

# СИНТЕЗ ТА АНАЛІЗ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

UDC 615.322 + 582.929.2

<https://doi.org/10.24959/nphj.21.61>

S. P. Svirska

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine

## The study of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb of the Ukrainian flora

The presence of different groups of biologically active substances in the medicinal plant raw material determines its wide use in medical practice. The study of the chemical composition and possible pharmacological effects of medicinal plants are priorities in the process of their research.

**Aim.** To study the content and the composition of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb of the Ukrainian flora using the gas chromatography/mass spectrometry method (GC/MS).

**Materials and methods.** The samples of *Anchusa officinalis* L. herb were harvested in June 2017 in the Ivano-Frankivsk region. The study was performed using the GC/MS method. To identify the components, the spectra obtained were considered on the basis of general laws of fragmentation for molecules of organic compounds under the action of the electron impact, as well as by comparing the results with data from NIST05 and WILEY 2007 mass spectrum libraries. The data analysis was performed using Statistic 7.0, Excel 7.0 statistical program package for Microsoft Office for Windows.

**Results and discussion.** This study presents the results the fatty acids investigation in *Anchusa officinalis* L. herb of the Ukrainian flora. For the first time, 8 fatty acids were identified. They were myristic acid (163.36 mg/kg), palmitic acid (2324.39 mg/kg), linoleic acid (1498.33 mg/kg), linolenic acid (2696.36 mg/kg), stearic acid (410.16 mg/kg), arachidic acid (240.43 mg/kg), behenic acid (409.23 mg/kg), lignoceric acid (498,38 mg/kg). The total mass of unsaturated fatty acids (linoleic and linolenic acid) was 4045.95 mg/kg, while the total mass of saturated fatty acids (myristic, palmitic, stearic, arachidic, behenic and lignoceric acid) was 4194.69 mg/kg. It indicates an insignificant predominance of unsaturated acids in the plant raw material. The total content of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb was 8240.64 mg/kg (0.8 % by weight of the plant raw material).

**Conclusions.** The study of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb of the Ukrainian flora has been conducted for the first time. In the raw material, the following 8 fatty acids have been identified: unsaturated fatty acids (linoleic and linolenic acid) and saturated fatty acids (myristic, palmitic, stearic, arachidic, behenic and lignoceric acid). The total content of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb is 0.8 % by weight of a dry raw material. The dominant compound among fatty acids is linolenic acid (2696.36 mg/kg of a dry raw material). Taking into account the above the further search for the method of obtaining the fatty acid complex from *Anchusa officinalis* L. herb is promising in order to develop the effective and safe herbal medicines.

**Key words:** *Anchusa officinalis* L.; herb; GC/MS; biologically active substances; fatty acids

С. П. Свірська

Івано-Франківський національний медичний університет, Україна

### Вивчення жирних кислот у траві воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) флори України

Наявність різних груп біологічно активних речовин у лікарській рослинній сировині зумовлює її широке використання в медичній практиці. Вивчення хімічного складу та можливих фармакологічних ефектів лікарських рослин є пріоритетом у процесі їх дослідження.

**Мета.** Вивчити вміст та склад жирних кислот у траві воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) флори України з використанням методу газової хроматографії / мас-спектрометрії (ГХ/МС).

**Матеріали та методи.** Зразки трави воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) було заготовлено в Івано-Франківській області в червні 2017 року. Дослідження проведено методом ГХ/МС. Для ідентифікації компонентів отримані спектри розглянуто щодо загальних законів фрагментації молекул органічних сполук під дією впливу електрона, а також шляхом порівняння результатів з даними бібліотек мас-спектра NIST05 та WILEY 2007. Аналіз даних виконано із використанням статистичного програмного пакету Statistic 7.0, Excel 7.0 для Microsoft Office для Windows.

