



DOI: <https://doi.org/10.15688/jvolsu11.2017.4.1>

UDC 581.84

LBC 28.56

MICROSCOPIC STUDY OF THE HERBS A WORMWOOD ANNUAL

Artur A. HAMILONOV

Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University
of the Ministry of Health Care of Russia, Pyatigorsk, Russian Federation

Fatima K. Serebrjanaja

Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University
of the Ministry of Health Care of Russia, Pyatigorsk, Russian Federation

Dmitrij A. Konovalov

Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University of the Ministry
of Health Care of Russia, Pyatigorsk, Russian Federation

Inna A. Bocharova

Volgograd State University, Volgograd, Russian Federation

Natal'ja S. Melihova

Volgograd State University, Volgograd, Russian Federation

Abstract. *Artemisia annua* L. (*Artemisia annua* L.) is a herbaceous annual plant, used in folk medicine of China for more than two thousand years. In the 70s of the 20th century, the sesquiterpene lactone artemisinin was isolated from the aerial part of this species - the most effective among medicinal products for the treatment of malaria. The aim of the study was to study the microscopic characteristics of a given plant and to establish diagnostic features for a particular type of raw material, namely, herb wormwood, one-year old. The study was conducted using library databases (eLibrary) and the results of their own research. Studied medicinal raw materials collected in the vicinity of Pyatigorsk. Fresh raw materials were used for the study. A detailed microscopic analysis of the leaves, flowers and stems of *Artemisia* was carried out.

The shape and sinuosity of the anticlinal walls of wormwood annual leaves have been studied, the type of stomata has been established, and such trichomes as essential oil glands, T-shaped hairs and their remains have been discovered and examined, the pollen flower covering the flower surface is established for flowers. The structure of the stalk of a wormwood is studied annually. Diagnostic signs of herbs of annual wormwood are T-shaped hairs, as well as two-rowed 4-tiered essential oil glands located on the epidermis of the leaf and stem, as well as essential oil glands consisting of two excretory cells located in the upper tier of a two-row 4-tier structure. The glands are localized on the leaf epidermis, flowers and wrapping.

Key words: wormwood annual, *Artemisia annua*, leaves, stem, microscopy.

**МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ
ТРАВЫ ПОЛЫНИ ОДНОЛЕТНЕЙ****Артур Александрович Хамилонов**

Пятигорский медико-фармацевтический институт (филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России), г. Пятигорск, Российская Федерация

Фатима Казбековна Серебряная

Пятигорский медико-фармацевтический институт (филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России), г. Пятигорск, Российская Федерация

Дмитрий Алексеевич Коновалов

Пятигорский медико-фармацевтический институт (филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России), г. Пятигорск, Российская Федерация

Инна Анатольевна Бочарова

Волгоградский государственный университет, г. Волгоград, Российская Федерация

Наталья Сергеевна Мелихова

Волгоградский государственный университет, г. Волгоград, Российская Федерация

Аннотация. Полынь однолетняя (*Artemisia annua L.*) – травянистое однолетнее растение, используемое в народной медицине Китая более двух тысяч лет. В 70-х годах 20 века из надземной части этого вида был выделен сесквитерпеновый лактон артемизинин – самое эффективное среди известных лекарственных средство для лечения малярии. Целью исследования явилось изучение микроскопических признаков данного растения и установление диагностических признаков для конкретного вида сырья, а именно травы полыни однолетней. Исследование проводилось с использованием библиотечных баз данных (eLibrary) и результатов собственных исследований. Изучены поперечные срезы листовой пластинки и черешка листа. Изучены форма и извилистость антиклинальных стенок листьев полыни однолетней, установлен тип устьиц, обнаружены и рассмотрены такие трихомы, как эфирномасличные железки, Т-образные волоски и их остатки, для цветков установлен характер пыльцы, покрывающей поверхность цветка. Изучено строение стебля полыни однолетней. Диагностическими признаками травы полыни однолетней являются Т-образные волоски, а также двухрядные 4-ярусные эфирномасличные железки. Желёзки локализуются на эпидермисе листа, цветков и обертки.

Ключевые слова: полынь однолетняя, *Artemisia annua*, листья, стебель, микроскопия.

Введение. Полынь однолетняя является единственным природным источником артемизинина – сесквитерпенового лактона, препараты из которого, как показали исследования, проявляют высокую эффективность в отношении возбудителей различных паразитарных инвазий, таких как *Plasmodium spp.*, *Coccidia spp.*, *Babesia spp.*, *Leishmania spp.*, *Neospora caninum* и *Schistosoma spp.* Основными группами действующих веществ надземной части полыни однолетней являются компоненты эфирного масла, сесквитерпеновые лактоны и фенольные соединения [2–4].

В настоящее время учеными проводятся исследования эффективности артемизинина в отношении онкологических заболеваний [3]. Препараты артемизинина и его производных широко используются в Китае, Южной Африке, Танзании, Замбии, Сенегале и многих других странах, где население подвержено заболеваемости малярией. В этих странах полынь однолетняя широко культивируется [7].

Полынь однолетняя выращивается и собирается в соответствии с правилами надлежащей сельскохозяйственной практики (GAP)

[11]. Ранее были разработаны методы анализа сырья этого вида полыни по содержанию сесквитерпеновых лактонов [1], изучена перспектива использования подземной части растения (корней) для создания лекарственных средств [5]. Наиболее известными препаратами на основе артемизинина являются собственно сам артемизинин и его полусинтетические производные – артеэтер, артеусунат, артемер, а также чай из сухой травы полыни однолетней, часто применяемый в странах Африки [9].

Полынь однолетняя относится к семейству астровых (Asteraceae). Это однолетнее травянистое растение высотой до 2 м. Стебли голые, цилиндрические, прямые, бороздчатые, зеленые с темно-фиолетовыми прожилками. Листья точечно-ямчато-железистые, нижние черешковые, дважды или трижды перисторассеченные, дольки последнего порядка продолговато-ланцетные, цельнокрайные или с 1–2 зубцами. Средние и стеблевые листья дважды перисторассеченные, верхние сидячие, более мелкие и менее сложные. Самые верхние – прицветные, простые или с небольшим числом боковых долек, жилкование сетчатое. Корзинки шаровидные, 2–2,5 мм шириной, многочисленные, отклоненные или поникающие, на коротких ножках, в длинном пирамидальном метельчатом соцветии. Краевые цветки пестичные, цветки диска обоеполые. Плоды (семянки) очень мелкие, длиной 1 мм, толщиной 0,5 мм. Растет на пустырях и влажных сорных местах на Кавказе, в Сибири и Приморском крае России [6].

Целью исследования явилось изучение структуры листьев и стебля полыни однолетней методом микроскопии и установление важнейших диагностических признаков данного растения.

Материалы и методы. Изучалось лекарственное сырье, собранное в окрестностях г. Пятигорска. Для исследования использовалось свежее сырье. Был проведен подробный микроскопический анализ листьев, цветков и стебля полыни однолетней.

Для микроскопического анализа листьев использовали цельные листья, в том числе изучали поперечный срез листа и черешка. Поскольку изучалось свежесобранное сырье, просветление не производилось. Все части

листа, включая эпидермис, поперечный срез и срез черешка, помещались на предметные стекла в глицерин и исследовались при помощи микроскопа при увеличении 10× и 40×. Гистохимическое окрашивание проводили растворами флороглюцина и 50 % серной кислоты. Для изучения стебля производили срез с помощью лезвия, после чего срез помещали на предметное стекло в глицерин и изучали микропрепараты при увеличении 200× и 400×.

Результаты и их обсуждение. При изучении микропрепарата листа установлено, что антиклинальные стенки эпидермиса адаксиальной и абаксиальной сторон извилистые. Устьица аномоцитного типа расположены на обеих сторонах листа, но встречаются чаще на нижней эпидерме (рис. 1, фрагменты 1 и 2). Желёзки по типу астровых, расположены в углублениях эпидермиса листа, у основания узкие, расширяющиеся кверху (рис. 1, фрагмент 4). На поверхности эпидермиса с обеих сторон встречаются простые многоклеточные (рис. 1, фрагмент 5) и Т-образные волоски (рис. 1, фрагмент 6). Волоски и устьица видны также и на поперечном срезе листовой пластинки и черешка (рис. 1, фрагменты 2 и 3). Конечная клетка волоска легко отламывается, поэтому на листьях обнаруживается много оснований волосков.

Изучен поперечный срез черешка листа полыни однолетней. Покровная ткань представлена эпидермой. Нами выполнен препарат эпидермы стебля. Клетки имеют прямые антиклинальные стенки, устьичные аппараты аномоцитного типа (рис. 2, фрагмент 1). Характерно наличие простых многоклеточных Т-образных волосков с расширенным основанием (рис. 2, фрагменты 2 и 3). Под эпидермой расположена колленхима уголкового типа, которая залегает в 2–3 слоя (рис. 2, фрагмент 4). Проводящая система пучкового типа, проводящие пучки коллатерального типа, сосуды ксилемы имеют цилиндрическую форму. К центральному проводящему пучку со стороны флоэмы прилегает склеренхима (рис. 2, фрагмент 5).

Стебель на поперечном срезе ребристый. Покровная ткань представлена однослойной эпидермой, покрытой кутикулой, под эпидермой располагается уголковая колленхима

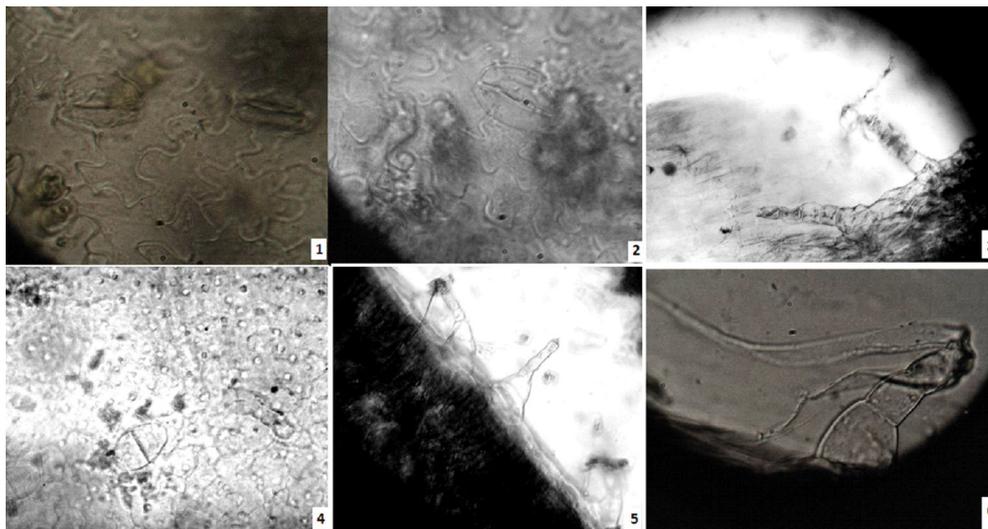


Рис. 1. Фрагменты анатомического строения листовой пластинки полыни однолетней:
 1 – эпидерма нижняя; 2 – эпидерма верхняя; 3 – Т-образные волоски на поперечном срезе листовой пластинки;
 4 – эфирномасличные железы; 5 – Т-образные волоски на абаксиальной стороне листовой пластинки;
 6 – Т-образный волосок, крупный план

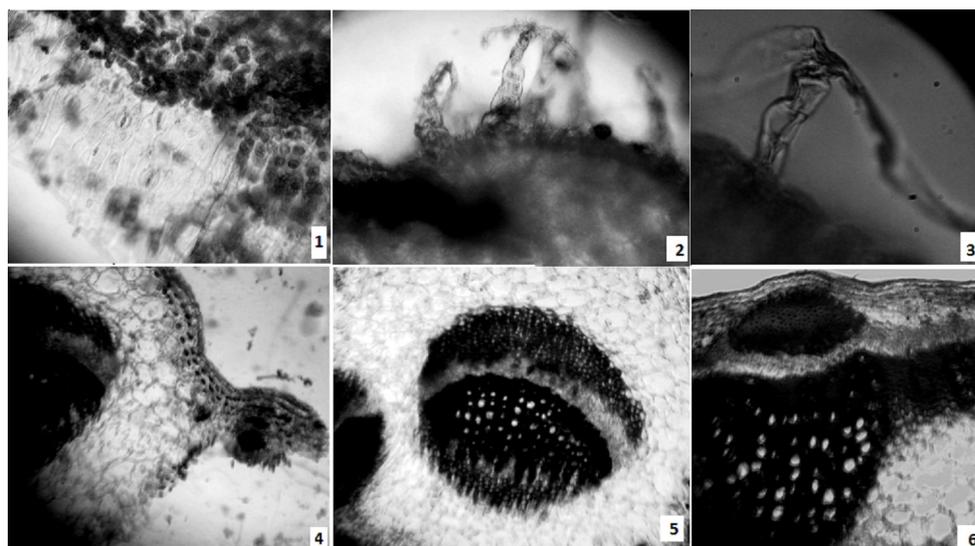


Рис. 2. Фрагменты анатомического строения черешка листа и стебля полыни однолетней:
 1 – устьица аномального типа; 2 – простые многоклеточные Т-образные волоски;
 3 – простой многоклеточный волосок на поверхности стебля;
 4 – уголковая колленхима в структуре поперечного среза черешка;
 5 – проводящий пучок коллатерального типа на поперечном срезе черешка; 6 – поперечный срез стебля

в зоне выступов. Склеренхима располагается отдельными участками над проводящими пучками. Эпидерма имеет большое количество простых многоклеточных волосков. Проводящая система представлена открытыми коллатеральными пучками. Более крупные пучки соответствуют граням. На срезе обычно обнаруживается 16 проводящих пуч-

ков. Флоэма состоит из ситовидных трубок с клетками спутницами и паренхимы. В ксилеме имеются сосуды и паренхима. Паренхима сердцевины представлена наиболее крупными клетками многогранной формы. Количество сосудов в одном проводящем пучке варьирует в пределах 25–60 (рис. 2, фрагмент 6).

Лепестки трубчатых и ложноязычковых цветков состоят из основной паренхимы (мезофилла), проводящей системы, пронизывающей основную ткань и слоев эпидермиса. Эпидерма актиноморфного пятичленного сростнолепестного трубчатого цветка (рис. 3, фрагмент 1) состоит из тонкостенных клеток прямоугольно-цилиндрической формы, вытянутых вдоль оси цветка (рис. 3, фрагмент 2). Большое количество пыльцы видно на поверхности ложноязычковых цветков (рис. 3, фрагмент 3). В хромопластах клеток содержатся пигменты, придающие желтый цвет венчику. Эфиромасличные желёзки по типу астровых имеют такое же строение, как и на эпидерме листа. Встречается много желёзок на обоих видах цветков на трубочке и отгибе, особенно много у основания (рис. 3, фрагменты 4 и 5). Пыльца цветков полыни однолетней имеет округлую форму и гладкую поверхность. Пыльцевые зерна являются трехбороздными (рис. 3, фрагмент 6).

Заключение. Таким образом, анатомо-диагностическими признаками травы полыни однолетней являются Т-образные волоски, расположенные на эпидермисе листа и стебля, а также эфирномасличные железки, состоящие из двух выделительных клеток, расположенных в верхнем ярусе двух-рядной 4-ярус-

ной структуры. Желёзки локализуются на эпидермисе листа, цветков и обертки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Винюков, Д. Д. Количественное определение суммы сесквитерпеновых лактонов в траве полыни однолетней / Д. Д. Винюков, Д. А. Коновалов // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2011. – Т. 15, № 16 (111). – С. 233–236.
2. Коновалов, Д. А. Биологически активные соединения полыни однолетней. Сесквитерпеновые лактоны / Д. А. Коновалов, О. М. Шевчук, Л. А. Логвиненко, А. А. Хамилонов // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4, № 5. – С. 4–35.
3. Коновалов, Д. А. Полынь однолетняя и ее лекарственное значение / Д. А. Коновалов, Д. Д. Винюков. – Пятигорск : Пятигорский филиал ВолгГМУ, 2013. – 153 с.
4. Коновалов, Д. А. Биологически активные соединения полыни однолетней. Эфирное масло / Д. А. Коновалов, А. А. Хамилонов // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4, № 4. – С. 4–33.
5. Коновалов, Д. А. Изучение корней полыни однолетней с целью создания новых лекарственных средств отечественного производства / Д. А. Коновалов, С. Г. Тираспольская, Г. В. Алфимова, А. Б. Саморядова // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4. – С. 346.

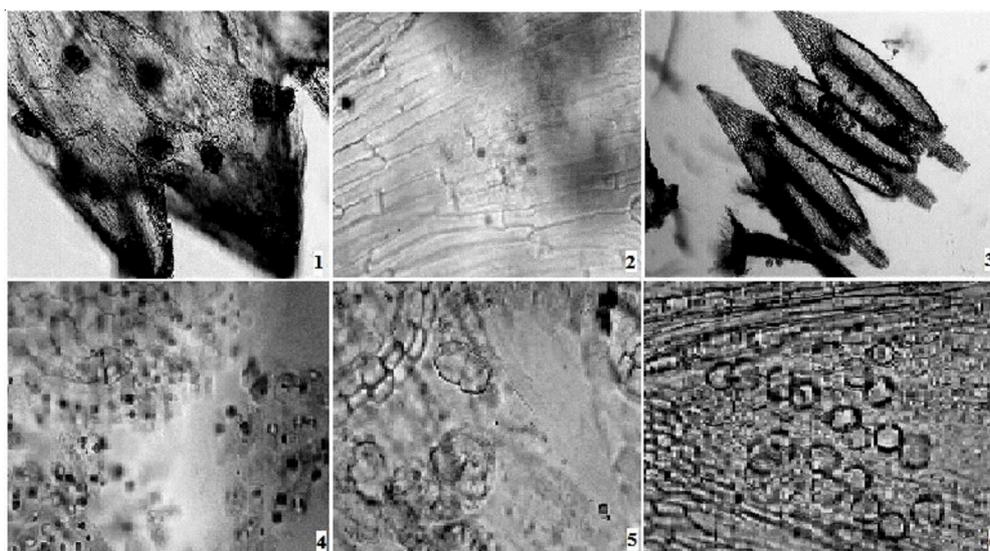


Рис. 3. Фрагменты анатомического строения цветков полыни однолетней:

- 1 – строение трубчатого цветка; 2 – клетки эпидермиса прямоугольно-цилиндрической формы;
 3 – строение ложноязычкового цветка; 4 – эфирномасличные железки на поверхности трубчатого цветка;
 5 – эфирномасличные железки на поверхности ложноязычкового цветка;
 6 – пыльца полыни однолетней, округло-трехгранная, трехбороздная

6. Поляков, П. П. Флора СССР / П. П. Поляков. – М. ; Л., 1961. – Т. 26. – 438 с.

7. Bhakuni, R.S. Secondary metabolites of *Artemisia annua* and their biological activity / R. S. Bhakuni, D. C. Jain, R. P Sharma; S. Kumar // *Curr. Sci.* 2001. – Vol. 80. – Iss.1. – P.35-48.

8. Crespo-Ortiz, M. P. Antitumor activity of artemisinin and its derivatives: from a well-known antimalarial agent to a potential anticancer drug / M. P. Crespo-Ortiz, M. Q. Wei // *BioMed Research International.* – 2011. – Vol. 2012. – P. 1–18.

9. Van der Kooy, F. The content of artemisinin in the *Artemisia annua* tea infusion / F. Van der Kooy, R. Verpoorte // *Planta medica.* – 2011. – Vol. 77. – Iss. 15. – P. 1754–1756.

10. Ranasinghe, A. A rapid screening method for artemisinin and its congeners using Ms/Ms: Search for new analogues in *Artemisia annua* / A. Ranasinghe, J. D. Sweatlock, R. G. Cooks // *Journal of natural products.* – 1993. – Vol. 56. – Iss. 4. – P. 552–563.

11. World Health Organization et al. WHO monograph on good agricultural and collection practices (GACP) for *Artemisia annua* L. – Geneva : WHO Press, 2006. – 58 p.

12. Woerdenbag, H. J. Production of the new antimalarial drug in shoot cultures of *Artemisia annua* L. / H. J. Woerdenbag, J. F. J. Luers, W. Van Uden, N. Pras, Th. Malingre, A. W. Alfermann // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* – 1993. – Vol. 32. – P. 247–257.

REFERENCES

1. Vinyukov D.D., Konovalov D.A. Kolichestvennoye opredeleniye summy seskviterpenovykh laktonov v trave polyni odnoletney [Quantitative determination of the sum of sesquiterpene lactones in the herb of annual wormwood], *Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta - Scientific bulletins of the Belgorod State University, Series: Medicine. Pharmacy*, 2011, T. 15, no.16 (111), pp. 233-236.

2. Konovalov D.A., Shevchuk O.M., Logvinenko L.A., Khamilonov A.A. Biologicheski aktivnyye soyedineniya polyni odnoletney. Seskviterpenovyye laktony [Biologically active wormwood compounds annual. Sesquiterpene

lactones], *Farmatsiya i farmakologiya- Pharmacy and Pharmacology*, 2016, T. 4, no 5, pp. 4-35.

3. Konovalov D.A., Vinyukov D.D. Polyn' odnoletnyaya i yeyo lekarstvennoye znachenie [Wormwood is one year old and its medicinal value]. *Pyatigorsk, Pyatigorskiy filial VolgGMU*, 2013, 153 p.

