

УДК 615.322.015:582.71:[58.086+58.088.6]

В. С. КЛЕВАНОВА, С. Д. ТРЖЕЦИНСЬКИЙ, С. В. ПАНЧЕНКО

*Запорізький державний медичний університет*

## МІКРОСКОПІЧНІ ТА ФІТОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ POTERIUM SANGUISORBA L.

*Чорноголовник родовиковий – це широко розповсюджена на території України рослина, не вибаглива до умов зростання. Знайдено безліч свідчень про її широке використання у народній медицині в усьому світові, але в той же час даних щодо хімічного складу та достовірної інформації про фармакологічну активність чорноголовника родовикового існує недостатньо. Метою дослідження було проведення мікроскопічного аналізу та фітохімічних досліджень підземних органів чорноголовника родовикового. Мікроскопічний аналіз був проведений на препаратах з поверхні та поперечних зрізів органів. Фітохімічні дослідження полягали у проведенні якісних реакцій на сапоніни, флавоноїди, полісахариди та дубильні речовини, а також у підборі систем для розділення сапонінів методом тонкошарової хроматографії. У результаті дослідження була встановлена та описана безпучкова анатомічна будова кореневища чорноголовника родовикового. Також підтверджена наявність досліджуваних груп біологічно активних сполук при проведенні якісних реакцій та відібрані системи для подальшого дослідження сапонінів методом тонкошарової хроматографії.*

*Ключові слова:* чорноголовник родовиковий; мікроскопічний аналіз; якісні реакції; сапоніни

### ВСТУП

*Poterium sanguisorba L. (Sanguisorba minor Scop.)* відноситься до родини – Rosaceae. Українська назва – чорноголовник родовиковий. Російська – черноголовник кровохлебковый [3, 5, 6, 10, 12, 13, 15], кровохлёбка малая [2, 6]. Англійська – Blood burnet; Burnet; Garden Bumet; Small Bumet; Salad Burnet [17]. Зростає на відкритих сухих місцях, насипах, щербенистих схилах, пустирях, засмічених лугах і узбіччях доріг [3, 11, 15]. Зосереджується в степах, на луках, пісках, кам'янистих схилах і розсипах, узліссях борів і по суходільних луках. Найбільш же часто – по узбіччях полів, уздовж та по краях доріг, посівів, парових полях, на покладах та залізничних насипах [5, 6, 13].

Чорноголовник родовиковий – це багаторічник заввишки до 30-60 см з потужним здерев'янілим кореневищем [4, 5, 11, 13]. Стебла зазвичай висхідні, рідше розпростерті або прямостоячі. У нижній частині нерідко відстовбурчено-волосисті або відстовбурчено-пухнасті (на відміну від *Poterium polygamum Waldst. et Kit.*) [12], в іншій частині голі, циліндричні, догори вилчато-гіллясті. Стебла знизу зазвичай відстовбурчено-пухнасті. Листя непарно-перистоскладні з опушеним рахісом. Прикореневе і нижнє стеблове листя з 5-25 (35) майже округлими, городчастими або пилчастими листочками, розташованими на коротких черешках, які коротше половини довжини листочка, а зазвичай і коротше за одну третину. Листочки 1-1,5 см довжиною, яйцеподібні або майже округлі,

рідше довгасті, при основі серцеподібні або притуплені, городчасті або пилчасті з 3-9 досить великими зубцями з кожного боку, голі. Забарвлення листочків світло-зелене [15]. Верхні стеблові листки дрібніші з меншим числом листочків (5-9), зазвичай довгасті [3]. Зім'яте листя пахне огірком і має смак на зразок шкірки огірка.

