

11. Wong, R.C.B. Generation of a human induced pluripotent stem cell line CERAi001-A-6 using episomal vectors / R. C. B. Wong [et al.] // J. Stem Cell Res. 2017. –Vol. 22. –P.13-15.

REFERENCES

1. Vaskova, E.A. [et al.] «Epigenetic Memory» Phenomenon in Induced Pluripotent Stem Cells. Acta Nat. 2013. Vol. 5. № 4. P. 15-21. (In Russ).
2. Merkulov V.A., Bunyatyan N.D., Radaev S.M. Problems and perspectives of cell therapy in clinical practice. Vedomosti NTsESMP. 2011. Vol. 2. P. 35-38.
3. Baranek M. [et al.] Effect of small molecules on cell reprogramming. J. Mol Biosyst. 2017. Vol. 13. P. 277-313.
4. Hayashi R. [et al.] Generation of corneal epithelial cells from induced pluripotent stem cells derived from human dermal fibroblast and corneal limbal epithelium. J. PLoS One. 2012. Vol. 7. P. 165-176.
5. Kim, K. [et al.] Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells. Nature. 2010. Vol. 467. P.285-290.
6. Lo Sardo V. [et al.] Influence of donor age on induced pluripotent stem cells. J. Nat. Biotechnol. 2017. Vol. 35. P.69-74.
7. Okita K. [et al.] A more efficient method to generate integration-free human iPS cells. J. Nat Methods. 2011. Vol. 8, № 5. P. 409-412.
8. Piao, Y. [et al.] Efficient generation of integration-free human induced pluripotent stem cells from keratinocytes by simple transfection of episomal vectors. J. Stem Cells Transl Med. 2014. Vol. 3. P.787-791.
9. Takahashi, K. [et al.] Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell. 2007. Vol. 131. P. 861-872.
10. Varga E. [et al.] Generation of human erythroblast-derived iPSC line using episomal reprogramming system. J. Stem Cell Res. 2017. Vol. 25. P.30-33.
11. Wong, R.C.B. [et al.] Generation of a human induced pluripotent stem cell line CERA i001-A-6 using episomal vectors. J. Stem Cell Res. 2017. Vol. 22. P.13-15.

УДК 615.322

© А.Р. Казеева, К.А. Пупыкина, В.В. Пупыкина, 2018

А.Р. Казеева, К.А. Пупыкина, В.В. Пупыкина
МАКРОСКОПИЧЕСКИЙ И МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗЫ
СЫРЬЯ КРОВОХЛЕБКИ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Уфа

В статье приведены результаты изучения морфологических и анатомических признаков сырья кровохлебки лекарственной с использованием макроскопического и микроскопического анализов. Выявлены характерные внешние признаки кровохлебки лекарственной, позволяющие идентифицировать сырье: для травы это описание стеблей, листьев, цветков и соцветий, их окраска и запах; морфологическими особенностями корневищ и корней являются характер излома и окраска его наружной пробки. При изучении микроскопических особенностей сырья кровохлебки установлены диагностически значимые признаки, позволяющие установить показатели подлинности. При описании травы кровохлебки обращают внимание на извилистые клетки эпидермиса листьев с четко видимыми утолщениями, амфистоматический тип листа, устьица аномоцитного типа, наличие простых, головчатых волосков, друз оксалата кальция, вместилищ с желтым содержимым, многоугольные клетки эпидермиса цветка с простыми волосками, друзами, устьицами аномоцитного типа, характерными пыльцевыми зернами. Для корневищ кровохлебки характерны хорошо выраженная сердцевина с крупными паренхимными клетками, пробка, первичная кора, сплошное камбиальное кольцо, мощные радиальные лучи. Корни кровохлебки имеют вторичное строение с выраженной пробкой, первичной корой, центральным цилиндром и характерными для них микродиагностическими элементами.

Ключевые слова: кровохлебка лекарственная, корневища и корни, трава, морфологические и микродиагностические признаки.

