



Полуколичественная методика определения производных кумарина в объектах различного происхождения

В. С. Шуракова^{1,2}✉, Е. С. Кириллова¹, В. А. Тихомиров¹, Е. С. Сурбеева¹, И. И. Тернинко¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, литера А

² Общество с ограниченной ответственностью «Эколер». 414041, Россия, Астраханская обл., г. Астрахань, ул. Яблочкива, д. 11, кв. 21

✉ Контактное лицо: Шуракова Валерия Сергеевна. E-mail: valeriya.shurakova@spcpu.ru

ORCID: В. С. Шуракова – <https://orcid.org/0009-0001-9938-1549>;
Е. С. Кириллова – <https://orcid.org/0009-0005-5126-0034>;
В. А. Тихомиров – <https://orcid.org/0009-0001-4647-8283>;
Е. С. Сурбеева – <https://orcid.org/0000-0002-7005-2477>;
И. И. Тернинко – <https://orcid.org/0000-0002-2942-1015>.

Статья поступила: 17.10.2025

Статья принята в печать: 28.11.2025

Статья опубликована: 28.11.2025

Резюме

Введение. Кумарин и его производные – БАВ растительного происхождения, проявляющие некоторые виды фармакологической активности, а также токсикологические эффекты. Побочные действия препаратов – производных кумарина, а также отравления, возникающие в связи с применением крысиного яда, кумаринсодержащих растений и т. д., обосновывают актуальность разработки экспрессной методики анализа производных кумарина.

Цель. Разработать экспрессную методику полуколичественного определения производных кумарина с применением бумажной хроматографии, провести валидационные испытания и апробацию методики на растительных объектах.

Материалы и методы. Для разработки методики использовали субстанции кумарина и гидроксида натрия, фильтровальную бумагу марки ФС и УФ-фонарь (365 нм). Методика включает импрегнацию бумажных полосок растворами гидроксида натрия (5–30 %), пробоподготовку образцов экстракцией водой или этанолом с последующей фильтрацией и визуальную детекцию флуоресценции. Валидацию проводили с использованием стандартных образцов фенольных соединений (производные кумарина, гидроксикоричных, бензойных кислот и флавоноидов).

Результаты и обсуждение. В результате исследований установлены оптимальные условия методики: концентрация импрегнирующего раствора гидроксида натрия – 10 %, использование бумаги марки ФС, время детекции – 20 с. Показано, что методика обладает селективностью к производным кумарина при выполнении ряда испытаний, которые отражены в дереве принятия решений. Подтверждена возможность полуколичественного определения с пределом обнаружения $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл, проведена апробация на синтетических и растительных объектах.

Заключение. Разработана экспресс-методика полуколичественного определения производных кумарина, основанная на их щелочном гидролизе на бумажной подложке с детекцией по флуоресценции. Методика отличается простотой, относительно высокой чувствительностью (предел обнаружения – $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл) и была успешно апробирована на лекарственных средствах, растительном сырье и других объектах. Предлагаемая методика рекомендована для использования в качестве эффективного инструмента предварительного скрининга в лабораторной практике.

Ключевые слова: кумарины, бумажная хроматография, экспресс-методика, качественная реакция, разработка, валидация

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. В. С. Шуракова – литературный поиск, выполнение экспериментальной работы, обработка полученных результатов, формулирование выводов и написание статьи. Е. С. Кириллова, В. А. Тихомиров, Е. С. Сурбеева – выполнение экспериментальной работы. И. И. Тернинко – планирование дизайна эксперимента, редактирование рукописи.

Финансирование. Анализ выполнен на базе центра коллективного пользования (ЦКП) «Аналитический центр» ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. Проект реализуется при поддержке Фонда содействия инновациям в рамках программы «Студенческий стартап» мероприятия «Платформа университетского технологического предпринимательства» федерального проекта «Технологии» (договор № 14ГССС27/108464).

Для цитирования: Шуракова В. С., Кириллова Е. С., Тихомиров В. А., Сурбеева Е. С., Тернинко И. И. Полуколичественная методика определения производных кумарина в объектах различного происхождения. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2025;14(4):174–182. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2207>

Semi-quantitative method for determining coumarin derivatives in objects of various origin

Valeriya S. Shurakova^{1,2✉}, Elizaveta S. Kirillova¹, Vyacheslav A. Tikhomirov¹,
Elizaveta S. Surbeeva¹, Inna I. Terninko¹

¹ Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University. 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

² Limited Liability Company "Ekoler". Apartment 21, 11, Yablochkova str., Astrakhan, Astrakhan Region, 414041, Russia

✉ Corresponding author: Valeriya S. Shurakova. E-mail: valeriya.shurakova@spcpu.ru

ORCID: Valeriya S. Shurakova – <https://orcid.org/0009-0001-9938-1549>;
Elizaveta S. Kirillova – <https://orcid.org/0009-0005-5126-0034>;
Vyacheslav A. Tikhomirov – <https://orcid.org/0009-0001-4647-8283>;
Elizaveta S. Surbeeva – <https://orcid.org/0000-0002-7005-2477>;
Inna I. Terninko – <https://orcid.org/0000-0002-2942-1015>.

