

УДК 615.322+582.949.2+581.8

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2022.1.26

**МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПУСТЫРНИКА УМЕНЬШЕННОГО ТРАВЫ
(LEONURUS DEMINUTUS V. KREZ.)**

© Соколова Я.В., Мирович В.М.

*Иркутский государственный медицинский университет, Россия, 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1**Резюме*

Цель. Изучение анатомо-диагностических признаков травы *Leonurus deminutus* V. Krecz. и их количественная характеристика.

Методика. В качестве объекта исследования использовали стебли, листья и цветки *L. deminutus*, заготовленные в Иркутской области и окрестностях г. Иркутска в июле 2021 года. Приготовление поверхностных препаратов и поперечных срезов осуществляли в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0003.15 Государственной фармакопеи XIV издания. Исследование проводили с использованием цифрового микроскопа «Levenhuk D870T», анатомо-диагностические особенности фиксировали встроенной камерой, снимки обрабатывали в программе «Levenhuk ToupView (Levenhuk Image Editor) 3.7.».

Результаты. Установлены отличительные микроскопические особенности травы *L. deminutus*: клетки эпидермиса с характерными слабо- и сильноизвилистыми стенками на листьях и цветках, четырехклеточные железистые волоски, головчатые волоски с округлой головкой на всех структурах, головчатые волоски с овальной головкой на чашелистиках, многоклеточные кроющие трихомы со спадающимися клетками на верхней губе цветка, наличие друз в структурах венчика и округлая пыльца с бороздкой посередине.

Заключение. Проведенное исследование можно использовать для установления подлинности ЛРС, а также для разработки нормативной документации при внедрении травы *L. deminutus* в фармацевтическую практику.

Ключевые слова: микроскопия, *Leonurus deminutus* V. Krecz, анатомо-диагностические признаки, лекарственное растительное сырье

MICROSCOPIC RESEARCH OF THE HERB LEONURUS DEMINUTUS V. KREZ.

Sokolova Ya.V., Mirovich V.M.

*Irkutsk State Medical University, Russia, 664003, Irkutsk, Krasny Vosstaniya St., 1**Abstract*

Objective. Research of anatomical and diagnostic features of the herb *Leonurus deminutus* V. Krecz. and their quantitative characteristics.

Methods. The stems, leaves and flowers of *L. deminutus* blooming in the Irkutsk region and the vicinity of Irkutsk in July 2021 were used as the object of the research. Preparation of surface preparations and cross sections was carried out in accordance with the requirements of the OFS.1.5.3.0003.15 of the State Pharmacopoeia of the XIV edition. The study was carried out using a digital microscope «Levenhuk D870T», anatomical and diagnostic features were recorded with a built-in camera, the images were processed in the program «Levenhuk ToupView (Levenhuk Image Editor) 3.7.».

Results. The distinctive microscopic features the herb of *L. deminutus* have been established: epidermal cells with a characteristic low and strongly sinuous walls on leaves and flowers, four-cell glandular trichomes, capitate trichomes with a rounded head in all structures, capitate trichomes oval head on the sepals, multicellular trichomes from the falling cells on the upper lip of the flower, the presence of prism crystals of calcium oxalate in the structures of the corolla and round pollen with a groove in the middle.

Conclusions. The conducted research can be used to establish the authenticity of medicinal plant raw materials, as well as to develop regulatory documentation for the introduction of the herb *L. deminutus* into pharmaceutical practice.

Keywords: microscopy, *Leonurus deminutus* V. Krecz., anatomical and diagnostic features, medicinal plant raw materials

Введение

Одним из этапов внедрения лекарственного растительного сырья (ЛРС) в фармацевтическую практику является процедура его стандартизации, цель которой заключается в установлении подлинности, показателей качества и иных регламентируемых параметров [5]. Микроскопический анализ является традиционным фармакопейным методом и используется как базовый компонент диагностики лекарственных растений. Поскольку морфолого-анатомические признаки ЛРС часто зависят от таксона, их характеристика служит маркером для идентификации вида и ЛРС [5, 8]. Перечисленные аспекты доказывают важную роль анализа диагностических признаков ЛРС, в особенности, для формирования нормативной базы лекарственных растений.

