

С. М. Марчишин, І. М. Потішний, Л. В. Слободянюк, Е. А. Паращук
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ

ДОСЛІДЖЕННЯ КУМАРИНІВ ДЯГЕЛЮ ЛІКАРСЬКОГО МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Вступ. Рід Дягель, або Дудник (*Angelica L.*), з родини селерові (*Ariaceae*) включає близько 100 видів дворічних або багаторічних трав'янистих рослин, значно поширених в Азії, Європі та Північній Америці. В Україні зростають дягель лікарський (*Angelica archangelica L.*; *Archangelica officinalis* (Moench.) Hoffm.) і дягель лісовий, або дудник лісовий (*Angelica sylvestris*). Біологічно активні речовини дягелю лікарського проявляють спазмолітичну, відхаркувальну, діуретичну, седативну, потогінну, жовчогінну дії. Попередні дослідження показали, що дягель лікарський містить органічні, аміно- і жирні кислоти, вуглеводи, гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини, флавоноїди, леткі сполуки. У джерелах наукової літератури недостатньо відомостей про дослідження кумаринів цього виду.

Мета дослідження – визначити вміст кумаринів у листках, стеблах та кореневищах і коренях дягелю лікарського методом вискоелективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Методи дослідження. Якісний склад і кількісний вміст кумаринів у досліджуваних об'єктах визначали методом ВЕРХ на хроматографі "Agilent 1200 3D LC System Technologies" (США).

Результати й обговорення. У результаті ВЕРХ-аналізу в досліджуваних об'єктах дягелю лікарського ідентифіковано та визначено кількісний вміст простих кумаринів – ескулетину й умбеліферону та фурукумаринів – ізопімпініліну і бергаптену. Він показав, що дягелю лікарського кореневища і корені містили значну кількість бергаптену – 957,50 мкг/г. Листки і стебла досліджуваного виду містили значно меншу кількість кумаринових сполук. У стеблах не виявлено ескулетину, вміст якого у листках становив 38,99 мкг/г, у листках – ізопімпініліну.

Висновки. Методом ВЕРХ у дягелю лікарського кореневищах і коренях, листках та стеблах ідентифіковано і визначено кількісний вміст простих кумаринів – ескулетину й умбеліферону та фурукумаринів – ізопімпініліну і бергаптену. Встановлено, що дягелю лікарського кореневища і корені містять значну кількість бергаптену – 957,50 мкг/г. Отримані дані свідчать про те, що дягелю лікарського кореневища і корені є перспективною лікарською рослинною сировиною та потребують подальшого дослідження.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кумарини; дягель лікарський; вискоелективна рідинна хроматографія.

ВСТУП. Рід Дягель, або Дудник (*Angelica L.*), з родини селерові (*Ariaceae*) включає близько 100 видів дворічних або багаторічних трав'янистих рослин, значно поширених в Азії, Європі та Північній Америці [1]. В Україні зростають дягель лікарський (*Angelica archangelica L.*; *Archangelica officinalis* (Moench.) Hoffm.) і дягель лісовий, або дудник лісовий (*Angelica sylvestris*).

Дягель лікарський – дворічна трав'яниста рослина заввишки 50–250 см з коротким (завтовшки до 5 см і завдовжки до 30 см) м'ясистим кореневищем із численними волокнистими коренями. Стебло пряmostояче, товсте, порожнисте, дрібноборозенчасте, завтовшки до 2,5 см.

© С. М. Марчишин, І. М. Потішний, Л. В. Слободянюк, Е. А. Паращук, 2023.

Листки дуже великі, двічі або тричі перисторозсічені, з довгими порожнистими черешками, чергові, стеблоохоплюючі, з яйцеподібними дво-, трилопатовими великопилчастими листочками. Квітки дрібні, зеленуваті або зеленувато-жовті, зібрані у великі складні зонтики. Плоди – еліптичні двосім'янки коричневого кольору.

Росте дягель лікарський в Україні на Поліссі, на Прикарпатті розсіяно або невеликими групами на заплавах луках, поблизу водойм, по берегах річок, на узліссях вологих листяних лісів [2, 3].

