

ДОСЛІДЖЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ ВОЛОВИКА ЛІКАРСЬКОГО (*ANCHUSA OFFICINALIS* L.)

Вступ. Пошук нових видів лікарської рослинної сировини – перспективний напрямок сучасної фармацевтичної науки. Для впровадження рослини в лікувальну практику потрібен системний підхід до її вивчення. Воловик лікарський містить широкий спектр біологічно активних речовин, зокрема фенольні сполуки, сапоніни, полісахариди, слиз, карбонові кислоти, алкалоїди, вітаміни. Значна кількість сучасних експериментальних досліджень фармакологічної активності воловика лікарського та досвід його використання в народній медицині країн світу вказують на необхідність поглибленого вивчення цієї рослини.

Мета дослідження – вивчити вуглеводи воловика лікарського, визначити кількісний вміст фракцій полісахаридів та встановити їх мономерний склад.

Методи дослідження. Кількісний вміст полісахаридів у зразках сировини визначали гравіметрично. Якісний склад вуглеводів вивчали методами паперової та тонкошарової хроматографії.

Результати й обговорення. Результати аналітичних реакцій вказують на наявність вільних цукрів та водорозчинних полісахаридів у досліджуваних зразках сировини. Вміст полісахаридів у траві воловика лікарського, заготовленій у різних місцях зростання, відрізняється, що свідчить про вплив умов зростання рослини на накопичення в ній групи біологічно активних речовин. Серед фракцій полісахаридів трави і коренів воловика лікарського зафіксовано найбільший вміст геміцелюлози А. Згідно з результатами проведеного хроматографічного аналізу, в сировині цієї рослини ідентифіковано вільні цукри: D-глюкозу і D-фруктозу, а у фракціях полісахаридів – нейтральні та кислі цукри: D-глюкозу, D-фруктозу, L-рамнозу, D-ксилозу, L-арабінозу і D-галактуранову кислоту.

Висновки. За допомогою реакцій ідентифікації встановлено наявність вільних цукрів і полісахаридів у траві та коренях воловика лікарського. Кількісний вміст полісахаридів у сировині визначено гравіметричним методом. Встановлено, що у траві рослини міститься 6,57–9,39 % полісахаридів, а в коренях – 0,67–0,78 % залежно від місця зростання та року заготівлі. Із сировини воловика лікарського одержано водорозчинні полісахариди, пектинові речовини, геміцелюлози А та Б і встановлено їх кількісний вміст. Найвищі показники зафіксовано для фракції геміцелюлози А – в траві та коренях 32,29 і 12,26 % відповідно. Визначено якісний склад вільних цукрів та фракцій полісахаридів трави і коренів воловика лікарського. В об'єктах дослідження ідентифіковано D-глюкозу, D-фруктозу, L-рамнозу, D-ксилозу, L-арабінозу та D-галактуранову кислоту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: воловик лікарський (*Anchusa officinalis* L.); полісахариди; моносахариди.

ВСТУП. Пошук нових видів лікарської рослинної сировини – перспективний напрямок сучасної фармацевтичної науки. Для впровадження рослини в лікувальну практику потрібен системний підхід до її вивчення.

Anchusa L. є одним із найбільших родів, зосереджених у Середземномор'ї. Рослини роду Воловик зростають переважно в Європі, Західній Азії і Тропічній Африці. Основним центром їх різноманіття є південна частина Балканського півострова, де певні таксони проявляють високий рівень поліморфізму [1, 2].

Згідно з даними найсучаснішого джерела систематики і таксономії рослин України – До- © А. Р. Грицик, С. П. Свірська, 2018.

відника назв рослин України та з урахуванням поправок, наведених в авторитетних вітчизняних та зарубіжних джерелах, встановлено, що на території України зростає 11 видів роду Воловик [3–5]. До них належить воловик лікарський (*Anchusa officinalis* L.), ареалом зростання якого є поля, узбіччя доріг, забур'янені та піщані місця в лісостепових районах Правобережжя і Полісся, рідше – Степу [1].