Received: 17.10.2025

Accepted: 28.11.2025

Published: 28.11.2025

Abstract

Introduction. Coumarin and its derivatives are biologically active substances (BAS) of plant origin that exhibit a range of pharmacological activities as well as toxicological effects. The adverse effects of coumarin derivative drugs, along with poisonings caused by the use of rodenticides, coumarin-containing plants, and other related factors, justify the relevance of developing a rapid analytical method for the detection of coumarin derivatives.

Aim. To develop a rapid semi-quantitative method for the determination of coumarin derivatives using paper chromatography, perform validation tests, and apply the method to plant-based samples.

Materials and methods. For the development of the method were used substances coumarin and sodium hydroxide, filter paper brand FS and UV-lamp (365 nm). The technique includes impregnating paper bars with NaOH solutions (5–30 %), sample preparation with water or ethanol extraction followed by filtration, and visual fluorescence detection. Validation was performed using standard samples of phenolic compounds (coumarin derivatives, hydroxycoumarin derivatives, benzoic acids and flavonoids).

Results and discussion. As a result of the studies, the optimal conditions of the technique were established: concentration of the impregnating solution of sodium hydroxide – 10 %, use of SF-mark paper and detection time of 20 seconds. It is shown that the method has selectivity to coumarin derivatives when performing a number of tests, which are reflected in the «decision tree». Confirmed the possibility of semi-quantitative determination with detection limit $1 \cdot 10^{-6}$ mg/ml and testing on synthetic and plant objects.

Conclusion. A rapid semi-quantitative method for the determination of coumarin derivatives has been developed, based on their alkaline hydrolysis on a paper substrate with subsequent fluorescence detection. The method is characterized by simplicity, high sensitivity (limit of detection $1 \cdot 10^{-6}$ mg/mL), and was successfully tested on medicinal products, plant materials, and other objects. The proposed methodology is recommended as an effective tool for preliminary screening in laboratory practice.

Keywords: coumarins, paper chromatography, rapid method, qualitative reaction, development, validation

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Valeriya S. Shurakova – literature search, experimental design planning, execution of experimental work, formulation of conclusions, and manuscript writing. Elizaveta S. Kirillova, Vyacheslav A. Tikhomirov, Elizaveta S. Surbeeva – execution of experimental work. Inna I. Terninko – experimental design planning and manuscript editing.

Funding. The analysis was performed at the Shared Research Facilities Center (SRFC) "Analytical Center" of the SPSPU of the Ministry of Health of Russia. The project was implemented with the support of the Foundation for Assistance to Innovation under the program "Student Startup" as part of the event "Platform for University Technology Entrepreneurship" within the federal project "Technologies" (Agreement No. 14ГССС27/108464).

For citation: Shurakova V. S., Kirillova E. S., Tikhomirov V. A., Surbeeva E. S., Terninko I. I. Semi-quantitative method for determining coumarin derivatives in objects of various origin. *Drug development & registration.* 2025;14(4):174–182. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2207>

ВВЕДЕНИЕ

Кумарины – большой класс фенольных соединений, содержащих в структуре конденсированные бензольное и а-пироновое кольца, широко распространенных в природе и обнаруженных более чем в 150 видах растений, относящихся к 30 семействам (среди них – Rutaceae, Apiaceae, Fabaceae, Caprifoliaceae, Oleaceae и др.) [1, 2].

Производные кумарина широко используются в парфюмерии и косметических средствах благодаря сладкому аромату, сходному с ванилью. Кроме того, кумарин обнаружен в таких специях, как корица и бобы тонка, которые широко применяются в пищевой промышленности [3]. Синтетические производные кумарина используются в фармации как антикоагулянтные препараты [4] («Варфарин», таблетки, 2,5 мг – 10 шт, ООО «ОЗОН») для профилактики фибрillation предсердий, а также для лечения витилиго («Аммибурин», таблетки, 20 мг – 10 шт и раствор для наружного применения 0,3%-й, флаконы по 25, 50 и 100 мл, ООО «Фармцентр ВИЛАР»)¹. Важно отметить, что производные 4-гидроксикумарина используются в качестве родентицидов (средства для борьбы с грызунами), что создает риск контаминации (загрязнения) пищевых продуктов данными соединениями, особенно в аграрных регионах.

