

Рекомендована д. фармац. наук, проф. Т. М. Гонтовою

УДК 615.322:582.933:457

ВИВЧЕННЯ ЛОКАЛІЗАЦІЇ СЛИЗУ В ЛИСТКАХ ПЕРВОЦВІТУ ВЕСНЯНОГО ЗА ДОПОМОГОЮ ГІСТОХІМІЧНИХ РЕАКЦІЙ

© Н. П. Ковальська

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ

Резюме: в роботі представлено результати вивчення характеру локалізації слизу в листках первоцвіту весняного. При проведенні гістохімічних реакцій встановлено, що слиз накопичується в поодиноких епідермальних клітинах і в середній клітині ніжки головчастого волоска.

Ключові слова: первоцвіт весняний, листки, локалізація слизу.

Вступ. Первоцвіт весняний (*Primula veris* L.) належить до багаторічних трав'янистих рослин родини первоцвітих (*Primulaceae* Vent.). В помірного поясі та в альпійському поясі гір поширено близько 500 видів цього роду. На території України найбільш поширеним є первоцвіт весняний, який здавна широко використовується в медичній практиці різних країн світу. Таку назву рослина отримала через раннє цвітіння. Має коротке горизонтальне темно-буре кореневище 6–8 см завдовжки, з численними соковитими шнуроподібними коренями. Квіткова стрілка пряма, безлиста, 5–20 см заввишки. Листки зібрані в прикореневу розетку, яйцеподібно-видовжені, хвилясто-зубчато-виїмчасті, зморшкуваті, світло-зелені, звужені у крилатий черешок. Квітки правильні, двостатеві, зібрані по 5–13 на верхівці стебла в пониклий на один бік зонтик; чашечка трубчаста, п'ятигранна; віночок ліycopодібний, з коротким п'ятилопатеvim відгином, яскраво-жовтий, усередині з жовто-гарячими цятками при основі відгину. Плід – яйцеподібна коробочка такої ж довжини, як і чашечка, насіння – коричневе, численне. Росте переважно в лісових і лісостепових районах Європи на узліссях, сухих лісових галявинах, серед чагарників [1, 2].

Сировиною первоцвіту весняного є листки і кореневища з коренями.

Кореневища з коренями первоцвіту містять тритерпенові сапоніни до 10 %, вуглеводи, ефірну олію, сліди дубильних речовин, вітамін С, каротиноїди. Листя містить вітаміну С до 6 %, каротиноїдів до 3 мг%, тритерпенових сапонінів до 2 %, а також флавоноїди (дирамнозид кемпферолу, мірицетин, кверцетин, кемпферол), антоціани, макро- і мікроелементи. Квітки містять ефірну олію, вітамін С, флавоноїди [1, 2, 4, 5].

Завдяки широкому спектру біологічно активних речовин сировину первоцвіту весняного ви-

користують як відхаркувальний засіб при катарих верхніх дихальних шляхів, хронічних трахеїтах і бронхітах, бронхопневмоніях, туберкульозі легень [3]. Настій листя застосовують як знеболювальний засіб при ревматизмі, як сечогінний – при хворобах нирок і сечового міхура. Листя, завдяки наявності великої кількості аскорбінової кислоти, є популярним складником весняних вітамінних салатів. Кореневища з коренями первоцвіту весняного входять до Європейської фармакопеї. В Британській трав'яній фармакопеї зареєстрована як сировина з седативною, спазмолітичною та гіпнотичною дією. Первоцвіт весняний є добрим медоносом, а також вирощується як декоративна рослина [1].

На українському фармацевтичному ринку всі препарати, до складу яких входить сировина або субстанції первоцвіту весняного, імпортовані. Розробка методів контролю якості (МКЯ) сировини первоцвіту дасть можливість розробляти вітчизняні препарати. Листки є найбільш перспективною сировиною для дослідження, оскільки дають достатню сировинну масу і їх заготівля не має негативного впливу на процес відтворення рослини. Одним з положень МКЯ є мікроскопічна характеристика сировини. Раніше були вивчені мікроскопічні діагностичні ознаки листків [6, 7]. З метою полегшення стандартизації листків первоцвіту весняного нами запропоновано методику встановлення локалізації слизу за допомогою відомих мікроскопічних гістохімічних реакцій [8, 9]. Найбільш відомим реактивом для виявлення слизу є спиртовий розчин метиленового синього (1:5000), який забарвлює слизовмісні клітини-ідіобласти в різні відтінки синього кольору. Значно рідше застосовують 5 % розчин натрію гідроксиду для встановлення локалізації слизу. Відомо, що даний реактив використовують для проведення гістохімічної реакції на підтвердження тотожності ко-