Воловик лікарський містить широкий спектр біологічно активних речовин. Серед них фенольні сполуки, сапоніни, полісахариди, слиз, карбонові кислоти, алкалоїди, вітаміни [1, 6]. У минулому воловик лікарський (*Bugloss*, *Ox-tongue*) був офіційною рослиною і в медицині засто-

совували його траву під назвою *Herba lingulae bovis*, а також корені, траву та квіти під давньою назвою *Radix, Herba et Flos buglossi* [1]. Значна кількість сучасних експериментальних досліджень фармакологічної активності воловика лікарського та досвід його використання в народній медицині країн світу вказують на необхідність поглибленого вивчення цієї рослини.

Мета дослідження – вивчити вуглеводи воловика лікарського, визначити кількісний вміст фракцій полісахаридів та встановити їх мономерний склад.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктами дослідження були трава і корені воловика лікарського, заготовлені у фазу масового цвітіння рослини та відмирання надземної частини відповідно, отримані фракції полісахаридів. Наявність вільних цукрів встановлювали за допомогою реакції з мідно-тарtratним реактивом, полісахаридів – з 96 % етанолом [7].

Кількісне визначення полісахаридів у зразках сировини воловика лікарського проводили гравіметрично за методикою ДФУ, стаття "Подорожника великого листя" [8].

Якісний склад вуглеводів вивчали методами паперової та тонкошарової хроматографії у водних витяжках сировини на папері марки "Filtrak FN-1" зі зразками нейтральних моносахаридів у системах розчинників: *n*-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2), *n*-бутанол – етанол – вода – 25 % розчин аміаку (40:10:49:1), ізопропіловий спирт – аміак (7:3), етилацетат – оцтова кислота – мурашина кислота – вода (18:3:1:4) і в тонкому шарі сорбенту на пластинках "Sorbfil" у системі розчинників *n*-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2). Кислі моносахариди визначали на пластинках "Sorbfil" у системі розчинників *n*-бутанол – етанол – 0,1 % розчин хлористоводневої кислоти (1:10:5).

Фракційний склад полісахаридів вивчали гравіметрично [9]. Для розділення фракцій використовували повітряно-сухий шрот після очищення сировини хлороформом в апараті Сокслета і трикратної екстракції фенольних сполук 70 % спиртом етиловим у співвідношенні 1:10. Шрот сировини екстрагували послідовно водою очищеною, 0,15 % розчином хлористоводневої кислоти та 10 % розчином натрію гідроксиду. Отримані фракції осаджували трикратним об'ємом 96 % спирту етилового. Утворені осадки центрифугували при 3000 об./хв, фільтрували, висушували в термостаті при температурі 40 °С і зважували. Вміст фракцій розраховували за формулою:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де m – маса наважки випробовуваної сировини, г;

m_1 – маса фільтра, г;

m_2 – маса фільтра із залишком, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Для встановлення мономерного складу фракції гідролізували 20 % розчином сульфатної кислоти на киплячому водяному нагрівнику впродовж 5 год (хід роботи контролювали хроматографічно). Гідролізати нейтралізували насиченим розчином барію гідроксиду до нейтральної реакції за універсальним індикатором. Розчини фільтрували, фільтри й осадки промивали водою. Фільтрати випарювали до сухого залишку. Залишок розчиняли в 70 % етанолі й наносили на хроматограму.

Як свідки використовували пентози: L-арабінозу і D-ксилозу; гексози: D-глюкозу, D-фруктозу та L-рамнозу; уронові кислоти: D-галактуронову і D-глюкуронову. Проявником для ідентифікації моносахаридів був розчин анілінфталату. Через 10–15 хв нагрівання в сушильній шафі при 100–105 °С спостерігали появу червоно-коричневих та червоних плям моносахаридів.

