

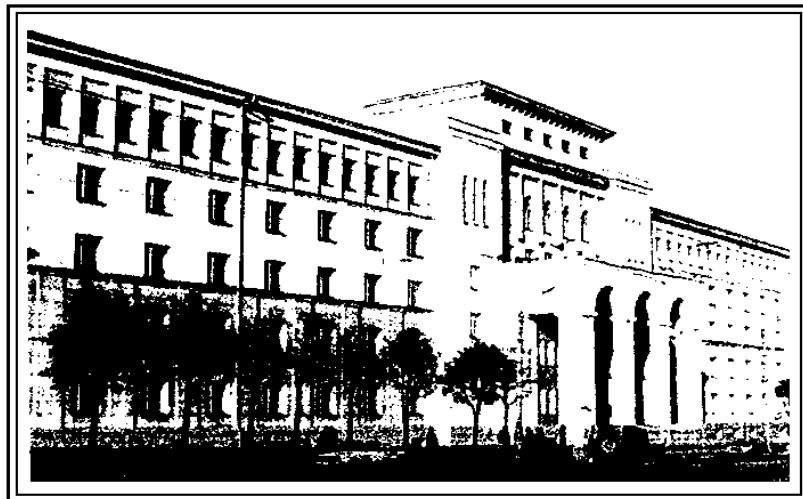
ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 15, №1

2016



ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 615.322

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНАТОМО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ЛИСТА КОПЕЕЧНИКА КУСТАРНИКОВОГО (*HEDYSARUM FRUTICOSUM* PALL.) И КОПЕЕЧНИКА АЛЬПИЙСКОГО (*HEDYSARUM ALPINUM* L.)© Коган Е.Г.¹, Елагина Е.М.², Кисилёва А.Н.¹¹Смоленский государственный медицинский университет, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28²Смоленский государственный университет, Россия, 214000, Смоленск, ул. Пржевальского, 4

Резюме: проведено микроскопическое изучение листочков и рахисов сложных листьев копеечника кустарникового (*Hedysarum fruticosum* Pall.) и копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) с целью выявления анатомо-диагностических признаков неизученного вида копеечника кустарникового. Выявлено сходство внутреннего строения листочков и рахисов двух изучаемых видов, которое заключается в одинаковой топографии тканей в частях сложного листа и в одинаковых аномоцитных типах устьичных аппаратов в эпидерме. Сравнительный анализ показал специфику анатомического строения исследуемых объектов. Так эпидерма листочков сложного листа копеечника кустарникового состоит из вытянутых клеток и содержит кроющие трихомы, заостренные на концах. У копеечника альпийского в составе эпидермы извилистые клетки и слегка загнутые кроющие волоски. Рахисы сложных листьев двух видов копеечников отличаются формой на поперечном срезе. Выявленные анатомо-диагностические признаки могут быть использованы для оценки подлинности лекарственного растительного сырья.

Ключевые слова: анатомическое строение, лист, копеечник кустарниковый, копеечник альпийский, микроскопия

COMPARATIVE ANALYSIS OF ANATOMICAL-DIAGNOSTIC FEATURES OF HEDYSARUM FRUTICOSUM PALL. AND HEDYSARUM ALPINUM L. LEAVESKogan E.G.¹, Elagina E.M.², Kisilyova A.N.¹¹Smolensk State Medical University, Russia, 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28²Smolensk State University, Russia, 214000, Smolensk, Przhevalsky St., 4

Summary: microscopic study of leaves and rachis complex leaves of the *Hedysarum fruticosum* Pall. and *Hedysarum alpinum* L. can help to identify the anatomical and diagnostic characteristics of unexplored species of *Hedysarum fruticosum*. The similarity between the internal structure of leaves and rachis of two studied species in the same topography of the tissues of the parts complex sheet and in the same anomosity types of stomatal apparatus within the epidermis. Comparative analysis has been shown the specificity of the anatomical structure of the studied objects. So, the epidermis of leaves of complex sheet *Hedysarum fruticosum* consisted with elongated cells and contained with covering trichomes was pointed at the ends. The *Hedysarum alpinum* was composed of epidermal cells sinuous and slightly curved by the covering trichomes. Rachis complex leaves of two species of *Hedysarum* had different shape in cross section. Identified anatomical and diagnostic features can be used to assess the authenticity of medicinal plant raw material.