A.R. Kazeeva, K.A. Pupykina, V.V. Pupykina
MACROSCOPIC AND MICROSCOPIC ANALYSIS
OF BURNET HERBAL RAW MATERIAL

The article presents the results of the study of morphological and anatomical features of burnet raw materials with the use of macroscopic and microscopic analysis. The study revealed characteristic external signs of burnet, identifying raw material: for the herb it is a description of stems, leaves, flowers and blossoms, their color and smell; the morphological features of the roots and rhizomes include the nature of bending and coloring of the outer cork. Investigation of microscopic features of burnet raw material determined diagnostically significant signs that allow to set the indicators of authenticity. Description of burnet pays attention to the sinuous epidermal cells of leaves with clearly visible bulges, amphistomatic leaf type, stomata of irregular-celled type; presence of simple, capitate trichomes, clusters of calcium oxalate, a container with yellow contents; the polygonal cells of the epidermis of the flower with simple hairs, clusters, stomata of anomocytic type, characteristic of the pollen grains. Rhizomes of burnet is characterized by a well-pronounced core with large parenchymal cells, cork, primary bark, continuous cambial ring, powerful radial rays. Roots of burnet have a secondary structure with a pronounced cork, primary bark, central cylinder and characteristic microdiagnostic elements.

Key words: burnet, rhizome and radices, herb, morphological and microdiagnostic signs.

В настоящее время особую актуальность приобретает исследование хорошо изученных лекарственных растений с целью выявления новых аспектов их использования в медицине. Фармакологическая активность лекарственных растений определяется входя-

щими в их состав биологически активными веществами, которые более родственны человеческому организму, оказывают влияние на различные биохимические процессы, происходящие в нем, и поэтому усваиваются лучше, чем их синтетические аналоги. Интерес-

ной для изучения является кровохлебка лекарственная, у которой достаточно подробно изучены подземные органы и практически не изучался химический состав и возможности использования травы.

Корневища и корни кровохлебки лекарственной издавна применяются в официальной медицине в основном как вяжущее и кровоостанавливающее средство, но кровохлебка развивает мощную надземную часть, которая тоже может использоваться как лечебное средство. Поэтому для нас представляло интерес более подробное изучение химического состава, морфолого-анатомических признаков и биологической активности травы кровохлебки. Растение это неприхотливое, растет по заливным лугам, на полянах, в зарослях кустарников, обладает очень широким фитоценотическим спектром, имеет обширный ареал распространения и большие запасы сырья как у нас в стране, так и за рубежом [2, 3].

Для новых видов лекарственного растительного сырья обязательно проводятся исследования по разработке показателей подлинности и доброкачественности. При этом кроме описания внешних признаков необходимо подробное изучение микродиагностических особенностей, которые позволят получить более достоверную информацию, необходимую для идентификации сырья и составления нормативной документации.

Целью исследования явилось изучение морфолого-анатомических признаков сырья кровохлебки лекарственной из флоры Башкортостана.

Материал и методы

Объектами исследования служили трава, корневища и корни кровохлебки лекарственной, заготовленных в различных районах Республики Башкортостан в 2013-2017 гг. После заготовки образцы сырья кровохлебки сушили воздушно-теневым методом, затем упаковывали и хранили в соответствии с требованиями нормативной документации при комнатной температуре в темном, сухом, хорошо вентилируемом помещении. Для определения подлинности сырья применяли методы макро- и микроскопического анализов, описанные в ГФ XIII издания [1]. Микроскопические исследования проводили с помощью микроскопа MINIMED 501 и микровизора μ Visor (ЛОМО), полученные изображения редактировали в Microsoft Photo Editor и интерпретировали [3].

Результаты и обсуждение

Для выявления характерных внешних признаков сырья проводили осмотр состав-

ных компонентов аналитической пробы визуально, при необходимости используя лупу ($\times 10$). Обращали внимание на структуру растительного сырья, цвет, запах и вкус водного извлечения (рис. 1).



Рис. 1. Внешний вид сырья кровохлебки лекарственной: а – трава, б – корневища и корни

Были выделены следующие характерные внешние признаки: у травы кровохлебки лекарственной – части листьев, соцветий, кусочков стеблей ребристых, полых, голых, зеленого цвета; окраска листьев с верхней и нижней сторон листа отличалась – верхняя сторона листовой пластинки была блестящая темно-зеленая, нижняя – тусклая сизозеленая; цветки собраны в продолговатые головчатые соцветия темно-красного цвета, на прямых цветоносах; запах своеобразный или отсутствует (рис. 1а); корневища и корни кровохлебки лекарственной представляли собой одревесневшие куски длиной до 20 см, толщиной 0,5-2,5 см; снаружи корневища и корни имели гладкую или слегка морщинистую поверхность; излом неровный; цвет снаружи темно-бурый, почти черный, а на изломе желтовато-бурый; запах отсутствует (рис. 1б).

