

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 612.581.311.2
 © Коллектив авторов, 2023

А. Асилбек кызы¹, С.Р. Хасанова¹, Н.В. Кудашкина¹, А.Д. Мураталиева², Т.В. Булгаков³

ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕШНИХ И МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ОСТРОЛОДОЧНИКА РОЗОВОГО (*OXYTROPIS ROSEA BUNGE*)

¹*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Уфа*

²*Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева, г. Бишкек*

³*ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова», г. Москва*

Целью данного исследования явилось проведение макроскопического, микроскопического и качественного анализа остролодочника розового (*Oxytropis rosea* Bunge).

Материал и методы. Для исследований использовались трава и корни растения, заготовленные с дикорастущих экземпляров в Кыргызской Республике. Для проведения качественного химического анализа были получены водные, водно-спиртовые и спиртовые извлечения с 70%, 96% этиловым спиртом. С полученными водными и спиртовыми извлечениями проводили известные химические реакции на флавоноиды, полисахариды, алкалоиды, сапонины, кумарины, антраценпроизводные, дубильные вещества. Алкалоиды исследовали также методом тонкослойной хроматографии. Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А 100×150 мм в системе бензол-этанол (9:1). Хроматограммы проявляли реагентом Драгендорфа.

Результаты. Установлены диагностические морфологические и анатомические признаки исследуемого растения, которые могут использоваться для дальнейшей идентификации сырья. Установлено присутствие в сырье групп биологически активных веществ: флавоноидов, кумаринов, сапонинов, дубильных веществ, алкалоидов. Проведенные химические и хроматографические исследования показали, что в сырье содержатся алкалоиды, однако для установления их групповой принадлежности и структуры необходимо проведение более детального исследования с применением инструментальных методов анализа. Проведенные исследования могут быть использованы для разработки нормативной документации на сырье *O. rosea*.

Ключевые слова: *Oxytropis rosea* Bunge, корни, трава, морфология, анатомия, качественный анализ, биологически активные вещества, алкалоиды.

A. Asilbekk., S.R. Khasanova, N.V. Kudashkina, A.D. Muratalieva, T.V. Bulgakov
THE STUDY OF EXTERNAL AND MICROSCOPIC SINGNS AND QUALITATIVE ANALYSIS OF OXYTROPIS ROSEA BUNGE

The purpose of the study presented in the article was to perform macroscopic, microscopic and qualitative analysis of *Oxytropis rosea* Bunge.

Material and methods. Grass and roots harvested from the wild plants in the Kyrgyz Republic were used for the research.. For qualitative chemical analysis, aqueous, water-alcohol and alcohol extracts with 70%, 96% ethyl alcohol were obtained. Known chemical reactions to flavonoids, polysaccharides, alkaloids, saponins, coumarins, anthracene derivatives, tannins were carried out with the aqueous and alcoholic extracts obtained from this plant. Alkaloids were also studied by thin-layer chromatography. Thin-layer chromatography was performed on Sorbfil aluminium foil analytical plates (PTLC-AF-A) of 100x150 mm in a benzene-ethanol system (9:1). The chromatograms were developed with Dragendorf reagent.

Results. Diagnostic morphological and anatomical features of the plant have been established, which can be used to identify raw materials. The presence of groups of biologically active substances such as flavonoids, coumarins, saponins, tannins, alkaloids, has been established. Chemical and chromatographic studies have shown that the raw materials contain alkaloids, however, to establish their group affiliation and structure, a more detailed study using instrumental analysis methods is necessary. These studies can be used to develop regulatory documentation for *O. rosea* raw materials.

Key words: *Oxytropis rosea* Bunge, roots, grass, fruits, morphology, anatomy, qualitative analysis, biologically active substances, alkaloids.

