

## АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НАДЗЕМНЫХ И ПОДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ ЛИМОННИКА КИТАЙСКОГО

Морозов Ю.А.<sup>1</sup>, Дайронас Ж.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова», Владикавказ, Россия (362025, РСО-Алания, г. Владикавказ, ул. Ватутина, 44-46), e-mail: moroz52@yandex.ru

<sup>2</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, Россия (357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11), e-mail: daironas@mail.ru

---

В настоящее время установление подлинности лекарственного растительного сырья в нормативном документе предусматривает контроль трех основных характеристик: внешних признаков, выявление диагностических признаков в анатомическом строении методом микроскопии и проведение качественных реакций. В данной работе приводятся результаты экспериментальных исследований, посвященные оценке качества предоставленного лекарственного растительного сырья лимонника китайского (плоды и семена) по показателю подлинность («Микроскопия»). По результатам макроскопического и микроскопического исследования сделан вывод о соответствии лекарственного растительного сырья лимонника китайского (плоды и семена), произрастающего не в свойственном себе природном ареале – Брянской области, требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации. Определены и визуализированы также основные анатомо-диагностические признаки нефармакопейного лекарственного растительного сырья: листьев, корневищ с корнями и побегов лимонника китайского, которые могут быть полезны при разработке нормативной документации на данный вид сырья.

---

Ключевые слова: микроскопия, лекарственное растительное сырье, лимонник китайский

## ANATOMICAL AND MORPHOLOGICAL STUDIES OVERGROUND AND UNDERGROUND ORGANS OF SCHISANDRA CHINENSIS

Morozov Y.A.<sup>1</sup>, Daironas J.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>North Ossetian State University after K.L. Khetagurov, Vladikavkaz, Russia (362025, RSO-Alania, Vladikavkaz, Vatutin St., 44-46), e-mail: moroz52@yandex.ru

<sup>2</sup>Pyatigorsk medical and pharmaceutical institute – the branch of the Volgograd state medical university, Pyatigorsk, Russia (357532, Stavropol Krai, Pyatigorsk, Kalinin Ave., 11), e-mail: daironas@mail.ru

---

Currently, authentication of medicinal plants in the normative document provides for the control of three key features: external signs, identification of diagnostic features in the anatomical structure by microscopy and carrying out qualitative reactions. This paper presents the results of experimental studies are evaluating the overall medicinal plants *Schisandra chinensis* (fruits and seeds), harvested on the requirements of regulatory documents in terms of authenticity («Microscopy»). According to the results of the macroscopic and microscopic examination to conclude that the medicinal plants *Schisandra chinensis* (fruits and seeds), which grows not peculiar to itself the natural habitat – the Bryansk region, the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Identified and visualized as the basic anatomical and diagnostic features are not the official medicinal plants, which is, as underground and ground parts of the plant: leaves, rhizomes with roots and shoots *Schisandra chinensis*, which can be useful in the development of normative documents for this type of medicine raw materials.

---

Keywords: microscopy, medicinal vegetable raw materials, *Schisandra chinensis*

Лимонник китайский – достаточно хорошо изученное и официальное лекарственное растение, обладающее адаптогенными свойствами, повышающее физическую активность, выносливость и работоспособность. В официальной медицине используют семена и целые сушеные плоды, так как они обладают наибольшей эффективностью. В народной медицине применяют все части растения, включая кору корней и стебли. Российской фармацевтической промышленностью в настоящее время выпускаются только лишь

настойка семян и настойка плодов лимонника китайского [4].

В литературных источниках, преимущественно иностранных авторов, большое внимание уделяется поиску новых фармакологических эффектов, связанных с применением разнообразного лекарственного растительного сырья (ЛРС) лимонника китайского (плоды, семена, гребни, кора стеблей и корней с корневищами) в различных лекарственных формах (масляные экстракты, настои, настойки), а также индивидуальных биологически активных соединений (схизандрин,  $\gamma$ - схизандрин, гомизин А и другие), выделенных из этого сырья [6].