Представители рода *Leonurus* L. семейства *Lamiaceae* Mart. широко представлены на евразийском континенте, реже встречаются в Северной и Южной Америке как адвентивные растения. Таксон включает около 24 видов, 12 из которых произрастают на территории Российской Федерации и стран СНГ. Многолетние, либо одно-двулетние травянистые растения высотой до 200 см. Относятся к рудералам, встречаются повсеместно (вдоль дорог, вблизи жилых домов, пастбищ) [3, 14].

Благодаря содержанию в надземных органах комплекса биологически активных соединений (флавоноидов, иридоидов, фенилпропаноидов, алкалоидов), *Leonurus cardiaca* L. и *Leonurus quinquelobatus* Gilib. используют в медицине в качестве источников седативных и гипотензивных средств [9, 10, 14]. В традиционной китайской медицине официальным растением является *Leonurus japonicus* Houtt. и рекомендуется при гинекологических заболеваниях [14]. Другие виды пустырников также представляют интерес для научного сообщества [7, 13]. Перспективным для внедрения в медицинскую практику является пустырник уменьшенный (*Leonurus deminutus* V. Krecz.). Данное растение распространено на территории Центральной Сибири, используется в народной медицине при неврозах, бессоннице, нарушениях сердечно-сосудистой системы [2].

Ранее нами проводилось изучение микроскопических особенностей надземных органов *L. deminutus*. Были установлены анатомо-диагностические признаки эпидермиса листьев и стебля. Однако данные о строении чашелистиков, венчика, а также поперечного среза стебля не отражены в полной мере. Кроме того, не была проведена количественная характеристика анатомических структур, позволяющая дать полный анализ изучаемого ЛРС [6].

Таким образом, целью исследования является изучение анатомо-диагностических признаков травы *L. deminutus* и их количественная оценка.

Методика

Объектом исследования стали образцы надземных органов *L. deminutus*, заготовленные в июле 2021 года в окрестностях г. Иркутска и в южных районах Иркутской области. Растительный материал был идентифицирован заведующей отделом биоразнообразия и биологических ресурсов Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН, к.б.н. Верхожиной А.В.

Приготовление поверхностных препаратов осуществляли согласно требованиями ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» Государственной фармакопеи (ГФ) XIV издания. Для анализа поперечных срезов образцы стеблей фиксировали в смеси $C_2H_5OH-H_2O-C_3H_8O_3$ (1:1:1) [1]. В работе использовали терминологию, описания микроскопического строения, количественную характеристику признаков, рекомендованных в ГФ XIV издания и работах Потаниной О.Г., Самылиной И.А. [1, 4].

Микропрепараты исследовали с использованием цифрового микроскопа «Levenhuk D870T» при увеличении $\times 40$, $\times 80$, $\times 100$, $\times 300$. Фотографии сделаны встроенной камерой «Levenhuk C800 NG

8М, USB 2.0» и обработка осуществлялась в программе «Levenhuk ToupView (Levenhuk Image Editor) 3.7.»

Для анализа количественных показателей диагностических признаков надземной части *L. deminutus* использовали окуляр-микрометр. Препараты листьев, стеблей, цветков готовили в 20-кратных повторах для обеспечения репрезентативной выборки данных.

Результаты исследования и их обсуждение

Микроскопия стебля. Эпидермис стебля *L. deminutus* по ребрам состоит из клеток прямоугольной формы, длиной 31-38 мкм, шириной 10-12 мкм. В местах между ребрами эпидермальные клетки многоугольные со слабоизвилистым контуром, длиной 13-33 мкм, шириной 13-16 мкм. Устьичный аппарат аномоцитного типа, устьица окружены 3-7 клетками, реже встречаются устьица диацитного типа. Устьица выступающие, околоустьичные клетки имеют продольно-морщинистую кутикулу. Стебель обильно опушен, по ребрам встречаются волоски простые остроконусовидные одно-двуклеточные с бородавчатой кутикулой, головчатые на одноклеточной ножке с одно-двуклеточной головкой. Отмечено наличие железистых волосков с четырехклеточной головкой и характерных для семейства *Lamiaceae* железок, состоящих из 6 выделительных клеток (рис. 1, табл. 1).