Растения рода *Oxytropis* DC сем. бобовых (*Fabaceae*) с давних времен широко используется в народной медицине различных стран для лечения целого ряда заболеваний: кардиоваскулярных, верхних дыхательных путей, кожных и др., а также применяется как кровоостанавливающее, противовоспалительное и противоопухолевое средство[1,7]. По данным атласа видов «Плантирум» данный род насчитывает 481 вид, при этом ни один из них не является фармакопейным [7]. Растения рода *Oxytropis* DC распространены в Австра-

лии, Южной Америке, Африке, Северной Америке, Евразии. Согласно экологическим исследованиям, Сибирь является центром происхождения и распространения – более 90% видов *Oxytropis*, из них 30% являются эндемичными видами. В некоторых районах Китая, Монголии Средней Азии также распространён этот вид [1].

В настоящее время во многих странах большой интерес вызывает химическое исследование данного рода в связи с обнаруженным в нем свейнсонином -

индолизидиновым алкалоидом, являющимся ингибитором альфа – маннозидазы Гольджи II, а также иммуномодулятором и потенциальным препаратом химиотерапии[2].

Имеющиеся результаты исследований представителей данного рода дают предпосылки для их дальнейшего изучения с целью использования в отечественной медицине, так как фитохимические исследования показали содержание более 127 химических компонентов, в том числе флавоноидов, алкалоидов, сапонинов, лигнанов, эфирных масел, полисахаридов и др. [1,7-12].

В Кыргызской Республике в диком виде встречаются 166 видов рода *Oxytropis* DC. Один из широко распространённых дикорастущих видов является остролодочник розовый *Oxytropis rosea* Bunge, который может стать фармакопейным видом после полного фармакогностического фармакологического исследований.

Цель нашего исследования – изучение морфолого-анатомических признаков и проведение качественного анализа *Oxytropis rosea* Bunge.

Материал и методы

В качестве исследуемого объекта служили все части данного растения, заготовленные в 2022г. на территории Кыргызской Республики с дикорастущих растений. Части растения собирали вручную. Место сбора–Джалал-Абадская область, резервуар Таш-Кумур, Бабаш-Атинский хребет, на высоте 900-1000 м н.у.м. Время сбора – июнь 2022 г. Определение видовой принадлежности проводили с использованием соответствующего определителя растений [6]. Все части растения высушивали воздушно-теневым способом и хранили при температуре 20-25°C и влажности не более 50%. Проводили исследование внешних признаков и микроскопический анализ всех частей растения, используя методики ГФ XIV издания[3,4,5]. Определение морфологических признаков *O.rosea* проводили с помощью измерительной линейки, рассматривали невооруженным глазом, а также использовали бинокулярный микроскоп с увеличением 10x. Анатомические признаки изучали с использованием микроскопа Минимед при увеличении окуляра 15x и объективов 10x и 40x. Микропрепараты готовили из просветленных и размягченных частей растения.

Для проведения качественного химического анализа были получены водные, водно-спиртовые и спиртовые извлечения с 70%, 96% этиловым спиртом. С полученными водными и спиртовыми извлечениями проводили

известные химические реакции на флавоноиды, полисахариды, алкалоиды, сапонины, кумарины, антраценпроизводные, дубильные вещества [7-12]. Для исследования алкалоидов получали два извлечения: 1 – с использованием в качестве экстрагента 1% хлористоводородной кислоты (сумма солей алкалоидов); 2 – с использованием в качестве экстрагента хлороформа, содержащего 5% аммиака (сумма оснований алкалоидов). С данными извлечениями проводили известные качественные реакции на алкалоиды и хроматографию в тонком слое. Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А 100×150 мм в системе бензол-этанол (9:1), хроматограммы проявляли реактивом Драгендорфа.

