

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КУМАРИНОВ БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО

Статкевич В.С., студ. 5 курса, slawenizm@gmail.com

Руководитель: Лукашов Р.И., заведующий кафедрой фармацевтической химии,
кандидат фармацевтических наук, доцент
Белорусский государственный медицинский университет
220116, Минск, пр-т Дзержинского 83, Республика Беларусь

Введение:

Растения рода борщевик широко распространены в странах Европы и СНГ, в том числе и на территории Республики Беларусь. Борщевик Сосновского, обладая способностями к быстрому росту, формированию большой фитомассы, устойчивостью к фитоболезням и вредителям, крайне высокой семенной продуктивностью, активно выращивался в 70-ых годах прошлого века на территории бывшего СССР в качестве кормово-силостного растения. Впоследствии из-за выявленных токсических эффектов на крупный рогатый скот от его использования как корма решено отказаться. Однако благодаря неприхотливости и устойчивости к неблагоприятным погодным условиям, борщевик Сосновского стал трудноискоренимым сорным растением, представляющим опасность не только для природных экосистем и животных, но и для человека.

Борщевик Сосновского, способен накапливать вещества кумариновой природы. Именно они вызывают контактный дерматит, представляющий собой острую фототоксическую реакцию, вызванную совместным воздействием кумаринов и ультрафиолетовым излучением [1].

Вместе с тем, согласно многочисленным исследованиям известно, что эти вещества обладают широким спектром фармакологических эффектов. Производные кумарина и фуранокумарина проявляют противоопухолевую [2, 3] и антиоксидантную активность [4], что позволяет применять их для лечения различных заболеваний [5] и, в конечном итоге, разработки новых лекарственных форм.

Цель работы:

Провести качественный и количественный анализ фуранокумаринов в различных частях борщевика Сосновского методом ВЭЖХ.

Для достижения поставленной цели планируется решить следующие задачи:

- 1) Провести качественный анализ водно-спиртовых экстрактов различных частей борщевика Сосновского методом ВЭЖХ при сопоставлении со стандартами кумаринов;
- 2) Провести количественный анализ водно-спиртовых экстрактов различных частей борщевика Сосновского методом ВЭЖХ;
- 3) Определить часть растения с наибольшим содержанием

фуранокумаринов.

Материалы и методы:

Объектами исследования являются различные органы борщевика Сосновского (трава, соцветия-зонтики, корни). Растительное сырьё было заготовлено в местах естественного произрастания в Минском районе летом 2022 г. в период цветения. Образцы заготовлены в соответствии с требованиями безопасности, избегая попадания сока борщевика на открытые участки кожи и с использованием средств индивидуальной защиты. Собранное сырьё подвергнуто воздушно-теневого сушке с последующим измельчением до размеров частиц не более 1 мм. До проведения исследований высушенное сырьё хранили в бумажных пакетах в естественных условиях.

Для получения экстрактов использовали 70% этиловый спирт при соотношениях сырья и экстрагента 1:10 и 1:50. Извлечения получали на водяной бане при 60 °С в течение 2 ч с последующим охлаждением до комнатной температуры. Затем извлечения фильтровали и фильтрат использовали для анализа.

Присутствие кумаринов в водно-спиртовых экстрактах подтверждалось лактоновой пробой: к 5 мл экстракта прибавляли 5 мл 10% спиртового раствора калия гидроксида. Полученную смесь нагревали на водяной бане в течение 5 минут. Раствор желтеет из-за образования кумаринатов – продуктов раскрытия лактонного цикла. Затем по каплям добавляли 10% раствор хлористоводородной кислоты. Помутнение раствора указывало на присутствие кумаринов в экстрактах.

Анализ извлечений проводили на жидкостном хроматографе Ultimate 3000 с насосом на четыре растворителя и устройством для вакуумной дегазации элюента, автосамплером с термостатом, термостатом для колонок с краном переключения, диодно-матричным и флуоресцентным детектором. Обработку хроматограмм и спектров поглощения проводили с помощью компьютерной программы Chromeleon 7.

