

Качественный и количественный анализ основных производных псоралена сока борщевика Сосновского

В.П. Агеев¹, В.И. Шляпкина¹, О.А. Куликов¹, А.В. Заборовский², Л.А. Тарарина²

¹ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»,

Российская Федерация, 430005, Саранск, ул. Большевистская, 68

²ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет

им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

127473, Москва, ул. Десятская, д. 20, стр. 1

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Агеев Валентин Павлович – младший научный сотрудник лаборатории фармакокинетики и таргетной фармакотерапии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева». Тел.: +7 (927) 978-89-51. E-mail: valeageev@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-5152-5358

Шляпкина Василиса Игоревна – аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева». Тел.: +7 (929) 745-01-58. E-mail: shlyapkina.98@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5248-0136

Куликов Олег Александрович – доктор медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии с курсом фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева». Тел.: +7 (962) 596-06-13. E-mail: oleg-kulikov-84@mail.ru. ORCID: 0000-0003-4411-677X

Заборовский Андрей Владимирович – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Тел.: +7 (916) 989-75-43. E-mail: azabor@mail.ru. ORCID: 0000-0022-7923-9916

Тарарина Лариса Анатольевна – старший преподаватель кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Тел.: +7 (910) 490-65-28. E-mail: 79104906528@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8006-698X

РЕЗЮМЕ

Введение. Борщевик Сосновского (БС) (*Heracleum sosnowskyi* M.) является опасным сорняком и обладает выраженным фотосенсибилизирующим действием, обусловленным наличием во всех частях растения фуранокумаринов. Из-за большой биомассы, быстрого роста и неприхотливости к природным условиям он перспективен в качестве лекарственного растительного сырья, пригодного для производства фотосенсибилизаторов для PUVA-терапии.

Цель исследования – провести качественное и количественное определение производных псоралена в соке БС.

Материалы и методы. Для исследования использовали дикорастущие образцы сырья. Сырье БС заготавливали в период цветения растения. Для исследования содержания фуранокумаринов БС использовали сок, полученный из надземной части растения. Сок подвергали экстракции с помощью хлороформа. Очистку и разделение экстракта производили с помощью градиентной колоночной хроматографии. Фракции экстракта подвергали качественному и количественному анализу с помощью тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии, ядерной магнитно-резонансной (ЯМР) спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты. В ходе колоночной хроматографии экстракта сока БС получены 6 основных фракций и наиболее богатая фуранокумаринами фракция экстракта. По данным тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии и ЯМР-спектроскопии основными фуранокумаринами сока БС являются производные псоралена. По данным ВЭЖХ содержание 8-метоксипсоралена в соке БС составило 1,332 г/л, а 5-метоксипсоралена – 0,034 г/л.

Заключение. Сырье БС может являться источником фуранокумаринов для нужд фармации, а представленные в исследовании методы анализа лечь в основу его стандартизации. БС став дикорастущим источником лекарственного сырья может подвергаться регулярной заготовке, что может сократить площадь его распространения.

Ключевые слова: борщевик Сосновского, *Heracleum sosnowskyi* M., производные псоралена, спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, экстракция, ядерная магнитно-резонансная спектроскопия.

Для цитирования: Агеев В.П., Шляпкина В.И., Куликов О.А., Заборовский А.В., Тарарина Л.А. Качественный и количественный анализ основных производных псоралена сока борщевика Сосновского. Фармация, 2022; 71 (3): 10–17. <https://doi.org/10.29296/25419218-2022-03-02>

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF THE MAIN PSORALEN DERIVATIVES IN THE JUICE OF SOSNOWSKY'S HOGWEED

V.P. Ageev¹, V.I. Shlyapkina¹, O.A. Kulikov¹, A.V. Zaborovskiy², L.A. Tararina²¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «National Research Ogarev Mordovia State University», st. Bolshevik, 68, Saransk, 430005, Russian Federation;²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Delegatskaya, 20, p. 1, Moscow, 127473, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ageev Valentin Pavlovich – junior researcher, laboratory of pharmacokinetics and targeted pharmacotherapy of the federal state budgetary educational institution of higher education "National research Ogarev Mordovia State University". Tel.: +7 (927) 978-89-51. E-mail: valeageev@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-5152-5358

Shlyapkina Vasilisa Igorevna – PhD student of the department of pharmacology and clinical pharmacology with the course of pharmaceutical technology of the federal state budgetary educational institution of higher education "National research Ogarev Mordovia State University". Tel.: +7 (929) 745-01-58. E-mail: shlyapkina.98@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5248-0136

Kulikov Oleg Aleksandrovich – Doctor of Medicine, associate professor of the department of pharmacology and clinical pharmacology with the course of pharmaceutical technology of the federal state budgetary educational institution of higher education "National research Ogarev Mordovia State University". Tel.: +7 (962) 596-06-13. E-mail: oleg-kulikov-84@mail.ru. ORCID: 0000-0003-4411-677X

Zaborovskiy Andrey Vladimirovich – Doctor of Medicine, associate professor, Head of the department of pharmacology of "Federal state budget institution of higher education "A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry" The Ministry of Health care of the Russian Federation". Tel.: +7 (916) 989-75-43. E-mail: azabor@mail.ru. ORCID: 0000-0022-7923-9916

Tararina Larisa Anatol'evna – senior lecturer of department of pharmacology of "Federal state budget institution of higher education "A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry" The Ministry of Health care of the Russian Federation". Tel.: +7 (910) 490-65-28. E-mail: 779104906528@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8006-698X

SUMMARY

Introduction. Sosnovsky's hogweed is a dangerous weed and has a pronounced photosensitizing effect. The photosensitizing effect of hogweed is conditioned to the presence of furanocoumarins in all parts of the plant. Due to its large biomass, fast growth rate, and unpretentiousness to natural conditions, it is promising as a medicinal plant material suitable for the production of photosensitizers for PUVA therapy.