рення алтеї за вмістом слизу [9]. Оскільки названі реактиви є простими у використанні, не є токсичними, а також не потребують додаткових затрат часу для проведення реакції, нами їх було обрано для проведення досліджень щодо встановлення локалізації слизу в листках первоцвіту весняного.

Методи дослідження. Дослідження мікроскопічної будови проводили методом світлової мікроскопії. Використовували свіжу і висушену сировину, заготовлену в околицях м. Отинія, Івано-Франківської області у 2013 р. Із свіжої сировини виготовляли поперечний зріз через листову пластинку і поверхневі препарати верхньої і нижньої епідерми, які поміщали в спиртовий розчин метиленового синього (1:5000), заключали тимчасові мікропрепарати у воду очищену. Висушену сировину для виготовлення мікропрепаратів розм'якушували двома способами: кип'ятінням у воді і кип'ятінням в 5 % розчині натрію гідроксиду. Об'єкти, які були розм'якшені у воді, поміщали в спиртовий розчин метиленового синього (1:5000), потім заключали препарати у воду. З об'єктів, які були розм'якшені у 5 % розчині натрію гідроксиду, одразу виготовляли тимчасові препарати. Для вивчення тимчасових препаратів використовували бінокулярний світловий мікроскоп Sunny та тринокулярний світловий мікроскоп фірми ULAB при збільшенні в 40, 100 і 400 разів. Фотографували зрізи з допомогою цифрової мікрофотокаме-

ри TREK DCM 220 та дзеркальної фотокамери Canon EOS 550.

Результати й обговорення. При вивченні локалізації слизу у свіжих листках первоцвіту весняного за допомогою спиртового розчину метиленового синього (1:5000) на поперечному перерізі листової пластинки (рис. 1) чітко видно, що слиз накопичується у другій клітині ніжки головчастого волоска. Забарвлення слизу з реактивом при проведенні дослідження на свіжій сировині залишається насиченого синього кольору. На поверхневих препаратах теж видно характерну локалізацію слизу.

У висушеній сировині локалізація слизу в ніжках головчастих трихом зберігається (рис. 2). Також на поверхневих препаратах видно епідермальні клітини, в яких затримується реактив, тобто там теж накопичується слиз (рис. 3). Помітна різниця в забарвленні слизу з реактивом залежно від того, на якій сировині проводиться реакція. У свіжих листків спостерігається насичене темно-синє забарвлення слизу з спиртовим розчином метиленового синього (1:5000), а у висушеній сировині забарвлення в місцях локалізації слизу набуває блакитно-зеленого відтінку.

При вивченні локалізації слизу у висушених листках первоцвіту весняного за допомогою 5 % розчину натрію гідроксиду на поверхневих препаратах спостерігається насичене жовте

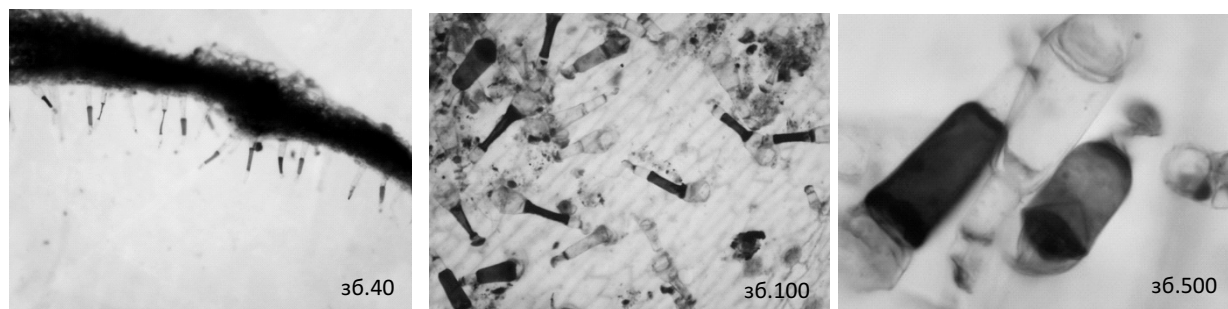


Рис. 1. Локалізація слизу у свіжих листках первоцвіту весняного за результатами гістохімічної реакції з спиртовим розчином метиленового синього (1:5000).