Доклинические испытания доказывают, что кумарины могут быть токсичны, чаще это действие проявляется кровотечениями и ожогами [5–6], а для животных установлено снижение репродуктивной способности [7–8]. Токсические свойства кумарина также сохраняются в продуктах переработки. Так, например, был зафиксирован случай отравления растительным маслом, в котором содержались кумарины². В связи с генотоксичностью группа экспертов Европейского органа по безопасности продуктов питания (EFSA) в 2004 году установила предел содержания кумарина в пищевых продуктах на уровне не более 0,5 мг/кг, а в исследовании на гепатотоксичность предпороговый уровень воздействия был определен в количестве 0,1 мг/кг [9, 10].

Растительное сырье имеет ограниченный срок годности и период времени на транспортировку до перерабатывающего предприятия, а анализ в лаборатории занимает несколько дней. Следовательно, необходимо подобрать специфичную и быструю методику анализа производных кумарина, в качестве которой может быть использована комбинация бумажной хроматографии и качественной реакции раскрытия пиронового фрагмента молекулы с последующей детекцией при помощи флуоресценции полученного соединения.

¹ Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>. Ссылка активна на 21.07.2025.

² Прожарка на крысином яде. Что известно об отравлении семьи маслом. Доступно по: <https://360.ru/tekst/obschestvo/prozharka-na-jade/> Ссылка активна на 19.12.2024.

Можно резюмировать, что в связи с частым намеренным и случайным употреблением производных кумарина из различных источников (лекарственные препараты, пищевые и косметические продукты, дератизационные средства и др.), а также наличием токсического действия и зафиксированных случаев отравлений актуальна разработка экспрессной методики предварительного определения данных веществ в различных объектах.

Целью данного исследования является разработка экспрессной методики полуколичественного определения производных кумарина с применением бумажной хроматографии, проведение валидационных испытаний и последующей апробации методики на растительных объектах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы и методы для разработки методики. Для приготовления импрегнирующего раствора использовали субстанцию гидроксида натрия (х.ч., АО «ВЕКТОН», Россия). Для выявления оптимальной концентрации раствора щелочи, обеспечивающей максимальную чувствительность детекции без повреждения целлюлозной подложки, были приготовлены водные растворы натрия гидроксида с концентрациями 5, 10, 15, 20 и 30 %. Каждым из полученных растворов независимо импрегнировали полоски фильтровальной бумаги марки ФС размером 80 × 10 мм, освобожденной от оптических отбеливателей. Для детекции использовали ультрафиолетовый фонарь (УФ-фонарь) (Ziguang, Китай) с длиной волны 365 нм. Все испытания с детекцией проводились в полной темноте.

Для анализа использовалась субстанция кумарина (производитель – Германия). По 10 мг субстанции кумарина помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и растворяли в соответствующем растворителе с последующим доведением до метки. Выбор оптимального растворителя осуществляли путем оценки растворимости кумарина в веществах с различной полярностью в соответствии с Государственной фармакопеей РФ (ГФ РФ), ОФС «Растворимость»³: воде очищенной (комнатной температуры и кипящая), хлороформе, метаноле, спирте этиловом 70 %, ацетонитриле, а также по визуальному эффекту (интенсивности флуоресценции) после нанесения на тест-полоску.

Для приготовления **исходного раствора** около 0,1 г субстанции кумарина помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в 7 мл 96 % этилола и доводили до метки тем же растворителем (концентрация раствора – 10 мг/мл). Далее готовили серию **стандартных растворов** с различными кон-

³ ГФ РФ. ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость». Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/rastvorimost/> Ссылка активна на 16.09.2025.

центрациями (от 10 до $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл кумарина) путем последовательных разведений исходного раствора.

Материалы и методы для валидации методики. Проводили валидацию методики в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик»¹ ГФ РФ XV по следующим критериям: специфичности (тестирование фонового сигнала растворителя и оценка перекрестного визуального эффекта структурально схожих природных соединений), робастности (подбор оптимального времени проведения реакции), правильности, пределу обнаружения (на основе которого была разработана градиентная шкала).

Специфичность оценивали путем проверки фонового сигнала потенциальных растворителей/экстрагентов (вода очищенная (комнатной температуры и кипящая), хлороформ, метанол, спирт этиловый 70 %, ацетонитрил).

Для исключения/подтверждения возможных перекрестных эффектов реакции использовали ряд стандартных образцов (СО) фенольных соединений, которые могут накапливаться в растениях и соэкстрагироваться совместно с кумарином: производные кумарина (изопимпинеллин, кумарин – 0,2 мг/мл, метоксален, бергаптен, скополетин, умбеллиферон – 0,1 мг/мл), флавоноиды (рутин, кверцетин, апигенин, мирицетин, розарин, кемпферол – 0,1 мг/мл), гидроксикоричные кислоты (хлорогеновая, кумаровая, феруловая, кофейная, розмариновая, коричная, синаповая – 1 мг/мл), производные бензойной кислоты (верратровая, салициловая, протокатеховая, ванилиновая – 1 мг/мл), а также вещество некумариновой структуры (лекарственный препарат Эксенза®, спрей назальный дозированный, 2,5 мг/доза, ООО «Фармамед»).

