

УДК 615.32

3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2024.4.27 EDN: VLQGSE

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ВИДОВ РОДА ТРАВЫ ТЫСЯЧЕЛИСТНИК (*ACHILLEA* L.)© Васькова А.И.¹, Рыжов В.М.¹, Куркин В.А.¹, Корчиков Е.С.², Тарасенко Л.В.¹¹Самарский государственный медицинский университет (СамГМУ), Россия, Самара, 443099, ул. Чапаевская, 89²Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева (Самарский университет), Россия, Самара, 443086, Московское шоссе, 34*Резюме*

Цель. Изучение морфолого-анатомических особенностей видов рода Тысячелистник (*Achillea* L.) с использованием современных микроскопических и статистических методов, для включения в ФС.2.5.0101.18 «Тысячелистника обыкновенного трава» Государственной фармакопеи Российской Федерации.

Методика. Исследована надземная часть (трава) видов рода Тысячелистник, произрастающих на территории Самарской области и других регионов РФ – тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.), тысячелистник хрящеватый (*Achillea cartilaginea* Ledeb. ex Rchb.), тысячелистник благородный (*Achillea nobilis* L.). Сбор сырья осуществлён в период массового цветения растения 2021-2023 гг. В качестве методов исследования выбраны световая и поляризационная микроскопия.

Результаты. В результате проведенного морфолого-анатомического анализа проведена статистическая обработка и определены параметры следующих признаков: «Количество цветков в элементарном соцветии корзинка»: среднее количество цветков в элементарном соцветии корзинка должно – не менее 12 и не более 15; «Длина и ширина шипиков листьев»: длина от центра основания до вершины шипика варьирует от 62,9±0,1 мкм до 63,4±0,1 мкм, ширина в основании шипика варьирует от 54,6±0,2 мкм до 55,0±0,2 мкм, форма клиновидная.

Заключение. Научно обоснована целесообразность определения диагностически значимых признаков травы видов рода Тысячелистник с применением статистических методов.

Ключевые слова: тысячелистник, *Achillea* L., трава, морфолого-анатомический анализ

MODERN ASPECTS OF COMPARATIVE ANATOMO-MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF THE HERBS OF SPECIES OF THE GENUS YARROW (*ACHILLEA* L.)Vaskova A.I.¹, Ryzhov V.M.¹, Kurkin V.A.¹, Korchikov E.S.², Tarasenko L.V.¹¹Samara State Medical University, 89, Chapaevskaya St., 443099, Samara, Russia²Samara National Research University named after academician S.P. Korolev (Samara University), 34, Moskovskoe shosse, 443086, Samara, Russia*Abstract*

Objective. Study of morphological and anatomical features of species of the genus Yarrow (*Achillea* L.) using modern microscopic and statistical methods for inclusion in pharmacopoeial article 2.5.0101.18 'Yarrow herb' of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

Methods. The above-ground part (herb) of species of the genus Yarrow growing in the Samara region and other regions of the Russian Federation – common yarrow (*Achillea millefolium* L.), cartilaginous yarrow (*Achillea cartilaginea* Ledeb. ex Rchb.), noble yarrow (*Achillea nobilis* L.) – was studied. Raw materials were collected during the period of mass flowering of the plant 2021-2023. Light and polarising microscopy were chosen as research methods.

Conclusion. As a result of the morphological-anatomical analysis, statistical processing was carried out and parameters of the following traits were determined: Number of flowers in the elementary inflorescence basket: the average number of flowers in the elementary inflorescence basket should be not less than 12 and not more than 15; Length and width of leaf spikes: length from the centre of the base to the apex of the spike varies from $62.9 \pm 0.1 \mu\text{m}$ to $63.4 \pm 0.1 \mu\text{m}$, width at the base of the spike varies from $54.6 \pm 0.2 \mu\text{m}$ to $55.0 \pm 0.2 \mu\text{m}$, shape wedge-shaped.

Keywords: Yarrow, *Achillea L.*, herb, morphological and anatomical analysis.

