

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПОБЕГОВ ЛЕСПЕДЕЦЫ ДВУХЦВЕТНОЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ

М.Р. Хочава

к.фарм.н., доцент, кафедра фармации,
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Краснодар, Россия)
E-mail: corpus@ksma.ru

Т.Е. Онбыш

к.фарм.н., доцент, кафедра мобилизационной подготовки, здравоохранения и медицины катастроф,
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Краснодар, Россия)

О.А.Быкова

к.с.-х.н., директор Северо-Кавказского филиала ФГБНУ ВИЛАР
(Краснодарский край, Динской р-н, ст. Васюринская, Россия)
E-mail: vilar8@rambler.ru

Актуальность. Леспедеца двухцветная (*Lespedeza bicolor* Turcz.) — кустарник из семейства бобовых (Fabaceae). Как лекарственное растительное сырье побеги леспедецы двухцветной в качестве биологически активных веществ содержат различные классы соединений (флавоноиды, алкалоиды, витамины и др.), которые обуславливают гипозотемические, диуретические, противовирусные и антимикробные свойства. В связи с этим можно считать побеги леспедецы двухцветной перспективным лекарственным сырьем.

Цель и объект исследования – фармакогностическое изучение побегов леспедецы двухцветной, произрастающей в Краснодарском крае, для выявления дополнительных диагностических признаков, позволяющих достоверно идентифицировать данное сырье.

Объектом исследования служили образцы побегов леспедецы двухцветной, заготовленные в фазу цветения на коллекционном участке лекарственных растений в ГУ ДОД «Эколого-биологический центр Краснодарского края».

Методы. Изучение внешних и анатомо-диагностических признаков, количественного содержания экстрактивных веществ проводили в соответствии с методиками Государственной фармакопеи. УФ-спектры поглощения растворов регистрировали на двухлучевом спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu).

Результаты. На основании морфолого-анатомического анализа нескольких экспериментальных образцов высушенного сырья составлено описание морфологических и анатомических признаков побегов леспедецы двухцветной (листья, черешка листа, стебля, цветка) с выявлением дополнительных диагностических признаков. Установлено, что содержание суммы экстрактивных веществ в побегах леспедецы двухцветной, извлекаемых водой, составляет $30,46 \pm 0,81\%$, извлекаемых 40%-ным спиртом этиловым – $32,33 \pm 0,22\%$ и 70%-ным спиртом этиловым – $27,12 \pm 0,078\%$. В УФ-спектре поглощения спиртового извлечения побегов леспедецы двухцветной наблюдаются два минимума – при 260–262 нм и 310 нм; два максимума – при 270 и 315 нм, что обусловлено поглощением флавонолгликозидов кверцетинового ряда.

Выводы. Проведенные исследования позволили установить ряд диагностических признаков подлинности и показателей качества данного растительного сырья, которые могут быть рассмотрены с точки зрения возможного их включения в нормативную документацию.

Ключевые слова: леспедеца двухцветная, побеги, внешние признаки, анатомические признаки, экстрактивные вещества.

Для цитирования: Хочава М.Р., Онбыш Т.Е., Быкова О.А. Фармакогностическое изучение побегов леспедецы двухцветной, произрастающей в краснодарском крае. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(8):40–47. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-08-05>

Леспедеца двухцветная (*Lespedeza bicolor* Turcz.) — кустарник, из семейства бобовых (Fabaceae), высотой 1–1,5 м, с многочисленными тонкими сильноветвистыми прутьевидными ветвями. Формирует мощную корневую систему.

Стебли могут достигать 3 см в диаметре. Ветви слегка опушены. Листья трехчленные, ярко-зеленые, опушенные. Цветки мотыльковые, собраны в пазушные длинные метелки. Лепестки могут достигать 1 см в длину, они пурпурного

или, реже, белого цвета. Завязь опушенная. Плод – плоский односемянный боб около 1 см длиной. Цветение происходит с июля по сентябрь [1, 2].

В диком виде леспедеца двухцветная произрастает в Китае, Японии, Корее и в прилегающих районах России (на Дальнем Востоке – в Приморском и Хабаровском краях, в Амурской области, в Забайкалье, на юге Сахалина и на Южно-Курильских островах (Шикотан, Кунашир, Итуруп)). Это один из самых многочисленных кустарников Приморья. В России леспедеца двухцветная введена в культуру Санкт-Петербургским ботаническим садом, впервые выращена из семян, привезенных К.И. Максимовичем с Дальнего Востока в 1856 г. Как декоративное растение леспедецу двухцветную культивируют в парках и садах США, Европы и России. В Краснодарском крае леспедеца двухцветная встречается в частных коллекциях и в коллекциях лекарственных растений [1–3].

