ДОСЛІДЖЕННЯ ВУГЛЕВОДНЕВОГО СКЛАДУ У ПІДЗЕМНИХ ОРГАНАХ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО

Тетяна Момот, Ірина Дахим, Світлана Марчишин, Людмила Слободянюк

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

Вступ

На сьогодні в Україні спостерігається тенденція до розширення наукових досліджень щодо вивчення лікарських рослин. Згідно літературних даних рослини є джерелом первинних та вторинних метаболітів, які володіють широким спектром фармакологічної та терапевтичної дії [1-5]. Однією з рослин, використання якої рекомендується для профілактики різних захворювань, є пирій повзучий (*Agropyron repens* L.).

Agropyron repens – багаторічна трав'яниста рослина із сильним кореневищем. Пирій повзучий поширений у Європі та Азії, а також зустрічається в Африці. Рослину традиційно використовують як легкий сечогінний та знеболюючий засіб при захворюваннях сечовивідних шляхів (цистит, уретрит, простатит). Відомо, що пирій повзучий проявляє також гіпоглікемічну, гіполіпідемічну та протизапальну дію.

Пирій повзучий містить вуглеводи, слизисті речовини, пектин, фенольні сполуки, флавоноїди, сапоніни, фітонциди, ефірну олію (0,01-0,02%), ванілін, глікозид ваніліну (ванілозид), фенолкарбонові кислоти та кремнієву кислоту.

Відомо, що підземні органи рослини накопичують речовини первинного синтезу – вуглеводи. Дослідження кількісного вмісту та якісного складу вуглеводів кореневищ і коренів пирію повзучого є доцільним у зв'язку з тим, що дані сполуки, крім важливого функціонального значення і специфічної фармакологічної активності, також впливають на розвиток сумарного фармакологічного ефекту препаратів, отриманих із рослинної сировини [6].

Мета. Визначити якісний склад та кількісний вміст компонентного складу вуглеводів у підземних органах пирію повзучого.

Матеріали і методи

Об'єктами вивчення були кореневища і корені пирію повзучого, які заготовляли на території Рівненської області у 2022 році.

Для проведення якісних реакцій на полісахариди (ПС) готували водні витяжки з лікарської рослинної сировини. Для цього 30 г подрібненої сухої сировини заливали 250 мл гарячої води очищеної і настоювали протягом доби. Водні витяжки фільтрували, а сировину заливали 100 мл гарячої води очищеної. Операцію повторювали 3-5 разів. Водні витяжки об'єднували і випарювали до 15 мл. Одержану витяжку використовували для виявлення ПС. До 10 мл витяжки приливали 30 мл 95 % етанолу. Поява плаваючих пластинчастих згустків, що при відстоюванні випадали в осад, свідчила про наявність у досліджуваній сировині ПС. Осад відфільтровували і проводили реакцію на виявлення відновлюваних (нейтральних) цукрів. Осад переносили у пробірку, доливали 5 мл розведеної кислоти хлоридної і кип'ятили протягом 30 хв. До охолодженого гідролізату додавали 10 мл реактиву Фелінга і знову кип'ятили. Поява цеглисто-червоного осаду свідчила про наявність відновлюваних цукрів [7-8].

Кількісний вміст водорозчинних полісахаридів (ВРПС) та пектинових речовин (ПР) у досліджуваній сировині визначали гравіметричним методом [9-10].

Якісний склад та кількісний вміст моноцукрів і сахарози досліджували методом газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ/МС). Метод базується на екстракції вільних моноцукрів та отриманні ацетатів їх альдонітрильних похідних з подальшим аналізом методом ГХ/МС [11].

Хроматографічне розділення проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent Technologies, США). Використовували колонку капілярну HP-5ms (30 m×0,25 mm×0,25 mkm, Agilent Technologies, США). Ідентифікацію здійснювали за часом утримання стандартів моноцукрів та з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02.

Пробопідготовка рослинної сировини полягала в екстракції загальних та вільних цукрів за різних умов.

Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин сорбітолу [12].

Результати та обговорення

Результати досліджень підтвердили наявність ПС у водних витяжках з підземних органів *Agropyron repens* L.:

– з 95 % етанолом спостерігали появу пластинчастих згустків, які з часом випадали в осад;

– з реактивом Фелінга після кислотного гідролізу відзначали появу цегляно-червоного осаду, що свідчило про наявність нейтральних (відновлюваних) цукрів.

