



Фармакогностичні дослідження трави *Trifolium fragiferum* L. флори півдня України

О. В. Гречана ^{ID}*1,A,D, А. Г. Сербін ^{ID}2,C,F, О. О. Салій ^{ID}3,A,C, А. М. Рудник ^{ID}1,A,E, І. М. Шевченко ^{ID}1,D, Л. А. Фуклева ^{ID}1,E

¹Запорізький державний медичний університет, Україна, ²Сумський національний аграрний університет, Україна, ³Київський національний університет технологій та дизайну, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Робота присвячена дослідженню надземної частини представника роду конюшина флори півдня України *Trifolium fragiferum* L.

Мета роботи – дослідження надземної частини представника флори півдня України конюшини сунічної, що має достатню сировинну базу та історію використання в народній медицині.

Матеріали та методи. Зразки вирощували в передмісті Запоріжжя та заготовляли у період повного цвітіння (травень – червень). Мікроскопічний аналіз виконали з тимчасовими препаратами листка та стебел. Рослинні екстракти аналізували хроматографічно, використовуючи газовий хроматограф Agilent Technologies 6890 із мас-спектрометричним детектуванням.

Результати. Листок вкритий паренхімними клітинами з ледь потовщеними оболонками з аноміцитними продирами. Основна паренхіма складена з округлих тонкостінних клітин. Стебло округле, вкрите видовженими паренхімними клітинами з тонкими оболонками майже без продихів та опушення. Центральний осьовий циліндр пучкового типу. Пучки відкриті колатеральні, крупні. Над флоемою пучків є багатшарова склеренхіма. Серцевина частково виповнена, в центрі порожниста. У нативному екстракті виявлено 63 сполуки, з них ідентифікували 37: кумарини, жирні кислоти, дитерпенові спирти, оксигеновані вуглеводні терпеноїдної природи, вищі вуглеводні, представники фітостеролів і фітостеринів. Після кислотного гідролізу кислотою сульфатною знайдено 58 сполук, з них ідентифікували 49: кумарини, спирти та феноли, альдегіди та кетони, сполуки дитерпенової природи.

Висновки. Фармакогностичний аналіз представника роду конюшина *Trifolium fragiferum* L. дав змогу встановити діагностичні мікроскопічні ознаки листка та стебла. Порівняли компоненти нативного екстракту та після його кислотного гідролізу. Визначили закономірності розподілу класів речовин, що характеризували лише певний тип екстракту. Так, монотерпеноїди, ароматичні, гетероциклічні сполуки виявили в гідролізованому продукті, а сесквітерпени та стероїдні сполуки – тільки в нативному екстракті трави конюшини сунічної. Спирти, альдегіди та кетони становили більшість у гідролізованому екстракті, а вуглеводнів виявили більше у нативному. Лише 5 компонентів ідентифіковано в обох витягах: наокозан, 2-феноксіетанол, лоліолід, дигідроактинідіолід і кумарин, що істотно відрізнялися за кількістю.

Ключові слова: мікроскопічна діагностика, фітохімія, хімічний склад, *Trifolii fragiferi* трава.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2022. Т. 15, № 3(40). С. 241–249

Pharmacognostic studies of *Trifolium fragiferum* L. flora of Southern Ukraine

O. V. Grechana, A. H. Serbin, O. O. Saliy, A. M. Rudnyk, I. M. Shevchenko, L. A. Fukleva

The work is devoted to the study of herbs of the representative genus Clover *Trifolium fragiferum* L. from the south Ukrainian flora.

The aim of this research is to investigate the representative of Southern Ukraine flora *Trifolium fragiferum* L. which has a sufficient raw material base and use in folk medicine.

Materials and methods. Samples were grown in the suburbs of Zaporizhzhia and harvested during full flowering (May – June). Microscopic analysis was performed with temporary preparations of leaves and stems. Plant extracts were analyzed chromatographically using an Agilent Technologies 6890 gas chromatograph with mass spectrometric detection.

Results. The leaf is covered with parenchymal cells with slightly thickened membranes with anocytic stomata. The main parenchyma is composed of rounded toxoid cells. Stem rounded, covered with elongated parenchymal cells with thin membranes with almost no stomata and pubescence. Central axial cylinder is of beam type. Beams are open collateral, large. Above the phloem of the bundles is a multilayered sclerenchyma. The core is partially filled, hollow in the center. 63 compounds were found in the native extract, of which 37 were identified: coumarins, fatty acids, diterpene alcohols, oxygenated hydrocarbons of terpenoid nature, higher hydrocarbons, representatives of phytosterols, and phytosterols. After acid hydrolysis with sulfuric acid, 58 compounds were found, of which 49 were identified: coumarins, alcohols and phenols, aldehydes and ketones, compounds of diterpene nature.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/259400>

UDC 615.322:582.736.3].07(477.7)

DOI: [10.14739/2409-2932.2022.3.259400](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2022.3.259400)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2022; 15 (3), 241–249

Key words: chemical composition, microscopic diagnostics, phytochemistry, *Trifolium fragiferum* herb.

*E-mail: elenagrechanaya1310@gmail.com

Received: 27.07.2022 // Revised: 17.08.2022 // Accepted: 22.08.2022

Conclusions. Pharmacognostic analysis of the genus Clover *Trifolium fragiferum* L. revealed diagnostic microscopic signs of leaves and stems. The components of the native extract are compared, and after its acid hydrolysis. Certain regularities in the distribution of classes of substances that characterized certain types of extracts were revealed: monoterpenoids, aromatic, heterocyclic compounds characterized the hydrolyzed product. Sesquiterpenes and steroid compounds are found only in the native extract of strawberry clover herb. Alcohols, aldehydes, and ketones were the majority in the hydrolyzed extract, and hydrocarbons were observed more in the native. Only 5 components were identified in both extracts: nonacosan, 2-phenoxyethanol, loliolide, dihydroactinidiolide and coumarin with significant differences in amounts.

Key words: chemical composition, microscopic diagnostics, phytochemistry, *Trifolium fragiferum* herb.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2022; 15 (3), 241–249

Одна з найбільших родин серед квіткових рослин – бобові (*Fabaceae* L. або *Leguminosae* L.), включає 600–700 родів і понад 12–17 тис. однорічних і багаторічних видів трав, чагарників, ліан, рідше дерев, що здебільшого характерні для тропіків [1–3]. Україна є ареалом для понад 60 родів і 1800 видів цієї родини [2].

На заплавах луках, степових схилах та узліссях Європейського континенту ростуть численні представники роду конюшина (*Trifolium* L.), вищі покритонасінні багаторічні трав'янисті рослини родини *Fabaceae* L. [4–6]. На території південної частини України трапляється чимало видів конюшини, але Державна фармакопея України включає один – *Trifolium pratense* L. Його лікарською рослиною сировиною є суцвіття, що зрізають разом із верхівковим листям під час повного цвітіння рослин [7,8].