Квітки дрібні зеленуваті (на сонці дещо червононіючі), зібрані в щільні кулясті або еліптичні до 2 см в довжину суцвіття, які знаходяться на довгих квітконіжках, остання (верхівкова) з яких найбільша [4]. Верхні квітки в суцвітті маточкові, нижні – пилякові, середні – двостатеві. Гіпантій дзигуватий, звужений в зіві. Квітоніжки короткі з 1 ланцетним покривним листком і яйцеподібними приквітниками, чашечка світло-жовта, пізніше стає коричневою, чашолистків чотири. Пелюсток немає. Тичинок 10-30, вони з довгими тонкими нитками, у двостатевих квіток їх менше. Маточок з верхівковими стовпчиками багато, які виходять із зіву гіпантію, і кісточкоподібними приймочками, що мають довгі яскраво-червоні війки. Плід у вигляді двох горішків у чотиригранному гіпантії, що розростається і затвердіває. Плоди довжиною 1-4 мм [8] чотиригранно-яйцеподібні без крил по ребрах або дуже вузькокрилі з тупуватими крилами 0,25 мм завширшки. По гранях (між крилами) дрібно сітчасто-ямчасті або майже гладенькі жовтувато-сірі [2, 3, 12, 13, 15].

Цвіте в червні-серпні [6], плодоносить у липні-вересні. Розмножується насінням, яке поширюється вітром (анемохорія). Рослина вітрозапильована [3].

© Клеванова В. С., Тржецинський С. Д., Панченко С. В., 2015

Підземну, надземну частину та листя *Poterium sanguisorba* L. використовують для лікування злоякісних пухлин, туберкульозу та як в'язучий засіб при діареї. Надземна частина – сурогат чаю. Листя – приправа до салатів, супів, рибних страв, для ароматизації напоїв і оцту. Як пряність вони можуть бути рекомендовані для консервної промисловості [17]. Раніше використовувався в народній медицині як в'язучий засіб при шлункових хворобах та діареї [14]. Листя іноді додають до салатів і прохолодних напоїв. Листя та насіння є помірно терпким (в'язучим) і використовувалось при лікуванні дизентерії [6].

Рослина широко розповсюджена на території України та не вибаглива до умов існування. Хімічний склад її вивчений недостатньо. Широке використання у народній медицині чорноголовника родовикового свідчить про його високу фармакологічну активність, яка знову ж таки залишається недослідженою.

В результаті проведеного аналізу літературних джерел ми дійшли висновку, що перспективним та актуальним є поглиблене вивчення хімічного складу та фармакологічної активності чорноголовника родовикового.

Мета дослідження полягала в проведенні мікроскопічного аналізу та фітохімічних досліджень підземних органів чорноголовника родовикового.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

### *Мікроскопія.*

Анатомічна будова підземних органів була проаналізована на препаратах з поверхні та поперечних зрізах органів. Досліджені поперечні зрізи кореневищ і додаткових коренів. Для фіксації свіжої сировини використовували суміш: спирт етиловий 96 %-гліцерин-вода (1:1:1) за загальноприйнятими методами [1, 5]. Використовували мікроскоп HDCE-10A manual. Результати представлені на рис. 1.

### *Якісні реакції.*

Сапоніни. Для проведення якісних реакцій на сапоніни був виготовлений водний настій 1:10. Подрібнену рослинну сировину нагрівали на водяній бані протягом 10 хвилин, охолоджували, фільтрували і проводили з ним наступні реакції [9]. Також використовували очищений екстракт (див. методику ТШХ).

1. Проба піноутворення.
2. Осадкові реакції: з ацетатом свинцю та холестерином.
3. Кольорові реакції: з нітратом натрію, реакція Лафона, реакція Саньє та реакція Сальковського [8]. Флавоноїди. Подрібнену рослинну сировину заливали 70 % етиловим спиртом і екстрагували в колбі зі зворотним холодильником на водяній бані протягом 20-30 хв. Витяжку охолоджували, фільтрували через 4 шари марлі та використовували для проведення якісних реакцій на флавоноїди [8, 9].

Були проведені наступні реакції: ціанідинова реакція, реакція з лугом, з алюмінію хлоридом, з залі-

за хлоридом, з ваніліном у кислоті хлористоводневій концентрованої, з розчином основного ацетату свинцю та реакція Вільсона.