Objective: to conduct a qualitative and quantitative determination of psoralen derivatives in the juice of Sosnovsky's hogweed.

Material and methods. For the study, wild-growing samples of raw materials were used. Raw materials of Sosnovsky's hogweed were harvested during the flowering period of the plant. To study the content of furanocoumarins in hogweed Sosnovski, juice obtained from the aerial part of the plant was used. The juice was subjected to extraction with chloroform. Purification and separation of the extract were carried out using gradient column chromatography. The extract fractions were subjected to qualitative and quantitative analysis using thin layer chromatography, spectrophotometry, NMR spectroscopy and HPLC.

Results. 6 main fractions were obtained during column chromatography of Sosnovsky's hogweed juice extract. The fraction of the extract richest in furanocoumarins was obtained. According to thin-layer chromatography, spectrophotometry and NMR-spectroscopy, the main furanocoumarins of Sosnovsky's hogweed juice are psoralen derivatives. According to HPLC data, the content of 8-methoxypsoralen in the juice of Sosnovsky's hogweed was 1.332 g/l, and 5-methoxypsoralen was 0.034 g/l.

Conclusion. Raw materials of Sosnovsky's hogweed can be a source of furanocoumarins for the needs of pharmacy, and the methods of analysis presented in the study can form the basis of its standardization. The Sosnovsky's hogweed, having become a wild-growing source of medicinal raw materials, can be subjected to regular harvesting, which can reduce the area of its distribution.

Key words: Sosnovsky's hogweed, *Heracleum sosnowskyi* M., psoralen derivatives, spectrophotometry, thin layer chromatography, HPLC, extraction, NMR spectroscopy.

For reference: Ageev V.P., Shlyapkina V.I., Kulikov O.A., Tararina L.A., Zaborovskiy A.V. Qualitative and quantitative analysis of the main psoralen derivatives in the juice of Sosnovsky's hogweed. *Farmatsiya*, 2022; 71 (3): 10–17. <https://doi.org/10/29296/25419218-2022-03-02>

Введение

Борщевик Сосновского (БС) (*Heracleum sosnowskyi* Manden.), как и другие виды гигантских борщевиков *Heracleum mantegazzianum* Somm. et Lev. и *Heracleum persicum* Desf. ex Fisch. признаны в ряде регионов земли опасными фитоинвазиями и повсеместно истребляются. Преимущественно в России и Восточной Европе БС известен как опасный интрадукцент с фототоксическими свойствами [1, 2]. Сырье БС весьма пер-

спективно как источник биологически активных веществ – фуранокумаринов, обладающих фотосенсибилизирующими свойствами.

В настоящий момент в клинической практике исследуются и применяются различные фотосенсибилизаторы из природных источников. Этому могут служить следующие примеры.

Бразильский зеленый прополис (производящее растение – *Vaccharis bracteata* Hook. & Arn.) используется как источник протопорфирина IX

[3], однако экстракт данного прополиса требует очистки от сопутствующих веществ и дополнительного химического синтеза с целью получения активных производных. Для получения фотосенсибилизатора нет достаточного возобновления сырья, так как прополис – это продукт жизнедеятельности медоносной пчелы.

Другим примером разработки природного фотосенсибилизирующего средства может быть алкалоид берберин из различных растительных видов сырья (*Coptis chinensis* Franch., *Berberis aristata* DC., *Phellodendron amurense* Rupr.). Выделенный экстракт требует выделения чистой субстанции берберина и создания полусинтетических дериватов, потому что в нативном виде не обладает выраженными фотосенсибилизирующими свойствами [4]. Для заготовки берберина требуется заготовка большого количества биомассы ввиду низкого содержания в растительном сырье.

Имеются также производные гиперидина и гелиантрона с противоопухолевым потенциалом фотосенсибилизаторов [5]. Однако получение их из сырья возможно в малом количестве и с дополнительным синтезом производных гелиантрона, которые обладают цитотоксичностью при облучении светом (длина волны – 200–500 нм).

Из существующих видов сырья как источников фуранокумаринов можно выделить плоды Амми большой (*Ammi majus* L.), плоды которой содержат около 2% фуранокумаринов и дают выраженный фотосенсибилизирующий эффект. Препараты амми используются как средство для PUVA-терапии [6]. Но растение уступает БС по содержанию фуранокумаринов, которые из-за преимущественной локализации в семенах растения смешаны с большим количеством гидрофобных сопутствующих веществ. Амми большую в диком виде можно встретить только в условиях теплого климата [7], в других регионах она требует культивирования.