Микродиагностические признаки определяли в соответствии с правилами выполнения микроскопического анализа лекарственного растительного сырья, описанными в Государственной фармакопее XIII издания, проводили последовательное изучение и опи-

сание составных частей морфологических групп сырья. Проявляемость характерных признаков определяли в пробах порошков сырья по внешнему виду частиц и частоте их встречаемости.

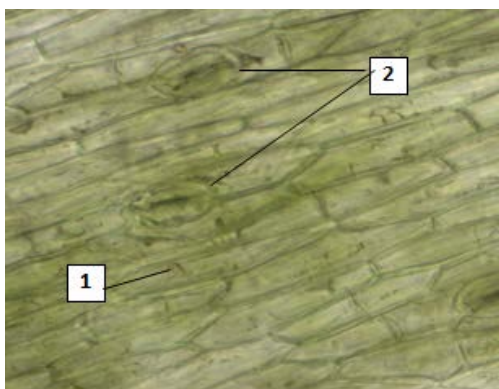


Рис. 2. Эпидерма стебля ($\times 100$): 1 – вытянутые клетки эпидермиса; 2 – устьица

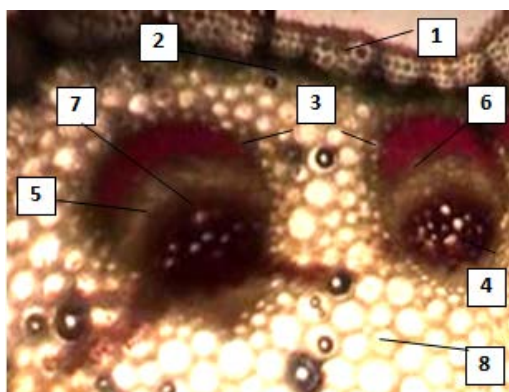


Рис. 3. Поперечный срез стебля ($\times 200$): 1 – эпидерма; 2 – колленхима; 3 – открытые проводящие пучки; 4 – ксилема; 5 – флоэма; 6 – склеренхима; 7 – камбий; 8 – паренхима

Для стебля характерными были вытянутые по длине клетки эпидермиса с прямыми стенками, устьица, окруженные 4-5 клетками (аномоцитный тип) (рис. 2). На поперечном срезе стебля отмечали наличие коры и центрального цилиндра с разрушенной сердцевинной (рис. 3). В коре наблюдали уголковую колленхиму и клетки паренхимы. В центральном цилиндре отмечали наличие открытых коллатеральных пучков, расположенных по окружности, что характерно для двудольных растений, при этом хорошо была выражена камбиальная зона.

У листьев клетки верхнего и нижнего эпидермиса отличались: с верхней стороны клетки слабоизвилистые с утолщенной клеточной стенкой (рис. 4); на нижней стороне клетки эпидермиса – с извилистой утолщенной стенкой; устьица располагались с обеих сторон листа (амфистоматический тип), но преимущественно на нижней эпидерме, они имели округлую форму и окружены 3-5 клетками (аномоцитный тип) (рис. 5).

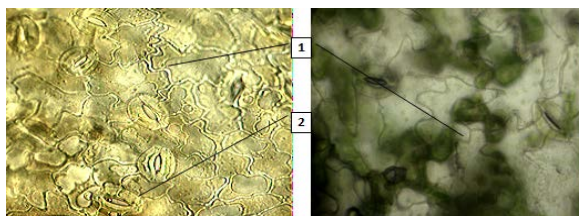


Рис. 4. Эпидермис листа ($\times 100$): 1 – клетки извилистые с утолщенной стенкой; 2 – устьица аномоцитного типа

