Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров’я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров’я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Шинковенко Ігор Леонідович

УДК 615.32:582.936.1:581.192:577:615.451.1:615.281.9:615.375

ДИСЕРТАЦІЯ

Фітохімічне вивчення сировини та екстрактів на основі видів роду Підмаренник

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

22 – Охорона здоров’я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ І. Л. Шинковенко

Науковий керівник Ільїна Тетяна Василівна, доктор фармацевтичних наук, професор

Харків – 2020

АНОТАЦІЯ

Шинковенко І. Л. Фітохімічне вивчення сировини та екстрактів на основі видів роду Підмаренник. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертаційна робота присвячена фітохімічному дослідженню сировини та екстрактів підмаренника справжнього (*Galium verum* L.) та підмаренника чіпкого (*Galium aparine* L.) родини Маренові (*Rubiaceae* Juss.), розробці параметрів їх стандартизації, встановленню залежності їх імуномодулювальної активності від хімічного складу, визначенню доцільності комплексної переробки сировини.

Проведено дослідження взаємозв’язку між морфологічними ознаками видів роду *Galium* та наявністю в них іридоїдів, гідроксикоричних кислот, та окремих флавоноїдів: ізоройфоліну, лютеолін-7-О-арабінозилглюкозиду, діосметин-7-О-глюкопіранозиду, палюстрозиду, діосметин-7-О-ксилоглюкозиду. Встановлено, що переважна більшість (14 з 15) сполук, які відносяться до трьох різних груп БАР корелюють з такими ознаками, як: стебло до 30 см, середні стеблові листки у кільцях по 7, квітконіжка гола. Види *G. verum* та *G. aparine* повною мірою відповідають виявленим закономірностям. А з урахуванням їх значної сировинної бази, вони є найбільш перспективними для отримання комплексів БАР.

Визначено технологічні параметри трави *G. verum* та *G. aparine*: насипний об’єм та насипну густину до та після усадки сировини, питому, об’ємну густину, пористість, нарізність, вільний об’єм шару, коефіцієнти поглинання розчинників. Вперше встановлено закономірності екстрагування основних груп БАР з трави *G. verum* та *G. aparine*. Виявлено, що оптимальними умовами екстрагування БАР є: розміри часток ЛРС 3-4 мм,

співвідношення сировина – екстрагент 1 : 10, кратність екстракції – 3, тривалість кожної екстракції 30 хв.

На основі визначених технологічних параметрів ЛРС та закономірностей екстрагування БАР розроблено технологічну схему одержання рідких екстрактів із трави *G. verum* та *G. aparine*. У отриманих за розробленою схемою екстрактах визначено вміст основних груп БАР: у водному екстракті з трави *G. verum* (GV-V) – 21,11 ± 1,05 % екстрактивних речовин, 6,23 ± 0,31 % ВРПС, 4,24 ± 0,21 % гідроксикоричних кислот, 0,38 ± 0,02 % флавоноїдів, 3,66 ± 0,18 % суми поліфенольних сполук; у водному екстракті з трави *G. aparine* (GA-V) – 28,39 ± 1,41 % екстрактивних речовин, 9,63 ± 0,48 % ВРПС, 1,95 ± 0,09 % гідроксикоричних кислот, 0,31 ± 0,01 % флавоноїдів, 1,33 ± 0,06 % суми поліфенольних сполук; у водно-спиртовому (20 % етанол) екстракті з трави *G. verum* (GV-20) – 17,94 ± 0,89 % екстрактивних речовин, 2,40 ± 0,12 % ВРПС, 3,08 ± 0,15 % гідроксикоричних кислот, 0,24 ± 0,01 % флавоноїдів, 2,90 ± 0,14 % суми поліфенольних сполук; у водно-спиртовому (20 % етанол) екстракті з трави *G. aparine* (GA-20) – 25,27 ± 1,26 % екстрактивних речовин, 3,27 ± 0,16 % ВРПС, 1,85 ± 0,08 % гідроксикоричних кислот, 0,27 ± 0,01 % флавоноїдів, 1,67 ± 0,08 % суми поліфенольних сполук; у водно-спиртовому (60 % етанол) екстракті з трави *G. verum* (GV-60) – 18,54 ±0,92 % екстрактивних речовин, 4,25 ± 0,21 % гідроксикоричних кислот, 0,24 ± 0,01 % флавоноїдів, 3,84 ± 0,19 % суми поліфенольних сполук; у водно-спиртовому (60 % етанол) екстракті з трави *G. aparine* (GA-60) – 24,63 ± 1,23 % екстрактивних речовин, 1,93 ± 0,09 % гідроксикоричних кислот, 0,25 ±0,01 % флавоноїдів, 1,35 ± 0,06 % суми поліфенольних сполук; у спиртовому (96 % етанол) екстракті з трави *G. verum* (GV-96) – 13,80 ±0,69 % екстрактивних речовин, 2,65 ± 0,13 % гідроксикоричних кислот, 0,18 ± 0,01 % флавоноїдів, 2,72 ± 0,13 % суми поліфенольних сполук; у спиртовому (96 % етанол) екстракті з трави *G. aparine* (GA-96) – 16,34 ± 0,81 % екстрактивних речовин, 1,49 ± 0,07 % гідроксикоричних кислот, 0,19 ± 0,01 % флавоноїдів, 1,14 ± 0,05 % суми поліфенольних сполук.