Лимонник китайский – реликтовое растение; японо-маньчжурский эндем с дизъюнктивным восточно-азиатским типом ареала. В Российской Федерации издревле распространен в Приморском крае, на юге Хабаровского края, Сахалинской области и на юго-западе Амурской области. Нерегулярность плодоношения лимонника, трудоемкость сбора плодов и труднодоступность его зарослей затрудняют заготовку сырья. Это послужило в свое время основанием для введения лимонника китайского в культуру. Его можно возделывать почти во всех освоенных земледелием районах России, обеспеченных влагой в летние месяцы. Непригодны для его посадок тяжелые малопроницаемые глинистые почвы. По ряду признаков плода окультуренные в европейской части России лианы превосходят дикорастущих [3].

На основании экспериментальных данных большого количества исследований, проводимых учеными в разных областях науки и отраслях народного хозяйства (фармацевтическая, косметическая, парфюмерная, ветеринарная, ликероводочная и кондитерская промышленность), посвященных изучению химического состава и биологической активности этого растения, совершенно очевидно, что основополагающей группой биологически активных веществ (БАВ) являются лигнаны, из которых преобладает схизандрин,  $\gamma$ - схизандрин, схизандрол, дезоксисхизандрин. Причем данная группа БАВ встречается во всех частях растения: подземных и надземных. В различном ЛРС лимонника китайского содержатся также витамины, органические кислоты, флавоноиды, жиры, эфирные масла и углеводы [7].

Все вышеперечисленное делает актуальным вопрос по разработке на базе инновационно-технологического центра «Фармация» ФГБОУ ВПО «Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова» новых эффективных ЛП из лекарственного растительного сырья лимонника китайского, культивируемого на европейской части России. При разработке и производстве лекарственных средств из ЛРС необходимым требованием к последнему является проведение фармакогностического анализа, позволяющего определить его подлинность и доброкачественность.

Фармакогностический анализ складывается из ряда последовательно проводимых анализов, в том числе макроскопического и микроскопического.

Поэтому основной **целью настоящей работы** является изучение диагностических признаков анатомического строения плодов, семян, побегов (ветвей), корневищ с корнями и листьев лимонника китайского, произрастающего в Брянской области.

### **Материалы и методы исследования**

Объектами исследований являлись плоды, семена, побеги, корневища с корнями и листья лимонника китайского, выращенные и заготовленные в Брянской области, Унечском районе, д. Пески в рамках ООО «Специализированное сельскохозяйственное предприятие “Женьшень”».

Плоды лимонника китайского собирались в октябре, до наступления первых осенних заморозков. Из части собранных плодов на гидравлическом прессе отжимался сок, семена отделялись от кожицы и мякоти обработкой сильной струей воды на решетках с диаметром отверстий 4–5 мм. Далее семена отмывались (всплывающие в воде семена отбраковывались) и высушивались в отапливаемом помещении с вентиляцией. Другая часть плодов лимонника китайского подвяливалась в течение 2–3 дней под навесом, высушивались в течение 4–5 ч в тепловой сушилке при температуре 35–40 °С с последующим досушиванием при температуре 50–60 °С. Высушенные таким образом семена и плоды лимонника китайского очищались от посторонних примесей и проходили стандартизацию по основным показателям качества согласно Государственным фармакопеям (ГФ) X и XI издания [1, 2].

Листья заготавливались летом, корневища с корнями и ветви – осенью. Сырье высушивалось в тени (корневища с корнями предварительно промывались холодной водой) и также проходило стандартизацию по основным показателям качества согласно ГФ X, XI и XII издания.

Морфолого-анатомическое изучение сырья проводили по фармакопейным методикам. При анализе внешних признаков использовали визуальный метод и регистрацию результатов с помощью цифровой камеры Canon PowerShot A560.

Для анализа микроскопических диагностических признаков готовили временные препараты путём просветления сырья в растворе натрия гидроксида 3 % или растворе хлоралгидрата. В качестве включающей жидкости использовали раствор глицерина или раствор хлоралгидрата. Для гистохимических реакций использовали следующие реактивы: глицерин (ООО «НПО АЛЬФАРМ», ЧДА, ГОСТ 6259-75, партия 2, Ростов-на-Дону), раствор Люголя специальный, для гистологических работ (ООО «НПО АЛЬФАРМ», серия 129678666, Ростов-на-Дону), кислота хлористоводородная (Сигма-Тек. СС.Ч. «20-4», ГОСТ 14261-77, партия 27, г. Химки), натрия гидроксид микрогранулированный (ХИММЕД, ХЧ,

