

РОЗРОБКА ПОКАЗНИКІВ ДО ІДЕНТИФІКАЦІЇ НОВОЇ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ *QUERCUS ROBURIS GALLAE*

Нікітіна О.О., Діхтярьов С.І., Ткачова Т.О.

Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармації, м. Київ, Україна, e-mail: palchevska_knutd@ukr.net

У статті надано і проаналізовано дослідний матеріал з вивчення макроскопічної і мікроскопічної будови нової лікарської рослинної сировини *Quercus roburis gallae*. Показано, що для ідентифікації сировини основними макродіагностичними ознаками є кулеподібна форма, поверхня міцна, зморщена, золотистих відтінків, паренхіма – рихла, пориста. В центральній частині наявна капсула. При змочуванні зламу хлоридом заліза або залізоамонієвим галуном з'являється чорно-сине забарвлення. Аналізом анатомічної будови встановлені мікродіагностичні ознаки. Наявні три зони: епідермальна, паренхімна, що складається з декількох шарів і склеренхімна, що оточує внутрішню капсулу. Характерною ознакою є наявність кристалів кальцію оксалату у зовнішньому шарі паренхіми, середній частині і внутрішніх паренхіматозних клітинах капсули. У внутрішній зоні паренхіми також присутні зерна крохмалю. В кам'янистому шарі капсули присутні склерейди різноманітної форми.

Ключові слова: дубові гали, ідентифікація лікарської рослинної сировини, макроскопічні ознаки, мікроскопічні ознаки, дубильні речовини.

DEVELOPMENT OF MARKS FOR THE IDENTIFICATION OF NEW MEDICINAL PLANT MATERIALS *QUERCUS ROBURIS GALLAE*

Nikitina O.O., Dehtyarev S.I., Tkachova T.O.

Kyiv National University of Technologies and Design, Department of Industrial Pharmacy, Kyiv, Ukraine, e-mail: palchevska_knutd@ukr.net

The article presents and analyzes experimental materials for studying the macroscopic and microscopic structure of the new medicinal plant material *Quercus roburis gallae*. It is shown that for identification of raw materials the main macrodiagnostic features is the globular shape, the surface is strong, wrinkled, golden shades, parenchyma - loose, porous. In the central part there is a capsule. When wetting a break with iron chloride or iron-ammonium alum, a black and blue color appears. Anatomical structure analysis has established micro-diagnostic features. There are three zones: epidermal, parenchymal, consisting of several layers and sclerenchymal surrounding the inner capsule. A characteristic feature is the presence of crystals

of calcium oxalate in the outer layer of the parenchyma, the middle part and the internal parenchymal cells of the capsule. In the inner zone of parenchyma, there are also starch grains. In the rocky layer of capsule there are sclerotias of various shapes.

Keywords: oak galls, identification of medicinal plant material, macroscopic signs, microscopic signs, tannins.

Використання лікарських рослин і лікарської рослинної сировини є давньою традицією і початком прогресу в сучасній терапії, який стимулював використання фітопрепаратів у всьому світі для лікування різних захворювань.

Гали – надзвичайне явище для рослини, коли у відповідь на проникнення іншого біологічного організму утворюється нова структура, яка за морфологічним, хімічним і функціональним станом відрізняється від самої рослини. Саме це відкриває обширне поле діяльності як для біологів так і для фармацевтів. Вже відомо, що в галах є велика кількість дубильних речовин до 80%, що серед природних об'єктів немає аналогів.

Дубильні речовини є поліфенольними сполуками, які за попитом разом з сапонінами займають перше місце на фармацевтичному ринку [7]. Первинне джерело дубильних речовин, як активних фармацевтичних інгредієнтів є лікарські рослини. Окремі поліфенольні сполуки не завжди добре вивчені, проте існують відмінності в поліфенольному складі серед різних видів рослин [10]. Поліфеноли мають широкий спектр фармакотерапевтичної дії [4].

