

Д.М. ХИСЯМОВА

Самарский государственный медицинский университет
Кафедра фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ И ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ ЛАПЧАТКИ ПРЯМОЙ

Научный руководитель – профессор В.А. Куркин

Аннотация: проведено анатомо-морфологическое исследование корней лапчатки прямой (*Potentilla recta* L.) для выявления характерных диагностических признаков. Определены оптимальные условия экстрагирования сырья. Проведен качественный анализ изучаемого растения с использованием методов тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии.

Ключевые слова: лапчатка, *Potentilla* L., лапчатка прямая, *Potentilla recta* L., флавоноиды, фитостерины, микроскопия, тонкослойная хроматография, спектрофотометрия.

Summary: An anatomical and morphological study of the *Potentilla recta* L. roots was done to reveal characteristic diagnostic features. The optimal conditions for the extraction of raw materials were defined. A qualitative analysis of the studied plants was done with the use of thin-layer chromatography and spectrophotometry.

Keywords: bloodroot, cinquefoil, *Potentilla* L., *Potentilla recta* L., flavonoids, phytosterols, microscopy, thin-layer chromatography, spectrophotometry.

Род Лапчатка (*Potentilla* L.) широко распространен на территории Российской Федерации. По литературным данным его представители содержат широкий спектр биологически активных соединений, обеспечивающий разнообразие фармакологических эффектов. Так, высокое содержание дубильных веществ в сырье обеспечивает вяжущее, противовоспалительное и антибактериальное действие¹. Кроме того, для лапчаток известно антитиреоидное действие за счет содержания группы веществ, называемой фитостеринами. Ранее стеринны были изучены и выделены для корневищ лапчатки белой². Так как для близкородственных видов характерно сходство химического состава, целесообразно изучение комплекса биологически активных соединений и других представителей рода. Целью данного исследования было анатомо-морфологическое и фитохимическое изучение лапчатки прямой (*Potentilla recta* L.).

Материалы и методы исследования: объектом исследования являлись подземные

органы лапчатки прямой, заготовленные с июня по октябрь 2013 года на территории Ботанического сада г. Самара. Сушка сырья проводилась естественным способом.

Морфолого-анатомическое исследование подземной части лапчатки прямой проводили в проходящем отраженном свете, на светлом поле при помощи световых микроскопов марки Motic с увеличением x40, x100, x400. Приготовление микропрепаратов и проведение гистохимических реакций осуществлялось по общей фармакопейной методике³.

В качестве методов фитохимического анализа нами были использованы: хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ), а также спектроскопия и спектрофотометрия. Хроматографическое разделение проводили на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» с использованием различных систем растворителей: хлороформ – этанол – вода (26:16:3) и н-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2)⁴. Детекцию флавоноидных и стеринных соединений проводили в ультрафиолетовом свете при длине волны 254 и 366 нм, а также обработкой хроматографических

¹ Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для фармацевтических вузов (факультетов) – 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт». – ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. – 1239 с.

² Мешков А.И. Выделение и идентификация фитостеринных из корней и корневищ лапчатки белой / А.И. Мешков, В.И. Шейченко, В.А. Стихин, Т.А. Сокольская // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – №2. – 2009. – с. 36–37.

³ Государственная фармакопея СССР. 11-е издание / МЗ СССР. – Вып. 1: Общие методы анализа. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.

⁴ Зенкевич И.Г. Методы количественного хроматографического анализа лекарственных веществ: пособие для фармацевтических работников / И.Г. Зенкевич, В.М. Косман. – СПб.: СПХФА, 1999. – 81 с.