Статистичний аналіз результатів здійснювали відповідно до вимог ДФУ (2-ге видання, Т. 1), застосовуючи метод варіаційної статистики з врахуванням середнього арифметичного і його стандартної похибки. У процесі роботи користувалися програмами Windows – MS Excel 2007 і Statistica – 6,0. Достовірність порівнюваних величин оцінювали за критерієм Стьюдента, рівень імовірності взято $p \leq 0,05$ [10].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Внаслідок реакції водних витяжок трави та коренів воловика лікарського з мідно-тарtratним реактивом утворюються цегельно-червоні осадки купруму (I) оксиду, при взаємодії витяжок із концентрованим етанолом – аморфні осадки. Отримані результати реакцій свідчать про наявність вільних цукрів та водорозчинних полісахаридів у досліджуваних зразках сировини.

Результати визначення кількісного вмісту полісахаридів у траві воловика лікарського наведено в таблиці 1.

Аналіз даних таблиці 1 показує, що вміст полісахаридів у траві воловика лікарського, зібраній у с. Вістова і с. Хриплин, у середньому вищий від вмісту полісахаридів у траві, зібраній у с. Млинівці. Це свідчить про вплив умов зростання рослини на накопичення в ній групи біологічно активних речовин.

Метрологічну характеристику методу визначення кількісного вмісту полісахаридів у траві воловика лікарського наведено в таблиці 2.

Таблиця 1 – Вміст полісахаридів у траві воловика лікарського

Місце зростання	Рік заготівлі		
	2015	2016	2017
	вміст полісахаридів, %, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, n=5		
Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	9,02±0,18	8,32±0,12	8,89±0,25
Тернопільська область, Кременецький район, с. Млинівці	7,24±0,11	6,57±0,22	7,40±0,07
Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	8,54±0,02	8,21±0,18	9,39±0,24

Таблиця 2 – Метрологічна характеристика методу визначення кількісного вмісту полісахаридів у траві воловика лікарського

n	f	S ²	S _{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	ε, %
5	4	0,007650	0,0391152	0,95	2,776	9,39±0,24	2,56

Результати визначення кількісного вмісту полісахаридів у коренях воловика лікарського наведено в таблиці 3.

із наведених місць зростання істотно не відрізняється.

Дані, представлені в таблиці 3, свідчать про те, що вміст полісахаридів у зразках сировини

Метрологічну характеристику методу визначення кількісного вмісту полісахаридів у коренях воловика лікарського наведено в таблиці 4.

Таблиця 3 – Вміст полісахаридів у коренях воловика лікарського

Місце зростання	Рік заготівлі		
	2015	2016	2017
	вміст полісахаридів, %, $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, n=5		
Івано-Франківська область, Калуський район, с. Вістова	0,67±0,04	0,72±0,05	0,75±0,04
Івано-Франківська область, Тисменицький район, с. Хриплин	0,78±0,03	0,71±0,04	0,74±0,05

Таблиця 4 – Метрологічна характеристика методу визначення кількісного вмісту полісахаридів у коренях воловика лікарського

n	f	S ²	S _{xc}	P	t (P, f)	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	ε, %
5	4	0,0003244	0,0080552	0,95	2,776	0,74±0,05	6,76

Фракції полісахаридів сировини воловика лікарського виділяли у зразках трави та коренів рослини, заготовлених у с. Вістова Калуського району Івано-Франківської області у 2016 р.

Вихід фракцій водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, геміцелюлоз А і Б у перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках представлено на рисунку.