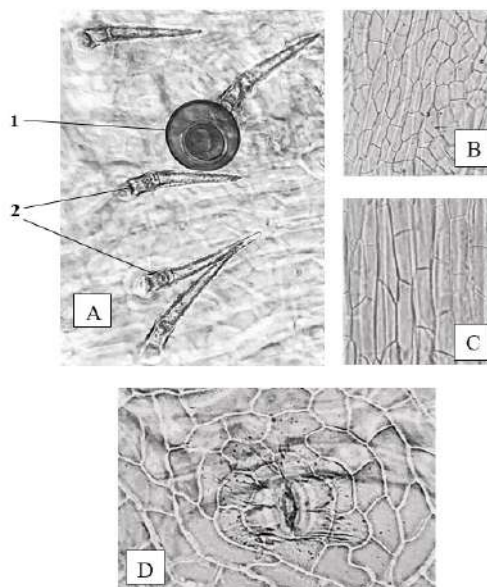


Рис. 1. Эпидермис стебля *L. deminutus* (A-D – увеличение $\times 300$): А – фрагмент эпидермиса стебля: 1 – эфиромасличная железка, 2 – простые волоски с бородавчатой кутикулой; В – эпидермис в межреберье; С – эпидермис на ребрах; D – устьице с продольно-морщинистой кутикулой

Таблица 1. Количественная характеристика анатомических признаков стеблей и листьев *L. deminutus*

Признак		Эпидермис стебля	Верхний эпидермис листа	Нижний эпидермис листа
Железки	Диаметр, мкм	43-47	-	44-52
	Частота встречаемости	6-31	-	6-19
У ст ь и	Длина, мкм	24-29	-	21-25
	Ширина, мкм	16-19	-	13-16

	Частота встречаемости	6-37	-	208-220
Головчатые волоски	Диаметр, мкм	19-22	21-24	18-23
	Частота встречаемости	6-19	0-25	0-19
Железистые волоски	Диаметр, мкм	16-21	-	17-20
	Частота встречаемости	0-19	-	13-25
Простые волоски	Длина, мкм	82-99	62-100	92-111
	Ширина основания, мкм	14-17	21-25	18-19
	Частота встречаемости	75-138	12-25	50-101

При изучении поперечного среза стебля в средней части отмечается массивный каркас проводящих тканей, паренхимное кольцо из крупных клеток и сердцевинная полость в центре (рис. 2). Тип строения стебля – переходный. Проводящая система образована 8-12 открытыми коллатеральными пучками, отличающимися размерами: в углах ребер расположены крупные сосудистые пучки, в межреберном пространстве – мелкие (один или попарно). Выражен пучковый камбий. Уголковая колленхима располагается в ребрах 10-11 рядами клеток, пластинчатая – по граням в виде однорядного слоя. Между колленхимой и сосудистыми пучками наблюдается слой крупных паренхимных клеток и один ряд эндодермных клеток неправильной формы. К флоэме прилегают лигнифицированные фрагменты склеренхимы. Флоэмные части пучка небольшие, состоят из мелких клеток. Сосуды ксилемы крупные, узкопросветные, сильно лигнифицированы.