**Результати та їх обговорення.** У статті наведено результати вивчення жирних кислот у траві воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) флори України. Уперше було виявлено 8 жирних кислот, з-поміж яких: міристинова (163,36 мг/кг), пальмітинова (2324,39 мг/кг), лінолева (1498,33 мг/кг), ліноленова (2696,36 мг/кг), стеаринова (410,16 мг/кг), арахідова (240,43 мг/кг), бегенова (409,23 мг/кг), лігноцеринова (498,38 мг/кг) кислоти. Загальна маса ненасичених жирних кислот (лінолевої та ліноленової) становила 4045,95 мг/кг, загальна маса насичених жирних кислот (міристинової, пальмітинової, стеаринової, арахідової, бегенової та лігноцеринової) – 4194,69 мг/кг. Це свідчить про незначне переважання ненасичених кислот у зазначеній сировині. Загальний вміст жирних кислот у траві *Anchusa officinalis* L. становить 8240,64 мг/кг (0,8 % від маси рослинної сировини).

**Висновки.** Дослідження жирних кислот у траві воловика лікарського (*Anchusa officinalis* L.) флори України проведено вперше. У сировині виявлено 8 жирних кислот: ненасичені жирні кислоти (лінолеву та ліноленову) та насичені жирні кислоти (миристинову, пальмітинову, стеаринову, арахідову, бегенову та лігноцеринову). Загальний вміст жирних кислот у траві *Anchusa officinalis* L. становить 0,8 % від маси сухої сировини. Домінантною сполукою серед жирних кислот є ліноленова кислота (2696,36 мг/кг сухої сировини). З огляду на вищезазначене перспективним постає пошук способу отримання комплексу жирних кислот із траві воловика лікарського з метою розроблення ефективних та безпечних фітопрепаратів.

**Ключові слова:** *Anchusa officinalis* L.; трава; ГХ/МС; біологічно активні речовини; жирні кислоти

С. П. Свирская

Івано-Франківський національний медичинський університет, Україна

### **Изучение жирных кислот в траве воловика лекарственного (*Anchusa officinalis* L.) флоры Украины**

Наличие различных групп биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье предопределяет его широкое использование в медицинской практике. Изучение химического состава и возможных фармакологических эффектов лекарственных растений является приоритетом в процессе их исследования.

**Цель.** Изучить содержание и состав жирных кислот в траве воловика лекарственного (*Anchusa officinalis* L.) флоры Украины с использованием метода газовой хроматографии / масс-спектрометрии (ГХ/МС).

**Материалы и методы.** Образцы травы воловика лекарственного (*Anchusa officinalis* L.) были заготовлены в Ивано-Франковской области в июне 2017 года. Исследование проведено методом ГХ/МС. Для идентификации компонентов полученные спектры рассмотрены в отношении общих законов фрагментации молекул органических соединений под влиянием электрона, а также путем сравнения результатов с данными библиотек масс-спектра NIST05 и WILEY 2007. Анализ данных выполнен с использованием статистического программного пакета Statistic 7.0, Excel 7.0 для Microsoft Office для Windows.

**Результаты и их обсуждение.** В данной статье представлены результаты изучения жирных кислот в траве воловика лекарственного (*Anchusa officinalis* L.) флоры Украины. Впервые было выявлено 8 жирных кислот, в частности: миристиновую (163,36 мг/кг), пальмитиновую (2324,39 мг/кг), линолевою (1498,33 мг/кг), линоленовую (2696,36 мг/кг), стеариновую (410,16 мг/кг), арахидовую (240,43 мг/кг), бегеновую (409,23 мг/кг), лигноцериновую (498,38 мг/кг) кислоты. Общая масса ненасыщенных жирных кислот (линолевой и линоленовой) составляла 4045,95 мг/кг, общая масса насыщенных жирных кислот (миристиновой, пальмитиновой, стеариновой, арахидовой, бегеновой и лигноцериновой) – 4194,69 мг/кг. Это свидетельствует о незначительном преобладании ненасыщенных кислот в данном сырье. Общее содержание жирных кислот в траве *Anchusa officinalis* L. составляет 8240,64 мг/кг (0,8 % от массы растительного сырья).