Фуранокумарины имеют разную степень токсичности в зависимости от линейной или угловатой формы молекулы (производные псоралена и ангелицина соответственно). Показано, что линейные фуранокумарины псораленового типа, такие как ксантотоксин и бергаптен, проявляют более сильные фотосенсибилизирующие эффекты в отличие от угловатых форм ангелицинового типа, фототоксический эффект которых слабее [8].

Химический состав БС изучен крайне мало по сравнению с хорошо исследованными гигантскими борщевиками. По немногочисленным

данным в химическом составе БС преобладают фуранокумарины преимущественно псораленового типа [9] и в меньшей степени производные ангелицина.

Таким образом, богатый фуранокумаринами БС может стать доступным сырьем для фармацевтической промышленности. Для этого необходима стандартизация сырья путем разработки качественного и количественного анализа.

Материал и методы

Реактивы

При проведении исследования использовались следующие реактивы:

- химически чистый (х.ч.) хлороформ стабилизированный («Химмед», Россия);
- х.ч. натрия хлорид (ООО «Экономкэмикал», Россия);
- бензол («ЭКОС-1», Россия);
- х.ч. метанол стабилизированный («Химмед», Россия);
- х.ч. этилацетат («Химмед», Россия);
- вода очищенная деионизированная (ЭКОС-1, Россия);
- х.ч. натрия гидроокись (ЭКОС-1, Россия);
- чистый для анализа (ЧДА) кальций хлористый безводный («Компонент-Реактив», Россия);
- ЧДА натрий серноокислый безводный («Компонент-Реактив», Россия);
- ФС 42-2619-98;
- 0,9% раствор для инфузий натрия хлорида («Биохимик», Россия);
- силикагель-60 0,04–0,063 мм (230–400 меш, Macherey-Nagel GmbH & Co. Kg, Германия), 5-MOP (Sigma-Aldrich, США);
- 8-MOP (Sigma-Aldrich, США).

Заготовка и идентификация растительного сырья

Макроскопический анализ БС осуществляли согласно работам К. Tkachenko [10] и С. Nielsen и соавт. [1, 2].

Сбор БС производили на территории городского округа Саранск (Республика Мордовия, 54° 11' N 45° 12' E). Сбор производили в начале июля в фазу цветения растения в данном регионе. Растение собирали утром, в облачную погоду. Заготавливали сочные части стеблей, листья и черешки. Из свежего сырья в течение 1 ч после сбора отжимали сок с помощью роторной соковыжималки под вытяжной вентиляцией. Для длительного хранения полученный сок замораживали в мо-

розильной камере при температуре -22°C . Все манипуляции с растением производили в средствах индивидуальной защиты, полностью закрывающих кожу, в респираторе и защитных очках.

Пробоподготовка

Сок БС подвергали экстракции с целью выделения фуранокумаринов. Для извлечения фуранокумаринов использовали хлороформ [8], который брали в соотношении 4 части на 1 часть сока. Экстракцию проводили двукратно при постоянном перемешивании на магнитной мешалке (С-MAG HS 7, ИКА Германия) в течение 24 ч и температуре 25°C . Органическую фазу с фуранокумарином отделяли на делительной воронке и высушивали под вакуумом на роторном испарителе (Heidolph Laborota eso, Германия) при температуре 50°C . Сухой остаток смывали 300 мл 10% NaOH при нагревании на водяной бане до $60\text{--}70^{\circ}\text{C}$, после чего извлекали фуранокумарины на делительной воронке 4 порциями хлороформа по 100 мл. Хлороформные экстракты объединяли, добавляли 200 мл 5% раствора карбоната натрия и взбалтывали в течение 10 мин, после чего вновь отделяли органическую фазу с помощью делительной воронки и высушивали безводным сульфатом натрия в течение 24 ч. Полученный экстракт отфильтровывали через беззольный фильтр и высушивали до постоянной массы.

Колоночная хроматография

Для фракционирования экстракта использовали колоночную хроматографию [11]. Полученный сухой экстракт БС растворяли в 10–15 мл хлороформа, смешали с 4 г силикагеля с размером порядка 400 mesh и высушили на роторном испарителе. Полученную смесь помещали в хроматографическую колонку с краном ($d \times L = 10 \times 200$ мм), ISOLAB, (Германия), заполненную 40 г силикагеля, длиной 500 мм и диаметром 20 мм снабженную фриттой с размером пор 100 мкм. Для разделения на фракции экстракта БС выбран метод градиентной хроматографии. Состав элюента менялся от липофильного к гидрофильному следующим образом – бензол: бензол/этилацетат 3/1: бензол/этилацетат 1/1: бензол/этилацетат 1/3: этилацетат: метанол. На каждом этапе вводилось по 80 мл элюента, который собирался в пробирки объемом 10 мл. Все полученные экстракты были профильтрованы через беззольный фильтр высушивались до постоянной массы. Высушенные фракции были перерастворены в 5 мл ацетонитрила, отфильтрованы и доведены ацетонитри-

лом до объема 10 мл. Полученные растворы использовались для дальнейшего анализа.

