

БІОЛОГІЯ

© Н.М. Воробець

УДК 582.949.2:57.08:547.979.7

Н.М. Воробець

ВИВЧЕННЯ ХЛОРОФІЛІВ І МІКРОСКОПІЧНИЙ АНАЛІЗ КАЛАМІНТИ ЛІКАРСЬКОЇ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

Робота виконана в рамках науково-дослідного плану досліджень проблеми «Фармація» МОЗ України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Дослідження різних видів рослин західного регіону з метою одержання нових лікарських засобів, розробка технологій лікарських форм нових складів та опрацювання сучасних методик фармацевтичного та хіміко-токсикологічного аналізу» (№ державної реєстрації 0106U012672).

Вступ. Зростання дефіциту доступних лікарських фітозасобів зумовлює пошук нових джерел лікарської рослинної сировини (ЛРС) на фоні зростаючого забруднення зовнішнього середовища та змін підходів до якості ЛРС [10]. Це призводить до підвищення долі агроценозів для продукування ЛРС і посилення ролі інтродукованих рослин. Тому всебічне дослідження рослинної сировини (ЛРС), яка використовується з лікувальною метою безпосередньо або після створення лікарських препаратів є важливим завданням сучасної біології, фармакогнозії та медицини. Для дослідження була вибрана *Calamintha officinalis* Moench., лікарська рослина Середземномор'я, яка була відома древнім грекам і римлянам, та інтродукована у Ботанічному саду ЛНУ імені Івана Франка. В природі ця рослина зростає у Європі та Азії (Гімалаї), а також в Північній Африці; культивується в Середземномор'ї, на узбережжі Адріатичного моря, Польщі та США. В природній флорі України не зустрічається. Синонімі назви рослини: *C. clinopodium*, *Melissa calamintha*, гірський бальзам або гірська м'ята, Mill Mountain, Mountain Balm, Basil Thyme, Mountain Mint.

В даний час олія каламінти використовується в народній медицині країн Середземноморського регіону, а також в складі парфумерних і косметичних засобів різних виробників. Останніми роками з'явилися дані щодо можливостей застосування каламінти при лікуванні шкірних та нервових захворювань, хвороб шлунка і кишківника, болей у м'язах, діабету та інш. [6,7,9], тому зростає зацікавленість в її докладному вивченні з метою культивування і ширшого застосування.

Метою дослідження було провести макро- і мікроскопічний аналіз ЛРС каламінти лікарської *Calamintha officinalis* Moench., вивчити вміст хлорофілів у ній.

Об'єкт і методи дослідження. Для досліджень використовували рослини, інтродуковані та

вирощені у Ботанічному саді ЛНУ ім. Івана Франка у 2006-2010 роках к.б.н. М.І.Скібіцькою з насіння, одержаного з Ботанічного саду Бухареста та Вітебського педагогічного інституту. На етапі інтродукційних випробувань була дана позитивна відповідь щодо доцільності культивування *Calamintha officinalis* Moench. в умовах Львівщини.

Для проведення макроскопічного аналізу використовували загальноприйняті методики. Зовнішні морфологічні ознаки використовували також для додаткової ідентифікації сухої ЛРС. Для аналізів використовували траву свіжу та повітряно-суху, зібрану у 2009-2011 роках у фази вегетації, бутонізації та цвітіння. Для проведення мікроскопічного аналізу виготовляли тимчасові мікропрепарати. При використанні сухої сировини її нагрівали протягом 30 сек в 10% NaOH, знімали епідерміс препарувальною голкою, поміщали в краплю хлоралгідрата та розглядали на малому і великому збільшенні (x8, x40, x400). Використовували світловий мікроскоп МБР-1. Визначення вмісту хлорофілів проводили в загальному екстракті пігментів без попереднього їх розділення [4]. Наважку рослинного матеріалу 0,20г подрібнювали ножицями, поміщали в фарфорову ступку та розтирали доливаючи порціями 2-5 мл охолодженого 100% ацетону або 96% етанолу. Отриманий екстракт центрифугували при 5000 об/хв протягом 10 хв. Надосадову рідину зливали, а осад ресуспендували наступною порцією екстрагенту. Процедуру повторювали до знебарвлення екстракту. Об'єм одержаної надосадової рідини доводили до 10-25 мл та визначали оптичну густину екстракту при довжинах хвиль, які відповідають максимумам поглинання хлорофілів для 100% ацетону - 644, 662нм та для етанолу 649, 665нм. Концентрацію хлорофілів розраховували за формулами Хольм-Веттштейна для ацетону та за Вінтерманс де Мотс для етанолу. Розрахунки проводили за формулами:

а) за Хольм-Веттштейном:

$$C_{\text{хл а}}, \text{ мг/л} = 9,784 \cdot D_{662} - 0,990 \cdot D_{664}$$

$$C_{\text{хл б}}, \text{ мг/л} = 21,426 \cdot D_{644} - 4,650 \cdot D_{662}$$

в) за Вінтерманс де Мотс:

$$C_{\text{хл а}}, \text{ мг/л} = 13,70 \cdot D_{665} - 5,76 \cdot D_{649}$$

$$C_{\text{хл б}}, \text{ мг/л} = 25,80 \cdot D_{649} - 7,60 \cdot D_{665}$$

Результати дослідження та їх обговорення. *Calamintha officinalis* – це куциста рослина, яка в умовах Львівщини зростає до 50-70 сантиметрів, м'якими листками, розміщеними на стебл

супротивно. Стебла здебільшого заввишки 20-60см, тупо чотиригранні, мало розгалужені, іноді стеляться, з припіднятими подовженими гілками. Листки коротко черешкові або майже сидячі, округло-яйцевидні, рідко і неглибоко городчато-пильчаті або майже цілокраї, жилки знизу листка дещо видаються. Листки і стебла опушені. Корінь багатоголовий, дерев'янистий; кореневище повзуче. Квітки на квітконіжках коротші від чашечки, зрідка – довші від чашечки, по 12-15 (30) в дихотомічно розгалужених несправжніх кільцях, які виходять на загальній ніжці з пазухи листків; квітки зібрані в негусті, однобічні, рихлі, довгі суцвіття, які перевищують листки; приквітки маленькі, лінійні або шиловидні; чашечка біля 5 мм завдовжки, трубчата, в зіві волосиста, з волосками, що видаються, не звужена біля зіву, з трьома верхніми ланцетними, дещо відігнутими зубцями; нижні два зубці шиловидні, дещо довші від інших. Віночок рожевий або блідо-бузковий, майже вдвічі довший від чашечки, 5-9 мм завдовжки. Плоди – горішки продовгуватої форми бурого кольору.

У фармації стандартизація ЛРС проводиться в тому числі за зовнішніми морфологічними та мікроскопічними ознаками. Одержані макроскопічні показники інтродукованої *C. officinalis Moench*. Відповідали описаним іншими авторами [6,7,9]. Нами відмічено також специфічний запах рослини – деревянисто-травянистий, що нагадує запах болотної м'яти і відповідає описаним у літературі [6,7,9].

Результати мікроскопічних досліджень представлені на **рис. 1**. Виявлено, що клітини верхнього епідермісу листка паренхімної форми, багатокутні, зі звивистими стінками. Видно, що волоски прості, багатоклітинні, тонкостінні з розширеною базальною клітиною. Подібні особливості і у клітин нижнього епідермісу. В епідермісі обох сторін листка є дещо заглиблені овальні 8-клітинні ефіроолійні залозки та продихові апарати діацитного типу (**рис. 1,2**).

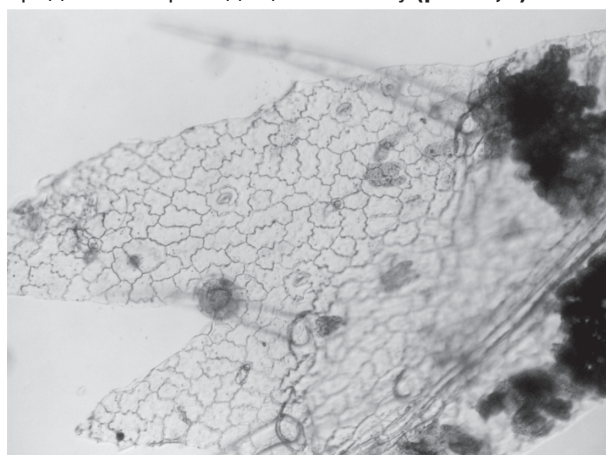


Рис. 1. Верхній епідерміс листка *Calamintha officinalis Moench*.