Key words: anatomical structure, leaf, *Hedysarum fruticosum*, *Hedysarum alpinum*, microscopy

Введение

Род Копеечник (*Hedysarum*) относится к семейству Бобовых (Fabaceae) и представлен ценными лекарственными видами растений [9]. Травы копеечника альпийского характеризуется биологической активностью, которая обусловлена содержанием в ней ксантона – мангиферина (алпизарина). Алпизарин обладает противовирусным действием, применяют его главным образом

при лечении вируса простого герпеса у взрослых [3]. Экстракт корней копеечника чайного (*H. theinum Krasnob.*) применяется при воспалении предстательной железы, острых и хронических нефрологических и неврологических заболеваниях [3]. Тонизирующее свойство данного растения обуславливаются высоким содержанием в корнях фенольных соединений. Было выявлено несколько фенольных компонентов катехиновой и лейкоантоциановой структуры [2], которые, как известно, обладают Р-витаминной активностью.

Вместе с тем, род Копеечник включает виды, слабо изученные в ботаническом плане и совсем не изученные с точки зрения фармации. Однако эти растения потенциально могут содержать метаболиты с высокой биологической активностью, что позволит в перспективе применять их для создания лекарственных препаратов растительного происхождения. Одним из таких видов является копеечник кустарниковый.

Известно, что в фармацевтическом анализе лекарственного растительного сырья при оценке его подлинности используют особенности внутреннего строения органов объекта – анатомо-диагностические признаки. Однако на сегодняшний день отсутствуют данные по анатомическому строению органов *H. fruticosum*, являющегося близкородственным копеечнику альпийскому (*H. alpinum*), который используется в традиционной медицине [2].

В этой связи цель настоящей работы – сравнительный анализ внутреннего строения сложных листьев двух видов из рода копеечник: *H. fruticosum* и *H. alpinum*; выявление анатомо-диагностических признаков копеечника кустарникового (*H. fruticosum*).

Методика

Объектом исследования служила высушенная трава копеечника кустарникового (*H. fruticosum*), собранная на территории района Южный лагерь близ Улан-Удэ и трава копеечника альпийского (*H. alpinum*), собранная в г. Бийске. Сушку сырья проводили воздушно-теневым способом. Сырье изучаемых видов представляло собой смесь олиственных стеблей с цветками различной степени развития, а также отдельных стеблей, цельных или измельченных листьев, цветков. Изучение характеристик подлинности сырья (внешние признаки и микроскопия) осуществляли в соответствии с требованиями общих фармакопейных статей «Травы», «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья» Государственной фармакопеи Российской Федерации XI издания (ГФ XI) [1]. Для выявления анатомо-диагностических признаков готовили временные микропрепараты по общепринятым методикам [6, 7]. Анатомические признаки растения изучали с помощью микроскопа «Альтами БИО 6» с тринокулярной насадкой, с объективами $\times 4$, $\times 10$, $\times 40$, окулярами $\times 20$. Микрофото съемка выполнена с помощью цифровой окулярной камеры UCMOS05100KPA (3,1 megapixels). Фотографии отредактированы в программе Altami Studio.

Результаты исследования

Растения из рода копеечник (*Hedysarum*) имеют сложные листья: на общем черешке (рахисе) располагается несколько пар листочков.

