

УДК 615.322.073: 53.086

DOI <https://doi.org/10.32782/2226-2008-2024-6-15>

О. В. Гречана¹ <https://orcid.org/0000-0002-1756-6372>

А. Г. Сербін² <https://orcid.org/0000-0002-6247-7520>

О. О. Салій³ <https://orcid.org/0000-0001-7103-2083>

О. Є. Оксенюк² <https://orcid.org/0000-0003-4151-6719>

МОРФОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЯК СКЛАДНИК ТОТОЖНОСТІ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

¹Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Запоріжжя, Україна

²Луганський державний медичний університет, Рівне, Україна

³Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, Україна

УДК 615.322.073: 53.086

О. В. Гречана¹, А. Г. Сербін², О. О. Салій³, О. Є. Оксенюк²

МОРФОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЯК СКЛАДНИК ТОТОЖНОСТІ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

¹Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Запоріжжя, Україна

²Луганський державний медичний університет, Рівне, Україна

³Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, Україна

Стаття присвячена дослідженням мікроскопії надземної частини рослинної сировини *Trifolium pratense* і *Artemisia absinthium* на кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медико-фармацевтичного університету для ототожнення, чіткої ідентифікації та знаходження певних специфічних діагностичних структур, що можна вважати хемотаксономічними маркерами у підтвердженні ідентичності матеріалів лікарської рослинної сировини описам. Рослинний матеріал зібраний у період активного цвітіння рослин у передмісті Запоріжжя, сушили під навісом та використовували препарати свіжих та висушених листків, стебел, квіток після кип'ятіння у розчині луґу. Фіксували, вимірювання проводили у 5 повтореннях, статистично обробляли. Запропоновано додати ідентифікацію надземної частини рослинної сировини *Artemisia absinthium* і *Trifolium pratense* за мікроскопічними діагностичними ознаками, характерними для пилоквих зерен, листя, стебла.

Ключові слова: мікроскопія, рослинна сировина, фармакогностичні дослідження.

UDC 615.322.073: 53.086

O. V. Grechana¹, A. G. Serbin², O. O. Saliy³, O. Ye. Okseniuk²

MORPHOLOGICAL STUDIES AS A COMPONENT OF THE IDENTITY OF MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS

¹Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Zaporizhzhia, Ukraine

²Luhansk National Medical University, Rivne, Ukraine

³Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, Ukraine

The aim of the study is to conduct microscopic, phytochemical, and pharmacological examinations and identify diagnostic signs for *Artemisia absinthium* and *Trifolium pratense* at the Department of Pharmacognosy, Pharmacology, and Botany of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

Methods. Plant material was harvested during the period of active plant flowering in the suburbs of Zaporizhzhia. The raw material was dried undercover. For microscopic analysis it was used leaves, stems, and flowers pre-boiled in NaOH without using color matters. The temporary preparations have been studied by microscope "Axioskop 40" (Germany). Photographic evidence was created via Canon PS G7 (Japan) camera, measurements were carried out in 20 repetitions using AxioVision Rel. 4.7, and statistical processing (mean value, error, variation coefficient) was performed in the Microsoft Excel program.

Results. The authors propose to add identification the "*Trifolii inflorescences*" following microscopic diagnostic features peculiar to pollen grains, folia, and stem.

Key words: microscopy, raw materials, pharmacognosy.

Айстрові (Asteraceae) та Бобові (Fabaceae) є найбільш-шими родинами серед квіткових рослин. Бобові поділяють на три підродини: *Caesalpinioideae*, *Mimosoideae*,

Papilionoideae. У родині Айстрові нараховують 12 під-родин [4]. Широком є біорізноманіття представників – однорічні та багаторічні види трав, чагарників, ліан, дерев, що трапляються по всіх континентах, у тому числі широко представлені у флорі України [2; 6; 7].

Рослинність нашого краю багата на кількість видів та підвидів, утворюючи внутрішньовидові «перехресні» форми, ускладнюючи процес чіткого діагностування

© О. В. Гречана, А. Г. Сербін, О. О. Салій та ін, 2024

Стаття поширюється на умовах ліцензії



видів у природних умовах під час заготівлі та ототожнення висушеної лікарської рослинної сировини [2].

