

Рекомендована д.ф.н., професором А.Г.Сербінім

УДК 582.632.1:57.086.3:577.112.3:577.118

АНАТОМІЧНА БУДОВА, ВИВЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО ТА МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ ЛИСТЯ БЕРЕЗИ БОРОДАВЧАСТОЇ

В.С.Кисличенко, О.І.Борисенко, О.П.Хворост, Л.С.Картмазова

Національний фармацевтичний університет

Визначені анатомічні, діагностичні ознаки листя берези бородавчастої. Проведено вивчення елементного складу листя берези. Встановлена наявність 22 макро- і мікроелементів у листі та бруньках берези бородавчастої. Визначений якісний і кількісний амінокислотний склад листя берези. Встановлена наявність 19 амінокислот у листі берези бородавчастої.

Береза бородавчата, *Betula verrucosa* Ehrh. (син. Береза повисла — *Betula pendula* Roth.) родини березові, *Betulaceae*, широко використовується у народній та офіційній медицині як сечогінний, жовчогінний, кровоспинний, в'язучий засіб [8, 12].

Відомо, що листя берези бородавчастої містить ефірну олію, флавоноїди (флавонові та флавонолові глікозида), тритерпени (похідні дамароланостану), стерини, дубильні речовини пірокатехінової групи, смоли, гіркоти, амінокислоти, цукри, мікроелементи та ін. [10, 11].

Мінеральні речовини є життєво необхідними для обміну речовин в організмі людини. Вони забезпечують постійність осмотичного тиску, кислотно-основної рівноваги, беруть участь у процесах секреції, всмоктування, кровотворення, виділення метаболітів з організму [3, 6, 11, 15].

Не тільки в організмі людини і тварин, а й у рослинах макро- і мікроелементи відіграють важливу роль для їх нормальної життєдіяльності. Так, натрій необхідний рослині для дихання, кальцій сприяє цілісності клітинних мембран, магній — складова частина молекул хлорофілів, бере участь у регуляції розпаду та перетворень вуглеводів, залізо входить до складу активної групи каталази і пероксидази, нікель впливає на активність ферментів, що беруть участь в окислювально-відновних процесах та ін. [1, 5, 9, 14].

Амінокислоти — невід'ємна частина організму людини, вони входять до складу білків, які, в свою чергу, виконують важливі функції. З білків складаються мембрани клітин і клітинних органів [17]. Виділяють 7 основних функцій білків —

будівельну, каталітичну, транспортну, захисну, сигнальну, рухову, енергетичну. Такі амінокислоти, як валін, лейцин, ізолейцин, лізин, метіонін, треонін, триптофан і фенілаланін не синтезуються в організмі і тому мають особливе значення [4, 9, 13].

З метою стандартизації лікарської рослинної сировини — листя берези бородавчастої та створення аналітичної нормативної документації (АНД) на досліджувану сировину нами вивчені анатомічні ознаки листя берези, визначений якісний та кількісний вміст амінокислот і мікроелементів.

Експериментальна частина

1. Анатомічне дослідження листя берези бородавчастої

Об'єктом дослідження було листя берези бородавчастої, яке заготовляли на початку травня та в середині серпня 2000 р. у Харківській області.

Мікропрепарати готували зі свіжозібраної, фіксованої та висушеної сировини загальноприйнятими методами з наступним їх вивченням під мікроскопами МБР-1 та МБІ-6 при збільшенні у 80, 200 та 400 разів. Діагностичні фрагменти фотографували за допомогою фотоапарату ФЕД-5 на плівку Мікрат 200 [7].

Результати та їх обговорення

Листок берези бородавчастої довгочерешковий, листкова подушечка 1,5-2,0 мм, до неї зі стебла входять 3 колатеральних провідних пучки, які проходять по подушечці і зливаються у підковоподібний пучок. Вище листової подушечки черешок стає більш округлим з невеликою борозенкою з верхнього боку. Провідний пучок у черешку теж округляється, але не зникається у кільце, перериваючись під борозенкою (рис. 1).

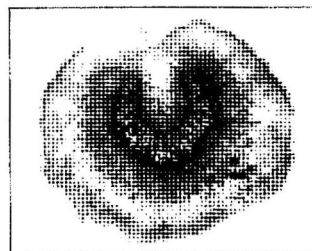


Рис. 1. Провідний пучок черешка.



Рис. 2. Верхня епідерма листової пластинки:
а) залозка (вид зверху).