Результаты и обсуждения

Нами исследованы основные морфологические признаки всех частей *O.rosea* [3,4,5]. Листья–парноперистосложные длиной 10-25 см, с волосистыми черешками и длинным рахисом, листочки состоят из 10-15 пар, его форма продолговато-ланцетная или ланцетная длиной 7-20 мм, шириной 3-8 мм, листочек светло-зеленого цвета, по всей поверхности покрыты густыми волосками, равномерно расположены с обеих сторон листочка, его края цельные, жилкование перисто-краевое. Парные прилистники покрыты волосками, размером от 8 до 18 мм, срастаются на 1/3 часть с черешком. Цветки собраны в кисть длиной 8-20 см, цветоносы прижато-волосистые, равны по размеру листочкам. Цветки розово-фиолетовые, мотылькового типа. Верхний лепесток овальный или яйцевидный 10-15 мм, в отгибе с выемчатой верхушкой, боковые и нижние лепестки по размеру почти равны верхнему, нижние лепестки заостренные 1,5-2 мм. Чашечка колокольчатая, беловая, покрыта волосками длиной 5-10 мм, на концах чашелистиков имеются зубцы. Плоды – бобы, желтовато-зеленого цвета продолговато-ромбической формы, прижатые по бокам, покрыты волосками длиной 15 мм, шириной 3-4 мм, с ножкой около 1 мм. Семена угловато-почковидной формы, коричневого цвета, прижатые, размер семян 2-2,5 мм. Подземные органы представлены системой главного корня. Молодые корни представляют собой длинные одиночные корни без имеющие боковых корней, более старые корни имеют другое строение – корень, идущий из земли, вверху образует ветвление, напоминающее каудекс. Поверхность корней продольно-морщинистая, серо-светло-коричневого цвета, излом ровный, желтоватый. Длина корня со-

ставляет 15-40 см, диаметр – 5-15мм.

Запах при растирании листа или водного извлечения характерный, вкус не определяли, так как состав органов растения еще не изучен.

В ходе микроскопического исследования листьев с поверхности, стенки клеток с обеих сторон эпидермиса слабо извилистые. Устьица окружены тремя-четырьмя около устьичными клетками эпидермиса (аномоцитный тип), встречаются на обеих сторонах листа. Волоски располагаются по всей поверхности с обеих сторон и по краю листа. Волоски простые, одноклеточные, длинные с бородавчатыми краями, толстостенные (рис. 1).



Рис.1. Простые одноклеточные волоски на поверхности листа.
Увел. 20×10

Основание волоска окружают 6-8 клеток, окрашенных в желтый цвет (рис. 2). На эпидермисе стебля также расположены по всей поверхности простые одноклеточные волоски (рис. 3). Корни имеют вторичное строение: под микроскопом видны покровная ткань – перидерма, кора и древесина (рис. 4). Под первичной корой визуализируются довольно большие вместилища желтого цвета (рис.5). Линия камбия четкая. Древесина имеет лучистое строение. В древесине различаются сосуды, трахеиды, клетки паренхимы сердцевинных лучей.