Препараты, получаемые из побегов леспедецы двухцветной, используются в официальной и народной медицине в качестве противовоспалительного, мочегонного, улучшающего обменные процессы в организме, гипозотемического, восстанавливающего водно-солевой баланс, обезболивающего, иммуностимулирующего, противовирусного, антибактериального средства. В Российской Федерации производят лекарственный препарат «Леспефлан» – водно-спиртовой очищенный экстракт леспедецы двухцветной, содержащий сумму флавоноидов, который применяют как гипозотемическое (понижающее уровень азота в крови), мочегонное и противовоспалительное средство при лечении хронической почечной недостаточности различного происхождения. Импортный аналог леспефлана под названием «Леспенефрил» получают из леспедецы головчатой (*L. capitata* Michx.) [1–6].

Побеги леспедецы двухцветной содержат в качестве биологически активных веществ (БАВ) различные классы соединений (флавоноиды, алкалоиды, витамины и др.), которые обуславливают гипозотемические, диуретические, противовирусные и антимикробные свойства [1, 2, 6, 8].

Сырье собирают в фазу цветения, оно состоит из верхушечных частей однолетних побегов (неодревесневших стеблей с листьями, цветками и бутонами, единичными незрелыми плодами). В качестве нормативных документов на побеги леспедецы двухцветной утверждена ВФС 42–1942–89 «Побеги леспедецы двухцветной», где

приводится описание внешних признаков травы (побегов) и анатомическое описание листа. В литературе есть сведения об анатомическом строении и анатомо-диагностических признаках надземных органов леспедецы даурской [10].

Таким образом, побеги леспедецы двухцветной можно считать перспективным лекарственным растительным сырьем. В этой связи актуальным и необходимым является более глубокое исследование данного растительного объекта, в том числе с точки зрения изучения морфолого-анатомических особенностей сырья, установления выхода экстрактивных веществ и содержания суммы флавоноидов в сырье с целью последующего их включения в проект нормативной документации.

Цель исследования – фармакогностическое изучение побегов леспедецы двухцветной, произрастающей в Краснодарском крае.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили образцы побегов леспедецы двухцветной, заготовленные в фазу цветения на коллекционном участке лекарственных растений в ГУ ДОД «Эколого-биологический центр Краснодарского края» (г. Краснодар) и на территории ФГБНУ ВИЛАР (Северо-Кавказский филиал, Краснодарский край, ст. Васюринская) в 2019–2020 гг. Внешние и анатомо-диагностические признаки исследовали в соответствии с методиками Государственной фармакопеи РФ [9] (ОФС 1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», ОФС 1.5.3.0004.15 «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратов», ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы»). Содержание экстрактивных веществ определяли по методике ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье» [8].

Для получения микрофотографий использовали лабораторный микроскоп LW 200 T (Shanghai) с цифровой насадкой ICD-828A (Japan). Фотоснимки обрабатывали на компьютере с помощью программы «Adobe Photoshop 11.0». В процессе экспериментальных исследований применяли субстанции вспомогательных веществ, отвечающих требованиям нормативной документации. В качестве экстрагентов использовали спирт

этиловый 95% (ФС.2.1.0036.15), воду очищенную (ФС.2.2.0020.15).

Приготовление извлечения для регистрации УФ-спектра. Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 60 мл спирта этилового 70%-ной концентрации и взвешивают с погрешностью $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане в течение 45 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Далее колбу с содержимым охлаждают до комнатной температуры, взвешивают с погрешностью $\pm 0,01$ г и при необходимости доводят содержимое колбы спиртом этиловым 70%-ным до первоначальной массы. Извлечение пропускают через бумажный фильтр, смоченный тем же спиртом, отбрасывая первые 10 мл фильтрата (испытываемый раствор).

Приборы и аппаратура: весы аналитические лабораторные 2 класса по ГОСТ 24108-80 с пределом взвешивания 200,0; эксикатор по ГОСТ 25336-82; сушильный шкаф. УФ-спектры поглощения растворов регистрировали на двухлучевом спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании морфолого-анатомического анализа нескольких экспериментальных образцов высушенного сырья составлено описание морфологических и анатомо-диагностических признаков побегов леспедецы двухцветной.