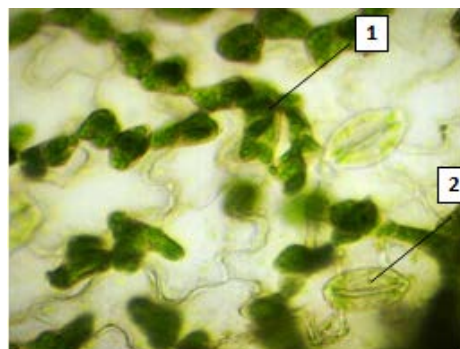


Рис. 5. Губчатый мезофилл листа ($\times 200$): 1 – клетки с хлорофиллом; 2 – устьица

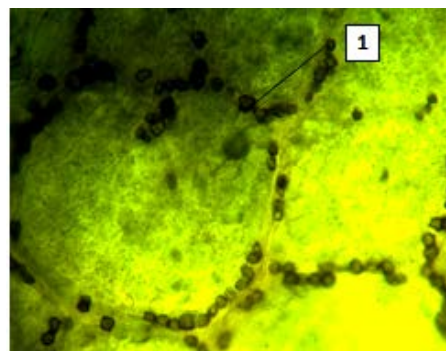


Рис. 6. Эпидермис листа ($\times 100$): 1 – друзы оксалата кальция расположены по жилкам

Друзы оксалата кальция многочисленные и в основном локализовались по жилкам листа, волоски двух типов – простые и головчатые, в основном расположены на нижней стороне листа, вместилища с желтым содержимым (рис. 6-8). В прилистниках листа на верхней стороне эпидермальные клетки слабоизвилистые, а на нижней – извилистые с крупными устьицами, окруженными 3-4 околоустьичными клетками (аномоцитный тип), имеются простые волоски.

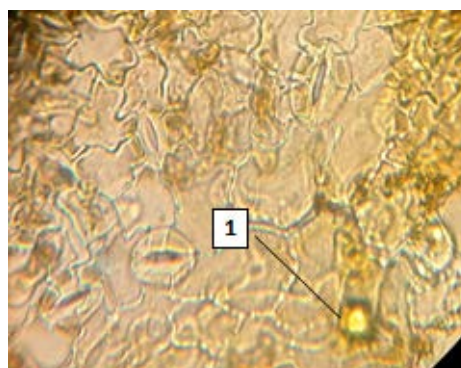


Рис. 7. Нижний эпидермис листа ($\times 100$): 1 – вместилище с желтым содержимым

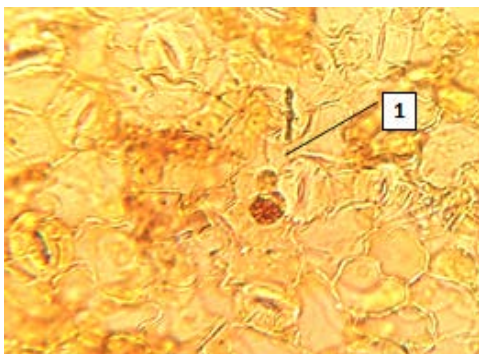


Рис. 8. Нижний эпидермис листа ($\times 100$): 1 – головчатый волосок

При изучении лепестков цветка обращали внимание, что клетки верхнего эпидермиса представлены многоугольными вытянутыми клетками, плотно прилегающими друг к другу, отмечались устьица аномоцитного типа, много простых волосков, друзы оксалата кальция, пыльцевые зерна (рис. 9, 10).

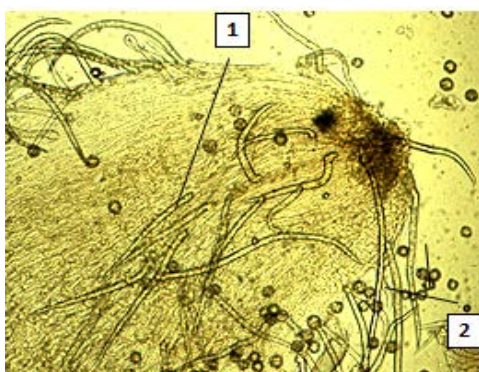


Рис. 9. Лепестки цветка ($\times 100$): 1 – простые волоски; 2 – пыльца

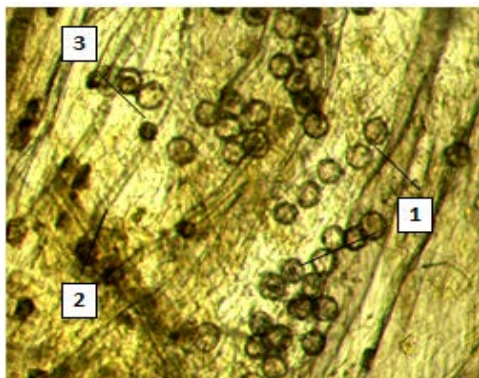


Рис. 10. Эпидермис цветка ($\times 200$):
1 – пыльцевые зерна; 2 – волоски; 3 – друзы