Рис. 2. Эпидермис листа с основанием простого волоска.
Увел. 20×40

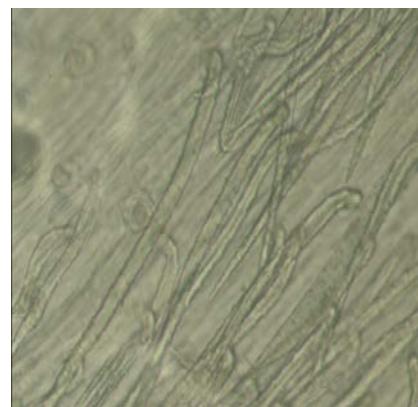


Рис. 3. Эпидермис стебля с простыми волосками. Увел. 20×40

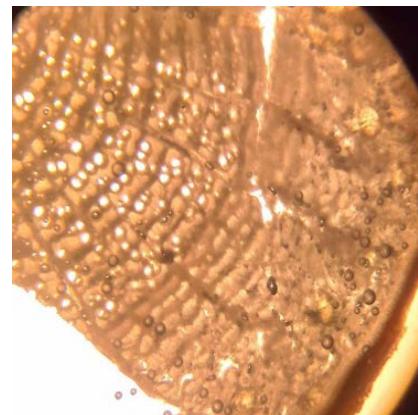


Рис. 4. Поперечный срез корня. Увел. 20×10

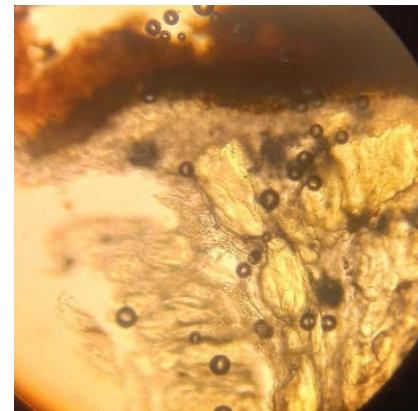


Рис. 5. Вместилища на поперечном срезе корня. Увел. 20×40

Данные предварительного исследования химического состава с использованием качественных реакций представлены в табл. 1.

Результаты качественных реакций, проходящих в извлечениях из *O. rosea*, полученных с использованием различных экстрагентов представлены в табл. 2.

Согласно полученным данным (табл. 2) можно сделать вывод, что для качественного анализа кумаринов в качестве экстрагента следует использовать 96% этиловый спирт, а для анализа других групп биологически активных веществ (БАВ) водные или водно-спиртовые извлечения.

Таблица 1

Результаты качественных реакций на основные группы биологически активных веществ в траве и корнях <i>O. rosea</i>			
Группа БАВ	Вид извлечения	Реактив	Результат
Флавоноиды	Извлечение с 70% спиртом	А) 5% раствор ацетата свинца	+ желтое окрашивание (флавоны, флавонолы, флавононы)
		Б) 5% спиртовый раствор хлористого алюминия	+ желто-зеленое окрашивание (5-оксифлаваны, 5-оксифлавоны).
Кумарины	Спиртовое извлечение 96% спиртом	10% спиртового раствора KOH	+ красно-вишневое окрашивание, при рассмотрении флюoresценции в УФ-свете экстракт листьев показал желтовато-зеленую флюoresценцию, экстракт корней - коричневато-зеленую флюoresценцию
	0,5 г сухое порошковонное сырье	Реакция сублимации	+ желтые капли и желтые кристаллы
Сапонины	Водное извлечение	Реакция на пенообразование	+ в листьях стойкая обильная пена, в корнях менее стойкая пена
		10% раствор ацетата свинца	+ белый осадок
Сердечные гликозиды	Спиртовое извлечение 70 % спиртом	Реакция Балье	-
		Реакция Либермана-Бурхарда	-
Дубильные вещества	Водное извлечение	Раствор железоаммониевых квасцов	+ черно-зеленое окрашивание (пирокатехиновая группа дубильных веществ).
Антраценпроизводные	Водное извлечение	Реакция Борнтрегера	-

Примечание. «+» - результат положительный, «-» - результат отрицательный.

Таблица 2

Результаты качественных реакций, происходящих в различных извлечениях из *O. rosea*

Группа БАВ	Извлечение с водой	Извлечение 70% этиловым спиртом	Извлечение 96% этиловым спиртом
Флавоноиды	+	+	-
Сапонины	+	+	+
Кумарины	-	-	+
Антрацен производные	-	-	-
Дубильные вещества	+	+	-
Сердечные гликозиды	-	-	-

Примечание. «+» - БАВ выделяется экстрагентом, «-» - БАВ не выделяется экстрагентом.

В литературе приводятся сведения о том, что растения данного рода накапливают алкалоиды, то нами была исследована данная группа соединений с применением качественных реакций и хроматографического

анализа. Данные предварительного исследования сырья на присутствие алкалоидов с использованием качественных реакций и тонкослойной хроматографии представлены в табл. 3.