Внешние признаки побегов леспедецы двухцветной. Цельное сырье. Стебли округлые, с неясными ребрами, опушенные прижатыми белыми волосками, или голые верхушки побегов длиной до 30 см. Листья тройчато-сложные, длинночерешковые, листочки эллиптические или яйцевидные, иногда с выемкой на верхушке, цельнокрайние, длиной до 7 см, шириной до 5 см. Бутоны мелкие (1–2,5 мм), густо опушенные, расположены попарно на коротких опушенных цветоножках, представлены чашечкой с 4 долями, венчик недоразвит. Соцветие – метелка из раскидистых негустых кистей. Цветки мотылькового типа, цветоносы опушенные. Чашечка короткоопушенная длиной до 4 мм, с 4 долями. Венчик длиной примерно 10 мм. Цвет стеблей желтовато-зеленый, листьев – сверху зеленый, снизу серовато-зеленый. Венчик розово-фиолетовый или красный, в высушенном состоянии розовато-фиолетовый с темно-фиолетовым концом (рис. 1). Запах слабый характерный. Вкус водного извлечения слегка вяжущий.

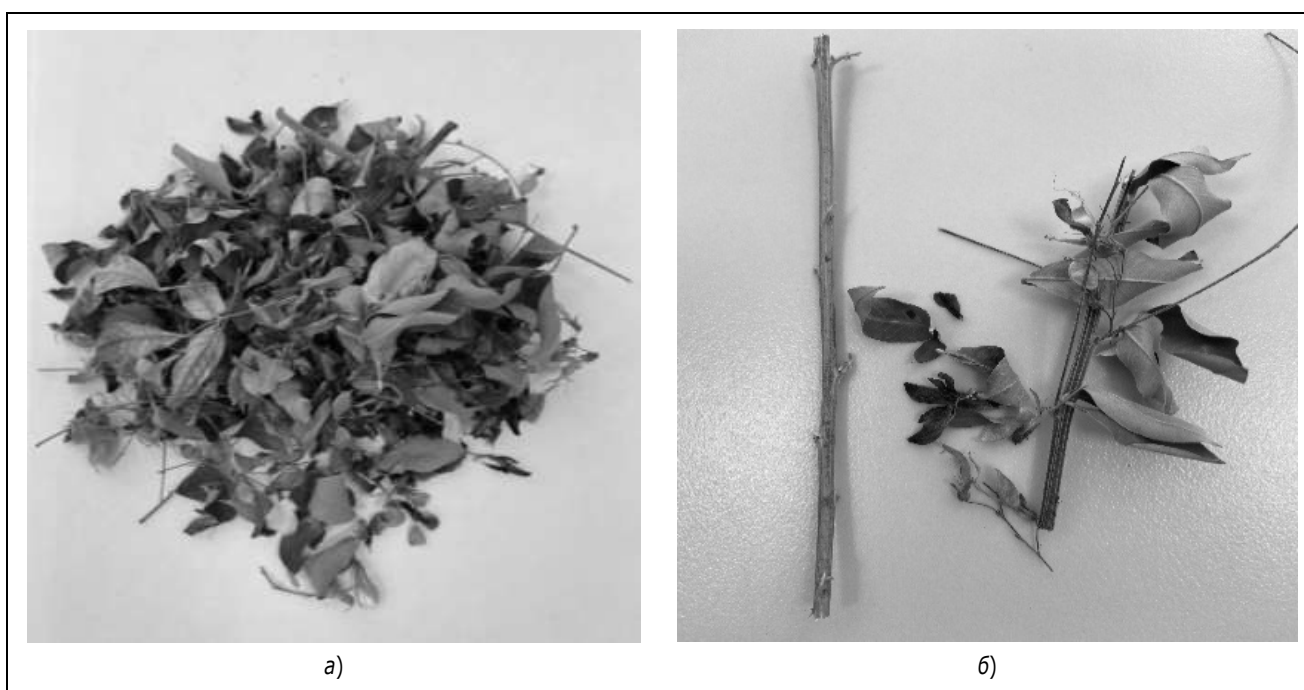


Рис. 1. Леспедеца двухцветная (высушенное, цельное сырье): а – общий вид сырья; б – стебель, листья, цветок

Микроскопические признаки. При рассмотрении микропрепаратов листа с поверхности кутикула верхнего и нижнего эпидермиса отсутствует. Видны многоугольные клетки верхнего эпидермиса. Клетки нижнего эпидермиса с извилистыми стенками. Утолщенность стенок клеток верхнего и нижнего эпидермиса равномерная. Устьица на обеих сторонах листа, но преобладают на нижней стороне. Устьица овальные, окружены 4–5 (реже 2–3) клетками эпидермиса аномоцитного (реже парацитного) типа. Встречаются волоски нескольких видов, преимущественно по жилкам и по краю листовой пластинки: простые двухклеточные, многоклеточные и головчатые. Клетки эпидермиса в местах прикрепления двухклеточных волосков расположены радиально и образуют розетку. Заметны валики – места прикрепления опавших волосков. Чаще встречаются простые двухклеточные волоски с гладкой поверхностью, состоящие из округлой базальной клетки и верхней длинной с широкой полостью. Реже встречаются простые многоклеточные волоски с удлиненными или укороченными клетками, иногда с бурым содержимым, и головчатые с одноклеточной головкой на одно- и трехклеточной ножке. Помимо волосков на поверхности обнаруживают-