Морфологічний опис, пошук під час мікроскопічних досліджень індивідуальних особливостей виду вважаються одними з основних етапів діагностики та ідентифікації сировини аналітичною нормативною документацією. Літературні джерела містять інформацію щодо ідентифікації надземної частини *Trifolium pratense* і *Artemisia absinthium* у флорі та серед гербарних зразків. Проте у природних умовах разом ростуть великі кількості проміжних (перехідних) форм з поєднаними зовнішніми ознаками нефармакопейних видів конюшини та полину, унеможливаючи заготівлю якісної лікарської рослинної сировини або знижуючи її числові показники. До описаних факторів можна додати також стан описів класичної ботанічної морфології та анатомії рослини, що суттєво відрізняється від фармакогностичних через специфічності постановки завдання, підготовленості фахівців та наявності обладнання певного класу.

Як лікарську рослину сировину конюшини лучної використовують суцвіття [1; 2]. У Державній Фармакопеї України є монографія «Конюшини лучної суцвіття». Проте літературні джерела конюшину розглядають як цілу рослину (трава) і, з огляду на відносно невелику здатність до відростання після зрізання, цей природний ресурс потребує більш дбайливого ставлення.

Натепер у пошуку нових джерел поповнення ринку фітопрепаратів відзначено активні фітохімічні та дослідження *in silico* представників роду полин та конюшина. Вчені повідомляють про високий рівень вмісту флавоноглікозиду та його похідного глікозилмалонату (кверцетин листя; кверцетин і кемпферол квіток), ізофлавононів (біоханін А, формонетин листя та квіток) у лікарській рослинній сировині конюшини червоної [2; 5; 6; 7;8].

Етанольний екстракт полину гіркого активно протидіє токсоплазмам [3].

Тим не менш у разі широких пошукових напрямів фітохімії і фармакології видів конюшини та полину анатомічна мікроскопічна ідентифікація висвітлена не досить.

Мета нашої роботи – дослідити лікарські рослини полину гіркого та конюшини лучної, знаходячи відмінності, притаманні окремим ботанічним видам, відрізняючи їх від дозволених та/або недозволених домішок інших видів, узагальнюючи деякі морфометричні параметри вегетативних та генеративних органів лікарської рослинної сировини конюшини лучної та полину гіркого. Розширюючи дані опису сировини, знаходили певні специфічні діагностичні структури, що можна вважати хемотаксономічними маркерами у підтвердженні ідентичності матеріалів лікарської рослинної сировини описам.

Матеріали і методи дослідження. Для виключення можливостей виникнення варіацій (вплив зовнішніх умов місцезростання, сезонних метеорологічних умов, віку) у дослідженнях використовували рослини *Artemisia absinthium* L. та *Trifolium pratense* L., вирощені з колекційного насіння кафедри ботаніки Національного університету ім. Каразіна, Харків, Україна, в однакових умовах.

Матеріал для мікроскопічного дослідження збирався у період найбільшої продуктивності лікарської рослинної сировини – у фенофазі масової бутонізації – початку цвітіння (червень – серпень) на території Запорізької області (смт Приморське Василівської громади [47°37'28" пн. ш., 35°17'39" сх. д.]; дослідна ділянка кафедри фармакогнозії, фармакології і ботаніки ЗДМФУ). Сировину сушили під навісом, у добре провітрюваному місці, запобігаючи пересушеності.

Для досліджень використовували свіжий, фіксований у суміші гліцерин – спирт етиловий 96% – вода очищена (1: 1: 1), а також матеріал гербарію, попередньо проварений у 5% водному розчині натрію гідроксиду без використання барвників; поперечні зрізи робили лезом [2]. Готувались тимчасові препарати.