Материалы (объекты) для апробации методики: лекарственное средство «Варфарин, таблетки, 2,5 мг» (ООО «ОЗОН», Россия); Rattur, яд для грызунов (крыс) в тесто-брюкетах по 200 г, действующее вещество – бродифакум 0,0005 % (ООО «Дефанс», Россия); Coumarine – КУМАРИН, кристаллическое вещество, 5 г, отдушка для парфюмерных композиций (США); корица (Dr. Bakers, Россия) и сахар с корицей (Kotaniy, Австралия); бобы тонка – специя для кулинарии (страна-производитель – Венесуэла, год урожая – 2024); листья борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.), собранные в пос. Лемболово, Санкт-Петербург, год сбора – 2024, высушенные и измельченные. Ботаническую идентификацию образцов проводили по комплексу морфологических признаков с использованием виртуального гербария Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН (образец LE 01082762)².

¹ ГФ РФ. ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/validatsiya-analiticheskikh-metodik/>. Ссылка активна на 09.08.2025.

² Образец LE 01082762. Виртуальный гербарий Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН. Доступно по: <http://rr.herbariumle.ru/01082762>. Ссылка активна на 09.08.2025.

Испытуемые образцы. Растительное сырье (бобы тонка, борщевик Сосновского, корица, сахар с корицей) подготавливали по следующей схеме: навеску массой 0,1 г заливали 10 мл воды очищенной (80 °C) в пробирку и экстрагировали при перемешивании в течение 5 мин. Полученное извлечение фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Навеску парфюмерной отдушки массой 0,1 г помещали в пробирку вместимостью 10 мл и растворяли в 95%-м этаноле. Полученный раствор использовали без дополнительной очистки.

Одну таблетку варфарина измельчали в ступке, количественно переносили в пробирку и заливали 2 мл 96%-го этанола. Смесь перемешивали и оставляли для отстаивания на 10 мин для осаждения вспомогательных веществ. Полученную суспензию фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

Навеску тесто-брюкета массой 0,1 г помещали в пробирку, заливали 10 мл 96%-го этанола и перемешивали. Полученную смесь фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка методики

Для разработки методики проводили подбор концентрации импрегнирующего агента гидроксида натрия, растворителя для проведения экстракции/растворения образца и материала бумаги. Для этого на край полосок размером примерно 80 × 10 мм импрегнировали 0,2 мл раствора гидроксида натрия разных концентраций и высушивали на воздухе. Затем наносили около 0,2 мл СО кумарина различных концентраций, высушивали и детектировали УФ-фонарем.

Результаты подбора концентрации гидроксида натрия представлены в таблице 1. Все эксперименты по подбору условий проводились в трехкратной повторности. Результат считали положительным при визуальном наблюдении флуоресценции голубого или зеленого цвета в УФ-свете (365 нм).

Таблица 1. Подбор концентрации гидроксида натрия

Table 1. Selection of sodium hydroxide concentration

Концентрация реагента Reagent concentration	Концентрация СО кумарина, мг/мл Concentration of standard sample coumarin, mg/mL					
	1	0,5	0,1	0,05	0,01	0,001
5 % NaOH	+	+	+	-	-	-
10 % NaOH	+	+	+	+	+	+
15 % NaOH	+	+	+	+	+	+
20 % NaOH	+	+	+	+	+	+
30 % NaOH	+	+	+	+	+	+

В случае с 5%-м раствором натрия гидроксида не наблюдалось флуоресценции при концентрации кумарина 0,05 мг/мл, при использовании растворов натрия гидроксида 10, 15, 20 и 30 % интенсивность флуоресценции визуально не отличалась, а с возрастанием концентрации реактива наблюдалась деформация фильтровальной бумаги. Таким образом, 10%-й раствор гидроксида натрия был выбран в качестве оптимального, так как обеспечивал возможность обнаружения кумарина во всем исследуемом диапазоне концентраций и не вызывал повреждения хроматографической подложки.

Следующим этапом был подбор оптимального растворителя/экстрагента для проведения испытания (на примере раствора кумарина с концентрацией 0,1 мг/мл в соответствующем растворителе) с последующим испытанием на полоске импрегнированной бумаги. Результаты растворимости и флуоресценции представлены в таблице 2. Даже при неполном растворении кумарина вытяжка соответствующим растворителем давала корректный сигнал, сопоставимый с истинными растворами.