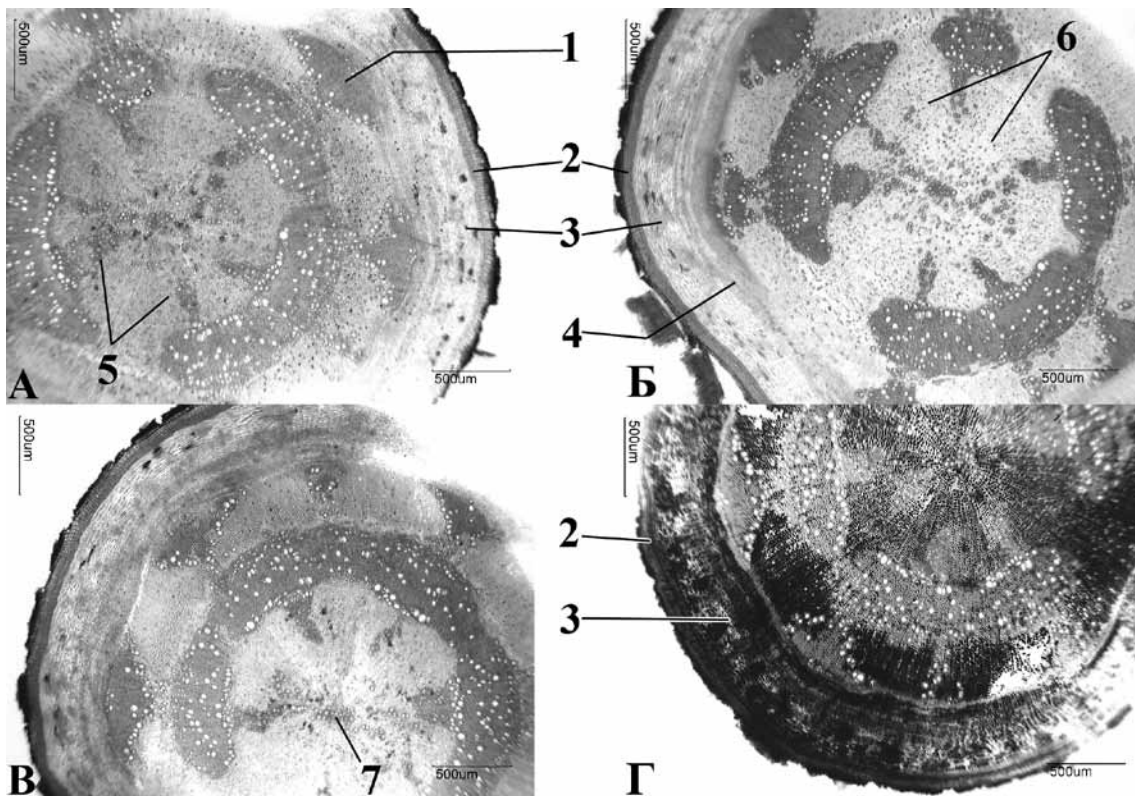


Рис. 1. Корень лапчатки прямой ($d=3-4$ мм). Поперечный срез ($\times 40$):
A – общий вид до окраски; Б – окраска сернистым анилином; В – окраска раствором Судана III;
Г – окраска раствором Люголя.
 Обозначения: 1 – ксилема; 2 – пробка, 3 – флоэма; 4 – флоэма; 5 – проводящие элементы вторичной ксилемы; 6 – паренхима сердцевинных лучей; 7 – первичная ксилема

пластинок растворами диазобензолсульфокислоты (ДСК), концентрированной серной кислотой⁵. Спектры поглощения регистрировали с помощью спектрофотометра “Specord 40” (Analytic Jena).

Результаты исследования. Общая характеристика анатомо-морфологических особенностей подкласса Rosidae, к которому относится род *Potentilla*, была описана ранее⁶. Однако для представителей рода Лапчатка необходимо более подробное изучение анатомии, так как описанные признаки недостаточны для диагностики.

Был проведен анатомо-морфологический анализ подземных органов лапчатки прямой, по результатам которого выявлены диагностические признаки сырья.

Общее очертание поперечного среза корня лапчатки прямой округлое. Корень имеет вторичное строение. Наиболее мощно представлена ксилема центрального цилиндра (рис. 1-1).

Паренхимные клетки коровой части содержат значительное количество крахмала, это обнаруживается при обработке

микропрепаратов раствором Люголя (рис. 1Г). В паренхиме встречаются небольшие участки или отдельные пигментированные клетки.

Флоэма корня сложена несколькими рядами уплотненных клеток с тонкими целлюлозными стенками (рис. 1-4). Характер окраски их протопласта раствором Судана III говорит о липофильности, входящих в него веществ.

Вторичная ксилема корня представлена сосудами, окруженными волокнами и одревесневшей основной тканью (рис. 1-5). Она сгруппирована в виде конусов, направленных верхушками к центру корня, причем сосуды, как правило, расположены преимущественно по периферии. Ксилема 1-го года жизни неоднородна, ближе к центру многолучевая, разделенная широкими радиальными лучами основной ткани, далее представленная несколькими часто сливающимися сегментами сосудов и паратрахеальных элементов (рис. 1-7).

На начальном этапе фитохимического анализа были подобраны условия экстрагирования биологически активных соединений полярными и неполярными растворителями – хлороформ, спирт (концентрация 40%, 70%, 95%), вода. Выявлено, что оптимальным экстрагентом для стероидных соединений является хлороформ, для флаво-

⁵ Шаршунова М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии / М. Шаршунова, В. Шварц, Ч. Михалец. – М.: Мир, 1980. – Т. 1, 2. – С. 20.

