

ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *CONIUM MACULATUM* L.

М.В. Филонова^{1,2}, И.В. Шилова², Ю.В. Медведева¹, А.А. Чурин^{1,2}

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

²Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия. *Maria-Caurus7@yandex.ru*

Аннотация. *Conium maculatum* - растение, содержащее большое количество разнообразных биологически активных веществ. Произведено извлечение образцов из суспензионной культуры болиголова пятнистого и их анализ с помощью метода ГХ/МС. В суспензионной культуре выявлено наличие разнообразных групп веществ обладающих биологической активностью: фуранокумарины (бергаптен, изопимпинеллин, мармезин) моноциклические циклогексановые монотерпеноиды и ациклические тритерпеноиды, эфиры органических и жирных кислот, насыщенные алифатические углеводороды.

Ключевые слова: клеточная культура, *Conium maculatum* L., газовая хромато-масс-спектрометрия

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1411-1413

Введение. Растения служат источником биологически активных веществ (БАВ) с незапамятных времен. На основе лекарственного растительного сырья производят более трети лекарственных препаратов. Структура большинства БАВ настолько сложна, что растения зачастую являются их единственным источником. Хотя в стране ежегодно заготавливается тысячи тонн растительного лекарственного сырья, полученное количество не обеспечивает возможности фармацевтической промышленности [Сотникова, 2006].

Клеточная культура в промышленности используется для извлечения БАВ, так как является возобновляемым источником вторичных метаболитов и выращивается в контролируемых условиях, что является большим преимуществом данного способа получения сырья.

Болиголов пятнистый (*Conium maculatum* L.) – растение семейства зонтичные, токсичные свойства которого известны со времен Гиппократ, широко используется в народной медицине многих стран. Болиголов содержит разнообразные группы БАВ (флавоноиды, фуранокумарины, полиацетилены, сапонины, эфирные масла и др. [Vetter et al., 2004], что обуславливает широкий спектр фармакологической активности [Madaan et al., 2012].

Изучение суспензионной культуры болиголова пятнистого, позволит обосновать ее использование в качестве источника БАВ, и возможность дальнейшего масштабирования.

Для анализа извлечения полученных из клеточных культур болиголова пятнистого был выбран метод газовой хроматографии—масс-спектрометрии (ГХ/МС), который позволяет селективно и с высокой чувствительностью определять различные типы соединений в пробах, как правило, являющихся сложными смесями [Гладилович, Подольская, 2010].

Цель: исследовать БАВ суспензионной культуры болиголова пятнистого с помощью метода газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС).

Материалы и методы. Суспензионную культуру болиголова пятнистого выращивали в жидкой питательной среде MS состава, заявленного ранее [Филонова, 2016], в колбах объемом 250 мл на шейкере (скорость – 100 об/мин.). Объем заполнения колб питательной средой составлял 1/5 от объема колбы. Культуру выращивали при температуре 26 ± 1 °С и отсутствии света. Сбор материала осуществляли на 10 сут, клеточную массу отделяли от культуральной жидкости с помощью капрона, питательную среду фильтровали дополнительно через бумажный фильтр.

Исследованию подвергали замороженную 10-суточную культуру болиголова пятнистого, а так же питательную среду, на которой она выращивалась. Сырье экстрагировали подкисленной водой с последующей последовательной рэкстракцией БАВ хлороформом из кислой и щелочной среды. Полученное кислое и щелочное хлороформное извлечение выпаривали до сухого остатка, который далее растворяли в 1,5 мл хлороформа. Исследование осуществляли на приборе Trace DSQ (Thermoelectron corp., США) с программным обеспечением Xcalibur 1.4. В работе использовали колонку 30 м×0,25 мм×0,25 мкм с сорбентом HP-5MS (5% – дифенил, 95% – диметилсилоксан) и запрограммированной температурой (от 50 до 300 °С со скоростью 10 °С/мин, изотерма при 300 °С – 14 мин). В качестве инертного газа-носителя применяли гелий. Температура испарителя – 280 °С. Данные получены в режиме ТІС и записаны в диапазоне 33-650 а.е.м. (m/z) для идентификации.

Результаты и выводы. В результате ГХ/МС исследования культуры болиголова пятнистого в кислом и щелочном хлороформном извлечении обнаружены: эфиры фталевой кислоты (дибутилфталат, диизооктилфталат), производные жирных кислот (этилстеарат), ациклические тритерпеноиды (сквален). Дополнительно в кислом извлечении идентифицированы насыщенные алифатические углеводороды и производное жирных кислот (олеамид).

С помощью ГХ/МС-анализа в кислом хлороформном извлечении питательной среды суспензионной культуры выявлены: эфир фосфорной кислоты (трис(2-хлорэтил) фосфат), моноциклические циклогексановые монотерпеноиды (дегидровомифолиол), эфиры органических кислот (октадецилацетат, дибутилфталат, диизобутилфталат, диизооктилфталат), фуранокумарины (бергаптен, изопимпинеллин, мармезин), производные жирных кислот (олеамид), насыщенные алифатические углеводороды (гептакозан и др.).