Проведено дослідження ВРПС з трави *G. verum* та *G. aparine.* Встановлено, що мономерний склад їх представлено *D*-галактозою, *L*-арабінозою, *D*-глюкозою, *D*-манозою та *L*-рамнозою. Встановлено, що вміст відновлюваних цукрів складає 54,7 ± 2,73 % у ВРПС з екстракту GV-V та 59,4 ± 2,90 % у ВРПС з екстракту GV-20; 48,5 ± 2,41 % у ВРПС, з екстракту GA-V та 52,8 ± 2,62 % у ВРПС з екстракту GA-20. Досліджено амінокислотний склад та елементний склад ВРПС екстрактів GV-V та GA-V. Визначено золу загальну у ВРПС: 14,82 % з *G. verum* і 13,55 % з *G. aparine*.

Методом ВЕРХ у екстрактах GV-60 та GA-60 ідентифіковано по 11 сполук фенольної природи, з них 5 гідроксикоричних кислот (кофейна, хлорогенова, неохлорогенова, 3,5-дикофеїлхінна кислота та 4,5-дикофеїлхінна) і 6 флавоноїдів (рутин, гіперозид, кверцетин, кверцитрин, ізокверцитрин та катехін). Встановлено, що домінуючими сполуками є рутин (4,18 мг/мл у екстракті GV-60 і 1,89 мг/мл у екстракті GA-60) та хлорогенова кислота (2,53 мг/мл у екстракті GV-60 і 0,78 мг/мл у екстракті GA-60).

Методом УЕРХ-МС досліджено сполуки екстрактів з трави *G. aparine.* Виявлено 14 сполук, з яких ідентифіковано 13: 3 іридоїди, 3 флавоноїди, 1 фенолкарбонову та 6 гідроксикоричних кислот. Для трави *G. aparine* вперше встановлено наявність *n*-гідроксибензойної, 3-О- та 4-О-кофеїлхінних кислот, 3,4-, 3,5- та 4,5-О-дикофеїлхінних кислот, ізорамнетин-3-О-глюкорамнозиду та кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозиду.

Методом ВЕРХ у екстрактах GV-96 та GA-96 ідентифіковано та встановлено вміст сапонінів: урсолової, олеанолової, еускафової, торментинової кислот, уваолу, бетуліну та лупеолу. У екстракті GA-96 превалює еускафова кислота (3,34 мг/мл), у екстракті GV-96 – лупеол (1,60 мг/мл). У екстракті GV-96 переважають похідні лупану, вміст яких складає 2,50 мг/мл, вміст похідних урсану становить 1,92 мг/мл, олеанану – 0,48 мг/мл. У екстракті GA-96 в цілому домінують похідні урсану, вміст яких складає 3,50 мг/мл, вміст похідних лупану складає 1,82 мг/мл, олеанану – 0,21 мг/мл.

З метою комплексної переробки сировини зі шроту, який залишився після отримання водних екстрактів, отримано пектинові речовини, вихід яких склав 7,22 % для *G. verum* і 15,27 % для *G. aparine*. Встановлено, що вміст золи у пектинових речовинах складає 6,84 % для *G. verum* та 4,49 % для *G. aparine*. Дослідженно елементний склад пектинових речовин. Домінуючими елементами у пектинових речовинах є K, Na, Ca та Mg, що дозволяє зробити припущення про те, що у складі пектинових речовин переважним чином містяться пектати K, Na, Ca та Mg. Визначено склад функціональних груп у одержаних пектинових речовинах: вільних карбоксильних, метоксильованих карбоксильних, загальної кількості карбоксильних, метоксильних та ступінь етерифікації.

Як іще один з варіантів можливої переробки сировини отримано сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами. Встановлено, що для *G. verum* він містить 46,9 % ВРПС та 53,1 % пектинових речовин; для *G. aparine* вміст ВРПС у сумарному комплексі становить 40,67 % ВРПС, вміст пектинових речовин – 59,33 %. Встановлено доцільність комплексної переробки сировини – отримання ВРПС після послідовно отриманих раніше ліпофільного та фенольного комплексів.