Тонкослойная хроматография

Для определения момента выхода фуранокумаринов из колонки в процессе колончатой хроматографии пользовались методом тонкослойной хроматографии на алюминиевых пластинах, покрытых силикагелем Sorbfil (ИМИД, Россия). В качестве подвижной фазы использовали раствор ацетонитрила в хлороформе (5:95). В качестве контрольных образцов использовали аналитические стандарты 5-метоксипсоралена (5-МОП) и 8-метоксипсоралена (8-МОП). Визуализацию хроматограмм производили с помощью облучателя хроматографического УФС 254/365 при длине волны 365 нм [6].

Спектрофотометрия

Анализ проводили на спектрофотометре UV-2600 (Shimadzu Inc., Япония). Были прописаны спектры поглощения для всех фракций, полученных при колончатой хроматографии в диапазоне от 200 до 700 нм. Для этого полученные после сушки и растворенные в 10 мл ацетонитрила фракции дополнительно разбавили растворителем в соотношении 1:99 (для Ф-2.2 в соотношении 1:999). В качестве раствора сравнения использовали ацетонитрил. Также были сняты спектры поглощения у аналитических стандартов 5-МОП и 8-МОП в ацетонитриле в концентрации 150 и 5 мг/л соответственно.

Высокоэффективный жидкостный хроматографический анализ

Анализ производили в изократическом режиме с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа (ВЭЖХ) (Gilson, Франция), состоящего из насоса высокого давления (Pump 306); модуля давления (Rainin Pressure Module); спектрофотометрического детектора (155 UV/VIS Detectors Gilson). В качестве подвижной фазы использовали смесь воды и ацетонитрила в соотношении 1:1. Скорость потока поддерживалась 0,8 мл/мин. Хроматографическая колонка Kromasil C18: 4,5 мм \times 5 мкм \times 250 мм. Детектирование проводили на длине волны 250 нм [12] с использованием программы «Миллихром» (Россия). Хроматографии подвергали стандартные растворы 5-МОП и 8-МОП, а также все полученные при колоночной хроматографии фракции экстракта БС. Образцы перед хроматографированием растворяли в ацетонитриле.

Ядерная магнитно-резонансная спектроскопия

Ядерные магнитно-резонансные (ЯМР) спектры ¹H и ¹³C регистрировали на спектрометре Jeol JNM EСХ-400 (Япония) при комнатной температуре. В качестве растворителя использовали дейтерохлороформ. Корректировку шкалы химических сдвигов проводили в соответствии с работой G.R. Fulmer [13]. Отталкиваясь от данных предыдущих анализов, спектр ЯМР снимали у фракции экстракта БС №2.2. Навеску 50 мг сухого экстракта растворяли в 0,6 мл дейтерохлороформа.

Условия регистрации спектров ¹H и ¹³C:

- температура – 22°C;
- диапазон δ – 0–16 миллионных долей (м.д.) (¹H) и 0–250 м.д. (¹³C) с использованием стандартной импульсной последовательности для каждого эксперимента.

В качестве реперных точек использованы сигналы остаточных протонов дейтерохлороформа (7,26 м.д. – для ¹H шкалы) и ядер ¹³C того же растворителя (77,16 м.д. – для шкалы ¹³C).

Результаты

При колоночной хроматографии суммарный объем элюента составил 520 мл. Выделены 6 основных фракций экстракта: Ф-1, Ф-2.1, Ф-2.2, Ф-2.3, Ф-3, Ф-4. Объем Ф-1 составил 80 мл, Ф-2.1 – 50 мл, Ф-2.2 – 30 мл, Ф-2.3 – 140 мл, Ф-3 – 100 мл, Ф-4 – 120 мл.

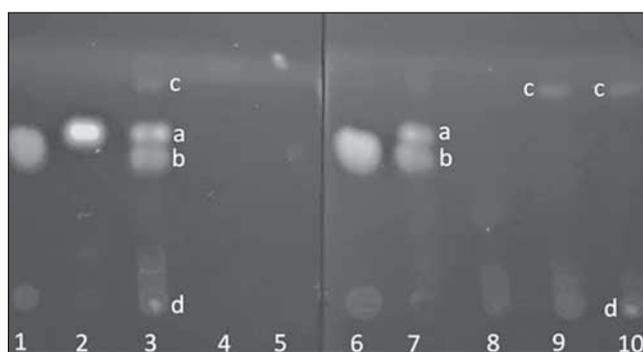


Рис. 1. Тонкослойная хроматография на пластинах силикагеля Sorbfil (детектирование при длине волны 360 нм)

Примечание. Подвижная фаза – ацетонитрил : хлороформ (5:95; об. / об.). 1, 6 – 8-МОП, 2 – 5-МОП, 3 – экстракт сока борщевика Сосновского; 4 – Ф-1; 5 – Ф-2.1; 7 – Ф-2.2; 8 – Ф-2.3; 9 – Ф-3; 10 – Ф-4.

Fig. 1. Thin layer chromatography on Sorbfil silica gel plates (detection at 360 nm)

Note. The mobile phase – acetonitrile : chloroform (5:95; v/v). 1, 6 – 8-MOP, 2 – 5-MOP, 3 – Sosnovsky's hogweed juice extract; 4 – F-1; 5 – F-2.1; 7 – F-2.2; 8 – F-2.3; 9 – F-3; 10 – F-4.