Вивчали морфолого-анатомічні особливості будови вегетативних та генеративних органів, використовуючи мікроскоп «Axioskop 40» (Німеччина). Фотофіксація проводилась фотоапаратом Canon PS G7 (Японія), вимірювання (5 повторень) – за допомогою приладу AxioVision Rel. 4.7. Статистичні розрахунки (середнє значення, похибка, коефіцієнт варіації) проводили за допомогою програми *Microsoft Excel*. Анатомічні параметри епідермісу вважали маловаріабельними у разі коефіцієнта варіації C_v меншим за 20%, середньоваріабельними – з $C_v > 20\%$, високоваріабельними – з $C_v > 40\%$ [1; 2]. Форму пилкових зерен, тип продихового апарату, опис клітин епідермісу визначали за відомими методиками, індекс продихів розраховували за формулою А. Кестнера [2].

На тимчасових препаратах визначали форму клітин епідермісу, тип дихальної системи, будову судинної тканини, трихом, залозистих (секреторних) трихом та ін.

Виклад основного матеріалу дослідження. У сировині трави полину гіркого досліджували чоловічі генеративні клітини (пилкове зерно). Вибирали загальну кількість пилкових зерен з досить видимою формою для опису – 5 одиниць (рис. 1). Форму пилкового зерна, згідно з класифікацією Ердмана, визначали як чотиригранно-конусоподібну, триборозенчасту, співвідношення довжини полярної вісі та екваторіального діаметру становило 3:8.

Статистично оброблені дані представлені в табл. 1.

Листки *Trifolium pratense* L. за морфологічними ознаками трійчасті, жорсткі, амфістоматозного типу. Листочки 2–3 см завдовжки і 1–1,5 см завширшки, оберненояйцевидної форми, загострені на кінці, по



Рис. 1. *Artemisia absinthium*: пилкове зерно

Метрологічні характеристики довжини пилкового зерна *Artemisia absinthium* (n=5)

\bar{x}	S	S_x	Δx	$\bar{x} + \Delta \bar{x}$	$\bar{\epsilon}$
8,26	0,06	0,03	0,16	8,26±0,07	0,8

Примітка: \bar{x} – середнє арифметичнє вибірки; S – стандартнє відхиленнє; S_x – середнє значеннє вибірки; Δx – приріст значеннє; $\bar{x} + \Delta \bar{x}$ – довірчий інтервал, $\bar{\epsilon}$ – похибка

краях дрібно або нерівномірно зубчасті з густою мережею бічних жилок, потовщених до краю.

Адаксіальна епідерма листка (рис. 2А) представлена багатокутніми або неправильної форми, з прямолінійно-округлими контурами, від 51,70 до 84,77 мкм у довжину і від 38,64 до 61,97 мкм у ширину основними клітинами, товстостінними, кількістю від 347 до 425 на 1 мм², без міжклітинних просторів. Спостерігали тупі, закруглені, загострені або прямі суміжні граничні кути.

Продихи подовжено-округлої форми, кількість на мм² коливалась від 25 до 43 шт; поодинокі, хаотично розташовані, аномоцитного типу, оточені 3–5 клітинами. Індекс продихів – 7,42%. Клітини навколоустя за формою і розміром подібні до основних клітин епідерми. Верхня епідерма гола.

Абаксіальна епідерма листка (рис. 2В, табл. 2) представлена основними товстостінними, витягнутими або розпростертими клітинами в різній кількості (329–511 на 1 мм²), з тупими, загостреними, закругленими, неправильної форми з неправильними грубохвилястими антиклінальними стінками та грубозвивистими контурами, яскраво-зеленого кольору, вкритими тонкою кутикулою, з продихами, без міжклітинників.

Розміри клітин епідерми коливались: 39,79–80,34 мкм у довжину і 21,46–45,55 мкм у ширину.

Морфометричну характеристику епідермальних структур листка наведено в табл. 2.

Продихи поодинокі, округлі, кількістю 67–183 на 1 мм², хаотично розташовані, аномоцитного типу. Навколопродихові клітини за формою і розмірами не відрізнялись від основних клітин епідерми. Індекс продихів – 17,87%.