Дягель лікарський використовують у традиційній медицині для лікування неврозів, безсоння, шлункових та кишкових розладів, шкірних і респіраторних захворювань, артриту [3–5]. Біологічно активні речовини цього виду проявляють

спазмолітичну, відхаркувальну, діуретичну, седативну, потогінну, жовчогінну дії [6].

Ми встановили, що дягель лікарський містить речовини первинного синтезу – органічні, аміно- і жирні кислоти, вуглеводи; вторинного синтезу – гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини, флавоноїди, леткі сполуки [7, 8]. У джерелах наукової літератури недостатньо відомостей про дослідження кумаринів даного виду, тому це стало метою наших досліджень.

Кумарини – це природні біологічно активні сполуки, які мають широкий спектр фармакологічних властивостей: антикоагулянтну, протизапальну, антиоксидантну, протипухлинну, протівірусну, фотосенсибілізувальну дії. Вони здатні знижувати ризик розвитку раку, захворювань мозку та серцево-судинної системи [9, 10]. Кумарини та фуранокумарини проявляють антимікробну активність щодо різних грампозитивних і грамнегативних бактерій, а також деяких грибів та дріжджів [11]. Тому фітохімічне вивчення дягелю лікарського є актуальним.

Мета дослідження – визначити вміст кумаринів у листках, стебла та кореневищах і коренях дягелю лікарського методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами для вивчення були листки, стебла та кореневища і корені дягелю лікарського, які заготовили на території Тернопільської області. Листки і стебла заготовляли під час масового цвітіння рослин, підземні органи – після відмирання надземної частини.

Якісний склад і кількісний вміст кумаринів у досліджуваних об'єктах визначали методом ВЕРХ на хроматографі "Agilent 1200 3D LC System Technologies" (США) [12].

Як рухомих фаз використовували 0,1 % розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти у воді очищеній Р (В). Елювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (20 %) : В (80 %); 12 хв – А (70 %) : В (30 %); 20 хв – А (100 %) : В (0 %); 30 хв – А (100 %) : В (0 %). Для розділення використовували хроматографічну колонку Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150×4,6 мм) ("Agilent Techno-

logies", США), швидкість потоку через колонку становила 0,2 мл/хв, температура термостата – 30 °С, об'єм інжекції – 1 мкл. Детекцію виконували з використанням флуоресцентного детектора з емісією та екстинцією при 340 і 420 нм відповідно [12].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням фармакопейних стандартних розчинів кумаринів (ескулетину, псоралену, умбеліферону, пастинацину, ізопімпінеліну, бергаптену).

Кількісний вміст кумаринів (X) (мкг/г) визначали за формулою:

$$X = c \cdot V/m,$$

де c – концентрація сполуки, визначена хроматографічним методом, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, з якої екстрагували, г.

Пробопідготовку проводили таким чином: наважку сировини кожної проби (0,3–0,7 г) екстрагували 25,0–50,0 мл хлороформу на ультразвуковій бані при 80 °С упродовж 2 год у скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3000 об./хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати визначення кількісного вмісту індивідуальних кумаринів у сировині дягелю лікарського наведено в таблиці.

У результаті ВЕРХ-аналізу в досліджуваних об'єктах дягелю лікарського ідентифіковано та визначено кількісний вміст простих кумаринів – ескулетину й умбеліферону та фурукумаринів – ізопімпінеліну і бергаптену (рис. 1–3).

За результатами ВЕРХ-аналізу, дягелю лікарського кореневища і корені містили значну кількість бергаптену – 957,50 мкг/г. Відомо, що бергаптен використовують для лікування деяких шкірних захворювань, зокрема вітиліго (лейкодермія) та псоріазу [13, 14]. Доведено, що він проявляє протизапальні, гепатопротекторні, протисудомні, анагезивні властивості [15, 16]. Дягелю лікарського кореневища і корені можуть бути джерелом одержання цієї біологічно активної речовини.

Таблиця – Кількісний вміст індивідуальних кумаринових сполук у сировині дягелю лікарського (мкг/г)

Назва речовини	Дягель лікарський, кореневища і корені	Дягель лікарський, стебла	Дягель лікарський, листки
Ескулетин	18,44±1,01	н/в	38,99±4,01
Умбеліферон	35,48±2,15	9,26±5,13	26,81±5,22
Ізопімпінелін	28,10±2,10	4,05±1,02	н/в
Бергаптен	957,50±10,00	1,18±0,02	19,93±5,12

Примітка. н/в – не виявлено.