Таблица 3

Результаты исследования алкалоидов, находящихся в траве и корнях *O. rosea*

Реакции	Извлечение	Результат
Общеприменимые осадочные реакции: Драгендорфа Зонненштейна пикриновой кислоты танина Бушарда	Извлечение с 1% раствором соляной кислоты	Осадки: с реагентом Драгендорфа коричневый, с реагентом Зонненштейна зеленоватый, с пикриновой кислотой желтый, с раствором танина коричневый, с реагентом Бушарда оранжево-красный.
Специфические цветные реакции: с концентрированной серной кислотой, с реагентами Эрдмана	Два вида извлечений в виде солей (с 1% раствором соляной кислоты), в виде оснований (в хлороформе с аммиаком)	с концентрированной серной кислотой темно-зеленое окрашивание, с реагентом Эрдмана темно-коричневое окрашивание.
Тонкослойная хроматография. Система: бензол:этанол (9:1).	Хлороформное извлечение без нагревания с добавлением концентрированного раствора аммиака	На хроматографической пластинке появляется темно-коричневое пятно после окрашивания реагентом Драгендорфа
Результат -	Обнаружены алкалоиды	

Проведенные исследования показали, что в сырье содержатся алкалоиды, однако для установления их групповой принадлежности и структуры необходимо проведение более детального исследования с применением инструментальных методов анализа.

Выводы

Таким образом, нами были изучены основные критерии подлинности травы и корней *Oxytropis rosea*.

1. Исследованы основные морфоло-

гические признаки травы и корней *O. rosea*.

2. Исследованы и выделены диагностически значимые анатомические признаки травы и корней *O. rosea*.

3. Установлен качественный состав групп биологически активных веществ, содержащихся в траве и корнях *O. rosea*.

Проведенные исследования могут быть использованы для разработки нормативной документации на лекарственное растительное сырье *O. rosea*.

Сведения об авторах статьи:

Асилбек кызы Айжаркын – аспирант кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: aasilbekkyzy1996@mail.ru.

Хасанова Светлана Рашитовна – д.фарм.н., профессор фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: svet-khasanova@yandex.ru.

Кудашкина Наталья Владимировна – д.фарм.н., профессор, завкафедрой фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: phytoart@mail.ru.

Мураталиева Анарбү Джапаровна – к.фарм.н., доцент, завкафедрой фармакогнозии и химии лекарственных средств КГМА имени И.К. Ахунбаева. Адрес: 720020, Кыргызская Республика, г. Бишкек, ул. И. Ахунбаева, 92. E-mail:akhunbaev@kgma.kg.

Булгаков Тимур Вилорович – к.фарм.н., ведущий специалист допингового контроля Национальной антидопинговой лаборатории (института) ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова. Адрес: 105005, г. Москва, Елизаветинский переулок, 10, стр. 1. E-mail: tricster@inbox.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амирханова, А. Ш. Тыкыркекіре (*Oxytropis glabra* Lam.DC.) дәрілік осімдік шебінің аминқышқылы және май қышқылдарының күрамдарына талдаулар жүргізу / А. Ш. Амирханова [ет.ал.] // Фармация Казахстана. – 2018. – № 10. – Р. 24-28.
2. Тейлор, Д. Влияние скармливания остролодочника овцам при ограниченном режиме кормления на уровень биохимических компонентов сыворотки крови и бластогенную реакцию лимфоцитов / Д.Б. Тейлор [и др.]// Ветеринария. Реферативный журнал. – 2001. – № 4. – С. 1080.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV. –М., 2018.– Т. I.– С. 289-318, 981-982.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIV. – М., 2018.– Т. II.– С. 2333-2334, 2335, 2361-2364.
5. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV. –М., 2018. – Т. IV.– С. 5925 -5932.
6. Определитель растений Средней Азии [Текст] : Критич. конспект флоры Сред. Азии / Ин-т ботаники АН УзССР, Ташк. гос. ун-т им. В. И. Ленина. – Ташкент: Фан, 1968-. - 27 с.
7. Пурэвсүрэн, С. Алкалоиды остролодочника ложножелезистого (*Oxytropis pseudoglandulosa* Gontsch Ex Grub), применяемого в традиционной медицине Монголии / С. Пурэвсүрэн [и др.]// Сибирский медицинский журнал. – 2002. – Т. 34, № 5. – С. 73-76.
8. Пурэвсүрэн, С. К вопросу фитохимического и фармакологического изучения остролодочника тысячелистистого (*Oxytropismyriophylla* (Pall) DC) / С. Пурэвсүрэн [и др.] // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2002. – Т. 31, № 2. – С. 53-55.
9. Шубина, Т.В.Исследование содержания сапонинов в различных видах рода *Crataegus* L./ Т. В. Шубина [и др.]//Сборник материалов юбилейной международной научной конференции. –М., 2021. –С. 499-501.
10. Demeuov, N. B. Muricatisine - A new alkaloid from two species of *Oxytropis* / N. B. Demeuov[et al.] // Chemistry of Natural Compounds. – 1998. – Vol. 34. – № 4. – P. 484-491.
11. Li, M. X. Phytochemical and biological studies of plants from the genus oxytropis / M. X. Li [et al.] // Records of Natural Products. – 2012. – Vol. 6. – No 1. – P. 1-20.
12. Lu, F. Studies on flavonoids of *Oxytropisfalcata* / F. Lu, X. J. Xu // ZhongguoZhongyaoZazhi. – 2007. – Vol. 32. – No 4. – P. 318-320.