Введение

Проблема контроля подлинности травы тысячелистника обыкновенного продиктована наличием в природе близкородственных видов, имеющих схожие ареалы обитания. В частности, к таким видам можно отнести тысячелистник хрящеватый и тысячелистник благородный, произрастающие на территории Самарской области и РФ в целом. Классическая ботаника при определении видовой специфичности руководствуется рядом признаков, входящих в ключ определения, таких как: тип листа и степень его изрезанности, наличие или отсутствие кончиков сегментов листа (так называемых «шипики»), тип соцветия, тип цветков в соцветии, размеры листочков обёртки и другие. При этом многие селективные признаки из определителей растений России по неизвестной причине не применяются в фармакопейном анализе сырья тысячелистника обыкновенного [1, 6, 8]. В настоящей работе приводятся результаты изучения морфолого-анатомических особенностей видов рода Тысячелистник (*Achillea L.*) с использованием современных микроскопических и статистических методов.

Целью работы явилось изучение морфолого-анатомических особенностей видов рода Тысячелистник (*Achillea L.*) с использованием современных микроскопических и статистических методов для включения в ФС.2.5.0101.18 «Тысячелистника обыкновенного трава» Государственной фармакопеи Российской Федерации.

Методика

В рамках выполнения настоящей работы была исследована надземная часть (трава) видов рода *Achillea L.*, произрастающих на территории Самарской области и других регионов РФ, а именно – тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium L.*), тысячелистник хрящеватый (*Achillea cartilaginea Ledeb. ex Rchb.*), тысячелистник благородный (*Achillea nobilis L.*). Сбор сырья осуществлён в период массового цветения растения (июнь-август 2021-2023 гг.). Видовая специфичность определялась с использованием справочной литературы [1, 6, 8], а также при помощи Гербарного фонда Самарского университета и Цифрового Гербарного фонда Московского государственного университета [7]. Для проведения исследований задействованы следующие микроскопы: световой микроскоп «Motic DM-1802» (кратность увеличения: 4×10 , 10×10 ; 40×10 , 100×10); световой микроскоп «Motic DM-39C- N9GO-A»; микроскоп поляризационный учебный ПЛМ-213 (кратность увеличения $40-630 \times$, компенсаторы пластинки λ , источник света лампа галогеновая 6В, 20 Вт). Оцифровка результатов микроскопического анализа и определение размерности проводились с помощью программного обеспечения «Motic Images Plus 2.0 ML» (PC&Mac)1301100100224/001 20111017; DM1 102-10250-00-09820.

Приготовление и окраска микропрепаратов осуществлялись в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания [4].

Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась в соответствии с требованиями ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания [4] с помощью программы Microsoft Excel 2016. Все признаки апробированы согласно ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания [4] по показателям, применимым для морфолого-анатомического анализа, а именно – «Правильность», «Прецизионность», «Устойчивость».

Результаты исследования

Для отличия близкородственных видов семейства *Asteraceae* в ряде случаев в фундаментальной ботанике используют значение числа трубчатых и ложноязычковых цветков в элементарных соцветиях корзинка. Данный признак не используется для диагностики видов рода *Achillea* в фармакопейном анализе, однако применяется в процессе таксономического определения вида в общей ботанике [1, 6, 8].

В целях изучения диагностичности указанного признака с достоверно известных особей трёх видов – тысячелистника обыкновенного, тысячелистника хрящеватого и тысячелистника благородного – отбирались соцветия корзинка каждого вида в числе 10 штук. Каждое соцветие препарировалось. Число трубчатых и ложноязычковых цветков подсчитывалось вручную. На рис. 1 показана выборка из 5 наиболее диагностичных примеров каждого вида.

В целом встречаемость цветков в элементарном соцветии нестабильна и может колебаться на одной особи тысячелистника обыкновенного от 10 до 15 цветков в корзинке. Поэтому среднее значение количества цветков в элементарном соцветии корзинка является более устойчивым признаком, чем номинальная совокупность цветков в элементарном соцветии.