Наблюданное различие в цвете флуоресценции (голубой в органических растворителях и зеленый в водных), вероятно, связано с эффектами сольватации и влиянием полярности среды на электронное состояние продукта реакции. Важно отметить, что сам факт возникновения интенсивной флуоресценции во всех протестированных растворителях подтверждает протекание целевой реакции – щелочного гидролиза кумаринового ядра. Таким образом, цвет флуоресценции может варьировать, но ее наличие является детектируемым признаком. Все протестированные растворители пригодны для проведения анализа, так как обеспечивают надежную детекцию кумарина на уровне исследуемой концентрации (0,1 мг/мл). Для унификации процедуры и получения однородного визуального отклика в качестве стан-

дартного растворителя для последующих экспериментов был выбран 96%-й этанол и кипяченая вода, как наиболее доступный и безопасный вариант.

Использование бумаги, не содержащей оптические отбеливатели, является критически важным, так как последние интенсивно флуоресцируют в УФ-области спектра ($\lambda \sim 365$ нм), создавая высокий фон и маскируя специфический сигнал от анализируемых веществ. В связи с этим для разработки методики была выбрана специальная фильтровальная бумага марки ФС, не содержащая отбеливающих компонентов, что позволило значительно снизить фоновый сигнал и повысить четкость детекции.

Валидация методики

Робастность. Оптимальным временем проведения реакции было 20 с, так как в течение этого времени флуоресценция полностью проявляется, а ее дальнейшая визуальная интенсивность не изменяется.

Правильность. Оценку отсутствия ложноположительных результатов проводили путем анализа четырех проб: лекарственного препарата некумариновой структуры на примере Эксензы®; Эксензы® с добавлением стандартного раствора кумарина (0,1 мг/мл) в соотношении 1:1; раствора кумарина с концентрацией 0,1 мг/мл и холостой пробы (вода очищенная). Все пробы одновременно наносили на полоски фильтровальной бумаги, обработанные реактивом, и проводили детекцию. В результате флуоресценцию давали только пробы со стандартным образцом, в остальных пробах флуоресценция не наблюдалась.

Специфичность. Был проведен анализ фонового сигнала растворителей, потенциально использующихся при растворении или экстракции производных кумарина (вода, вода кипяченая, спирт этиловый 96 %, метанол, ацетонитрил, хлороформ). Поэтому для оценки специфичности часть полосок не

Таблица 2. Выбор оптимального растворителя/экстрагента

Table 2. Selection of the optimal solvent/extractant

Раствор кумарина 1 мг/мл в растворителе <i>Solution of coumarin 1 mg/ml in solvent</i>	Растворимость субстанции Substance solubility	Результат флуоресценции Fluorescence result
Вода очищенная Purified water	Мало растворим Slightly soluble	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Вода очищенная кипяченая (80 °C) Purified boiled water (80 °C)	Растворим Soluble	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Хлороформ Chloroform	Хорошо растворим Highly soluble	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Метанол Methanol	Растворим Soluble	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Спирт этиловый 95 % Ethyl alcohol 95 %	Растворим Soluble	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Ацетонитрил Acetonitrile	Растворим Soluble	Голубая флуоресценция Blue fluorescence

импрегнировали. При нанесении предложенных растворителей на полоски фильтровальной бумаги с реагентом и последующей детекции в УФ-свете не было обнаружено флуоресценции, что говорит об отсутствии фонового влияния растворителя. Далее оценивали сигнал путем тестирования широкого спектра стандартных образцов фенольных соединений: производных кумарина, флавоноидов, гид-

роксикирничных и бензойных кислот, которые накапливаются в растительных объектах вместе с производными кумарина и могут соэкстрагироваться. Результаты представлены в таблице 3.

Проведенные исследования показали, что интенсивная флуоресценция в предлагаемых условиях развивается не только для целевых веществ – производных кумарина, но и для некоторых других фе-

Таблица 3. Оценка параметра «специфичность»

Table 3. Estimation of the Specificity parameter

СО Standard sample	Нанесение СО на полоски без импрегнирующего реактива Application of standard sample to strips without impregnation reagent	Взаимодействие с водным раствором щелочи на полоске Interaction with aqueous alkali solution on a strip	Взаимодействие со спиртовым раствором щелочи на полоске Interaction with alcoholic alkali solution on a strip
Производные кумарина Coumarin derivatives			
Изопимпинеллин Isopimpinellin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубо-зеленая флуоресценция Bluish-green fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Метоксален Methoxsalen	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Кумарин Coumarin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Бергаптен Bergapten	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Псорален Psoralen	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Скополетин Scopoletin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence	Голубо-зеленая флуоресценция Blue-green fluorescence
Умбеллиферон Umbelliferone	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Флавоноиды Flavonoids			
Лютеолин Luteolin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Кверцетин Quercetin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Светло-желтая флуоресценция Light-yellow fluorescence
Кемпферол Kaempferol	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Розарин Rosarin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Мирицетин Myricetin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Рутин Rutin	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Апигенин Apigenin	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence	Желтая флуоресценция через 5– 7 минут Yellow fluorescence after 5–7 mi- nutes	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Гидроксикирничные кислоты Hydroxycinnamic acids			
Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence

СО Standard sample	Нанесение СО на полоски без импрегнирующего реактива Application of standard sample to strips without impregnation reagent	Взаимодействие с водным раствором щелочи на полоске Interaction with aqueous alkali solution on a strip	Взаимодействие со спиртовым раствором щелочи на полоске Interaction with alcoholic alkali solution on a strip
Кумаровая кислота Coumaric acid	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Синяя флуоресценция Blue fluorescence
Феруловая кислота Ferulic acid	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Синяя флуоресценция Blue fluorescence
Кофеинная кислота Caffeic acid	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Розмариновая кислота Rosmarinic acid	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence	Желтая флуоресценция Yellow fluorescence
Коричная кислота Cinnamic acid	Синяя флуоресценция Blue fluorescence	Слабо-зеленая флуоресценция Weak-green fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Синаповая кислота Sinapic acid	Зеленая флуоресценция Green fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Производные бензойной кислоты Benzoic acid derivatives			
Вератровая кислота Veratric acid	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence
Салициловая кислота Salicylic acid	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Протокатеховая кислота Protocatechuic acid	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence
Ванилиновая кислота Vanillic acid	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Отсутствие флуоресценции No fluorescence	Зелено-голубая флуоресценция Greenish-blue fluorescence

нольных соединений, в частности гидроксикоричных кислот и отдельных флавоноидов (апигенин, кемпферол).

На основании результатов можно заключить, что спиртовой раствор щелочи дает сопоставимые результаты с водным, но не устраняет межференцию от гидроксикоричных кислот. Поскольку водный раствор гидроксида натрия показал достаточную эффективность и селективность, прост в приготовлении и не вносит дополнительных органических компонентов, он был выбран в качестве основного реагента для унификации методики.

Таким образом, методика является специфичной для предварительного анализа производных кумарина при выполнении ряда обязательных условий, представленных в схеме на рисунке 1.

Для установления **предела обнаружения (ПО)** в каждый из стандартных растворов кумарина опускали фильтровальную бумагу, импрегнированную 10%-м водным раствором натрия гидроксида, оценивали интенсивность флуоресценции с помощью УФ-фонаря и результат фиксировали фотоснимком в темном помещении. Результаты представлены на рисунке 2 в виде градиентной шкалы.

В ходе определения ПО было установлено, что раствор кумарина в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл не дает явной флуоресценции и ее сложно объективно визуально оценить. Соответственно, ПО кумарина в данных условиях составил $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл.

Апробация методики

Результаты проверки воспроизводимости методики представлены в таблице 4. Подготовленные полоски с нанесенным реагентом (10%-й гидроксида натрия) погружали на 20 с в тестируемые растворы, затем высушивали на воздухе. Как видно из таблицы, производные кумарина различного происхождения были продетектированы в предложенных условиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с широким распространением производных кумарина в продуктах питания и косметике, применением в качестве лекарственных средств, а также их установленной токсичностью разработка доступных методик их оперативного контроля остается актуальной задачей.