REFERENCES

1. Amirkhanova A. Sh. [et al.]. Tykrykekire (*Oxytropisglabra*Lam.DC.) darilik osimdir shobinin aminkyshkyly zhane may kyshkyldaryn kuramdayna taldauarl zhurgizu. Pharmacy of Kazakhstan. 2018;10:24-28. (in Kazakh)
2. Taylor J. [et al.]The effect of feeding acorn to sheep with a limited feeding regime on the level of biochemical components of blood serum and the blastogenic reaction of lymphocytes. Veterinary Medicine. Abstract journal. 2001; 4: 1080. ((in Russ)
3. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii (State Pharmacopoeia of the Russian Federation). XIV, Moscow, 2018; I: 289-318, 981- 982.(in Russ)
4. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj jFederacii (State Pharmacopoeia of the Russian Federation). XIV, Moscow, 2018; II:2333 – 2334, 2335, 2361-2364.(in Russ)
5. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii (The State Pharmacopoeia of the Russian Federation). XIV, Moscow, 2018; IV:5925 - 5932.(in Russ)
6. Opradelitel' rastenij SrednejAzii (The determinant of plants of Central Asia) edited by M.G. Pakhomov, Ed. «Fan» of the Uzbek SSR, 1976; V: 276.(in Russ)
7. Purevsuren S. [et al.] Alkaloids of the *Pseudomonas aeruginosa* (*Oxytropis Pseudoglandulosa* Gontsch Ex Grub) used in traditional medicine of Mongolia. Siberian Medical Journal. 2002; 34(5):73-76.(in Russ)
8. Purevsuren S. [et al.]On the issue of phytochemical and pharmacological study of the yarrow acorn (*Oxytropis myriophylla* (Pall) DC). Siberian Medical Journal. 2002;31(2):53-55.(in Russ)
9. Shubina T.V. [et al.] Issledovanie soderzhanija saponinov v razlichnyh vidahroda *Crataegus* L. (Investigation of saponin content in various species of the genus *Crataegus* L.). Sbornik materialov jubilejnoj mezhdunarodnoj nauchnojkonferencii. Moscow, 2021: 499-501.(in Russ)
10. Demeuov N. B. [et al.] Muricatisine - A new alkaloid from two species of *Oxytropis*. Chemistry of Natural Compounds.1998;34(4):484- 491.(in Engl)
11. Li M. X. [et al.]Phytochemical and biological studies of plants from the genus oxytropis. Records of Natural Products. 2012;6(1):1-20. (in Engl)
12. Lu F. Xu X. J. Studies on flavonoids of *Oxytropisfalcata*. ZhongguoZhongyao Zazhi.2007;32(4):318-320.(in Engl)