ся места их прикрепления (больше на нижней стороне листа). В паренхиме под эпидермисом встречаются кристаллы кальция оксалата и кристаллический песок. Главные и более крупные боковые жилки листа окружены кристаллоносной обкладкой. Кристаллоносная обкладка из призматических кристаллов кальция оксалата и тяжи механических волокон располагаются на главной и крупных боковых жилках как с нижней, так и с верхней стороны листа. Губчатая паренхима листа представлена аэренхимой. Лист дорсовентрального строения. В губчатой паренхиме листа встречаются секреторные ходы с желто-бурым содержимым (рис. 2–11).

Черешок листа на поперечном срезе округло-треугольной формы. Очертание центрального проводящего пучка округлое или овальное. Очертание ксилемной части проводящего пучка треугольное. Склеренхимная часть проводящего пучка представлена 4–5 рядами клеток. Колленхима в основном однорядная. Эпидермис черешка представлен вытянутыми клетками почти прямоугольной формы со слабо выраженной продольно-морщинистой кутикулой. Волоски многочисленные простые, такие же, как и на листе, но более прижатые к поверхности (рис.12).

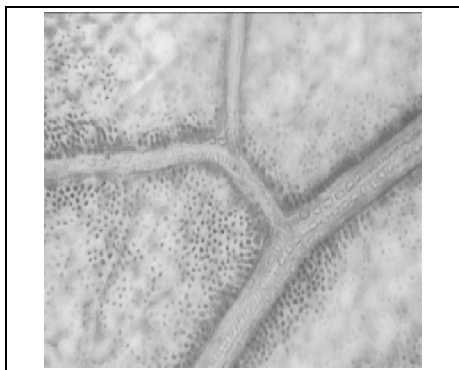


Рис. 2. Верхний эпидермис листа. Кристаллоносная обкладка и кристаллический песок. Ув. 10х