ГОСТ 4328-77 изм. 1,2, партия 75, г. Москва), метиленовый голубой (синий; ООО «АГАТ-МЕД», ЧДА, партия 17900/12, ТУ 2463-044-050-15207-97; производитель Испания, расфасовано ООО «АГАТ-МЕД», Россия), судан III (ООО «НПО АЛЬФАРМ», ЧДА, партия 02, ТУ 609323478, г. Ростов-на-Дону), хлоралгидрат (ООО «СИГМАБИОСИНТЕЗ», CAS-№: 302-17-0, г. Георгиевск), флороглюцин (ООО «НПО АЛЬФАРМ», CAS № 108-73-6, ТУ 6-09-3741-79, г. Ростов-на-Дону).

Изучение микропрепаратов проводили с помощью микроскопа «МИКРОМЕД-1» с тринокулярной насадкой, с объективами 4×, 10×, 40×, 100×, окулярами 10×. Регистрировали результаты с помощью цифровой камеры Electronic Eyepiece MD300 (3.1 megapixels).

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Внешние признаки плодов лимонника китайского: плоды округлой формы, часто деформированные, крупноморщинистые, одиночные или слипшиеся по несколько вместе. Диаметр плодов обычно 5–9 мм. В мякоти плода находится одно блестящее желтовато-бурое или светло-коричневое, округло-почковидное семя, часто выступающее и просвечивающее через высохший околоплодник. Цвет плодов от красного до тёмно-красного, иногда почти чёрный. Запах слабый, специфический, вкус пряный, горьковато-кислый, с терпким привкусом и характерным жжением во рту (рис. 1).

Внешние признаки семян лимонника китайского: семена округлопочковидной формы, на вогнутой стороне с заметным темно-серым рубчиком, расположенным поперек семени. Длина 3–5 мм, ширина 2–4,5 мм, толщина 1,5–2,5 мм. Поверхность гладкая, блестящая, желтовато-бурого цвета. Семена состоят из твердой хрупкой кожуры и плотного ядра, которое у недоразвитых семян может отсутствовать. Кожура легко ломается и свободно отстает от ядра. Ядро подковообразной формы, восковидно-желтое, один конец конусовидно заостренный, другой округлый. На выпуклой стороне ядра семени проходит светло-коричневая бороздка. Основную массу ядра семени составляет эндосперм. В заостренном конце верхушки (в эндосперме) лежит небольшой зародыш, заметный под лупой. Запах при растирании сильный, специфический. Вкус пряный, горьковато-жгучий (рис. 1).

Микроскопические признаки околоплодника лимонника изучали на давленных препаратах, семян – на поперечных срезах.

При исследовании давленого препарата околоплодника видны участки наружного эпидермиса, состоящего из полигональных клеток (ширина 30–60 мкм, длина 70–100 мкм) с прямыми стенками и выраженной волнистой складчатостью кутикулы.



*Рис. 1. Внешний вид плодов и семян лимонника китайского*

Эпидермальные клетки-идиобласты округлой или овальной формы размером 60–90 мкм, заполнены маслянистым желтоватым содержимым. Головчатые волоски с короткой одноклеточной ножкой и овальной железистой головкой (диаметр 40–60 мкм). Устьица редкие округло-овальные (длина 40–50 мкм, ширина 20–30 мкм), окружены розеткой из 5–6 эпидермальных клеток. Крупные тонкостенные паренхимные клетки мякоти околоплодника, часто смятые и деформированные. Клетки-идиобласты с желтоватым маслянистым и коричневым зернистым содержимым. Проводящие пучки со спиральными, лестничными и сетчатыми трахеидами шириной 20–30 мкм, иногда сопровождаемыми механическими волокнами с пористыми стенками. На поперечном срезе семени лимонника видна семенная кожура, состоящая из нескольких слоев: эпидермальный слой представлен прямоугольными клетками (длина 40–50 мкм, ширина 20–30 мкм), с одревесневшими темно-желтыми оболочками (толщина 10–15 мкм), пронизанными порами. Под ним расположен склеренхимный слой, состоящий из 4–6 рядов сильно одревесневших каменистых клеток длиной 70–110 мкм, шириной 40–60 мкм с толщиной стенок 10 мкм.

