

Рекомендована д.ф.н., професором В.С.Кисличенко

УДК 582.734.3:581.45:54.02:581.8

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛИСТЯ CRATAEGUS MAXIMOWICZII Schneid

Н.В.Сидора, А.М.Ковальова, А.М.Комісаренко

Національний фармацевтичний університет

Проведено фітохімічне дослідження листя *Crataegus maximowiczii*. Вперше встановлено наявність 24 фенольних сполук. Вперше виділено та ідентифіковано 6 флавоноїдів: рутин, гіперозид, апігенін, кверцетин, вітексин, кемпферол та 2 гідроксикоричні кислоти: неохлорогенова та ферулова кислоти. Вперше проведено анатомічне дослідження листя *C. maximowiczii*. Встановлені основні анатомічні діагностичні ознаки сировини: епідерма з простими волосками; наявність по краю кінчиків 3-5 водяних продихів, що складають гідатоду; наявність у тканинах рослини клітин з кристалами оксалату кальцію та клітин з червоно-коричневим вмістом (флобафени).

Препарати глодів застосовують при захворюваннях серцево-судинної системи як засоби, що посилюють скорочувальну діяльність міокарда, нормалізують серцевий ритм, посилюють кровообіг у судинах, знижують вміст холестерину в крові, виявляють слабку діуретичну дію [6-11]. На фармацевтичних ринках багатьох країн світу представлені як індивідуальні, так і комбіновані препарати, що містять сировину глодів. Фармакопею сировиною (ДФ XI) та за Європейською фармакопеєю є плоди та квітки глоду [2, 5].

Поряд з цим відомо, що перспективною сировиною є листя глоду. Так, суму екстрактивних речовин "Кратегід" з листя глоду українського було запропоновано для лікування серцево-судинних захворювань [1].

У флорі України офіцинальні види практично не представлені або не мають достатньої сировинної бази. Разом з тим культивують неофіційні види глоду, зокрема, далекосхідної групи. Таким видом є глід Максимовича — *Crataegus maximowiczii* Schneid., який характеризується широким, обернено-яйцеподібним, опушеним знизу листям з 4-6 парами неглибоко зубчастих лопатей з випуклими жилками та клиноподібною основою, яка поступово переходить у опущений крилатий черешок з багатоквітковими суцвіттями з опушеними квітконіжками і білими квітками 1,5 см у діаметрі з 20 тичинками з темно-рожевими піляками, 3-4 стовб-

чиками, вузькими, трикутними чашелистками і пізніше з червоними плодами з мучнистою м'якоттю та 3-4 (5) кісточками, зморшкуватими з боків та гладенькими зверху і знизу [3].

За результатами нашого хемотаксономічного дослідження встановлено, що глід Максимовича входить в основні групи представників різних ботанічних секцій і формує їх хімічний профіль. У результаті морфолого-таксономічного дослідження встановлено, що глід Максимовича є посередником між східноєвропейськими та північноамериканськими видами [4].

Відомо, що до фармакопейної сировини "Flores Crataegi" (ДФ XI) та "Crataegi Flores" (Європейська фармакопея) допускається вміст листя 6% та 5% відповідно [2, 5]. Тому науковий інтерес представляє фітохімічне дослідження листя глоду Максимовича як джерела біологічно активних речовин (БАР) та встановлення анатомічних діагностичних ознак цієї сировини.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження було свіже та сухе листя *Crataegus maximowiczii*, зібране у червні 2007 р. у ботанічному саду Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна.

Дослідження БАР проводили з використанням якісних хімічних реакцій та хроматографічних методів аналізу. Для визначення фенольних сполук одержували спирто-водні витяжки з 5 г листя та хроматографували в одному та двох напрямках. Для ідентифікації фенольних сполук використовували паперову хроматографію (ПХ) на папері марки "Filtrak" №12 і системи розчинників: I напрямок — етилацетат-мурашина кислота-вода (10:2:3), II напрямок — 2% оцтова кислота. Результати хроматографування оцінювали в денному та УФ-світлі до та після обробки хроматограми парами амоніаку, а також за значеннями R_f у порівнянні з вірогідними зразками.

