

Оценка подлинности каштана конского обыкновенного цветков методами микроскопического анализа

А.С. Чистякова, А.А. Сорокина, А.Д. Дунилин, А.А. Гудкова, А.С. Болгов
Воронежский государственный университет,
Российская Федерация, 394018, Воронеж, ул. Университетская, д. 1

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Чистякова Анна Сергеевна – доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежского государственного университета (ВГУ), кандидат фармацевтических наук. Тел.: +7 (951) 541-89-64. E-mail: anna081189@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-8291-9904

Сорокина Алла Анатольевна – доктор фармацевтических наук, профессор. Тел.: +7 (916) 487-88-96. E-mail: sorokinaalla@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5218-7546

Дунилин Александр Денисович – студент фармацевтического факультета ВГУ. Тел.: +7 (920) 210-04-05. E-mail: basketggwp@gmail.com. ORCID: 0000-0001-6792-6877

Гудкова Алевтина Алексеевна – доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ВГУ, доктор фармацевтических наук. Тел.: +7 (910) 732-61-64. E-mail: al.f84@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1275-5000

Болгов Алексей Сергеевич – студент фармацевтического факультета ВГУ. Тел.: +7 (920) 405-53-36. E-mail: abolgov753@gmail.com. ORCID: 0000-0001-5827-5953

РЕЗЮМЕ

Введение. Каштан конский обыкновенный (*Aesculus hippocastanum* L.) – давно известное в научной медицине растение. Семена каштана используются в качестве вентонизирующего средства в виде различных лекарственных форм. В народной медицине, помимо семян, допускаются к использованию почки, кора, листья и цветки каштана конского. Наименее изученным видом сырья каштана являются цветки. Изучение идентификационных характеристик каштана конского цветков с помощью классических методов микроскопического анализа является актуальным, так как это необходимо для разработки проектов нормативной документации, разделов «Внешние признаки» и «Микроскопия».

Цель работы являлось изучение морфолого-анатомических признаков каштана конского обыкновенного цветков.

Материал и методы. Цветки каштана конского обыкновенного заготавливали на территории Воронежской области во время начала цветения растения и высушивали воздушно-теневым способом. Исследование проводили согласно ГФ РФ XIV изд. ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Результаты. Проведено изучение морфологических признаков цветков каштана конского, заготовленных в Воронежской области, с помощью стереомикроскопии. Дана оценка характеру люминесценции тканей цветков каштана конского. На модели препарата листа с поверхности выявлены и визуализированы их основные анатомические признаки.

Заключение. В результате изучения морфолого-анатомического строения каштана конского цветков были выявлены и визуализированы основные диагностические признаки, позволяющие проводить определение подлинности данного вида растительного сырья, как в виде индивидуального лекарственного растительного препарата, так и в составе сложных многокомпонентных смесей.

Ключевые слова: каштан конский обыкновенный, *Aesculus hippocastanum* L., подлинность, микроскопический анализ.

Для цитирования: Чистякова А.С., Сорокина А.А., Дунилин А.Д., Гудкова А.А., Болгов А.С. Оценка подлинности каштана конского обыкновенного цветков методами микроскопического анализа. Фармация, 2021; 70 (7): 32–36. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-07-05>

ASSESSMENT OF THE IDENTITY OF HORSE CHESTNUT (*AESCULUS HIPPOCASTANUM* L.) FLOWERS BY MICROSCOPIC ANALYSIS METHODS

A.S. Chistyakova, A.A. Sorokina, A.D. Dunilin, A.A. Gudkova, A.S. Bolgov
Voronezh State University, 1, Universtitetskaya Sq., Voronezh 394018, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Chistyakova Anna Sergeevna – Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology of Voronezh State University (VSU), Ph.D. Tel.: +7 (951) 541-89-64. E-mail: anna081189@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-8291-9904

Sorokina Alla Anatolyevna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. Tel.: +7 (916) 487-88-96. E-mail: sorokinaalla@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5218-7546

Dunilin Alexander Denisovich – Student of the Faculty of Pharmacy of VSU. Tel.: +7 (920) 210-04-05. E-mail: basketggwp@gmail.com. ORCID: 0000-0001-6792-6877

