

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

ДОСЛІДЖЕННЯ ДУБИЛЬНИХ РЕЧОВИН У СИРОВИНІ ДУДНИКА ЛІСОВОГО І ДЯГЕЛЮ ЛІКАРСЬКОГО МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Вступ. Пошук нових перспективних видів лікарських рослин є актуальним на сучасному етапі розвитку фармацевтичної науки. Одними з маловивчених видів є представники родини селерові (*Ariaceae*) роду Дудник (*Angelica L.*) дудник лікарський, або дягель лікарський (*Angelica archangelica L.*), і дудник лісовий (*Angelica sylvestris L.*). Ці види у народній медицині використовують як відхаркувальний, вітрогінний, потогінний та сечогінний засіб. У наукових публікаціях відомостей про комплексне вивчення даних видів роду Дудник не знайдено.

Мета дослідження – провести визначення дубильних речовин у дягелю лікарського і дудника лісового листках та кореневищах і коренях методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Методи дослідження. Об'єктами вивчення були дягель лікарський і дудника лісового листки та кореневища і корені, які заготовили на території Тернопільської області. Листки заготовляли під час масового цвітіння рослин, підземні органи – після відмирання надземної частини. Якісний склад і кількісний вміст компонентів дубильних речовин у досліджуваних об'єктах визначали методом ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 3D LC System Technologies (США).

Результати й обговорення. У результаті проведених досліджень у дягелю лікарського і дудника лісового листках та кореневищах і коренях ідентифіковано та визначено кількісний вміст 6 компонентів дубильних речовин (4 простих катехинів – галокатехину, епігалокатехину, катехину, епікатехину; 2 складних катехинів – епікатехін галату, катехін галату) і вільних галової та елагової кислот. Найбільший вміст компонентів дубильних речовин спостерігали в дягелю лікарського листках. У дягелю лікарського листках не виявлено катехін галату, в дудника лісового листках – вільної елагової кислоти. У дягелю лікарського та дудника лісового кореневищах і коренях був однаковий склад компонентів дубильних речовин. Вони децю відрізнялися лише за кількісним вмістом. В обох досліджуваних об'єктах не виявлено катехину і катехін галату.

Висновки. Методом ВЕРХ досліджено компонентний склад дубильних речовин дягелю лікарського і дудника лісового листків та кореневищ і коренів. Встановлено, що сировина досліджуваних видів містить вільні галову та елагову кислоти, галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, епікатехін галат, катехін галат. Найбільший вміст компонентів дубильних речовин виявлено в дягелю лікарського листках. У значній кількості в дягелю лікарського листках виявлено такі фармакологічно важливі речовини, як галокатехін та епігалокатехін. Дудника лісового листки і підземні органи досліджуваних видів роду Дудник містили значно менший вміст компонентів дубильних речовин. Дягелю лікарського і дудника лісового підземні органи містили однаковий склад компонентів дубильних речовин, які відрізнялися за кількісним вмістом.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: дубильні речовини; дудник лісовий; дягель лікарський; листки; кореневища і корені; високоефективна рідинна хроматографія.

ВСТУП. Пошук нових перспективних видів лікарських рослин є актуальним на сучасному етапі розвитку фармацевтичної науки. Одними з маловивчених видів є представники родини селерові (*Ariaceae*) роду Дудник (*Angelica L.*) дудник лікарський, або дягель лікарський (*Angelica archangelica L.*), і дудник лісовий (*Angelica sylvestris L.*).

© І. М. Потішний, В. В. Юрків, Л. В. Слободянюк,
С. М. Марчишин, Е. А. Паращук, Л. О. Кравчук, 2022.

За даними літератури, дягелю лікарського підземні органи (кореневища і корені) в народній медицині застосовують як відхаркувальний, жовчогінний, вітрогінний, сечогінний, знеболювальний, протизапальний засіб. Відвар кореневищ і коренів рекомендують як засіб, що тонізує серцево-судинну і центральну нервову системи, поліпшує травлення, стимулює секрецію шлункового та панкреатичного соку, посилює моторну функцію кишечника, пригнічує процеси бродіння [1, 2].