Розроблено проект МКЯ на траву *G. aparine* та проведено дослідження 5 серій трави на відповідність параметрам стандартизації. Запропоновано контролювати якість трави *G. aparine* за такими показниками: ідентифікація за морфолого-анатомічними ознаками, наявність флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та іридоїдів, втрата в масі при висушуванні (не більше 13 %), зола загальною (не більше 15 %), вміст сторонніх домішок (не більше 5 %), вміст гідроксикоричних кислот (не менше 2,0 %). Розроблено параметри стандартизації екстракту GA-V, досліджено 5 серій його на відповідність розробленим вимогам та розроблено проект МКЯ «Підмаренника чіпкого екстракт рідкий». Запропоновано контролювати якість одержаного екстракту за такими показниками: опис, ідентифікація методом ТШХ за наявністю флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та

іридоїдів, мікробіологічна чистота, вміст важких металів, кількісне визначення сухого залишку (не менше 25,0 %) та гідроксикоричних кислот (не менше 1,7 %). Розроблено параметри стандартизації екстракту GV-96, досліджено 5 серій його на відповідність розробленим вимогам та розроблено проект МКЯ «Підмаренника справжнього екстракт рідкий». Запропоновано контролювати якість одержаного екстракту за такими показниками: опис, ідентифікація методом ТШХ за вмістом флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та іридоїдів, мікробіологічна чистота, вміст важких металів, кількісне визначення сухого залишку (не менше 12,0 %) та гідроксикоричних кислот (не менше 2,5 %).

Досліджено антибактеріальну та антифунгальну активність екстрактів рідких трави *G. verum* та *G. aparine*, які отримано за допомогою води, 20 %, 60 % та 96 % етанолу. Встановлено, що всі досліджувані рідкі екстракти проявляють антимікробну активність. Найбільшу активність проявляє екстракт, отриманий з використанням 96 % етанолу. Найбільш чутливим до усіх досліджуваних екстрактів виявився *Bacillus subtilis.*

Виявлено, що екстракти, ВРПС, пектинові речовини та сумарний комплекс ВРПС і пектинових речовин з трави *G. verum* і *G. aparine* проявляють імуномодулюючу активність. Висловлено припущення, що імуномодулюючу активність зумовлюють гідроксикоричні кислоти, оскільки спиртовий і водно-спиртові екстракти *G. verum* за рівнем імуномодулювальної активності майже вдвічі перевищують аналогічні екстракти *G. aparine,* а у хімічному складі містять майже вдвічі більше гідроксикоричних кислот, ніж аналогічні екстракти *G. aparine.* Встановлено синергічну дію ВРПС і фенольних сполук у складі водних екстрактів трави *G. verum* і *G. aparine,* що свідчить про недоцільність вилучення ВРПС з водних екстрактів при отриманні субстанцій імуномодулювальної дії. Виявлено, що сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами з трави *G. verum* і *G. aparine* мають вищий рівень імуномодулювальної дії, ніж окремо ВРПС та пектинові

речовини. Отримані дані свідчать про доцільність комплексної переробки ЛРС з метою отримання імуномодулювальних засобів.

Новизна роботи полягає в наступному. Продовжено дослідження взаємозв'язку між морфологічними ознаками і наявністю окремих флавоноїдів у видах роду Підмаренник. Вперше проведено аналогічні дослідження для гідроксикоричних кислот та іридоїдів.

Вперше визначено технологічні параметри трави *G. verum* та трави *G. aparine*. Вперше встановлено закономірності екстрагування основних груп БАР із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*.

На основі визначених технологічних параметрів ЛРС та закономірностей екстрагування БАР вперше розроблено технологічну схему одержання рідких екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*.

Вперше у отриманих за розробленою схемою 4 екстрактах з трави *G. verum* (GV-V, GV-20, GV-60, GV-96) та 4 екстрактах з трави *G. aparine* (GA-V, GA-20, GA-60, GA-96) визначено вміст основних груп БАР: сухого залишку, водорозчинних полісахаридів (ВРПС), гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та суми поліфенольних сполук.

Вперше досліджено амінокислотний, елементний склад ВРПС, встановлено вміст золи в них.

Вперше методами ВЕРХ та УЕРХ-МС у екстрактах з трави *G. aparine* ідентифіковано *n*-гідроксибензойну кислоту, 4-О- та 5-О-кофеїлхінні кислоти, 3,4-, 3,5- та 4,5-О-дикофеїлхінні кислоти, ізорамнетин-3-О-глюкорамнозид, кверцетрин, та кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозид та встановлено їх вміст. Останній вперше виявлено для роду *Galium*. Вперше методом ВЕРХ у траві *G. verum* та *G. aparine* виявлено еускафову та торментинову кислоти, бетулін та лупеол. У траві *G. verum* вперше виявлено уваол.