**Выводы.** Исследование жирных кислот в траве воловика лекарственного (*Anchusa officinalis* L.) флоры Украины проведено впервые. В сырье выявлены 8 жирных кислот: ненасыщенные жирные кислоты (линолевая и линоленовая) и насыщенные жирные кислоты (миристиновая, пальмитиновая, стеариновая, арахидовая, бегеновая и лигноцериновая). Общее содержание жирных кислот в траве *Anchusa officinalis* L. составляет 0,8 % от массы сухого сырья. Доминирующей в составе жирных кислот является линоленовая кислота (2696,36 мг/кг сухого сырья). С учетом вышесказанного перспективным является дальнейший поиск способа получения комплекса жирных кислот из травы воловика лекарственного с целью разработки эффективных и безопасных фитопрепаратов.

**Ключевые слова:** *Anchusa officinalis* L.; трава; ГХ/МС; биологически активные вещества; жирные кислоты

**Introduction.** Despite significant advances in the study of medicinal plants, all the possibilities associated with their use in medicine have not yet been exhausted. Currently, the selection and study of individual biologically active substances from plants are the main areas of research when developing new drugs. Often, when using medicinal plants, not just any substance, but a complex of substances is active. At the same time, substances that do not have a self-expressed pharmacological effect can contribute to the therapeutic effect. The presence of different groups of biologically active substances in the medicinal plant raw material determines its wide use in medical practice. Biologically active substances of plants are inorganic and organic compounds; their common characteristic is high activity in relatively small quantities. The study of the chemical composition and possible pharmacological effects of medicinal plants are priorities in the process of their research.

Fatty acids are not synthesized by the human body. Different types and concentrations of fatty acids are presented in many plant and animal sources. Unsaturated fatty acids, in particular linoleic and linolenic, regulate

the lipid metabolism, provide the growth and development of organisms and increase their resistance to harmful environmental factors [1, 2].

*Anchusa* L. is one of the largest genera concentrated in the Mediterranean. They grow mainly in Europe, West Asia and Tropical Africa [3-5]. *Anchusa* L. species are herbaceous, annual and perennial plants, mostly densely covered with rough hairs. 11 species of *Anchusa* L. grow in Ukraine. They are divided into 4 sections by morphological characteristics: *Euanchusa* Griseb., *Buglossum* (Gaertn.) Reichenb., *Buglossellum* Gusul. (pro subgen.) and *Cynoglottis* Gusul. (pro subgen.) [6-9].

*Anchusa* L. species are a valuable source of natural compounds with potential therapeutic effects. Due to the variety of biologically active substances, *Anchusa* genus species show diverse pharmacological actions [9].

*Anchusa officinalis* L. is the most common type and it is widespread in muddy and sandy places and in fields almost all over Ukraine [9].

There is limited number of reports in the world on studying fatty acids in *Anchusa* genus species. Al-Salihi F. et al. (2007) investigated fatty acids in *Anchusa strigosa* L.

dry flowers. The highest content was recorded for *n*-hexadecanoic and octadecanoic acids – 3.6404  $\mu\text{g}/\text{m}$  and 4.6040  $\mu\text{g}/\text{m}$  of a dry raw material, respectively [2]. Kukukboyaci N. et al. (2013) determined the content of fatty acids in the seed oils of *Anchusa* species of the Turkish flora – *Anchusa azurea* Miller var. *azurea*, *Anchusa leptophylla* Roemer & Schultes subsp. *leptophylla*, *Anchusa arvensis* (L.) Bieb. subsp. *orientalis* (L.) Nordh. and *Anchusa undulata* L. subsp. *hybrida* (Ten.) Coutinho. The composition of fatty acids for all species was the same, and it was represented by oleic, palmitic, linolenic,  $\gamma$ -linolenic and  $\alpha$ -linolenic acids [1]. Ozcan T. (2008) studied the fatty acid composition in seeds of two informal groups of *Anchusa officinalis* L. of the Turkish flora. It was found that predominant acids were linoleic, oleic, and  $\alpha$ - and  $\gamma$ -linolenic [10]. Thus, the study of fatty acids of *Anchusa officinalis* L. herb of the Ukrainian flora is relevant and is conducted for the first time.