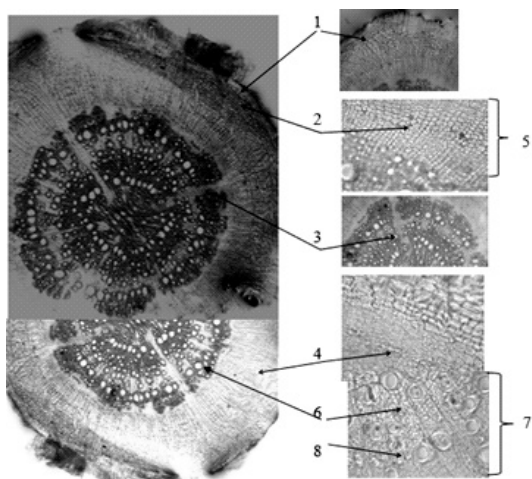
Полісахариди. Сировину подрібнювали до часток розміром 2 мм; 10 г подрібненої сировини поміщали в колбу зі шліфом місткістю 250 мл, додавали 200 мл води, колбу приєднували до зворотного холодильника і кип'ятили при перемішуванні на електричній плитці впродовж 30 хв. Екстракцію повторювали ще 2 рази, використовуючи перший раз 200 мл, другий раз – 100 мл води. Водні витяжки об'єднували, центрифугували з частотою обертання 5000 об/хв протягом 10 хвилин, декантували в мірну колбу місткістю 500 мл через 5 шарів марлі. Фільтр промивали водою і доводили об'єм розчину водою до мітки. 25 мл цього розчину поміщали в колбу місткістю 200 мл, додавали 75 мл 96 % етилового спирту, перемішували, підігрівали на водяній бані протягом 3 хв для кращої коагуляції осаду. З'являлися пластівчасті згустки, які утворюють осад при відстоюванні. Осад фільтрували і ділили на дві частини для виявлення відновлюючих і кислих моносахаридів. Виявлення відновлюючих моносахаридів проводили з реактивом Фелінга, а кислих моносахаридів – з розчином карбазолу [8].

Дубильні речовини. Приготування витяжки: 1 г подрібненої рослинної сировини заливають 100 мл води. Нагрівають на водяній бані впродовж 20-30 хв, проціджують через вату і отриману витяжку використовують для проведення якісних реакцій з розчином залізоамонієвих галунів, а також реакції для виявлення дубильних речовин при спільній присутності обох груп [10, 11].

### *Тонкошарова хроматографія*

Виділення сапонінів для проведення хроматографії проводили наступним чином. Висушені корені чорноголовника родовикового подрібнювали до часток розміром 1-2 мм. Сировину обробляли петролейним ефіром для руйнування комплексів сапонінів зі стеринами. Далі сировину обробляли 96 % етиловим спиртом до повноти виділення. Отримані екстракти об'єднували і концентрували під вакуумом до сироподібного стану. До отриманої витяжки додавали воду до отримання 50 мл розчину і проводили послідовне очищення. У ділільну лійку поміщали наш розчин та обробляли 4-и кратною кількістю петролейного ефіру тричі. Після цього до розчину додавали 4-и кратну кількість хлороформу. Витяжку проводили до знебарвлення хлороформного шару. Отриманий водний екстракт ще обробляли сумішшю етилацетату і н-пропілового спирту в співвідношенні 4:1 до знебарвлення органічного шару для звільнення від флавоноїдів [16].

Отриманий таким чином очищений водний екстракт випарювали під вакуумом до сметаноподібного стану і використовували для приготування спиртового розчину для проведення хроматографії. Хро-



**Рис. 1.** Зрізи кореневища безпучкової будови:  
1 – перидерма, 2 – запасуюча паренхіма кори і серцевини, 3 – серцевинні промені, 4 – ендодерма, 5 – флоема, 6 – камбій, 7 – ксилема, 8 – трахеальні елементи вторинної ксилеми (деревини).

матогографічне визначення сапонінів проводили методом тонкошарової хроматографії на пластинках «Sorbfil». Виконували нанесення проби екстракту. Ми використали найбільш часто застосовувані для аналізу сапонінів системи розчинників:

- н-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:5 та 10:3:5);
- гексан – ацетон (80:20);
- н-бутанол – етанол – вода (1:1:1);
- н-бутанол – етанол – аміак (7:2:5);
- хлороформ – метиловий спирт – вода (65:35:10 та 65:50:10);
- хлороформ – оцтова кислота – метанол – вода (64:32:12:8);
- хлороформ – етиловий спирт – вода (13:6:1);
- петролейний ефір – хлороформ – оцтова кислота (10:4:0,4).