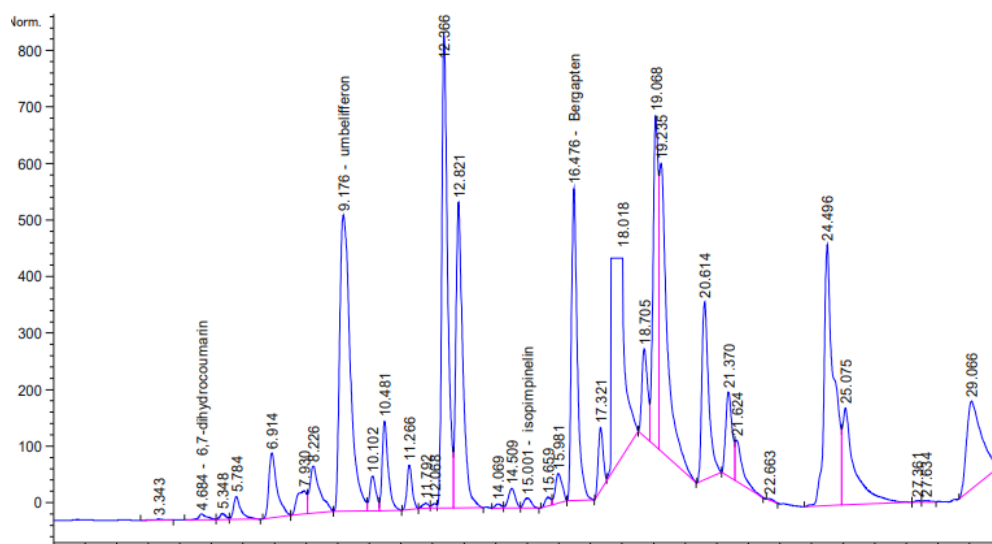


Рис. 2. ВЕРХ-хроматограма кумаринів дягелю лікарського стебел.

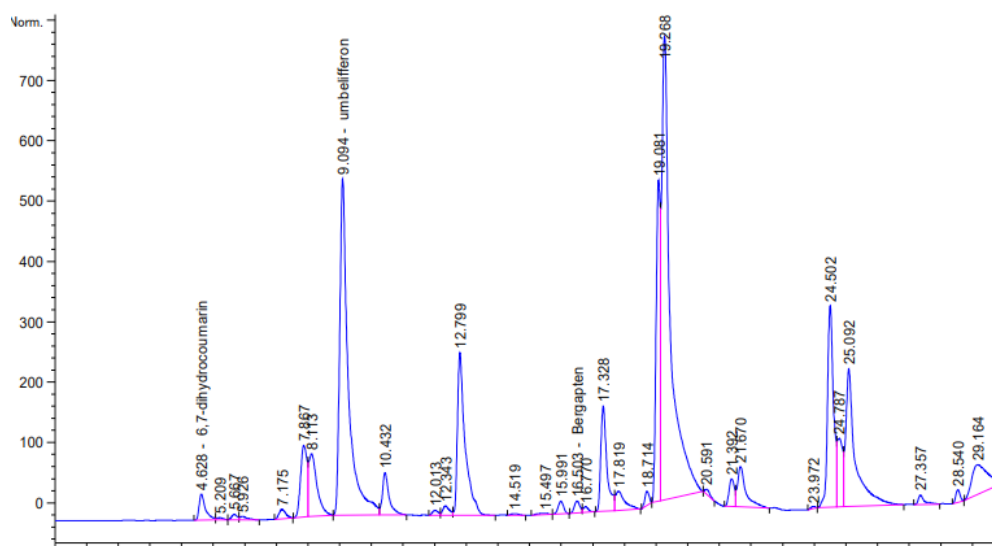


Рис. 1. ВЕРХ-хроматограма кумаринів дягелю лікарського кореневищ і коренів.