The **aim** of this work was to study the content and the composition of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb of the Ukrainian flora using the gas chromatography/mass spectrometry method (GC/MS).

**Materials and methods.** The samples of *Anchusa officinalis* L. herb were harvested in June 2017 in the Ivano-Frankivsk region. The plant was identified at the Department of Pharmacy, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine, and the authenticated voucher specimens were deposited there. All reagents used were of the highest purity (Sigma-Aldrich, St. Louise, USA). The study was performed by the GC/MS method using an Agilent Technologies 6890 chromatograph with a 5973 mass spectrometric detector and a HP-5ms capillary column (diameter – 0.25 mm, length – 30 m). The speed of the carrier gas (helium) was 1.0 ml/min. The temperature of the sample heater was 250 °C. The temperature of the thermostat was programmed from 60 °C to 320 °C with a speed of 7 °/min.

To obtain fatty acid methyl esters, 0.05 g of the crushed herb was placed in 2 ml vials, adding *n*-tridecane as an internal standard and 2 ml of 2 % solution of acetyl chloride in methanol. The vials were incubated for 2 h at 37 °C. Fatty acid methyl esters were extracted with 500  $\mu\text{l}$  of hexane.

To identify the components, the spectra obtained were considered on the basis of general laws of fragmentation

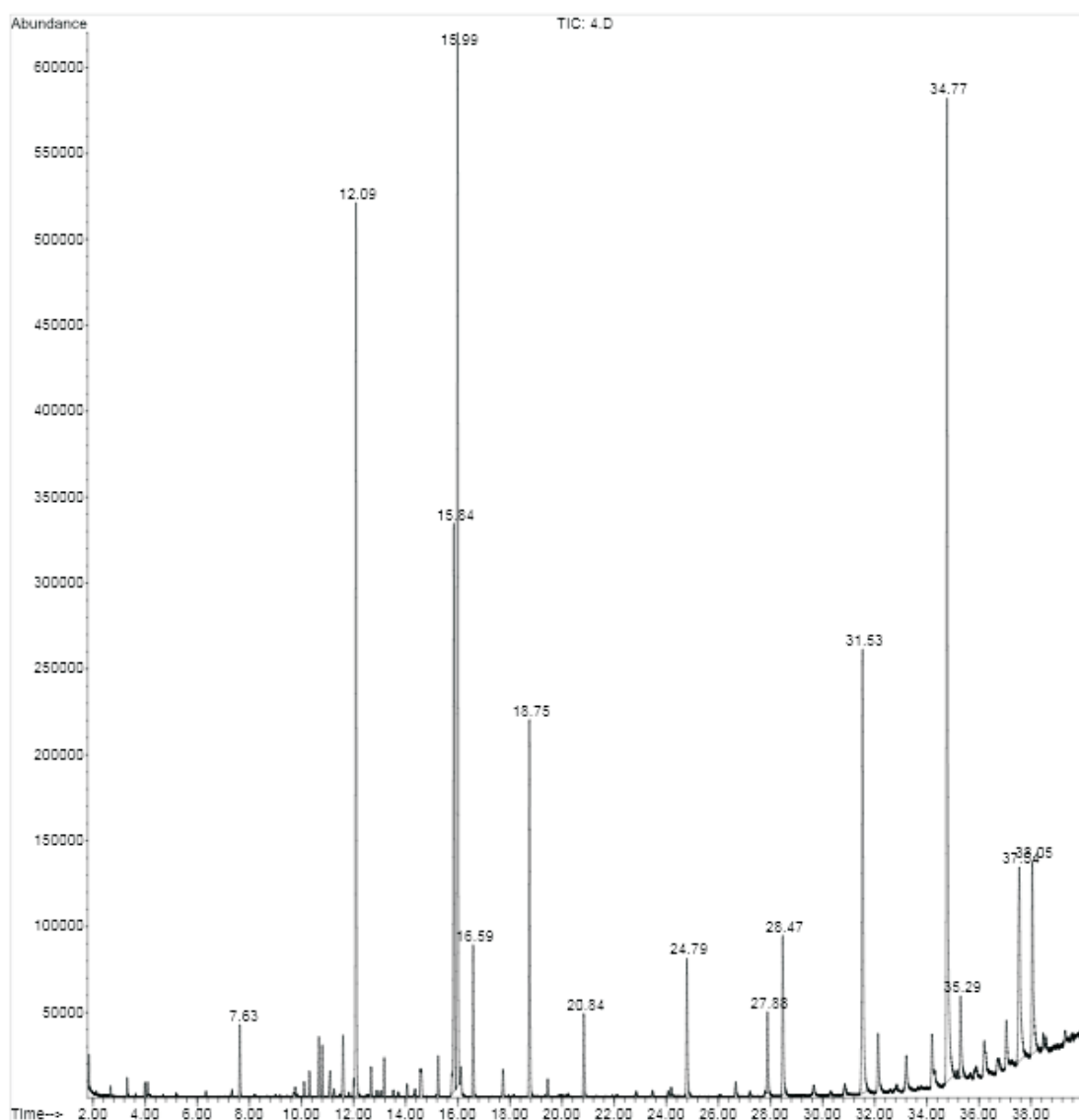


Fig. The scheme of chromatography of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb

Fatty acids of *Anchusa officinalis* L. herb

Peak number	R.T., min	Substance	Chemical nomenclature	Content, mg/kg