Дудник лісовий у народній медицині використовують як відхаркувальний, вітрогінний, потогінний та сечогінний засіб. Зовнішньо відвар підземних органів застосовують для загально-зміцнювальних ванн, настойку – для розтирань при радикуліті, подагрі та ревматизмі [2].

У попередніх дослідженнях ми встановили, що дудника лісового і дягелю лікарського листки та кореневища і корені містять амінокислоти, сполуки фенольної природи (кумарини, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди), ліпофільні сполуки [3–5]. У наукових публікаціях відомостей про комплексне вивчення цих видів роду Дудник не знайдено.

Мета дослідження – провести визначення дубильних речовин у дягелю лікарського і дудника лісового листках та кореневищах і коренях методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

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

Якісний склад і кількісний вміст компонентів дубильних речовин у досліджуваних об'єктах визначали методом ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 3D LC System Technologies (США) [6–10]. Як рухому фазу використовували сольвент А (0,1 % трифлуороцтова кислота, 5 % ацетонітрил і вода очищена Р, рН розчину – 2,08) та сольвент В (0,1 % трифлуороцтова кислота й ацетонітрил). Режим хроматографування: максимальна швидкість подачі рухомої фази – 0,1 мл/4он; максимальний робочий тиск елюенту – 400 bar (40 кПа); температура термостата колонки – 25 °С; об'єм введеної проби – 5–20 мкл; час хроматографування – 40 хв. Елюювання – градієнтне: 0 хв 100 % "В", 8 хв 12 % "В", 10 хв 12 % "В", 15 хв 25 % "В", 20 хв 25 % "В", 25 хв

75 % "В", 28 хв 75 %, 29 хв 100 %. Час сканування – 0,6 с, діапазон детектування – 190–400 нм, довжина хвилі – 280, 255 нм.

Пробопідготовку проводили таким чином: зважували подрібнену лікарську рослинну сировину масою 1 г (точна наважка), екстрагували 50 мл 95 % розчину метанолу в ультразвуковій бані при 80 КHz та 45 °С протягом 30 хв. Екстракт охолоджували і фільтрували, фільтрат упарювали при 50 °С у роторному випаровувачі. Сухий залишок у 100 мл мобільної фази А перед хроматографуванням фільтрували через мембранний фільтр з діаметром пор 0,45 мкм.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати визначення вмісту компонентів дубильних речовин у сировині дягелю лікарського і дудника лісового наведено в таблиці.

За результатами ВЕРХ-аналізу, в досліджуваних об'єктах ідентифіковано та визначено кількісний вміст 6 компонентів дубильних речовин (4 простих катехінів – галокатехіну, епігалокатехіну, катехіну, епікатехіну; 2 складних катехінів – епікатехін галату, катехін галату) і вільних голової та елагової кислот (рис. 1–4).

Найбільший вміст компонентів дубильних речовин спостерігали в дягелю лікарського листках. У листках цього виду кількісно домінував епікатехін галат, вміст якого становив (1,76±0,04) %, дещо в меншій кількості визначено галокатехін – (1,28±0,04) %. Вміст даних складових дубильних речовин у дудника лісового листках був у 2,3 та 3,0 рази меншим, ніж у дягелю лікарського листках, і становив (0,77±0,02) та (0,42±0,02) % відповідно (див. табл.). У дягелю лікарського листках не виявлено катехін галату, в дудника лісового листках – вільної елагової кислоти.

У дягелю лікарського та дудника лісового кореневищах і коренях був однаковий склад компонентів дубильних речовин. Вони дещо відрізнялися лише за кількісним вмістом. В обох

Таблиця – Компонентний склад дубильних речовин сировини дягелю лікарського і дудника лісового

Назва речовини	Дягель лікарський, листки	Дягель лікарський, кореневища і корені	Дудник лісовий, листки	Дудник лісовий, кореневища і корені
Галова кислота, %	0,10±0,01	0,01±0,001	0,01±0,001	0,01±0,001
Галокатехін, %	1,28±0,04	0,11±0,01	0,42±0,02	0,10±0,01
Епігалокатехін, %	1,76±0,04	0,19±0,02	0,77±0,02	0,37±0,01
Катехін, %	0,17±0,01	н/в	0,05±0,001	н/в
Епікатехін, %	0,30±0,02	0,03±0,002	0,11±0,01	0,05±0,002
Епікатехін галат, %	0,46±0,02	0,10±0,01	0,11±0,02	0,04±0,001
Катехін галат, %	н/в	н/в	0,03±0,001	н/в
Елагова кислота, %	0,03±0,001	0,02±0,001	н/в	0,01±0,001

Примітка. н/в – не виявлено.