Вперше досліджено динаміку екстрагування пектинових речовин із шроту трави *G. verum* та *G. aparine*, який залишається після отримання екстрактів GV-V та GA-V, встановлено вміст золи в них та визначено мінеральний склад.

Вперше отримано сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* та встановлено їх співвідношення в комплексах.

Вперше проведено дослідження 5 серій трави *G. aparine* на відповідність параметрам стандартизації. Розроблено проект методів контролю якості на “Підмаренника чіпкого трава”.

Вперше розроблено параметри стандартизації водного рідкого екстракту з трави *G. aparine* (GA-V) та спиртового рідкого екстракту рідкого з трави *G. verum* (GV-96), досліджено 5 серій їх на відповідність розробленим вимогам. Розроблено проект методів контролю якості на «Підмаренника чіпкого екстракт рідкий» та «Підмаренника звичайного екстракт рідкий».

Вперше виявлено, що екстракти, ВРПС, пектинові речовини та сумарний комплекс ВРПС і пектинових речовин з трави *G. verum* і *G. aparine* проявляють імуномодулюючу активність. Вперше встановлено, що рівень імуномодулювальної активності спиртових та водно-спиртових екстрактів залежить від вмісту гідроксикоричних кислот.

Результати фітохімічного дослідження впроваджено в науково-дослідну роботу споріднених вищих навчальних закладів України.

Ключові слова: підмаренник справжній, підмаренник чіпкий, фітохімічне вивчення, біологічно активні речовини, екстракти, імуномодулююча активність, антимікробна активність.

Список публікацій здобувача

1. Дослідження полісахаридів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Зб. наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2017. Вип. 28. С. 152 – 159. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).

2. The phytochemical profile and antibacterial activity of the fluid extracts of Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, T. V. Ilyina, O. V. Goryacha,

A. M. Kovalyova, T. P. Osolodchenko, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 25 – 28. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та підготовці статті).

3. Phenolic compounds of the liquid extract from cleavers herb (Galium aparine L.) / I. L. Shynkovenko, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. I. Golembiovska, N. S. Shemchuk, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). С. 19 – 24. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі результатів та написанні статті).

4. Saponins of the extracts of Galium aparine and Galium verum / I. L. Shynkovenko, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. I. Golembiovska, O. M. Koshovyi. *Вісник фармації*. 2018. № 4 (96), С. 16 – 21. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).

5. A comparative study of morphological features and flavonoid composition of Galium L. genus species / T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovaleva, O. M. Koshovyi and I. L. Shinkovenko. *Der Pharmacia Lettre*. 2016. Vol. 8, № 13. P. 316 – 321. Видання бази Скопус. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, участь у аналізі результатів та написання статті).

6. The immunomodulatory activity of the aqueous extract and complexes of biologically active compounds of Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. M. Koshovyi, E. L. Toryanyk, O. V. Kryvoruchko. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. № 67, P. 25 – 29. Видання бази Скопус. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстрактів, частина експериментальних досліджень та написаня статті).

7. The immunomodulatory activity of the ethanolic extracts from Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, N. S. Shemchuk, O. V. Kryvoruchko, A. M. Komissarenko. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. № 67 (3). P. 101 – 106. Видання бази

Скопус. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстрактів, частина експериментальних досліджень та написаня статті).

8. Phytochemical profiles and in vitro immunomodulatory activity of ethanolic extracts from Galium aparine L. / T. Ilina, N. Kashpur, S. Granica, A. Bazylko, I. Shinkovenko, A. Kovalyova, O. Goryacha and O. Koshovyi. *Plants*. 2019. Vol. 8 (12). P. 541 – 554. Видання баз Scopus та Web of Science. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстрактів, частина експериментальних досліджень).

9. Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника справжнього: пат. 120554 України: A61K 36/74, A61P 37/02 (2006.01)/ І. Л. Шинковенко, Н. В. Кашпур, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. № u 2017 04409, заявл. 03.05.17; опубл. 10.11.17, Бюл. № 21. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, аналізі результатів та оформленні патенту).

10. Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника чіпкого: пат. 136235 України: A61K 36/74, A61P 37/00, МПК (2019.01) / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, Н. В. Кашпур, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко, О. М. Кошовий. № u 201901943, заявл. 26.02.2019; опубл. 12.08.19, Бюл. № 15. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстракту, участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та оформленні патенту).

11. Kutova V. M., Shynkovenko I. L., Ilyina T. V. Study of dynamics of bioactive substance extraction from Yellow Bedstraw (Galium verum) Herb Meal. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. XXIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 21 квіт. 2016 р. В 2-х томах, Т. 1. Х. : Вид-во НФаУ, 2016. С. 86. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі результатів та написанні тез).