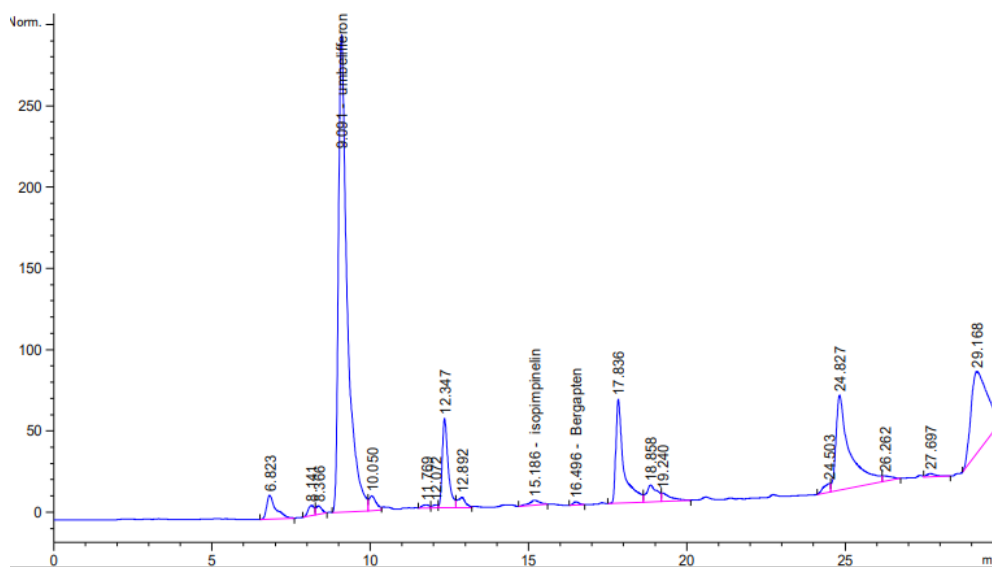


Рис. 3. ВЕРХ-хроматограма кумаринів дягелю лікарського листків.

Встановлено, що дягелю лікарського листки і стебла містять значно меншу кількість кумаринових сполук. У стеблах не виявлено ескулетину, вміст якого у листках становив 38,99 мкг/г, у листках – ізопімпініліну.

ВИСНОВКИ. 1. Методом ВЕРХ у дягелю лікарського кореневищах і коренях, листках та стеблах ідентифіковано і визначено кількісний

вміст простих кумаринів – ескулетину й умбеліферону та фурукумаринів – ізопімпініліну і бергаптену.

2. Встановлено, що дягелю лікарського кореневища і корені містять значну кількість бергаптену, яка становить 957,50 мкг/г.

3. Отримані дані свідчать про те, що дягелю лікарського кореневища і корені є перспективною лікарською рослинною сировиною та потребують подальшого дослідження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. A Review of the Composition of the Essential Oils and Biological Activities of *Angelica* Species / K. Sowndhararajan, P. Deera, M. Kim, S. J. Park, S. Kim. – *Sci. Pharm.* – 2017. – **85** (3). – P. 33.

2. Гамуля Ю. Г. Рослини України / Ю. Г. Гамуля ; за ред. О. М. Утєвської. – Х. : Фактор, 2012. – С. 28.

3. Сафонов М. М. Повний атлас лікарських рослин / М. М. Сафонов. – Тернопіль : Навчальна книга – Богдан, 2011. – С. 84–85.

4. Variation in the essential oil composition of *Angelica archangelica* from three different altitudes in Western Himalaya, India / R. S. Chauhan, M. C. Nautiyal, R. Cecotti [et al.] // *Ind. Crops Prod.* – 2016. – **94**. – P. 401–404.

5. Pasqua G. Accumulation of essential oils in relation to root differentiation in *Angelica archangelica* L / G. Pasqua, B. Monacelli, A. Silvestrini // *Eur. J. Histochem.* – 2003 – No. 47. – P. 87–90.

6. Мінарченко В. М. Лікарські судинні рослини України (медичне та ресурсне значення) / В. М. Мінарченко. – К. : Фітосоціоцентр, 2005. – 324 с.

7. Determination of amino acids of plants from *Angelica* L. genus by HPLC method / L. Budniak, L. Slobodianiuk, S. Marchyshyn, I. Potishnyi // *Pharmacia.* – 2022. – No. 69 (2). – P. 437–446.