Черешок вкритий дрібноклітинною багатогранною епідермою з товстою кутикулою з вираженими чоткоподібними оболонками. По всій епідермі черешка розташовані великі, на багатоклітинній ніжці і з багатоклітинною голівкою залозки.

На черешках молодих листків з верхнього боку спостерігаються короткі шилоподібні одноклітинні волоски. Під епідермою черешка від його основи розташовується кільце багат шарової кутової коленхіми, яке складається з 3-5 шарів клітин.

Паренхіма має великі товстостінні клітини, охоплює провідний пучок, вище по черешку утво-

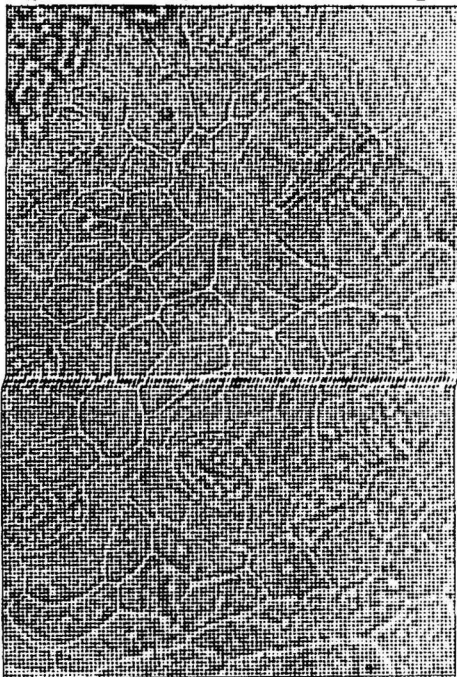


Рис. 3. Нижня епідерма листової пластинки:
а) великий продих з циклоцитним продиховим апаратом;
б) малий продих з аномоцитним продиховим апаратом.



Рис. 4. Зубчики по краю листка.

рює великі міжклітинники, поступово її клітини спадаються. У паренхімі міститься багато друзів і поодиноких кристалів оксалату кальцію різноманітної форми. Товстостінний луб флоєми від основи черешка до його середини представлений коленхіматозною тканиною, яка ближче до листової пластинки переходить у групу луб'яних волокон з кулястими оболонками і великою порожниною.

Листкова пластинка дорзивентрального типу. Верхня епідерма багатогранна, прямостінно-тонкостінна, без продихів, з великими залозками, розташованими переважно по жилках (рис. 2).

Нижня епідерма також багатогранна прямостінно-тонкостінна з великими (циклоцитного типу) і дрібними (аномоцитного типу) продихами. Залозки такі ж, як і на верхній епідермі і розташовані по жилках (рис. 3).

Мезофіл стовпчастий, дворядний складається з вузьких видовжених клітин, губчастий, з 4-6 шарів дрібних округлих клітин, що утворюють великі міжклітинники. Жилки, що пронизують мезофіл, розташовані дуже густо. Великі і дрібні жилки поєднуються з верхньою і нижньою епідермою через коленхіму. Вони оточені вираженими округлими облямованими клітинами, які часто містять поодинокі кристали і друзи оксалату кальцію.

Будова головної жилки схожа з будовою провідного пучка черешка. З краю листової пластинки спостерігається 2-3 шари коленхіми.

У молодих листків на зубчиках, що формуються по краю листка, розвиваються видовжені залозки, які виділяють велику кількість смоли (рис. 4). Водночас по листовій пластинці і черешку закладаються і ростуть округлі залозки, які складаються спочатку з однорідних дрібних клітин. Потім крайові клітини круглих залозок подовжуються і залозка

Таблиця 1

Амінокислотний склад листя берези бородавчастої травневого та серпневого термінів заготівлі

Амінокислота	Кількісний вміст амінокислот в перерахунку на суху вагу, %, у листі берези бородавчастої		Кількісний вміст кожної амінокислоти у 100 г білка в перерахунку на суху вагу, %, у листі берези бородавчастої	
	травневого терміну заготівлі	серпневого терміну заготівлі	травневого терміну заготівлі	серпневого терміну заготівлі
Глутамінова кислота	1,050	1,525	9,115	11,722
Гліцин	0,884	0,560	7,674	4,304
Пролін	0,606	1,651	5,260	4,043
Аспарагінова кислота	0,571	0,680	4,957	5,227
Серин	0,501	0,574	4,348	4,412
Аланін	0,432	0,879	3,750	6,756
Лізін	0,404	0,566	3,507	4,350
Лейцин	0,387	0,976	3,359	3,359
Валін	0,371	0,663	3,220	5,096
Треонін	0,300	0,570	2,604	4,381
Аргінін	0,244	0,563	2,128	4,327
Ізолейцин	0,187	0,472	1,623	3,628
Фенілаланін	0,158	0,547	1,372	4,204
Гістидин	0,141	0,279	1,224	2,145
Метіонін	0,097	0,266	0,842	2,045
Тирозин	0,093	0,357	0,807	2,744
Вміст загального білка, %	11,52	13,01		

