

ВМІСТ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ КОМПОНЕНТІВ *TRIFOLIUM PRATENSE* L. В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД УМОВ ЗРОСТАННЯ

Довгопола К.А.¹, Гаркава К.Г.²

¹САЗ ОРСЦЗ ДСНС України, salashna@ukr.net

²КПІ ім. Ігоря Сікорського

Abstract

The issues regarding the prospects of using Trifolium pratense L. as a medicinal plant raw material are highlighted. The content of ascorbic acid and flavonoids in the plant was determined. The effectiveness of the influence of meadow clover on the level of osmotic resistance of erythrocyte membranes was studied.

Keywords: *Trifolium pratense* L., ascorbic acid, flavonoids.

Вступ. Дикорослі трав'янисті рослини є цінним природним ресурсом, який є джерелом лікарської сировини.

Конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.) – є дикорослою рослиною, багаторічною рослиною роду конюшини, родини бобових, яка росте практично по всій території України. Цвіте з травня по вересень [1]. В якості лікарської сировини використовується надземна частина рослини - квітконосні частини стебел.

Конюшина лучна довгий час була неофіційною лікарською рослиною. Державна Фармакопея України 2-го видання, доповнення 1 містить монографію «Конюшини лучної суцвіття^N» [2]. У теперішній час вона є офіційною лікарською рослиною.

Застосування конюшини лучної в медицині обумовлено її протизапальними, антисептичними, потогінними, ранозагоювальними властивостями. За рахунок вітаміну С у складі конюшини лучної фітопрепарати на її основі використовують для поліпшення імунітету [3].

Таким чином конюшину лучну застосовують з метою отримання біологічно активних добавок та фіточаїв, як окрему рослину сировину, так і в комплексі з іншими лікарськими рослинами.

Тому аналіз вмісту в ній біологічно активних сполук є актуальним [4–6].

Великим класом біологічно активних сполук є флавоноїди, це низькомолекулярні багатоатомні феноли рослинного походження. Функцією флавоноїдів є захист рослин від негативних чинників навколишнього середовища.

Аскорбінова кислота будучи антиоксидантом корелює інтенсивність росту і розвитку рослин, сприяє процесу адаптації рослин до умов урбанізованого середовища. Вітамін С відіграє ключову роль в імунологічних реакціях [7].

Таким чином флавоноїди та аскорбінова кислота сприяють відновленню біохімічних параметрів рослин.

Негативний вплив факторів навколишнього середовища на організм людини може проявлятися по різному. В той же час першими приймають на себе удар при дії негативних факторів навколишнього середовища еритроцити, в зв'язку зі своїми властивостями і функціями. Таким чином дослідження стану

осмотичної резистентності еритроцитів є показником функціонування клітин червоної крові та фізіологічного стану організму загалом.

Резистентність еритроцитів – це їхня властивість протистояти руйнівній дії: осмотичній, механічній, тепловій та ін. [8]. Осмотична резистентність визначається стійкістю еритроцитів до гіпотонічних розчинів натрію хлориду.

Метою роботи було вивчення вмісту аскорбінової кислоти та флавоноїдів як якісного і кількісного маркера стійкості від умов зростання рослини. Аналіз рівня гемолізу еритроцитів визначали для оцінки їх осмотичної резистентності під впливом водно-сольових витяжок конюшини лучної.

Матеріали та методи. Квітконосні частини стебел конюшини лучної було зібрано з дотриманням вимог збирання та підготовки рослинної сировини [9]. Оптимальний термін заготівлі рослинної сировини за накопиченням вітаміну С є період бутонізації та початок цвітіння рослини. Збір проводився на території м. Київ та м. Ніжин Чернігівської області.

Для визначення масової частки аскорбінової кислоти готували екстракти наважкою проби масою 1000 мг. Розчини аскорбінової кислоти не стійкі, тому їх готували перед проведенням дослідів.

Оцінку вмісту флавоноїдів проводили на рідинному хроматографі HPLC-system, ser.20, обладнаному діодноматричним детектором. Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та за відповідністю УФ-спектрів речовинам-стандартам.

Дослідження рівня осмотичної резистентності визначали спектрофотометрично. Оптичну щільність надосадової рідини виміряли на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 540 нм і довжині оптичного шляху 100 мм. Надосадову рідину з пробірок з 0,1 % р-ном NaCl знімали і використовували для спектрофотометрії. До осаду залишкових еритроцитів додавали 0,9 % р-н NaCl, доводячи суміш до кількості 5 мл.

Результати та обговорення. Визначення масової частки аскорбінової кислоти в рослині представлені в табл. 1.

Таблиця 1. Вміст аскорбінової кислоти в квітконосних частинах стебел.

Зразки	Київ	Ніжин
Вміст аскорбінової кислоти, %	$0,39 \times 10^{-3}$	$0,44 \times 10^{-3}$

За результатами проведеного аналізу чіткої залежності між умовами зростання і вмістом аскорбінової кислоти в зразках не простежується.

Знижений вміст аскорбінової кислоти в зразках рослинної сировини зібраної на території м. Київ можливо спричинений процесом адаптації рослин до умов урбанізованого середовища і таким чином потребою рослиною аскорбінової кислоти як антиоксиданту.