1.	7.636	Tetradecanoic acid (Myristic acid), methyl ester	C 14:0	163.36
2.	12.095	Hexadecanoic acid (Palmitic acid), methyl ester	C 16:0	2324.39
3.	15.844	9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid), methyl ester, (Z,Z)-	C 18:2n6	1498.33
4.	15.987	9,12,15-Octadecatrienoic acid (Linolenic acid), methyl ester, (Z,Z,Z)-	C 18:3n6	2696.36
5.	16.589	Octadecanoic acid (Stearic acid), methyl ester	C 18:0	410.16
6.	18.750	Nonadecanoic acid	internal standard	
7.	20.838	Eicosanoic acid (Arachidic acid), methyl ester	C 20:0	240.43
8.	24.793	Docosanoic acid (Behenic acid), methyl ester	C 22:0	409.23
9.	27.886	Unidentified component (alkane)	–	238.69
10.	28.466	Tetracosanoic acid (Lignoceric acid), methyl ester	C 24:0	498.38
11.	31.528	Unidentified component (alkane)	–	1639.11
12.	34.773	Unidentified component (alkane)	–	3398.70
13.	35.291	Unidentified component	–	295.85
14.	37.545	Unidentified component (alkane)	–	982.02
15.	38.049	Unidentified component	–	748.84
Total				15543.85
The amount of saturated fatty acids				4045.95
The amount of unsaturated fatty acids				4194.69

for molecules of organic compounds under the action of the electron impact, as well as by comparing the results with data from NIST05 and WILEY 2007 mass spectrum libraries with a total of more than 470000. The quantitative content of components (X, mg/kg) was determined relative to the internal standard by the formula:

$$X = (P_1 \times 50) / (P_2 \times m),$$

where:  $P_1$  – is the peak area of the substance studied; 50 – is the mass of the internal standard introduced into the sample,  $\mu\text{g}$ ;  $P_2$  – is the peak area of the standard;  $m$  – is the weight of the raw material, g.

