

ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРА ЛОКАЛИЗАЦИИ ПОЛИСАХАРИДОВ (СЛИЗИ) В СВЕЖЕСОБРАННЫХ ЛИСТЬЯХ ПОДРОЖНИКА БОЛЬШОГО И РАЗРАБОТКА АТРАВМАТИЧНОГО РАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ С СОКОМ ПОДРОЖНИКА

Попова О.И., Кузнецова Л.С.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск, Россия (357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр.Калинина, 11), e-mail: lyusk@list.ru

В работе представлены результаты изучения характера локализации полисахаридов (слизи) в свежесобранных листьях подорожника большого и разработки атравматичного раневого покрытия с соком подорожника. При микроскопическом исследовании установлено, что слизеобразующие клетки в листьях подорожника большого находятся в верхней и нижней эпидерме базальных клетках волосков, располагаются поодиночке или небольшими группами, слизь имеет сетчатую структуру. Слизь занимает большую часть клеток и сосредоточена, как правило, у внутренней, а протопласт – у наружной тангентальной стенки клетки. В слизевых клетках подорожника большого обнаружена дополнительная клеточная стенка, разграничивающая два слоя слизи. На данном этапе исследований предложен состав и технология атравматичного раневого покрытия на основе коллагена, пластификаторанатальгина и сока подорожника.

Ключевые слова: подорожник большой, локализация слизи, микроскопия, сок подорожника, пленки, атравматичное раневое покрытие.

THE STUDY OF THE LOCALIZATION OF POLYSACCHARIDES (MUCUS) IN THE FRESH LEAVES OF PLANTAGO MAJOR AND DEVELOPMENT NONTRAUMATIC OF WOUND COVERINGS WITH THE JUICE OF A PLANTAIN

Popova O.I., Kuznetsova L.S.

Pyatigorsk medico-pharmaceutical Institute – the branch of the GBOU VPO VolgGMU of the Ministry of health of Russia, Pyatigorsk, Russia (357532, Stavropol territory, Pyatigorsk, Kalininast., 11), e-mail: lyusk@list.ru

The results of the study of the nature of the localization of polysaccharides (mucus) in the freshly picked leaves of Plantago major and development of atraumatic wound dressing with the juice of plantain. Microscopic examination revealed that cells slizeproducing Plantago major leaves at the top and bottom of the basal cells of the epidermis hairs are arranged individually or in small groups, mucus has a mesh structure. Slime takes most of the cells and concentrated, usually in the inner and protoplast - at the outer tangential cell wall. In the mucus cells of Plantago major shows additional cell wall delineating the two layers of mucus. At this stage of the research proposed composition and technology atraumatic wound dressing collagen-based plasticizer natalgina juice and Plantago major.

Key words: Plantago major, localization of mucus, microscopy, the film woundcovering.

В настоящее время продолжает расти интерес к лекарственным растениям и препаратам на их основе, которые обладают достаточно выраженным воздействием на биологические процессы организма при минимальных побочных токсических эффектах.

Значительный интерес к лекарственным растениям связан с наличием в них комплекса биологически активных веществ (БАВ): полисахаридов, эфирного масла, фенольных и полифенольных соединений, сапонинов и других. Препараты, получаемые из лекарственных растений, как правило, малотоксичны и высокоэффективны. Поэтому фармацевтический рынок в значительной степени насыщен фитопрепаратами, предназначенными для введения в организм различными путями. В настоящее время востребованы наружные лекарственные средства, содержащие в качестве действующих

веществ извлечения из растительного сырья. Однако ассортимент их недостаточно широк и насчитывает 10–15 распространенных наименований. Практический опыт показывает, что такие препараты оказываются более эффективными, им свойственно пролонгированное и разностороннее фармакологическое действие[5].

В Северо-Кавказском Федеральном округе (СКФО) подорожник большой имеет широкий ареал произрастания, поэтому для получения фитопрепаратов имеется достаточная сырьевая база [10]. Основные БАВ листьев подорожника большого – полисахариды(слизь), иридоиды, фенольные соединения могут обеспечить ранозаживляющее и противовоспалительное действие.

Сок растений является естественным метаболитом живого растительного организма, что может обосновать сбалансированность экзо- и эндозоологического статуса при технологическом производстве [6,7,9].

Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение характера локализации полисахаридов (слизи) в свежесобранных листьях подорожника большого и разработка атравматичного раневого покрытия с соком подорожника.

Род *Plantago* L. Является одним из крупных в сем. *Plantaginaceae* и насчитывает более 200 видов, распространенных в умеренных и субтропических областях обоих полушарий.