12. Дослідження кореляційних зв’язків між морфологічними ознаками і флавоноїдним складом видів роду Galium L. / Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова,

О. В. Горяча, І. Л. Шинковенко. *Хімія природних сполук*: матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 21-22 квіт. 2016 р. Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 25 – 27. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, обробка результатів та підготовка тез).

13. Дослідження динаміки екстрагування гідроксикоричних кислот із шроту трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, О. В. Горяча, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Фармація XXI століття : тенденції та перспективи* : мат. VIII Нац. з'їзду фармацевтів України Харків, 13 – 16 вер. 2016 р. : у 2 т. Т.1 / М-во охорони здоровя України, Нац. фармац. ун-т; ред. кол.: В. П. Черних (голова) та ін.; уклад. : С. Ю. Данильченко та ін. Харків: НФаУ, 2016. С. 154. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та написанні тез).

14. Дослідження динаміки екстрагування флавоноїдів із шроту трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко, І. М. Поліщук. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарсбких препаратів* : мат. VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 10 – 11 листоп. 2016р., Тернопіль : Укрмедкнига, 2016. С. 79. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці тез).

15. Шинковенко И. Л., Ильина Т. В. Динамика экстрагирования биологически активных веществ из травы подмаренника настоящего. *Перспективы развития биологии, медицины и фармации* : мат. IV Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, 9 – 10 дек. 2016 г., г. Шымкент, Республика Казахстан. Хабаршысы. Вестник. 2016. № 4 (77). С. 61 – 62. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, обробці результатів та підготовці тез).

16. Дослідження антибактеріальної активності водного витягу з трави Galium verum L./ І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, О. В. Горяча, А. М. Ковальова, А. М.Комісаренко. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : мат. І Міжнар. наук.-практ

конф., м. Харків, 30 – 31 бер. 2017 р. В 2-х т., Т. 2. Х. : НФаУ, 2017. С. 363. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та підготовці тез).

17. Kutova V. M., Shynkovenko I. L. Monitoring of the extraction of pectins from the herb of Galium verum L. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. XXIV Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 20 квіт. 2017 р. В 2-х томах, Т. 1. Х. : Вид-во НФаУ, 2017. С. 88. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці тез).

18. Шинковенко И. Л., Ильина Т. В. Элементный состав пектинов травы подмаренника настоящего (Galium verum L.). *Перспективы развития биологии, медицины и фармации* : мат. V Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, 9 – 10 дек. 2017 г., г. Шымкент, Республика Казахстан. Хабаршысы. Вестник. 2017. Т. VI, № 4 (81). С. 9 – 10. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та підготовці тез).

19. Полісахариди трави підмаренника чіпкого / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, 12 – 13 квіт. 2018 р. Х. : НФаУ, 2018. С. 312. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та написанні тез).

20. Елементний склад полісахаридів і пектинових речовин трави підмаренника чіпкого / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27 – 28 вер. 2018 р. Тернопіль, ТДМУ : Укрмедкнига, 2018. С. 56 – 57. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці тез).

21. Phenolic compounds of the liquid extract of Lady's Bedstraw herb (Galium verum L.) / I. Shinkovenko, T. Ilina, A. Kovalyova, O. Goryacha, O. Golembiovska, A. Komissarenko. *Sciences and Practice 2018* : The 9th Internat. Pharmac. Conf. dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy, Nov. 09, 2018, Kaunas, Lithuania. P. 22. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, аналізі результатів та підготовці тез).

22. Дослідження імуномодулюючої дії вуглеводів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, Н. В. Кашпур. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : мат. III Міжнар. наук.-практ. конференції. У 2-х т. Т. 2. м. Харків, 14 – 15 бер. 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 317. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, аналізі результатів та написанні тез).

23. Определение технологических параметров травы *Galium verum* и *Galium aparine* / И. Л. Шинковенко, Т. В. Ильина, А. М. Ковалева, О. Н. Кошевой, Н. В. Бородина. *Современные достижения фармацевтической науки и практики*: мат. междунар. конфер., посвящ. 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»/ под. ред. А. Т. Щастного. Витебск, 31 окт., 2019. Витебск : ВГМУ, 2019. С. 135 – 137. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, обробка результатів та підготовка тез).

24. Дослідження кореляційних зв'язків між морфологічними ознаками та іридоїдним складом видів роду Galium L. / Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, І. Л. Шинковенко, О. В. Горяча, О. М. Кошовий, Н. В. Бородіна. *Planta+. Досягнення та перспективи*: міжнар. наук.-практ. конфер., присвячена пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), м. Київ, 20 – 21 лютого 2020 р. К. : Паливода А. В., 2020. С. 83 – 86. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, обробка результатів та підготовка тез).