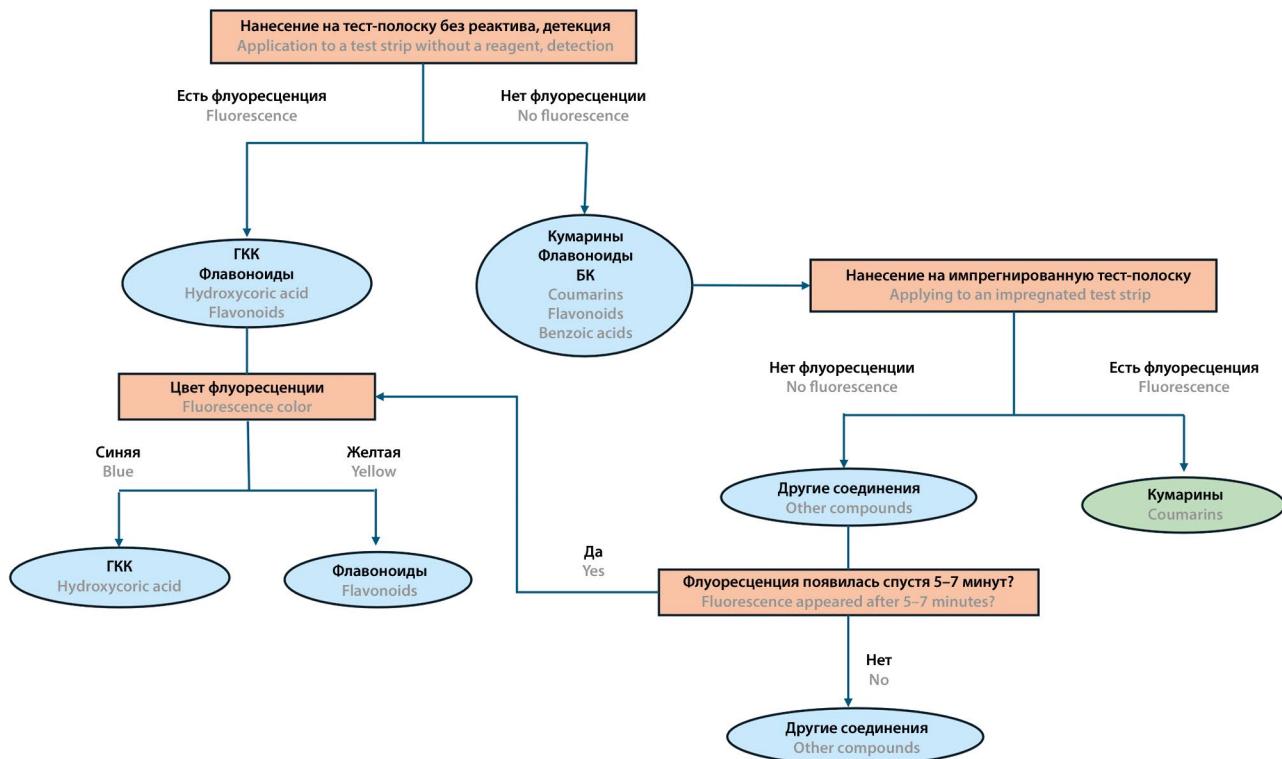


Рисунок 1. Дерево принятия решений для предварительного скрининга производных кумарина полуколичественным методом.

ГКК – гидроксикоричные кислоты, БК – бензойные кислоты

Figure 1. Gradient scale for the semi-quantitative determination of coumarin



Рисунок 2. Градиентная шкала ПО определения кумарина полуколичественным методом

Figure 2. Gradient scale for the semi-quantitative determination of coumarin

В ходе проведенного исследования был разработан и валидирован экспресс-метод полуколичественного определения производных кумарина, основанный на бумажной хроматографии и щелочном гидролизе с последующей УФ-детекцией (365 нм). Были оптимизированы условия анализа: в качестве реактива выбран 10%-й водный раствор натрия гидроксида, а в качестве подложки – фильтровальная бумага, не содержащая оптических отбеливателей.

При проведении валидации методики установлен предел обнаружения кумарина, составляющий $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл; показана ее правильность и специфичность, а также предложен алгоритм действия (дерево принятия решений) для анализа объектов со сложной матрицей.

Методика успешно апробирована на широком круге объектов, включая лекарственные препараты (варфарин), родентициды (бродифакум), парфюмерные отдушки и экстракты растений (корица, бобы тонка, борщевик).

Основными преимуществами предложенной методики являются ее экспрессность (анализ занимает несколько минут), простота выполнения и отсутствие необходимости в дорогостоящем оборудовании.

Таким образом, разработанная методика может быть рекомендована для применения в качестве эффективного инструмента предварительного скрининга на содержание производных кумарина в растительном сырье, готовой продукции и других объектах в условиях производственных или научных лабораторий.

Таблица 4. Проверка воспроизводимости методики
Table 4. Assessment of method reproducibility

Синтетические кумарины Synthetic coumarins	
Варфарин, 0,2 мг/мл Warfarin, 0.2 mg/ml	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Бродифакум, 0,0005 % Brodifacoum, 0.0005 %	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Синтетический кумарин (отдушка), 0,1 мг/мл Synthetic coumarin (fragrance), 0.1 mg/ml	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Растительные индикаторные объекты Plant indicator objects	
Извлечение борщевика Сосновского Extraction of <i>Heracleum sosnowskyi</i>	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Извлечение бобов тонка Extraction of tonka beans	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Извлечение корицы молотой Dr. Bakers Extraction of ground cinnamon Dr. Bakers	Голубая флуоресценция Blue fluorescence
Извлечение сахара с корицей Kotanyu Extraction of sugar with cinnamon Kotanyu	Голубая флуоресценция Blue fluorescence