У фаховій літературі наведено детальні рекомендації щодо ідентифікації типового зразка *Trifolium pratense* у природі та серед гербарних зразків. Проте в природі зростає багато проміжних (перехідних) форм та інших видів, що поєднують ознаки *T. pratense* (*T. repens*, *T. incarnatum*); це серйозно ускладнює закладку гербарних зразків та ідентифікацію в природі [5,9–11].

Зазначимо, що ретельний ботанічний опис морфології та анатомії рослини не збігається з фармакогностичними діагностичними ознаками під час товарознавчого аналізу лікарської рослинної сировини та її ідентифікації.

Ця робота присвячена дослідженню надземної частини іншого представника роду конюшина з достатніми ресурсами на півдні України, а саме конюшини суничної (*Trifolium fragiferum* L.) – багаторічної низькорослої рослини з повзучими стеблами, що вкорінюються в вузлах. Росте здебільшого на вологих, погано дренованих ґрунтах, часто засоленіх. Жилки листка конюшини суничної мають характерні сполучення з прожилками; на черешках і жилках є трихоми з нижнього боку листка. Прилистки здебільшого помітні, поступово звужуються до верхівки. Суцвіття кулясте, компактне, з рожевими або фіолетово-червоними квітками; є 1–2 серцеподібних світло-коричневих насінини з темно-коричневими крапленнями.

Із попередніх досліджень відомо, що види *Trifolium* багаті на білки, є дані про вміст великої кількості біологічно активних вторинних метаболітів. Автори зосереджувалися на розділенні трьох ізофлавонів: формонетину, дайдеїну і геністеїну – у 11 багаторічних і 4 однорічних видах *Trifolium*. Виявили таку тенденцію загальних концентрацій ізофлавонів у листках, стеблах і квітках конюшин багаторічних: *T. medium* (6,01 мг/г, 3,50 мг/г та 2,93 мг/г відповідно) > *T. pratense* > *T. fragiferum* >... [12,13].

Ціаногенні глікозиди лотавстралін і лінамарин у надземній частині конюшини суничної виявили польські дослідники. Порівняльний аналіз *in vitro* властивостей поглинання вільних радикалів екстрактів видів *Trifolium* показав, що конюшина сунична може бути джерелом сильних антиоксидантів у фенольній фракції, виділеній з надземної частини *T. fragiferum* [14].

Виявили нові дані щодо впливу рослини на компоненти крові. Здійснили порівняльний аналіз *in vitro* антитромбоцитарних властивостей фенольної фракції *T. fragiferum*, виявили інгібувальну дію рослинного препарату на активацію тромбоцитів крові. Народна медицина використовує траву *T. fragiferum* L. при диспепсіях, зовнішньо – для лікування ран та опіків [15,16].

Мета роботи

Дослідження надземної частини представника флори півдня України конюшини суничної, що має достатню сировинну базу та історію використання в народній медицині.

Матеріали і методи дослідження

Під час дослідження застосовували хлоралгідрат кристалічний 99,5–101,0 % фармакопейної чистоти в оригінальній упаковці виробництва Sigma (Німеччина), а також хлористий метилен (метиленхлорид або хлористий метан) 99,9 % чистий для аналізу виробництва Merck (Erba Lachema, Німеччина). Крім того, використовували тридекан (чистоти для аналізу $\geq 99\%$) і кислоту сульфатну (ступінь чистоти для аналізу – 99,99 %) виробництва Sigma-Aldrich (Німеччина), натрію гідроксид кристалічний 98 %, хімічно чистий виробництва Brenntag СЕЕ GmbH (Австрія).

Рослини *Trifolium fragiferum* L., які заготовляли для досліджень, вирощені з колекційного насіння кафедри ботаніки Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна в передмісті Запоріжжя (село Приморське – 47°37'28" пн. ш., 35°17'39" сх. д.) у 2019–2021 рр. Рослини культивували за однакових умов, заготовляли в тому самому періоді, щоб виключити залежність змін структури сировини й епідермісу листя від навколишніх, сезонних метеорологічних умов, віку в фенологічний період повного цвітіння (травень – червень). Попередньо підсушену сировину досушували під укриттям або в добре провітрюваному місці, стежили за тим, щоб суцвіття не пересохли та не осипалися. Одержали 20 % сухої сировини.

Ідентифікацію виду підтвердили на кафедрі ботаніки Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, Україна (завідувач кафедри, зберігач гербарію – доцент Ю. Г. Гамуля).

Для мікроскопічного аналізу використали тимчасові препарати листка та стебел, що попередньо кип'ятили в розчині гідроксиду натрію (5 %, вод.) без використання барвників. Поперечні зрізи зробили лезом [17]. На тимчасових препаратах визначили форму клітин епідермісу, тип продихової системи, судинну тканину, структуру трихом, залозистих (секреторних) трихом тощо.

Препарати досліджували на мікроскопі Axioskop 40 (Zeiss, Німеччина), фотографії зробили камерою Canon PS G7 (Японія). Тип апарату продихів визначали за класифікацією М. О. Баранової, опис клітин епідермісу здійснили за відомими методиками [18–20].

Дослідження нативного екстракту. До наважки рослинного матеріалу *Trifolium fragiferum* L. (50–100 мг), попередньо подрібненого до порошкоподібного стану, додавали 50 мкг додекану як внутрішнього стандарту й екстрагенту (хлористий метилен). Екстрагували протягом доби за кімнатної температури, переливали екстракт у віалу на 2 мл й упарювали до об'єму 0,1 мл. Одержаний екстракт відбирали хроматографічним шприцом.

Екстракт аналізували хроматографічно, використовуючи газо-рідинний хроматограф Agilent Technologies 6890 (Agilent, США). Детектування здійснили в автоматичному режимі за допомогою мас-спектрометричного детектора. Хроматограф обладнано хроматографічною колонкою капілярною (ферула – графіт) із внутрішнім діаметром 0,25 мм і завдовжки 30 м. Газ-носії – гелій зі швидкістю подачі 1,2 мл/хв. Проби попередньо нагрівали.

Температуру термостата градієнтно програмували зі швидкістю 4 °С/хв.

Для ідентифікації компонентів використали бібліотеку мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів понад 470 000 в поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST. Для кількісних розрахунків застосували метод внутрішнього стандарту. Розраховали вміст компонентів (мг/кг) за формулою:

$$C = K_1 \times K_2, \quad (1)$$

де $K_1 = S_1 / S_2$; S_1 – площа піка досліджуваної сполуки; S_2 – площа піка стандарту; $K_2 = 50 / M$; 50 – маса внутрішнього стандарту, мкг, введеного в зразок; M – наважка зразка, г.