4. Konovalov D.A., Khamilonov A.A. Biologicheski aktivnyye soyedineniya polyni odnoletney. Efirnoye maslo [Biologically active wormwood compounds annual. Essential Oil], *Farmatsiya i farmakologiya - Pharmacy and Pharmacology*, 2016, T. 4, no. 4, pp. 4-33.

5. Konovalov D.A., Tiraspol'skaya S.G., Alfimova G.V., Samoryadova A.B. Izucheniye korney polyni odnoletney s tsel'yu sozdaniya novykh lekarstvennykh sredstv otechestvennogo proizvodstva [Study of the roots of *Artemisia* one-year with the goal of creating new medicines of domestic production], *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya - Modern problems of science and education*, 2013, no.4, pp. 346.

6. Polyakov P.P. Flora SSSR [Flora of the USSR] / Pod red. V. Komarova. Moskva, Leningrad, 1961. vol. 26, pp. 438.

7. Bhakuni R. S., Jain D. C., Sharma R. P., Kumar S. Secondary metabolites of *Artemisia annua* and their biological activity, *Curr. Sci.*, 2001, vol. 80, Iss. 1, pp. 35-48.

8. Crespo-Ortiz M.P., Wei M.Q. Antitumor activity of artemisinin and its derivatives: from a well-known antimalarial agent to a potential anticancer drug, *BioMed Research International*, 2011, vol. 2012, pp. 1-18.

9. Van der Kooy F., Verpoorte R. The content of artemisinin in the *Artemisia annua* tea infusion, *Planta medica*, 2011, Vol. 77, Iss.15, pp. 1754-1756.

10. Ranasinghe A., Sweatlock J.D., Cooks R.G. A rapid screening method for artemisinin and its congeners using Ms/Ms: Search for new analogues in *Artemisia annua*, *Journal of natural products*, 1993, Vol. 56, Iss. 4, pp. 552–563.

11. World Health Organization et al. WHO monograph on good agricultural and collection practices (GACP) for *Artemisia annua* L. Geneva, WHO Press, 2006, 58 p.

12. Woerdenbag H.J., Luers J.F.J., Van Uden W., Pras N., Malingre Th., Alfermann A.W. Production of the new antimalarial drug in shoot cultures of *Artemisia annua* L., *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 1993, Vol. 32, pp. 247–257.

Information about the Authors

Artur A. Hamiltonov, Full-time post-graduate student, Department of Pharmacognosy and Botany, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University of the Ministry of Health Care of Russia, prosp. Kalinina, 11, 357501 Pyatigorsk, Russian Federation, spartan400@yandex.ru.

Fatima K. Serebrjanaja, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University of the Ministry of Health Care of Russia, prosp. Kalinina, 11, 357501 Pyatigorsk, Russian Federation, fatimasereb@yandex.ru.

Dmitrij A. Konovalov, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Deputy Director for Research, Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University of the Ministry of Health Care of Russia, prosp. Kalinina, 11, 357501, Pyatigorsk, Russian Federation, d.a.konovalov@pmedpharm.ru.

Inna A. Bocharova, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Biology, Volgograd State University, prosp. Universitetskij, 100, 400062 Volgograd, Russian Federation, innavova50@rambler.ru.

Natal'ja S. Melihova, student of the master's program, Department of Biology, Volgograd State University, prosp. Universitetskij, 100, 400062 Volgograd, Russian Federation, bugnatasha7@mail.ru.

Информация об авторах

Артур Александрович Хамилонов, очный аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники, Пятигорский медико-фармацевтический институт (филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России), просп. Калинина, 11, 357501 г. Пятигорск, Российская Федерация, spartan400@yandex.ru.

Фатима Казбековна Серебряная, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники, Пятигорский медико-фармацевтический институт (филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России), просп. Калинина, 11, 357501 г. Пятигорск, Российская Федерация, fatimasereb@yandex.ru.

Дмитрий Алексеевич Коновалов, доктор фармацевтических наук, профессор, зам. директора по научной работе, Пятигорский медико-фармацевтический институт (филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России), просп. Калинина, 11, 357501 г. Пятигорск, Российская Федерация, d.a.konovalov@pmedpharm.ru.

Инна Анатольевна Бочарова, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии, ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», просп. Университетский, 100, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация, innavova50@rambler.ru.

Наталья Сергеевна Мелихова, магистрант кафедры биологии, ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», просп. Университетский, 100, 400062 г. Волгоград, Российская Федерация, bugnatasha7@mail.ru.