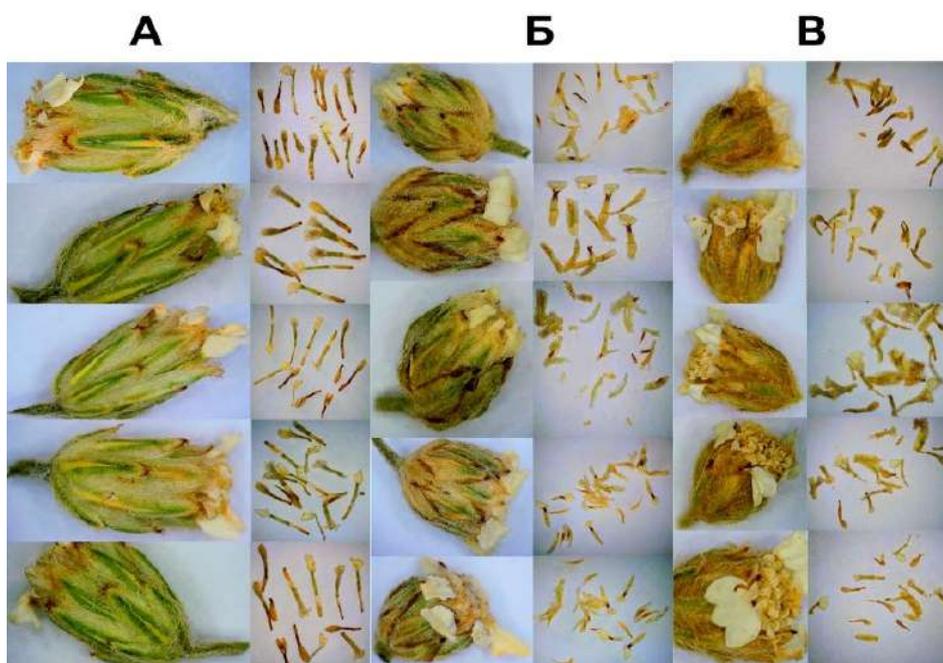


Рис. 1. Статистическая обработка признака «Количество цветков в элементарном соцветии корзинка» (слева – корзинка, справа – цветки из неё): А – тысячелистник обыкновенный; Б – тысячелистник хрящеватый; В – тысячелистник благородный

Полученные данные выборки по каждому виду подвергали статистической обработке с определением среднего числа цветков и стандартного отклонения выборки. Результаты определения средних чисел встречаемости представлены в гистограмме (рис. 2) и других показателях корреляции (табл. 1-3).

Таблица 1. Метрологические характеристики признака «Количество цветков в элементарном соцветии корзинка» в траве тысячелистника обыкновенного

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
n	15	10	12	14	12	10	15	13	11	12
Образец	f	Хср	S	P, %	t (P,f)	ΔX	E, %			
Количество цветков в элементарном соцветии корзинка	10	12,40	1,84	95	2,23	±1,3135	±10,59			

Таблица 2. Метрологические характеристики признака «Количество цветков в элементарном соцветии корзинка» в траве тысячелистника хрящеватого

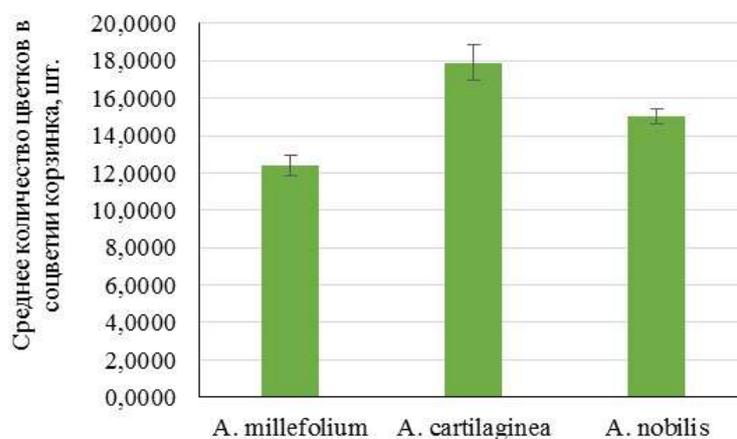
№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
n	18	11	20	21	19	15	18	20	17	20
Образец	f	X _{ср}	S	P, %	t (P,f)		ΔX		E, %	
Количество цветков в элементарном соцветии корзинка	10	17,90	3,00	95	2,23		±2,1427		±11,97	