Дослідження гідролізованого екстракту. Наважку рослинного матеріалу (100 мг) подрібнювали до порошкоподібного стану, заливали водою (2 мл), додавали тридекан як внутрішній стандарт і 3 крапліни 10 % розчину кислоти сульфатної. Витримували за температури 50 °С протягом 8 годин для гідролізу зв'язаних компонентів. Суміш охолоджували, додавали 2 мл хлористого метилену. Компоненти екстрагували легким струшуванням протягом 2 годин. Хлористий метилен відбирали та випарювали до об'єму 50 мкл.

Аналіз, кількісні розрахунки здійснювали так само, як попередні.

Результати

Під час мікроскопічного дослідження надземної частини конюшини суничної виявлені такі особливості будови: клітини верхньої епідерми листка округлі, невеликі, паренхімні з ледь потовщеними оболонками (рис. 1А, а); продихи часті (рис. 1А, б), оточені трьома, рідше чотирма біляпродиховими клітинами; тип продихового апарату – аномоцитний.

Клітини нижньої епідерми більші, зі звивистими оболонками (рис. 1В, а). Опушення верхньої епідерми немає, нижньої – рідке, утворене довгими одноклітинними трихомами (рис. 1С, а).

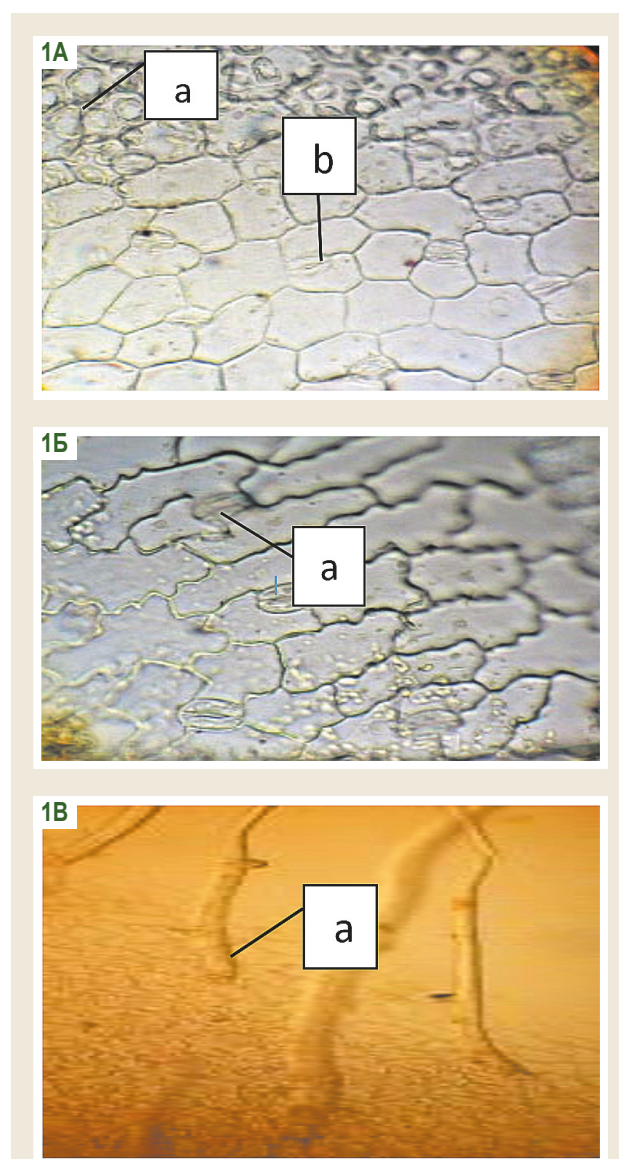


Рис. 1. Фрагменти епідерми листка *Trifolium fragiferum* L. А. Верхня епідерма. а: паренхімні клітини; б: продих аномоцитного типу. В. Нижня епідерма. а: звивистостінні клітини. С. Трихоми на поверхні листка. а: трихома.

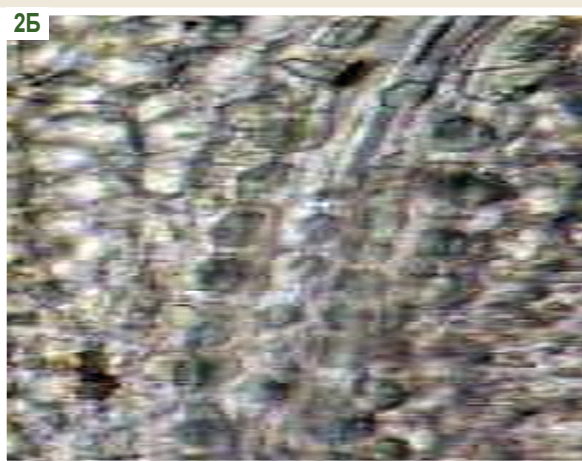
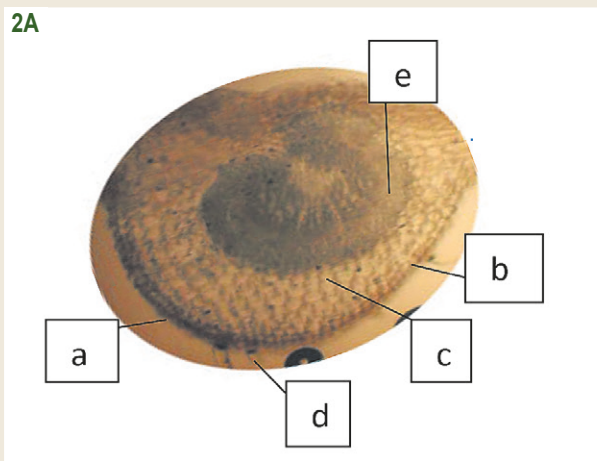


Рис. 2. Фрагменти жилки листка *Trifolium fragiferum* L. **А.** Поперечний зріз. **а:** опуклість з нижнього боку листка; **б:** епідерма; **с:** основна паренхіма; **д:** трихоми; **е:** закритий колатеральний провідний пучок. **В.** Кристалоносна обкладинка жилки.