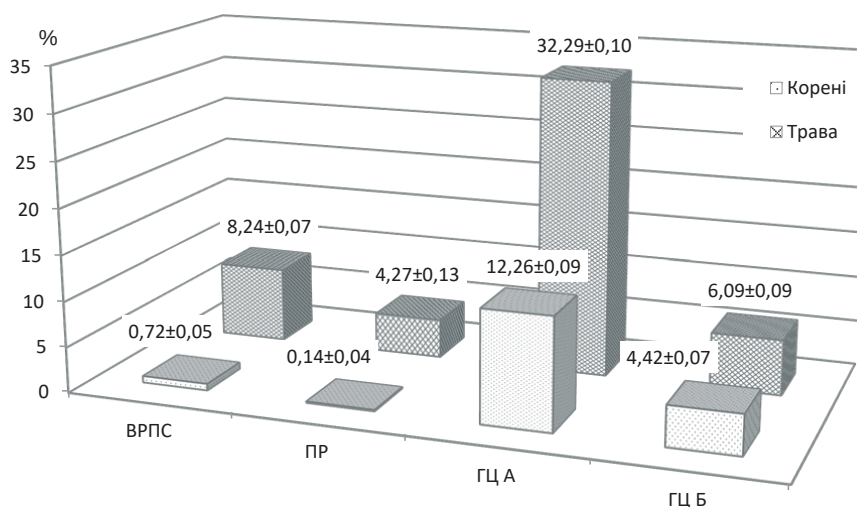


Рис. Вміст фракцій полісахаридів у сировині воловика лікарського.

Примітка. ВРПС – водорозчинні полісахариди; ПР – пектинові речовини; ГЦ А – геміцелюлоза А; ГЦ Б – геміцелюлоза Б.

Як свідчать дані рисунка, серед фракцій полісахаридів трави і коренів воловика лікарського зафіксовано найбільший вміст геміцелюлози А.

Згідно з результатами проведеного хроматографічного аналізу, в сировині цієї рослини ідентифіковано вільні цукри: D-глюкозу і D-фруктозу, а у фракціях полісахаридів – нейтральні та кислі цукри: D-глюкозу, D-фруктозу, L-рамнозу, D-ксилозу, L-арабінозу і D-галактуранову кислоту.

ВИСНОВКИ. 1. За допомогою реакцій ідентифікації встановлено наявність вільних цукрів і полісахаридів у траві та коренях воловика лікарського.

2. Кількісний вміст полісахаридів у сировині воловика лікарського визначено гравіметричним методом. Встановлено, що у траві рослини міститься 6,57–9,39 % полісахаридів, а в коре-

нях – 0,67–0,78 % залежно від місця зростання та року заготівлі.

3. Із сировини воловика лікарського одержано водорозчинні полісахариди, пектинові речовини, геміцелюлози А та Б і встановлено їх кількісний вміст. Найвищі показники зафіксовано для фракції геміцелюлози А – в траві та коренях 32,29 і 12,26 % відповідно.

4. Визначено якісний склад вільних цукрів та фракцій полісахаридів трави і коренів воловика лікарського. В об'єктах дослідження ідентифіковано такі моносахариди: D-глюкозу та D-фруктозу і зв'язані моносахариди: D-глюкозу, D-фруктозу, L-рамнозу, D-ксилозу, L-арабінозу та D-галактуранову кислоту.

Перспективи подальших досліджень. Отримані дані будуть використані для подальшого дослідження сировини воловика лікарського та для розробки методик контролю якості на даний вид сировини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Грицик А. Р. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія : монографія / А. Р. Грицик, С. П. Свірска. – Івано-Франківськ : Видавець Кушнір Г. М., 2017. – 109 с.

2. Hilger H. Molecular systematics of *Boraginaceae* tribe *Boragineae* Based on ITS1 and TRNL sequences, with special reference to *Anchusa* L. / H. Hilger, F. Selvi, A. Papini, M. Bigazzi // *Annals of Botany*. – 2004. – No. 94. – P. 201–212.

3. Довідник назв рослин України [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://econtsh.astra.in.ua/system.php?lang=ua>.

4. Mosyakin S. L. Vascular plants of Ukraine: a nomenclatural checklist / S. L. Mosyakin, M. M. Fedoronchuk // *National Academy of Sciences of Ukraine, M. G. Kholodny Institute of Botany*. – К., 1999. – 345 p.

5. The Plant List. Version 1.1. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Anchusa>

6. Лікарські рослини : енцикл. довід. / [А. П. Лебеда, Н. І. Джуренко, О. П. Ісайкіна та ін.] ; за ред.

А. М. Гродзінського. – К. : УРЕ ім. М. П. Бажана: Укр. вироб.-комерц. центр "Олімп", 1992. – 543 с.

7. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини : навч. посіб. / [В. М. Ковальов, С. М. Марчишин, О. П. Хворост та ін.] ; за ред. В. М. Ковальова, С. М. Марчишин. – Тернопіль : ТДМУ, 2014. – 264 с.

8. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". – 2-ге вид. – Х. : ДП "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2014. – Т. 3. – С. 227–229.

9. Кисличенко В. С. Вивчення полісахаридів плодово-ягідних рослин – яблуні домашньої та винограду культурного / В. С. Кисличенко, О. М. Новосел, А. Абуясеф // *Фізіологічно активні речовини*. – 2001. – № 1 (31). – С. 70–73.

10. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". – 2-ге вид. – Х. : ДП "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2014. – Т. 1. – С. 881–909.

REFERENCES

1. Hrytsyk, A.R. & Svirskaya, S.P. (2017). *Pryroda likuie... Roslynyrodu Volovyk: botanichna kharakterystyka, sklad ta farmakolohichna diia [Nature treats ... Anchusa genus plants: botanical characteristics, composition and pharmacological activity]*. Ivano-Frankivsk: Vydavets Kushnir H.M. [in Ukrainian].

2. Hilger, H., Selvi, F., Papini, A., & Bigazzi, M. (2004). Molecular systematics of *Boraginaceae* tribe *Boragineae* based on ITS1 and TRNL sequences, with special reference to *Anchusa* L. *Annals of Botany*, 94, 201-212.

3. *Dovidnyk nazv roslyn Ukrainy [Directory of Plant Names of Ukraine]*. Retrieved from: <http://ekontsh.civicua.org/system.php?lang=ua> [in Ukrainian].

4. Mosyakin, S.L. & Fedoronchuk, M.M. (1999). *Vascular plants of Ukraine: a nomenclatural checklist*. Kyiv: National Academy of Sciences of Ukraine, M. G. Kholodny Institute of Botany.
5. *The Plant List. Version 1.1*. Retrieved from: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Anchusa>
6. Hrodzinskyi, A.M. (Ed.). (1992). *Likarski roslyny: Entsyklopedychnyi dovidnyk [Medicinal plants: an encyclopedic guide]*. Kyiv: URE im. M.P. Bazhana [in Ukrainian].
7. Kovalova, V.M. & Marchyshyn, S.M. (2014). *Praktykum z identyfikatsii likarskoi roslynnoi syrovyny [The workshop on identification of medicinal plant material]*. Ternopil: TDMU [in Ukrainian].
8. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [State Pharmacopoeia of Ukraine]*. (2014). (2th ed., Vol. 3). Kharkiv: DP "Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv [in Ukrainian].
9. Kyslychenko, V.S., Novosel, O.M. & Abuiusef, A. (2001). Vyvchennia polisakharydiv plodovo-yahidnykh roslin – yabluni domashnoi ta vynuohradu kulturnoho [Investigation of fruit-berry plants polysaccharides – *Malus domestica* L. and *Vitis vinifera* L.]. *Fiziologichno aktyvni rechovyny – Physiologically Active Substances*, 1 (31), 70-73 [in Ukrainian].
10. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [State Pharmacopoeia of Ukraine]*. (2014). (2th ed., Vol. 1). Kharkiv: DP "Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv [in Ukrainian].

А. Р. Грицык, С. П. Свирская

ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИССЛЕДОВАНИЕ УГЛЕВОДОВ ВОЛОВИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО (*ANCHUSA OFFICINALIS* L.)

Резюме

Вступление. Поиск новых видов лекарственного растительного сырья – перспективное направление современной фармацевтической науки. Для внедрения растения в лечебную практику нужен системный подход к ее изучению. Воловик лекарственный содержит широкий спектр биологически активных веществ, в частности фенольные соединения, сапонины, полисахариды, слизь, карбоновые кислоты, алкалоиды, витамины. Значительное количество современных экспериментальных исследований фармакологической активности воловика лекарственного и опыт его использования в народной медицине стран мира указывают на необходимость углубленного изучения этого растения.

Цель исследования – изучить углеводы воловика лекарственного, определить количественное содержание фракций полисахаридов и установить их мономерный состав.