Первоначально все полученные фракции контролировали с помощью тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии. На рис. 1 мы видим, что фракция экстракта Ф-2.2 разделилась на 2 вещества – 7а и 7б, которые соответствуют 5-МОП и 8-МОП соответственно.

Вещества 3d и 10d предположительно являются хлорофиллом или его производным [13]. Помимо фуранокумаринов, БС может содержать гидроксикумарины и метоксикумарины, характерные для зонтичных растений, которые имеют синюю или сине-фиолетовую флуоресценцию при воздействии УФ-излучения 365 нм (3с, 9с, 10с) [14].

На рис. 2 изображены UV/Vis-спектры фракций экстракта БС, а также спектры аналитических стандартов 5-МОП, 8-МОП растворенных в ацетонитриле. Каждая фракция имела разведение в 100 раз, но для спектрофотометрии Ф-2.2 понадобилось разведение в 10 000 раз из-за высокой концентрации составляющих. Для 5-МОП максимумы абсорбции находились в 219; 248; 266; 311 нм. Для 8-МОП – 217; 247; 300 нм, для Ф-2.2 – 211; 246; 295 нм. Видно, что фракции 2.2 и 2.3 и стандартные фуранокумарины активно поглощают в схожей УФ-области. Это согласуется с данными о том, что большинство производных псоралена имеют сильные полосы поглощения в диапазоне 200–350 нм.

На рис. 3 изображены хроматограммы стандартных растворов 5-МОП и 8-МОП и полученных

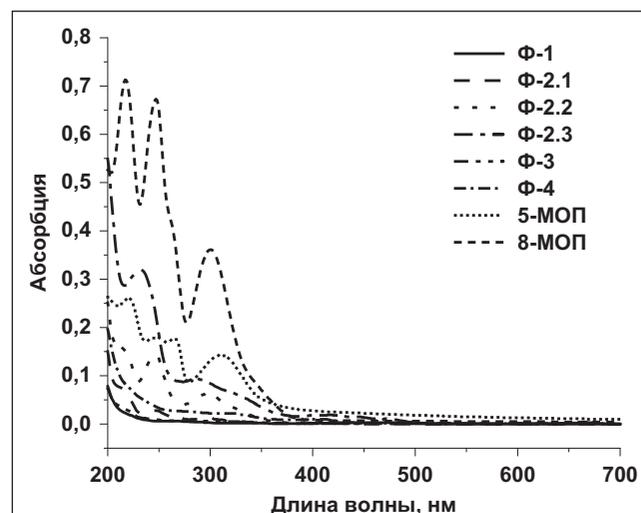


Рис. 2. Спектры поглощения в UV/Vis диапазонах экстракционных фракций борщевика Сосновского и 5-МОП, 8-МОП. Спектр образцов снят в ацетонитриле

Fig. 2. Absorption spectra in the UV/Vis ranges of extraction fractions of Sosnovsky's hogweed and 5-MOP, 8-MOP.

The spectrum of samples was taken in acetonitrile

при колончатой хроматографии фракций экстракта БС. Время удержания для 5-МОП и 8-МОП составило соответственно 10,6 и 8,8 мин. Из анализа фракций отмечено 3 основных пика, соответствующих фуранокумаринам. Наибольшая концентрация (около 97%) отмечена у фуранокумаринов фракции 2.2. Время 1-го выхода компонентов этой фракции, как и у аналитических стандартов 5-МОП и 8-МОП, составило 8,5–8,6 мин, 2-го – 8,8–8,9 мин (рис. 3). Последний был нами определен как 8-МОП. Третий, низкоамплитудный пик соответствовал времени выхода 5-МОП. Другие фракции либо не содержали данных веществ (Ф – 1; Ф – 3; Ф – 4), либо имели в 100 раз более низкую концентрацию (Ф – 2.1; Ф – 2.3) (см. рис. 3).

Учитывая данные ВЭЖХ-анализа, тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии мы предположили, что найденные вещества, составляющие большую часть экстракта и, в частности, Ф-2.2, являются производными псоралена, 5-МОП, 8-МОП составляют основную часть выделенной нами фракции Ф-2.2.

По данным ВЭЖХ-стандартов 5-МОП и 8-МОП, были построены калибровочные графики с коэффициентом корреляции 0,999. На основании полученных графиков произведен расчет содержания фуранокумаринов в соке БС.

Установлено, что концентрация 5-метоксипсоралена составляет 0,0341 г/л, 8-метоксипсоралена – 1,3326 г/л. Общее содержание фуранокумаринов в соке БС составляет 1,3668 г/л.

Для подтверждения химической структуры входя-

щих в состав Ф-2.2 веществ были получены ^1H - и ^{13}C ЯМР-спектры этой фракции.

Спектр ЯМР-сигналов ^1H условно можно разделить на 3 группы (первая составляет 0–3 м.д.) (рис. 4).