25. Вуглеводні комплекси трави *Galium verum* L. і *Galium aparine* L. та їх імуномодулююча активність /Т. В. Ільїна, І. Л. Шинковенко, Н. В. Кашпур, О. В. Горяча, А. М. Ковальова, О. М. Кошовий. *Ліки – людині Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : мат. IV міжнар. наук.-практ. конфер., м. Харків, 12 – 13 бер. 2020 р. У двох томах. Т. 2. Харків, НФаУ, 2020. С. 277 – 278. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та написанні тез).

ABSTRACT

Shinkovenko I. L. The phytochemical study of raw material and extracts on the basis of species of *Galium* genus. – A qualifying scientific work as a manuscript.

The thesis for a degree of Candidate of Pharmacy (PhD) in speciality 15.00.02 “Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy”. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2020.

The present dissertation is aimed at the phytochemical study of the raw materials and extracts from the herb of *Galium verum* (Lady’s Bedstraw, yellow Bedstraw) and *Galium aparine* (Cleavers, Goosegrass, Catchweed) of *Rubiaceae* Juss. family, as well as the development of the parameters of their standardization, research in the the dependence of their immunomodulatory activity on the chemical composition, and the feasibility of complex processing of the raw material.

The study in the relationship between the morphological characteristics of the species *Galium* genus and the presence of iridoids, hydroxycinnamic acids, and individual flavonoids, such as isoroifoline, luteoline-7-O-arabinosylglucoside, diosmetin-7-O-glycopyranoside, palustroside, diosmetin-7-O-xyloglucoside has been performed. It has been determined that the overwhelming majority (14 out of 15) of the compounds that belong to the three different biologically active substances (BAS) groups correlate with such features as a stem of up to 30 cm, medium-stem leaves in whorl of 7 in each, and a “naked” pedicel. The species *G. verum* and *G. aparine* fully

meet the regularities identified. With an account of their significant raw material availability all these look most promising for obtaining BAS complexes.

The technological parameters of the herb *G. verum* and *G. aparine*, namely a bulk volume, bulk density and tapped density of the medicinal plant raw material (MPRM), a pore volume, porosity, free volume of the layer, absorption coefficients of the solvent, have been determined. The regularities of extracting the main groups of BAS from the herb of *G. verum* and *G. aparine* have been revealed have first been established. It has been found that the optimal conditions for BAS extraction are as follows: the MPRM particle size of 3-4 mm, the raw material extractant ratio of 1 : 10; the extraction ratio of 3, with the duration of each extraction of 30 min.

Based on the technological parameters of the MPRM determined and the regularities of BAS extraction, the flowchart for obtaining liquid extracts from the herb of *G. verum* and *G. aparine* has been developed. The content of the main BAS groups has been quantified in the extracts obtained in compliance with the flowchart specifications. Thus, the aqueous extract from the herb *G. verum* (GV-V) contains 21.11 ± 1.05 % extractives, 6.23 ± 0.31 % soluble polysaccharides (WSPS), 4.24 ± 0.21 %hydroxycinnamic acids, 0.38 ± 0.02 % flavonoids, 3.66 ± 0.18 % polyphenolic compounds; in the aqueous extract from the herb of *G. aparine* (GA-V): 28.39 ± 1.41 % extractives, 9.63 ± 0.48 % WSPS, 1.95 ± 0.09 % hydroxycinnamic acids, 0.31 ± 0.01 % flavonoids, 1.33 ± 0.06 % polyphenolic compounds; in water-alcohol (20% ethanol) extract from the herb of *G. verum* (GV-20): 17.94 ± 0.89 % extractives, 2.40 ± 0.12 % WSPS, 3.08 ± 0.15 % hydroxycinnamic acids, 0.24 ± 0.01 % flavonoids, 2.90 ± 0.14 % polyphenolic compounds; in water-alcohol (20 % ethanol) extract from the herb of *G. aparine* (GA-20): 25.27 ± 1.26 % extractives, 3.27 ± 0.16 % WSPS, 1.85 ± 0.08 % hydroxycinnamic acids, 0.27 ± 0.01 % flavonoids, 1.67 ± 0.08 % polyphenolic compounds; in water-alcohol (60 % ethanol) extract from the herb of *G. verum* (GV-60): 18.54 ± 0.92 % extractives, 4.25 ± 0.21 %hydroxycinnamic acids, 0.24 ± 0.01 % flavonoids, 3.84 ± 0.19 % polyphenolic compounds; in water-alcohol

(60 % ethanol) extract from the herb of *G. aparine* (GA-60): 24.63 ± 1.23 % extractives, 1.93 ± 0.09 % hydroxycinnamic acids, 0.25 ± 0.01 % flavonoids, 1.35 ± 0.06 % polyphenolic compounds; in the alcohol (96% ethanol) extract from the herb of *G. verum* (GV-96): 13.80 ± 0.69 % extractives, 2.65 ± 0.13 % hydroxycinnamic acids, 0.18 ± 0.01 % flavonoids, 2.72 ± 0.13 % polyphenolic compounds; in the alcohol (96% ethanol) extract from the herb of *G. aparine* (GA-96): 16.34 ± 0.81 % extractives, 1.49 ± 0.05 % hydroxycinnamic acids, 0.19 ± 0.01 % flavonoids, 1.14 ± 0.05 % polyphenolic compounds.