Хроматограми висушували на повітрі, обробляли реактивами та витримували в сушильній шафі при відповідній температурі:

- 20 % розчин сірчаної кислоти – 115-120 °С протягом 15 хв;
- 1 % спиртовий розчин ваніліну (одразу ж після обробки 5 % спиртовим розчином сірчаної кислоти) – 110 °С протягом 10 хв.

Ідентифікацію сапонінів в екстракті проводили за характером забарвлення згідно з літературними даними.

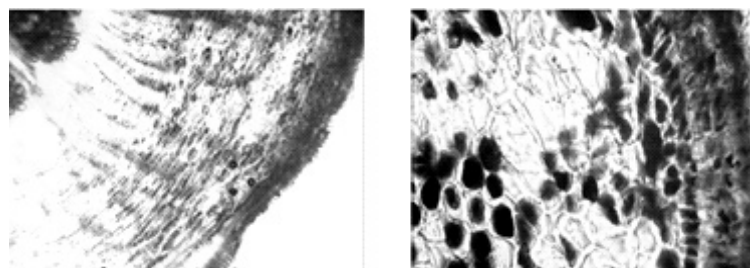
### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Мікроскопія підземних органів показала безпучкову анатомічну будову (рис. 1). Пробка перидерми 5-10 шарова. Корова частина налічує біля 60-65 шарів з великими крохмальними зернами (рис. 2). Ендодерма представлена прозенхімними клітинами з коричнево-буроватим вмістом. Флоемне кільце представлено приблизно 25 шарами паренхімних клітин. Ксилемне кільце широке, суцільне, пронизане серцевинними променями, трахеальні елементи притиснуті до корової паренхіми. Присутні крохмальні зерна та структуровані вклучення.

Проведені якісні реакції підтвердили наявність сапонінів у підземних органах чорноголовника родовикового. У результаті проби піноутворення утворювалась рясна і стійка піна. У реакціях з ацетатом свинцю та розчином холестерину утворювався осад. З розчином нітрату натрію з'являлось криваво-червоне забарвлення. При проведенні реакції Саньє виникало рожеве забарвлення, Лафона – синьо-зелене, а у результаті реакції Сальковського органічний шар забарвлювався в помаранчевий колір.

Результати проведених якісних реакцій на флавоноїди дали змогу виявити присутність флавонолів, флавононів, халконів та ауронів: насичений жовтий колір з лугом та коричнево-зеленкувате забарвлення з заліза (III) хлоридом; 5-оксифлавононів і 5-оксифлавонолів: яскраво-жовте забарвлення у реакції Вільсона; флавононів, халконів, ауронів та антоціанів: яскраво-жовтий осад з розчином основного ацетату свинцю. Також наявність халконів, ауронів та катехінів підтверджена негативним результатом ціанідинової реакції, так як саме ці групи її не дають. Флавоноїди, що мають дві оксогрупи у положенні С-3 і С-5 (наприклад, такі флавоноли як кверцетин, кемпферол, рамнетин та ін.), були виявлені у реакції з алюмінію хлоридом – з'являлось жовте забарвлення.

Поява цегляно-червоного осаду міді (I) оксиду ратифікувала присутність відновлюючих моносахаридів, а червоно-фіолетове забарвлення у реакції з карбазолом – наявності кислоти галактуронової (глю-



**Рис. 2.** Крохмальні зерна при обробці реактивом Люголя.

куронової) у сировині чорноголовника родовикового.

У результаті реакцій на дубильні речовини було підтверджено наявність гідролізуючих та конденсованих дубильних речовин. З розчином залізоамонієвих галунів з'являється чорно-синє забарвлення, а у реакції, застосовуваній при спільній присутності обох груп, – чорно-зелене забарвлення.