Три види гал: *Gallae Turcicae*, *Gallae Chinensis*, *Gallae Pistaceae* використовуються як промислові джерела таніну. В різні фармакопеї Світу (Британська, Американська, Бельгійська) в різні часи були включені статті на окремі види гал. Статтю на гали китайські (Chinense Gall, Wubeizi) включено до Китайської Фармакопеї, яка діє і у теперішній час, так само як і статтю по дубових галах (Měuyaku Gall) включено в Індійську фармакопею. Зараз увагу вчених зарубіжних країн привертають і гали, що утворюються на дикорослих рослинах. Їх морфологія і хімічний склад залежить і від рослини, на якій вони

утворюються і від виду комах. Вже відомо що, гали виявляють лікувальні властивості, такі як в'язучі, протизапальні, противірусні, протидіабетичні, антибактеріальні, антиульцерогенні та гастропротекторні [3, 5, 6, 8, 9, 12, 13]. В Україні зараз дубові горіхотворні гали дикорослих рослин не використовуються і майже не вивчаються.

Мета дослідження: розробити морфологічні і мікроскопічні показники до ідентифікації *Quercus roburis gallae*, нового перспективного джерела активних фармацевтичних інгредієнтів.

Матеріали і методи дослідження.

Нами проведено вивчення гал, що були зібрані з 4-х лісових масивів у Київській області у вересні-жовтні 2017 року. Три лісових масиви, розташовані в Ірпенському лісництві між с. Николаївка та с. Хмільна Києво-Святошинського району, четвертий – в Клавдієвському лісництві біля с. Діброва.

Вивчали мікроскопічну будову з використання тринокулярного світлового мікроскопу фірми ULAB при збільшенні в 100 і 1000 разів. Фотознімки отримували за допомогою дзеркальної фотокамери Canon EOS 550.

Мікроскопічний аналіз проводили для свіжої сировини. Зрізи сировини робили лезом. Для просвітлення препарату його підігрівали у просвітлювальній рідині: розчин хлоралгідрату або 5% розчин натрію гідроксиду [2]. Для виявлення крохмалю зріз на предметному склі обробляли розчином Люголю, для виявлення інуліну використовували реакцію Моліша. Лігніфіковані клітинні стінки забарвлювали 1% розчином флороглюцину. Реактив видаляли фільтрувальним папером, вивчали в краплі гліцерину.

Морфологію сировини вивчали для висушених зразків. Гали висушували 2 тижні при кімнатній температурі і досушували в сушильній шафі при температурі 50°C.

Як реактив для мікрохімічної реакції для виявлення дубильних речовин використовували 1% розчин феруму (III) амоній сульфату та 1% розчин феруму

(III) хлориду, які забарвлюють тканини, що містять дубильні речовини, в чорно-синій або чорно-зелений колір. Реактиви видаляли фільтрувальним папером, додавали розчин хлоралгідрату. Щоб прискорити просвітлювання, препарат обережно підігрівали [1]. Оскільки названі реактиви є простими у використанні, не є токсичними, а також не потребують додаткових затрат часу для проведення реакції, нами їх було обрано для проведення досліджень щодо встановлення наявності дубильних речовин.

Результати дослідження.

Процеси, що полягають в основі морфогенезу гал комах, все ще не цілком зрозумілі. Однак підмічено, що комахи, що індукують гали, частіше відкладають яйця в молоді тканини, так як в цих тканинах спостерігається активний метаболізм, і вони мають більш високий потенціал для диференціації [11].

Гали, що виникають на листі *Quercus robur* L. індукують комахи виду *Cynips quercustolii* – горіхотворка звичайна дубова (горіхотворка яблукоподібна), рід *Cynips* (горіхотворки), родина *Cynipidae* (горіхотворкові), ряд *Hymenoptera* (перепончастокрилі), клас *Insecta* (комахи), тип *Arthropoda* (членистоногі).

