

НЕКОТОРЫЕ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И СОСТАВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ МАСЛА СЕМЯН ЧЕТЫРЕХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ РОДА МАРЬЯННИК (*MELAMPYRUM* L.)

Скрябина Е. Н., Галишевская Е. Е., Агафонцева А. В.

ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия», Пермь, Россия (614000, Пермь, ул. Полевая, 2), e-mail: Yanegka25@gmail.com

Проведено исследование некоторых особенностей морфолого-анатомического строения и жирнокислотного состава масла семян четырех видов растений рода Марьянник (*Melampyrum*): *m. sylvaticum*, *m. pratense*, *m. nemorosum*, *m. cristatum*. Макроскопический и микроскопический анализ проводили согласно рекомендациям общей фармакопейной статьи, анализ жирного масла – методом газо-жидкостной хроматографии. Установлено, что морфологическое строение семян является видоспецифичным. При исследовании анатомического строения изучали особенности строения семенной кожуры, зародыша и питательной ткани. Анатомическое строение семян не имеет значительных отличий и характерно для всего рода. В качественном составе жирного масла идентифицировано 9 жирных кислот, доминирующими являются непредельные кислоты. Среди непредельных кислот преобладают кислоты с 18 углеродными атомами – олеиновая, линолевая, линоленовая; среди предельных – пальмитиновая. Максимальное содержание жирного масла установлено в семенах *M. pratense*.

Ключевые слова: Марьянник (*Melampyrum*), морфолого-анатомическое строение, семена, жирное масло.

SOME MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL FEATURES AND OIL SEEDS FATTY ACID COMPOSITION OF PLANTS COW WHEAT GENUS (*MELAMPYRUM* L.) FOUR SPECIES

Skryabina E. N., Galishevskaya E. E., Agafontceva A. V.

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia (614000, Perm, street Polevaya, 2), e-mail: Yanegka25@gmail.com

The research of some morphological and anatomical structure features of seeds and seed oil fatty acid composition of Cow wheat genus (*Melampyrum*) four species: *m. sylvaticum*, *m. pratense*, *m. nemorosum*, *m. cristatum* was carried out. Macroscopic and microscopic analysis was performed according to common pharmaceutical article recommendation; the analysis of fatty oil was done by using of gas-liquid chromatography method. It was found seed morphological structure was species-specific. While studying anatomy it was investigated seed coat, corcule and endosperm structural features. Seed anatomical structure has not significant differences and typical for the whole genus. In the fatty oil qualitative composition there were identified 9 fatty acids which predominately were unsaturated. Acides with 18 carbon atoms: oleic, linoleic, linolenic prevailed among the unsaturated, palmitic acid is the most within saturated. The maximum content of fatty oil was found in the seeds of *M. pratense*.

Key words: Cow-wheat (*Melampyrum*), morphological and anatomical structure, seeds, fatty oil.

Введение

Род Марьянник (*Melampyrum* L.) относится к семейству Норичниковые (*Scrophulariaceae* Juss.), включает около 35 видов, распространенных в умеренных зонах северного полушария. *M. pratense* L. и *M. cristatum* L. являются европейско-малоазиатскими видами, *M. sylvaticum* L. – северо- и средневропейско-малоазиатским видом, *M. nemorosum* L. – европейско-западносредиземноморским видом. *M. pratense* L. и *M. sylvaticum* L. чаще всего произрастают в хвойных и смешанных лесах (бореальные виды), а *M. cristatum* L. и *M. nemorosum* L. – в лиственных лесах и на болотистых лугах (неморальные виды).

Марьянники – это однолетние полупаразитные растения с коротким вегетационным периодом. Весь жизненный цикл от прорастания семян в начале мая до отмирания побегов завершается в три-четыре месяца [7, 11].

В траве марьянников в значительных количествах содержатся различные биологически активные вещества: флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, иридоиды, сапонины. Благодаря комплексному действию этих веществ растения рода марьянник широко используются в народной медицине при лечении заболеваний нервной и сердечно-сосудистой систем [3]. Именно поэтому марьянники являются перспективными объектами для дальнейших исследований, а также для введения в научную медицину.

Запасные питательные вещества, которые локализируются в генеративных органах растения, также вносят свой вклад в биологическую активность марьянников. Жирные кислоты участвуют в биосинтезе свободных аминокислот и, кроме того, определяют особенности биологии, типы покоя, влияют на энергию прорастания семян [6, 9].