Микроскопическое исследование показало, что покровная ткань листочка сложного листа копеечника кустарникового (эпидерма) состоит из плотно сомкнутых мелких клеток более или менее правильной формы. Устьичные аппараты аномоцитного типа, они располагаются как на верхней, так и на нижней эпидерме. Устьичные аппараты довольно многочисленные. В состав и верхней, и нижней эпидермы листа входят кроющие трихомы, или волоски. Каждая кроющая трихома представлена одной крупной вытянутой клеткой с заостренной верхушкой, центральная часть этой клетки слегка расширена, внутри содержится зернистая цитоплазма. У основания трихомы располагается небольшая клетка-ножка (приложение 1, рис. 1).

На поперечном срезе листочка сложного листа видно, что под верхней и нижней эпидермой находится гиподерма. Причем клетки нижней гиподермы более крупные, паренхимной овальной формы, довольно плотно прилегают друг к другу. Среди гиподермы выделяются клетки, заполненные оранжево-коричневым пигментом. Клетки верхней гиподермы мелкие.

Основная ткань в составе листа – мезофилл, выполняющий функцию фотосинтеза. Мезофилл четко дифференцирован на столбчатый и губчатый. Столбчатый мезофилл располагается под

верхней эпидермой и состоит из двух-трех рядов прозенхимных клеток, вытянутых перпендикулярно поверхности листа. Среди клеток столбчатого мезофилла выделяются более крупные по размерам прозенхимные клетки, содержащие оранжево-коричневый пигмент. Эти пигментированные клетки достаточно многочисленные и отчетливо заметны на микропрепаратах. К нижней эпидерме примыкает губчатый мезофилл в количестве четырех-пяти рядов округлых паренхимных клеток. Между клетками губчатого мезофилла располагаются небольшие межклетники.

Крупная центральная жилка листа выступает как с нижней, так и с верхней поверхности. Основу ее составляют проводящие ткани – флоэма и ксилема, – располагающиеся коллатерально, то есть рядом друг с другом в виде двух участков. При этом участок флоэмы находится ближе к нижней эпидерме, а участок ксилемы – ближе к верхней эпидерме. К периферии от флоэмы располагается склеренхима, а непосредственно под слоем нижней эпидермы находится колленхима. Склеренхима и колленхима – это опорные ткани, которые обеспечивают механическую прочность проводящих пучков и всего листочка в целом (приложение 1, рис. 2).

Средние и мелкие жилки не выступают над поверхностями листочка. В их составе меньшие по размерам участки флоэмы и ксилемы, механические ткани представлены колленхимой. Самые мелкие жилки листа отличаются тем, что вокруг коллатерально расположенных проводящих тканей в форме кольца находятся передаточные клетки, или клетки обкладки проводящего пучка. Функциональное назначение этих клеток заключается в обеспечении загрузки флоэмы фотоассимилятами, притекающими из клеток мезофилла, и в передаче водного раствора минеральных солей от сосудов ксилемы к фотосинтезирующим клеткам-потребителям (клеткам мезофилла) (рис. 2).

Анатомо-гистологический анализ рахиса (общего черешка) – сложного листа копеечника кустарникового показал, что на поперечном сечении эта часть листа имеет округло-сердцевидную форму с выемкой на адаксиальной (верхней) стороне (приложение 1, рис. 3).

Покровная ткань рахиса представлена эпидермой, состоящей из мелких, плотно упакованных клеток. На поверхности эпидермы находится слой кутикулы. В состав эпидермы рахиса, так же как и в состав эпидермы листовой пластинки, входят многочисленные кроющие волоски. Каждый волосок состоит из небольшой базальной клетки и вытянутой крупной живой клетки с заостренным концом. Под эпидермой располагается слой механической ткани колленхимы, он составляет гиподерму рахиса. Колленхима состоит из нескольких рядов клеток с утолщенными клеточными стенками и протопластами, содержащими в своем составе хлоропласты. Следовательно, в рахисе колленхима выполняет как опорную, так и фотосинтетическую функцию. Глубже от колленхимы залегает паренхима, состоящая из нескольких рядов клеток.