Досліджено полісахаридні комплекси кореневищ і коренів пирію повзучого, встановлено кількісний вміст водорозчинних полісахаридів та пектинових речовин. Одержані ВРПС – це аморфні порошки світло-коричневого кольору, які розчиняються у воді (pH водних розчинів перебуває в межах 5–6). Полісахариди дають позитивний результат при реакції осадження 96 % етанолом та з реактивом Фелінга після проведення кислотного гідролізу.

Одержані ПР – це аморфні порошки коричневого кольору, в очищеній воді розчиняються з утворенням колоїдних в'язких мутних розчинів, pH яких становить 4–5. Водні розчини ПР осаджуються 1 % розчином алюмінію сульфату з утворенням пектатів.

Результати кількісного визначення ВРПС і ПР пирію повзучого наведено на рисунку 1.

DOI: 10.5281/zenodo.10838646

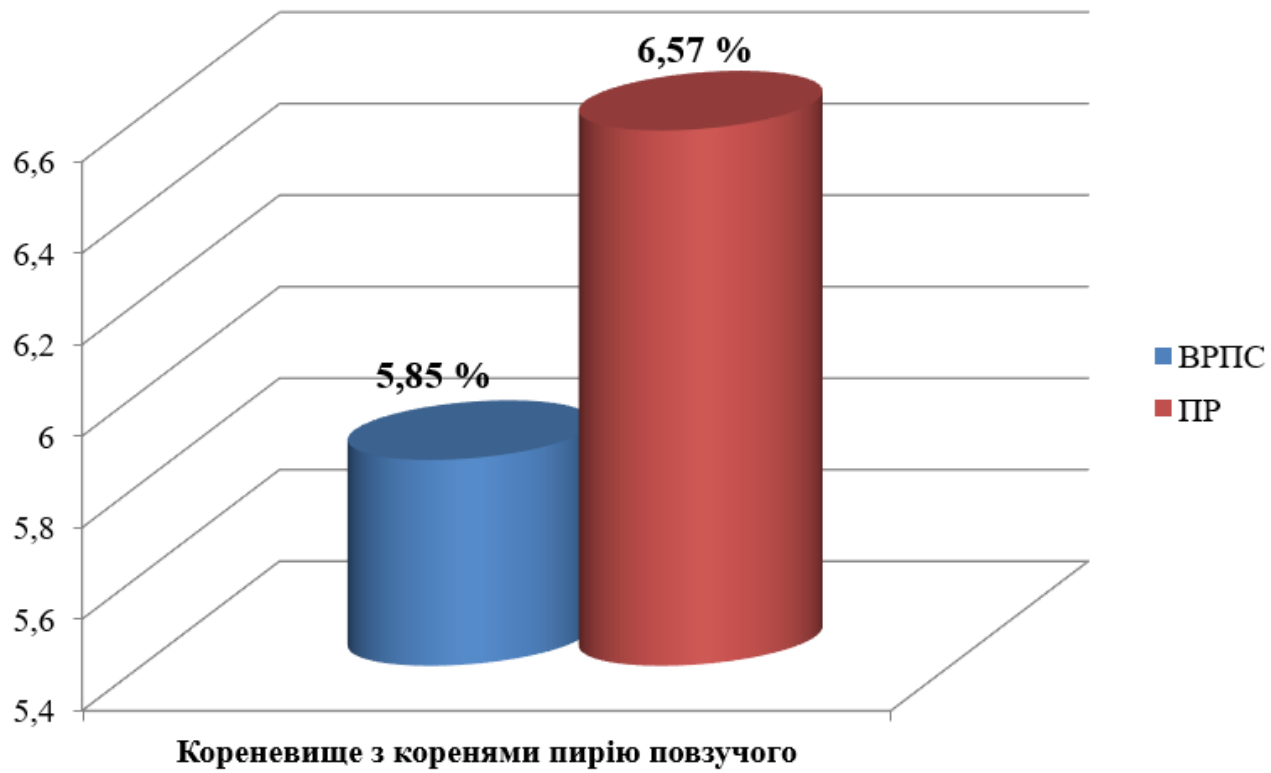

Рис. 1. Кількісний вміст водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин у сировині пирію повзучого.

Результати досліджень свідчать про те, що у пирію кореневищах та коренях вміст ПР становить (6,57±0,02) %, а вміст ВРПС – (5,85±0,02) %.