Gudkova Alevtina Alekseevna – Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmaceutical Technology of VSU, Doctor of Pharmaceutical Sciences. Tel.: +7 (910) 732-61-64. E-mail: al.f84@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1275-5000

Bolgov Alexey Sergeevich – Student of the Faculty of Pharmacy of VSU. Tel.: +7 (920) 405-53-36. E-mail: abolgov753@gmail.com. ORCID: 0000-0001-5827-5953

SUMMARY

Introduction. Horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) is a plant that has long been known in scientific medicine. Chestnut seeds are used as a venotonizing agent in different formulations. In addition to the seeds, buds, bark, leaves, and flowers of horse chestnut can be used in folk medicine. The flowers of horse chestnut are the least studied type of its raw materials. To study the identification characteristics of horse chestnut flowers using classical microscopic analysis methods is relevant, for this is necessary for the development of draft regulatory documentation sections «External signs» and «Microscopy».

Objective: to investigate the morphological and anatomical features of horse chestnut flowers.

Material and methods. The horse chestnut flowers were harvested in the Voronezh Region during early flowering and underwent air-shade drying. The investigation was conducted according to GPA 1.5.3.0003.15 «Equipment for microscopic and microchemical studies of medicinal plant raw materials and medicinal herbal remedies» in the 14th edition of the Russian Federation's State Pharmacopoeia.

Results. The morphological features of horse chestnut flowers harvested in the Voronezh Region were studied using stereomicroscopy. The nature of the luminescence of the tissues of horse chestnut flowers was assessed. Their main anatomical features were identified and visualized on a model of the leaf surface.

Conclusion. Studying the morphological and anatomical structure of horse chestnut flowers has identified and visualized the main diagnostic signs that allow determination of the identity of this type of plant raw materials as both an individual medicine and a part of complex multicomponent mixtures.

Key words: horse chestnut, *Aesculus hippocastanum* L., identity, microscopic analysis.

For reference: Chistyakova A.S., Sorokina A.A., Dunilin A.D., Gudkova A.A., Bolgov A.S. Assessment of the identity of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) flowers by microscopic analysis methods. *Farmatsiya*, 2021; 70 (7): 32–36. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-07-05>

Введение

Одной из основных задач фармакогнозии является всестороннее изучение уже разрешенных к применению в медицине растений с целью поиска как новых видов растительного сырья, так и выявления дополнительных фармакологических свойств. Перспективным в этом плане является каштан конский обыкновенный (*Aesculus hippocastanum* L.), официальным видом сырья которого являются семена, используемые в качестве венотонизирующего средства в виде различных лекарственных форм [1–4].

Существует ряд работ, направленных на изучение других морфологических органов каштана конского – почек, листьев, цветков, коры [1, 5, 6]. Опубликованные данные, в основном, касаются химического состава и анализа некоторых видов фармакологической активности [1–3, 7, 8]. Для почек и листьев каштана конского обыкновенного подробно описаны морфолого-анатомические признаки, менее изучены в этом плане цветки каштана. В работе M. Chwil et al. [5] описаны результаты исследования цветков каштана конского, заготовленного в Польше, с помощью сканирующей ми-

кроскопии. Однако этот метод анализа ввиду трудоемкости выполнения и необходимости использования сложного и дорогостоящего оборудования недоступен для большинства исследователей и научных лабораторий.

Таким образом, актуальным является изучение идентификационных характеристик каштана конского обыкновенного цветков с помощью классических методов микроскопического анализа, что необходимо для разработки проекта нормативной документации (разделы «Внешние признаки» и «Микроскопия»).

Целью работы являлось изучение морфолого-анатомических признаков цветков каштана конского обыкновенного.

Материал и методы

Растительный материал (каштана конского обыкновенного цветки) заготавливали на территории Воронежской области во время начала цветения растения и высушивали воздушно-теньевым способом.

Исследование проводили согласно ГФ РФ XIV изд. ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекар-

ственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [9].