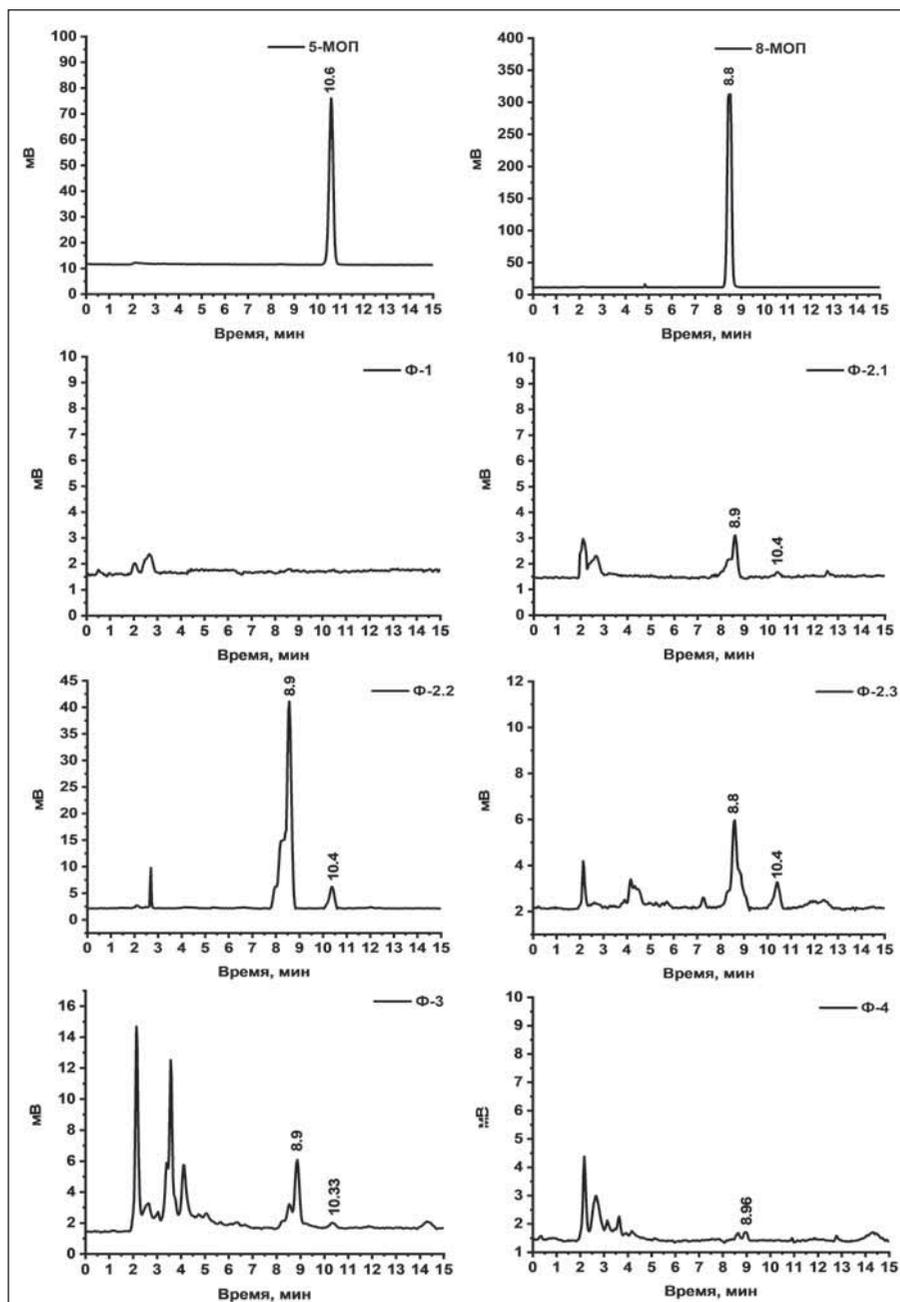


Рис. 3. Хроматограмма ВЭЖХ фракций сока борщевика Сосновского и аналитических стандартов 5-МОП и 8-МОП

Примечание. Время удерживания компонентов фракций 2.1, 2.2, 2.3 и эталонов соблюдается. Максимальная площадь пиков веществ, соответствующих фуранокумаринам, наблюдается во фракции 2.2.

Fig. 3. HPLC chromatogram of Sosnovsky's hogweed juice fractions and analytical standards 5-MOP and 8-MOP

Note. The retention time of the components of fractions 2.1, 2.2, 2.3 and analytical standards is observed. The maximum area of peaks corresponding to furanocoumarins is observed in fraction 2.2.

Сигналы в этой области соответствуют насыщенным углеводородным фрагментам, очень похожи на сигналы соединений с терпеновым углеродным скелетом, в пользу этого свидетельствуют сигналы олефиновых протонов при 4–4,5 м.д.

Вторая группа сигналов располагается в диапазоне от 4 до 5,4 м.д. К этой группе сигналов можно отнести олефиновые протоны терпенов,

синглетные сигналы при 4,24 и 4,27 м.д. относятся к метоксильным (-OCH₃) структуры бергаптена.

Третья группа сигналов расположена в области ароматических протонов 6–8 м.д. Химические сдвиги и мультиплетность сигналов схожи с описанными в литературе [15] для соединений с углеродным скелетом псоралена и бергаптена (учитывая сигналы в области ~4,3 м.д.).