Результати визначення цукрів у досліджуваній рослинній сировині представлено в таблиці 1 та на рисунках 2, 3. У складі полісахаридних комплексів кореневищ і коренів пирію повзучого встановлено наявність та визначено кількісний вміст 8 моноцукрів після кислотного гідролізу (рис. 2); вільних цукрів виявлено 4 – глюкозу, фруктозу, інозитол і дицукор сахарозу (рис. 3).

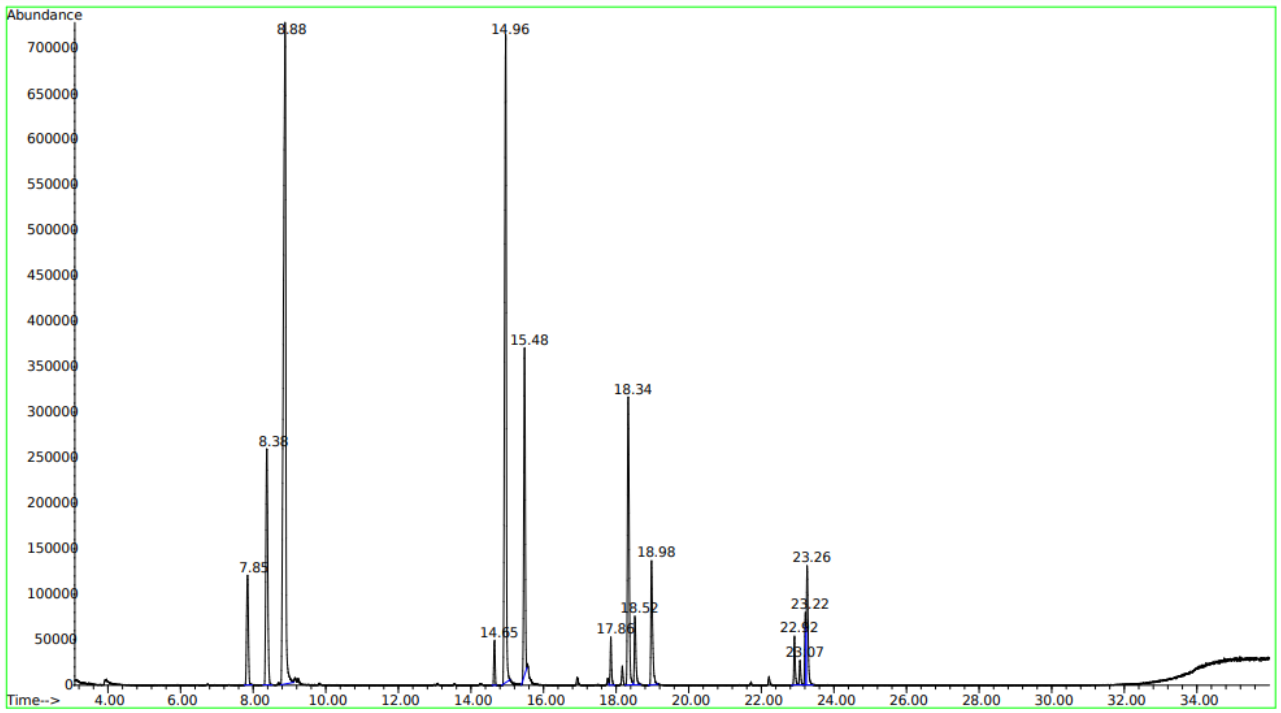

Рис. 2. Хроматограма моноцукрів після кислотного гідролізу полісахаридів кореневищ і коренів пирію повзучого.