Стереомикроскопическое исследование проводили с помощью микроскопа «Биомед-2» (Россия). В эксперименте использовали окуляр $\times 40$. Анатомическое исследование проводили с помощью микроскопа «Биомед-6» (Россия), окуляры $\times 100$, $\times 400$. Сырье подвергали исследованию после предварительного кипячения в растворе натрия гидроксида 2,5% в течение 3 мин.

Люминесценцию тканей каштана конского цветков исследовали с использованием люминесцентного микроскопа марки Микромед-3 Люм (Россия), оснащенного корпусом люминесцентной насадки с 4 люминесцентными блоками «В»; «Г»; «Россия». Источником света служила высоковольтная ртутная лампа (100 Вт); спектральный диапазон возбуждения люминесценции: голубой светофильтр – 410–490 нм, наблюдение в диапазоне 515–700 нм (Лаборатория Фитониринга ФГБОУ ВО ВГУ). Визуализацию диагностических признаков осуществляли с помощью видеокамеры Livenhuk C310 NG (КНР) и программным обеспечением Top View ($\times 86$).

Результаты и обсуждение

При изучении морфологических особенностей цветков каштана конского обыкновенного невооруженным глазом и с помощью лупы были установлены следующие особенности: сырье представляет собой отдельные цветки и их части, отделенные от общей оси соцветия. Цветки имеют неправильное строение. Чашечка зеленоватого или зеленовато-коричневого цвета, состоит из 5 сросшихся у основания чашелистиков. Венчик

беловато-розового или буроватого цвета, имеет 5 лепестков, один из которых незначительных размеров или может отсутствовать (рис. 1). Размер цветков 0,5–2,0 см. Тычиночные нити длинные, выходят за пределы венчика. Запах слабый, специфический. Вкус водного извлечения – горьковатый.

В результате изучения цветков растения с помощью стереомикроскопа, выявлено, что поверхность лепестков венчика и чашечки опушена простыми многочисленными волосками различного размера, которые также встречаются на пестике и тычинках (рис. 2). Цвет лепестков венчика беловато-желтый с коричневыми или оранжево – бурными прожилками.

В результате анатомического исследования цветков каштана конского обыкновенного были определены диагностически значимые признаки, позволяющие с высокой степенью достоверности проводить их идентификацию. Клетки эпидермиса лепестка венчика крупные, многоугольные или округлые, клеточные стенки имеют четко заметные утолщения. По краю лепестка отчетливо видны многочисленные простые волоски различного размера, состоящие из одной или нескольких клеток, поверхности которых имеют грубобородавчатую структуру. Некоторые волоски открашены в розовый цвет. На поверхности лепестка венчика трихомы встречаются реже (рис. 3 а, 3 б). Хорошо видны места прикрепления волосков в виде овальных образований.

Проводящая система лепестка венчика и чашечки представлена сосудами с разным типом утолщения – спиральным и ленточным (рис. 3 в).

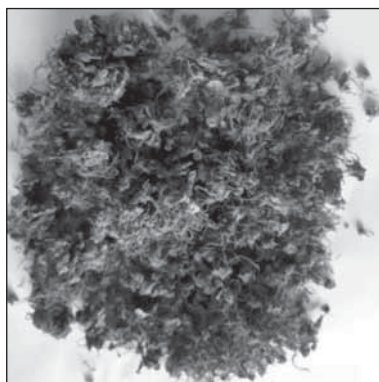
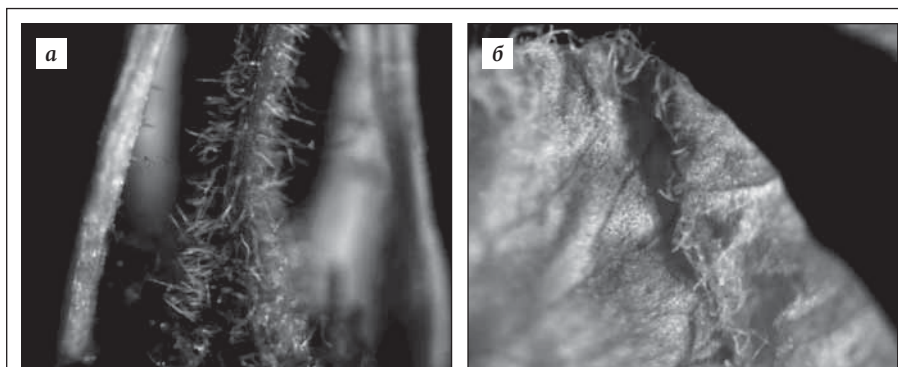