Обобщая полученные результаты изучения микродиагностических признаков травы кровохлебки лекарственной, можно отметить, что к диагностически значимым признакам относятся: клетки эпидермиса с утолщенной стенкой – слабоизвилистые на верхней стороне и извилистые на нижней стороне листа, клетки вытянутой формы вдоль главной жилки; амфистоматический тип листа с устьицами аномоцитного типа; простые и головчатые волоски на нижней стороне листа; многочисленные друзы оксалата кальция вдоль

жилок; вместилище с желтым содержимым с нижней стороны листа; многоугольные клетки эпидермиса лепестков цветка с многочисленными простыми волосками; устьицами аномоцитного типа, друзы оксалата кальция, характерные пыльцевые зерна.

Для микроскопического анализа корневищ и корней кровохлебки лекарственной проводили соответствующую пробоподготовку, замачивая сырье в спиртоглицериновой смеси и выдерживая некоторое время для размягчения. Из образцов сырья делали тонкие срезы и проводили реакцию окрашивания на механические элементы тканей с раствором флороглюцина и концентрированной соляной кислотой.

В корневищах кровохлебки наблюдали три зоны – пробку, первичную кору и центральный цилиндр (рис. 11, 12).

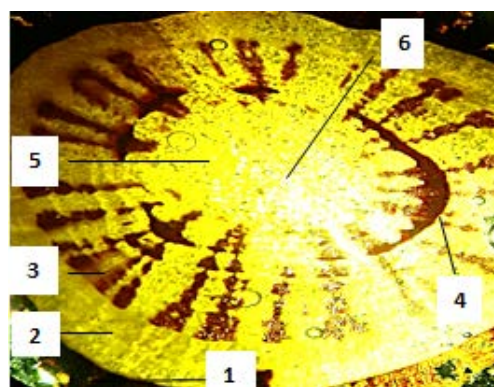


Рис. 11. Корневище ($\times 100$): 1 – перидерма; 2 – кора; 3 – сердцевинные лучи; 4 – камбиальное кольцо; 5 – центральный цилиндр; 6 – сердцевина

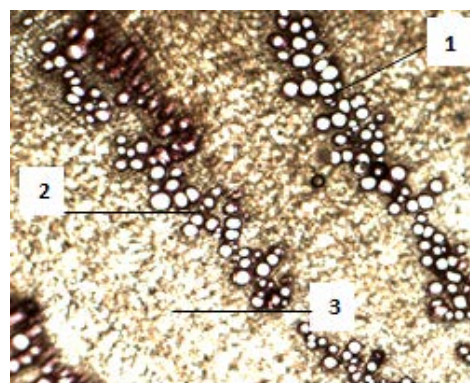


Рис. 12. Корневище ($\times 200$): 1 – радиальные лучи; 2 – ксилема; 3 – группы механических волокон

Пробка покрывает корневище снаружи и состоит из 4-5 рядов клеток; отмечалось сплошное камбиальное кольцо, состоящее из 2-5 рядов клеток; выражены мощные радиальные лучи (около 40); механические клетки в ксилеме располагались в 2-4 слоя; хорошо выражена сердцевина, состоящая из крупных паренхимных клеток. В корневище наблюдались крупные друзы оксалата кальция и крахмальные зерна (рис. 13, 14).