Условия хроматографирования:

- колонка длиной 0,25 м и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная *силикагелем октадецилсилильным для хроматографии P* с размером частиц 5 мкм;
- температура колонки: 30 °С;
- подвижная фаза: подвижная фаза А: вода P; подвижная фаза В: *ацетонитрил P*, объемное соотношение фаз изменялось согласно:

Время (мин)	Подвижная фаза А (% , об/об)	Подвижная фаза В (% , об/об)
0	55	45

0-5	55 → 45	45 → 55
5-10	45 → 40	55 → 60
10-25	40 → 30	60 → 70

- скорость подвижной фазы: 1 мл/мин;
- спектрофотометрический детектор, длина волны 250 нм;
- объем вводимой пробы: 20 мкл.

Идентификацию БАВ проводили путем сопоставления времен удерживания и спектров поглощения веществ в извлечении со стандартными образцами умбеллиферона (0,15 г/л), ксантотоксина (0,11 г/л) и бергаптена (0,1 г/л).

Количественное определение индивидуальных фуранокумаринов проводили с использованием метода внешнего стандарта.

Результаты и обсуждение:

В полученных водно-спиртовых экстрактах наличие кумаринов подтверждалось с помощью лактоновой пробы. Во всех частях борщевика обнаружены кумарины. При получении положительной реакции определяли процентное содержание кумаринов методом ВЭЖХ. Полученные данные представлены в таблицах 1–5 ниже.

Таблица 1 – Хроматографические и спектральные характеристики растворов стандартных образцов умбеллиферона, ксантотоксина и бергаптена

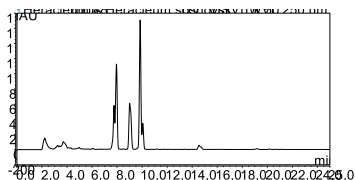
Название вещества	Концентрация, г/л	Время удержания, мин	Максимумы поглощения на спектрах			
Умбеллиферон	0,15	4,3	198		324	
Ксантотоксин	0,11	7,9	218	248	301	
Бергаптен	0,1	9,1	222	250	267	312

Таблица 2 – Хроматографические и спектральные характеристики экстрактов из корней борщевика Сосновского

Название вещества	Время удержания, мин	Максимумы поглощения на спектрах			
Экстракт корней (1:50)					
Умбеллиферон	4,2	199		324	
Ксантотоксин	8,0	214	247	301	
Бергаптен	9,1	222	250	267	312
Экстракт корней (1:10)					
Умбеллиферон	4,3	198		319	

Н					
Ксантотоксин	7,9	215	239	300	
Бергаптен	9,1	221	250	266	312

На приведенных ниже хроматограммах цифрами отмечены: 1 – умбеллиферон; 2 – ксантотоксин; 3 – бергаптен.



2

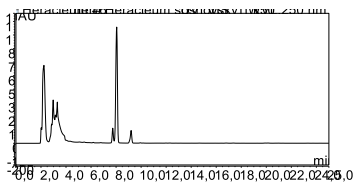
3

1

Рисунок 1 – Хроматограмма водно-спиртового извлечения из корней борщевика при соотношения сырья и экстрагента 1:50

Таблица 3 – Хроматографические и спектральные характеристики экстрактов из травы борщевика Сосновского

Название вещества	Время удержания, мин	Максимумы поглощения на спектрах			
Экстракт травы (1:50)					
Умбеллиферон	4,2	204		323	
Ксантотоксин	8,1	215	247	301	
Бергаптен	9,2	222	250	267	312
Экстракт травы (1:10)					
Умбеллиферон	4,3	196		317	
Ксантотоксин	7,9	216	240	301	
Бергаптен	9,1	222	250	267	312



2

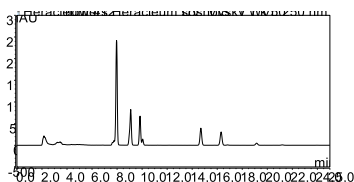
3

1

Рисунок 2 – Хроматограмма водно-спиртового извлечения из травы борщевика при соотношения сырья и экстрагента 1:50