В состав рахиса входит несколько проводящих пучков, или жилок. Проводящие пучки имеют коллатеральное строение. Самый крупный пучок располагается на абаксиальной (нижней) поверхности рахиса. Два проводящих пучка меньших размеров находятся в боковых выступах черешка с его адаксиальной стороны. Между этими тремя наиболее крупными проводящими пучками по периметру располагаются мелкие пучки. Пучки независимо от их размеров обладают однотипным строением: ближе к центральной части рахиса находится участок ксилемы, рядом с ним в сторону поверхности – участок флоэмы, снаружи от него располагается участок механической ткани склеренхимы. Вокруг проводящих пучков находятся пигментированные клетки, они крупные, паренхимной формы. Между пучками располагаются прослойки основной запасающей паренхимы, состоящие из мелких клеток.

В самом центре рахиса, вглубь от проводящих пучков находится сердцевина. Она состоит из крупных паренхимных клеток, которые достаточно рыхло располагаются между собой, между этими клетками есть небольшие межклетники. Некоторые из клеток запасающей паренхимы несут крупные кристаллы.

Изучение микропрепаратов листочков сложного листа копеечника альпийского показало, что строение и цитологический состав верхней и нижней эпидермы одинаковы. Собственные клетки эпидермы имеют извилистую форму, устьичные аппараты аномоцитного типа, отмечается наличие немногочисленных кроющих трихом, которые представлены длинными и узкими клетками (приложение 1, рис. 1).

Изучение поперечного среза листочка сложного листа показало, что под верхней и нижней эпидермой располагается слой гиподермальных клеток. Причем гиподерма, прилегающая к нижней поверхности листа, состоит из более крупных клеток. Центральную и большую часть листочка занимает мезофилл, который четко дифференцирован на столбчатый и губчатый. Столбчатый мезофилл направлен в сторону верхней эпидермы и состоит из двух рядов

прозенхимных клеток, вытянутых перпендикулярно поверхности. Среди клеток столбчатого мезофилла отмечается наличие немногочисленных крупных клеток, содержащих оранжево-коричневый пигмент. Губчатый мезофилл ориентирован в сторону нижней эпидермы, он состоит из четырех-пяти рядов небольших паренхимных клеток (приложение 1, рис. 4).

Крупная центральная жилка листочка выступает с его нижней поверхности. В состав жилки входят проводящие ткани: ксилема (направлена в сторону верхней поверхности листа) и флоэма (расположена глубже), а также механические ткани: склеренхима, примыкающая ко флоэме с нижней стороны, и колленхима, располагающаяся ближе к периферии и граничащая с нижней эпидермой. Мелкие жилки в составе листочка не выступают над его поверхностями, они состоят из ксилемы, флоэмы и окружающих их передаточных клеток (приложение 1, рис. 4).

Рахис сложного листа копеечника альпийского имеет в поперечном сечении овальную форму, причем на его адаксиальной стороне располагается узкая и достаточно глубокая выемка, а противоположная абаксиальная сторона слегка вытянута. Самый крупный проводящий пучок располагается у нижней стороны рахиса, два пучка средних размеров – у верхней поверхности. Между этими пучками находятся самые маленькие пучки. В состав пучков входят ксилема и флоэма, а также участок склеренхимы. Вокруг пучков наблюдаются достаточно крупные пигментированные клетки. Центральную часть рахиса занимает запасающая паренхима, многие клетки которой содержат крупные кристаллы. На периферии от проводящих пучков находится колленхима, клетки которой содержат хлоропласты. Покровная ткань представлена эпидермой с волосками (приложение 1, рис. 5).

Обсуждение результатов исследования

По данным Б.А. Федченко (1948), род Копеечник во флоре бывшего СССР представлен 90 видами, большинство из которых сосредоточено в Азии. Копеечник кустарниковый распространен на юге Средней и Восточной Сибири, а за пределами России – в Монголии и Китае, описан в районе реки Селенга, протекающей в Монголии и России (Бурятия) и являющейся крупнейшим притоком озера Байкал. Растет в песчаных степях и по окраинам сосновых лесов. Обычно встречается на подвижных песках и в этих условиях имеет различный габитус. При засыпании песком образует длинные корневища, а при выдувании песка и понижении уровня субстрата формирует искривленные стволы и впоследствии нередко погибает. Растение известно своими яркими и крупными цветками. Может быть использовано для закрепления песков, но в культуре пока не встречается.