Рис. 1. Внешний вид высушенных цветков каштана конского обыкновенного
Fig. 1. The appearance of dried horse chestnut flowers



Опушение пестика

Опушение по краю лепестка венчика

Рис. 2. Внешний вид цветка каштана конского обыкновенного при стереомикроскопическом исследовании ($\times 40$)
Fig. 2. The appearance of a horse chestnut flower during stereomicroscopic examination (magnification, $\times 40$)

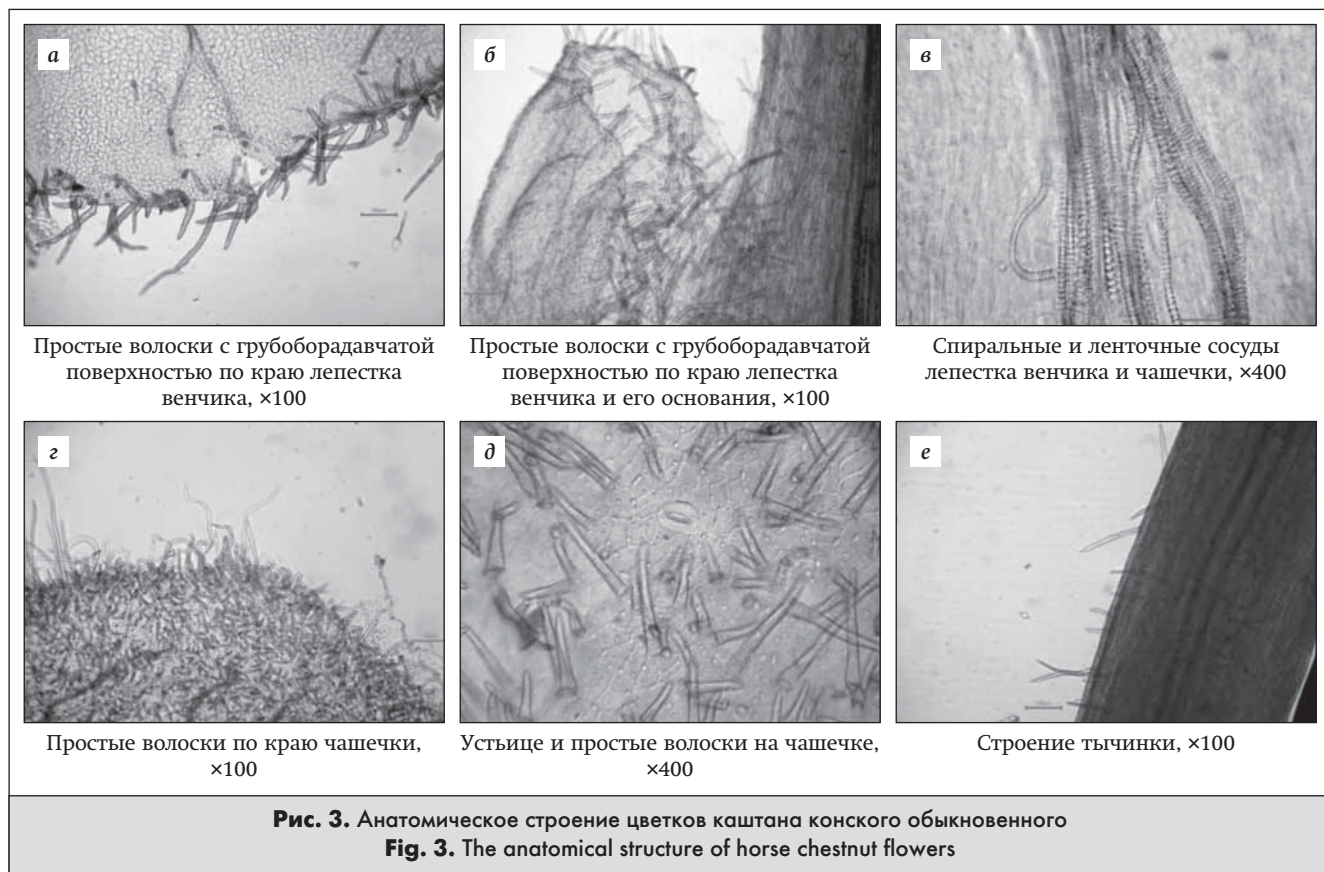
При рассмотрении лепестков чашечки, было установлено, что на ее поверхности присутствует большое количество простых одноклеточных извилистых волосков, которые зачастую перекручиваются и обламываются. Более длинные волоски расположены по краю лепестка (рис. 3 з). На поверхности лепестка чашечки также визуализированы многочисленные простые одноклеточные вытянутые и многоклеточные волоски, поверхность которых имеет грубоборозчатую структуру (рис. 3 д). На поверхности лепестка чашечки видны крупные устья, околустьичная щель полностью окружена несколькими околустьичными клетками, радиальные клетки одинаковой длины и оболочки соседних клеток на всем протяжении соединены друг с другом (циклоцитный или кольце-клетный тип). Проводящая система чашечки представлена сосудами с преимущественно спирального типа. Поверхность тычиночных нитей покрыта вытянутыми клетками эпидермиса и многочисленными одноклеточными трихомами (рис. 3 е).