The data analysis was performed using Statistic 7.0, Excel 7.0 statistical program package for Microsoft Office for Windows.

**Results and discussion.** This study presents the results the fatty acids investigation in *Anchusa officinalis* L. herb of the Ukrainian flora. For the first time, 8 fatty acids were identified: 2 polyunsaturated – linoleic,  $\gamma$ -linolenic and 6 saturated – palmitic, stearic, myristic, arachidonic, behenic, lignoceric acids. However, 6 compounds were not identified, but it was determined that 4 of them belonged to alkanes. The data obtained are presented in Fig.

The results of the analysis of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb are given in Table.

According to data of Tab. 1, 15 compounds were determined in *Anchusa officinalis* L. herb; 8 of them were identified as fatty acids. They were myristic acid (163.36 mg/kg), palmitic acid (2324.39 mg/kg), linoleic

acid (1498.33 mg/kg), linolenic acid (2696,36 mg/kg), stearic acid (410.16 mg/kg), arachidic acid (240.43 mg/kg), behenic acid (409,23 mg/kg), lignoceric acid (498.38 mg/kg). The total mass of unsaturated fatty acids (linoleic and linolenic acid) was 4045.95 mg/kg, while the total mass of saturated fatty acids (myristic, palmitic, stearic, arachidic, behenic and lignoceric acid) was 4194.69 mg/kg. It indicates an insignificant predominance of unsaturated acids in the plant raw material. The total content of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb was 8240.64 mg/kg (0.8 % by weight of the plant raw material).

#### Conclusions and prospects of further research

The study of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb of the Ukrainian flora has been conducted for the first time.

In the raw material, the following 8 fatty acids have been identified: unsaturated fatty acids (linoleic and linolenic acid) and saturated fatty acids (myristic, palmitic, stearic, arachidic, behenic and lignoceric acid).

It has been determined that unsaturated acids are predominant in the plant raw material. The dominant compound among fatty acids is linolenic acid (2696.36 mg/kg of a dry raw material). The total content of fatty acids in *Anchusa officinalis* L. herb is 0.8 % by weight of a dry raw material.

Taking into account the above the further search for the method of obtaining the fatty acid complex from *Anchusa officinalis* L. herb is promising in order to develop the effective and safe herbal medicines.

**Conflict of interest:** the author has no conflict of interests to declare.

## REFERENCES

1.  $\gamma$ -Linolenic acid content and fatty acid profiles of the seed oils of some *Anchusa* species / N. Kukukboyaci et al. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013. Vol. 10, Iss. 1. P. 87–94. URL: [http://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article\\_12407/87-94.pdf](http://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article_12407/87-94.pdf).
2. Al-Salihi F. G., Al-Ameri A. K., Al-Juobory T. S. Antimicrobial activity of total lipids extracted from *Anchusa strigosa* Lab. *Journal of Surra Man Raa*. 2007. Vol. 3, Iss. 6. P. 11–20. URL: <https://www.iasj.net/iasj/article/50959>.
3. *Biotechnology in Agriculture and Forestry* Vol. 26 Medicinal and Aromatic Plants VI / ed. by Y. P. S. Bajaj et al. Springer–Verlag Berlin Heidelberg, 1994. 426 p.
4. Molecular Systematics of Boraginaceae Tribe Boragineae Based on ITS1 and trnL Sequences, with Special Reference to *Anchusa* s. l. / H. H. Hilger et al. *Annals of Botany*. 2004. Vol. 94, Iss. 2. P. 201–212. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mch132>.
5. Selvi F., Bigazzi M. Revision of genus *Anchusa* (Boraginaceae-Boragineae) in Greece. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2003. Vol. 142, Iss. 4. P. 431–454. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2003.00206.x>.
6. Довідник назв рослин України. URL: <http://ekontsh.civicua.org/system.php?page=22&gerbar>.
7. Mosyakin S. L., Fedoronchuk M. M. Vascular plants of Ukraine: a nomenclatural checklist. Kyiv: National Academy of Sciences of Ukraine; M. G. Kholodny Institute of Botany, 1999. 345 p.
8. The Plant List is a working list of all known plant species. URL: <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=Anchusa>.
9. Грицик А. Р., Свірська С. П. Природа лікує... Рослини роду Воловик: ботанічна характеристика, склад та фармакологічна дія: монографія. Івано-Франківськ: Вид. Кушнір Г. М., 2017. 109 с.
10. Ozcan T. Fatty Acid Profiles of the Seed in Two Groups of *Anchusa officinalis* L. *IUFS Journal of Biology*. 2008. № 67, Iss. 1. P. 65–71.