DOI: 10.5281/zenodo.10838646

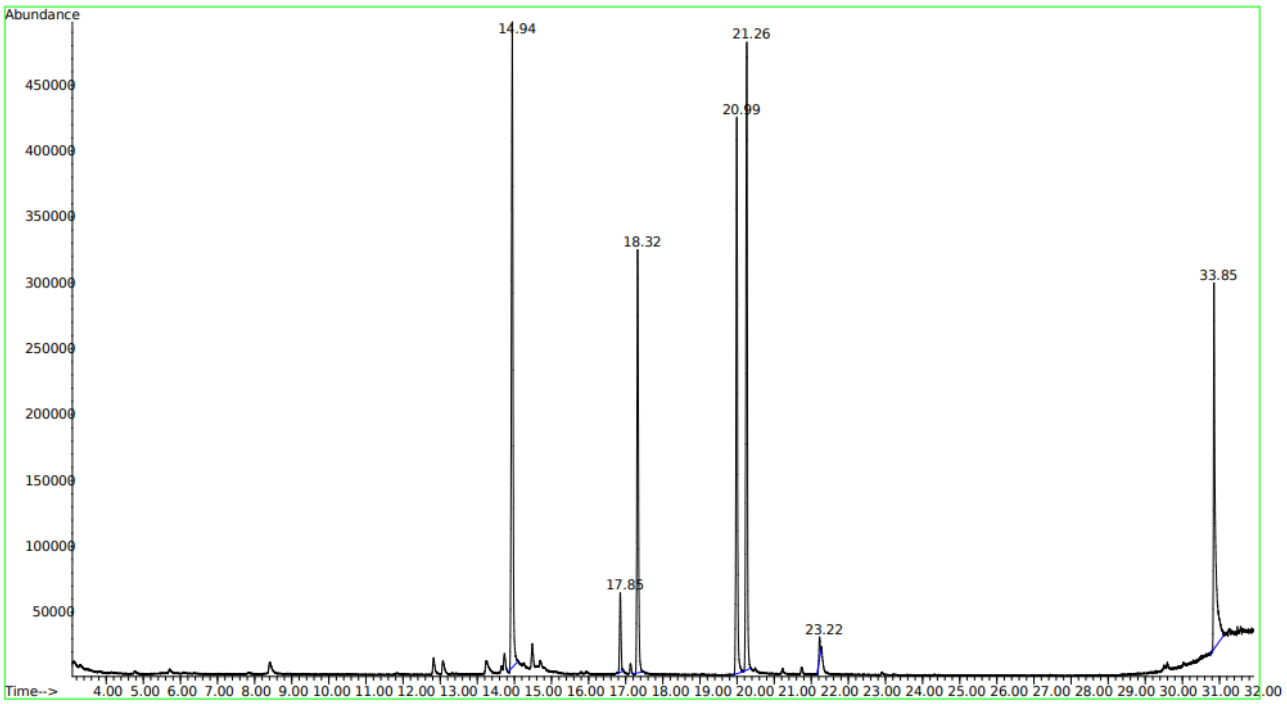

Рис. 3. Хроматограма вільних моноцукрів та сахарози кореневищ і коренів пирію повзучого.

Таблиця 1. Якісний склад і кількісний вміст цукрів у сировині пирію повзучого

Цукри	Час утримування, хв	Вміст у рослинній сировині, мг/г	
		цукри після гідролізу	вільні цукри
Арабіноза	7.84	4,66	-
Фукоза	8.37	10,99	-
Ксилоза	8.8	39,03	-
Маноза	14.65	1,35	-
Глюкоза	15.04	27,30	3,42
Галактоза	15.55	11,42	-
Інозитол	17.88	1,47	0,37
Сорбітол	18.35	**внутрішній стандарт**	
Фруктоза	23.25	6,79	0,06
Сахароза	33.87	-	2,14

Серед моноцукрів у досліджуваній сировині домінувала ксилоза, яка утворилася після кислотного гідролізу, найвищий її вміст спостерігали у підземних органах пирію повзучого (39,03 мг/г). Також переважаючий вміст глюкози спостерігався після кислотного гідролізу (27,30 мг/г), а у вільному стані її вміст в кореневищах і коренях рослини становив 3,42 мг/г. Вміст сахарози в досліджуваному об'єкті склав 2,14 мг/г (табл. 1). Окрім глюкози, у складі вільних цукрів та цукрів після кислотного гідролізу спостерігали наявність інозитолу - 0,37 мг/г та 1,47 мг/г відповідно.

Висновки

Аналіз результатів проведених досліджень свідчить про високий вміст водорозчинних полісахаридів та пектинових речовин у кореневищах і коренях пирію повзучого. Склад цукрів кореневищ і коренів рослини характеризується переважанням у кількісному співвідношенні моноцукру ксилози та дицукру сахарози. Досліджуваний вид є перспективним для використання в медичній практиці й вимагає розширеного фітохімічного і фармакологічного аналізу.

Ключові слова: *Agropyron repens* L., вуглеводні, підземні органи, ГХ/МС-спектрометрія.