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhu J.-J., Jiang J.-G. Pharmacological and nutritional effects of natural coumarins and their structure–activity relationships. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2018;62(14):1701073. DOI: 10.1002/mnfr.201701073.
2. Абышев А. З., Нгуен К. Б. Природные ковалентно комбинированные производные 2Н-1-бензопиран-2-она. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;(2):226–234.
3. Panico A., Serio F., Bagordo F., Grassi T., Idolo A., De Giorgi M., Guido M., Congedo M., De Donno A. Skin safety and health prevention: an overview of chemicals in cosmetic products. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. 2019;60(1):E50–E68. DOI: 10.15167/2421-4248/jpmh2019.60.1.1080.
4. Абышев А. З., Журкович И. К., Ивкин Д. Ю., Нгуен К. Б. Синтез, физико-химический анализ и фармакологическая активность некоторых производных варфарина. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2017;(2):192–198.
5. Sharifi-Rad J., Cruz-Martins N., Lopez-Jornet P., Pons-Fuster López E., Harun N., Yeskaliyeva B., Beyatli A., Sytar O., Shaheen S., Sharopov F., Taheri Y., Docea A. O., Calina D., Cho W. C. Natural coumarins: exploring the pharmacological complexity and underlying molecular mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021:6492346. DOI: 10.1155/2021/6492346.
6. Shtratnikova V. Y. Furanocoumarins: history of research, diversity, synthesis, physiological role in the plant, and medical application. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2023;70(7):169. DOI: 10.1134/S1021443723700280.
7. Байдалин М. Е., Сагалбеков У. М., Байдалина С. Е., Алимжанова Ж. К., Жумалиева К. Т. Влияние кумарина на устойчивость донника и способ заготовки корма, снижающий высокую концентрацию кумарина. *Izdenister natigeler*. 2022;4(96):63–72. (In Russ.)
8. Kamal M., Cao Y., Gao J., Li N., Zhao X., Chen L., Zhang J., Cheng Y. Effects of feeding *Melilotus albus* on growth performance, carcass traits, and meat quality of Hu sheep. *Animal Advances*. 2025;2(1):e010. DOI: 10.48130/animadv-0025-0008.
9. Hedges S. C., Vostinaru O., Mogosan C., Miere D., Iuga C. A., Filip L. Safety profile of nutraceuticals rich in coumarins: An update. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:803338. DOI: 10.3389/fphar.2022.803338.
10. Guo P. J., Zhao Y. N., Li J., Liu S. H., Wang Y. L., Wang C. Y. Toxicological research and safety consideration of coumarins. *Zhongguo Zhong yao za zhi = China Journal of Chinese Materia Medica*. 2020;45(3):518–522. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20191014.401.

REFERENCES

1. Zhu J.-J., Jiang J.-G. Pharmacological and nutritional effects of natural coumarins and their structure–activity relationships. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2018;62(14):1701073. DOI: 10.1002/mnfr.201701073.
2. Abyshev A. Z., Nguyen K. B. Natural covalently combined derivatives of 2H-1-benzopyran-2-one. *Drug development & registration*. 2017;(2):226–234. (In Russ.)
3. Panico A., Serio F., Bagordo F., Grassi T., Idolo A., De Giorgi M., Guido M., Congedo M., De Donno A. Skin safety and health prevention: an overview of chemicals in cosmetic products. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*. 2019;60(1):E50–E68. DOI: 10.15167/2421-4248/jpmh2019.60.1.1080.
4. Abyshev A. Z., Zhurkovich I. K., Ivkin D. Yu., Nguyen K. B. Synthesis, physico-chemical analysis and pharmacological activity of some derivatives of warfarin. *Drug development & registration*. 2017;(2):192–198. (In Russ.)
5. Sharifi-Rad J., Cruz-Martins N., Lopez-Jornet P., Pons-Fuster López E., Harun N., Yeskaliyeva B., Beyatli A., Sytar O., Shaheen S., Sharopov F., Taheri Y., Docea A. O., Calina D., Cho W. C. Natural coumarins: exploring the pharmacological complexity and underlying molecular mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021;2021:6492346. DOI: 10.1155/2021/6492346.
6. Shtratnikova V. Y. Furanocoumarins: history of research, diversity, synthesis, physiological role in the plant, and medical application. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2023;70(7):169. DOI: 10.1134/S1021443723700280.
7. Baidalin M. E., Sagalbekov U. M., Baidalina S. E., Alimzhanova Zh. K., Zhumaliyeva K. T. Influence of coumarin on melilot resistance and a method of forage harvesting that reduces high coumarin concentration. *Izdenister natigeler*. 2022;4(96):63–72. (In Russ.)
8. Kamal M., Cao Y., Gao J., Li N., Zhao X., Chen L., Zhang J., Cheng Y. Effects of feeding *Melilotus albus* on growth performance, carcass traits, and meat quality of Hu sheep. *Animal Advances*. 2025;2(1):e010. DOI: 10.48130/animadv-0025-0008.
9. Hedges S. C., Vostinaru O., Mogosan C., Miere D., Iuga C. A., Filip L. Safety profile of nutraceuticals rich in coumarins: An update. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:803338. DOI: 10.3389/fphar.2022.803338.
10. Guo P. J., Zhao Y. N., Li J., Liu S. H., Wang Y. L., Wang C. Y. Toxicological research and safety consideration of coumarins. *Zhongguo Zhong yao za zhi = China Journal of Chinese Materia Medica*. 2020;45(3):518–522. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20191014.401.