The study in the WSPS from the herb *G. verum* and *G. aparine* has established that their monomeric composition is mainly presented by *D*-galactose, *L*-arabinose, *D*-glucose, *D*-mannose and *L*-rhamnose. The content of renewable sugars in WSPS from extract GV-V has been quantified as 54.7 ± 2.73 % and 59.4 ± 2.90 % in WSPS from extract GV-20; 48.5 ± 2.41 % in WSPS from extract GA-V and 52.8 ± 2.62 % in WSPS from extract GA-20. The amino acid and elemental composition of WSPS in extracts GV-V and GA-V has been studied and the total ash in WSPS has been quantified as 14.82 % from *G. verum* and 13.55 % from *G. aparine*.

By means of the HPLC method, 11 compounds of phenolic nature, including 5 hydroxycinnamic acids (caffeic, chlorogenic, neochlorogenic, 3,5-dicaffeoylquinic and 4,5-dicaffeoylquinic acids) and 6 flavonoids (rutin, hyperoside, quercetin, quercitrin, isoquercitrin and catechin) have been identified in extracts GV-60 and GA-60. It has been determined that the prevaling compounds in GV-60 and GA-60 are rutin (4.18 mg/ml and 1.89 mg/ml, respectively) and chlorogenic acid (2.53 mg/ml and 0.78 mg/ml, respectively).

Compounds in the extracts from the herb *G. aparine* have been studied by the HPLC-MS method with 14 compounds found, among them 13 identified as 3 iridoids, 3 flavonoids, 1 phenolcarboxylic acid and 6 hydroxycinnamic acids. In *G. aparine* herb, the presence of *p*-hydroxybenzoic, 3-O and 4-O-caffeylquinic acids, 3,4-, 3,5- and 4,5-O-dicaffeylquinic acids, isorhamnetin-3-O-glucorhamnoside and quercetin-3-O-rhamnoglucoside-7-O-glucoside has been first determined.

With the use of HPLC method the content of saponins i. e., ursolic, oleanolic, euscaphic, tormentic acids, uvaol, betulin and lupeol has been identified and quantified in extracts GV-96 and GA-96. Prevaling in extract GA-96 is euscaphic acid (3.34 mg/ml), whereas in extract GV-96 lupeol (1.60 mg/ml). In extract GV-96, prevailing are lupane derivatives with the content of 2.50 mg/ml, whereas the content of ursane derivatives comes to 1.92 mg/ml and oleanane up to 0.48 mg/ml. In extract GA-96 prevailing are ursane derivatives with their content of 3.50 mg/ml, whereas the content of lupane derivatives comes to 1.82 mg/ml and oleanane up to 0.21 mg/ml.

With the view to a coplex processing of raw material from the meal remaining after the production of water extracts from MPRM, pectin substances were obtained, with the yield of 7.22 % for *G. verum* and 15.27 % for *G. aparine*. The ash content in the pectin substances constituted 6.84 % for *G. verum* and 4.49 % for *G. aparine*. The elemental composition of the pectin substances indicated the prevailing presence of K, Na, Ca and Mg, which suggests the same in the pectates. The composition of functional groups in the pectin substances obtained (free carboxylic, methoxylated carboxylic), the total amount of carboxylic, methoxylic substances, as well as the esterification degree were determined.

With the view to a possible variation on the processing of the raw material, the WSPS-with-pectin complexes were obtained. It was found that for *G. verum* it contained 46.9 % of WSPS and 53.1 % of pectin substances; and for *G. aparine* the content of WSPS in the complex was measured at 40.67 % of WSPS; and the content of pectin substances came to 59.33 %.

The feasibility of complex processing of the raw material, i. e. obtaining WSPS after the sequentially obtained earlier lipophilic and phenolic complexes was substantiated.

