

Рекомендована д. фармац. наук, проф. В. М. Ковальовим

УДК 582.929.4:577.124.4

## ВИВЧЕННЯ ВОДРОЗОЧИННИХ ПОЛІСАХАРИДІВ ЧЕБРЕЦЮ ПОВЗУЧОГО

© Н. О. Зарівна, Л. В. Вронська, М. Б. Чубка

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

**Резюме:** наведено результати якісного і кількісного вивчення полісахаридів та відновлювальних моносахаридів у лікарській рослинній сировині чебрецю повзучого.

**Ключові слова:** чебрець повзучий, водорозчинні полісахариди, гравіметрія, спектрофотометрія.

**Вступ.** За даними різних джерел, чебрець повзучий (*Thymus serpyllum*) родини Губоцвіті (*Lamiaceae*) містить флавоноїди, амінокислоти, дубильні речовини, фенолокислоти, ефірну олію, які у комплексі зумовлюють різносторонню фармакологічну активність [1, 2]. Лікарські засоби, зареєстровані на основі чебрецю, містять його екстракти, отримані за допомогою різних екстрагентів (вода, водно-спиртові розчини): Стоптусин фіто (рідкий спиртовий екстракт), Гербіон сироп первоцвіту (водний екстракт), Бронхіал плюс з алтеєю, чебрецем і вітаміном С (рідкий спиртовий екстракт), Пертусин (рідкий спиртовий екстракт), Пекторал (спиртовий екстракт чебрецю) тощо. Кожен з виробників, вибираючи той чи інший екстрагент, керувався завданням вилучення певних БАР, які, на його думку, найефективніше діяли б при захворюваннях верхніх дихальних шляхів [3].

Якість трави чебрецю, за вимогами Державної фармакопеї України, регламентується вмістом ефірної олії та її компонентів [4]. Попередніми дослідженнями встановлено, що у витягах із трави чебрецю, отриманих за допомогою води і розчинів з низькими концентраціями спирту, наявні полісахариди [5]. У доступних літературних джерелах немає відомостей про полісахариди чебрецю повзучого, оскільки його сировина завжди позиціонувалась як ефірно-олійна і об'єктом різноманітних досліджень була ефірна олія, а окремі роботи стосувались вивчення флавоноїдного складу [6]. Досвід ефективного застосування готових лікарських засобів на основі чебрецю, отриманих при використанні низьких концентрацій спиртів або води як екстрагентів, нашою групою на пошук інших класів БАР, відповідальних за муколітичну дію і присутніх у траві. Полісахариди за природою є гідрофільним класом сполук і мають муколітичну та секретолітичну та інші види активності [7, 8].

Тому метою нашої роботи було дослідження складу і вмісту полісахаридів у сировині чебрецю повзучого.

**Методи дослідження.** Для дослідження використовували ЛРС різних серій Житомирської ФФ «Ліктрави» (с. 61010; с. 40810; с. 30111) та дикорослі зразки сировини, зібрані у різних регіонах.

Вивчали фракцію водорозчинних полісахаридів. Водне вилучення з трави чебрецю повзучого, яке містить цю фракцію полісахаридного комплексу, отримували після попереднього знежирення сировини хлороформом і вилучення поліфенольних сполук 96 % спиртом.

Вивчення якісного складу полісахаридів у водорозчинному полісахаридному комплексі проводили, виконуючи якісні реакції, а моносахариди, отримані після гідролізу, досліджували методом тонкошарової хроматографії. Хроматографічні дослідження проводили на хроматографічних пластинках Silica gel 60 F<sub>254</sub> ("Merck", Німеччина) з використанням рухомої фази вода Р – ацетонітрил Р (15:85) та обробкою пластин розчином тимолу (0,5 г тимолу, 0,5 мл кислоти сірчаної Р, 95 мл 96 % спирту). Як свідки застосовували стандартні зразки глюкози, фруктози, арабінози, ксилози, рамнози, галактози, глюкуронової і галактуронової кислот.

Кількісне визначення полісахаридів у сировині та в рідкому екстракті чебрецю повзучого проводили гравіметрично, а вміст відновлюючих моносахаридів спектрофотометрично [9, 10].