Циніпідні галозбудники дуба звичайного існують у двох зовсім різних поколіннях, які не схожі один на одне за розміром та формою. Кожне покоління утворює зовсім інші гали, в деяких випадках на різних видах дерев. Різні покоління мають різний спосіб життя. Великі круглі гали близько 8 до 12 мм в діаметрі утворює безстатеве покоління циніпід, довжиною близько 5 мм, які є рухливі. Оса – це самиця, яка відтворює без участі чоловічої особини декілька поколінь, тому вона безстатева або агамічна. Альтернативне покоління – крихітна оса, довжиною близько 1,5 мм, і в основному чорного кольору, з відносно великими крилами – дуже активна. Це покоління повністю статеве, причому чоловічі і жіночі особини виконують звичайну роль. Запліднена самиця перелітає на інше дерево і відкладає яйця в осені в нерозкриті бруньки на гілках дубу. Личинка після вилуплення з яйця стимулює зростання галів, личинка харчується навколишніми тканинами, при цьому утворює маленьку центральну

порожнину, де відбувається її перетворення в лялечку. Гали, які вони утворюють яйцеподібні, дрібні і опушені. Доросла комаха прогризає свій шлях до виходу на поверхню. Тут вона вже відкладає яйце всередину жилки листа щоб почати весь процес ще раз. Ентомологами вивчено цей незвичайний життєвий цикл притаманний *Cynips quercustolii*, що утворюють гали *Quercus robur* L., тому відомо, які покоління циніпід які гали утворюють. Але для деяких горіхотворок зміну поколінь не виявлено, хоча вважається, що вони ще не відкриті.

Макроскопічний аналіз Quercus roburis gallae.

Гали були зібрані в природних умовах і висушені. В природі гали часто утворюють агрегації на листі (рис. 1А) до 6 штук. В процесі сушіння гал спостерігали появу дорослих комах збудників гал (рис. 2Б), що залишали своє сховище.



А



Б

Рисунок 1. Макроскопічний аналіз *Quercus roburis gallae*: А – агрегації гал на листях; Б – доросла комаха безстатевого покоління *Cynips quercustolii*.

Макроскопічним аналізом встановлено, що дослідженні висушені гали мають кулеподібну форму діаметром від 0,5 до 2,5 см, вагою від 0,3 до 2 грамів. Розміри встановлювали після 15 замірювань статистично обробляли. Поверхня міцна, зморщена, гола, с золотистим відтінком від жовтого до коричневого. Колір і форму встановлювали неозброєним оком при сонячному освітленні,

характер поверхні під лупою з десятикратним збільшенням. Гали мають коротку базальну ніжку. У окремих представників в верхній частині присутні конусоподібні виступи. У більшості присутні отвори, що утворені дорослими комахами. Отвір веде у циліндричний канал, що доходить до центральної капсули. Внутрішня частина рихла, пориста, в центральній частині розташована капсула, іноді з залишками комах. Колір на зламі від світло до темно коричневого. Запах при скоблінні, розтиранні, подрібненні в ступці і змочуванні водою відсутній. Смак кисло-солодкий, сильно в'язучий. При змочуванні розчином хлориду заліза і розчином залізо амонієвих галунів спостерігали появу чорно-синього забарвлення.



А



Б

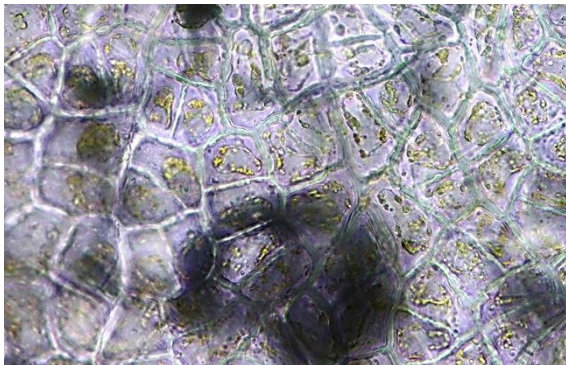
Рисунок 2. Злам *Quercus robur* *gallae* під дією: А – 1% розчину залізо-амонієвого галуну; Б – 1% розчину $FeCl_3$.

Мікроскопічний аналіз Quercus robur gallae.

Мікроскопічним аналізом встановлено три зони: епідермальна, паренхімна, що складається з декількох шарів і склеренхімна, що оточує внутрішню капсулу.