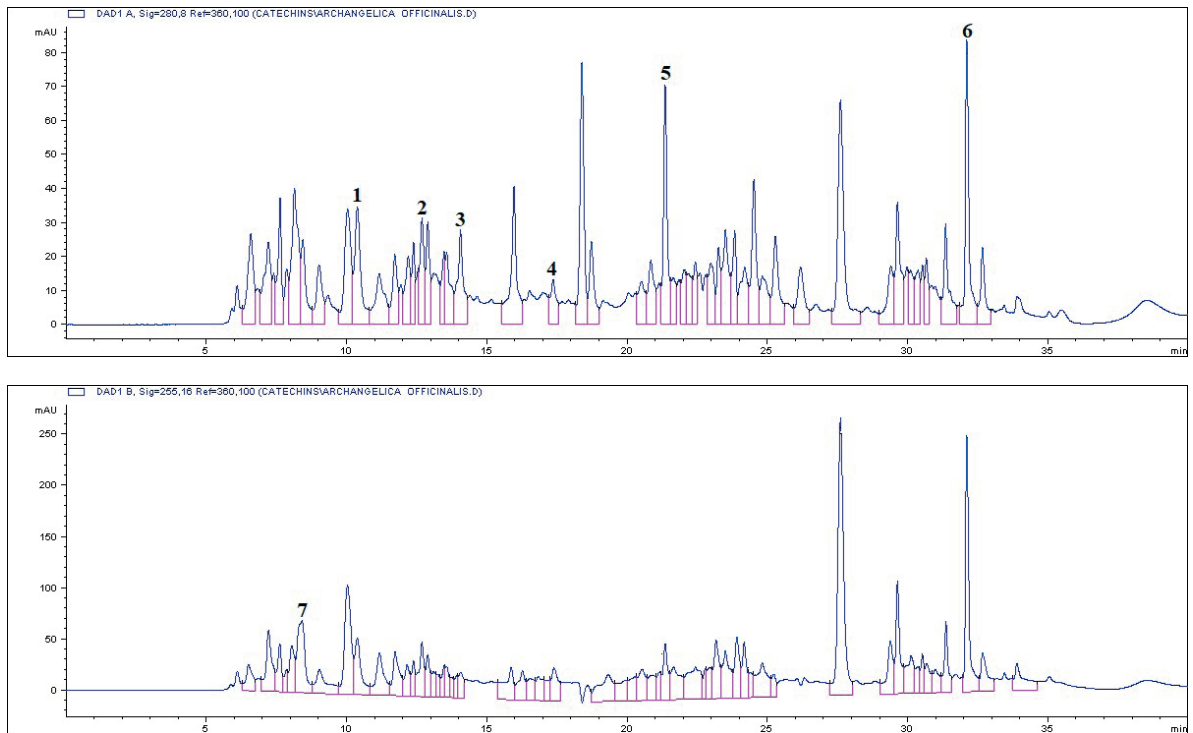


Рис. 1. ВЕРХ-хроматограма дягелю лікарського листків: 1 – галова кислота, 2 – галокатехін, 3 – епігалокатехін, 4 – катехін, 5 – епікатехін, 6 – епікатехін галат, 7 – елагова кислота.