**Результати й обговорення.** Отримання водного вилучення з трави чебрецю повзучого проводили за такою методикою.

10 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали у конічну колбу місткістю 200 мл з притертим шліфом, додавали 100 мл хлороформу і нагрівали зі зворотним холодильником 1 год на киплячій водяній бані. Після охолодження хлороформної витяжки її відкидали, а шрот висували на повітрі. Шрот поміщали у конічну колбу місткістю 200 мл, додавали 100 мл 96 % спирту і нагрівали зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані протягом 1 год. Після охо-

лодження спиртове вилучення відкидали, шрот висушували до повітряно-сухого стану, поміщали у конічну колбу місткістю 200 мл, додавали 100 мл води Р та нагрівали зі зворотним холодильником на киплячій водянній бані 3 год. Водне вилучення фільтрували в мірну колбу на 100 мл, шрот віджимали, промивали колбу водою Р, додаючи отримані розчини до фільтрату та доводячи об'єм фільтрату до позначки водою Р. Одержаний фільтрат аналізували на вміст полісахаридів [10], а після осадження полісахаридів та їх гідролізу спектрофотометрично визначали вміст відновлюючих моносахаридів.

При вивченні якісного складу моносахаридів проводили осадження комплексу водорозчинних полісахаридів з водного вилучення трави 96 % спиртом (співвідношення водне вилучення – спирт 1:3). Одержаний водорозчинний полісахаридний комплекс чебрецю повзучого є аморфним осадом світло-сірого з коричневим відтінком забарвлення, розчинним у воді та нерозчинним в органічних розчинниках. За результатами якісних реакцій з розчином Люголя, 1 % розчином заліза (III) хлориду, 10 % розчином купруму сульфату та натрію гідроксиду слід зробити висновок про відсутність крохмалю, фенольних сполук і пептидів у досліджуваному комплексі.

Внаслідок кислотного гідролізу досліджуваного полісахаридного комплексу в присутності кислоти сірчаної при нагріванні на киплячій водянній бані протягом 1 год отримано кислий розчин моносахаридів, який нейтралізували барій карбонатом до нейтральної реакції за універсальним індикаторним папірцем, після чого суміш центрифугували і піддавали дослідженню надосадову рідину.

Для якісного вивчення отриманих після гідролізу моносахаридів використали ряд якісних реакцій і хроматографічне дослідження. Якісною реакцією з 0,5 % розчином карбазолу виявлено у складі полісахаридів кислі моносахариди, а реакцією з реактивом Фелінга відновлюючі моносахариди.

У результаті хроматографічних досліджень встановлено присутність фруктози, глюкози, арабінози, ксилози і рамнози, а також кислоти галактуронової у складі водорозчинного поліса-

харидного комплексу чебрецю повзучого. За співвідношенням розміру та інтенсивності забарвлення плям на хроматограмах було зроблено висновок, що переважаючим моносахаридом є фруктоза, а з відновлюючих моносахаридів – глюкоза, тому в подальшому розрахунки вмісту відновлюючих моносахаридів проводили в перерахунку на цю речовину.

При гравіметричному визначенні вмісту полісахаридів застосовували нижче представлену методику, яка була адаптована нами для аналізу полісахаридів чебрецю повзучого.

*Методика гравіметричного визначення вмісту полісахаридів.*

20,0 мл отриманого водного витягу поміщують у стакан місткістю 200 мл, додають 60 мл 96 % спирту Р, перемішують і нагрівають на водянній бані при температурі 30 °С протягом 5 хв. Витримують 1 год і фільтрують під вакуумом через скляний фільтр ПОР 16, попередньо висушений при температурі 100–105 °С до постійної маси. Осад кількісно переносять на фільтр за допомогою 15 мл суміші вода Р – 96 % спирт Р (1:2) і послідовно промивають 10 мл 96 % спирту Р, 15 мл ацетону Р та 15 мл етилацетату Р. Фільтр з осадом сушать на повітрі, потім висушують при температурі 100 – 105 °С до постійної маси, охолоджують в ексикаторі і зважують.

Вміст полісахаридів, у перерахунку на суху сировину, у відсотках розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_0 \cdot 100 \cdot 100}{20 \cdot m_{\text{нав}} \cdot (100 - W)} \cdot 100,$$

де  $m_0$  – маса осаду після висушування, г;  
 $m_{\text{нав}}$  – маса наважки сировини, взятої для аналізу, г;

$W$  – вміст води в сировині, %.

Результати проведених гравіметричних досліджень різних зразків трави чебрецю повзучого наведено у таблиці 1.

Кількісне визначення відновлюючих моносахаридів проводили з використанням фотометричної реакції відновлення пікринової кислоти до пікرامінової, методика визначення представлена нижче.