Под кожурой расположен один ряд тонкостенных четырехугольных клеток (длина 70–80 мкм, ширина 30–40 мкм), содержащих маслянистые включения в виде капель лимонно-желтого цвета. Самый внутренний слой семенной кожуры – бесструктурная спавшаяся тонкостенная ткань. Эндосперм семени состоит из многоугольных клеток размером 30–60 мкм, содержащих капли жирного масла диаметром 10–40 мкм, окрашивающиеся суданом III в оранжевый цвет и алейроновые зерна диаметром 5–10 мкм. Полученные результаты согласуются с данными, приведенными в ГФ и работе [8].

Внешние признаки измельченных листьев лимонника китайского: кусочки листьев различной формы, проходящие сквозь сито с диаметром отверстий 7 мм, поверхность голая, под лупой заметно небольшое опушение вдоль жилок, встречаются фрагменты черешков от желтого до бурого цвета. Цвет от темно-зеленого до серовато-зеленого, запах характерный, лимонный, вкус горьковатый с ощущением слизистости (рис. 2).



*Рис. 2. Листья лимонника китайского (измельчённое сырьё)*

При рассматривании под микроскопом препарата листа с поверхности наблюдал клетки верхнего эпидермиса прямоугольной и многоугольной формы (длина 60–100 мкм, ширина 30–60 мкм) с практически прямыми стенками, толщина которых не превышает 5 мкм. Нижний эпидермис листа представлен клетками прямоугольной формы (длина 80–110 мкм, ширина 20–60 мкм) с извилистыми стенками (толщина около 5 мкм). Иногда встречаются чётковидные утолщения стенок. Имеется складчатость кутикулы. Устьичный аппарат аномоцитного типа. Устьичный индекс рассчитывали как отношение числа замыкающих клеток устьиц к общему числу клеток эпидермы на поверхности площадью 1 мм<sup>2</sup>. Он составил 0,55 (на 1 мм<sup>2</sup> число устьиц 39–47, число клеток эпидермы 153–161). Трихомы представлены головчатыми волосками с одноклеточной ножкой и многоклеточной головкой и гусеницевидными толстостенными волосками с многоклеточной ножкой и многоклеточной головкой. В мезофилле листа встречаются многочисленные друзы оксалата кальция диаметром около 10 мкм. Вдоль жилок листа встречаются кристаллы оксалата кальция призматической формы. Преимущественно вдоль жилок листа расположены вместилища овальной формы с зелёным содержимым. В мезофилле листа обнаруживаются клетки с эфирным маслом, капли которого окрашиваются суданом III в красный цвет. Полученные результаты согласуются с данными, приведенными в работе [5].

Побеги лимонника китайского представляют собой кусочки неолиственных побегов длиной 3–5 см, шириной 0,3–0,5 см, часто лишённых пробки. Цвет снаружи от жёлтого до тёмно-коричневого, на изломе жёлтый (рис. 3). Микроскопический анализ проводили, изучая поперечные срезы замоченного в хлоралгидрате побега. Гистохимическими реакциями подтверждали локализацию одревесневших элементов (приобретение малиновой окраски при обработке флороглюцином с кислотой хлористоводородной) и крахмальных зёрен (приобретение синей окраски с раствором Люголя).

На поперечном срезе видно, что побег лимонника китайского имеет округлую форму. Можно выделить несколько зон: покровная ткань, кора, флоэма, ксилема, сердцевина.



*Рис.3. Побеги лимонника китайского*

Покровная ткань – перидерма (толщина слоя 0,12–0,15). Клетки (ширина 20–30 мкм, длина 30–50 мкм) расположены в 6–8 слоёв. Паренхима коры (толщина слоя 40–45 мкм) представлена тонкостенными клетками шириной 40–60 мкм, длиной 80–90 мкм. Проводящая система стебля имеет непучковый тип строения. По типу стели этот тип стебля можно отнести к сифоностели. Флоэма занимает небольшой объем (толщина слоя 80–100 мкм), диаметр клеток 20–30 мкм. Ксилема представлена сосудами, трахеидами и лигнифицированной паренхимой. Крупные сосуды (диаметр 40–70 мкм) расположены ближе к флоэме слоем толщиной 100–120 мкм, мелкие (диаметр 20–40 мкм) – слоем толщиной 180–200 мкм. Сердцевина состоит из крупных паренхимных клеток. В середине стебля иногда имеется полость. Клетки коровой паренхимы, сердцевинки и сердцевинных лучей заполнены крахмальными зёрнами, которые окрашиваются раствором Люголя в тёмно-синий цвет.