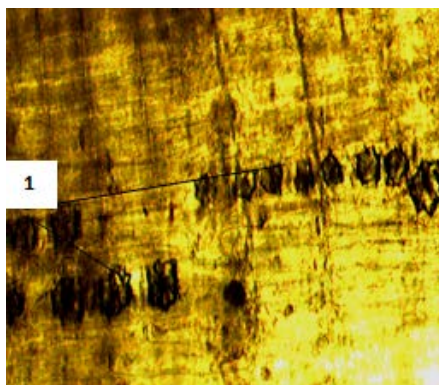


Рис. 13. Корневище ($\times 100$): 1 – друзы оксалата кальция

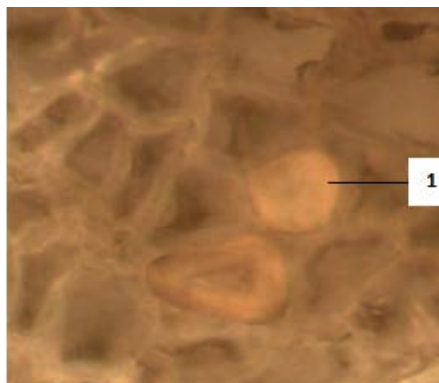


Рис. 14. Корневище ($\times 200$): 1 – крахмальные зерна

Для корня кровохлебки характерно вторичное строение. Наблюдались четко выраженные зоны первичной коры и центрального цилиндра, снаружи корня покрывает пробка. Камбий формируется в центральном осевом цилиндре; вторичная флоэма с группами ситовидных трубок (по 3–4) располагалась под перидермой в мощной лубяной паренхиме; выраженные радиальные ряды паренхимы имеют изгибы и образуют межклетники. Хорошо выражено камбиальное кольцо, которое состоит из 2–5 слоев клеток; ксилема сильно паренхиматизирована, а ее сосуды образуют небольшие группы и закладываются по годам вегетации. Формируются мощные вторичные радиальные лучи; в паренхиме корня много крахмальных зерен, а друзы появляются лишь с переходом особей в имматурное состояние. Сосуды первичной ксилемы располагались в центре корня, где встречались участки опробковевших тканей, в которых увеличивается количество друз. Возрастные изменения в корне проявлялись в виде утолщения перидермы и появления вторичных флоэмы и ксилемы (рис. 15,16).

Анализируя результаты исследования, следует отметить, что к диагностически значимым признакам корневищ и корней кровохлебки лекарственной можно отнести следующее: корневище снаружи покрыто 4–5 рядами клеток, образующих пробку, у него хорошо выраженная кора и сердцевина с крупны-

ми паренхимными клетками; камбиальное кольцо сплошное, состоящее из 2–5 рядов клеток; мощные радиальные лучи; механические клетки в ксилеме, похожие на годовичные кольца. Для корней кровохлебки характерно вторичное строение с выраженной пробкой, корой, центральным цилиндром; камбий формируется в центральном цилиндре; вторичная флоэма с группами ситовидных трубок, расположенных под перидермой в мощной лубяной паренхиме; характерны межклетники и неровное камбиальное кольцо; ксилема сильно паренхиматизирована; мощные вторичные радиальные лучи; много крахмальных зерен; сосуды первичной ксилемы располагаются в центре корня. Описанные микродиагностические признаки корневищ и корней кровохлебки лекарственной соотносятся с данными, представленными в существующей нормативной документации [5].

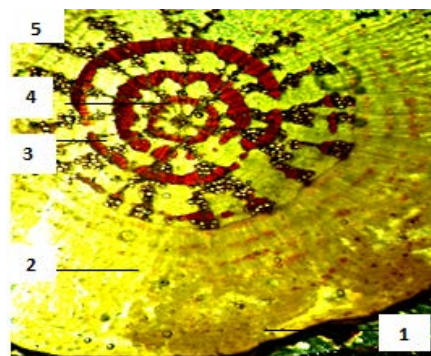


Рис. 15. Корень вторичного строения ($\times 100$): 1 – пробка; 2 – первичная кора; 3 – камбиальное кольцо; 4 – центральный цилиндр; 5 – радиальные лучи

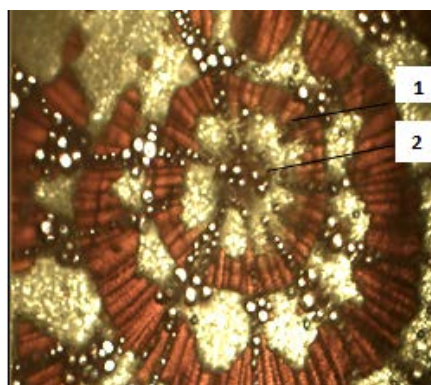


Рис. 16. Корень вторичного строения ($\times 100$): 1 – вторичная флоэма; 2 – вторичная ксилема