Название *Melampyrum* образовано от двух греческих слов: «*melas*» – черный и «*pyros*» – пшеница, так как семена марьянников похожи на зерна пшеницы, за исключением того, что они чаще всего черного цвета [12]. Семена марьянников гладкие, эллипсоидной формы с поедаемым муравьями крупным присемянником (ариллусом) из богатых маслами паренхимных клеток. Семена по внешнему облику похожи на муравьиных куколок, что также привлекает муравьев и обеспечивает мирмекохорный способ распространения растений [4].

Цель работы

Целью нашей работы является сравнительное изучение некоторых морфолого-анатомических особенностей семян, а также жирнокислотного состава масла семян растений четырех видов *Melampyrum*: марьянника лугового (*M. pratense*), лесного (*M. sylvaticum*), гребенчатого (*M. cristatum*) и дубравного (*M. nemorosum*).

Материалы и методы

Объектом исследования служили семена четырех видов растений рода Марьянник, собранные в фазу плодоношения, имеющие одинаковую окраску, без видимых нарушений (табл. 1).

Таблица 1

Дата и место сбора семян

| Вид | Дата сбора | Место сбора |
|---------------------|-------------|--|
| <i>M.pratense</i> | июль 2009 | Пермский край, окрестности г. Пермь |
| <i>M.sylvaticum</i> | июль 2009 | Костромская обл., Вохомский р-н, окрестности п. Маяк |
| <i>M.cristatum</i> | август 2009 | Респ. Чувашия, Ирбесинский р-н, окрестности п. Киря |

| | | |
|--------------------|-------------|---|
| | | |
| <i>M.nemorosum</i> | август 2009 | Респ. Чувашия, окрестности г. Чебоксары |

Макроскопический анализ семян проводили согласно рекомендациям общей фармакопейной статьи [2, 10].

Для изучения анатомических особенностей строения семян марьянника использовалась стандартная методика приготовления срезов семян в парафиновом блоке. Предварительно семена размягчали, помещая в воду на 1 сутки, а затем в смесь глицерин-вода-этанол (1:1:1) на 3 суток [10].

Для получения масла точную навеску семян растирали в ступке, высушивали до постоянной массы при температуре 100 – 105 °С и помещали в патроны из фильтровальной бумаги. Жирное масло экстрагировали из семян в аппарате типа «Соксклет» гексаном в течение 48 часов. Растворитель отгоняли в вакууме при температуре 45 – 50 °С, остаток выдерживали в вакуум-сушильном шкафу при 30 °С в течение 30 мин для удаления остаточных паров гексана [9].

Масло подвергали горячему метанолизу в среде абсолютного метанола [1]. Полученные метиловые эфиры жирных кислот анализировали на газовом хроматографе (ГХ) Hewlett-Packard 5890/II (США) с квадрупольным масс-спектрометром (MS) (HP MSD 5971) с ионизацией электронным ударом (70 эВ). Использовали кварцевую колонку HP-5 (5 % фенильных групп) длиной 30 м и внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25 мкм, газ-носитель гелий с постоянным потоком 1 мл/мин. Температура испарителя 250 °С, источника ионов 170 °С, интерфейса между ГХ и MS детектора 280 °С. Температуру колонки программировали в следующем режиме: 2 мин при 100 °С, 10 °С/мин до 200 °С, 2 мин при 200 °С, 20 °С/мин до 300 °С, 2 мин при 300 °С. В инжектор вводили 1 мкл раствора, скорость сканирования 1,2 скан/с для области 45–450 а. е. м.

Жирные кислоты идентифицировали путем сравнения времен удерживания и полных масс-спектров с соответствующими данными для их метиловых эфиров из базы данных 275 (275 тыс. масс-спектров). Использовали эталонные образцы пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой и линоленовой кислот. Содержание индивидуальных кислот вычисляли по площадям пиков, без использования градуировочных коэффициентов, с программированным автоматическим интегрированием.

Результаты и обсуждение

Семена всех видов марьянника схожи по морфологическим признакам. Форма семян эллипсовидная (личинковидная) с мясистым пирамидальным светло-коричневым или светло-желтым присемянником на конце. Поверхность семян гладкая.