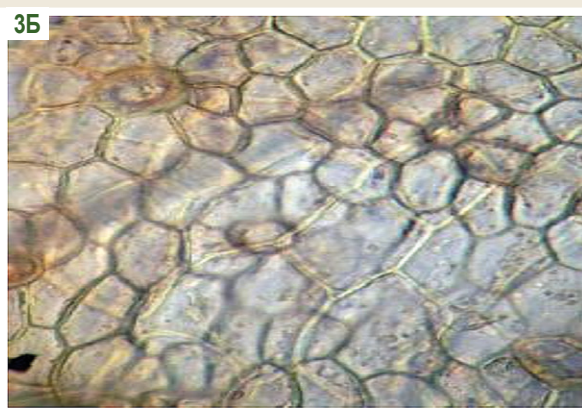
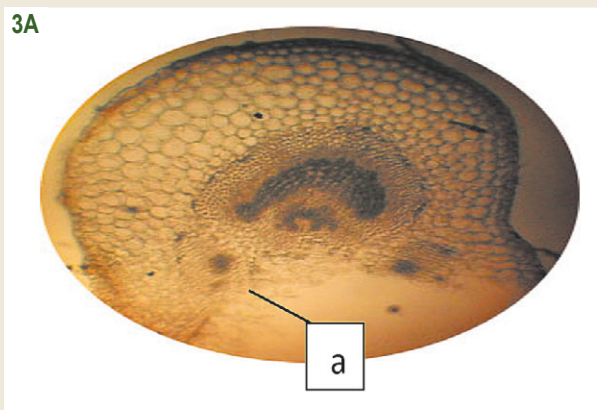


Рис. 3. Фрагменти черешка листка. **А.** Поперечний зріз. **а:** одноклітинні трихоми. **В:** епідерма.

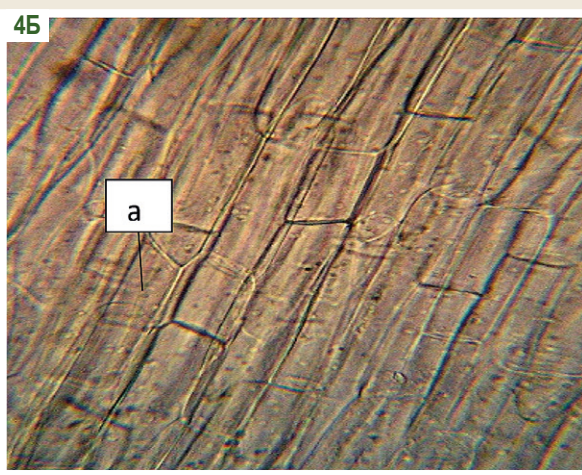
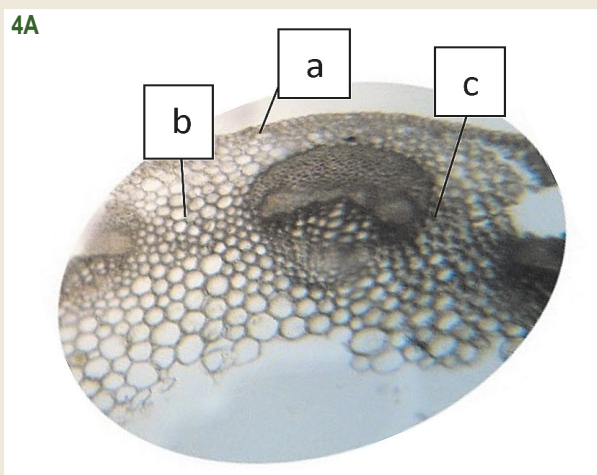


Рис. 4. Фрагменти стебла. **А.** Поперечний зріз. **а:** епідерма; **б:** основна паренхіма; **с:** провідний пучок. **В.** Епідерма. **а:** прорих аномоцитного типу.

Жилка листка округла, значно опукла з нижнього боку листка (рис. 2А, а). Епідерма жилки складається з паренхімних тонкостінних клітин (рис. 2А, б). Опущення жилки рідке, утворене трихомами на нижній епідермі (рис. 2А, д). Під епідермою – основна паренхіма з округлими тонкостінними клітинами (рис. 2А, с). В центрі жилки є

один великий закритий колатеральний провідний пучок (рис. 2А, е). У жилці з нижнього боку листка конюшини сунічної розташована кристалоносна обкладинка, утворена поодинокими кристалами кальцію оксалату (рис. 2В).

Черешок округлої форми (рис. 3А), вкритий епідермою (рис. 3В) – паренхімними, прямостінними клітинами

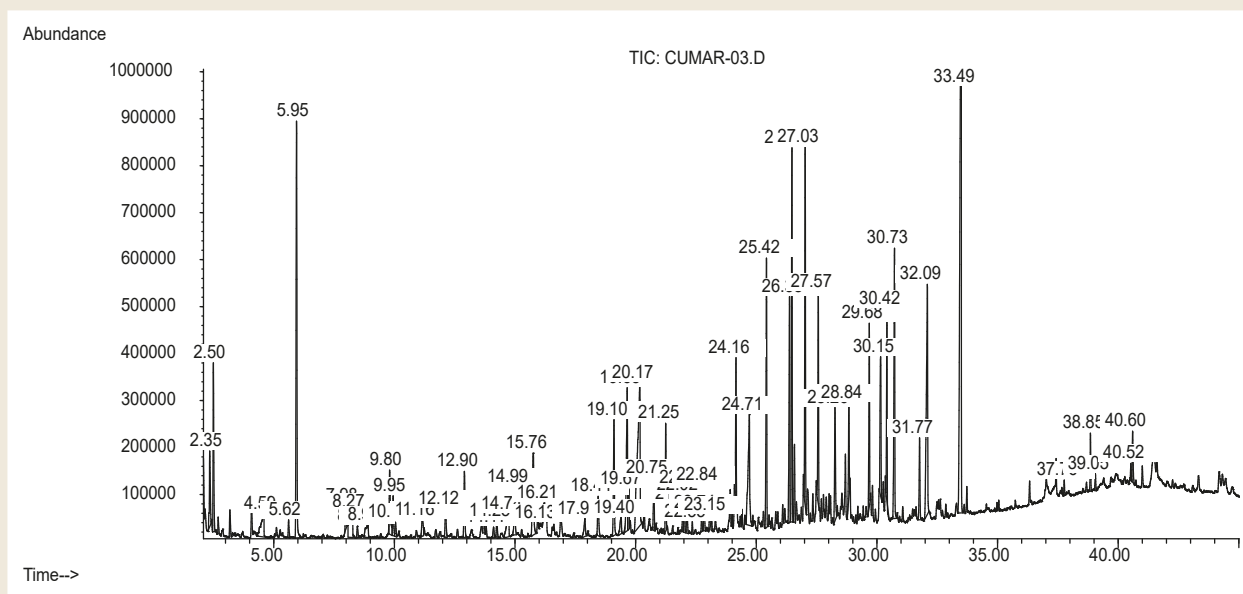


Рис. 5. Хроматограма нативного екстракту конюшини суничної.

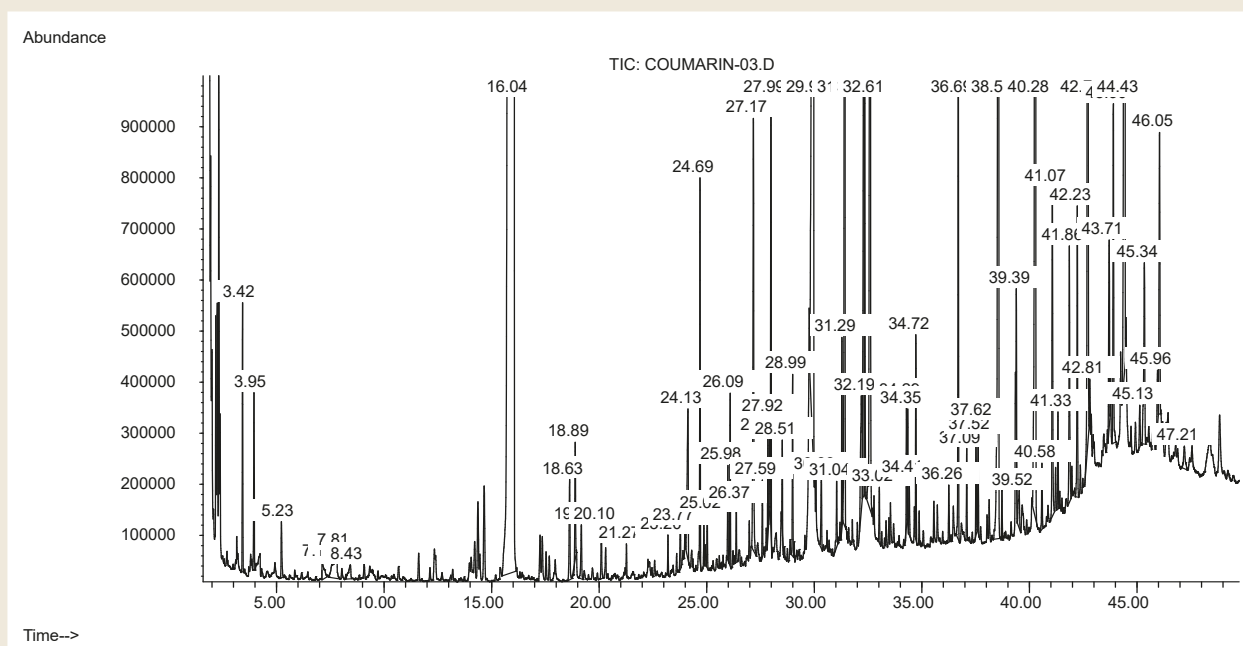


Рис. 6. Хроматограма екстракту конюшини суничної після гідролізу.

з потовщеними оболонками. Під епідермою – основна паренхіма з округлими тонкостінними клітинами. У центрі розташований один закритий колатеральний провідний пучок. Опушення черешка середнє, волоски довгі, одноклітинні, біля основи мають розетку з базисних епідермальних клітин (рис. 3А, а).

Стебло *Trifolium fragiferum* L. округлої форми (рис. 4А). Клітини епідерми видовжені, паренхімні або прозенхімні з тонкими оболонками (рис. 4В). Продихи трапляються рідко (рис. 4В, а). Продиховий апарат аноміцитарного типу. Опушення стебла немає. Під епідермою (рис. 4А, а) стебла – основна паренхіма (рис. 4А, б), що складається з округлих

тонкостінних клітин. Центральний осьовий циліндр пучкового типу. Пучки (рис. 4А, с) відкриті колатеральні, великі.

Над флоемою пучків є багатшарова склеренхіма, що менш виражена з боку ксилеми. Серцевина частково вповнена основною паренхімою, в центрі порожниста.

Хроматографічне дослідження компонентів конюшини суничної. У нативному екстракті конюшини суничної (рис. 5) виявили 63 сполуки в кількості 781,00 мг у 1000 г, із них ідентифікували 37.

Під час газової хроматографії сировини конюшини суничної після кислотного гідролізу виявили 58 сполук (3748,00 мг у 1000 г), із них ідентифікували 49 (рис. 6).

Обговорення

З-поміж сполук із класу істинних кумаринів у заготовлених надземних частинах конюшини суничної ідентифікували кумарин (0,15 мг %). Встановили кількість компонентів, що належать до класів жирних кислот, а саме пальмітинової та ліноленої кислоти – 9,25 мг % та 3,82 мг % відповідно.

У сировині конюшини суничної під час газової хроматографії ідентифікували біологічно активні органічні сполуки з різних класів: дитерпеновий спирт фітол (5,52 мг %), що має C20 вуглеводневий скелет, утворений чотирма ізопреновими ланками, поширений у зелених рослинах як компонент молекул хлорофілу, де він міститься як складний ефір і вітаміни Е, К; оксигеновані вуглеводні терпеноїдної природи цис-неофітадієн (1,66 мг %), гексагідрофарнезилацетон (1,44 мг %); вищі вуглеводні наонакозан (9,03 мг %), гептакозан (1,46 мг %); представники фітостеролів і фітостеринів гентріаконтан (9,08 мг %), стигмастерол (1,13 мг %) та γ -ситостерол (6,22 мг %).

У рослинному матеріалі конюшини суничної після гідролізу (у зв'язаному стані) ідентифікували компоненти класу кумаринів: дигідрокумарин (3,10 мг %), кумарин (14,60 мг

%), 7-оксикумарин (20,90 мг %) і скополетин (55,2 мг %). Загалом вони становили 25 % від загальної маси речовин.

Привертає увагу кількість компонентів, що належать до класу спиртів і фенолів – 2-феноксіетанол (45,0 мг %); альдегідів і кетонів – 3-етил-4-метил-1*H*-пірол-2,5-діон (11,1 мг %) і фурфурол (25,20 мг %), сполуки дитерпенової природи дигідроактинидіолід, лоліолід (19,80 мг % і 17,20 мг % відповідно), 3-окси- β -дамаскон (10,9 мг %).

Виявили високий вміст одноосновної граничної карбонової кислоти оксононаної (12,6 мг %) та монокарбонової фенольної саліцилової (25,5 мг %).

Цінний компонент екстракту конюшини суничної після кислотного гідролізу – 3-окси- β -дамаскон, кетон троянди (10,9 мг %), що є представником терпенових сполук, продукт перетворень β -каротину.

У результаті порівняльного аналізу компонентів обох витягів виявили: деякі класи речовин характерні лише для певного типу екстракту. Так, монотерпеноїди, ароматичні, гетероциклічні сполуки характеризували гідролізований продукт, а сесквітерпени та стероїдні сполуки виявили тільки в нативному екстракті трави конюшини суничної (табл. 1).

Таблиця 1. Порівняльна характеристика екстрактів конюшини суничної, мг/1000 г

№ з/п	Назва речовини	Нативний екстракт	Гідролізований продукт	№ з/п	Назва речовини	Нативний екстракт	Гідролізований продукт
Вуглеводні				Сесквітерпени			
1	монотерпени	3,3	–	41	гексагідрофарнезилацетон	14,4	41,0
2	пентадекан	0,8	–	Дитерпени			
3	октадекан	1,6	–	42	дигідроактинидіолід	4,9	198,0
4	гентріаконтан	90,8	–	43	цис-неофітадієн	16,6	–
5	нонакозан	90,3	25,0	44	транс-неофітадієн	2,3	–
6	пентакозан	5,3	–	45	цис,транс-неофітадієн	1,9	–
7	гептакозан	14,6	–	46	фітол	55,2	–
Спирти і феноли				Лактони			
8	β -фенілетилловий спирт	–	37,0	47	γ -капролактон	–	12,0
9	бензиловий спирт	–	22,0	48	бутиролактон	–	–
10	2-метокси-4-вінілфенол	–	57,0	49	мальтол	–	83,0
11	1-октен-3-ол	–	14,0	50	лоліолід	2,5	172,0
12	2-феноксіетанол	4,0	77,0	Тритерпенові сапоніни			
13	4-(3-окси-1-пропеніл)-2-метоксифенол	–	86,0	51	β -амірин	8,9	–
Альдегіди і кетони				52	α -амірин	10,7	–
14	3-метилбутанон-2	–	50,0	53	сквален	–	9,0
15	метилізопропенілкетон	–	84,0	54	лупеол	2,3	–
16	пірол-2,5-діон	2,3	–	Стероїди			
17	2-гексеналь	–	10,0	55	кемпестерол	7,2	–
18	2-гептеналь	–	7,0	56	стигмастерол	11,3	–
19	фурфурол	–	252,0	57	γ -ситостерол	62,2	–
20	5-метилфурфурол	–	10,0	Ароматичні сполуки			
21	бензальдегід	–	51,0	58	цис-ізоевгенол	–	15,0

Продовження таблиці 1.

№ з/п	Назва речовини	Нативний екстракт	Гідролізований продукт	№ з/п	Назва речовини	Нативний екстракт	Гідролізований продукт
22	пара-оксибензальдегід	–	12,0	Похідні гетероциклічних сполук			
23	фенілацетальдегід	–	45,0	59	5-пентил-2(5H)-фуранон	–	7,0
24	3-етеніл-4-метил-1H-пірол-2,5-діон	–	32,0	60	дигідро-5-пентил-2(3H)-фуранон	–	10,0
25	3-етил-4-метил-1H-пірол-2,5-діон	–	111,0	Карбонові кислоти та їх ефіри			
26	4-окси-3,5,5-триметил-4-(3-оксо-1-бутеніл)-2-циклогексен-1-он	–	79,0	61	гексанова кислота	4,9	60,0
27	6-метил-3,5-гептадієн-2-он	–	8,0	62	гексенова кислота	1,5	–
28	індол-5-альдегід	–	46,0	63	2-гексенова кислота	–	24,0
29	бузковий альдегід	–	48,0	64	гептадеканова кислота	2,3	–
30	ванілін	–	63,0	65	додеканова кислота	7,8	–
Домішка				66	стеаринова кислота	25,1	–
31	фталат	2,3+4,6	–	67	ейкозанова кислота	1,6	–
32	ізопропіллаурат (домішка)	9,8	–	68	каприлова кислота	–	37,0
33	диметилсульфоксид	1,7	–	69	капринова кислота	–	18,0
Кумарини				70	олеїнова кислота	7,2	–
34	кумарин	1,5	146,0	71	пентадеканова кислота	2,0	–
35	дигідрокумарин	–	31,0	72	пальмітинова кислота	92,5	90,0
36	7-оксикумарин	–	209,0	73	фенілоцтова кислота	–	18,0
37	скополетин (7-окси-6-метоксикумарин)	–	552,0	74	саліцилова кислота	–	255,0
Терпеноїди				75	лінолева кислота	16,4	–
Монотерпеноїди				76	ліноленова кислота	38,2	–
38	транс-ліналоолуксид	–	17,0	77	9-оксононанова кислота	–	126,0
39	2-окси-β-дамаскон	–	74,0	78	ізовалеріанова кислота	–	49,0
40	3-окси-β-дамаскон	–	109,0				

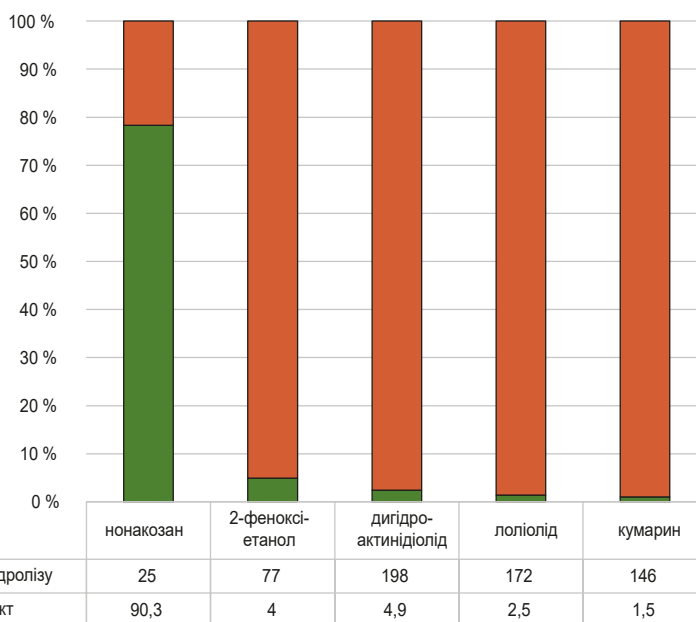


Рис. 7. Ідентичні сполуки обох екстрактів конюшини суничної.

Встановили, що спирти, альдегіди та кетони накопичуються переважно в гідролізованому екстракті, а сполук із класу вуглеводнів більше в нативному.

Крім того, з-поміж 78 компонентів тільки 5 ідентифікували в обох витягах: наокозан, 2-феноксіетанол, лоліолід, дигідроактинідіолід і кумарин (рис. 7). Кількість цих сполук змінюється у широкому діапазоні: вищий насичений парафін наокозан зменшується в 3,72 раза, спирт 2-феноксіетанол, дитерпен дигідроактинідіолід, лактон лоліолід і кумарин збільшуються у 19,25, 40,41, 68,8 і 97,33 раза відповідно.

Висновки

1. Здійснили фармакогностичний аналіз представника роду конюшина *Trifolium fragiferum* L.

2. Встановили діагностичні фармакогностичні, мікроскопічні ознаки листка та стебла, порівняли компоненти нативного екстракту з надземної частини рослини та після його кислотного гідролізу.

3. Визначили закономірності розподілу класів речовин, що характеризували лише певний тип екстракту. Так, монотерпеноїди, ароматичні, гетероциклічні сполуки виявили в гідролізованому продукті, а сесквітерпени та стероїдні сполуки – тільки в нативному екстракті трави конюшини суничної. За накопиченням спиртів, альдегідів та кетонів переважав гідролізований екстракт, більше вуглеводнів виявили в нативному.