Стебли копеечника кустарникового длиной до 120 см, прямостоячие, могут быть вильчатые, прижато опушенные. Листочки в числе 4-10 пар, продолговатые или эллиптические, длиной 1-4 см, шириной до 1,5 см, с обеих сторон прижато опушенные, сероватые, иногда сверху почти голые. Кисть рыхлая, 5-10-цветковая, изредка ветвистая и тогда более многоцветковая. Прицветники мелкие, рано опадающие. Чашечка длиной около 5 мм, зубцы ее треугольно-ланцетные или треугольные, в 1,5-3 раза короче трубки. Венчик розовый, в сухом состоянии пурпурово-фиолетовый, длиной 16-20 мм. Лодочка немного короче широкого флага, крылья вдвое короче лодочки. Завязь и бобы опушенные, иногда голые. Членики бобов в числе 2-5, продолговато-эллиптические, нередко с утолщениями, иногда с бугорками [9].

Стебли копеечника альпийского длиной до 150 см, прямостоячие, голые или в верхней части могут быть опушены короткими и слегка курчавыми волосками. Листочки в числе 5-11 пар, продолговато-яйцевидные, удлинено-эллиптические, длиной 1,5-3,5 см, шириной до 1,2 см, сверху голые, снизу рассеянно прижато-волосистые (главным образом по жилкам) или почти голые. Цветки розовые, лилово-розовые, в высущенном состоянии фиолетовые, в кистях длиной 5-20 см. Прицветники линейно-ланцетные, ланцетные, длиной 4-6 мм, в 1,5-3 раза короче цветоножек, реже почти равны им. Чашечка длиной 3,5-4,5 мм, опушена короткими, слегка курчавыми волосками, с неравными зубцами, из которых нижний немного короче трубки. Венчик длиной 13-16 мм, лодочка длиннее флага, крылья почти равны флагу. Завязь голая или опушенная. Членики бобов в числе 1-4, овально-эллиптические или овальные, сетчатые, с очень узкой каймой, реже без нее, голые или рассеянно опушенные [9].

Полученные результаты микроскопического исследования позволяют провести сравнительный анализ анатомического строения сложных листьев двух видов из рода *Hedysarum*. У этих видов, связанных генетическим родством, можно выделить общие, сходные признаки анатомического строения листа. Эпидерма, покрывающая листочки, содержит устьичные аппараты одного типа (аномоцитного) и кроющие трихомы. Характер расположения тканей во внутреннем строении

листочков одинаков. Для представителей изучаемых видов характерно наличие гиподермы, что обусловлено их произрастанием в засушливых условиях. Четкая дифференцировка мезофилла на столбчатый и губчатый является признаком световой структуры листа, что также связано с условиями обитания. Жилки листочков имеют одинаковый состав и топографию тканей. Важной особенностью анатомического строения листочков является наличие клеток, содержащих оранжево-коричневый пигмент. Эти клетки входят в состав столбчатого мезофилла и нижней гиподермы. Сходные черты отмечаются также и в анатомическом строении рахисов. Следует указать, что общий план внутреннего строения, состав и расположение тканей в рахисах растений двух видов одинаковы. Согласно имеющимся литературным данным, сходный план строения имеют также рахисы копеечника Разумовского (*H. razoumovianum* DC.) и копеечника крупноцветкового (*H. grandiflorum* Pall.) [4, 5].

В составе рахисов изучаемых нами видов обнаруживаются крупные пигментированные клетки, которые располагаются вокруг проводящих пучков и отчетливо заметны на микропрепаратах. Вместе с тем многие клетки сердцевины рахисов копеечника кустарникового и копеечника альпийского содержат в своем составе крупные сходные по строению кристаллы. Вероятно, пигментированные клетки и клетки с кристаллами связаны со вторичным метаболизмом, протекающим в растениях изучаемых видов.