Дослідження анатомічної будови листя проводили за загально відомими методиками. Як консервант використовували суміш спирт-гліцерин-вода (1:1:1) як просвітлюючі рідини — розчин хлоралгідрату та 3% водний розчин гідроксиду натрію. Діагностичні ознаки вивчали за допомогою

Таблиця 1

Результати хроматографічного дослідження листя *C. Maximowiczii*

№ сполук	Значення $R_f \cdot 100$		Флуоресценція в УФ-світлі	
	I система	II система	до обробки реактивом	після обробки парами амоніаку
1	8	10	Темна	Темна
2	42	10	Темна	Темно-оранжева
3	55	10	Блакитна	Блакитна
4	62	15	Темна	Оранжева
5	74	20	Темна	Жовто-зелена
6	90	35	Блакитна	Блакитна
7	99	40	Світло-коричнева	Світло-коричнева
8	95	7	Сіро-жовта	Сіро-жовта
9, 10, 13-17, 24	15-92	90-99	Блакитна	Блакитна
11	77	82	Блакитна	Бірюзова
12	85	70	Синя	Синя
18	43	85	Темна	Темна
19	43	73	Темно-блакитна	Темно-блакитна
20	53	43	Темна	Темно-зел.-коричнева
21	80	10	Темна	Темно-зелена
22	6	62	Блакитна	Блакитна
23	90	7	Жовта	Жовто-зелена

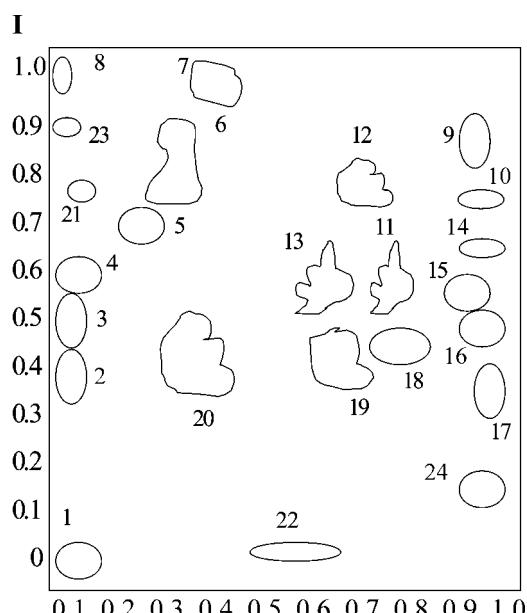
**ІІ**

Рис. 1. Схема хроматограми фенольних сполук листя глоду Максимовича.

Таблиця 2

Фізико-хімічні властивості фенольних сполук листя *C. Maximowiczii*

Шифр сполуки	Назва сполуки	УФ-спектри, λ мах, етанол	T пл., °C	Значення $R_f \cdot 100$	
				I	II
4	Гіперозид	258, 269, 362	235-239	62	15
5	Вітексин	270, 335	255-257	74	20
8	Апігенін	267, 335	345-347	95	7
11	Неохлорогенова кислота	245, 300, 325	аморфн.	77	82
12	Ферулова кислота	235, 290, 320	168-170	85	70
20	Рутин	260, 266, 362	189-191	53	43
21	Кверцетин	256, 270, 370	316-318	80	10
23	Кемпферол	270, 372	279-280	90	7

мікроскопів МБР-1 та МБР-2 зі збільшенням 100 та 600. Зрізи фотографували цифровим фотоапаратом Nikon 5600 та Kodak Easy Shape 5.

Результати та їх обговорення**Фітохімічне дослідження**

У результаті проведеного хроматографічного дослідження в листі глоду Максимовича ідентифіковано 24 сполуки фенольної природи. Результати хроматографічного визначення фенольних сполук наведені у табл. 1. Схема хроматограми фенольних сполук листя наведена на рис. 1.

У листі досліджуваного виду встановлено наявність не менше 9 сполук флавоноїдної природи та 2 гідроксикоричні кислоти (табл. 1).

Ідентифікацію фенольних сполук проводили хроматографічним методом у порівнянні з вірогідними зразками. Природу флавоноїдів визначали ціанідиновою реакцією за Бріантом, на основі якої встановлено, що в сировині містяться глікозиди та аглікони флавоноїдів. Із суми фенольних сполук листя методом препаративної хроматографії у тонкому шарі сорбенту (ТШХ) було виділено 8 сполук та встановлена їх структура методом УФ-спектрометрії. Сполуки ідентифіковані як флавоноїди: гіперозид, рутин, вітексин, апігенін, кверцетин, кемпферол та гідроксикоричні кислоти: неохлорогенова та хлорогенова кислоти. Фізико-хімічні властивості виділених фенольних сполук наведені у табл. 2.