При исследовании анатомического строения семян изучали следующие признаки: особенности строения семенной кожуры, форма и строение зародыша, величина и форма питательной ткани (эндосперма).

Семенная кожура образована толстостенными квадратными или прямоугольными клетками. Питательная ткань у всех марьянников представлена эндоспермом мучнистой консистенции, состоящим из продолговатых многоугольных клеток с пористыми стенками. Клетки ариллуса паренхимные, продолговато-округлые, плотно расположенные с прозрачным содержимым. Всем исследуемым видам присуще характерное строение зародыша: маленький (занимает в семени меньше половины пространства), прямой, апикальный (расположен у верхушки семени).

Исследуемые морфологические параметры представлены в таблице 2. Все измерения были обработаны статистически. По данным таблицы видно, что самыми крупными являются семена *M. sylvaticum*, самыми мелкими – семена *M. cristatum*. Для семян *M. nemorosum* и *M. sylvaticum* характерен большой ариллус, а максимальное соотношение ариллуса к семени наблюдается у *M. nemorosum* и *M. cristatum*.

Таким образом, видно, что морфологическое строение семян является видоспецифичным. Анатомическое строение семян разных видов марьянников не имеет значительных отличий и характерно для представителей всего рода.

Масло всех четырех видов имеет жидкую консистенцию и желтый цвет. Количественное содержание масла в пересчете на абсолютно сухое сырье представлены в таблице 2.

Таблица 2

Морфологическое строение и содержание жирного масла в семенах *Melampyrum*

| Вид | Масса 100 семян, г | Цвет | Длина, мм | Ширина мм | Ариллус мм | Отношение длины ариллуса к длине семени | Содержание масла, % |
|----------------------|--------------------|------------------|-------------|-------------|------------|---|---------------------|
| <i>M. pratense</i> | 0,51 | Темно-бежевый | 4,14 ± 0,09 | 1,35 ± 0,05 | 0,97± 0,02 | 0,25 ± 0,01 | 26,6 |
| <i>M. sylvaticum</i> | 0,65 | Коричневый | 5,09 ± 0,10 | 2,15 ± 0,04 | 1,11± 0,06 | 0,23 ± 0,01 | 13,3 |
| <i>M. cristatum</i> | 0,23 | Темно-коричневый | 3,58 ± 0,08 | 1,07 ± 0,02 | 1,04± 0,02 | 0,31 ± 0,01 | 16,6 |

| | | | | | | | |
|---------------------|------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|------|
| <i>M. nemorosum</i> | 0,53 | Коричневый | 4,61 ± 0,10 | 1,92 ± 0,03 | 1,45± 0,06 | 0,32 ± 0,01 | 11,1 |
|---------------------|------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|------|

Несмотря на небольшие размеры семян и ариллуса, содержание жирного масла в *M. pratense* значительно выше, чем в других исследуемых видах (табл. 2). В *M. sylvaticum*, *M. cristatum*, *M. nemorosum* количественное содержание масла сопоставимо.

В результате проведенных исследований в масле изученных видов *Melampyrum* идентифицировано 9 жирных кислот (табл. 3).

Суммарное содержание предельных жирных кислот варьирует от 15,10 % (*M. pratense*) до 30,96 % (*M. sylvaticum*). Среди них преобладающей является пальмитиновая кислота, наибольшее содержание которой наблюдается в *M. sylvaticum* (26,93 %), а наименьшее – в *M. pratense* (13,00 %). В следовых количествах обнаружены миристиновая и эйкозановая кислоты.

Таблица 3

Жирнокислотный состав семян растений рода *Melampyrum* L.

| Кислота | Индекс | Содержание, % | | | |
|---------------------------|--------|--------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| | | <i>M. pratense</i> | <i>M. sylvaticum</i> | <i>M. cristatum</i> | <i>M. nemorosum</i> |
| Миристиновая | 14:0 | 0,70 | – | – | – |
| Пальмитиновая | 16:0 | 13,00 | 26,93 | 19,19 | 18,68 |
| Пальмитолеиновая | 16:1 | 2,80 | 7,84 | 4,04 | 13,99 |
| 9,12-октадекадиеновая | 16:2 | – | 0,20 | 0,11 | 0,27 |
| Стеариновая | 18:0 | 0,83 | 4,03 | 3,11 | 2,11 |
| Олеиновая | 18:1 | 23,40 | 43,47 | 19,46 | 27,07 |
| Линолевая | 18:2 | 28,20 | 5,45 | 41,70 | 11,94 |
| Линоленовая | 18:3 | 30,50 | 11,67 | 12,39 | 25,94 |
| Эйкозановая | 20:0 | 0,57 | – | – | – |
| Сумма предельных кислот | | 15,10 | 30,96 | 22,30 | 20,79 |
| Сумма непредельных кислот | | 84,90 | 69,04 | 77,70 | 72,91 |