Таблица 3. Метрологические характеристики признака «Количество цветков в элементарном соцветии корзинка» в траве тысячелистника благородного

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
n	14	15	16	13	14	17	15	16	14	16
Образец	f	X _{ср}	S	P, %	t (P,f)		ΔX		E, %	
Количество цветков в элементарном соцветии корзинка	10	15,00	1,25	95	2,23		±0,8913		±5,94	

Обсуждение результатов исследования

На гистограмме видно (рис. 2), что среднее число цветков в элементарном соцветии корзинка у сравниваемых видов отличается. При этом наименьшее значение среднего числа отмечено у фармакопейного вида – тысячелистника обыкновенного. Выявлена значительная разница между показателями средних величин количества цветков тысячелистника обыкновенного от тысячелистника хрящеватого на 5 и тысячелистника благородного на 3, что позволяет использовать данный признак в качестве одного из диагностически значимых.

Рис. 2. Гистограмма сравнения признака «Среднее количество цветков в соцветии корзинка» некоторых видов рода *Achillea*

Отдельно необходимо выделить особенность строения листовой пластинки, характерную для большинства видов рода *Achillea* и заключающуюся в наличии «хрящевидных остроконечий» на сегментах перисторассечённого листа (тысячелистник обыкновенный, тысячелистник благородный) или на дважды пальчатом крае цельной листовой пластинки (тысячелистник хрящеватый). Указанная особенность используется в фармакопеях разных стран как один из отличительных признаков некоторых видов тысячелистников [2, 3, 5, 9-11]. Однако в отечественной фармакопее данный признак не представлен [4]. Необходимо отметить, что в ряде зарубежных фармакопей, в частности, Американской травяной фармакопее, хрящевидное остроконечие (шипик) описан как в морфологическом, так и в гистологическом анализе сырья [9].

В эксперименте нами проанализировано диагностическое значение хрящевидного остроконечия (шипика) для выбранных видов – тысячелистника обыкновенного, тысячелистника хрящеватого и тысячелистника благородного. В целях анализа структуры и морфологии шпиков сравниваемых

видов использовалась поляризационная микроскопия. Для детального сравнения шипиков изучали их длину и ширину (табл. 4), а также форму или очертание.

Поляризация через волновую пластинку λ позволила выявить неоднородную плотность шипиков сравниваемых видов. Более плотные клетки расположены по центру шипика. Обработка микропрепаратов 10% раствором сернокислого анилина не позволила выявить лигнификацию клеток шипика (рис. 3).