При аналізі отриманих хроматограм було підтверджено наявність сапонінів у досліджуваному екстракті. Також були визначені системи розчинників, в яких відбувалось найбільш чітке розділення сапонінів: хлороформ – метиловий спирт – вода (65:35:10 та 65:50:10); н-бутанол – етанол – аміак (7:2:5); хлороформ – оцтова кислота – метанол – вода (64:32:12:8). Серед реактивів, якими обробляли хроматографи, найкращі результати були отримані з 1 % спиртовим розчином ваніліну – характерні рожеві плями.

### ВИСНОВКИ

Чорноголовник родовиковий є цікавим та перспективним об'єктом для дослідження. У результаті проведеного дослідження був проведений мікроскопічний аналіз, що дав змогу встановити особливості анатомічної будови кореневища, які можуть розглядатися як характерні мікродіагностичні ознаки. За допомогою якісних реакцій нам вдалось підтвердити присутність таких основних груп біологічно активних сполук у кореневищі, як сапоніни, флавоноїди, полісахариди та дубильні речовини. Результати тонкошарової хроматографії виявили найбільш прийнятну (придатну) систему для відокремлення сапонінів у екстракті чорноголовника.

На сьогодні нами вже оцінена та підтверджена гіпоглікемічна активність чорноголовника родовикового [7]. Тому ми вважаємо за доцільне та актуальне продовження дослідження та більш поглиблене вивчення як фармакогностичних, так і фармакологічних характеристик цієї рослини.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Атлас по анатомии растений (растительная клетка, ткани, органы): [учебн. пособ. для студ. вузов] / А. Г. Сербин, Л. С. Картамазова, В. П. Руденко, Т. Н. Гонтова. – Х.: Колорит, 2006. – 86 с.
2. База данных «Флора сосудистых растений Центральной России» [http://www.jcabi.ru/eo1/show\\_doc.php?id=1763](http://www.jcabi.ru/eo1/show_doc.php?id=1763)
3. Губанов И. Л. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т. 2: Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные) / И. Л. Губанов, К. В. Киселёва, В. С. Новиков, В. Н. Тихомиров. – М.: Т-во научных изданий КМК, Ин-т технологических исследований, 2003. – 665 с.
4. Гулько Р. М. Словник лікарських рослин світової медицини. Латинсько-українсько-російсько-англійський / Р. М. Гулько. – Львів: Ліга-Прес, 2005. – 506 с.
5. Доброчаева Д. Н. Определитель высших растений Украины / [Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин и др.]. – К.: Наук. думка, 1987. – 548 с.
6. Еленевский А. Г., Радыгина В. И. Определитель сосудистых растений Орловской области / А. Г. Еленевский, В. И. Радыгина. – Орел: Труд, 1997. – 206 с.
7. Клеванова В. С. Антидіабетичні властивості чорноголовника родовикового (*Poterium sanguisorba* L.) за умов дексаметазонового діабету в щурів / В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинський, Г. О. Жернова // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2015. – № 1 (42). – С. 48-52.
8. Ковальов В. М. Практикум з фармакогнозії: [навч. посіб. для студ. ВНЗ] / [В. М. Ковальов, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко та ін.]. За заг. ред. В. М. Ковальова. – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2003. – 512 с.
9. Ладигіна Є. Я. Хімічний аналіз лікарських рослин: [навч. посіб. для фармац. ВНЗ] / [Є. Я. Ладигіна, В. Е. Отряшенкова, Н. І. Гринкевич та ін.]. Під ред. Л. Н. Сафроніч. – М.: Вища шк., 1983. – 176 с.
10. Парфенов В. И. Определитель высших растений Беларуси / В. И. Парфенов. – Мн: Дизайн Про, 1999. – 471 с.
11. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae-Haloragaceae / Ред.: О. Д. Барнаулов, Г. А. Кузнецова, Л. И. Медведева. – Л.: Наука, 1987. – 326 с.
12. Цвелев Н. Н. Флора Восточной Европы. Т. X / Н. Н. Цвелев. – С.Пб: Мир и Семья, 2001. – 535 с.
13. Юзепчук С. В. Флора СССР. Т. 10 / С. В. Юзепчук. – М., 1941. – С. 424-431.
14. Hanelt P. Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops: (Except Ornamentals) / P. Hanelt, R. Buttner. – Santa Clara, CA: Springer-Verlag TELOS, 2001. – 3643 p.
15. Nordborg G. The genus *Sanguisorba* ect. *Poterium*. Experimental studies and taxonomy / G. Nordborg. – Opera Bot., 1967. – P. 166.
16. Shukurov D. Z. Triterpene glycosides of *Poterium polygamum* and *Poterium lasiocarpum* / D. Z. Shukurov, Z. M. Putieva, E. S. Kondratenko, N. K. Abubakir // Khimiya Prirodnykh Soedinenii. – 1974. – Vol. 4. – P. 531-532.
17. Wilkes John Encyclopaedia Londinensis. Vol. 21 / John Wilkes. – London: R. G. Gunnell & Co, 1826. – 858 p.