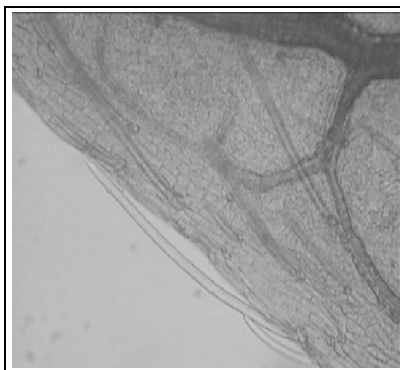


Рис. 3. Верхний эпидермис листа. Край листа. Простые волоски. Ув. 10х

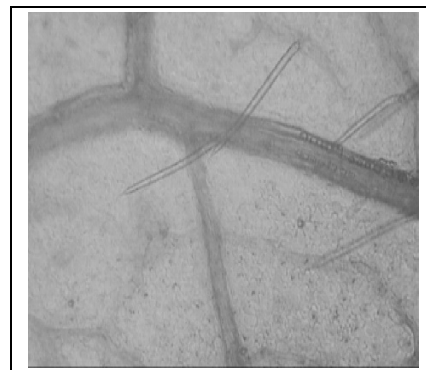


Рис. 4. Нижний эпидермис листа. Простые волоски. Ув. 10х

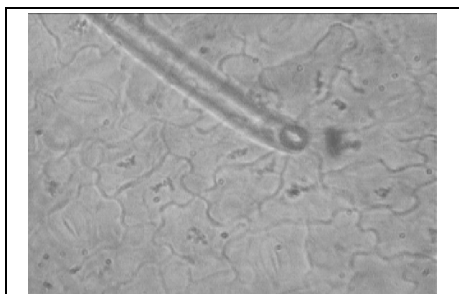


Рис. 5. Простой волосок. Ув. 40х

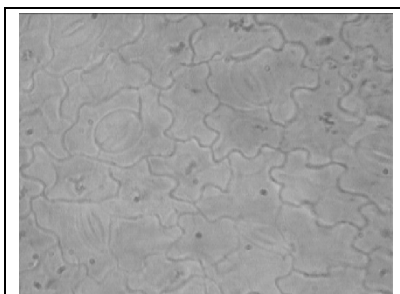


Рис. 6. Устьица. Ув. 40х

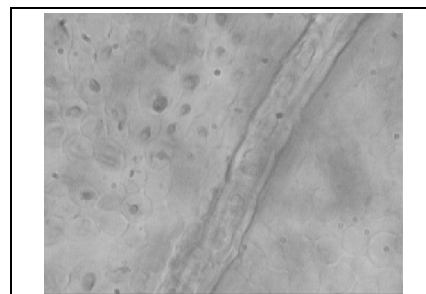


Рис. 7. Включения кальция оксалата (друзы и кристаллы). Ув. 40х

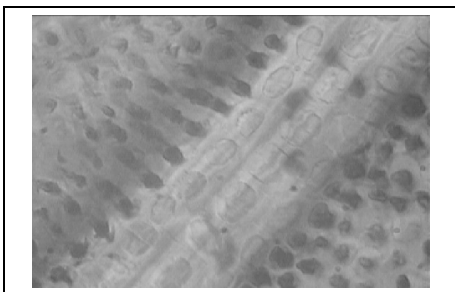


Рис. 8. Кристаллы вдоль жилки. Ув. 100х

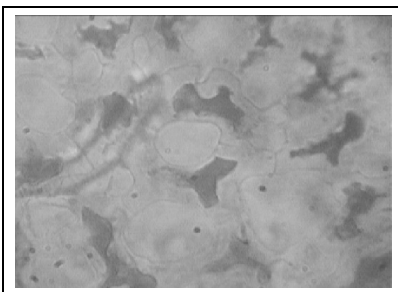


Рис. 9. Секреторные ходы. Ув. 100х

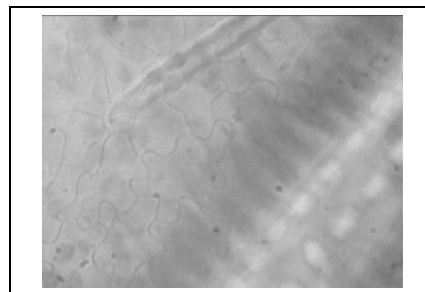


Рис. 10. Простой волосок (место прикрепления волоска). Ув. 40х

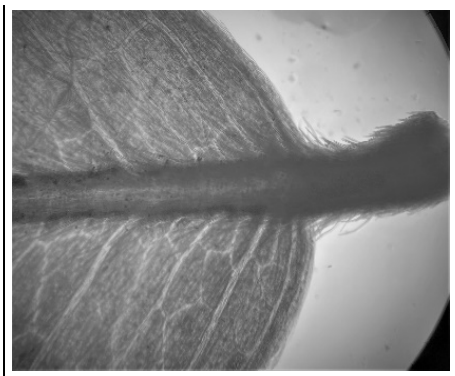


Рис. 11. Край и черешок листа. Простые волоски. Ув. 4х

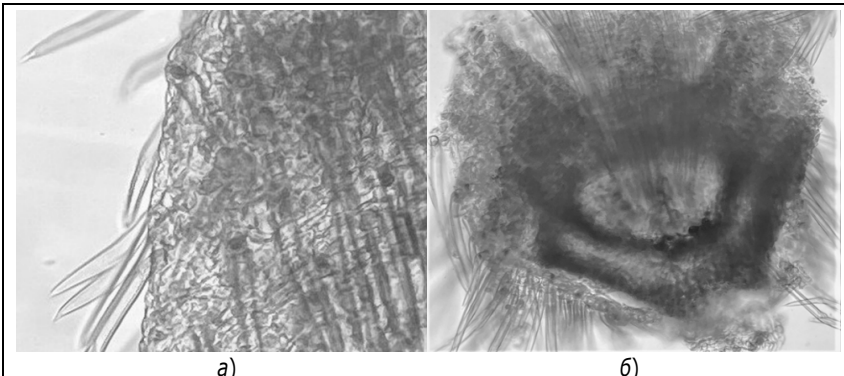


Рис. 12. Поперечный срез черешка листа: а – ув. 40х; б – ув. 10 х

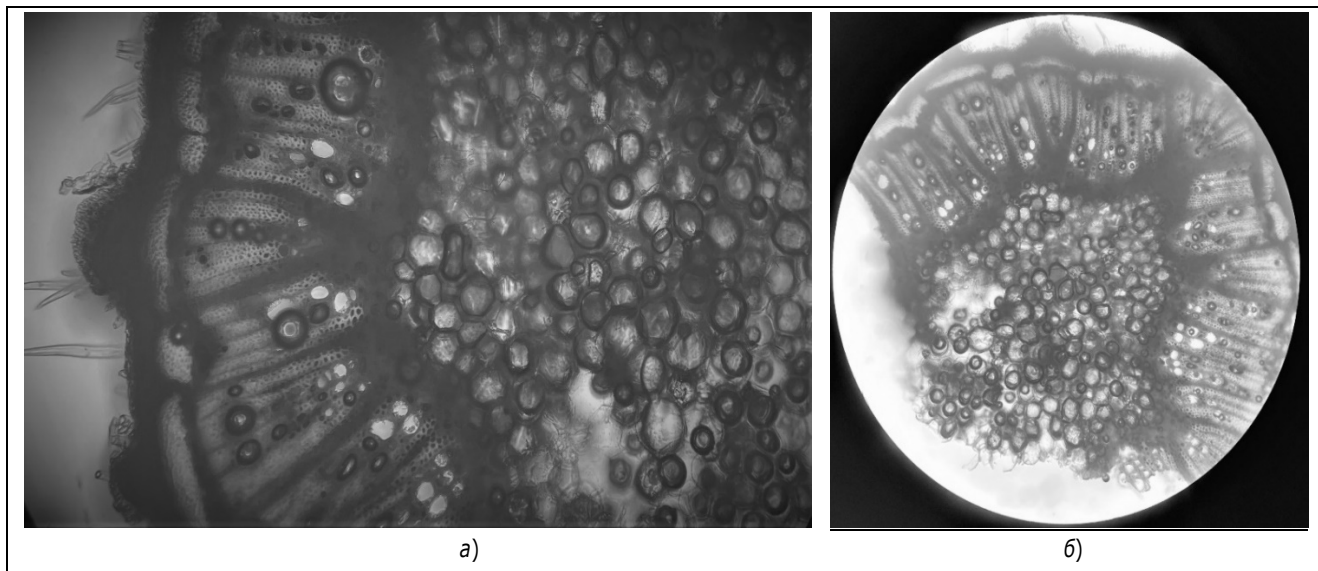


Рис. 13. Поперечный срез стебля: а – ув. 40х; б – ув. 10х

Стебель беспучкового строения. На поперечном срезе сильно-ребристый (14–16 ребер), покрыт однослойным эпидермисом. Волоски простые, такие же, как и на листе. Снаружи расположена кутикула, около 0,8–2,0 мкм толщины. Под эпидермисом расположены 1–2 слоя клеток колленхимы, причем в ребрах ее образуется 3–4 слоя, и 1–2 ряда хлоренхимы. Самый внутренний слой