Мікроскопічне дослідження**Черешок**

Черешок підковоподібної форми, в нього від стебла відходять 3 провідні пучки, які зливаються у листовій подушечці в один пучок підковоподібної форми, який округляється з нижнього боку вище по черешку. Бороздка з верхнього боку зменшується, але зберігається на черешку до листової пластинки.

Таблиця 3

Анатомічні діагностичні ознаки черешка листя *C. Maximowiczii*

Черешок		Епідерма черешка			Паренхіма		
форма	кількість провідних пучків	форма клітин	волоски	продихи	форма клітин	кристали оксалату кальцію та друзі	проводний пучок
Підково-подібна	3	Округлі, прямостінні	Прості, одно-клітинні, довгі, тонкостінні, з клітинними розетками	Рідкі	Округлі, крупні	Численні	Обмежений шаром склеренхіми, який супроводжується кристалоносною паренхімою

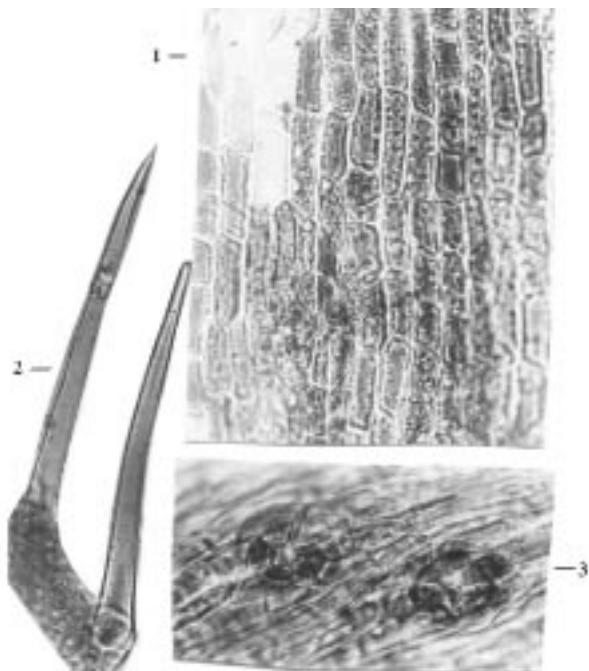
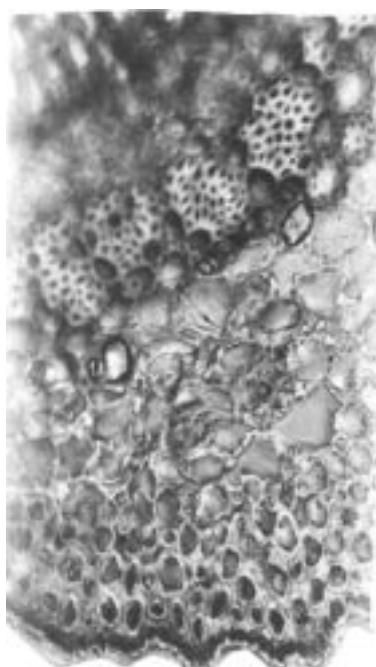
Рис. 2. Епідерма черешка.
1 — клітини епідерми; 2 — трихоми; 3 — розетки трихом.

Рис. 3. Куточкова коленхіма.

Епідерма прямостінна з потовщеннями зовнішніми оболонками та зернистим коричневим вмістом, з простими, одноклітинними, довгими, тонкостінними волосками з гострими кінчиками, навколо яких добре виразні клітинні розетки з 5-7 клітин (рис. 2).

Продихи рідкі, розташовані переважно на бокових стінках черешка. Під епідермою розташоване кільце потовщеної куточкової коленхіми, яка складається з 3-6 шарів клітин (рис. 3).

Основна паренхіма складається з крупних клітин з потовщеннями, щільно зімкнутими оболонками та дрібними, майже крапчастими міжклітинниками.

Клітини паренхіми містять велику кількість кристалів оксалату кальцію та друзів (рис. 4). Особливо багато їх у листовій подушечці, а вище по черешку їх кількість зменшується.