стає схожою на суцвіття ромашки. Такі залозки зберігаються на листі до листопаду. Видовжені залозки, розташовані на зубчиках листової пластинки, у сформованих листків відмирають і опадають, як довгі волоски на черешку листка.

2. Вивчення якісного амінокислотного складу і кількісного вмісту окремих кислот у листі берези бородавчастої

Для вивчення амінокислотного складу використовували 2 зразки сировини — листя берези бородавчастої, зібране на початку травня, і листя берези серпневого терміну заготівлі.

Якісний склад амінокислот у спирто-водних екстрактах листя берези бородавчастої вивчали методом паперової хроматографії в системі бутанол-оцтова кислота-вода (БОВ) (4:1:2). Висушені хроматограми обробляли 0,5% розчином нінгідрину в етанолі. Визначення кількісного вмісту білка проводили за методом Лоурі [2, 16].

Вивчення кількісного та якісного амінокислотного складу листя берези бородавчастої проводили за допомогою амінокислотного аналізатора LK-4/51 "Альфа-плюс" (Швеція). Результати дослідження наведені в табл. 1.

Результати та їх обговорення

У листі берези бородавчастої обох термінів збору було виявлено 16 амінокислот, у тому числі 7 незамінних — треонін, метіонін, валін, лейцин,

ізолейцин, лізін, фенілаланін, що не синтезуються в організмі з інших сполук, 3 напівзамінних — аргінін, тирозин, гістидин. Встановлено, що домінуючими у листі берези бородавчастої травневого терміну заготівлі є глутамінова кислота (1,050%), гліцин (0,884%), пролін (0,686%), а у листі, зібраному у серпні, — пролін (1,651%), глутамінова кислота (1,525%), лейцин (0,976%). Вміст загального білка у досліджуваному листі берези бородавчастої травневого терміну заготівлі склав 11,52%, у листі, заготовленому у серпні, — 13,01%. Крім того, у досліджуваній сировині було визначено кількісний вміст кожної амінокислоти у 100 г білка в перерахунку на суху вагу (табл. 1).

3. Вивчення вмісту мікроелементів у листі берези бородавчастої

Пробу подрібненої сировини листя берези бородавчастої обробляли сірчаною кислотою і спалювали у муфельній печі при температурі 500°C протягом 1 години.

Для вивчення якісного складу і кількісного вмісту був використаний метод атомно-емісійної спектrophотометрії. Пробі випарювали з кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму силою 16 А при експозиції 60 с; як джерело збудження спектрів використовували ІВС-28. Реєстрували спектри на фотоплівці за допомогою спектрографа ДФС-8 з трилінзовою системою

Таблиця 2

Результати мікроелементного аналізу листя
і бруньок берези бородавчастої

№ п/п	Мікроелемент	Вміст, мг/кг	
		Листя	Бруньки
1	Mn	1100	740
2	Sr	220	80
3	Al	160	200
4	Fe	120	150
5	Zn	110	170
6	Cu	10	29
7	Ni	2	4
8	Sn	2	2
9	Pb	1	2
10	Cr	0,7	0,4
11	Mo	<0,6	<0,1
12	Ga	0,6	0,9
13	Co	<0,5	<0,5
14	Sb	<0,5	<0,5
15	Ti	<0,3	<0,3
16	V	0,2	<0,2
17	As	<0,2	<0,2
18	Bi	<0,2	<0,2
19	Cd	<0,1	<0,1
20	Ge	<0,1	<0,1
21	Ag	<0,05	<0,05
22	Hg	<0,01	<0,01

освітлення щілини та дифракційною решіткою 600 штр/мм.

Фотометрували лінії спектрів при довжині хвилі від 240 до 347 нм у пробах у порівнянні з державними зразками суміші мінеральних елементів, що відповідають складу різнотрав'я, за допомогою мікрофотометра МФ-4.

