have been studied by means radiothermoluminescence (RTL) and IR-spectroscopy methods. It is established that at a small dose $0.5 < D_{\gamma} \leq 25$ kGr region the structure changes of alkaloids d' not takes place, but at dose $25 < D_{\gamma} \leq 50$ kGr region – particular decay. The possibility to applied a small dose region for radiation sterilization of *Peganum harmala* have been shown. The dose bounders of the radiation sterilization have been determined.