¹³C ЯМР-спектр Ф-2.2 содержит большое количество сигналов, которые условно можно разделить на 4 области (рис. 5). Сигналы 0–40 м.д. указывают на наличие алифатических фрагментов, таких как терпены, сигналы 50–70 м.д. – метоксильных фрагментов. Сигналы 120–150 м.д. свидетельствуют о содержании олефиновых углеродов и ароматических систем, 160–180 м.д. принадлежат к сложноэфирным группам и лактонам. Все перечисленное, кроме признаков терпенов, характерно для фуранокумаринов [15].

Таким образом, по результатам ¹H ЯМР- и ¹³C ЯМР-спектров, образец представляет собой сложную смесь некоторых фуранокумаринов производных псоралена (ксантотоксин, бергаптен) и терпенов.

Заключение

Таким образом, установлено, что сок БС содержит высокие концентрации фуранокумаринов. Как показали данные тонкослойной хроматографии, спектрофотометрии и ЯМР-спектроскопии, экстракт сока БС содержит 5-МОП и 8-МОП. Результаты ВЭЖХ показали очень высокое содержание 8-МОП в соке БС. Учитывая полученные данные, а также особенности растения, такие как высокая скорость роста, большая биомасса, неприхотливость к ус-

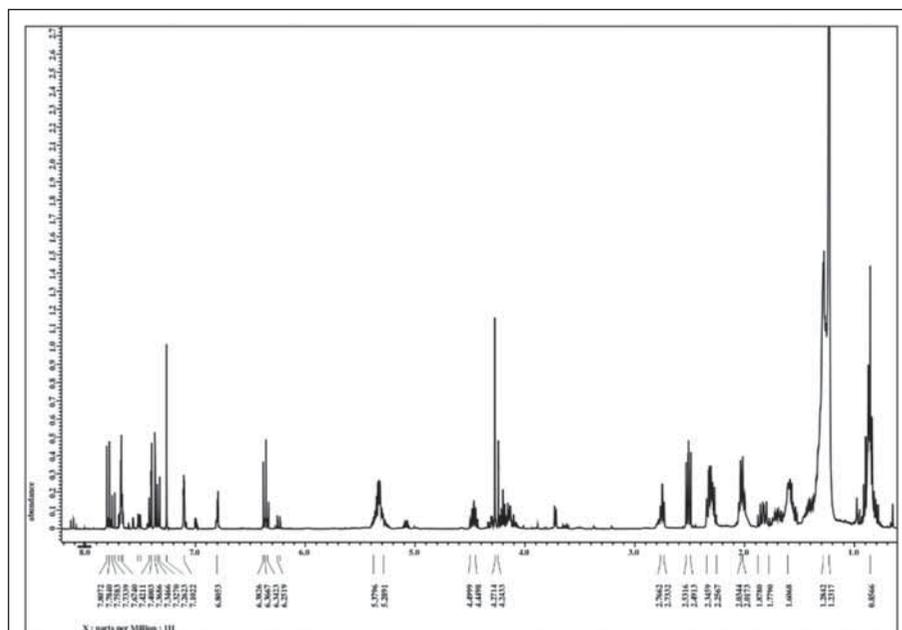


Рис. 4. Спектр ЯМР ¹H Ф-2.2
Fig. 4. ¹H NMR spectrum of F-2.2

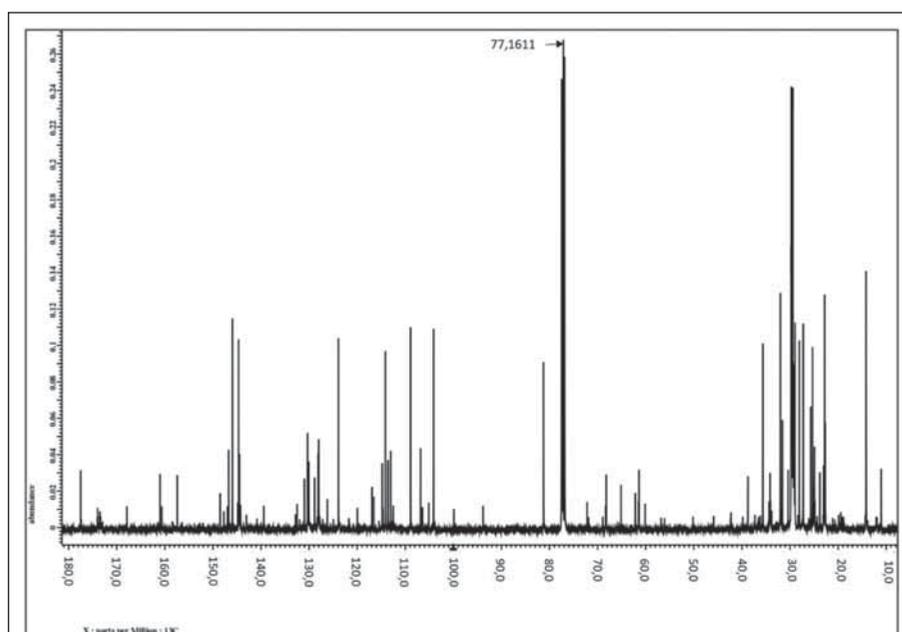


Рис. 5. ¹³C ЯМР-спектр Ф-2.2
Fig. 5. ¹³C NMR spectrum of F-2.2

ловиям внешней среды, можно сделать вывод о перспективности использования сырья БС для промышленного получения лекарственных препаратов-фотосенсибилизаторов. Методы химического анализа, примененные в данном исследовании, могут стать основой для стандартизации данного вида лекарственного растительного сырья.