Спостерігали одноклітинні прості довгі волоски з бородавчатою кутикулою. Трихоми утворені кубоподібними клітинами з подовженою верхівковою клітиною. Ділянка основи волоска округлої форми, оточена 12 полігональними клітинами епідерми, які розходились радіально (рис. 3).

Центральна жилка листка на поперечному розрізі мала округлу форму, з паренхіматозними клітинами епідерми над нею (рис. 4А). Характерною ознакою центральної листкової жилки визначено кристалічний покрив, який утворено поодинокими кристалами оксалату кальцію (рис. 4В). Елементи ксилеми та флоєми помітні лише у великих судинних пучках.

Стебло округле зі злегка виступаючими ребрами. Центральний осьовий циліндр фасцикулярного типу:

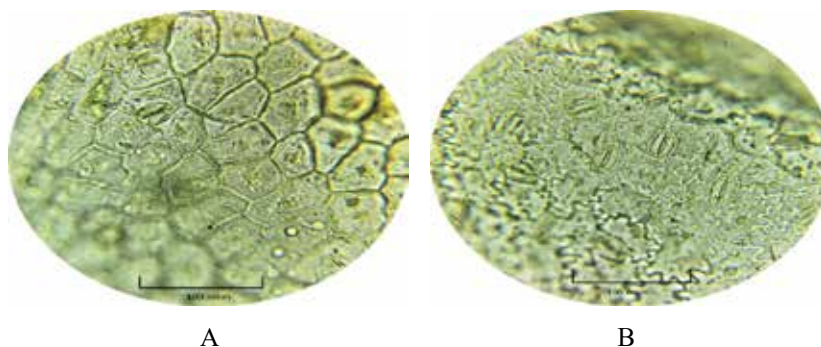


Рис. 2. *Trifolium pratense* L.: поверхня листка. А – верхня епідерма; В – нижня епідерма

Таблиця 2

Структура епідерми листка *Trifolium pratense*

Сторона листка		Верхня епідерма	Нижня епідерма
Тип		Амфістоматозний	
Характер епідермальних клітин		Прямий, прямолінійно-округлий	Звивистий
Середній розмір, мкм	Завдовжки	63,82 ± 2,59	57,11 ± 2,30
	Завширшки	35,41 ± 1,52	30,14 ± 1,60
Середня площа, мм ²		0,002369 ± 0,00039	0,002017 ± 0,00016
Тип продихового апарату		Аномоцитний	
Середня кількість продихів, шт/мм ²		32,40 ± 3,88	94,82 ± 10,2
C _v , %		20,46	24,15
Продиховий індекс, %		7,42	17,87

PS: C_v – коефіцієнт варіації.

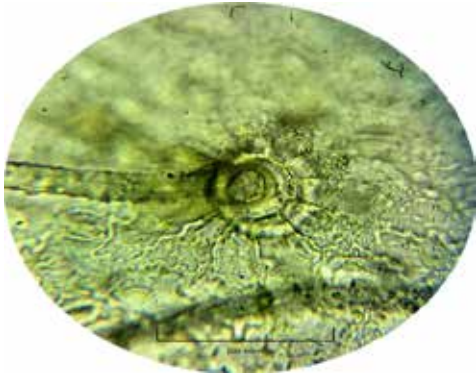


Рис. 3. *Trifolium pratense* L.: трихома епідерми листка

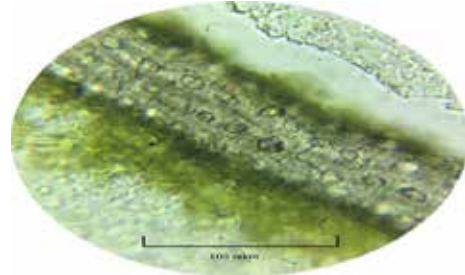
пучки відкриті, колатеральні, розташовані по колу. У бічних пучках флоєми присутня склеренхіма (рис. 5).

Висновки. Визначено морфометричні параметри чоловічого гаметофіту *Artemisia absinthium* L., клітин епідерми листка *Trifolium pratense* L – важливих показників у діагностуванні лікарської рослинної сировини у теоретичній та практичній фармакогнозії.

Мікроскопічні ознаки вигравали певну роль для підтвердження тотожності трави конюшини лучної у фармакогностичному аналізі згідно з вимогами Державної Фармакопеї України: клітини верхньої епідерми листка чотирикутної з прямими кутами форми, нижньої – звивисті, паренхімні з потовщеними оболонками. Анізоцитні продири поодинокі у верхній і дуже часті в нижній епідермі, оточені 3 клітинами. Для нижньої епідерми характерне опушення одноклітинними волосками з бородавчастою кутикулою, розеткою клітин у місці прикріплення трихоми до епідерми. На центральній жилці спостерігали кристалічний покрив з монокристалів оксалату кальцію. Стебло округле зі злегка виступаючими ребрами, відкритими колатеральними, розташованими колом, зі склеренхімною вистил-



А



В

Рис. 4. *Trifolium pratense* L.: центральна жилка листка (А – поперечний зріз; В – кристали кальцію оксалату на поверхні)

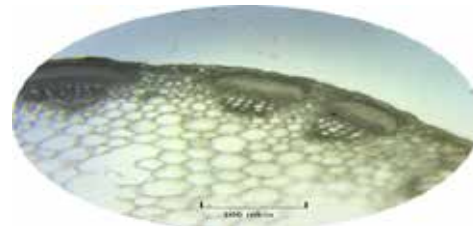


Рис. 5. *Trifolium pratense* L.: Стебло (поперечний розріз)

кою з боку флоєми, голими, з двошаровою пластинчастою коленхімою пучками центрального осевого циліндра.

ЛІТЕРАТУРА

- Ghosh D. Quality Issues of Herbal Medicines: Internal and External Factors. *IJCAM*. 2018; 11: 67–69. doi: 10.15406/ijcam.2018.11.00350.
- Grechana O, Shevchenko I, Rudnik A, Saliy O, Fukleva L, Serbin A. Raw material “*Trifolii pratense herba*” originated from southern Ukraine: diagnostic microscopic features and its antioxidant activity. *Pharmacia*. 2021; 69(3): 656–659. doi: 10.3897/pharmacia.69.e86416.
- Nozari Sh, Azadmehr A, Adine M, et al. In vitro anti-toxoplasma effects of ethanolic extracts of *Artemisia absinthium* L., *Carum copticum* L. and *Gossypium hirsutum*. *Journal of Medicinal Plants*. 2016; 58(15): 72–79. Available from: <http://jmp.ir/article-1-937-en.html>.
- The Plant List. Available from: <https://www.worldfloraonline.org/>.
- Tsamo DLF, Tamokou J-De-D, Kengne IC, et al. Antimicrobial and Antioxidant Secondary Metabolites from *Trifolium baccarinii* Chiov. (*Fabaceae*) and Their Mechanisms of Antibacterial Action. *BioMed Research International*. 2021; 1–15. doi: 10.1155/2021/3099428.
- Tuttolomondo T, Licata M, Leto C, et al. Ethnobotanical Investigation on Wild Medicinal Plants in the Monti Sicani Regional Park (Sicily, Italy). *J Ethnopharmacol*. 2014; 153: 568–586. doi: 10.1016/j.jep.2014.02.032.
- Wagay NA. Medicinal Flora and Ethno-botanical Knowledge of Baramulla Tehsil in Jammu and Kashmir, India. *IJABR*. 2014; 5: 539–546. doi: 10.1186/1746-4269-9-4.
- Zhang H, Zhao J, Shang H, Guo Y, Chen S. Extraction, purification, hypoglycemic and antioxidant activities of red clover (*Trifolium pratense* L.) polysaccharides. *Int J Biol Macromol*. 2020; 148(1): 750–760. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.194.

Надійшла до редакції 17.10.2024 р.

Прийнята до друку 30.01.2025 р.

Електронна адреса для листування elenagrechanaya1310@gmail.com