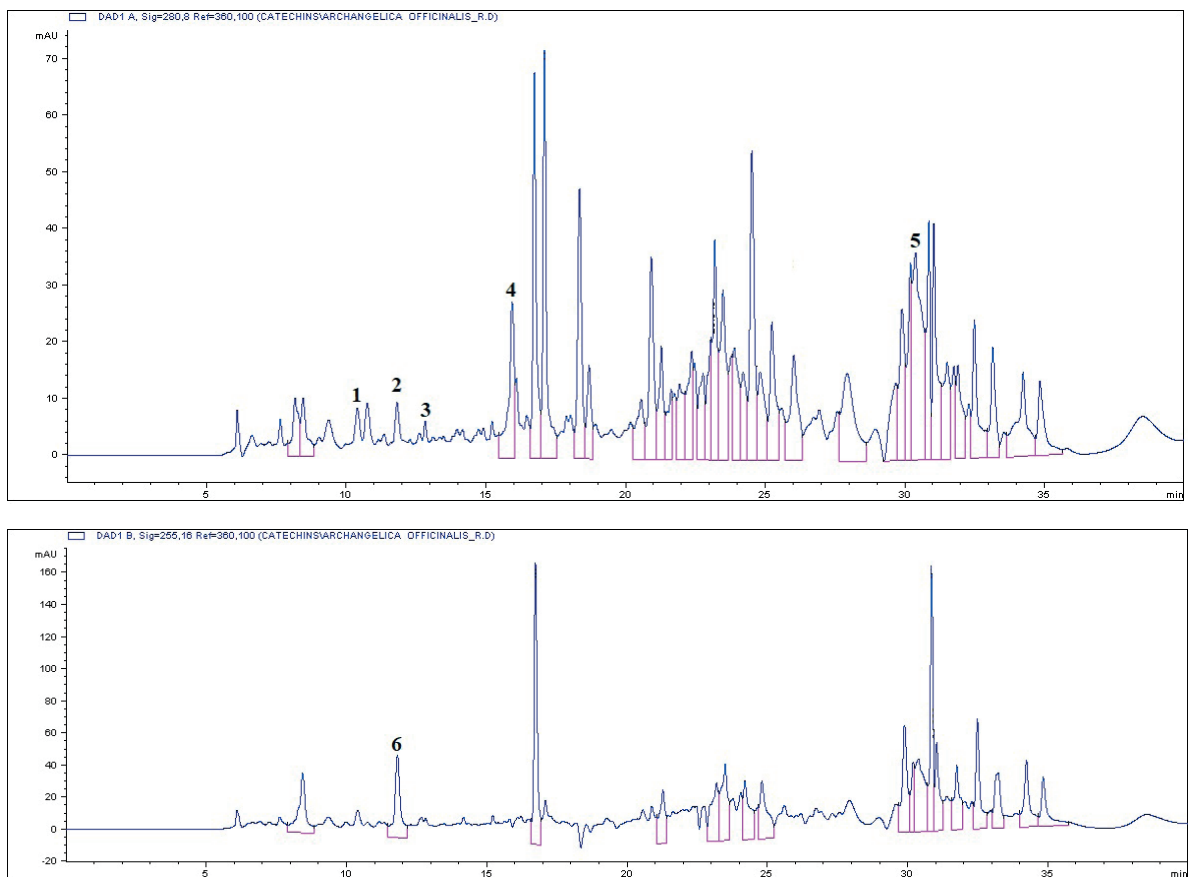


Рис. 2. ВЕРХ-хроматограма дягелю лікарського кореневищ і коренів: 1 – галова кислота, 2 – галокатехін, 3 – епігалокатехін, 4 – епікатехін, 5 – епікатехін галат, 6 – елагова кислота.