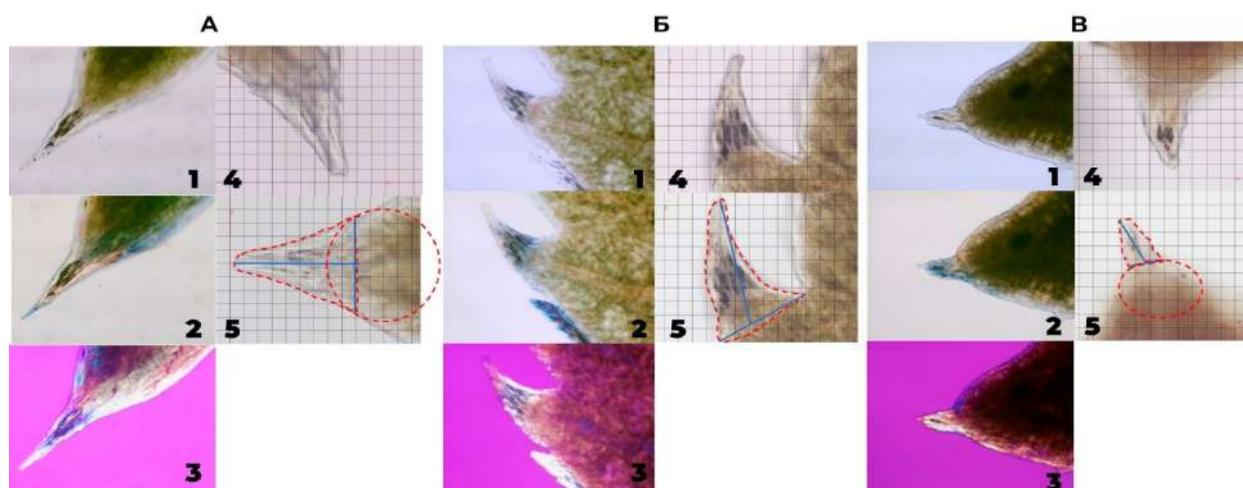


Рис. 3. Статистическая обработка признака «Длина и ширина шипика листа»: А – тысячелистник обыкновенный; Б – тысячелистник хрящеватый; В – тысячелистник благородный. 1 – шипик листа ($\times 100$); 2 – шипик листа при изменении угла поворота на 180° ($\times 100$); 3 – шипик листа при рассмотрении через волновую пластинку λ ($\times 100$); 4 – шипик листа ($\times 400$); 5 – определение формы, длины и ширины шипика листа ($\times 400$).

Сравнительные данные очертания и размеров шипиков сравниваемых видов представлены в табл. 4, а также на гистограмме сравнения размеров шипиков (рис. 4). Из анализа гистограммы сравнения длины и ширины шипиков становится очевидно, что в основной массе шипики у тысячелистника обыкновенного крупнее прочих видов как по длине, так и по ширине. Наименьший размер шипика в группе видов сравнения имеет тысячелистник благородный.

Рассматривая форму и размер шипика, нам представляется, что диагностическим признаком может служить скорее форма шипика, нежели его размер, так как последний в значительной степени привязан к экологическим условиям обитания.

Шипик тысячелистника обыкновенного треугольной или клиновидной формы, является прямым продолжением сегмента перистого листа, как правило, без видимых отступов.

Тысячелистник благородный, наиболее схожий с тысячелистником обыкновенным по габитусу, имеет иную структуру шипика. Сам шипик имеет остротрапециевидную форму. Его основание уже сегмента листа, что визуально похоже на «прищипнутый» край.

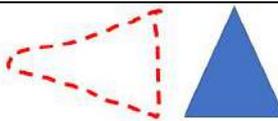
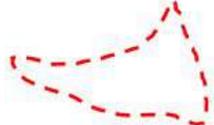
Тысячелистник хрящеватый в сравнительном плане имеет цельную листовую пластинку, ввиду чего менее вероятен как примесный вид, однако в измельчённом сырье возможен и диагностируется по особой когтевидной (изогнутой) форме шипика, расположенного на дважды пальчатом крае листовой пластинки. Гистологически он схож с шипиками сравниваемых видов, но имеет загнутую, напоминающую коготь форму.

Заключение

Таким образом, в результате проведенного морфолого-анатомического анализа проведена статистическая обработка и определены параметры следующих признаков: «Количество цветков в элементарном соцветии корзинка»: среднее количество цветков в элементарном соцветии

корзинка должно – не менее 12 и не более 15; «Длина и ширина шипиков листьев»: длина от центра основания до вершины шипика варьирует от $62,9 \pm 0,1$ мкм до $63,4 \pm 0,1$ мкм, ширина в основании шипика варьирует от $54,6 \pm 0,2$ мкм до $55,0 \pm 0,2$ мкм, форма клиновидная. Научно обоснована целесообразность определения диагностически значимых признаков травы видов рода Тысячелистник с применением статистических методов.

Таблица 4. Общая таблица сравнения форм, ширины и длины шипиков листьев некоторых видов рода *Achillea*

Вид	Длина от центра основания до вершины шипика, мкм	Ширина в основании шипика, мкм	Форма-схема	Описание формы
Тысячелистник обыкновенный	$66,1 \pm 0,1$	$52,8 \pm 0,19$		Клиновидная
Тысячелистник хрящеватый	$40,8 \pm 0,13$	$30,6 \pm 0,12$		Когтевидная
Тысячелистник благородный	$19,4 \pm 0,13$	$15,8 \pm 0,16$		Остротрапецевидная