В состав слизи большинства цветковых растений, и в частности видов рода *Plantago*, входят водорастворимые полисахариды рамногалактуронан и кислые арабиногалактаны.

Синтез и накопление полисахаридов начинается у большинства растений на конечных этапах формирования листовой пластинки, когда лист достигает 70–80% своего окончательного размера. Синтез слизи является самостоятельным процессом и происходит, как известно, при участии аппарата Гольджи, так же как у высокоспециализированных слизеобразующих клеток [5,10].

Известно, что слизевые клетки, откладывающие слизь в полость клетки, называют слизеобразующими, и различают среди них 2 модификации:

- клетки 1-го типа, имеющие клеточную стенку по всему периметру;
- клетки 2-го типа имеют клеточную стенку только вокруг протопласта, слизь выделяется в межклетники мезофилла (это слизеобразующие клетки)[8,10].

Цель исследования – изучение строения слизеобразующих клеток в листьях дикорастущего подорожника большого флоры Кавказа. Образцы лекарственного растительного сырья (ЛРС) собирали в различных местообитаниях (см. таблицу 1). Исследования проводили с помощью микроскопов марок МБС – 9 (СССР) бикулярный, люминисцентный Микромед Злюм (СПб) и световой микроскоп Биомед 2, микропрепараты фотографировали с помощью фотоаппарата Panasonic DMC-FS30.

Материалом для исследования служили свежие «живые» растения, а также гербарные образцы, хранящиеся в Гербарии кафедры фармакогнозии. Исследование гербарного материала наравне с «живым» представляется возможным, поскольку показано, что строение клеток и структура слизи в процессе гербаризации остаются неизменными.

При изучении листьев подорожника большого установили, что слизепроводящие клетки относятся, по классификации О. В. Яковлевой, к слизепроводящим клеткам II типа, у которых слизь накапливается в периплазматическом пространстве и занимает большую часть объема клетки. В клетках эпидермы слизь, как правило, сосредоточена у внутренней тангентальной клетки (рис.1) [3,4,10].

Слизепроизводящие клетки в листьях подорожника большого находятся, как правило, как в верхней, так и в нижней эпидерме, и располагаются поодиночке или небольшими группами. Слизь занимает большую часть клеток и сосредоточена, как правило, у внутренней, а протопласт – у наружной тангентальной стенки клетки (рис.2). Следует отметить, что в слизевых клетках подорожника большого обнаружена дополнительная клеточная стенка, разграничивающая 2 слоя слизи. Такие клетки встречаются у растений, преимущественно в верхней эпидерме листьев, выросших на солнечных открытых местах. У листьев, собранных от растений в затемненных местах, особенно вблизи водоемов, слизь находится не только около внутренней, но еще и у наружной стенки в виде тонкой полости (рис.2). Такое явление достаточно редкое и было обнаружено еще у представителей рода *Viola*. У клеток, расположенных близ мелких проводящих пучков, внутренние клеточные стенки разорваны, но слизепроизводящих клеток много как в верхней, так и в нижней эпидерме. Слизь в этих случаях наблюдается как в клетках эпидермы, так и в межклетниках мезофилла, рядом с проводящим пучком. В некоторых случаях базальные части волосков также содержат слизь, а апикальные, с цитоплазмой и вакуолью, вытянуты в радиальном направлении относительно листа. В эпидерме листьев слизь достаточно однотипна и окрашивается толудиновым синим в розовый цвет, метиленовым синим в интенсивно голубой. Иногда можно видеть под микроскопом (МБС – 9 (СССР) бикулярный) чередование плотных и рыхлых слоев (слоистость слизи). Согласно классификации, разработанной О. В. Яковлевой, слизь листьев подорожника большого чаще имеет сетчатую структуру (рис.1,2). По данным А.А. Светловой, эта слоистость связана с наличием двух видов растворимых полисахаридов: рамногалактуронана и арабиногалактана. Ранее считалось, что слоистость обусловлена соединениями кремния.