**Таблиця 1.** Вміст водорозчинних полісахаридів у лікарській рослинній сировині чебрецю повзучого

Об'єкт дослідження	Вміст, %
Житомирська ФФ «Ліктрави» с. 61010	8,44 ± 0,03
Житомирська ФФ «Ліктрави» с. 30111	6,23 ± 0,03
Житомирська ФФ «Ліктрави» с. 40810	5,67 ± 0,02
Дикоросла сировина, Тернопільська область, Гусятинський район	6,53 ± 0,03
Дикоросла сировина, Львівська область, Сколівський район	4,56 ± 0,03
Дикоросла сировина, Львівська область, Самбірський район	4,51 ± 0,02

*Методика кількісного визначення вмісту відновлюючих моносахаридів.*

10,0 мл отриманого водного витягу поміщають у центрифужну пробірку місткістю 50 мл, додають 30 мл 96 % спирту Р, перемішують і нагрівають на водяній бані при температурі 30 °С протягом 5 хв. Витримують 1 год, вміст центрифугують, надосадову рідину відкидають, а осад переносять за допомогою 5,0 мл кислоти хлористоводневої розведеної Р та 5,0 мл води Р у конічну колбу місткістю 50 мл зі шліфом та нагрівають впродовж 1 год зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані. Колбу з вмістом охолоджують, поміщають в колбу невеликий шматок паперу конго і додають по краплях 40 % розчин натрію гідроксиду до почервоніння паперу, потім додають по краплях кислоту хлористоводневу розведену до посиніння паперу, а потім по краплях 10 % розчин натрію гідроксиду до почервоніння паперу. Отриманий розчин кількісно переносять за допомогою води Р в мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину водою Р до позначки, перемішують і фільтрують, відкидаючи перші 5 мл фільтрату (розчин А).

*Випробуваний розчин.* 1,0 мл 1 % розчину кислоти пікринової поміщають в плоскодонну колбу місткістю 25 мл, додають 3,0 мл 20 % розчину натрію карбонату і 1,0 мл розчину А. Колбу з вмістом витримують на киплячій водяній бані протягом 10 хв, потім охолоджують до кімнатної температури. Вміст колби кількісно переносять за допомогою води Р у мірну колбу місткістю 25 мл і доводять об'єм розчину водою Р до позначки.

*Розчин стандартного зразка глюкози.* 0,14 г (точна наважка) стандартного зразка глюкози (Fluka), висушеної при температурі від 100 до 105 °С до постійної маси, поміщають в мірну колбу місткістю

100 мл, розчиняють у 50 мл води Р, доводять об'єм розчину водою Р до позначки і перемішують. 10,0 мл одержаного розчину поміщають в мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину водою Р до позначки і перемішують.

*Розчин порівняння.* 1,0 мл 1 % розчину кислоти пікринової, 3,0 мл 20 % розчину натрію карбонату і 1,0 мл розчину стандартного зразка глюкози, оброблений аналогічно досліджуваному розчину, починаючи зі слів: «Колбу з вмістом витримують...».

*Компенсаційний розчин.* 1,0 мл 1 % розчину кислоти пікринової, 3,0 мл 20 % розчину натрію карбонату і 1,0 мл води Р, оброблений аналогічно досліджуваному розчину, починаючи зі слів «Колбу з вмістом витримують...».

Оптичну густину випробуваного розчину і розчину порівняння вимірюють при довжині хвилі 460 нм відносно компенсаційних розчинів для кожного з розчинів відповідно.

Вміст відновлюючих моносахаридів в сировині, у відсотках, в перерахунку на глюкозу, розраховують за формулою:

$$X = \frac{A_x \cdot m_0}{A_0 \cdot m_{\text{нав}}} \cdot 100,$$

де  $A_x$  – оптична густина випробуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина стандартного зразка глюкози;

$m_0$  – маса наважки стандартного зразка глюкози, г;

$m_{\text{нав}}$  – маса наважки сировини, г.

Результати проведених спектрофотометричних досліджень різних зразків трави чебрецю повзучого наведено у таблиці 2.