За результатами аналізу досліджуваної сировини встановлена наявність 22 мікроелементів. Якісний та кількісний їх вміст наведений у табл. 2.

Результати та їх обговорення

У слідовій кількості були визначені мікроелементи №11-22. Значний вміст мали елементи Fe, Al, Sr, Mn.

Ряд залежності представлений нижче: Mn>Sr>Al>Cr>Fe>Zn. Накопичення інших мікроелементів визначалось у такій залежності: Zn>Cu>Sn>Ni>Pb>Cr>Ga>Mo>Sb>Co>Ti. Слід відзначити, що накопичення шкідливих для організму людини елементів — Sr, Sn, Pb, Sb при досить значному їх вмісті в об'єктах дослідження не є тривожним фактором, так як при розробці лікарських форм ці показники будуть визначатися і співвідноситися з допустимими для організму концентраціями.

ВИСНОВКИ

1. Для розробки АНД на лікарську рослину сировину з метою стандартизації вивчена анатомічна будова листя берези бородавчастої травневого та серпневого термінів заготівлі і встановлені його діагностичні ознаки. Для черешка зрілого листка характерна багатогранна епідерма з товстою кутикулою, чоткоподібними оболонками і великими залозками. На черешках молодих листків з верхнього боку — короткі шилоподібні і одноклітинні волоски. Листкова пластинка дорзівентрального типу. Мезофіл листка з великими міжклітинниками, жилками, оточеними облямованими клітинами з кристалами і друзами оксалату кальцію. У молодих листків на зубчиках по краю листка — видовжені залозки, які виділяють велику кількість смоли.

2. Виявлені діагностичні ознаки будуть використані при оформленні проекту ФС на листя берези бородавчастої.

3. Вивчений якісний амінокислотний склад та визначений кількісний вміст амінокислот у досліджуваних зразках сировини. Встановлено, що домінуючими у листі берези бородавчастої травневого терміну заготівлі є глютамінова кислота, гліцин, пролін; у листі серпневого терміну заготівлі — пролін, глютамінова кислота, лейцин. Визначений вміст загального білка у досліджуваному листі берези бородавчастої та вміст кожної амінокислоти у 100 г білка в перерахунку на суху вагу.

4. Визначено вміст 22 макро- та мікроелементів у листі та бруньках берези бородавчастої, які містяться у нешкідливих для організму людини концентраціях.

5. Встановлено, що листя берези бородавчастої є концентратором таких мікроелементів, як Fe, Al, Sr, Mn, що повинно враховуватися при розробці лікарських форм.

ЛІТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А. Микроэлементозы человека. — М.: Медицина, 1991. — 496 с.
2. Государственная фармакопея, 11-е изд. — М.: Медицина, 1987. — Вып. I, 334 с. — 1990. — Вып. 2. — 398 с.
3. Исаев Ю.А. Лечение микроэлементами, металлами и минералами. — К.: Здоров'я, 1992. — 118 с.
4. Кисличенко В.С. // Вестник проблем биол. и мед. — 1997. — №14. — С. 19-32.
5. Кисличенко В.С. // Современные проблемы фармации: Тез. докл. респ. науч.-практ. конф. — Х., 1993. — С. 41-42.
6. Кретович В.Л. Основы биохимии растений. — М.: Высш. шк., 1980. — 445 с.

7. Криворучко О.В., Л.С.Картмазова, В.С.Кисличенко, В.М.Ковальов // Вісник фармації. — 1995. — №3. — С. 104-106.
8. Лікарські рослини: Енциклопедичний словник / За ред. академіка АН УРСР А.М.Гродзинського — К.: Голов. ред. укр. рад. енциклопедії ім. М.П.Бажана, 1991. — 344 с.
9. Хухрянский В.Г., Цыганенко А.Я., Павленко Н.В. Химия биогенных элементов. — К.: Вища школа, 1984. — 176 с.
10. Чекман И.С., Линкан Г.Н. Растительные лекарственные средства. — К.: Колос, "ИТЭМ", 1993. — 384 с.
11. British Pharmacop. in 2 Vol. — London: Her Majesty's stationary office, 1988. — Vol. 1, 2. — 1140 p.
12. Buxton P.C., Jahnke R.W., Keady S. // Eur. J. Pharm. and Biopharm. — 1994. — Vol. 40, №3. — P. 172-175.
13. Nishitoba T., Sato H., Sacamura S. // Phitochemistry. — 1997. — №26. — P. 1777-1784.
14. Roman J., Kutsky Ph. D. Handbook of vitamins, minerals and hormones. — N.Y. Van Nostrand: Reinhold, 1981. — 492 p.
15. Su C.H., Lai M.N., Chan M.N. // J. of Taipei Medical College. — 1995. — 21. — P. 275-283.
16. The Merck Index. — 20 ed., Merck and Co., Inc. Whitehouse Station, N.Y., USA, 1996. — 194 p.
17. Wenzel-Seifert K., Letzen H., Seifert R. // Naunin Schmiedebergs Archives of Pharmacology. — 1997. — Vol. 355. — P. 190-197.