первичной коры представлен эндодермой, всегда четко отличный в верхнем ярусе стебля. С внутренней стороны к эндодерме примыкает многослойная перициклическая склеренхима. Сердцевина стебля состоит из крупных паренхимных клеток с маленькими межклетниками. Сердцевидные лучи узкие, состоят из округлых клеток (рис. 13).

Цветки. При рассмотрении лепестков с поверхности видны клетки эпидермиса с изодиаметрической округлой и полигональной ромбовидной формой со слабоизвилистыми, реже прямыми клеточными стенками. Кутикула продольно-морщинистая и с нижней, и с верхней стороны; встречается и лучисто-морщинистая кутикула. Устьица редкие, устьичный аппарат парацитного типа, окружены двумя околоустьичными клетками, расположены на лепестках с наружной стороны. На верхнем эпидермисе обнаружены простые, одно-клеточные волоски с ровной кутикулой.

В местах прикрепления образуют розетку из 4–5 клеток. Редко встречаются головчатые волоски, в основном с нижней стороны. Вдоль жилок располагаются секреторные ходы. В паренхиме под эпидермисом обнаружены множественные друзы оксалата кальция и кристаллический песок (рис. 14–19).

Для выявления возможности использования УФ-спектрофотометрии в анализе подлинности сырья были изучены УФ-спектры поглощения извлечений из побегов, полученные с использованием 70%-ного спирта этилового (рис. 20).