Таблица 4 – Хроматографические и спектральные характеристики экстрактов из соцветий борщевика Сосновского

Название вещества	Время удержания, мин	Максимумы поглощения на спектрах			
Экстракт соцветий (1:50)					
Умбеллиферон	4,4	202		324	
Ксантотоксин	8	214	244	300	
Бергаптен	9,1	222	250	266	312
Экстракт соцветий (1:10)					
Умбеллиферон	4,4	202		324	
Ксантотоксин	8	216	236	300	
Бергаптен	9,1	218	249	264	310



2

3

1

Рисунок 3 – Хроматограмма водно-спиртового извлечения из соцветий борщевика при соотношения сырья и экстрагента 1:50

Из рисунков 1–3 и таблиц 2–4 видно, что во всех экстрактах из травы, соцветий и корней борщевика обнаружены умбеллиферон, ксантотоксин и бергаптен. При этом в извлечениях с соотношением сырья и экстрагента равными 1:50 хроматографические пики умбеллиферона, отмеченные цифрой 1, однозначно определяются только при приближении. Присутствие данных веществ ранее также было установлено в статье [6].

После обработки полученных данных рассчитаны средние концентрации и средние массовые доли веществ, в пересчете на сухое сырье (рисунки 4 и 5 соответственно).

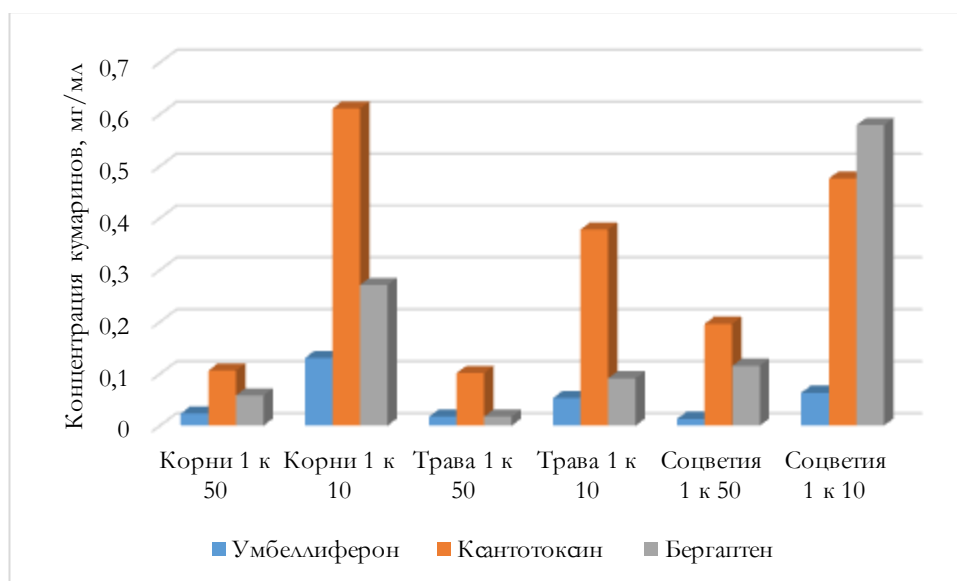


Рисунок 4 – Концентрации фуранокумаринов в экстрактах борщевика Сосновского из разных частей растения при разных соотношениях сырья и экстрагента

Полученные данные на рисунке 4 показывают, что наибольшая концентрация умбеллиферона приходится на корни; бергаптена – на соцветия; ксантотоксина при соотношении сырья и экстрагента 1:10 – на корни, при соотношении 1:50 – на соцветия.