**УДК 615.322.015:582.71:[58.086+58.088.6]****В. С. Клеванова, С. Д. Тржецинский, С. В. Панченко****МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ И ФИТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ POTERIUM SANGUISORBA L.**

Черноголовник кровохлебковый – это широко распространённое на территории Украины растение, не требовательное к условиям произрастания. Найдено множество свидетельств о его широком применении в народной медицине во всем мире, но в то же время данных о химическом составе и достоверной информации о фармакологической активности черноголовника кровохлебкового существует недостаточно. Целью исследования было проведение микроскопического анализа и фитохимических исследований подземных органов черноголовника кровохлебкового. Микроскопический анализ был проведен на препаратах с поверхности и поперечных срезах органов. Фитохимические исследования заключались в проведении качественных реакций на сапонины, флавоноиды, полисахариды и дубильные вещества, а также в подборе систем для разделения сапонинов методом тонкослойной хроматографии. В результате исследования было установлено и описано беспучковое анатомическое строение корневища черноголовника кровохлебкового. Также подтверждено наличие исследуемых групп биологически активных соединений при проведении качественных реакций и отобраны системы для дальнейшего исследования сапонинов методом тонкослойной хроматографии.

**Ключевые слова:** черноголовник кровохлебковый; микроскопический анализ; качественные реакции; сапонины

**UDC 615.322.015:582.71:[58.086+58.088.6]****V. S. Klevanova, S. D. Trzhetsynskiy, S. V. Panchenko****MICROSCOPIC AND PHYTOCHEMICAL STUDIES OF POTERIUM SANGUISORBA L.**

Blood burnet – is a widespread plant in Ukraine which is not demanding to growth conditions. We found plenty of evidence of its widespread use in folk medicine in the world, but at the same time, data about chemical composition and accurate information about pharmacological activity of Blood burnet is not enough. Our analysis of the literature showed that in-depth study of the chemical composition and pharmacological activity of this plant is perspective and topical. In our previous studies confirmed and assessed hypoglycemic activity of Blood burnet. The aim of the study was to conduct a microscopic analysis and phytochemical studies of Blood burnet's underground organs. Microscopic analysis was performed on specimens from the surface and cross sections of organs. Phytochemical study consists on qualitative reactions to determine saponins, flavonoids, polysaccharides and tannins. Also, the task of phytochemical studies was to select a system for separation saponins by thin layer chromatography. In the result of the study was established and described bezpuchkova anatomy of the Blood burnet's rhizomes. Also, the presence of saponins, polysaccharides, hydrolysable and condensed tannins, and many groups of flavonoids, such as flavonols, flavanones, chalcones, aurones et al., was confirmed during the qualitative responses. Tree from eight systems were selected for further study of saponins by thin layer chromatography. The conclusion of this study can be considered statements that Blood burnet is interesting and promising target for future research.

**Key words:** blood burnet; microscopic analysis; qualitative reactions; saponins

Адреса для листування:

Тел. (38095) 830-95-67. E-mail: kushugum@mail.ru.  
Запорізький державний медичний університет

Надійшла до редакції  
20.03.2015 р.