Рис. 2. Локалізація слизу у висушених листках первоцвіту весняного (в другій клітині ніжки трихоми) за результатами гістохімічної реакції з спиртовим розчином метиленового синього (1:5000).

забарвлення в місцях, де відбулася взаємодія слизу з розчином луку (рис. 4 і 5). Локалізація слизу є аналогічною, як і з спиртовим розчином метиленового синього (1:5000): друга клітина ніжки головчастого волоска і епідермальні клітини. Інколи спостерігається накопичення слизу і в першій клітині ніжки трихоми.

Обидві проведені реакції виявилися стійкими, тобто забарвлення не зникає швидко з плином часу. Проведені гістохімічні реакції дають додаткові відомості при встановленні тотожності лікарської рослинної сировини. Вони дозволили виявити локалізацію досліджуваної групи речовин безпосередньо в тканинах і клітинах.

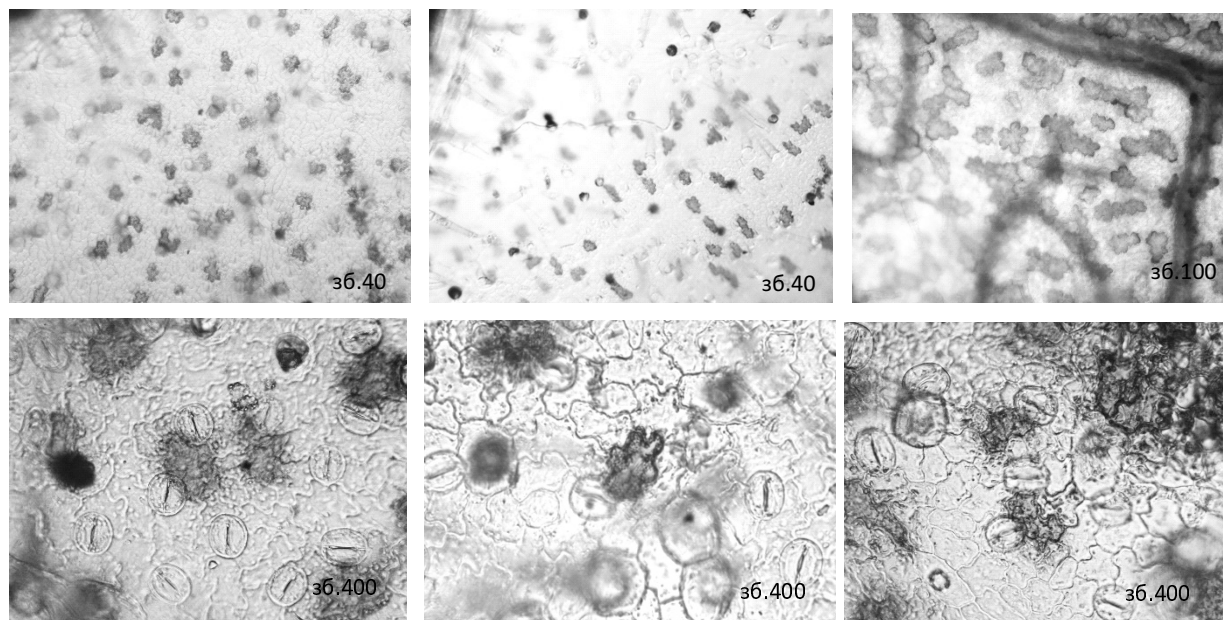


Рис. 3. Локалізація слизу у висушених листках первоцвіту весняного (у клітинах епідермісу) за результатами гістохімічної реакції з спиртовим розчином метиленового синього (1:5000).