Таблица 1. Места заготовки образцов листьев подорожника большого

Место заготовки образца	Фаза роста
-------------------------	------------

Ставропольский край, г. Пятигорск, пойма реки Подкумок	Розеткообразование
Ставропольский край, г. Пятигорск, юго-западный склон горы Машук	Цветение
Ставропольский край, г. Пятигорск, юго-восточный склон горы Бештау	Плодоношения
Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, лесостепная полоса	Розеткообразование
Ростовская область, г. Ростов-на-Дону, овраг лесостепной полосы	Цветение
Гербарный образец кафедры фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета	Цветение

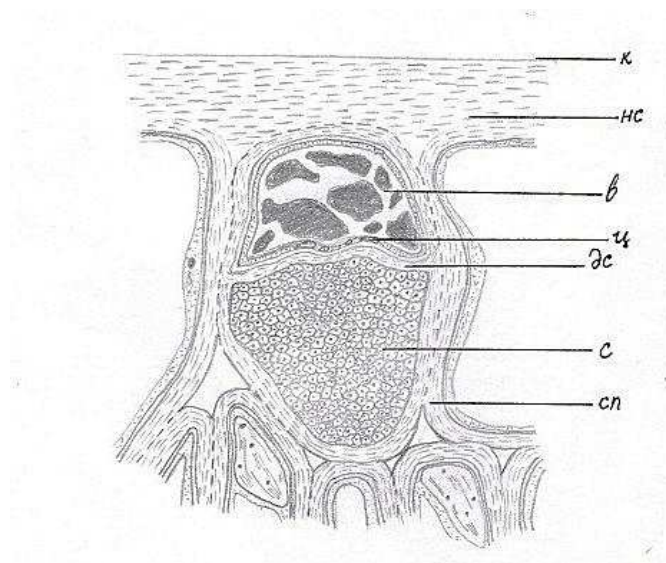


Рисунок 1. Общая схема строения слизеобразующих клеток (Яковлева, 1988)

в – вакуоль, *ее* – внутренняя стенка, *к* – кутикула, *дс* – дополнительная клеточная стенка, *не* – наружная стенка, *с* – слизь, *сп* – срединная пластинка, *ц* – цитоплазма.

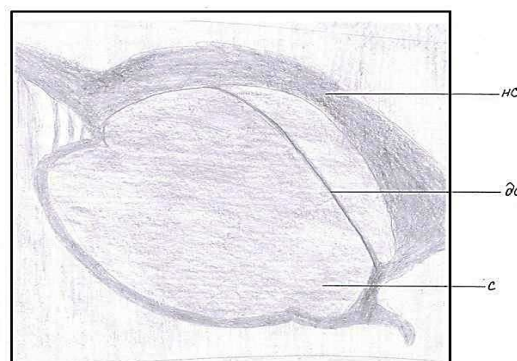


Рисунок 2. Слизеобразующие клетки эпидермы листьев (общий вид клетки)

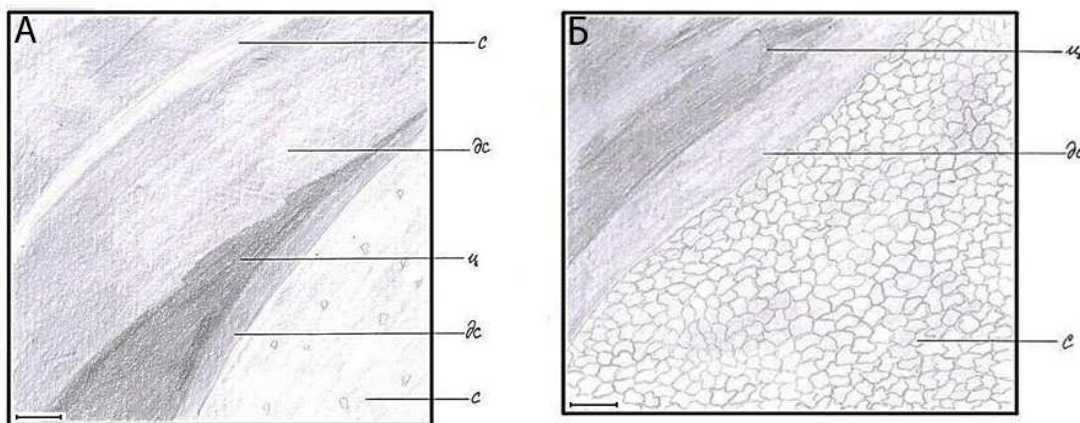


Рисунок 3. Слизеобразующие клетки эпидермы листа подорожника большого (масштабность линейки 1 мкм)

Анатомический метод исследования вегетативных органов растений играет большую роль в диагностике сырья. После проведения исследования анатомического строения листа подорожника большого было предложено использовать в качестве диагностического признака анатомическое строение черешка листа. Анализ проводили на свежих листьях растения, срезы изготавливали от руки, лезвием, в работе использовали световой микроскоп марки МБР-1 «Биолар».