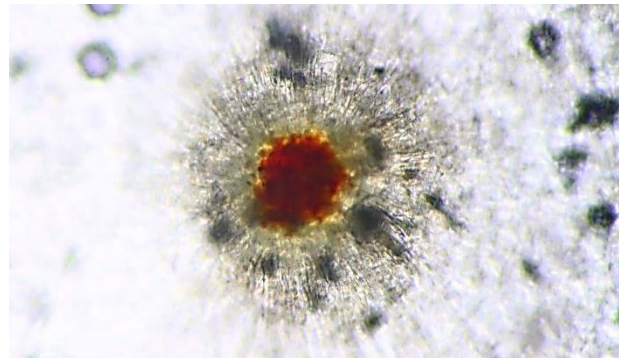
Базисні клітини епідермісу багатогранні, частіше чотирьох кутової форми (рис. 3А). Клітинні стінки нерівномірно потовщені, а саме спостерігаються

намистоподібні потовщення (рис. 3Г). Продихи зустрічаються рідко, замикаючі клітини значно менші за побічні, що розташовані аномоцитно і не відрізняються за розміром і формою від базисних клітин епідермісу (рис. 3В). Біля клітинної стінки зі сторони протопласту видні ділянки з жовтим пігментом. Простих і залозистих трихом на поверхні епідерми не знайдено. В деяких ділянках під епідерму підходять потужні виступи склеренхіми (рис. 3Б).



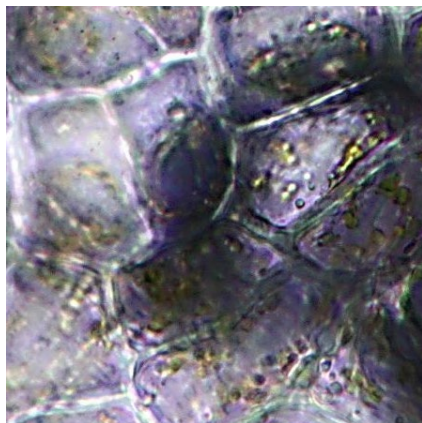
Зб.1000, Масштаб 15%

А



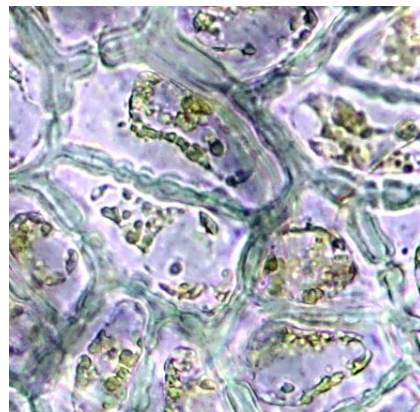
Зб.100, Масштаб 15%

Б



Зб.1000, Масштаб 35%

В



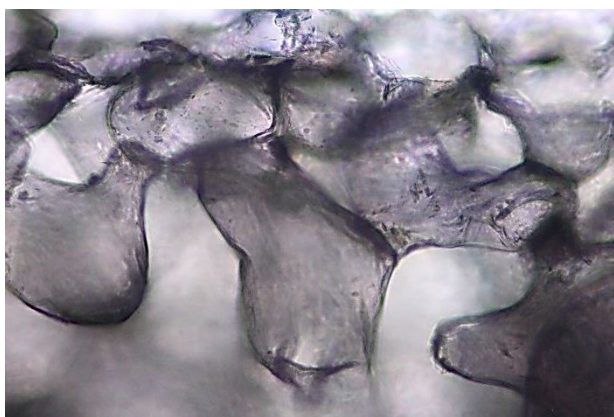
Зб.1000, Масштаб 35%

Г

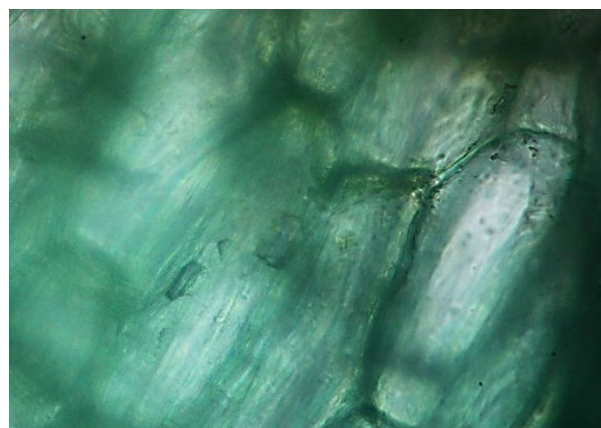
Рисунок 3. Будова епідерми *Quercus robur* gallae: А – базисні клітини епідерми; Б – ділянки склеренхіми; В – продихи; Г – потовщення клітинної стінки.