⁶ Таршис Л.Г. Анатомия подземных органов высших сосудистых растений / Л.Г. Таршис. – Екатеринбург: УрО РАН, 2007. – 224 с.

ноидных веществ – спирт с концентрацией 40% и 70%.

Флавоноидные структуры детектировали после обработки хроматографических пластин раствором ДСК в виде желто-оранжевых пятен с различными значениями R_f (рис. 2А).

Вещества фитостериновой природы обнаруживали в виде розовых пятен с величиной R_f около 0,7 (на уровне стандартного образца β -ситостерина) после обработки хроматографических пластинок 20% раствором серной кислоты и нагревании при 100 °С в течение 15 минут (рис. 2Б).

Флавоноиды лапчатки прямой анализировали методом дифференциальной спектрофотометрии. Анализ проводили для извлечения на 70% этиловом спирте (экстракция в течении 1 часа на кипящей водяной бане). При добавлении в исследуемые извлечения раствора алюминия хлорида наблюдался bathochromный сдвиг кривой. Максимумы поглощения наблюдались при длине волны 285 нм (рис. 3А). Количественное содержание суммы флавоноидов (в пересчете на цинарозид) составило от 0,07% до 0,15%.

Спектрофотометрическое исследование фитостеринов лапчатки прямой проводился для хлороформного извлечения, упаренного до сухого остатка, который затем растворяли в необходимом объеме концентрированной серной кислотой. Максимум поглощения полученного раствора наблюдается в электронном спектре при длине волны 308-310 нм, что характерно для данной группы веществ (рис. 3Б). Рассчитанное количественное содержание стеринных соединений составило около 4,2%.

Закключение. Таким образом, было проведено анатомо-морфологическое исследование корней лапчатки прямой (*Potentilla gesta* L.) и выявлены характерные признаки данного растительного сырья. Была осуществлена качественная и количественная оценка химического состава изучаемого растения с использованием методов тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии. Анализ показал наличие в лапчатке прямой целевых биологически активных соединений, что позволяет продолжить дальнейшие исследования данного представителя рода *Potentilla* L.

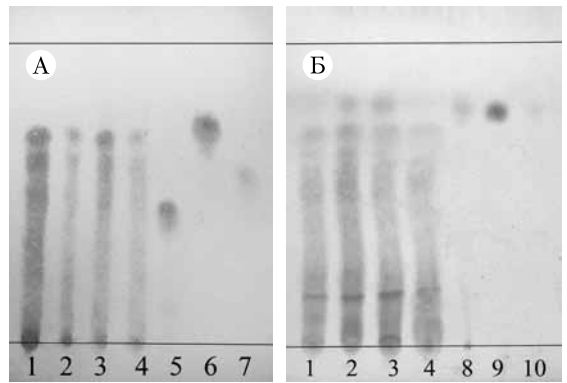


Рис. 2. Хроматограммы разделения извлечений из подземной части лапчатки прямой в системе растворителей и-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4:1:2):

А – обработка диазобензолсульфокислотой; Б – обработка 20% серной кислотой.

Обозначения: 1 – извлечение на 40% спирте этиловом; 2 – извлечение на 70% спирте этиловом; 3 – извлечение на 95% спирте этиловом; 4 – извлечение на воде очищенной; 5 – ГСО рутин; 6 – кверцетин; 7 – цинарозид; 8 – хлороформное извлечение; 9 – β -ситостерин; 10 – олеаноловая кислота

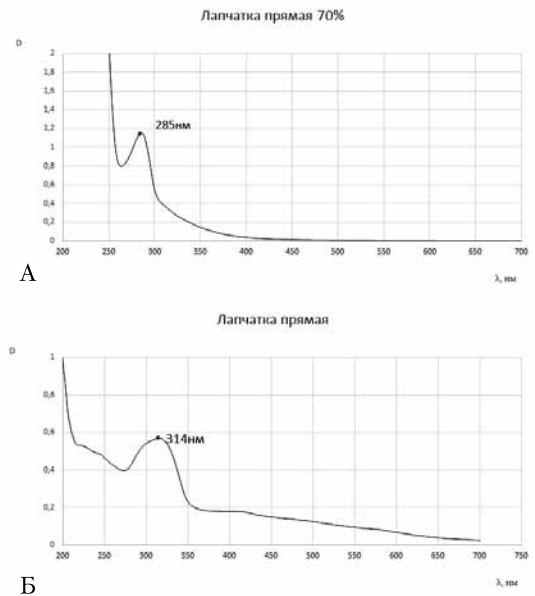


Рис. 3. Электронные спектры поглощения извлечений из корней и корневищ лапчатки прямой.

Обозначения: А – спектр поглощения спиртового извлечения; Б – спектр поглощения хлороформного извлечения