Наряду с признаками общности строения двух видов рода *Hedysarum* выявлены специфические черты, отражающие видовую принадлежность. Рахис копеечника кустарникового на поперечном срезе имеет сердцевидную форму с небольшой выемкой. У копеечника альпийского форма рахиса на поперечном срезе иная: вытянутая овальная с глубокой и узкой выемкой на абаксиальной стороне. Собственные клетки эпидермы листочков имеют разную форму. У копеечника кустарникового они довольно правильной, слегка вытянутой формы, а у копеечника альпийского собственные клетки эпидермы имеют извилистую форму. Отличаются и кроющие трихомы. У копеечника кустарникового клетка, образующая трихому вытянутая, слегка расширенная в центре, с заостренной верхушкой. Тогда как у копеечника альпийского каждый волосок состоит из более длинной и узкой клетки, верхушка которой не заостренная и слегка загнутая.

Внутреннее строение листочков изучаемых видов отличается по количеству и размерам пигментированных клеток, входящих в состав столбчатого мезофилла.

Выводы

1. В результате исследований установлено, что внутреннее строение листочков и рахисов двух изучаемых видов имеет как общие, так и специфические, видовые черты строения.
2. Анатомическое строение листовой пластинки сложного листа копеечника кустарникового и копеечника альпийского характеризуется большим сходством в топографии и составе тканей.
3. В анатомическом строении рахисов сложных листьев копеечника кустарникового и копеечника альпийского отмечается общность внутреннего строения в характере расположения тканей.
4. Анатомо-диагностическими признаками копеечника кустарникового можно считать: форму рахиса на поперечном срезе, строение волосков и форму клеток эпидермы листочков и рахисов.

Литература

1. Государственная фармакопея СССР. XI издание, вып. 1. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
2. Красноборов И.М., Азовцев Г.Р., Орлов В.П. Новый вид рода *Hedysarum* (Fabaceae) из Южной Сибири // Ботанический журнал. – 1985. – Т.70, №7. – С. 968-973.
3. Минаева В.Г. Лекарственные растения Сибири. – Новосибирск.: Наука, 1991. – 431 с.
4. Попова И.А., Плаксина Т.И., Куркин В.А. и др. Рациональное использование видов рода *Hedysarum* L., произрастающих в Самарской области // Биологические ресурсы: флора. – 2012. – Т.20, №5. – С. 2279-2281.
5. Попова И.А., Плаксина Т.И., Рыжов В.М. и др. Новое в диагностике краснокнижных видов растений рода *Hedysarum* // Modern Phytomorphology. – 2013. – N3. – P. 207-211.
6. Самылина И.А., Аносова О.Г. Фармакогнозия. Атлас. Том 1. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 192 с.

7. Сборник методических рекомендаций по стандартизации лекарственных средств. Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. – М.: Пеликан, 2006. – 392 с.
8. Федченко Б.А. Копеечник – *Hedysarum* / Ботанический институт им. В.Л. Комарова Академии наук СССР; Гл. ред. акад. В.Л. Комаров. Ред. тома Б.К. Шишкин и Е.Г. Бобров // Флора СССР. – М.: Изд-во Академии наук СССР, 1948. – Т.13. – С. 259-319.
9. Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*) / Под ред. А.В. Положия, Л.И. Малышевой. – Новосибирск.: Наука, 1994. – Т.9. – 280 с.

Информация об авторах

Коган Евгений Геннадьевич – аспирант кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии с курсом фармации ДПО ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: e.g.kogan@yandex.ru

Елагина Елена Михайловна – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии и декоративного растениеводства ФГБОУ ВПО «Смоленский государственный университет». E-mail: emelag@rambler.ru

Кисилёва Анастасия Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии с курсом фармации ДПО ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: a.kisilyova@mail.ru