Під епідермою розташована зовнішня зона паренхіми, що складається з клітин неправильної форми, що розташовані нерегулярно (рис. 4А). Стінки

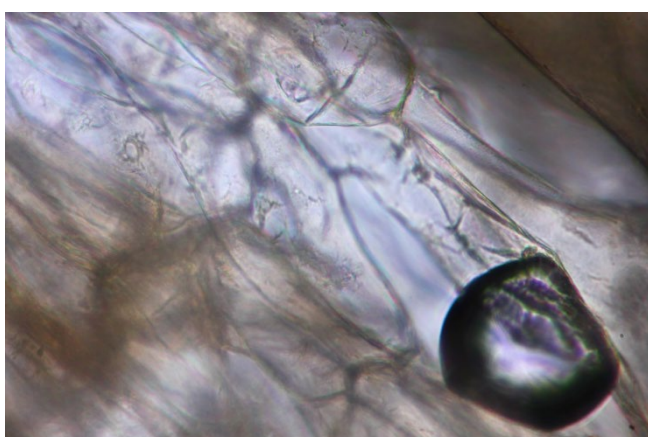
клітин тонкі без потовщень. Середня частина паренхіми представлена міцно прилеглими одна до одної клітинами овальної форми (рис. 4Б). В клітинах зустрічаються рідкі вclusions оксалату кальцію у вигляді призматичних кристалів. В цьому шарі зустрічаються ділянки склеренхіми і окремі склеренхімні клітини (брахісклереїди). Основна частина паренхіми представлена довгими паренхіматозними клітинами з чисельними повітряноносними порожнинами (рис. 4В). Ближче до центральної капсули розташована невелика внутрішня зона. Вона сформована паренхіматозними клітинами (рис. 4Г), в деяких присутні багаточисельні крохмальні зерна. Трапляються брахі- і остеосклереїди.