Провідний пучок знизу обмежений широким шаром склеренхіми, що супроводжується кристалоносною паренхімою. Клітини склеренхіми вузькі, багатогранні з невеликою порожниною.

Елементи флоеми пучка дрібноклітинні, тонкостінні. Ксилема мучниста, її судини переважно спіральні, розділені одно-, дворядними серцевинними променями, які складаються з дрібних клітин.

З верхнього боку провідний пучок супроводжується склерозифікованими клітинами паренхіми.

Основні анатомічні діагностичні ознаки черешка наведені у табл. 3.

Листова пластинка

Нижня епідерма багатогранна, злегка звивистостінна, зі складчастою кутикулою по жилках. Продихи великі без визначеній орієнтації продихової щілини, продиховий апарат аномоцитного типу (рис. 5). Трихоми ідентичні з епідермою черешка, але розташовані переважно по жилках. Клітини верхньої епідерми прямостінні, багатогранні, великі за розміром зі складчастою кутикулою та рідкими волосками, розташованими вздовж жилок (рис. 6). Продихи відсутні, але по краю кінчиків зубчиків спостерігається 3-5 водяних продихів, які складають гідатоду (рис. 7). Стовбчаста паренхіма однорядна, її клітини дуже короткі, вузькі, щільно зімкнуті. Губчастий мезофіл складається з дрібних, ріхло розташованих клітин,

Таблиця 4

Анатомічна характеристика листової пластинки *C. Maximowiczii*

Клітини епідерми		Волоски	Продихи	Жилки
верхня епідерма	нижня епідерма			
Прямостінні, багатогранні	Багатогранні, звивистостінні	Прості, одиничні, розташовані по жилках	Відсутні на верхній епідермі; крупні, численні, аномоцитного типу на нижній епідермі	Оточені склеренхімою, яка супроводжується крупними кристалами кальцію оксалату

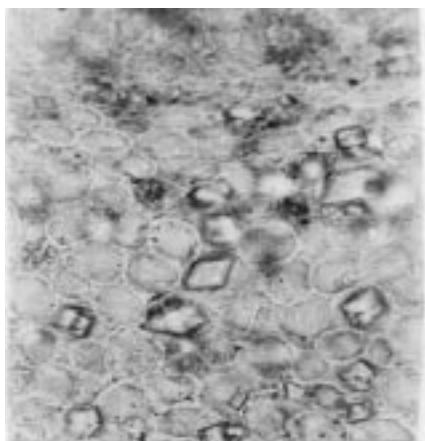


Рис. 4. Кристали та друзи у паренхімі черешка.

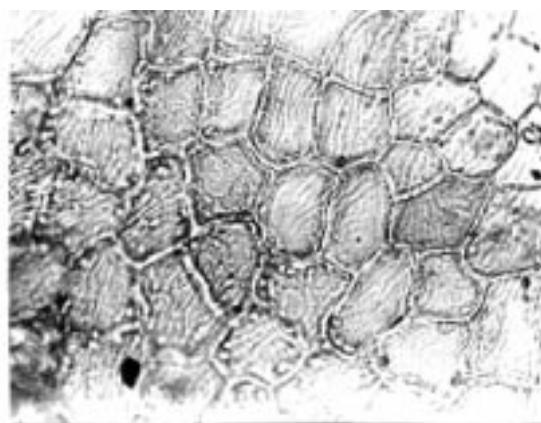


Рис. 6. Верхня епідерма листової пластинки.



Рис. 5. Нижня епідерма листової пластинки.



Рис. 7. Гідратода на кінчику зубчиків листка.

утворюючи великі міжклітинники. Усі жилки оточені склеренхімою, яка супроводжується кристалоносною паренхімою з крупними одиничними кристалами. Центральна, крупні та середні бокові жилки з обох боків листка супроводжуються коленхімою, в якій спостерігаються кристали кальцію оксалату. Край листової пластинки від основи до зубчиків злегка завернутий донизу та заламаний 2-3 шарами куткової коленхіми. У деяких клітинах епідерми, коленхіми, у волосках та їх розетках спостерігається червоно-коричневий вміст.

При проведенні гістохімічної реакції з залізо-амонійними галунами спостерігається темно-зелене забарвлення — наявність флобафенів. Анatomічна характеристика листової пластинки глоду Максимовича наведена у табл. 4.