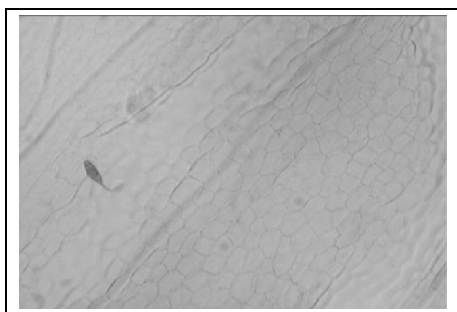


Рис. 14. Нижний эпидермис лепестка цветка. Головчатый волосок. Ув. 10х

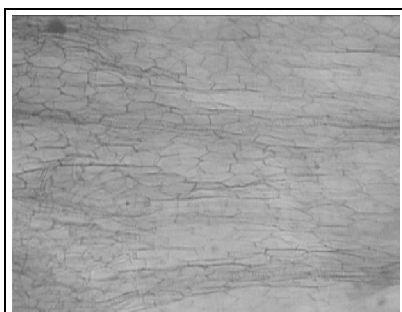


Рис. 15. Нижний эпидермис лепестка цветка. Ув. 10х

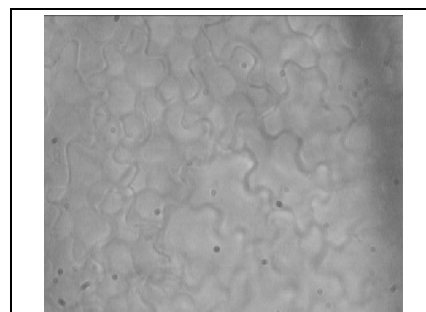


Рис. 16. Нижний эпидермис чашечки. Ув. 40х

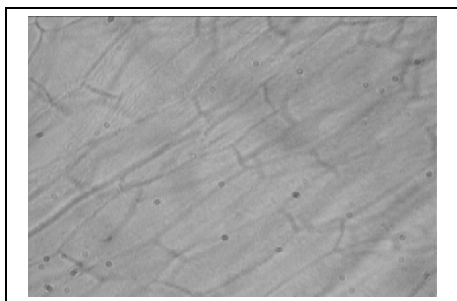


Рис. 17. Верхний эпидермис лепестка цветка. Ув. 40х

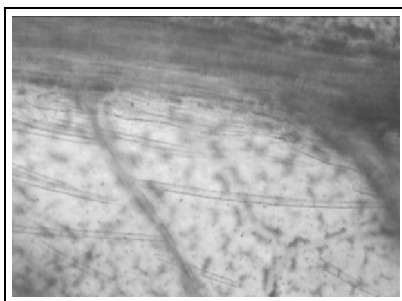


Рис. 18. Простые волоски. Ув. 40х

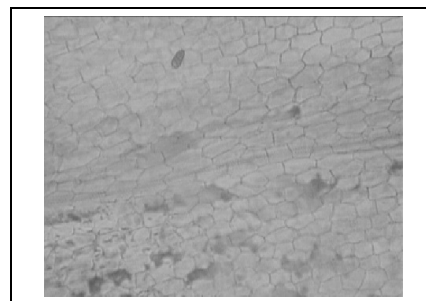


Рис. 19. Секреторные ходы. Ув. 40х

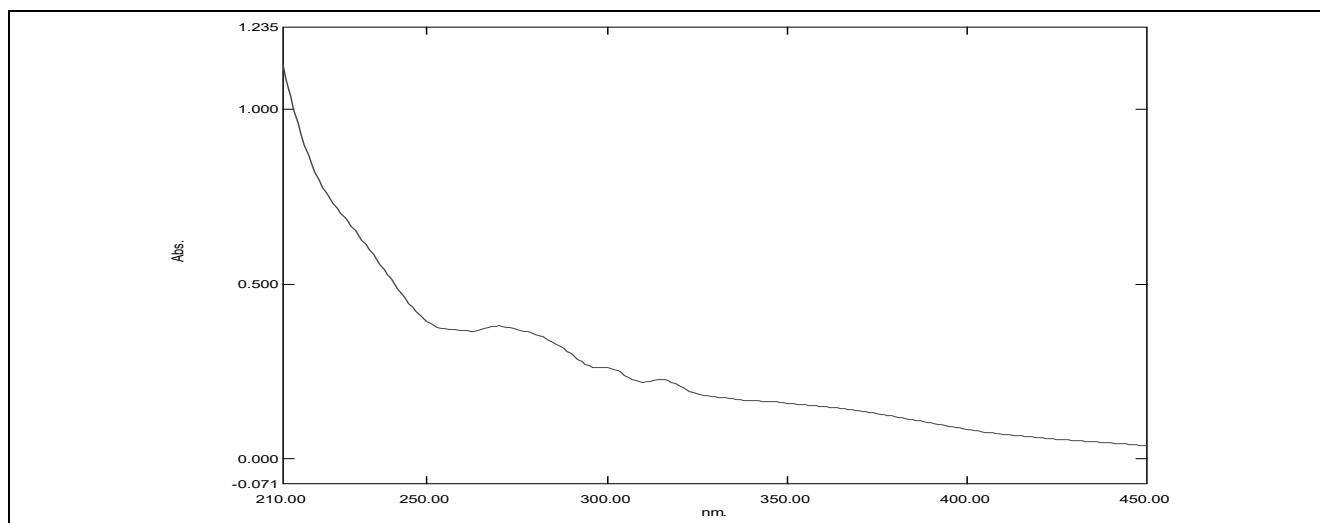


Рис. 20. УФ-спектр поглощения спиртового извлечения побегов леспедецы двухцветной

УФ-спектр. Регистрацию спектров поглощения испытуемого раствора измеряли на спектрофотометре в диапазоне длин волн от 210 до 400 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В УФ-спектре поглощения спиртового извлечения побегов леспедецы двухцветной наблюдались два минимума при 260–262 и 310 нм; максимумы при 270 и 315 нм.