Study of the carbohydrate composition in the underground organs of the couch grass

Tetyana Momot, Iryna Dakhym, Svitlana Marchyshyn, Lyudmila Slobodyaniuk

Introduction. Today in Ukraine there is a tendency to expand scientific research on the study of medicinal plants. According to the literature, plants are a source of primary and secondary metabolites that have a wide spectrum of pharmacological and therapeutic effects [1-5]. One of the plants, the use of which is recommended for the prevention of various diseases, is couch grass (*Agropyron repens* L.). *Agropyron repens* is a perennial herbaceous plant with a strong rhizome. Couch grass is common in Europe and Asia, and is also found in Africa. The plant is traditionally used as a mild diuretic and pain reliever for diseases of the urinary tract (cystitis,

DOI: 10.5281/zenodo.10838646

urethritis, prostatitis). It is known that couch grass also exhibits hypoglycemic, hypolipidemic and anti-inflammatory effects. Couch grass contains carbohydrates, mucous substances, pectin, phenolic compounds, flavonoids, saponins, phytoncides, essential oil (0.01-0.02%), vanillin, vanillin glycoside (vanilloside), phenolic acids and silicic acid. It is known that the underground organs of the plant accumulate substances of primary synthesis - carbohydrates. The study of the quantitative content and qualitative composition of carbohydrates of rhizomes and roots of couch grass is expedient due to the fact that these compounds, in addition to important functional value and specific pharmacological activity, also affect the development of the total pharmacological effect of drugs obtained from plant raw materials [6]. **The aim of research.** To determine the qualitative composition and quantitative content of the component composition of carbohydrates in the subterranean organs of couch grass. **Materials and methods.** The objects of study were rhizomes and roots of couch grass, which were harvested in the territory of the Rivne region in 2022. To carry out qualitative reactions on polysaccharides (PS), aqueous extracts from medicinal plant raw materials were prepared. 30 g of crushed dry raw materials were poured with 250 ml of hot purified water and infused for a day. The water extracts were filtered, and the raw materials were poured with 100 ml of hot purified water. The operation was repeated 3-5 times. The aqueous extracts were combined and evaporated to 15 ml. The resulting extract was used to detect PS. 30 ml of 95% ethanol was added to 10 ml of the extract. The appearance of floating lamellar clots that precipitated during settling indicated the presence of PS in the studied raw material. The sediment was filtered and a reaction was carried out to detect reducing (neutral) sugars. The sediment was transferred to a test tube and 5 ml of diluted hydrochloric acid was added and boiled for 30 min. 10 ml of Fehling's reagent was added to the cooled hydrolyzate and boiled again. The appearance of a brick-red sediment indicated the presence of renewable sugars [7-8]. The quantitative content of water-soluble polysaccharides (WSP) and pectin substances (PS) in the studied raw materials was determined by the gravimetric method [9-10]. The qualitative composition and quantitative content of monosaccharides and sucrose were investigated by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The method is based on the extraction of free monosugars and the preparation of acetates of their aldonitrile derivatives with further analysis by GC/MS [11]. Chromatographic separation was performed on an Agilent 6890N/5973inert gas chromatography-mass spectrometric system (Agilent Technologies, USA). A HP-5ms capillary column (30 m×0.25 mm×0.25 mkm, Agilent Technologies, USA) was used. Identification was carried out by the retention time of monosaccharide standards and using the NIST 02 mass spectrum library. Sample preparation of plant raw materials consisted in the extraction of total and free sugars under different conditions. Quantitative analysis was performed by adding a solution of the internal standard to the tested samples. Sorbitol solution was used as an internal standard [12]. **Results and discussion.** The research results confirmed the presence of polysaccharides in water extracts from underground organs of *Agropyron repens* L.: – with 95% ethanol, the appearance of lamellar clots was observed, which settled down over time; - with Fehling's reagent, after acid hydrolysis, the appearance of a brick-red precipitate was noted, which indicated the presence of neutral (reducing) sugars. The polysaccharide complexes of rhizomes and roots of couch grass were studied and the quantitative content of water-soluble polysaccharides and pectin substances was determined. The obtained water-soluble polysaccharides are light brown amorphous powders that dissolve in water (the pH of aqueous solutions was in the range of 5–6). Polysaccharides give a positive result in the precipitation reaction with 96% ethanol and Fehling's reagent after acid hydrolysis. The obtained pectin substances are brown amorphous powders that dissolve in purified water to form colloidal viscous cloudy solutions, the pH of which is 4–5. Aqueous solutions of PS are precipitated with a 1% solution of aluminum sulfate with the formation of pectates. The results of the research indicate that in rhizomes and roots of couch grass, the content of PS is (6.57±0.02) %, and the content of WSP is (5.85±0.02) %. The presence and quantitative content of 8 monosugars after acid hydrolysis was determined in the composition of the polysaccharide complexes of rhizomes and roots of couch grass; 4 free sugars were found - glucose, fructose, inositol and disaccharide sucrose. Among the monosaccharides in the studied raw material, xylose, which was formed after acid hydrolysis, dominated; its highest content was observed in the underground organs of couch grass (39.03 mg/g). Also, the predominant glucose content was observed after acid hydrolysis (27.30 mg/g), and in the free state its content in the rhizomes and roots of the plant was 3.42 mg/g. The content of sucrose in the studied object was 2.14 mg/g. In addition to glucose, the presence of inositol was observed in the composition of free sugars and sugars after acid hydrolysis - 0.37 mg/g and 1.47 mg/g, respectively. **Conclusions.** The analysis of the results of the conducted research indicates a high content of water-soluble polysaccharides and pectin substances in the rhizomes and roots of couch grass. The composition of sugars of the subterranean organs of the plant is characterized by the predominance in the quantitative ratio of the monosugar xylose and the disugar sucrose. The studied species is promising for use in medical practice and requires extensive phytochemical and pharmacological analysis.