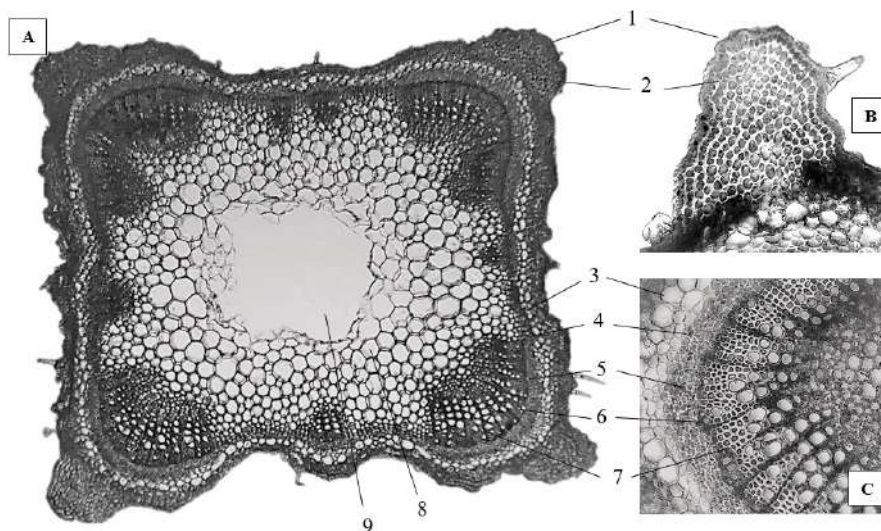


Рис. 2. Поперечный срез стебля *L. deminutus* (А – увеличение $\times 80$, В и С – увеличение $\times 300$): 1 – эпидермис; 2 – уголковая колленхима; 3 – паренхима первичной коры; 4 – эндодерма; 5 – флоэма; 6 – пучковый камбий; 7 – ксилема; 8 – паренхима сердцевины; 9 – полость сердцевины

Микроскопия листа. Клетки верхнего эпидермиса *L. deminutus* крупные, со слабоизвилистыми стенками, длиной 39-47 мкм, шириной 21-24 мкм; эпидермальные клетки с нижней стороны вытянуты вдоль периметра листовой пластинки, имеют характерный сильноизвилистый контур, длиной 43-55 мкм, шириной 17-22 мкм. Устьица встречаются только на нижнем эпидермисе (гипостоматический тип листа) длиной 24-29 мкм, шириной 17-19 мкм. Устьичный аппарат аномоцитного типа, реже диацитного. Верхняя и нижняя поверхность листа опушена, трихомы аналогичны стеблю. Однако редко, особенно по жилкам, встречаются трехклеточные колленчатые

волоски с бородавчатой кутикулой. Простые волоски окружены розеткой до 8 клеток, частота встречаемости с нижней стороны в 2 раза чаще, чем на верхней (табл. 1, рис. 3).

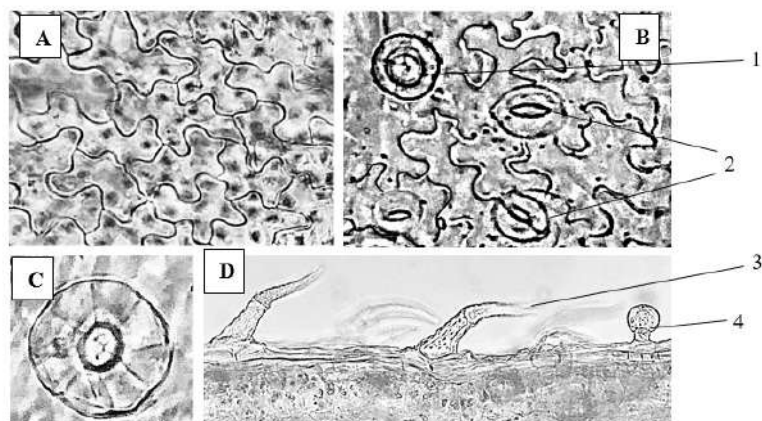


Рис. 3. Микроскопия листа *L. deminutus* (A-D – увеличение $\times 300$): A – верхний эпидермис листа: 1 – железистый волосок, 2 – аномальный устьичный аппарат; B – нижний эпидермис листа; C – эфиромасличная железка; D – край листа: 3 – простые двухклеточные коленчатые волоски с бородавчатой кутикулой; 4 – головчатый волосок

Микроскопия цветка. Для цветков *L. deminutus* характерна широко-коническая чашечка с широко-треугольными зубцами и опушенный двугубый венчик. При рассмотрении поверхностных препаратов наружной стороны чашелистиков отмечается комбинированная форма эпидермиса: у основания чашечки эпидермальные клетки прямоугольной формы, в местах образования зубцов отмечается многоугольные клетки с извилистым контуром, длиной 20-24 мкм, шириной 11-13 мкм (рис 4.).