Корневища с корнями лимонника китайского представлены фрагментами корневищ толщиной 0,8–1 см с отходящими от них корнями толщиной 2–4 мм. Форма цилиндрическая. Поверхность продольно-морщинистая. Цвет снаружи бурый, на изломе жёлтый, Излом волокнистый (рис. 4).



*Рис.4. Корневища с корнями лимонника китайского*

Микроскопический анализ проводили, изучая поперечные срезы замоченных в хлоралгидрате корневищ и корней. Гистохимическими реакциями подтверждали

локализацию одревесневших элементов (приобретение малиновой окраски при обработке флороглюцином с кислотой хлористоводородной) и крахмальных зёрен (приобретение синей окраски с раствором Люголя). Строение корневища на поперечном срезе повторяет структуру стебля. На поперечном срезе корень имеет округлую форму и беспучковую структуру проводящей системы, характерную для вторичного строения. Покровная ткань представлена перидермой. Пробка слоистая, состоит из 2–6 слоёв клеток. Под перидермой располагается многослойная паренхима коры. Клетки паренхимы округлой формы (диаметр 30–40 мкм), заполнены крахмальными зёрнами. Флоэма занимает небольшой объём корня. Клетки флоэмы 4–5-угольной формы, размером 10–20 мкм. В центре корня располагается первичная ксилема, состоящая из крупных сосудов, узких трахеид и древесной паренхимы.

Нами не приводятся фотографии диагностических признаков анатомического строения растительных тканей, сделанные с использованием цифровой техники, во избежание перегрузки статьи иллюстрационным материалом и, опираясь на данные, приведенные в работе [9].

### **Заключение**

В результате проведенных экспериментальных исследований установлена подлинность лекарственного растительного сырья лимонника китайского, произрастающего в Брянской области по показателю «Микроскопия» (плоды и семена), а также дано описание морфологических признаков высушенных листьев, корневищ с корнями и побегов. Определены и визуализированы основные анатомо-диагностические признаки листьев, корневищ с корнями и побегов лимонника китайского, которые могут быть полезны при разработке нормативной документации на данный вид сырья.

### **Список литературы**

1. Государственная фармакопея СССР. / МЗ СССР. – 10 изд. – М.: Медицина, 1968. – 1079 с.
2. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырьё / МЗ СССР. – 11 изд. – М.: Медицина, 1990. – Вып. 2. – 398 с.
3. Колбасина Э.И. Актинидия, лимонник: пособ. для садоводов-любителей. – М.: Изд-во «Ниола-Пресс»; Издательский дом «ЮНИОН-паблик», 2007. – 176 с.
4. Косман В.М. Лигнаны масляного экстракта семян лимонника китайского (*Schisandra chinensis* Turcz. (Baill.)) // Химия растительного сырья. – 2014. – № 4. – С. 131-138.
5. Мальцева А.А. Морфолого-анатомическое изучение листьев лимонника китайского // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2012. – № 2. – С. 252-255.



6. Морозов Ю.А., Морозов В.А., Морозова Е.В. К возможности комплексной переработки лимонника китайского: сб. работ молодых ученых 3 межрег. науч.-практич. конф. // Молодые ученые в решение актуальных проблем науки. – Владикавказ, 2012. – С. 129-130.
7. Сатдарова Ф.Ш. Исследования по стандартизации и созданию лекарственных средств на основе плодов и семян лимонника китайского [Schizandra chinensis (Turcz.)Baill.]: автореф. дис. ... канд. фармацев. наук. – Курск, 2009. – 24с.
8. Сатдарова Ф.Ш. Изучение диагностических признаков плодов и семян лимонника китайского // Фармация. – 2009. – № 6. – С. 22-25.
9. Хомик А.С., Вандышев В.В., Мирошникова Е.А. Назначение и роль микроскопического анализа при установлении подлинности лекарственного растительного сырья // Фармацевтическая промышленность. – 2010. – № 3. – С. 54-56.

**Рецензенты:**

Пупыкина К.А., д.фарм.н., профессор, профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа;

Панкрушева Т.А., д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск.