

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Медико-фармацевтический колледж**

**МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННОГО
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

учебно-методическое пособие



**ТОМСК
Издательство СибГМУ
2018**

Буркина Н.А. Костенко Е.М. Микроскопический анализ лекарственного растительного сырья: учебно-методическое пособие. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2018. - 61 с.

Представленное учебно-методическое пособие составлено на достаточно высоком методическом уровне, изложено доступным для понимания языком, понятно для восприятия и освоения. В пособии изложены подготовка лекарственного растительного сырья для микроскопических исследований, методика проведения микроскопических исследований, диагностические признаки лекарственного сырья, микроскопия объектов лекарственного растительного сырья различных морфологических групп. Пособие содержит вопросы для самоконтроля, тестовые задания, ситуационные задачи.

Учебное пособие «Микроскопический анализ лекарственного растительного сырья» может быть опубликовано как в печатном, так и в электронном виде в качестве учебного пособия для подготовки к практическим занятиям, а также для использования в качестве руководства и учебного материала на практических занятиях по данной теме.

Рецензент:

Зав. кафедрой фармакогнозии с курсами ботаники
и экологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России,
доктор фармацевтических наук, профессор Г. И. Калинкина

© Сибирский государственный медицинский университет, 2018

© Буркина Н.А., Костенко Е.М. ,2018

ВВЕДЕНИЕ

Микроскопический анализ лекарственного растительного сырья является одним из методов определения его подлинности. Особое значение этот метод приобретает в случаях анализа резанного или порошкованного сырья, определить подлинность которого по макроскопическим признакам трудно. Определение подлинности основывается на особенностях анатомического строения, характерных для определенной морфологической группы.

Создание пособия связано с необходимостью единого информационного источника по микроскопическому анализу с учетом современных требований, в соответствии с Федеральным государственным стандартом среднего профессионального образования.

В методическом пособии представлен информационный материал по микроскопическому анализу: подготовка лекарственного растительного сырья для микроскопических исследований, методика проведения микроскопических исследований, диагностические признаки лекарственного сырья, микроскопия объектов лекарственного растительного сырья, включенного в Государственную фармакопею. Так же содержатся вопросы для самоконтроля, тестовые задания, ситуационные задачи с ответами.

Учебно-методическое пособие составлено в соответствии с рабочей программой по специальности «Фармация». Пособие предназначено для лабораторных занятий по фармакогнозии по для обеспечения высокого уровня подготовки специалистов фармацевтов, дополнительного профессионального образования.

Содержание

<u>ВВЕДЕНИЕ</u>	3
<u>1. ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ</u>	6
<u>1.1 Подготовка лекарственного растительного сырья для микроскопических исследований</u>	7
<u>1.2 Методика проведения микроскопических исследований</u>	9
<u>1.3 Диагностические признаки лекарственного сырья</u>	11
<u>Вопросы для самоконтроля</u>	18
<u>2. ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>2.1 Микроскопия изучаемых объектов лекарственного растительного сырья различных морфологических групп</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Лекарственное растительное сырье, оказывающее преимущественно вяжущее действие.</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Кора дуба</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Лекарственное растительное сырье, оказывающее преимущественно слабительное действие.</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Кора крушины ольховидной</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Корень ревеня</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Листья Сенны</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Лекарственное растительное сырье, оказывающее преимущественно отхаркивающее действие.</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Корень солодки</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Трава чабреца</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Трава Термопсиса ланцетного</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Лист мяты перечной</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Трава Пустырника</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Лекарственное растительное сырье, оказывающее преимущественно спазмолитическое действие.</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Лист красавки</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Лист белены</u>	Ошибка! Закладка не определена.
<u>Листья Дурмана</u>	Ошибка! Закладка не определена.

[Лекарственное растительное сырье, оказывающее преимущественно противомикробное действие](#)..... **Ошибка! Закладка не определена.**

[Листья Шалфея](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Листья Эвкалипта прутовидного](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Цветки Ромашки](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Лекарственное растительное сырье, повышающее аппетит](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Трава Полыни горькой](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Лекарственное растительное сырье, оказывающее преимущественно гемостатическое действие](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Трава Пастушьей сумки](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Листья крапивы](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Лекарственное растительное сырье, оказывающее преимущественно кардиотоническое действие](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Трава Горлицы весеннего](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Трава Ландыша](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Листья Наперстянки](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Лекарственное растительное сырье, оказывающее преимущественно желчегонное действие](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Трава Чистотела](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Лекарственное растительное сырье, поливитаминного характера](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Тестовые задания](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Ситуационные задачи](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Ответы на тестовые задания](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Ответы на ситуационные задачи:](#) **Ошибка! Закладка не определена.**

[Рекомендованная литература](#) ... **Ошибка! Закладка не определена.**

1. ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Микроскопический анализ основан на определении признаков анатомического строения и обычно применяется для исследования резаного и порошкообразного лекарственного сырья.

Оптической микроскопией называют совокупность методов наблюдения и исследования частиц анализируемых образцов лекарственных средств, невидимых невооруженным глазом, с помощью оптического микроскопа.

Цель микроскопического анализа — установить подлинность сырья. Для этого рассматриваемый объект помещают на предметное стекло микроскопа в капле жидкости и накрывают покровным стеклом. Каждый препарат рассматривают сначала при малом увеличении для общей ориентировки, а для детального анализа — при большом увеличении.

Жидкости, применяемые для изготовления микропрепарата, называются включающими. Они имеют разное назначение и делятся на две группы: индифферентные и просветляющие.

Индифферентные жидкости — это вода, глицерин, масло. Просветляющие — раствор хлоралгидрата, растворы КОН и NaOH.

Индифферентные жидкости, не реагируя с исследуемым сырьем, служат средой для его рассмотрения. Вода применяется для ориентировочного исследования, она не изменяет форму и окраску клеток. В воде хорошо просматриваются крахмальные зерна и включения оксалата

кальция, но в ней растворяется слизь и распадаются алейроновые зерна, жирное масло собирается в более крупные капли.

По сравнению с водой в глицерине препараты не высыхают и могут сохраняться несколько дней. Он относится к слабопросветляющим жидкостям, так как при его продолжительном воздействии ткани становятся более прозрачными.

Масло применяют для наблюдения растворимых в воде веществ.

Просветляющие жидкости. Их назначение — сделать препарат более прозрачным. Лучшей просветляющей жидкостью является раствор хлоралгидрата. При его воздействии воздух из препарата вытесняется, крахмальные зерна разбухают и расплываются; жирные и эфирные масла растворяются; белковые вещества, хлорофилл, смолы и другие включения разрушаются; темноокрашенные оболочки светлеют; без изменения остаются включения оксалата кальция. Так как хлоралгидрат действует медленно, препарат рекомендуется осторожно подогреть, но не кипятить.

Действие растворов КОН и NaOH в различных концентрациях (от 5 до 15%) сходно с действием хлоралгидрата: крахмальные зерна разбухают и быстрее превращаются в клейстер, жиры при нагревании омыляются.

1.1 Подготовка лекарственного растительного сырья для микроскопических исследований

Техника приготовления микропрепаратов зависит от состояния, в котором находится сырье (цельное, резаное, порошкообразное), и от принадлежности его к определенной морфологической группе (кора, подземный орган, лист).

Чтобы выяснить анатомическое строение цельного сырья, его необходимо предварительно подготовить. Это достигается холодным размачиванием, кипячением, размягчением в водяных парах во влажной камере. Чаще применяют метод холодного размачивания, рекомендуемый для всех органов растения.

Он состоит в том, что используемое сырье помещают в банку или чашку с жидкостью (2 ч воды и 11 ч глицерина), куда добавляют кристаллик карболовой кислоты. В течение 1—2 суток размачивают мелкие семена, плоды, листья, траву, цветки. Кору, корни, корневища, твердые семена рекомендуется размачивать около 3 суток, иногда до 4—5 суток. После этого сырье перекладывают в 96%-ный спирт с небольшим количеством глицерина (чтобы спирт меньше улетучивался). Затем делают срезы — поперечные и продольные (радиальные или тангентальные) бритвой, лезвием или на микротоме. Мелкие объекты резать трудно, их помещают в парафин, пробку или сердцевину бузины. В последнее время для среза листьев используют сырой картофель.

Приготовление срезов

Приготовление срезов в парафине. Из куса парафина скальпелем вырезают прямоугольник (блок), который удобно держать в руке, размером 1x2 см. В верхнюю часть парафина вставляют нагретый в пламени горелки кончик препаровальной иглы; в расплавленную ямочку быстро опускают размягченное семя или плод. Через несколько минут парафин застывает. Выравнивают поверхность парафина и отрезают верхушку объекта. Затем делают срезы вместе с

парафином, после чего парафин отбрасывают. Приготовление крупных размягченных объектов. Кору, корневища, толстые корни, крупные плоды, семена при изготовлении среза держат в руке. Подравнивают скальпелем поверхность и делают срез бритвой или лезвием.

1.2 Методика проведения микроскопических исследований

Препараты цельного сырья (листья, травы, цветки).

Препараты для микроскопического анализа готовят из сырья, предварительно просветленного в растворе КОН. Для этого кусочки листовой пластинки (с краем листа, жилкой), венчика и чашечки, иногда стеблей (в безлистном сырье) кипятят в 5%-ном водном растворе КОН 1—2 мин в зависимости от толщины листа, затем содержимое пробирки выливают в чашку, жидкость сливают, сырье промывают и оставляют в воде.

Кусочки сырья берут лопаточкой I или препаровальной иглой, если листья тонкие и собираются при вынимании в складочки, подводят предметное стекло в воду под кусочек листа, вынимают его иглой на стекло и расправляют. Если лист надо рассматривать с двух сторон, кусочек листовой пластинки разрывают на две части скальпелем на предметном стекле, одну часть осторожно перевертывают и помещают рядом со второй. Плотные листья при рассмотрении раздавливают лопаточкой или скальпелем, иногда готовят срезы в пробке, бузине. Готовые препараты и срезы просматривают в растворе хлоралгидрата. Иногда при анализе листьев и трав используют микрохимические реакции с раствором Судана III: на эфирное масло, млечники,местилища со смолой и кутикулу.

Если требуется приготовить срез листа, выбирают кусочек, содержащий главную жилку; мелкие листья рассматривают целиком.

Препарат готовят так, чтобы срез прошел поперек главной жилки и в него попала часть мезофилла с более мелкими жилками. Обращают внимание на число, форму и расположение ксилемы и флоэмы в проводящих пучках жилки, присутствие кристаллоносной обкладки, строение мезофилла (расположение палисадной ткани с одной или с двух сторон, наличие губчатой ткани; например в изолатеральном листе палисадная ткань имеется с обеих сторон) и на включения.

Препараты резаного сырья. Листья, травы, цветки исследуют так же, как цельное сырье.

Плоды и семена. При анализе плодов и семян обычно делают поперечные, иногда продольные срезы; кожуру рассматривают с поверхности. Поперечные срезы готовят из предварительно обработанного сырья, (увлажненного в камере или размягченного в водяных парах). Мелкие объекты режут в пробке, сердцевине бузины или в парафине.

Резаная кора. Препараты готовят путем кипячения кусочков в 5%-ном растворе NaOH в течение 3—5 мин, промывают в воде, раздавливают объект и смотрят препарат в растворе хлоралгидрата. Микрохимические реакции проводят с соскобом коры или с ее 10%-ным отваром после охлаждения: на одревесневшие элементы, крахмал (иногда) и на действующие вещества (дубильные, антраценопроизводные и некоторые другие).

Подземные органы (корни, корневища, клубни, луковицы). Подготовленное сырье (размоченное и размягченное) исследуют на поперечных и продольных срезах.

Толстые срезы рассматривают в лупу (ув. 1Q), обращая внимание на общее строение. На тонких срезах выявляют диагностические признаки.

Резаное сырье исследуют после кипячения кусочков в 5%-ном растворе NaOH, промывают в воде и раздавливают на предметном стекле. Объекты рассматривают в растворе хлоралгидрата.

Препараты растительных порошков. Для приготовления препаратов всех морфологических групп на предметное стекло помещают 1—2 капли включающей жидкости, смачивают в ней конец препаровальной иглы или скальпеля и берут исследуемый порошок; переносят его на предметное стекло в жидкость; осторожно, чтобы не попал воздух, накрывают покровным стеклом. Если при этом жидкости под стеклом оказалось мало, добавляют ее из пипетки рядом с покровным стеклом (она быстро затягивается под стекло). Если жидкости окажется много, её удаляют, не снимая стекла полоской фильтровальной бумаги. Необходимо соблюдать правило: на предметное стекло вначале следует вносить включающую жидкость, а затем порошок, чтобы не загрязнить реактивы.

Препараты готовят в растворе хлоралгидрата или в растворе KOH, медленно нагревают до полного просветления и выявляют все диагностические признаки. При необходимости проводят микрохимические реакции.

1.3 Диагностические признаки лекарственного сырья

Морфологические группы лекарственного растительного сырья (листья, кора, корни и др.) различают под микроскопом по диагностическим признакам. Основные диагностические признаки листьев — эпидерма, волоски, железки, тип устьиц, форма кристаллических включений, форма вместилищ и др.

Эпидерма. Клетки эпидермы бывают с прямыми или извилистыми боковыми стенками, иногда с четковидными утолщениями (Рис 1).

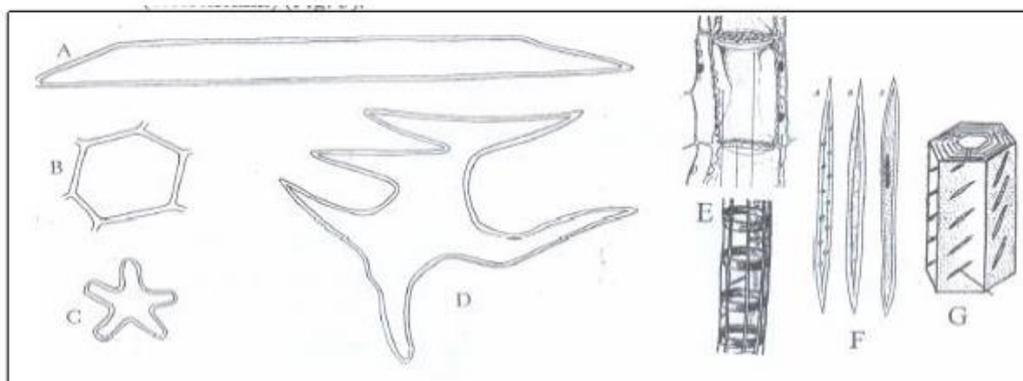


Рис.1. Формы растительных клеток: А - параллелипепидическая, В - полиэдрическая, С - звездчатая, D - ветвистая, Е – цилиндрическая, F – фузиформная, G – призматическая

Парехимными клетками называются те клетки, у которых ширина и длина стенок примерно одинакова. Пазенхимными клетками называются клетки, у которых длина стенки превосходит ширину.

Имеет значение и характер кутикулы (пленка, покрывающая эпидерму, состоящая из кутина). Например, эпидерма листьев толокнянки, эвкалипта имеет толстый ровный слой кутикулы, эпидерма листа белладонны, горицвета — складчатую кутикулу. На эпидерме листа есть устьица; их форма, расположение (с одной или с двух сторон листа), характер окружения их клетками эпидермы постоянны и характерны для видов некоторых семейств (Рис 1). Например, у большинства растений семейства яснотковых устьица окружены двумя клетками эпидермы, которые расположены так, что их смежные стенки перпендикулярны к устьичной щели. У некоторых растений есть водяные устьица, находящиеся на верхушке и зубчиках листа. В эпидерме листьев крапивы имеются клетки, содержащие цистолиты.

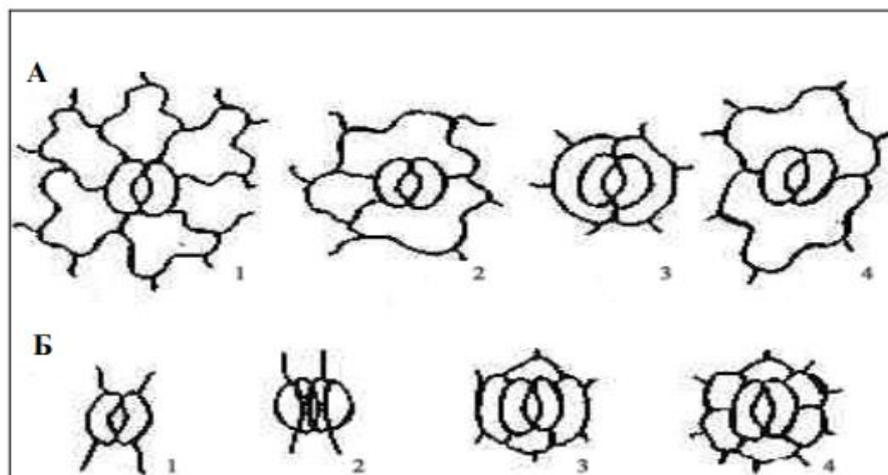


Рис. 2 Основные типы устьичных комплексов: А – двудольные растения: 1 – аномоцитный; 2 – анизоцитный; 3 – парцитный; 4 – диацитный. Б – однодольные растения: 1 – аперигенный; 2 – биперигенный; 3 – тетраперигенный; 4 – гексаперигенный.

Волоски. (Рис.2) Их форма очень разнообразна. Встречаются волоски простые и головчатые. Простые волоски бывают одно- или многоклеточными, ветвистыми, извилистыми, звездчатыми, многолучевыми, пучковыми, Г-образными, жгучими (у крапивы). Поверхность волоска может быть гладкой или бородавчатой, что зависит от характера кутикулы, покрывающей волосок. Головчатые, волоски отличаются размером, строением ножки и головки.

У некоторых растений в головке волоска, под кутикулой, скапливается эфирное масло. Головка может быть шаровидной, овальной, одно-, двух-, многоклеточной, ножка — одноклеточной и многоклеточной.

Железки и эндогенные вместилища эфирных масел, смолистых веществ, млечники, секреторные ходы. (Рис. 2.3.Б) Строение железок, вместилищ с эфирным маслом характерно для каждого вида растений, а иногда и для семейства (железки у растений яснотковых, астровых). Вместилища бывают схизогенные (образующиеся путем расхождения клеток) и

схизолизигенные (вначале клетки расходятся, а затем растворяются). Млечники и секреторные каналы отличаются составом содержимого и обычно сопровождают проводящие пучки, жилки.

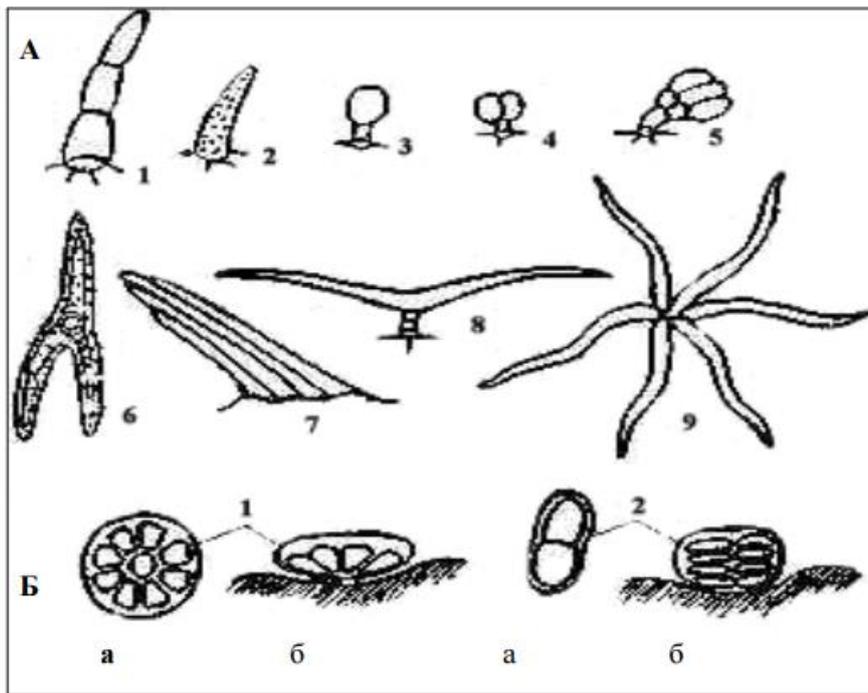


Рис. 3 Различные виды трихом. А – волоски: 1 – простой многоклеточный; 2 – простой одноклеточный; 3 – головчатый с одноклеточной головкой; 4 – головчатый с двухклеточной головкой; 5 – головчатый с многоклеточной головкой; 6 – одноклеточный многоконечный; 7 – пучковый; 8 – Т-образный; 9 – звездчатый. Б – эфиромасличные железы: 1 – круглые с радиальным расположением выделительных клеток; 2 – овальные с ярусным расположением выделительных клеток; а – вид сверху; б – вид сбоку.

Кристаллы.(Рис.4) В растениях часто встречаются кристаллы оксалата кальция. Форма кристаллов, разнообразна: друзы, рафиды, «кристаллический песок», одиночные кристаллы; иногда они образуют сростки и кристаллоносную обкладку. В листьях некоторых растений имеются клетки, содержащие карбонат кальция (например, цистолиты в листьях крапивы двудомной).

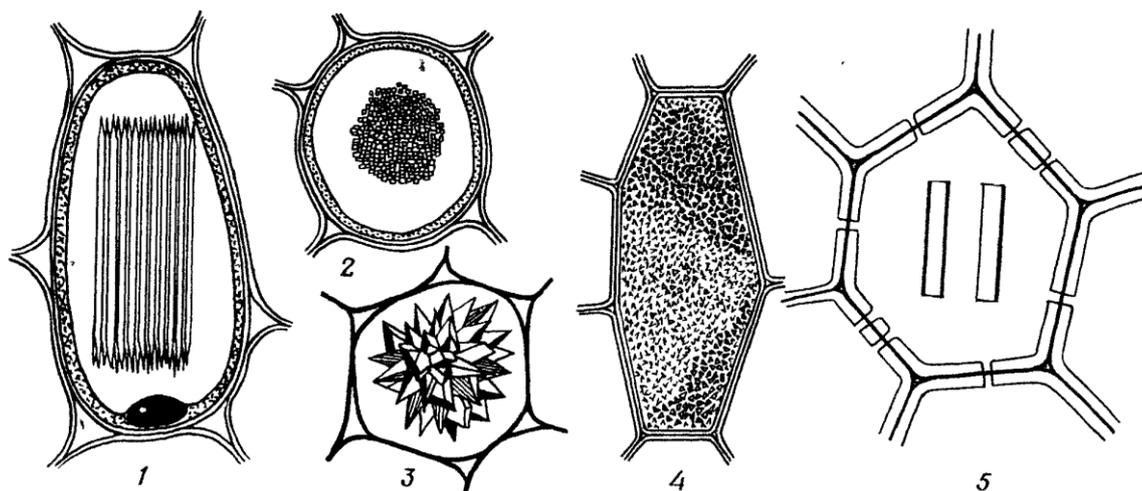


Рис.4 Формы кристаллов оксалата кальция. 1 – рафиды; 2 – клетка-мешок с кристаллическим песком; 3 – друзы; 4 – кристаллический песок; 5 – призмы

Все кристаллические образования находятся в мезофилле листа. Особые образования—сферокристаллы (гликозиды) — расположены в эпидерме.

Кремнезем откладывается в клеточной оболочке.

Цветки. В качестве лекарственного сырья цветки используют в цельном виде. При их анализе могут играть роль эфирномасличные железки, кристаллы, сосочковидные выросты на эпидерме, волоски и пыльца характерной формы и размеров, иногда механические элементы.

Травы. Основное внимание обращают на признаки листьев, так как травы определяют по листьям. Иногда имеют значение элементы стеблей, цветков, плодов. На стеблях наиболее характерны эпидерма с многоугольными вытянутыми клетками, обрывки крупных прямых сосудов (в отличие от разветвляющихся жилок листа), механические волокна.

Плоды. У плодов рассматривают строение околоплодника, в котором, различают три, слоя: наружный — экзокарпий (внеплодник), средний— мезокарпий (внутриплодник) и внутренний— эндокарпий.

Диагностические признаки сочных и сухих плодов резко отличаются. В порошках диагностическое значение имеют механические элементы кожуры семени и околоплодника, иногда: волоски, каналцы. Клетки питательной ткани заполнены жирным маслом и алейроновыми зернами, реже крахмальными зернами; их присутствие легко обнаружить микрохимическими реакциями.

Семена. На поперечных срезах обращают внимание на общее строение семени, кожуры, запасной питательной ткани — эндосперма и зародыша. В кожуре важное значение имеет механический слой, состоящий из радиально вытянутых или изодиаметрических клеток.

Эндосперм и зародыш состоят из однородных клеток; значение имеет также содержимое клеток — жирное масло, крахмал, алейроновые зерна. При измельчении семян лучше сохраняются волоски и слои кожуры, особенно механический и пигментный.

Корни, корневища, клубни. На поперечном срезе обращают внимание на тип их строения у двудольных растений: пучковый или непучковый (пучки открытые или закрытые, коллатеральные или биколлатеральные). При непучковом типе отмечают характер древесины, расположение в ней сосудов, ширину сердцевинных лучей, характер вторичного утолщения сосудов и трахеид (спиральные, лестничные, сетчатые пористые, с простыми или окаймленными порами); на механические элементы — волокна, каменистые клетки и др.

У одних растений имеются млечники (одуванчик, кендырь), у других — секреторные вместилища с эфирным маслом или смолой (девясил, женьшень, левзея).

Имеет значение вид запасных питательных веществ (крахмал, инулин, жирное масло) и форма кристаллов оксалата кальция. При анализе подземных органов используют микрохимические реакции (на запасные питательные вещества, одревесневшие элементы и др.).

Кора. Диагностические признаки этого сырья — расположение и характер механических элементов: лубяных волокон и каменистых клеток, колленхимы. Механические элементы располагаются одиночно или группами, рассеянно или поясами, иногда лубяные волокна окружены кристаллоносной обкладкой. Обращают внимание на строение пробки. В коре некоторых растений имеются млечники или вместилища с эфирным маслом, включения оксалата кальция. Некоторые виды коры подвергают микросублимации. Проводят качественные химические реакции

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

- 1.** Назовите цель микроанализа.
- 2.** Опишите технику приготовления временных микропрепаратов из трав.
- 3.** Опишите методику получения среза мелких семян.
- 4.** Опишите метод приготовления микропрепарата листа.
- 5.** Опишите метод приготовления микропрепарата из порошка.
- 6.** Опишите метод приготовления микропрепарата из коры.
- 7.** Назовите индифферентные жидкости.
- 8.** Назовите просветляющие жидкости.
- 9.** Назовите реактив на эфирное масло.
- 10.** Назовите формы включений оксалата кальция.
- 11.** Назовите различные типы волосков.
- 12.** Назовите различные типы железок.