4. З-поміж 78 компонентів тільки 5 ідентифікували в обох витягах: наокозан, 2-феноксіетанол, лоліолід, дигідроактинідіолід і кумарин, – що мали істотну різницю за кількістю.

Фінансування

Робота виконана у рамках НДР Запорізького державного медичного університету: «Пошук та дослідження нових джерел лікарської рослинної сировини, створення субстанцій та лікарських засобів на їх основі», № держреєстрації 0120U102600.

Подяка

Колектив авторів дякує ректорові Запорізького державного медичного університету Ю. М. Колеснику за надану можливість здійснювати експерименти, а також колегам з кафедри фармакогнозії, фармакології і ботаніки за допомогу.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Гречана О. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-1756-6372](https://orcid.org/0000-0002-1756-6372)

Сербін А. Г., д-р фарм. наук, професор каф. фармації, Сумський національний аграрний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-6247-7520](https://orcid.org/0000-0002-6247-7520)

Салій О. О., канд. фарм. наук, доцент каф. промислової фармації, Київський національний університет технологій та дизайну, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-7103-2083](https://orcid.org/0000-0001-7103-2083)

Рудник А. М., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-2860-0967](https://orcid.org/0000-0003-2860-0967)

Шевченко І. М., канд. фарм. наук, доцент каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5985-5092](https://orcid.org/0000-0002-5985-5092)

Фуклева Л. А., канд. фарм. наук, старший викладач каф. управління і економіки фармації та фармацевтичної технології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-2930-0619](https://orcid.org/0000-0002-2930-0619)

Information about authors:

Grechana O. V., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Serbin A. H., PhD, DSc, Professor of the Department of Pharmacy, Sumy National Agrarian University, Ukraine.

Salii O. O., PhD, Associate Professor of the Department of Industrial Pharmacy, Kyiv National University of Technologies and Design, Ukraine.

Rudnyk A. M., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Shevchenko I. M., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Fukleva L. A., PhD, Associate Professor of the Department of Management and Economics of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

- Endress P. K. The morphological relationship between carpels and ovules in angiosperms: pitfalls of morphological interpretation. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2019. Vol. 189, Iss. 3. P. 201-227. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy083>
- Кокар Н. *Таємничий Світ Рослин*. Тернопіль: Астон, 2020. 240 с.
- Мінарченко В. М. Лікарські рослини України. *Енциклопедія Сучасної України* / І. М. Дзюба, А. І. Жуковський, М. Г. Железняк та ін. Київ: Інститут енциклопедичних досліджень НАН України, 2016. URL: https://esu.com.ua/search_articles.php?id=55467
- Genetic Diversity and Intraspecific Relationships of *Trifolium fragiferum* L. in Iran / M. Haerinasab, F. Ali-Farsangi, F. Bordbar, A. Eslami Farouji. *Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science*. 2020. Vol. 44, Iss. 2. P. 345-354. <https://doi.org/10.1007/s40995-020-00834-2>
- Effect of Salinity on Growth, Ion Accumulation and Mineral Nutrition of Different Accessions of a Crop Wild Relative Legume Species / A. Jėkabsonė, U. Andersone-Ozola, A. Karlsons et al. *Trifolium fragiferum*. *Plants*. 2022. Vol. 11, Iss. 6. P. 797. <https://doi.org/10.3390/plants11060797>
- Taxonomic implications of seed morphology and storage proteins in three tribes of the subfamily Papilionoideae (Fabaceae) in Egypt / M. A. Aboulela, Z. A. El-Karemy, H. A. Hosni et al. *Phytotaxa*. 2021. Vol. 484, Iss. 1. P. 75-95. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.484.1.3>
- Belhouala K., Benarba B. Medicinal Plants Used by Traditional Healers in Algeria: A Multiregional Ethnobotanical Study. *Frontiers in pharmacology* 2021. Vol. 12. P. 760492. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.760492>
- Traditional Uses of Leguminosae among the Karen in Thailand / N. Sutjaritjai, P. Wangpakattanawong, H. Balslev, A. Inta. *Plants*. 2019. Vol. 8, Iss. 12. P. 600. <https://doi.org/10.3390/plants8120600>
- Ghosh D. Quality issues of herbal medicines: internal and external factors. *International Journal of Complementary & Alternative Medicine*. 2018. Vol. 11, Iss. 2. P. 67-69. <https://doi.org/10.15406/ijcam.2018.11.00350>
- Wäldchen J., Mäder P. Plant Species Identification Using Computer Vision Techniques: A Systematic Literature Review. *Archives of computational methods in engineering: state of the art reviews*. 2018. Vol. 25, Iss. 2. P. 507-543. <https://doi.org/10.1007/s11831-016-9206-z>
- Comparative analysis of qualitative anatomical characters of *Trifolium* L. (Fabaceae) and their taxonomic implications: Preliminary results / L. Zoric, L. Merkulov, J. Lukovic, P. Boza. *Plant Systematics and*