Большую часть масла составляют непредельные кислоты, суммарное содержание которых варьирует от 69,04 % (*M. sylvaticum*) до 84,9 % (*M. pratense*). Из них преобладают кислоты с 18 углеродными атомами (C18) – олеиновая, линолевая и линоленовая.

С помощью достоверных образцов установлено, что времена удерживания олеиновой и линолевой кислот совпадают, и на хроматограммах они проявляются общим пиком. Для идентификации и количественного определения этих кислот использовали селективное детектирование [5] по молекулярным ионам m/z 292 (метилвый эфир линоленовой кислоты) и 296 (метилвый эфир олеиновой кислоты). По площадям пиков и молекулярных ионов находили массовое соотношение указанных кислот, которое использовали для расчета их содержания по суммарной концентрации.

Максимальное содержание олеиновой кислоты (43,47 %) отмечено в семенах *M. sylvaticum*, линолевой (41,70 %) – в семенах *M. cristatum*. В жирном масле семян *M. pratense* и *M. nemorosum* наблюдается более равномерное соотношение непредельных жирных кислот в отличие от двух других видов.

В результате проведенных исследований установлено, что непредельные жирные кислоты являются доминирующими в составе жирного масла семян марьянников. Согласно литературным данным, в семенах, где преобладают запасные питательные вещества углеводного типа и жирные масла непредельного характера, нет периода покоя или он неглубокий [9]. Это характерно для растений рода *Melampyrum* и подтверждается нашими, а также ранее проведенными исследованиями [8].

Список литературы

1. ГОСТ 30418 – 96. Масла растительные. Метод определения жирнокислотного состава.
2. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. 11-е изд., доп. М.: Медицина, 1989. 399 с.
3. Дикорастущие полезные растения России / под ред. А. Л. Буданцева, Е. Е. Лесиовской. СПб.: Издательство СПХФА, 2001. С. 526.
4. Жизнь растений / под ред. А. Л. Тахтаджяна. М.: Просвещение, 1981. Т. 5, ч 2. С. 425-426.
5. Карасек Ф., Клемент Р. Введение в хромато-масс-спектрометрию: Пер. с англ. М.: Мир, 1993. 237 с., ил.
6. Куркин В. А. Фармакогнозия [Текст]: учебник для студентов фарм. вузов (фак.) / Самарский гос. мед. ун-т; [ред. Т. И. Заболоцкая]. 2-е изд., перераб. и доп. Самара: Офорт, 2007. 1239 с., ил.
7. Кучеров В. Е. Марьянник – новое лекарственное растение // Вопросы рационального использования растительных ресурсов южного Урала. Уфа, 1963. С.24-27.
8. Николаева М. Г., Гладкова В. Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л., 1985.
9. Петриченко В. М. Состав высших жирных кислот масла семян некоторых видов сем. Scrophulariaceae // Растит. ресурсы. 2006. Т.42, вып. 4. С. 49-55
10. Самылина И. А., Аносова О. Г. Фармакогнозия. Атлас: учебное пособие: в 2 т. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. Т.1. 192 с.
11. Флора СССР / ред. тома Шишкин Б. К., Бобров Е. Г. М.; Л.: Академия наук СССР, 1955. Т. XXII. 540 с.

12. Munteanu M. Investigation of the use of Melampyrum Sp. Extract samples to assess metals contamination / C. A. Dehelean, D. Ionescu et al. // Journal of agroalimentary Processes and technologies. Romania, 2010. 16(3).

Рецензенты:

Белоногова Валентина Дмитриевна, доктор фармацевтических наук, профессор, зав. кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники, ГБОУ ВПО ПГФА Минздравсоцразвития, г. Пермь.

Хомов Юрий Александрович, доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО ГБОУ ВПО ПГФА Минздравсоцразвития, г. Пермь.