На следующем этапе проводилась оценка характера люминесценции тканей цветка каштана конского обыкновенного. Эпидермис

имеет специфическое яркое свечение оранжево-желтого цвета к периферии, по краю лепестка ткани имеют красноватое свечение, у основания лепестка наблюдается зона, имеющая красно-фиолетовое свечение, предположительно, обеспечиваемое антоциановыми соединениями, локализованными в этой зоне. Трихомы по краю венчика и по жилкам длинные и имеют желтовато-зеленое свечение, трихомы в центральной части лепестка венчика мелкие, имеют слабое желтоватое свечение. Проводящие пучки, располагающиеся по жилкам, имеют ярко-желтое свечение, что особенно отчетливо наблюдается снизу лепестка. Пыльцевые зерна люминесцируют свечением лимонного цвета. Лепестки чашечки имеют очень яркое свечение желтого цвета, жилки люминесцируют зеленоватым светом, трихомы отчетливо заметны и также имеют желтую люминесценцию. Тычиночные нити имеют аналогичный характер свечения.

Заключение

Таким образом, в результате морфолого-анатомического изучения цветков каштана конского обыкновенного были выявлены и визуализированы основные диагностические признаки, по-



звоняющие проводить определение подлинности данного растительного сырья как в виде индивидуального лекарственного растительного препарата, так и в составе сложных многокомпонентных смесей.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература

1. Соколов Н.С., Белов П.В., Куркин В.А., Рыжов В.М., Тарасенко Л.В. Морфолого – анатомическое исследование семян каштана конского (*Aesculus hippocastanum* L.) методом люминесцентной микроскопии. Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы. Сборник материалов (под ред. В.А. Куркина). Самара: СамГМУ, 2017; 138–48.
2. Савченко Л.Н., Маринина Т.Ф., Карпенко В.А., Саушкина А.С. Разработка технологии и анализа экстракта жидкого из листьев и цветков каштана конского обыкновенного в качестве противовоспалительного и вентонирующего средства. Известия Самарского научного центра РАН. 2015; 2 (5). Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/razrabotka-tehnologii-i-analiza-ekstrakta-zhidkogo-iz-listiev-i-tsvetkov-kashtana-konskogo-obyknovennogo-v-kachestve> (дата обращения: 29.09.2021).
3. Ефименко Н.В., Кайсинова А.С. Применение каштановых ванн в комплексном восстановительном лечении пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей: Методические рекомендации. Пятигорск, 2016; 16.
4. Кузнецова Т.М., Захаренко Г.С., Захаренко А.Н. Морфологические особенности соцветий конского каштана обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) в культуре на Южном берегу Крыма. Бюллетень ГНБС. 2008; 96. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologicheskie-osobennosti-sotsvetiy-konskogo-kashtana-obyknovennogo-aesculus-hippocastanum-l-v-kulture-na-yuzhnom-beregu-kryma> (дата обращения: 01.10.2021).
5. Chwil M., Weryszko-Chmielewska, Sulborska A., Michońska M. Micromorphology of trichomes in the flowers of the horse chestnut *Aesculus hippocastanum* L. Acta Agrobotanica. 2014; 66 (4): 45–54. DOI:10.5586/aa.2013.050
6. Жарова О.Г., Сокольская Т.А., Вандышев В.В. Морфолого-анатомическое изучение семян конского каштана обыкновенного. Фармация. 2009; 1: 18–21.
7. Постойук Н.А., Маркарян А.А., Джавахян М.А., Сокольская Т.А., Даргаева Т.Д. Анатомо-диагностические признаки листьев каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.). Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2012; 2: 19–22.
8. Чахирова А.А., Чахирова В.А. Разработка технологии и анализ суппозиторий противовоспалительного действия. Фармация и фармакология. 2015; 11 (4): 22–4.

9. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Москва, 2018. [Электронное издание]. Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (дата обращения: 14.09.2021).

References

1. Sokolov N.S., Belov H.V., Kurkin V.A., Ryzhov V.M., Tarasenko L.V. Morphological – anatomical study of horse chestnut seeds (*Aesculus hippocastanum* L.) by fluorescent microscopy. Farmatsevticheskaya botanika: sovremennost' I perspektivy. Sbornik materialov (by ed Kurkin V.A.). Samara: SamSMU, 2017; 138–48 (in Russian)
2. Savchenko L.N., Marinina T.F., Karpenko V.A., Saushkina A.S. Development of technology and analysis of a liquid extract from the leaves and flowers of horse chestnut as an anti-inflammatory and venotonic agent. Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2015; 2 (5). Access mode: <https://cyberleninka.ru/article/n/razrabotka-tehnologii-i-analiza-ekstrakta-zhidkogo-iz-listiev-i-tsvetkov-kashtana-konskogo-obyknovennogo-v-kachestve> (circulation date 29.09.2021) (in Russian)
3. Efimenko N.V., Kaisinova A.S. The use of chestnut baths in the complex rehabilitation treatment of patients with varicose veins of the lower extremities. Methodical recommendations. Pyatigorsk, 2016; 16 (in Russian)
4. Kuznetsova T.M., Zakharenko G.S., Zakharenko A.N. Morphological features of inflorescences of horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) in culture on the southern coast of Crimea. GNBS Bulletin. 2008; 96. Access mode: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologicheskie-osobennosti-sotsvetiy-konskogo-kashtana-obyknovennogo-aesculus-hippocastanum-l-v-kulture-na-yuzhnom-beregu-kryma> (circulation date: 01.10.2021) (in Russian)
5. Chwil M., Weryszko-Chmielewska, Sulborska A., Michońska M. Micromorphology of trichomes in the flowers of the horse chestnut *Aesculus hippocastanum* L. Acta Agrobotanica. 2014; 66 (4): 45–54. DOI:10.5586/aa.2013.050
6. Zharova O.G., Sokol'skaya T.A., Vandysh V.V. Morphological and anatomical study of horse chestnut seeds. Farmatsiya. 2009; 1: 18–21 (in Russian)
7. Postoyuk N.A., Markaryan A.A., Javakhyan M.A., Sokolskaya T.A., Dargaeva T.D. Anatomical and diagnostic signs of horse chestnut leaves (*Aesculus hippocastanum* L.). Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii. 2012; 2: 19–22 (in Russian)
8. Chakhirova A.A., Chakhirova V.A. Development of technology and analysis of anti-inflammatory suppositories. Farmatsiya i Farmakologiya. 2015; 11 (4): 22–4 (in Russian)
9. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV-ed. Moscow, 2018. [Electronic resource]. Access mode: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php> (in Russian)

Поступила 2 октября 2021г.

Received 2 October 2021

Принята к публикации 19 октября 2021 г.

Accepted 19 October 2021