Использование БС для фармацевтических целей в перспективе может способствовать сокращению площади дикорастущих зарослей, что положительно скажется на экосистемах регионов, где БС признан опасным интродуцентом.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература/References

- Nielsen C., Ravn H.P., Nentwig W. and Wade M. (eds.). The Giant Hogweed Best Practice Manual. Guidelines for the management and control of an invasive weed in Europe. Forest & Landscape Denmark, Hoersholm. 2005; 44.
- Куценко В.П., Ковалева Д.Д., Миронова Н.П., Леденцова С.С., Безвуляк Е.И., Селиверстов П.В., Борщевик Сосновского и фотохимический дерматит. Медицинская сестра. 2022; 24 (3): 19–22. DOI: <https://doi.org/10.29296/25879979-2022-03-03> [Kucenko V.P., Kovaleva D.D., Mironova N.R., Ledencova S.S., Bezvulyak E.I., Seliverstov P.V. Sosnovsky's hogweed and photochemical dermatitis. Medicinskaya sestra. 2022; 24 (3): 19–22. DOI: <https://doi.org/10.29296/25879979-2022-03-03> (in Russian)]
- Wang C.-C., Wang Y.-X., Yu N.-Q. et al. Brazilian Green Propolis Extract Synergizes with Protoporphyrin IX-mediated Photodynamic Therapy via Enhancement of Intracellular Accumulation of Protoporphyrin IX and Attenuation of NF- κ B and COX-2. *Molecules*. 2017; 22 (5): 732. DOI: 10.3390/molecules22050732
- Lin H.-J., Ho J.-H., Tsai L.-C. et al., Synthesis and In Vitro Photocytotoxicity of 9-/13-Lipophilic Substituted Berberine Derivatives as Potential Anticancer Agents. *Molecules*. 2020; 25 (3): 677. DOI: 10.3390/molecules25030677
- Mazur Y., Lavie G., 2001. Heliantrone derivatives as anti-cancer agents. US 6,229,048 B1. Assignees: Yeda Research and Development Co. Ltd. at the Weizmann Institute of Science, Rehovot (IL); New York University, New York, NY (US).
- Bartnik, M., Mazurek, A.K., Isolation of methoxyfuranocoumarins from *Ammi majus* by centrifugal partition chromatography. *J. Chromatogr. Sci.* 2016; 54 (1): 10–6. DOI: 10.1093/chromsci/bmv098.
- Fathallah N., Raafat M.M., Issa M.Y. et al., Bio-Guided Fractionation of Prenylated Benzaldehyde Derivatives as Potent Antimicrobial and Antibiofilm from *Ammi majus* L. Fruits-Associated *Aspergillus amstelodami*. *Molecules*. 2019; 24 (22): 4118. DOI: 10.3390/molecules24224118.
- Bruni R., Barreca D., Protti M. et al., Botanical Sources, Chemistry, Analysis, and Biological Activity of Furanocoumarins of Pharmaceutical Interest. *Molecules*. 2019; 24 (11): 2163. DOI: 10.3390/molecules24112163
- Andreeva L.V., Sosnowsky hogweed: new ways to use. BAICSEM IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2020; 613: 012006. DOI: 10.1088/1755-1315/613/1/0120062
- Tkachenko K., Heteromericarpy of *Heracleum sosnowskyi* Manden. (Umbelliferae = Apiaceae). Proceedings on applied botany, genetics and breeding. 2021; 181: 156–63. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-156-163.
- Dehghan H., Sarrafi Y., Salehi P. et al., α -Glucosidase inhibitory and antioxidant activity of furanocoumarins from *Heracleum persicum*. *Med. Chem. Res.* 2017; 26: 849–55. DOI: 10.1007/s00044-017-1796-y
- Vandermolen K.M., Cech N.B., Paine M.F. et al., Rapid quantitation of furanocoumarins and flavonoids in grapefruit juice using ultra-performance liquid chromatography. *Phytochem. Anal.* 2013; 24: 654–60. DOI: 10.1002/pca.2449.
- Fulmer G.R., Miller A.J.M., Sherden N.H. et al. NMR Chemical shifts of trace impurities: common laboratory solvents, organics, and gases in deuterated solvents relevant to the organometallic chemist. *Organometallics*. 2010; 29: 2176–9. DOI: 10.1021/om100106e.
- Wagner H., Bladt S., Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas. Second edition. Springer, USA. 1996; 384. DOI:10.1007/978-3-642-00574-9.
- He F., Wang M., Gao M. et al., Chemical composition and biological activities of *Gerbera anandria*. *Molecules*. 2014; 19 (4): 4046–57. DOI: 10.3390/molecules19044046

Поступила 28 марта 2022 г.

Received 28 March 2022

Принята к публикации 15 апреля 2022 г.

Accepted 15 April 2022