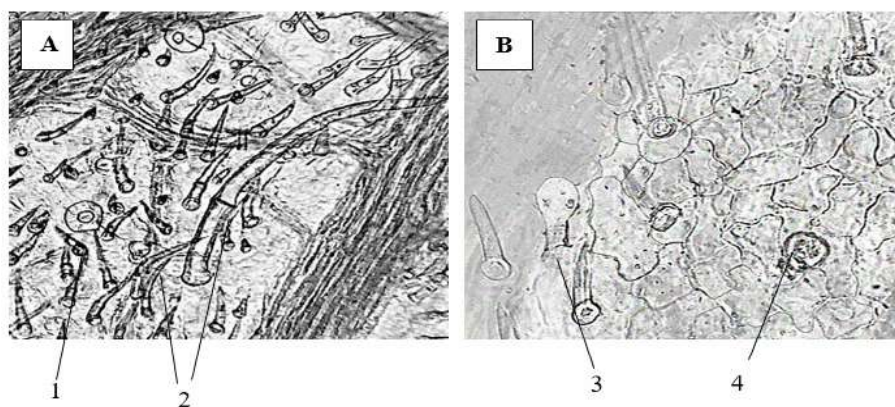


Рис. 4. Микроскопия чашелистиков *L. deminutus* (A, B – увеличение $\times 100$): A – поверхность зубца чашечки: 1 – эфиромасличная железка; 2 – простые многоклеточные волоски с бородавчатой кутикулой; B – нижний эпидермис чашечки: 3 – головчатый волосок с овальной головкой; 4 – головчатый волосок с округлой головкой

Клетки эпидермиса внутренней части чашечки крупнее, длина 26-31 мкм, ширина 15-18 мкм. На наружной стороне в основании чашечки наблюдаются остроконические волоски одно-, реже двухклеточные, с наружной стороны в основании трихомы отсутствуют. Широко-треугольные зубцы чашелистиков обильно опушены с обеих сторон, с наружной стороны встречаются одно- или трехклеточные суставные волоски с бородавчатой кутикулой, с внутренней стоит отметить большее количество головчатых волосков двух типов: с округлой и с овальной одноклеточной головками, ножка может состоять из 1-2 клеток. Железки, железистые (4х-клеточные) волоски и устья встречаются только снаружи чашелистиков. Количественные показатели для чашечки и венчика представлены в табл. 2.

Таблица 2. Количественная характеристика анатомических признаков цветка *L. deminutus*

Признак		Наружный эпидермис чашечки	Внутренний эпидермис чашечки	Наружный эпидермис венчика	Внутренний эпидермис венчика
Железки	Диаметр, мкм	42-50	-	42-50	42-50
	Частота встречаемости	6-25	-	6-25	6-25
Устьица	Длина, мкм	22-26	-	-	-
	Ширина, мкм	19-21	-	-	-
	Частота встречаемости	0-25	-	-	-
Головчатые волоски	Диаметр, мкм	17-19	18-21	17-21	17-21
	Частота встречаемости	13-25	32-50	0-6	0-6
Железистые волоски	Диаметр, мкм	16-20	-	-	-
	Частота встречаемости	0-12	-	-	-
Простые волоски	Длина, мкм	35-44 (у основания); до 322 (зубцы и по краям зубцов)	32-51 (зубцы)	до 781	до 596
	Ширина, мкм	14-16	14-16	13-18	13-18
	Частота встречаемости	264-359 (зубцы и по краям зубцов); более 500 (у основания)	113-157	88-161	75-126