УДК 582.632.1:57.086.3:577.112.3:577.118

АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ, ИЗУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО И МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ЛИСТЬЕВ БЕРЕЗЫ БОРОДАВЧАТОЙ

В.С.Кисличенко, Е.И.Борисенко, О.П.Хворост, Л.С.Картмазова

Определены анатомические и диагностические признаки листьев березы бородавчатой. Проведено изучение элементного состава листьев березы. Установлено наличие 22 макро- и микроэлементов в листьях и почках березы бородавчатой. Изучен качественный и количественный аминокислотный состав листьев березы. Определено наличие 19 аминокислот в листьях березы бородавчатой.

UDC 582.632.1:57.086.3:577.112.3:577.118

ANATOMICAL STRUCTURE, AMINOACIDIC AND MICROELEMENTORY STUDY OF BETULA VERRUCOSA LEAVES COMPOSITION

V.S.Kislichenko, E.I.Borisenko, O.P.Khvorost, L.S.Kartmazova

It has been determined anatomical and diagnostical attributes of Betula verrucosa leaves. We have carried out study of elemental composition of Betula verrucosa leaves. It has been established 22 macro- and microelements in the leaves and buds of Betula verrucosa. We have studied the quantitative and qualitative aminoacidic composition of Betula verrucosa leaves. It has been determined 19 aminoacids in Betula verrucosa leaves.

Довідник "ВФ"

Реєстр. №19/16/02

1. НАСТОЙКА ЛИСТЯ ГОРІХА ВОЛОСЬКОГО.

2. Введення до арсеналу вітчизняних лікарських препаратів нового ефективного засобу з рослинної сировини для використання в гастроентерології.

3. Настойка являє собою комплекс біологічно активних речовин (флавоноїдів, дубильних речовин) листя горіха волоського. Препарат вживають по 2-3 чайні ложки (10-15 мл), розбавлені в 100 мл води за півгодини до їжі 3 рази на день. Термін лікування залежить від конкретного діагнозу та поєднання з іншими препаратами.

4. Перколятори, траворізка, мірники, фільтруюча установка, вакуум-випарний апарат, апарат для фасування, стандарти гіперазиду і кверцитину, 2,6-дихлорфеноліндофенолят, н-бутанол, пластини "Силуфол УФ-254", залізоокисний хлорид, спирт етиловий, водяна баня, мірні колби, хлороформ, спектрофотометр.

5. Настойка листя горіха волоського рекомендується для застосування при функціональній диспепсії, виразковій хворобі шлунка і дванадцятипалої кишки, а також як додатковий засіб для лікування гастритів.

6. Препарат не можна застосовувати при вагітності і лактації. У зв'язку з високим вмістом спирту не рекомендується дітям до 12 років.

7. Медичний, соціальний та економічний.

8. Для уникнення помилок та ускладнень необхідно чітко дотримуватися виконання вимог технологічного регламенту при виробництві, вимог ТФС при аналізі препарату та вимог інструкції при застосуванні настойки.

9. ТФС 42У-183/162-1240-99. Технологічний тимчасовий промисловий регламент ТВР 64-05485166-020-2000.

10. НДР "Створення нових лікарських препаратів на основі рослинної та природної сировини, зокрема продуктів бджільництва для дорослих та дітей", 0198U007008, 1998-2002 рр.

11. Патенти України на винахід №№2152797, 2153349.

12. Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

13. Башура О.Г., Кисельова Н.П., Глушко С.М., 67-87-75.

14. Вчена рада НФаУ, (протокол №5 від 20.12.2001р.).

15. Підготовка нормативної та аналітичної документації та впровадження препаратів на підприємстві. Удосконалення технології виробництва, зменшення втрат сировини, удосконалення методик якісного та кількісного аналізу препарату.

Реєстр галузевих нововведень 2002 р.