В соответствии с современными требованиями к оценке качества лекарственного сырья проводится не только качественная характеристика микроскопических признаков сырья, но и количественная оценка диагностически значимых признаков. Данная методика, разработанная Потаниной О.Г. и Самылиной И.А. [4], была использована нами в исследовании. При этом сырье травы, корневищ и корней кровохлебки лекарственной предвари-

тельно измельчали до состояния порошка и в готовых препаратах подсчитывали количество диагностически значимых и незначимых частиц под микроскопом. Значимыми считали основные анатомо-диагностические признаки травы,

корневищ и корней кровохлебки, указанные выше. Полученные результаты, представленные в нижеследующей таблице, важны при оценке качества сырья и сохранности в нем основных групп биологически активных веществ.

Таблица

Показатели метрологической характеристики диагностически значимых признаков травы, корневищ и корней кровохлебки								
Объект исследования	n	$\bar{X}_{\text{ср}}$	S_x	P, %	t(P,f)	ε_a	$\varepsilon_{\%}$	$\bar{X}_{\text{ср}} \pm \varepsilon_a$
Трава	15	36,52	1,614	95	2,15	3,47	9,50	$36,52 \pm 3,47$
Корневища и корни	15	51,85	1,716	95	2,15	3,69	7,11	$51,85 \pm 3,69$

Выводы

1. Проведены макро- и микроскопический анализы травы, корневищ и корней кровохлебки лекарственной и выявлены характерные диагностически значимые признаки, необходимые для определения подлинности и оценки качества сырья.

2. Установлены средние значения количества диагностически значимых микроскопических признаков сырья кровохлебки лекарственной, которые составили для травы $36,52 \pm 3,47\%$, а для корневищ и корней – $51,85 \pm 3,69\%$.

Сведения об авторах статьи:

Казеева Алина Рамилевна – к.фарм.н., специалист коммерческого отдела ООО «Медтехника» РБ. Адрес: 450054, г. Уфа, Рязанская, 5.

Пупыкина Кира Александровна – д.фарм.н., профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: pupykinaka@gmail.com.

Пупыкина Виктория Викторовна – студент педиатрического факультета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея XIII издания [Электронный ресурс]/ URL: <http://pharmacopoeia.ru/gosudarstvennaya-farmakopeya-xiii-online-gf-13-online> (дата обращения 12.04.2018 г.)
2. Кучеров, Е.В. Лекарственные растения Башкирии: их использование и охрана / Е.В. Кучеров, Д.Н. Лазарева, В.К. Десяткин – Уфа: Башкирское книжное издательство, 1989. – 272 с.
3. Самылина И.А., Аносова О.Г. Фармакогнозия: атлас, т. 1. Общая часть. Термины и техника микроскопического анализа в фармакогнозии: учебное пособие. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 192 с.
4. Потанина, О.Г. Оценка доброкачественности лекарственного растительного сырья с учетом диагностически значимых признаков / О.Г. Потанина, И.А.Самылина // Фармация. – 2003. – № 4. – С. 12-14.
5. ФС 42-1082-76 «Rhizomata et radices Sanguisorbae».

REFERENCES

1. Gosudarstvennaya farmakopeya XIII izdaniya: <http://pharmacopoeia.ru/gosudarstvennaya-farmakopeya-xiii-online-gf-13-online> (12.04.2018)
2. Kucherov E.V., Lazareva D.N., Desyatkin V.K. Lekarstvennye rasteniya Bashkirii: ih ispol'zovanie i ohrana (Medicinal plants of Bashkiria: their use and conservation). Ufa, 1989, 272 p.
3. Samylina I.A., Anosov O.G. Farmakognosiya. Atlas. Tom 1. Obshchaya chast'. Terminy i tekhnika mikroskopicheskogo analiza v farmakognozii (Pharmacognosy. Atlas. Volume 1. Common part. Terms and techniques of microscopic analysis in pharmacognosy). Moscow, 2007, 192 p.
4. Potanina O.G., Samylina I.A. Evaluation of the medicinal plant raw material quality taking into account the diagnostically significant signs. Pharmacy, 2003, No. 4, P. 12-14.
5. FS 42-1082-76 "Rhizomata et radices Sanguisorbae".