Методы исследования. Количественное содержание полисахаридов в образцах сырья определяли гравиметрически. Качественный состав углеводов изучали методами бумажной и тонкослойной хроматографии.

Результаты и обсуждение. Результаты аналитических реакций указывают на наличие свободных сахаров и водорастворимых полисахаридов в исследуемых образцах сырья. Содержание полисахаридов в траве воловика лекарственного, заготовленной в разных местах произрастания, отличается, что свидетельствует о влиянии условий произрастания растения на накопление в нем группы биологически активных веществ. Среди фракций полисахаридов травы и корней воловика лекарственного зафиксировано наибольшее содержание гемицеллюлозы А. Согласно результатам проведенного хроматографического анализа, в сырье этого растения идентифицировано свободные сахара: D-глюкозу и D-фруктозу, а во фракциях полисахаридов – нейтральные и кислые сахара: D-глюкозу, D-фруктозу, L-рамнозу, D-ксилозу, L-арабинозу и D-галактурановую кислоту.

Выводы. С помощью реакций идентификации установлено наличие свободных сахаров и полисахаридов в траве и корнях воловика лекарственного. Количественное содержание полисахаридов в сырье определено гравиметрическим методом. Установлено, что в траве растения содержится 6,57–9,39 % полисахаридов, а в корнях – 0,67–0,78 % в зависимости от места произрастания и года заготовки. Из сырья воловика лекарственного извлечены водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлозы А и Б и установлено их количественное содержание. Самые высокие показатели зафиксированы для фракции гемицеллюлозы А – в траве и корнях 32,29 и 12,26 % соответственно. Определен качественный состав свободных сахаров и фракций полисахаридов травы и корней воловика лекарственного. В объектах исследования идентифицировано D-глюкозу, D-фруктозу, L-рамнозу, D-ксилозу, L-арабинозу и D-галактурановую кислоту.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: воловик лекарственный (*Anchusa officinalis* L.); полисахариды; моносахариды.

THE INVESTIGATION OF ANCHUSA OFFICINALIS L. CARBOHYDRATES

Summary

Introduction. The research of new plant raw materials is a promising direction in a modern pharmaceutical science. *Anchusa officinalis* L. contains a wide range of biologically active substances. The plenty of modern experimental studies of *Anchusa officinalis* L. pharmacological activity and the experience of its use in the folk medicine indicate a necessity of its detailed investigation.

The aim of the study – to explore the carbohydrates of *Anchusa officinalis* L., quantify polysaccharides' fractions content and define its monomer composition.

Research Methods. The gravimetric method was used to quantify polysaccharides. Qualitative composition of carbohydrates was studied using methods of paper and thin-layer chromatography.

Results and Discussion. The results of analytical reactions indicate the presence of free sugars and water-soluble polysaccharides in the investigated samples of *Anchusa officinalis* L. The amount of polysaccharides in *Anchusa officinalis* L. harvested from different places vary because of the influence of plant growth conditions on the accumulation of biologically active substances. The highest amount of polysaccharides fractions was recorded for hemicellulose A. Free sugars (D-glucose and D-fructose) were identified in the *Anchusa officinalis* L. raw material. In the polysaccharide fractions the neutral and acidic sugars were identified: D-glucose, D-fructose, L-rhamnose, D-xylose, L-arabinose and D-galacturonic acid.

Conclusions. Free sugars and polysaccharides in *Anchusa officinalis* L. were revealed. The herb contains 6.57–9.39 % polysaccharides, and the roots – 0.67–0.78 %, depending on the place of growth and the year of harvesting. Water-soluble polysaccharides, pectin substances, hemicelluloses A and B were obtained from the raw material of *Anchusa officinalis* L. The highest rates were recorded for the hemicellulose A – 32.29 % and 12.26 % in the herb and roots, respectively. The qualitative composition of free sugars and fractions of polysaccharides was determined.

KEY WORDS: *Anchusa officinalis* L.; polysaccharides; monosaccharides.

Отримано 19.04.18

Адреса для листування: А. Р. Грицик, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76018, Україна, e-mail: grusuk@ukr.net.