Keywords: *Agropyron repens* L., carbohydrates, subterranean organs, GC/MS-chromatography.

References:

1. Ali Esmail Al-Snafi. Chemical constituents and pharmacological importance of Agropyron repens – A review. Research Journal of Pharmacology and Toxicology. 2015. Vol. 01. Issue 02. P. 37-41.
2. Raghuvanshi MS, Anurag Saxena, Stanzin Landol, Jigmat Stanzin, Latika Pandey, Mohd Raza. Alleopathic potential and medicinal uses of Agropyron repens in cold

DOI: 10.5281/zenodo.10838646

arid Ladakh compressed. Food and scientific reports. 2021. Vol. 2, Issue 6. P. 31-33.
3. Vogl S, Picker P, Mihaly-Bison J, Fakhrudin N, Atanasov AG, Heiss EH, Wawrosch C, Reznicek G, Dirsch VM, Saukel J, Kopp B. Ethnopharmacological *in vitro* studies on Austria's folk medicine-an unexplored lore in vitro anti-inflammatory activities of 71 Austrian traditional herbal drugs. 2013. Journal of Ethnopharmacology. Vol. 149 Issue 3. P. 750 doi:10.1016/j.jep.2013.06.007.
4. Ringselle B, De Cauwer B, Salonen J, Soukup JA. Review of Non-Chemical Management of Couch Grass (Elymus repens). Agronomy 2020, Vol. 10. P. 1178.
5. Bortolami M, Di Matteo P, Rocco D, Feroci M, Petrucci R. Metabolic profile of Agropyron repens (L.) P.Beauv. Rhizome Herbal Tea by HPLC-PDA-ESI-MS/MS Analysis. Molecules. 2022. Vol. 27. P. 4962. https:// doi.org/10.3390/molecules27154962.
6. Kurta SA. Natural carbohydrates and polysaccharides: ed. book. 2013. Ivano-Frankivsk. 100 p.
7. Solodovnychenko NM, Zhuravlov MS, Kovalov VM. Medicinal plant material and phytomedicines. 2001. Kharkiv: Golden Pages. 408 p.
8. Marchyshyn SM, Kydria VV, Dakhym IS, Zarichanska OV. Research of carbohydrates from great burnet (Sanguisorba officinalis L.) rhizomes with roots and herb. Medical and clinical chemistry. 2018. Vol. 20. Issue 1. P. 93-99
9. The State Pharmacopoeia of Ukraine (Vol. 1, 2nd ed.). 2015. Kharkiv: State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. [in Ukrainian].
10. Kyslychenko OA, Protska VV, Zhuravel IO. Study of carbohydrates in the grass of some species of hosta. 2018. Mechanisms of development of pathological processes and diseases and their pharmacological correction: theses of reports of the 1st Scientific and Practical Internet Conference. Kharkiv. P. 109.
11. Slobodianiuk L, Budniak L, Feshchenko H, Sverstiuk A, Palaniza Yu. Quantitative analysis of fatty acids and monosaccharides composition in Chamerion angustifolium L. by GC/MS method. 2022. Pharmacia. Vol.69. Issue 1. PP. 167 – 174.
12. Chen Y, Xie MY, Wang YX, Nie SP, Li C. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in Ganoderma atrum by capillary gas chromatography. 2009. Phytochem Anal. Vol. 20. Issue 6. PP. 503-510.

DOI: 10.5281/zenodo.10838646