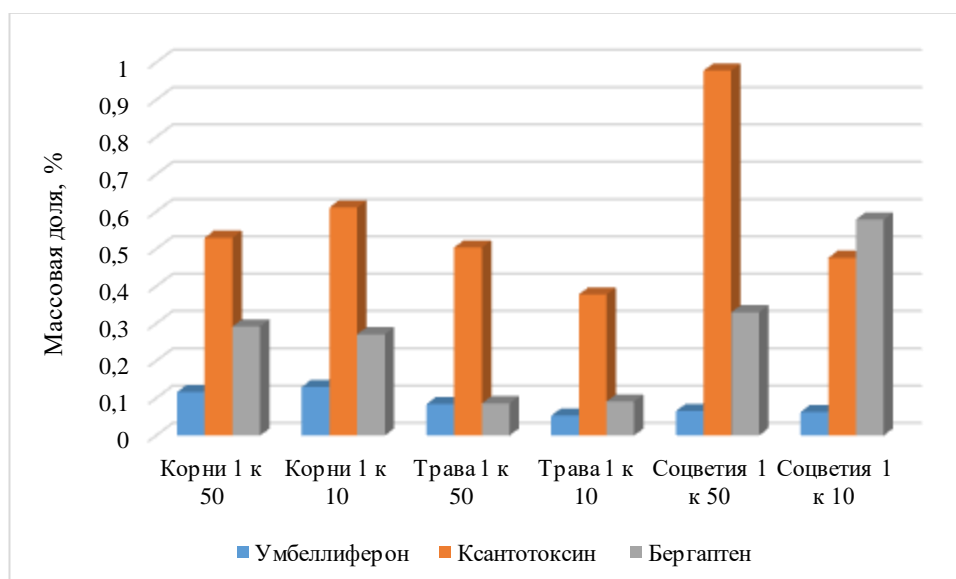


Рисунок 5 – Массовая доля фуранокумаринов в пересчете на сухое сырье в различных органах борщевика Сосновского при разных соотношениях сырья и экстрагента

Полученные данные на рисунке 5 показывают, что наибольшая массовая доля умбеллиферона приходится на корни, бергаптена – на соцветия, ксантотоксина – при соотношении сырья и экстрагента 1:10 на корни, при соотношении 1:50 – на соцветия.

Таким образом, наибольшее содержание фуранокумаринов приходится на корни и соцветия.

Полученные результаты сопоставимы с данными работы [6], где состав растения исследовали методом спектрофотометрии и показали, что наименьшее содержание кумаринов определено в траве, а наибольшее – в соцветиях. Корни в данной работе не изучались.

Выводы:

В ходе работы во всех исследуемых частях борщевика (корни, трава, соцветия-зонтики) обнаружены умбеллиферон, ксантотоксин и бергаптен.

Наибольшая концентрация и массовая доля умбеллиферона отмечаются в корнях, ксантотоксина – в корнях и соцветиях, бергаптена – в соцветиях. Выявлено, что трава содержит наименьшее количество кумаринов по сравнению с корнями и соцветиями-зонтиками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kasperkiewicz, K. Sunscreening and photosensitizing properties of coumarins and their derivatives / K. Kasperkiewicz, A. Erkiert-Polguj, E. Budzisz // Lett. Drug Design Discovery. – 2016. – Vol. 13, N 5. – P. 465–474.

https://doi.org/10.2174/15701_80812666150901222106

2. Emami, S. Current developments of coumarin-based anti-cancer agents in medicinal chemistry / S. Emami, S. Dadashpour // *Eur. J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 102. – P. 611–630. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.08.033>

3. Recent developments of C-4 substituted coumarin derivatives as anticancer agents / J. Dandriyal [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 119. – P. 141–168. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.087>

4. Antioxidant activity of coumarins / Y. Al-Majedy [et al.] // *System. Rev. Pharm.* – 2017. – Vol. 8, N 1. – P. 24–30. <https://doi.org/10.5530/srp.2017.1.6>

5. Recent developments of coumarin-containing derivatives and their anti-tubercular activity / Y. Q. Hu [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 136. – P. 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.s004>

6. Andreeva L. V. Content of Coumarins in Various Organs of Sosnovsky's Hogweed (*Heracleum Sosnowski Mandena*) // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* – 2021 [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/852/1/012007>. – Дата доступа : 08.01.2023. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/852/1/012006>