ВИСНОВКИ

1. Проведено фітохімічне дослідження листя глоду Максимовича. Вперше виділено та ідентифіковано 6 флавоноїдів: гіперозид, рутин, вітексин, апігенін, кверцетин, кемпферол та 2 гідроксикоричні кислоти: неохлорогенова та хлорогенова кислоти.

2. Вперше встановлені анатомічні діагностичні ознаки листя глоду Максимовича: багатогранна верхня та нижня епідерма з простими одноклітинними волосками; відсутність продихів на верхній епідермі та наявність по краю кінчиків зубчиків 3-5 водяних продихів, що складають гідратоду; наявність у більшості тканин рослини клітин з кристалами оксалату кальцію та клітин з червоно-коричневим вмістом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Брук М.М., Красновская Е.А., Косенко П.И. Экспериментальное изучение суммарного препарата из листьев боярышника украинского — кратегида // Тез. 7-й науч. конф. по применению и усовершенствованию современной аппаратуры, методов исследования, диагностики и лечения в практике здравоохранения. — Х., 1965. — С. 17-19.
2. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. МЗ СССР. — 11-е изд., доп. — М.: Медицина, 1990. — 400 с.
3. Деревья и кустарники СССР. Т. 3. / Ред. С.И. Соколов. — М., 1954. — С. 873.
4. Сидора Н.В. Фармакогностичне дослідження видів роду *Crataegus L.* флори України: Автoreф. дис. ... канд. фарм. наук. — Х., 2007. — 22 с.
5. European Pharmacopoeia. — 4th ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2002. — 2416 p.
6. Hoffmann D.C. // Alternative and Complementary Therapies. — 1995. — Vol. 4, №8211. — 192 p.
7. Morelli G.C. // Natura abp. — 1998. — №3. — С. 31-34.
8. Nasa Y.H., Hashizume H.P., Ensanul A.N. // Arzneimittel.-Forsch. — 1993. — Vol. 43, №9. — P. 945-949.
9. Nikolov N.V., Wagner H.T., Chopin J.N. // Chem. Abstr. — 1982. — Vol. 97, №12. — P. 325-344.
10. Schüssler M.C. // Arzneimittel.-Forsch. — 1995. — Vol. 45, №7. — 842 p.
11. Zanke F.T., Herben G.O., Morgan T.L. // Oesterr. Forstztg. — 1998. — Vol. 109, №6. — P. 32-33.

УДК 582.734.3:581.45:54.02:581.8

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИСТЬЕВ CRA-TAEGUS MAXIMOWICZII Schneid

Н.В. Сидора, А.М. Ковалева, А.Н. Комиссаренко

Проведено фитохимическое исследование листьев *Crataegus maximowiczii*. Впервые установлено наличие 24 фенольных веществ. Впервые выделены и идентифицированы 6 флавоноидов: рутин, гиперозид, апигенин, кверцетин, витексин, кампферол и 2 гидроксикирличные кислоты: неохлорогеновая и феруловая кислоты. Впервые проведено анатомическое исследование листьев *C. maximowiczii*. Установлены основные анатомические диагностические признаки сырья: эпидерма с простыми волосками; наличие по краю кончиков 3-5 водяных устьиц, формирующих гидатоду; наличие в тканях растения клеток с кристаллами оксалата кальция и клеток с красно-коричневым содержимым (флобафены).

UDC 582.734.3:581.45:54.02:581.8

THE PHARMACOGNOSTIC RESEARCH OF THE CRA-TAEGUS MAXIMOWICZII Schneid LEAVES

N.V.Sidora, A.M.Kovalyova, A.N.Komissarenko

The phytochemical investigation of the *Crataegus maximowiczii* leaves has been carried out. For the first time the presence of 24 phenolic compounds has been found. For the first time 6 flavonoids: rutin, hyperoside, apigenin, quercetin, vitexin, campferol and 2 hydroxycinnamic acids - neochlorogenic and pherulic acids have been isolated and identified. For the first time the anatomic study of the *C. maximowiczii* leaves has been carried out. The basic anatomic diagnostic characteristics of the raw material have been found: epiderma with simple hairs; the presence of 3-5 aqueous stomata on the brim of the tips, which form hidathode; the presence of cells with the oxalate calcium crystals and cells with the red-brown content (flobaphens) in tissues of the plant.