Рис. 4. Локалізація слизу у висушених листках первоцвіту весняного (у клітинах епідермісу) за результатами гістохімічної реакції з 5 % розчином натрію гідроксиду.



Рис. 5. Локалізація слизу в висушених листках первоцвіту весняного (у другій клітині ніжки трихоми) за результатами гістохімічної реакції з 5 % розчином натрію гідроксиду.

Висновки. Отже, в результаті проведених досліджень встановлено такі характерні місця локалізації слизу в листках первоцвіту весняного: поодинокі епідермальні клітини і середня клітина ніжки головчастого волоска.

Обрані нами реактиви є достатньо економічними і зручними у застосуванні. При використанні спиртового розчину метиленового синього (1:5000) спостерігається забарвлення слизовмісних клітин-ідіобластів в різні відтінки синього кольору. Використання 5 % розчину натрію

гідроксиду для проведення мікроскопічних гістохімічних реакцій дає можливість спостерігати в місцях локалізації слизу жовте забарвлення. Застосування вивчених гістохімічних реакцій при встановленні тотожності листків первоцвіту весняного за мікроскопічними ознаками може значно полегшити діагностику сировини.

Отже, отримані результати можуть бути використані як допоміжний показник для встановлення тотожності сировини при розробці МКЯ «Листки первоцвіту весняного».

Література

1. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / відп. ред. А. М. Гродзінський. – К., 1990. – С. 327.
2. Ботанико-фармакогностический словарь: справ. пособие / [К. Ф. Блинова, Н. А. Борисова, Г. Б. Гортинский и др.]; под ред. К. Ф. Блиновой, Г. П. Яковлева. – М. : Высш. шк., 1990. – 272 с.
3. Лікарські рослини і фітотерапія (фітотерапевтична рецептура): навч. посіб. / Л. В. Бензель, Р. Є. Дармограй, П. В. Олійник, І. Л. Бензель. – К. : ВСВ «Медицина», 2010. – 400 с.
4. Борисова Д. А. Определение аскорбиновой кислоты в первоцвете лекарственном методом ВЭЖХ / Д. А. Борисова, Д. М. Попов // Фармация. – 2013. – № 3. – С. 22–24.
5. Борисова Д. А. Содержание углеводов в сырье первоцвета лекарственного / Д. А. Борисова // Фармация. – 2012. – № 2. – С. 25–26.
6. Долгова А. А. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии / А. А. Долгова, Е. Я. Ладыгина. – М. : Медицина, 1977. – 256 с.
7. Борисова Д. А. Микроскопическое исследование сырья первоцвета лекарственного / Д. А. Борисова, О. Г. Потанина, Д. М. Попов // Фармация. – 2012. – № 6. – С. 17–19.
8. Доля В. С. Мікроскопічний на мікрохімічний аналіз лікарської рослинної сировини: учбово-методичне видання / В. С. Доля, Є. Г. Книш, В. І. Мозуль. – Запоріжжя : ЗДУ, 2003. – 297 с.
9. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособие для студентов вузов / [В. Н. Ковалев, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко и др.]. – Х. : Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. – 512 с.

ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ СЛИЗИ В ЛИСТЬЯХ ПЕРВОЦВЕТА ВЕСЕННЕГО С ПОМОЩЬЮ ГИСТОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Н. П. Ковальская

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Киев

Резюме: в работе представлены результаты изучения характера локализации слизи в листьях первоцвета весеннего. При проведении гистохимических реакций установлено, что слизь накапливается в единичных эпидермальных клетках и в средней клетке ножки головчастого волоска.

Ключевые слова: первоцвет весенний, листья, локализация слизи.

STUDY OF THE LOCALIZATION OF MUCILAGES IN LEAVES OF COWSLIP BY HISTOCHEMICAL REACTIONS

N. P. Kovalska

National Medical University by O. O. Bohomolets, Kyiv

Summary: the paper presents the results of studying the nature of the localization of mucilages in Cowslip leaves. In conducting histochemical reactions found that mucilages accumulates in single epidermal cells and cells in the middle of the capitated hairs.

Key words: Cowslip, leaves, localization of mucilages.

Отримано 11.12.14