Черешок на срезе имеет форму подковы. Верхний слой клеток черешка образует эпидерма. Механическая ткань представлена колленхимой и склеренхимой. Колленхима состоит из живых паренхимных клеток с неравномерно утолщенными стенками. Проводящий пучок закрытый, биколлатерального типа. Вокруг пучка видна обкладка из однородных клеток с утолщенными стенками, которая отделяет пучок от основной паренхимы черешка (рис.4).

При рассмотрении поперечного среза листа видно, что лист имеет дорзивентральное строение, покрыт эпидермой. Между верхней и нижней эпидермой находится ассимиляционная паренхима – мезофилл. Между клетками мезофилла на некотором расстоянии друг от друга расположены сосудисто-волокнистые пучки. Верхняя эпидерма по сравнению с нижней имеет более утолщенную наружную стенку, более мощный кутикулярный покров. Под верхней эпидермой расположены два слоя столбчатой (полисадной) паренхимы. У нижней эпидермы расположены более мелкие клетки с межклетниками – губчатая паренхима. Пучок окружен склеренхимой. Паренхимная обкладка состоит из одного слоя тонкостенных клеток, они отделяют пучок от мезофилла.

При рассмотрении эпидермы с поверхности жилок хорошо просматривались простые волоски конической формы, состоящие из трех клеток. Клетки эпидермы вытянуты вдоль

жилки, стенки ровные, имеют утолщения в месте соприкосновения с соседними клетками по ходу жилки, устьичный аппарат аномоцитного типа (рис.5).

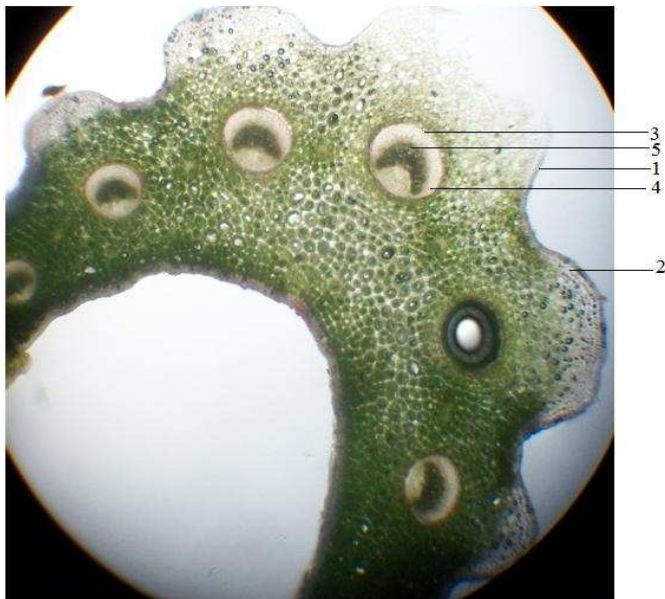


Рисунок 4. Черешок листа подорожника большого:

- 1 – эпидерма,
- 2 – колленхима,
- 3 – флоема,
- 4 – склеренхима,
- 5 –ксилема.

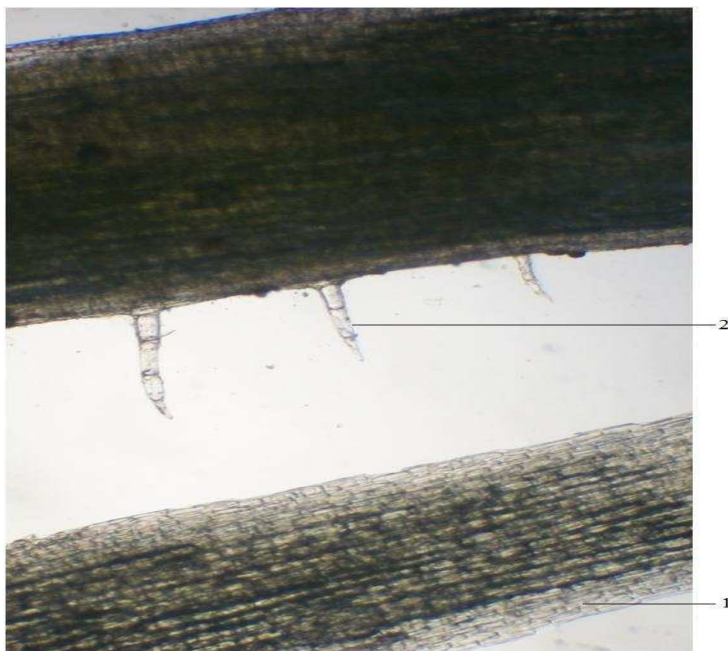


Рисунок 5. Эпидерма поверхности жилки листа подорожника большого:

- 1 – клетки эпидермы,
- 2 – простой волосок.