8. Дослідження дубильних речовин у сировині дудника лісового і дягелю лікарського методом високоефективної рідинної хроматографії / І. М. Потішний, В. В. Юрків, Л. В. Слободянюк [та ін.] // *Мед. та клініч. хімія.* – 2022. – **24**, № 3 (93). – С. 70–75.

9. An insight into the therapeutic applications of coumarin compounds and their mechanisms of action / S. S. Garg, J. Gupta, S. Sharma, D. Sahu // *European*

Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2020. – **152**, No. 1. – P. 105424.

10. The antioxidant activity of coumarins and flavonoids / G. Borges, Damiana da Rocha, A. Medina-Remon [et al.] // *Mini Rev. Med. Chem.* – 2013. – No. 13 (3). – P. 318–334.

11. Forlot P. Bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) essential oil: biological properties, cosmetic and medical use / P. Forlot, P. Pevet // *Journal of Essential Oil Research.* 2012. – **24**, No. 2. – P. 195–201.

12. Determination of citrus juice coumarins, furanocoumarins and methoxylated flavones using solid phase extraction and HPLC with photodiode array and fluorescence detection / G. J. Li, H. J. Wu, Y. Wang [et al.] // *Food chemistry.* – 2019. – **271**. – P. 29–38.

13. Scott B. R. Molecular and genetic basis of furanocoumarin reactions / B. R. Scott, M. A. Pathak, G. R. Mohn // *Mutation Research.* – 1976. – **39**, Issue 1. – P. 29–74.

14. Furocoumarin from Radix *Angelica dahurica* and Synthetic Analogue as Potential Agent for Treatment of Vitiligo / Xiao-Ying Yang, Rui Liu, Tao-yan Dou [et al.] // *International Journal of Pharmacology.* – 2018. – **14**, Issue 4. – P. 595–600.

15. Anti-inflammatory and proresolution activities of bergapten isolated from the roots of *Ficus hirta* in an in vivo zebrafish model / Y. Yang, K. Zheng, W. Mei [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* – 2018. – **496**, No. 2. – P. 763–769.

16. Pharmacological Properties of Bergapten: Mechanistic and Therapeutic Aspects / M. M. Quetglas-Llabrés, C. Quispe, J. Herrera-Bravo [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2022. URL : <https://reprints.hindawi.com/8615242>.

REFERENCES

1. Sowndhararajan, K., Deera, P., Kim, M., Park, S.J., & Kim, S. (2017). A Review of the Composition of the Essential Oils and Biological Activities of *Angelica* Species. *Sci. Pharm.*, 85(3), 33.

2. Hamulia, Yu.H., & Utievska, O.M. (Eds.). (2012). *Plants of Ukraine*. Kharkiv: Faktor [in Ukrainian].

3. Safonov, M.M. (2011). *Complete atlas of medicinal plants*. Ternopil: Navchalna knyha – Bohdan [in Ukrainian].

4. Chauhan, R. S., Nautiyal, M. C., & Cecotti, R. (2016). Variation in the essential oil composition of *Angelica archangelica* from three different altitudes in Western Himalaya, India. *Ind. Crops Prod.*, 94, 401-404.

5. Pasqua, G., Monacelli, B., & Silvestrini, A. (2003). Accumulation of essential oils in relation to root differentiation in *Angelica archangelica* L. *Eur. J. Histochem.*, 47, 87-90.