В эпидермисе венчика имеются различия: наружная сторона состоит из округлых клеток плотно расположенных друг к другу, длиной 32-35 мкм, шириной 15-18 мкм. Эпидермис внутренней стороны имеет клетки извилистые, меньших размеров, длиной 26-31 мкм, шириной 16-20 мкм. На обеих сторонах венчика встречаются редкие железки и головчатые волоски (размеры такие же, как на листе). По краю верхней губы располагаются длинные многоклеточные (до 7 клеток) волоски со спадающимися клетками (рис 5.).

Эпидермис нижней губы имеет сосочковидные выросты. По краю нижней губы редко встречаются простые одноклеточные тонкостенные конусовидные волоски, характерные для *L. deminutus*. Однако, большая концентрация таких трихом представлена на нижнем эпидермисе лепестков. Отмечается наличие многочисленных мелких друз в мезофилле нижней губы и трубке венчика. Пыльца округлая, двубороздчатая, диаметром 38-44 мкм.

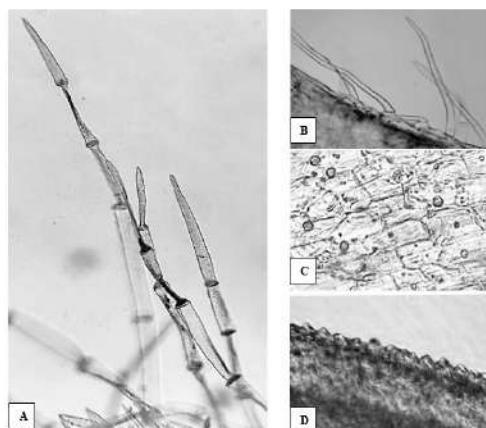


Рис. 4. Микроскопия венчика *L. deminutus* (А, С – увеличение $\times 300$; В, D – увеличение $\times 100$): А – простые многоклеточные волоски со спадающимися клетками; В – простые одноклеточные тонкостенные волоски; С – мелкие друзы оксалата кальция; D – фрагмент эпидермиса нижней губы с сосковидными выростами

Таким образом, выявлены анатомо-диагностические особенности изучаемого растения, характерные и для представителей рода *Leonurus*, что согласуются с литературными данными: четырехгранный стебель непучкового типа, простые волоски с бородавчатой кутикулой, железки 4-8-клеточные [11, 12].

Заключение

Установлены отличительные особенности *L. deminutus*: клетки эпидермиса с характерными слабо- и сильноизвилистыми стенками в листьях и цветках, 4-х клеточные железистые волоски повсеместно, головчатые волоски с овальной головкой на чашелистиках, многоклеточные кроющие трихомы со спадающимися клетками на лепестках, наличие друз в структурах венчика и округлая пыльца с бороздкой посередине. Кроме того, проведена количественная характеристика основных анатомических структур ЛРС. Изучение микроскопических признаков надземных органов *L. deminutus* является необходимым этапом для разработки нормативной документации на ЛРС – «Пустырника уменьшенного трава» и дальнейшего внедрения его в фармацевтическую практику.

Литература (references)