Мезофіл листка типовий для губоцвітих, з 2-3 рядами клітин палисадної паренхіми і вузьким шаром губчастої. На стеблі є чисельні прості волоски, аналогічні тим, що в листках.

Зовнішні ознаки сухої ЛРС: шматочки листків з невеликою кількістю шматочків стебел, квіток з квітконіжками і без них. Краї листів дрібногородчасті.

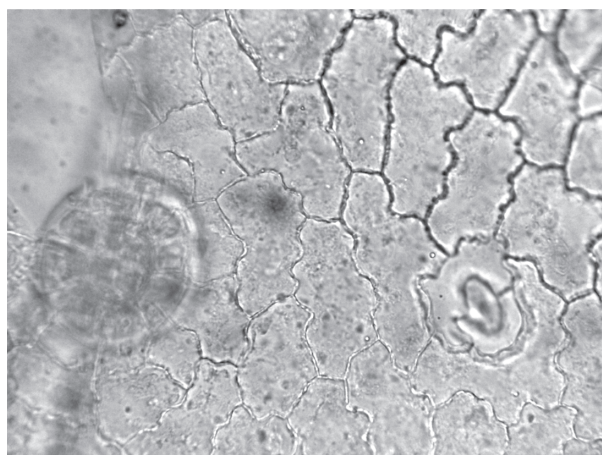


Рис.2. Епідерміс з верхнього боку листка *Calamintha officinalis Moench*.

Шматочки стебел чотиригранні, опушені. Колір листків зелений або темно-зелений. Запах своєрідний, приємний. Смак злегка гіркуватий. При розгляді сухого порошку видно шматочки епідерміса листка, які мають характерні для каламінти діагностичні ознаки: волоски, залозки та продиховий апарат як описано вище.

Результати досліджень вмісту хлорофілів представлені в **таблиці**.

Таблиця

Вміст хлорофілів у ЛРС *C. officinalis Moench*, мг-г-1 сухої маси

Екстрагент	Фаза розвитку	Хлорофіл а	Хлорофіл b
100% ацетон	Вегетації	0,236	0,500
	Бутонізації	0,483	0,156
	Цвітіння	1,166	0,999
96% етанол	Вегетації	0,216	0,378
	Бутонізації	0,387	0,122
	Цвітіння	1,193	1,050

Виявлено, що рівень вмісту хлорофілів високий при застосуванні обох досліджуваних екстрагентів. Найвищий вміст обох досліджених хлорофілів у фазу цвітіння. Виявилась цікава закономірність – динаміка вмісту хлорофілів однакова за фазами розвитку, однак у фазі вегетації вміст хлорофілу b вищий від вмісту хлорофілу а. В наступні фази розвитку рівень вмісту хлорофілу а переважає. Порівняння екстрагентів показало, що кращим є ацетон, однак, якщо рослину використовувати з лікувальною метою в домашніх умовах, краще застосувати етанол.

Хлорофіли близькі за будовою молекули до гемоглобіну, причому хлорофіл належить до магній-порфіринів, а гемін – до залізорпорфіринів. Відомо, що хлорофіли мають антирадикальну активність [1-3,5,8]. Однією з головних функцій хлорофілів є загоювання ран і покращення роботи панкреатичної та щитовидної залоз [1,8]. Завдяки близькості хімічної будови молекул обох хлорофілів до гемоглобіну, вони мають стимулюючий вплив на серцево-судинну систему людини, підвищують концентрацію гемоглобіну і лейкоцитів, прискорюють фагоцитоз. Такий вплив ефективний при ряді захворювань, оскільки