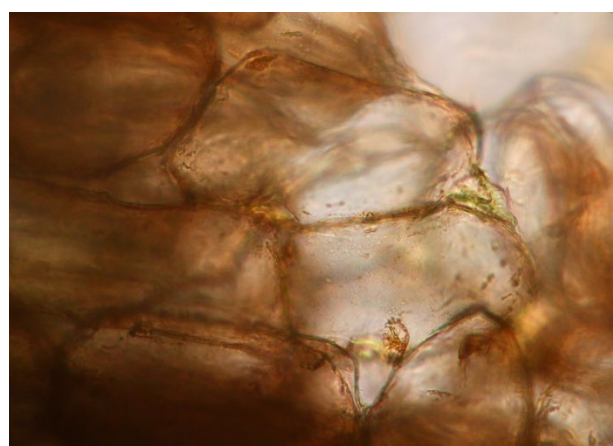
А



Б



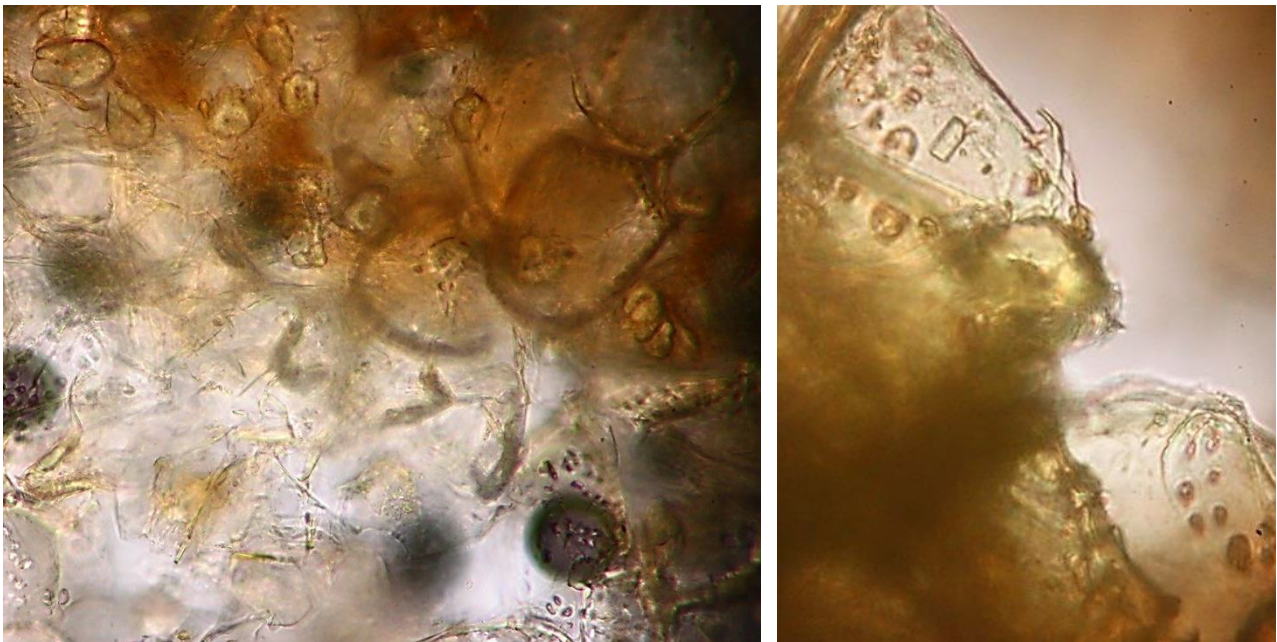
В



Г

Рисунок 4. Шари паренхімної зони *Quercus roburis gallae* (Зб.1000, Масштаб 15%): А – під епідермальний шар; Б – міцний шар паренхіми; В – повітряноносна паренхіма; Г – внутрішня паренхіма.

По колу центральної порожнини розташоване кільце склеренхіми (рис. 5), з різноманітними за формою і розмірами склереїдами. Присутні прямокутні, яйцеподібні, стрічкоподібні, зірчасті клітини. Дрібні склереїди мають потовщені поперечні стінки с поглибленнями, поглиблення крупне, заповнене міцним коричневим вмістом. Крупні склереїди сильно витягнуті. Всі паренхімні клітин внутрішньої зони капсули містять крохмаль. Мікроскопчним аналізом встановлено наявність кристалів оксалату кальцію у зовнішньому міцному шарі паренхіми, середньої області і призматичні кристали во внутрішніх паренхіматозних клітинах капсули (рис. 5А і рис. 5Б).



А

Б

Рисунок 5. Будова внутрішньої капсули *Quercus robur* gallae (Зб.1000, Масштаб 15%): А – оболонка; Б – клітини з крохмалем та включеннями.

В паренхімній зоні гал зустрічаються обривки провідних елементів з судинами, що мають сітчасті потовщення. В цілому судинні пучки розташовані безсистемно і пронизують всі зони гал.

Анатомічна будова дубових гал демонструє, що патологічно змінені тканини рослини-хазяїна повністю пристосовані для забезпечення

життєдіяльності і захисту личинки. Наявність великих ділянок склеренхіми в підепідермальній зоні і суцільний шар каменистих клітин внутрішньої капсули виконують захисну функцію, до того склереїди патологічно різноманітні за формою. Зустрічаються і форми, що здебільше є в листі (астросклереїди, ниткоподібні склереїди) і здебільше є в плодах рослин (брахісклереїди). Основна паренхіма з великими тонкостінними клітинами і повітряноносними порожнинами забезпечують личинку повітрям і вологою, до того великий паренхімний шар захищає личинку від ураження паразитоїдами. Крохмальні зерна, що рясно присутні у внутрішній зоні паренхіми, забезпечують комаху необхідним живленням.

Висновки.