Результати кількісного визначення вмісту флавоноїдів у зразках рослинної сировини в залежності від місця зростання наведені в табл. 2.

Таблиця 2. Вміст флавоноїдів у зразках в квітконосних частинах стебел.

Місце відбору зразків	Вміст флавоноїдів у сировині, %						
	Галова кислота	Хлорогенова кислота	Кавава кислота	Розмаринова кислота	Рутин	Кверцетин	Кемпферол
Київ	–	0,006	0,002	–	–	–	0,007
Ніжин	–	0,018	0,003	–	–	–	0,004

Провівши ідентифікацію компонентів та їх піки поглинання з ряду флавоноїдів було ідентифіковано 7 фенольних сполук: галова кислота, хлорогенова кислота, кавава кислота, розмаринова кислота, рутин, кверцетин та кемпферол.

Кількісний вміст встановлено для хлорогенової кислоти, кавової кислоти, та кемпферолу. Хлорогенова кислота є регулятором ростових процесів рослин, грає роль в забезпеченні імунітету рослин. Кавава кислота характеризується високими антиоксидантними властивостями. Кемпферол сприяє розвитку пилку [10].

В той же час проаналізувавши площі піків поглинання решти фенольних сполук, можна припустити, що умови проростання негативно впливають на біохімічні показники біологічно активних речовин пригнічуючи їх синтез в рослині. Це можна пояснити процесом адаптації конюшини лучної до умов зростання, та як наслідок в подальшому зростанням рівня біологічної стійкості рослин до забруднення.

Дослідження ефективності використання витяжки конюшини лучної на рівень осмотичної резистентності мембран еритроцитів представлені в табл. 3.

Таблиця 3. Рівень осмотичної резистентності.

			Київ	Ніжин	Контроль
Робочі розведення NaCl, %	0,1	Показники спектрофотометру, ОД	0,510	0,507	0,527
		Кількість еритроцитів в осаді (негемолізованих)	311	12	1715
		гемолізованих еритроцитів (в нормі 100)	82	99	100
	0,4	Показники спектрофотометру, ОД	0,09	0,06	0,27
		гемолізованих еритроцитів (в нормі 50-100)	19	13	52
	0,5	Показники спектрофотометру, ОД	0,03	0,04	0,01
		гемолізованих еритроцитів (в нормі 0-6)	7	8	1

Початкова стадія гемолізу найменш стійких еритроцитів проявляється в гіпотонічному розчині натрію хлориду, близькому до ізотонічного та визначає мінімальну резистентність еритроцитів. Повний гемоліз, спричинений концентрацією гіпотонічного розчину, визначає максимальну осмотичну резистентність еритроцитів.

З отриманих результатів видно, що витяжки конюшини лучної позитивно впливали на осмотичну резистентність еритроцитів і знижували рівень гемолізу, що вказує на їх адаптогенні властивості.

Висновки. Чіткої зміни кількості біологічно активних речовин, а саме рівня аскорбінової кислоти від умов зростання у рослинах за результатами проведених дослідження не простежується. Встановлений рівень флавоноїдів у зразках конюшини лучної свідчить про процес адаптації рослин до умов навколишнього середовища. Отримані дані про осмотичну резистентність еритроцитів вказують, що досліджені зразки конюшини лучної мають стабілізуючі властивості. Таким чином, отримані результати свідчать про можливість використання фітопрепаратів конюшини лучної для підвищення резистентності організму людини при дії негативних факторів навколишнього середовища.

Список використаної літератури:

1. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. К.: Голов. ред. УРЕ, 1989. 544 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 1. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. — 360 с.
3. Конюшина лугова. URL: <https://liktravy.ua/herbs/konushina-lugova/> (дата звернення: 03.04.2025).
4. Morphological studies as a component of the identity of medicinal plant raw materials / O. V. Grechana et al. *The odessa medical journal*. 2024. Vol. 6. P. 88–91. URL: <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-6-15>.
5. Chromato-mass spectrometric characteristics of red clover and motherwort tinctures / V. M. Odyntsova et al. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2020. Vol. 2. URL: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207125>.
6. Raw material “Trifolii pratense herba” originated from southern Ukraine: diagnostic microscopic features and its antioxidant activity / O. Grechana et al. *Pharmacia*. 2022. Vol. 69, no. 3. P. 655–663. URL: <https://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e86416>.
7. Artiushenko T. A. Аскорбінова кислота в рослин: метаболізм і функції. *Екологічний вісник Криворіжжя*. 2021. Т. 6. С. 13–32. URL: <https://doi.org/10.31812/eco-bulletin-krd.v6i0.4556>.
8. Фізіологія: підручник / В.Г. Шевчук, В.М. Мороз, С.М. Белан [та ін.]; за ред. В.Г.Шевчука. Вінниця: Нова книга, 2012. 448 с.
9. І. А. Бобкова, Л. В. Варлахова, М. М. Маньковська. Фармакогнозія: підручник. 2-е вид., переробл. і допов. - К.: Медицина, 2010. 512 с.
10. Кобзар А.Я. Фармакогнозія в медицині: навч. посіб. для студ. вищого фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищих мед. навч. закл. IV рівня акредитації та провізорів-інтернів / А. Я. Кобзар. К.: Медицина, 2007. 543 с.