В щелочном хлороформном извлечении определены: моноциклические циклогексановые монотерпеноиды (дегидровомифолиол), производные фенола (2,2'-метилден-бис (6-трет-бутил-4-метилфенол)), эфиры органических кислот (октадецилацетат, диизобутилфталат), производные жирных кислот (олеамид), ациклические тритерпеноиды (сквален), насыщенные алифатические углеводороды (гептакозан и др.).

С помощью метода ГХ/МС анализа в культуре болиголова пятнистого обнаружены вещества, обладающие биологической активностью: фталаты, сквален, олеамид. В извлечении из питательной среды на которой выращивалась культура также обнаружены биологически активные вещества – фталаты, сквален, олеамид как и в извлечении из культуры клеток, а так же фуранокумарины. Из литературных источников известно, что фуранокумарины обладают фотосенсибилизирующей [Иманлы, Серкерев, 2015], противоопухолевой [Sumiyoshi et al., 2014], противосудорожной [Luszczki et al., 2010], противомикробной [Benkiki et al., 2002] и противогрибковой [Al-Barwani, Eltayeb, 2004] активностью.

Ранее фуранокумарины были обнаружены в каллусной культуре болиголова пятнистого [Филонова и др., 2017]. Присутствие фуранокумаринов в экстракте, полученном из питательной среды, говорит о том, что клетки суспензионной культуры болиголова пятнистого выделяют данные вещества в питательную среду.

Литература

Гладилович В.Д., Подольская Е.П. Возможности применения метода ГХ-МС (обзор) // Научное приборостроение. – 2010. – Т. 20, № 4. – С. 36–49.

Иманлы Г.А., Серкерев С.В. Кумариновые производные корней *Angelica sachokiana* (Karjagin) Pimen. et. V. Tikhomirov // Химия растительного сырья. – 2015. – № 4. – С. 165–168.

Сотникова И.Ю. Флора лекарственных растений Ставропольского края и её анализ // Автореф. дис. канд. биол. наук. – Ставрополь, 2006. – С. 184.

Филонова М.В., Медведева Ю.В., Чурин А.А., Карначук О.В. Питательная среда для культивирования каллусной культуры болиголова пятнистого (*Conium maculatum* L.). Патент РФ № 2596402, заявитель и патентообладатель НИ ТГУ – опубл.: 10.08.2016 г. – Бюл. Изобретения полезные модели. – № 25. – С. 7.

Филонова М.В., Шилова И.В., Медведева Ю.В., Карначук О.В., Чурин А.А., Суслов Н.И. Способ получения биологически активных веществ в клеточной культуре *Conium maculatum* L. (болиголова пятнистого). Патент РФ № 2619182, заявитель и патентообладатель НИ ТГУ – опубл.: 12.03.2017. – Бюл. Изобретения полезные модели. – № 14. – С. 10.

Al-Barwani F.M., Eltayeb E.A. Antifungal compounds from induced *Conium maculatum* L. // Plants Biochemical Systematics and Ecology. – 2004. – No. 32. – P. 1097–1108.

Benkiki N., Benkhaled M., Kabouche Z., Bruneau C. Heraclenol and Isopimpinellin: Two Rare Furocoumarins from *Ruta montan* // Biodiversity. – 2012. – P. 303–307.

Luszczki J.J., Andres-Mach M., Glensk M., Skalicka-Wozniak K. Anticonvulsant effects of four linear furanocoumarins, bergapten, imperatorin, oxypeucedanin, and xanthotoxin, in the mouse maximal electroshock-induced seizure model: a comparative study // Pharmacol. Rep. – 2010. – No. 62. – P.1231–1236.

Sumiyoshi M., Sakanaka M., Taniguchi M., Baba K., Kimura Y. Anti-tumor effects of various furocoumarins isolated from the roots, seeds and fruits of *Angelica* and *Cnidium* species under ultraviolet A irradiation // J. Nat. Med. – 2014. – V. 68, No. 1. – P. 83–94.

GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRIC STUDIES OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF *CONIUM MACULATUM* L. SUSPENSION CULTURE

M. V. Filonova^{1,2}, I. V. Shilova², Y.V. Medvedeva¹, A. A. Churin^{1,2}

¹National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

²Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia, *Maria-Caurus7@yandex.ru*

Abstract. *Conium maculatum* is a plant containing a large number of various biologically active substances. Samples were extracted from the suspension cell culture of hemlock spotted and their analysis was provided with GC/MS method. The presence of various groups of substances that show biological activity was detected in a suspension cell culture: furanocoumarins (bergapten, isopimpinellin, marmesin) monocyclic cyclohexane monoterpenoids and acyclic triterpenoids, esters of organic and fatty acids, saturated aliphatic hydrocarbons.

Keywords: cell culture, *Conium maculatum*, gas chromatography mass spectrometry