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. – М., 2018. – Т.2. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> [Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federatsii. 14-e izd. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14nd ed. – Moscow, 2018. – V.2. URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (in Russian)]
2. Данилова Н.С., Борисова С.З. Растение якутской народной медицины пустырник уменьшенный // Якутский медицинский журнал. – 2010. – №2(30). – С. 93-95. [Danilova N.S., Borisova S.Z. *Jakutskij medicinskij zhurnal*. Yakut medical journal. – 2010. – N2(30). – P. 93-95. (In Russian)]
3. Крестовская Т.В. Система и конспект рода *Leonurus* L. (Lamiaceae) // Новости систематики высших растений. – 1989. – Т.26. – С. 142-149. [Krestovskaya T.V. *Novosti sistematiki vysshih rastenij*. Novitates Systematicae Plantarum Vascularium. – 1989. – V.26. – С. 142-149. (In Russian)]
4. Потанина О. Г., Самылина И.А. Фармакопейные требования к микроскопическому анализу лекарственного растительного сырья // Фармация. – 2015. – №4. – С. 47. [Potanina O.G., Samylina I.A. *Farmacija*. Pharmacy. – 2015. – N4. – P. 47. (In Russian)]
5. Самылина И.А., Куркин В.А., Яковлев Г.П. Научные основы разработки и стандартизации лекарственных растительных средств // Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2016. – №1. – С. 41-44. [Samylina I.A., Kurkin V.A., Yakovlev G.P. *Vedomosti Nauchnogo centra jekspertizy sredstv medicinskogo primenenija*. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. – 2016. – N1. – P. 41-44. (In Russian)]
6. Соколова Я. В., Минович В.М. Исследование анатомо-диагностических признаков пустырника уменьшенного травы // Инновационные технологии в фармации: Материалы Всероссийской научно-

- практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Л.А. Усова, Иркутск, 16-17 октября 2020 года / Под ред. Е.Г. Приваловой. – Иркутск: ИГМУ, 2020. – С. 168-172. [Sokolova Ya.V., Mirovich V.M. *Innovacionnye tehnologii v farmacii: Materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem, posvjashhennoj 90-letiju so dnja rozhdenija professora L.A. Usova, Irkutsk, 16-17 oktjabrja 2020 goda / Pod red. E.G. Privalova. Innovative technologies in pharmacy: Materials of the All-Russian scientific and practical conference with international participation dedicated to the 90th anniversary of the birth of Professor L.A. Usov. Irkutsk, October 16-17, 2020 / Ed. E.G. Privalova. – Irkutsk: IGMU, 2020. – P. 168-172 (In Russian)]*
7. Bozorova M.I., Maulyanov S.A., Abdumalikov I.I. et al. Flavonoids from *Leonurus turkestanicus* // *Chemistry of Natural Compounds*. – 2021. – V.57. – P. 152-153.
 8. Ichim M.C., Häser A., Nick P. Microscopic Authentication of Commercial Herbal Products in the Globalized Market: Potential and Limitations // *Frontiers in pharmacology*. – 2020. – V.11. – P. 876.
 9. Koshovyi O., Raal A., Kireyev I. et al. Phytochemical and Psychotropic Research of Motherwort (*Leonurus cardiaca* L.) Modified Dry Extracts // *Plants*. – 2021. – V.10, N2. – P. 230.
 10. Olennikov D.N., Chirikova N.K. Caffeoylglucaric acids and other phenylpropanoids from siberian *Leonurus* species // *Chemistry of Natural Compounds*. – 2016. – V.52, N5. – P. 915-917.
 11. Pitschmann A., Waschulin C., Sykora C. et al. Microscopic and Phytochemical Comparison of the Three *Leonurus* Species *L. cardiaca*, *L. japonicus*, and *L. sibiricus* // *Planta Med*. – 2017. – V.83, N14-15. – P. 1233-1241.
 12. Popescu M.-L., Dinu M., Toth O. et al. Contributions to the pharmacognostical and phytobiological study on *Leonurus cardiaca* L. (Lamiaceae) // *Farmacia*. – 2009. – V.57, N4. – P. 424.
 13. Sayed A., Alam A., Islam S. et al. *Leonurus sibiricus* L. (honeyweed): A review of its phytochemistry and pharmacology // *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. – 2016. – V.12, N12. – P. 1076-1080.
 14. Zhang R.-H., Liu Z.-K., Yang D.-S. et al. Phytochemistry and pharmacology of the genus *Leonurus*: The herb to benefit the mothers and more // *Phytochemistry*. – 2018. – V.147 – P. 167-183.

Информация об авторах

Соколова Яна Вадимовна – аспирант кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: sokolovayana@mail.ru

Мирович Вера Михайловна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: mirko02@yandex.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.