1. Для стандартизації *Quercus roburis gallae* нами вивчені і наведені макродіагностичні ознаки лікарської рослинної сировини. Основними ознаками є кулеподібна форма, рихла паренхіма і наявність капсули в центральній частині гал. При змочуванні зламу хлоридом заліза або залізо амонієвим галуном у вигляді 1% розчину з'являється чорно-сине забарвлення.

2. Аналізом анатомічної структури *Quercus roburis gallae* встановлено три зони: епідермальна, паренхімна, що побудована з декількох шарів і склеренхімна, що оточує внутрішню капсулу. Діагностичними ознаками є наявність кристалів оксалату кальцію у зовнішньому міцному шарі паренхіми, середньої області і у внутрішніх паренхіматозних клітинах капсули. Крохмальні зерна в великій кількості присутні в клітинах внутрішньої зони паренхіми. В каменистому шарі капсули присутні склереїди різноманітної форми.

Список літератури.

1. Доля В.С. Мікроскопічний на мікрохімічний аналіз лікарської рослинної сировини. Учбово-методичне видання. // В.С. Доля, Є.Г. Книш, В.І. Мозуль. – Запоріжжя: ЗДУ, 2003. – 297 с.
2. 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.
3. Digraki M, Alma MH, Ilcim A, Sen S. Antibacterial and antifungal effects of various commercial plant extracts // *Pharm. Biol.* – 1999. – 37. – P.216-220.
4. Ferreira D, Gross GG, Hagerman AE, Kolodziej H, Yoshida T. Tannins and related polyphenols: Perspectives on their chemistry, biology, ecological effects, and human health protection // *Phytochemistry.* – 2008. - Vol.69. - P.3006-3008.
5. Redwane A, Lazrek HB, Bouallam S, Markouk M, Amarouch H, Jana M. Larvicidal activity of extracts from *Quercus lusitania* var. *infectoria* galls (Oliv.) // *J Ethnopharmacol.* – 2002. – Vol.79. – P.261-263.
6. Kaur G, Hamid H, Ali A, Alam MS, Athar M. Antiinflammatory evaluation of alcoholic extract of galls of *Quercus infectoria* // *J Ethnopharmacol.* - 2004. - Vol.90. - P.285-292.
7. Liu J, Henkel T. Traditional Chinese medicine (TCM): Are polyphenols and saponins the key ingredients triggering biological activities? // *Curr. Med. Chem.* - 2002. - №9. – P.1483-1485.
8. Maryam Mohammadi-Sichani, Vajihe Karbasizadeh and Samaneh Chaharmiri Dokhaharani. Evaluation of biofilm removal activity of *Quercus infectoria* galls against *Streptococcus mutans* // *Dent Res J.* – 2016. – Vol. 13, №1. – P. 46–51.
9. Nur Saecida Baharuddin, Hasmah Abdullah, and Wan Nor Amilah Wan Abdul Wahab. Anti-Candida activity of *Quercus infectoria* gall extracts against *Candida* species // *J Pharm Bio allied Sci.* – 2015. - Vol. 7, №1. – P. 15–20.

10. Okuda T Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants // *Phytochemistry*. - 200). – Vol. 66. – P. 2012-2031.
11. Oliveira D.C., Santos Isaias R.M. Influence of Leaflet Age in Anatomy and Possible Adaptive Values of the Midrib Gall of *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae: Caesalpinioideae) // *Rev. Biol. Trop.* – 2009. - Vol. 57, №1-2. - P. 293–302.
12. Subin Mary Zachariah, Nithu M Kumar, Darsana K, Deepa Gopal, Nancy Thomas, Mridula Ramkumar, Namy George. Phytochemical Screening, Formulation and Evaluation of Dried Galls of *Quercus Infectoria Oliv* // *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* – 2014. – Vol. 26, №1. – P. 125-130.
13. Vanga S, Pingili M and Tharigoppula S: Phytochemical screening and evaluation of antifungal activity of gall extracts of *Quercus infectoria* // *Int J Pharm Sci Res.* – 2017. – Vol. 8, №1. – P. 3010-3013.

Стаття надійшла до редакції в листопаді 2018 року.