Для реализации противовоспалительных, регенеративных, антимикробных свойств БАВ подорожника (прежде всего полисахаридов), нами был наработан сок из свежесобранных листьев растения. Накопленный опыт показывает, что препараты из свежесобранного сырья проявляют гораздо более высокую терапевтическую активность за счет сохранения исходного количества БАВ[1,2].

Сок подорожника был наработан по традиционной схеме, выход составил около 50%.

Полученный сок хранили без консерванта в стерильных склянках, с крышками под обкатку, в условиях холодильника при температуре – 0–2°C. Образовавшийся в процессе хранения осадок отделяли фильтрованием.

На первом этапе исследований проводился отсеивающий эксперимент, цель которого – отбор пленкообразователя, способного сформировать пленку-матрицу. Для сравнительной оценки были выбраны и изучены составы пленок с метилцеллюлозой, натриевой солью карбоксиметилцеллюлозы, поливиниловым спиртом, коллагеном сухим фармацевтическим. Для растворения ВМВ вместо воды очищенной использовали сок подорожника в соответствующем количестве. Для получения пленок был выбран метод полива пленочной массы. Пленки на основе коллагена дольше остальных высыхали и тем самым дольше оставались пластичными, поэтому они и были выбраны нами для дальнейших исследований.

На втором этапе исследований изучали влияние пластификатора –натальгина, в различных концентрациях, с целью придания пленкам необходимой эластичности. Известно, что натальгин (альгинат натрия) способен и в малых концентрациях обеспечивать пленкам достаточную пластичность, технологичность и хороший внешний вид. Изучались пластифицирующие свойства натальгина в концентрации –1%, 3%, 5%.

На данном этапе исследований оптимальным для атравматичного раневого покрытия был выбран состав: сок подорожника, коллаген и натальгина 3%.

Проведенные исследования свидетельствуют о перспективности дальнейших фармако-технологических исследованиях атравматичного раневого покрытия с соком подорожника.

Список литературы

1. Кузнецова Л.С., Гаврилина Н.И., Глушко А.А., Дуккардт Л.Н., Мазурина М.В. Исследование по составу дезинфицирующих салфеток с четвертичными аммониевыми соединениями //Фармация. – 2011. – №4. – С. 39-41.
2. Кузнецова Л.С., Кабакова Т.И., Карпенко В.А., Глушко А.А., Мазурина М.В. Исследования по разработке двухслойного раневого покрытия с прополисом //Фундаментальные исследования. – 2012. – № 4–2. – С. 410-414.

3. Муравьева Д.А., Попова О.И., Кусова Р.Д., Акопов А.А., Вдовенко-Мартынова Н.Н. Ресурсоведение лекарственных растений: учебное пособие. – Владикавказ: Изд-во СОГУ, 2008. – 220с.
4. Охременко О.С., Попова О.И. Полисахариды плодов софоры японской // Известия вузов Сев.-Кавк. Региона. Естественные науки. – 2006. Спецвыпуск. – С. 53-54.
5. Попова О.И., Муравьева Д. А. Полисахариды омелы белой // Фармация. – 1990. – №3. – С. 41-44.
6. Самылина И.А., Сорокина А.А., Пятигорская Н. В. Подорожник большой // Фарматека. – №2. – 2010. – С. 100-101.
7. ФС 42-147-72 «Лист подорожника большого».
8. Fleer H., Verspohl E.J. Antispasmodic activity of an extract from *Plantagolanceolata* L. and some isolated compounds //Phytomedicine. –2007. –Vol. 14, №6. –P. 409-415.
9. Энциклопедия лекарственных средств [Электронный ресурс]. – Электронные данные (1 файл). – Режим доступа: <http://medgrasses.ru/podorozhnik.html>
10. Яковлева О.В. Особенности распределения слизеобразующих клеток и их взаимосвязь с другими структурами двудольных растений // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века. – Петрозаводск, 2008. – №4.1. – С 91-94.

Рецензенты:

Коновалов Д.А., доктор фармацевтических наук, профессор, зам.директора по научной работе Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ВолгГМУ, г.Пятигорск.

Хаджиева З.Д., доктор фармацевтических наук, профессор кафедры технологии лекарств ПМФИ-филиал ВолгГМУ, г.Пятигорск.