## REFERENCES

1. Kukukboyaci, N., Koca, A., Yildirimli, S., Kilinc, E., Gören, A. C. (2013).  $\gamma$ -Linolenic acid content and fatty acid profiles of the seed oils of some *Anchusa* species. *Turc J Pharm Sci.*, 10 (1), 87–94. Available at: [http://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article\\_12407/87-94.pdf](http://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article_12407/87-94.pdf).
2. Al-Salihi, F. G., Al-Ameri, A. K., Al-Juobory, T. S. (2007). Antimicrobial activity of total lipids extracted from *Anchusa strigosa* Lab. *Journal of Surra Man Raa*, 3 (6), 11–20. Available at: <https://www.iasj.net/iasj/article/50959>.
3. Bajaj, Y.P.S., Su, W. W. et al. (Eds.). (1994). *Biotechnology in Agriculture and Forestry. (Vol. 26. Medicinal and Aromatic Plants VI)*. Springer–Verlag Berlin Heidelberg, 426.
4. Hilger, H. 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* s.l. *Annals of Botany*, 94, 201–212. doi: <https://doi.org/10.1093/aob/mch132>.
5. Selvi, F., Bigazzi, M. (2003). Revision of genus *Anchusa* (Boraginaceae-Boragineae) in Greece. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 142, 431–454. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2003.00206.x>.
6. Dovidnyk nazv roslyn Ukrayiny [Directory of Plant Names of Ukraine]. Available from: <http://ekontsh.civicua.org/system.php?page=22&gerbar>.
7. 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, 345.
8. The Plant List is a working list of all known plant species. Available at: <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=Anchusa>.
9. Hrytsyk, A. R., Svirska, S. P. (2017). *Pryroda likuye... Roslyny rodu Volovyk: botanichna kharakterystyka, sklad ta farmakolohichna diya [Nature treats ... Anchusa genus plants: botanical characteristics, composition and pharmacological activity]*. Ivano-Frankivs'k: Vydavets' Kushnir H. M., 109.
10. Ozcan, T. (2008). Fatty Acid Profiles of the Seed in Two Groups of *Anchusa officinalis* L. *IUFS J Biol.*, 67 (1), 65–71.

**Information about author:**

Svirska S. P., Candidate of Pharmacy (Ph.D), assistant professor of the Pharmaceutical management, Drug Technology and Pharmacognosy Department, Ivano-Frankivsk National Medical University. E-mail: [ssvirska@ifnmu.edu.ua](mailto:ssvirska@ifnmu.edu.ua)

**Відомості про автора:**

Свірська С. П., кандидатка фармац. наук, доцентка кафедри фармацевтичного управління, технології ліків та фармакогнозії, Івано-Франківський національний медичний університет. E-mail: [ssvirska@ifnmu.edu.ua](mailto:ssvirska@ifnmu.edu.ua)

**Сведения об авторе:**

Свирская С. П., кандидат фармац. наук, доцент кафедры фармацевтического управления, технологии лекарств и фармакогнозии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет. E-mail: [ssvirska@ifnmu.edu.ua](mailto:ssvirska@ifnmu.edu.ua)

Надійшла до редакції 07.07.2021 р.