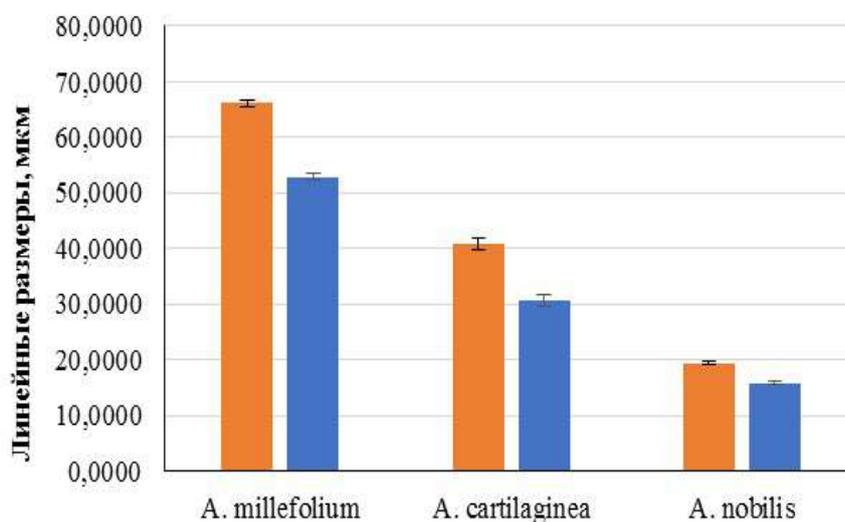


Рис. 4. Гистограмма сравнения признака «Длина и ширина шипиков листьев» некоторых видов рода *Achillea*

Литература (references)

1. Бобров Е.Г., Васильченко И.Т., Горшкова С.Г., Федоров Ан.А. Флора СССР. Том XXVI. – Издательство академии наук СССР. – Москва, Ленинград, 1957. – С. 78-123. [Bobrov E.G., Vasilchenko I.T., Gorshkova

- S.G., Fedorov An.A. Flora of the USSR. Volume XXIV – Publishing House of the USSR Academy of Sciences. – Moscow, Leningrad, 1957. – pp. 78-123. (in Russian)]
2. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т. 2 Общие и частные фармакопейные статьи / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии им. В. Хоружей, 2009.
 3. Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 2. Алматы: Издательский дом «Жибек жолы», 2009.
 4. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. – М.: Медицина, 2018. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. Moscow. Federal electronic medical library (in Russian)] URL: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>.
 5. Державна Фармакопея України: у 3 т. / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доповнення 2 – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
 6. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. 11-е издание. Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2014. 635 с. [Mayevskiy P.F. Flora sredney polosu evropeyskoy chasti Rossii. 11-e izdaniye. Moskva: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK, 2014. 635 p. (in Russian)]
 7. Серегин А.П. (ред.) Цифровой гербарий МГУ: Электронный ресурс. – М.: МГУ, 2023. – Режим доступа: <https://plant.depo.msu.ru/> (дата обращения 29.08.2023).
 8. *Achillea millefolium*. Plants of the World Online by the Royal Botanic Gardens, Kew [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:2294-2#source-KBD> (дата обращения: 29.08.2023).
 9. American Herbal Pharmacopoeia. Botanical Pharmacognosy – Microscopic Characterization of Botanical Medicines, 2011. URL: <https://archive.org/details/AmericanHerbalPharmacopoeiaBotanicalPharmacognosyMicroscopicCharacterizationOfBotanicalMedicines/page/n11/mode/2up> (дата обращения: 29.08.2023)
 10. British Pharmacopoeia. Volume III: Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations. Oak Bark, 2009.
 11. European Pharmacopoeia 11.0. Edition – Европейская фармакопея 11-е изд-ие. – 2022. European Pharmacopoeia – 11th edition published July 2022 URL: <http://phar.europa.edqm.eu> (дата обращения: 29.08.2023).

Информация об авторах

Васькова Анастасия Игоревна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: a.i.vaskova@samsmu.ru

Рыжов Виталий Михайлович – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: lavr_rvm@mail.ru

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: kurkinvladimir@yandex.ru

Корчиков Евгений Сергеевич – кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии, ботаники и охраны природы Самарского государственного университета. E-mail: evkor@inbox.ru

Тарасенко Любовь Владимировна – ассистент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: lub_vl@mail.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 11.06.2024

Принята к печати 12.12.2024