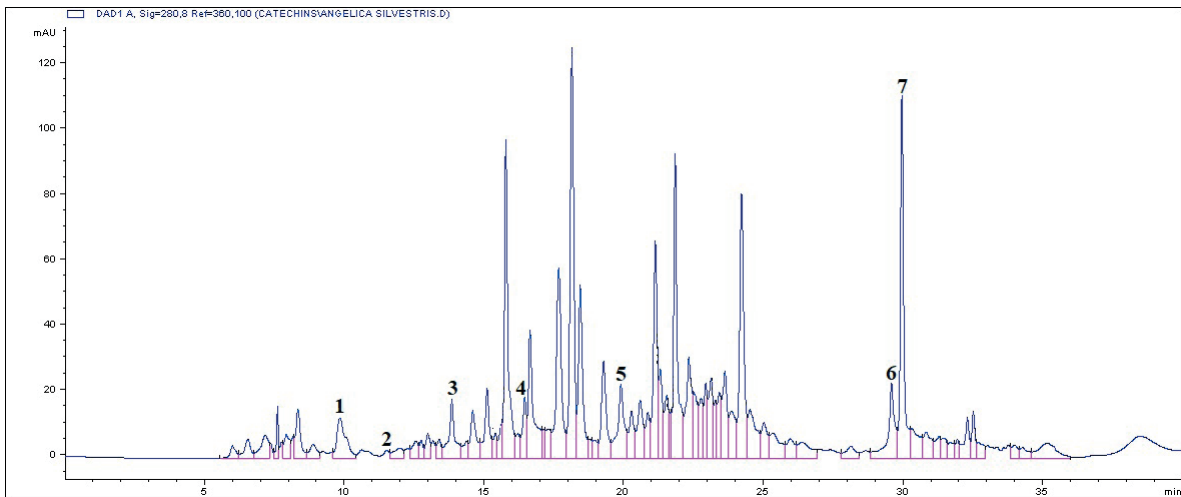


Рис. 3. ВЕРХ-хроматограма дудника лісового листків: 1 – галова кислота, 2 – галокатехін, 3 – епігалокатехін, 4 – катехін, 5 – епікатехін, 6 – катехін галат, 7 – епікатехін галат.

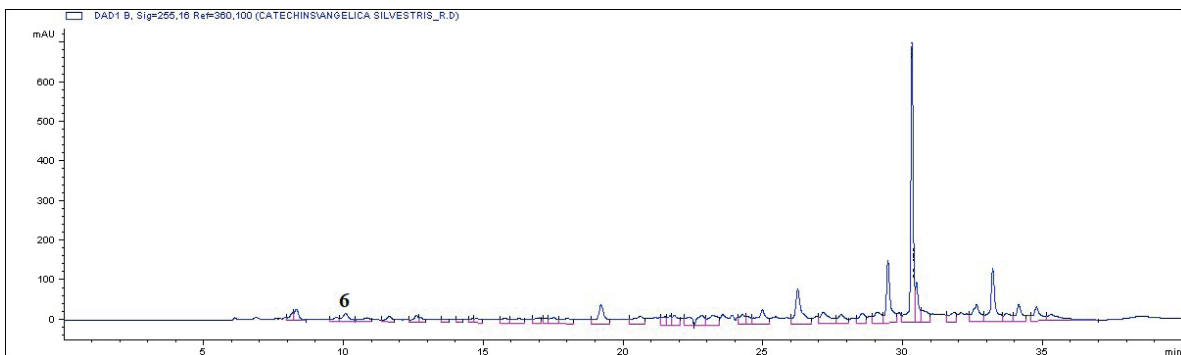
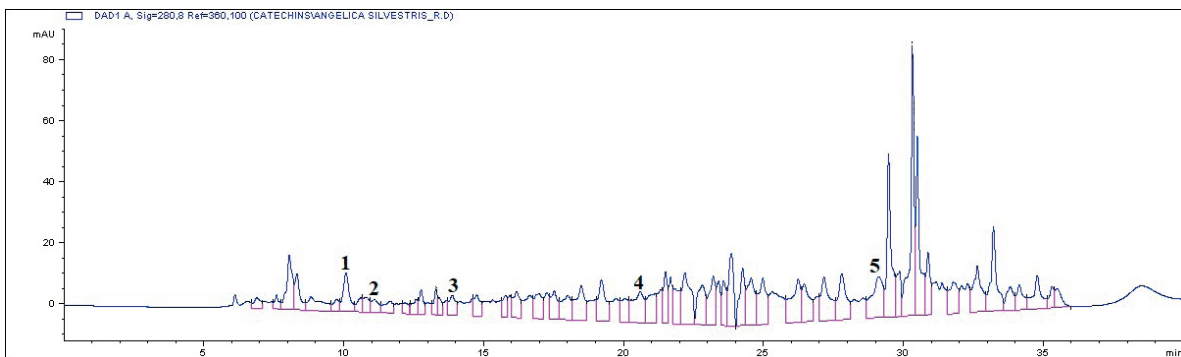


Рис. 4. ВЕРХ-хроматограма дудника лісового кореневищ і коренів: 1 – галова кислота, 2 – галокатехін, 3 – епігалокатехін, 4 – епікатехін, 5 – епікатехін галат, 6 – елагова кислота.

досліджуваних об'єктах не виявлено катехіну і катехін галату.

ВИСНОВКИ. 1. Методом вискоєфективної рідинної хроматографії досліджено компонентний склад дубильних речовин дягелю лікарського і дудника лісового листків та кореневищ і коренів. Встановлено, що сировина досліджуваних видів містить вільні галову та елагову кислоти, галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, епікатехін галат, катехін галат.

2. Найбільший вміст компонентів дубильних речовин виявлено в дягелю лікарського листках. У значній кількості в дягелю лікарського листках виявлено такі фармакологічно важливі речовини, як галокатехін та епігалокатехін. Дудника лісового листки і підземні органи досліджуваних видів роду Дудник містили значно менший вміст компонентів дубильних речовин.

3. Дягелю лікарського і дудника лісового підземні органи містили однаковий склад компонентів дубильних речовин, які відрізнялися за кількісним вмістом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Щавель І. Цілющі рослини України / І. Щавель. – Львів : БаК, 2012. – С. 96–98.
2. Сафонов М. М. Повний атлас лікарських рослин / М. М. Сафонов. – Тернопіль : Навчальна книга – Богдан, 2011. – С. 83–85.
3. 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.
4. Потішний І. М. Дослідження ліпофільної фракції дудника лісового та дягеля лікарського / І. М. Потішний, С. М. Марчишин, І. С. Дахим // Хімія природних сполук : матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (Тернопіль, 21–22 квіт. 2016 р.) / редкол. : С. М. Марчишин, Л. С. Фіра, К. А. Посохова, О. М. Олещук. – Тернопіль : ТДМУ, 2016. – С. 47–48.
5. Потішний І. М. Дослідження компонентного складу кумаринів у сировині дудника лісового / І. М. Потішний, Л. І. Будняк, С. М. Марчишин // Хімія природних сполук : матеріали VI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (Тернопіль, 27–28 жовт. 2022 р.). – Тернопіль : ТНМУ, 2022. – С. 65–66.
6. Гузьо Н. М. Дослідження дубильних речовин парила звичайного / Н. М. Гузьо, Н. П. Ковальська, А. Р. Грицик // *Мед. та клініч. хімія*. – 2019. – 21, № 3. – С. 97–103.
7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-ге вид. – Харків : Державне підприємство “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2015. – Допов. 1. – 1128 с.
8. Investigation of phenolic compounds of *Primula veris* L. / L. G. Shostak, S. M. Marchyshyn, S. S. Kozachok, R. V. Karbovska // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2016. – 6, No. 5. – P. 424–432.
9. Карпюк У. В. Дубильні речовини шкірки та ендосперму насіння гіркокаштану кінського / У. В. Карпюк, В. С. Кисличенко // *Зб. наук. праць співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. – 2015. – Вип. 24 (5). – С. 113–118.
10. Phytochemical and Pharmacological Research in *Agrimonia eupatoria* L. Herb Extract with Anti-Inflammatory and Hepatoprotective Properties / N. Huzio, A. Grytskyk, A. Raal, L. Grytskyk, O. Koshovyi // *Plants*. – 2022. – No. 11. – P. 2371. DOI 10.3390/plants11182371.