6. Minarchenko, V.M. (2005). *Medicinal vascular plants of Ukraine (medical and resource value)*. Kyiv: Fitosotsiotsentr [in Ukrainian].
7. Budniak, L., Slobodianiuk, L., Marchyshyn, S., & Potishnyi, I. (2022). Determination of amino acids of plants from *Angelica* L. genus by HPLC method. *Pharmacia*, 69(2), 437-446.
8. Potishnyi, I.M., Yurkiv, V.V., & Slobodianiuk, L.V. (2022). Study of tannins in the raw materials of wood pipe and angelica by the method of high-performance liquid chromatography. *Medical and Clinical Chemistry*, 24 (3), 70-75 [in Ukrainian].
9. Garg, S.S., Gupta, J., Sharma, S., & Sahu, D. (2020). An insight into the therapeutic applications of coumarin compounds and their mechanisms of action. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 152(1), 105424.
10. Borges, G., da Rocha, D., & Medina-Rejon, A. (2013). The antioxidant activity of coumarins and flavonoids. *Mini Rev. Med. Chem.*, 13(3), 318-334.
11. Forlot, P., & Pevet, P. (2012). Bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) essential oil: biological properties, cosmetic and medical use. *Journal of Essential Oil Research*, 24(2), 195-201.
12. Li, G.J., Wu, H.J., & Wang, Y. (2019). Determination of citrus juice coumarins, furanocoumarins and methoxylated flavones using solid phase extraction and HPLC with photodiode array and fluorescence detection. *Food Chemistry*, 271, 29-38.
13. Scott B.R., Pathak M.A., & Mohn G.R. (1976). Molecular and genetic basis of furocoumarin reactions. *Mutation Research*, 39(1), 29-74.
14. Xiao-Ying Yang, Rui Liu, & Tao-yan Dou (2018). Furocoumarin from *Radix Angelica dahurica* and Synthetic Analogue as Potential Agent for Treatment of Vitiligo. *International Journal of Pharmacology*, 14(4), 595-600.
15. Yang, Y., Zheng, K., & Mei, W. (2018). Anti-inflammatory and proresolution activities of bergapten isolated from the roots of *Ficus hirta* in an in vivo zebrafish model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 496 (2), 763-769.
16. Quetglas-Llabrés, M.M., Quispe, C., & Herrera-Bravo, J. (2022). Pharmacological Properties of Bergapten: Mechanistic and Therapeutic Aspects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Retrieved from: <https://reprints.hindawi.com/8615242>.

S. M. Marchyshyn, I. M. Potishnyi, L. V. Slobodianiuk, E. A. Paraschuk
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

INVESTIGATION OF COUMARINS OF ANGELICA BY THE METHOD OF HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Summary

Introduction. The genus *Angelica* or *Piper* (*Angelica* L.) from the celery family (*Apiaceae*), includes about 100 species of biennial or perennial herbaceous plants, widely distributed in Asia, Europe and North America. *Archangelica archangelica* (*Angelica archangelica* L.; *Archangelica officinalis* (Moench.) Hoffm.) and forest angelica (*Angelica sylvestris*) grow in Ukraine. Biologically active substances of angelica have antispasmodic, expectorant, diuretic, sedative, diaphoretic, choleric effects. Previous studies have shown that angelica contains organic, amino and fatty acids, carbohydrates, hydroxycinnamic acids, tannins, flavonoids, and volatile compounds. In the sources of scientific literature, there is not enough information on the study of coumarins of this species.

The aim of the study – to determine the coumarins in the leaves, stems and rhizomes and roots of angelica by the method of high-performance liquid chromatography (HPLC).

Research Methods. The qualitative composition and quantitative content of coumarins in the studied objects were determined by HPLC on an Agilent 1200 3D LC System Technologies (USA) chromatograph.

Results and Discussion. As a result of HPLC analysis, the content of simple coumarins – esculetin and umbelliferone and furocoumarins – isopimpineline and bergapten was identified and quantified in the investigated objects of angelica. HPLC analysis showed that angelica medicinal rhizome and roots contain a significant content of bergapten – 957.50 µg/g. The leaves and stems of the studied species contained a much lower amount of coumarin compounds. No esculetin was detected in the stems, the content of which was 38.99 µg/g in the leaves, and no isopimpinelin was detected in the leaves either.

Conclusions. The quantitative content of simple coumarins – esculetin and umbelliferone and furocoumarins – isopimpinelin and bergapten was identified and determined using the HPLC method in the rhizomes and roots, leaves and stems of angelica. It was established that the medicinal rhizome and roots of angelica contain a significant content of bergapten, amounting to 957.50 µg/g. The obtained data indicate that angelica medicinal rhizomes and roots are promising medicinal plant raw materials and require further research.

KEY WORDS: coumarins; angelica; high-performance liquid chromatography.

Отримано 12.05.23

Адреса для листування: С. М. Марчишин, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: marchyshyn@tdmu.edu.ua.