В работе [8] обобщены и систематизированы результаты ранее проведенных автором исследований по более детальному изучению химического состава фенольных соединений и органических кислот методом капиллярного электрофореза надземной части *L. bicolor*, произрастающей в Краснодарском крае. В частности, обнаружены флавоноиды – с доминированием кверцетина 7,622 мг% и рутина 5,716 мг%; выявлено присутствие таких фенолкарбоновых кислот как хлорогеновой 40,77 мг%, кофейной 26,56 мг%, п-кумаровой 5,115 мг%, галловой 2,203 мг%, и 3,4-дигидроксibenзойной 4,626 мг%; установлено наличие нескольких соединений органических кислот (аскорбиновая 12,02 мг%, яблочная 17,46 мг%, уксусная 5,679 мг%, янтарная 20,45 мг% и лимонная кислоты 34,64 мг%) [8].

Экстрактивные вещества. Для установления выхода суммы экстрактивных веществ, извлекаемых различными по полярности органическими экстрагентами, в качестве экстрагентов использовали спирт этиловый 70%-ной и 40%-ной концентраций и вода очищенная. Установлено, что содержание суммы экстрактивных веществ в побегах леспедецы двухцветной, извлекаемых водой составляет 30,46±0,81%, извлекаемых 40%-ным спиртом этиловым – 32,33±0,22% и 70%-ным спиртом этиловым – 27,12±0,078%. Наибольший выход экстрактивных веществ наблюдается при использовании в качестве экстрагента спирта этилового 40%-ного.

Выводы

В рамках современных требований к качеству лекарственного растительного сырья, предусматривающих совершенствование методик определения его подлинности, изучены и описаны основные морфолого-анатомические признаки, представлены данные и условия регистрации УФ-спектра с указанием длин волн, при которых должны наблю-

даться максимумы и минимумы поглощения побегов леспедецы двухцветной, произрастающей в Краснодарском крае. Установлены значения содержания суммы экстрактивных веществ в побегах леспедецы двухцветной с различными экстрагентами. Проведенные исследования позволили установить ряд диагностических признаков подлинности и показателей качества данного растительного сырья, которые могут быть рассмотрены с точки зрения возможного их включения в нормативную документацию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас лекарственных растений России. ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений. Изд.2-е, перераб. и допол. Под общ. ред.: Н.И. Сидельникова. Москва: (ВИЛАР). 2021: 301–303.
2. *Lespedeza bicolor* Turcz. Плантариум. Растения и лишайники России и сопредельных стран: открытый онлайн атлас и определитель растений. [Электронный ресурс] URL: <https://www.plantarium.ru/page/view/item/22487.html> (дата обращения: 06.06.2022).
3. Чабан Н.Г. и др. Фитопрепараты для лечения и профилактики фосфатного нефролитиаза. Тонкие химические технологии. Fine Chemical Technologies. 2015; 10(3): 62–64.
4. Ullah S. Methanolic extract from *Lespedeza bicolor*: potential candidates for natural antioxidant anticancer agent. Journal of Traditional Chinese Medicine. 2017; 37(4): 444–451.
5. Иванов В.В., Саганов В.П. Некоторые аспекты противомикробной активности комплекса растительного лекарственного средства при хроническом пиелонефрите. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2015; 2: 137–139.
6. Сампиев А.М., Хочава М.Р., Онбыш Т.Е. Актуальность разработки лекарственных препаратов на основе растительного сырья для лечения пиелонефрита у детей. Вестник биомедицина и социология, 2020; 5(2): 93–99.
7. Глызин В.И. и др. Флавоноиды *Lespedeza bicolor*. ХПС. 1970; 4: 473–474.
8. Сампиев А.М., Хочава М.Р., Онбыш Т.Е., Парфенюк А.А. Исследование химического состава леспедецы двухцветной, произрастающей в Краснодарском крае. Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2020; 3: 119–126.
9. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14 изд.: М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации. Режим доступа: <https://femb.ru/>.
10. Потанина О.Г., Будажапова С., Самылина И.А. Анатомо-диагностические признаки травы леспедецы даурской. Фармация. 2009; 6: 29–32.

Поступила после доработки 9 июня 2022 г.