REFERENCES

1. Shchavel, I. (2012). *Healing plants of Ukraine*. Lviv: BaK [in Ukrainian].
2. Safonova, M.M. (2011). *Complete atlas of medicinal plants*. Ternopil: Navchalna knyha Bohdan [in Ukrainian].
3. 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.
4. Potishnyi, I.M., Marchyshyn, S.M., Dakhym, I.S. (2016). Study of the lipophilic fraction of wood piper and angelica. *Chemistry of natural compounds: Mater. IV All-Ukrainian scientific and practical conference. with international participation (Ternopil, April 21-22, 2016)* (editor. : S.M. Marchyshyn, L.S. Fira, K.A. Posokhova, O.M. Oleshchuk). Ternopil: TDMU [in Ukrainian].
5. Potishnyi, I.M., Budniak, L.I., Marchyshyn, S.M. (2022). Study of the component composition of coumarins in the raw material of the wood pipe. *Chemistry of natural compounds: materials of the VI All-Ukrainian scientific and practical conference with international participation (Ternopil, October 27-28, 2022)*. Ternopil: TNMU [in Ukrainian].
6. Huzio, N.M., Kovalska, N.P., & Hrytskyk A.R. (2019). Doslidzhennya dubyl'nykh rechovyh paryla zvychnoho [Study of tannins of common steam]. *Medical and Clinical Chemistry*, 21(3), 97-103 [in Ukrainian].
7. State enterprise “Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for the Quality of Medicinal Products (2015). *State Pharmacopoeia of Ukraine, 2nd edition* [in Ukrainian].
8. Shostak, L.G., Marchyshyn, S.M., Kozachok, S.S., & Karbovska, R.V. (2016). Investigation of phenolic compounds of *Primula veris* L. *Journal of Education, Health and Sport*, 6(5), 424-432.
9. Karpiuk, U.V., & Kyslychenko, V.S. (2015). Tannins of the skin and endosperm of bitter horse chestnut seeds. *Coll. of science works of cooperation NMAPO named after P. L. Shupyk*, 24(5), 113-118 [in Ukrainian].
10. Huzio, N., Grytskyk, A., Raal, A., Grytskyk, L., & Koshovyi, O. (2022). Phytochemical and Pharmacological Research in *Agrimonia eupatoria* L. Herb Extract with Anti-Inflammatory and Hepatoprotective Properties. *Plants*, 11, 2371. DOI 10.3390/plants11182371.

STUDY OF TANNINS IN THE RAW MATERIALS OF ANGELICA SYLVESTRIS L. AND ANGELICA ARCHANGELICA L. BY THE HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATODRAPHY

Summary

Introduction. The search for new promising types of medicinal plants is relevant at the current stage of the development of pharmaceutical science. One of the little-studied species are representatives of the celery family (Apiaceae) of the genus *Angelica* (*Angelica* L.), *angelica* (*Angelica archangelica* L.) and *angelica* (*Angelica sylvestris* L.). These species are used in folk medicine as an expectorant, carminative, diaphoretic and diuretic. No information on the comprehensive study of these species of the *Angelica* genus was found in scientific publications.

The aim of the study – to determine the tannins in the leaves and rhizomes and roots of *Angelica archangelica* L. and *Angelica sylvestris* L. by the method of high-performance liquid chromatography (HPLC).

Research Methods. The objects of study were the leaves and rhizomes and roots of the *Angelica archangelica* L. and the *Angelica sylvestris* L., which were collected in the territory of the Ternopil region. Leaves were collected during mass flowering of plants, underground organs – after the death of the above-ground part.

The qualitative composition and quantitative content of tannin components 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 the research conducted in the leaves, rhizomes and roots of the *Angelica archangelica* L. and the *Angelica sylvestris* L., the content of 6 components of tannins (4 simple catechins – gallo catechin, epigallocatechin, catechin, epicatechin; 2 complex catechins – epicatechin gallate and catechin gallate) and free gallate were identified and determined. The highest content of components of tannins was observed in *angelica* leaves. No catechin gallate was detected in the leaves of the *angelica*, and free ellagic acid was found in the leaves of the *Angelica sylvestris* L. The rhizomes and roots of the *Angelica archangelica* L. and the *Angelica sylvestris* L. had the same composition of tannin components. They differed slightly only in quantitative content. Catechin and catechin gallate were not detected in both studied objects.

Conclusions. The component composition of the tannins of the *Angelica archangelica* L. and the *Angelica sylvestris* L. leaves, rhizomes and roots was investigated using the HPLC method. It was established that the raw materials of the studied species contain free gallic and ellagic acids, gallo catechin, epigallocatechin, catechin, epicatechin, epicatechin gallate, catechin gallate. The highest content of tannins was found in *Angelica archangelica* L. leaves. Such pharmacologically important substances as gallo catechin and epigallocatechin were found in significant quantities in *Angelica archangelica* L. leaves. The *Angelica sylvestris* L. leaves and underground organs of the studied species of the *Angelica* genus contained a much lower content of tannin components. The underground organs of the *Angelica archangelica* L. and the *Angelica sylvestris* L. contained the same composition of components of tannins, which differed in their quantitative content.

KEY WORDS: tannins; *Angelica sylvestris* L.; *Angelica archangelica* L.; leaves; rhizomes and roots; high performance liquid chromatography.

Отримано 12.08.22

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