**Таблиця 2.** Вміст відновлюючих моносахаридів у лікарській рослинній сировині чебрецю повзучого

Об'єкт дослідження	Вміст, %
Житомирська ФФ «Ліктрави» с. 61010	1,09 ± 0,03
Житомирська ФФ «Ліктрави» с.40810	1,16 ± 0,02
Житомирська ФФ «Ліктрави» с. 20111	1,28 ± 0,02
Дикоросла сировина Тернопільська область, Гусятинський район	1,35 ± 0,03
Дикоросла сировина, Львівська область, Сколівський район	0,86 ± 0,03
Дикоросла сировина, Львівська область, Самбірський район	0,92 ± 0,02

Як видно з отриманих результатів, кількісний вміст полісахаридів і відновлюючих моносахаридів у сировині різних серій дещо відрізняється, що можна пояснити кліматичними умовами зростання та висушування ЛРС. Враховуючи, що для виробництва ГЛЗ з трави чебрецю повзучого окремі виробники застосовують воду, слід переглянути підходи до стандартизації цієї ЛРС та

технології його екстрактів. Проведене дослідження показало, що сировина чебрецю повзучого багата на полісахариди і відновлюючі моносахариди, що потребує подальшого їх вивчення з метою випробування їхньої біологічної активності.

**Висновки.** 1. Кількісний вміст полісахаридів у траві чебрецю різних серій коливається у широких межах 4 – 8 %, а відновлюючих моносахаридів

ридів, незначно відрізняється один від одного 0,8 – 1,4 %. Зважаючи на високий вміст полісахаридів необхідно переглянути показники і критерії стандартизації трави чебрецю повзучого.

### Література

1. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно – профилактических средств / [Н. А. Криштанова, М. Ю. Сафонова, В. Ц. Болотова и др.] // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2005. – № 1. – С. 212–221.
2. Питання введення до Державної Фармакопеї України монографії «Чебрець повзучий» / [Е. Е. Котова, Н. І. Тихоненко, А. Г. Котов та ін.] // Фармаком. – 2009. – № 2. – С. 30–35.
3. Зарівна Н. О. Аналіз ринку лікарських засобів на основі чебрецю звичайного / Н. О. Зарівна, Л. В. Вронська, М. М. Михалків // Фармацевтичний часопис. – 2010. – № 4. – С. 59–63.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково – експертний фармакопейний центр» – 1-ше вид.- Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Науково – експертний фармакопейний центр», 2009. – 233 с.
5. Зарівна Н. О. Вивчення динаміки складу і вмісту полісахаридів в рідких екстрактах чебрецю / Н. О. За-

2. Перспективним є створення нових лікарських засобів на основі водних екстрактів трави чебрецю повзучого.

- рівна, Л. В. Вронська // Актуальні питання сучасної медицини: міжнар. наук. – практ. гонф., 12-14 жовтня 2011р. : тези доповідей. – Київ, 2011. – С. 463.
6. Толоч А. Я. Порівняльний аналіз фенольних сполук в екстрактах чебрецю / А. Я. Толоч, Н. Р. Батура // Вісник Запорізького держ. ун-ту. – 1998. – № 1. – С. 161–171.
7. Rashmi Srivastava. Bioactive polysaccharides from plants / Rashmi Srivastava, Dinesh K. Kulshreshtha // Phytochemistry. – 1989. – V. 28, № 11. – P. 2877–2883.
8. Stella Rovio. Determination of monosaccharide composition in plant fiber materials by capillary zone electrophoresis / Stella Rovio, Helena Simolin, Krista Koljonen, Heli Siren // J. of Chromatography A. – 2008. – V. 1185, № 1. – P. 139–144.
9. Мухамедова М. Ш. Изучение полисахаридов корней *Althaea nudiflorae* L. / М. Ш. Мухамедова, А. К. Ганиев // Провизор. – 2004. – № 2. – С. 33–34.
10. Практикум по фармакогнозии / под ред. В. Н. Ковалева. – Х. : Золотые страницы, 2003. – С. 40–45.

## ИЗУЧЕНИЕ ВОДРАСТВОРИМЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ЧАБРЕЦА ПОЛЗУЧЕГО

Н. О. Заривна, Л. В. Вронська, М. Б. Чубка

*Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского*

**Резюме:** приведены результаты качественного и количественного изучения полисахаридов и восстанавливающих моносахаридов в лекарственном растительном сырье чабреца ползучего.

**Ключевые слова:** чабрец ползучий, водорастворимые полисахариды, гравиметрия, спектрофотометрия.

## THE STUDY OF WATER-SOLUBLE POLYSACCHARIDES OF WILD THYME

N. O. Zarivna, L. V. Vronska, M. B. Chubka

*Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky*

**Summary:** the results of qualitative and quantitative study of polysaccharides and reducing sugars in the wild thyme herbal substance are shown.

**Key words:** wild thyme, water-soluble polysaccharides, gravimetry, spectrophotometry.