- Evolution*. 2012. Vol. 298, Iss. 1. P. 205-219. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0538-8>
- [12] Biologically active compounds from forage plants / A. Tava, E. Biazzi, D. Ronga et al. *Phytochemistry Reviews*. 2022. Vol. 21. P. 471-501. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09779-9>
- [13] Zeb A., Hussain A. Chemo-metric analysis of carotenoids, chlorophylls, and antioxidant activity of *Trifolium hybridum*. *Heliyon*. 2020. Vol. 6, Iss. 1. P. e03195. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03195>
- [14] Phenolic fractions from nine *Trifolium* species modulate the coagulant properties of blood plasma in vitro without cytotoxicity towards blood cells / J. Kolodziejczyk-Czepas, M. Sieradzka, B. Moniuszko-Szajwaj et al. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2018. Vol. 70, Iss. 3. P. 413-425. <https://doi.org/10.1111/jphp.12872>
- [15] Evaluation of stability, physicochemical and antioxidant properties of extracted chlorophyll from Persian clover (*Trifolium resupinatum* L.) / G. R. Mehdipoor Damiri, A. Motamedzadegan, R. Safari et al. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2021. Vol. 15, Iss. 1. P. 327-340. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00614-x>
- [16] Folk medicine in Düzce province (Turkey) / İ. Gürbüz, A. M. Gençler Özkan, G. Akaydin et al. *Turkish Journal of Botany*. 2019. Vol. 43, Iss. 6. P. 769-784. <https://doi.org/10.3906/bot-1905-13>
- [17] Some questions about *Teae folia* (*Thea sinensis* L. seu *Camellia sinensis* L. Kuntze) as a medicinal raw material / O. V. Grechana, A. G. Serbin, S. D. Trzhetsinskii et al. *Eurasian Journal of Biosciences*. 2020. Vol. 14, N 2. P. 2569-2575.
- [18] Editorial: Linking Stomatal Development and Physiology: From Stomatal Models to Non-model Species and Crops / S. McAdam, C. Chater, E. D. Shpak et al. *Frontiers in plant science*. 2021. Vol. 12. P. 743964. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.743964>
- [19] Мікроморфологічні ознаки (Анатомічна структура листків та стебел, ультраструктура насінин) *Sempervivum globiferum* L. / П. М. Воробей, О. А. Футорна, І. Г. Ольшанський та ін. *Екологічні науки*. 2020. № 1. С. 316-323. <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2020.eco.1-28.51>
- [20] Кириленко Н. А. Анатомо-морфологічні особливості вегетативних органів сукулентних рослин у зв'язку з умовами зростання. *Український екологічний журнал*. 2018. Т. 8, № 1. С. 509-515. https://doi.org/10.15421/2018_243
- References**
- [1] Endress, P. K. (2019). The morphological relationship between carpels and ovules in angiosperms: pitfalls of morphological interpretation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 189(3), 201-227. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy083>
- [2] Кокар, Н. (2020). *Taiemnychiy svit Roslyn* [The mysterious world of plants]. Aston. [in Ukrainian].
- [3] Minarchenko, V. M. (2016). Likarski roslyny Ukrainy [Medicinal plants of Ukraine] In *Entsiklopediia Suchasnoi Ukrainy*. Kyiv: Institut entsiklopedichnikh doslidzhen NAN Ukrainy. [in Ukrainian]. https://esu.com.ua/search_articles.php?id=55467
- [4] Haerinasab, M., Ali-Farsangi, F., Bordbar, F., & Eslami Farouji, A. (2020). Genetic Diversity and Intraspecific Relationships of *Trifolium fragiferum* L. in Iran. *Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science*, 44(2), 345-354. <https://doi.org/10.1007/s40995-020-00834-2>
- [5] Jėkabsonė, A., Andersone-Ozola, U., Karlsons, A., Romanovs, M., & Levinsh, G. (2022). Effect of Salinity on Growth, Ion Accumulation and Mineral Nutrition of Different Accessions of a Crop Wild Relative Legume Species, *Trifolium fragiferum*. *Plants*, 11(6), 797. <https://doi.org/10.3390/plants11060797>
- [6] Aboulela, M. A., El-Karemy, Z. A., Hosni, H. A., Saleh, S. M., & Faried, A. M. (2021). Taxonomic implications of seed morphology and storage proteins in three tribes of the subfamily Papilionoideae (Fabaceae) in Egypt. *Phytotaxa*, 484(1), 75-95. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.484.1.3>
- [7] Belhouala, K., & Benarba, B. (2021). Medicinal Plants Used by Traditional Healers in Algeria: A Multiregional Ethnobotanical Study. *Frontiers in pharmacology*, 12, 760492. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.760492>
- [8] Sutjaritjai, N., Wangpakattananawong, P., Balslev, H., & Inta, A. (2019). Traditional Uses of Leguminosae among the Karen in Thailand. *Plants*, 8(12), 600. <https://doi.org/10.3390/plants8120600>
- [9] Ghosh, D. (2018). Quality issues of herbal medicines: internal and external factors. *International Journal of Complementary & Alternative Medicine*, 11(2), 67-69. <https://doi.org/10.15406/ijcam.2018.11.00350>
- [10] Wäldchen, J., & Mäder, P. (2018). Plant Species Identification Using Computer Vision Techniques: A Systematic Literature Review. *Archives of computational methods in engineering : state of the art reviews*, 25(2), 507-543. <https://doi.org/10.1007/s11831-016-9206-z>
- [11] Zoric, L., Merkulov, L., Lukovic, J., & Boza, P. (2012). Comparative analysis of qualitative anatomical characters of *Trifolium* L. (Fabaceae) and their taxonomic implications: Preliminary results. *Plant Systematics and Evolution*, 298(1), 205-219. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0538-8>
- [12] Tava, A., Biazzi, E., Ronga, D., Pecetti, L., & Avato, P. (2022). Biologically active compounds from forage plants. *Phytochemistry Reviews*, 21, 471-501. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09779-9>
- [13] Zeb, A., & Hussain, A. (2020). Chemo-metric analysis of carotenoids, chlorophylls, and antioxidant activity of *Trifolium hybridum*. *Heliyon*, 6(1), e03195. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03195>
- [14] Kolodziejczyk-Czepas, J., Sieradzka, M., Moniuszko-Szajwaj, B., Nowak, P., Oleszek, W., & Stochmal, A. (2018). Phenolic fractions from nine *Trifolium* species modulate the coagulant properties of blood plasma in vitro without cytotoxicity towards blood cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 70(3), 413-425. <https://doi.org/10.1111/jphp.12872>
- [15] Mehdipoor Damiri, G. R., Motamedzadegan, A., Safari, R., Shahidi, S. A., & Ghorbani, A. (2021). Evaluation of stability, physicochemical and antioxidant properties of extracted chlorophyll from Persian clover (*Trifolium resupinatum* L.). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 327-340. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00614-x>
- [16] Gürbüz, İ., Gençler Özkan, A. M., Akaydin, G., Salihoğlu, E., Günbatan, T., Demirci, F., & Yesilada, E. (2019). Folk medicine in Düzce province (Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 43(6), 769-784. <https://doi.org/10.3906/bot-1905-13>
- [17] Grechana, O. V., Serbin, A. G., Trshchinskii, S. D., Panasenko, O. I., Klimenko, L. Yu., Oproshanska, T. V., Salyi, O. O. Some questions about *Teae folia* (*Thea sinensis* L. seu *Camellia sinensis* L. Kuntze) as a medicinal raw material. *Eurasian Journal of Biosciences*. 2020. Vol. 14, N 2. P. 2569-2575.
- [18] McAdam, S., Chater, C., Shpak, E. D., Raissig, M. T., & Dow, G. J. (2021). Editorial: Linking Stomatal Development and Physiology: From Stomatal Models to Non-model Species and Crops. *Frontiers in plant science*, 12, 743964. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.743964>
- [19] Vorobej, P., Futorna, O., Olshanskyy, I., Zhygalova, S., & Bezsmertna, O. (2020). Mikromorfolohichni oznaky (Anatomichna struktura lystkiv ta stebel, ultrastruktura nasynyn) [Mikromorphological study (anatomical structure of lamina surface, ultrastructure of seeds) of *Sempervivum globiferum* L.]. *Ekolohichni nauky*, (1), 316-323. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2020.eco.1-28.51>
- [20] Kirilenko, N. A. Anatomical and morphological features of the vegetative organs of succulent plants regards growth conditions. *Ukrainian Journal of Ecology*, 2018, 8(1), 509-515. https://doi.org/10.15421/2018_243