The project of the Drug Quality Control Methods (DQCM) for the herb of *G. aparine* was developed, and 5 batches of the herb were tested for compliance with the standardization parameters. The suggested quality control indicates for *G. aparine* herb are as followes: identification by morphological and anatomical

features; the presence of flavonoids, hydroxycinnamic acids and iridoids, loss on drying (less than 13 %), total ash (less than 15 %), the content of related impurities (no more than 5 %) and the content of hydroxycinnamic acids (no less than 2.0 %). The standardization parameters for extract GA-V were developed, with the 5 batches of the extract GA-V were studied for compliance with the specifications developed, and the project of DQCM "*Galium aparine* liquid extract" has been developed. The proposed quality control of the extract obtained includes the following indicators: complains with a description, TLC identification of the flavonoids, hydroxycinnamic acids and iridoids, microbiological purity, content of heavy metals, with the quantitative standardization carried out by the content of dry residue of no less than 25.0 % and hydroxycinnamic acids of no less than 1.7 %. The parameters of standardization of extract GV-96 have been developed, with the 5 batches studied for the compliance with the specifications, and the project of DQCM "*Galium verum* liquid extract" developed. The proposed quality control of the extract obtained includes the following indicators: complains with a description, TLC identification of the flavonoids, hydroxycinnamic acids and iridoids, microbiological purity, the content of heavy metals, with the quantitative standardization carried out with the content of dry residue of no less than 12.0 % and hydroxycinnamic acids of no less than 2.5 %.

The antibacterial and antifungal effect of liquid extracts from the herb *G. verum* and *G. aparine* obtained with the use of distilled water and 20 %, 60 % and 96 % ethanol has been studied. It has been established that all liquid extracts under study exhibit an antimicrobial effect, with the most active being the one obtained with the use of 96 % ethanol and *Bacillus subtilis* being the most sensitive to all extracts in research.

It has been found that the all extracts, WSPS, pectin substances and the WSPS-with-pectin complexes from the herb of *G. verum* and *G. aparine* exhibit an immunomodulatory effect, presumably caused by hydroxycinnamic acids since alcohol and water-alcohol extracts of *G. verum* almost twice exceed the similar extracts of *G. aparine* in their immunomodulatory effect, and their chemical

composition contains almost twice as many hydroxycinnamic acids as the similar extracts of *G. aparine*. The synergistic effect of the WSPS and phenolic compounds in the composition of water extracts from the herb *G. verum* and *G. aparine* has been studied, leading to the conclusion that the removal WSPS from water extracts when obtaining substances with an immunomodulatory effect is impractical. It has been found that the WSPS-with-pectin complexes from the herb *G. verum* and *G. aparine* exhibit a higher level of the immunomodulatory effect than separate WSPS and pectins. The data obtained indicate the feasibility of complex processing of MPRM with the view to producing immunomodulatory agents.

The novelty of the present work consist in the follows. The correlation between the morphological characteristics and the presence of individual flavonoids, hydroxycinnamic acids and iridoids in the species *Galium* genus has been established.

The technological parameters of the herb of *G. verum* and *G. aparine* have been first determined. The regularities of extracting the main groups of BAS from the herb of *G. verum* and *G. aparine* have been revealed.

On the basis of the established technological parameters of the MPRM and the regularities of BAS extraction, the flowchart for obtaining liquid extracts from the herb *G. verum* and *G. aparine* has been developed.

The content of the main groups of BAS, i. e. the dry residue, WSPS, hydroxycinnamic acids, flavonoids and the amount of polyphenolic compounds has been quantified in 4 extracts obtained from the herb of *G. verum* (GV-V, GV-20, GV-60 and GV-96) and 4 extracts obtained from the herb of *G. aparine* (GA-V, GA-20, GA-60 and GA-96).

The amino acid and elemental composition of WSPS has been first studied, with the ash content determined.

With the use of the HPLC and HPLC-MS methods *p*-hydroxybenzoic acid, 4-O- and 5-O-caffeylquinic acids, 3,4-, 3,5- and 4,5-O-dicaffeylquinic acids, isorhamnetin-3-O-glucorhamnoside, quercetin and quercetin-3-O-rhamnoglucoside-7-O-glucoside in extracts from the herb of *G. aparine* have been

identified and quantified. The latter has been first discovered in the *Galium* genus. With the use of the HPLC method euscaphic and tormentic acids, betulin and lupeol have been first identified in the herb *G. verum* and *G. aparine*. In the herb *G. verum* uvaol has been first identified.

The dynamics of extraction of pectin substances from the extraction cake of the herb *G. verum* and *G. aparine* has been first studied, with the ash content and mineral composition quantified.

The WSPS-with-pectin complexes have been first obtained, with their ratio in the complexes determined.

The 5 batches of the herb of *G. aparine* have been first studied for the compliance with the parameters of standardization. The DQCM project for "*Galium aparine* herb" has been developed.

The parameters of standardization of the water-based liquid extract from the herb *G. aparine* and the alcohol liquid extract from the herb *G. verum* have been first developed. The 5 batches have been studied for the compliance with the specifications developed. The DQCM projects for "*Galium aparine* liquid extract" and "*Galium verum* liquid extract" have been developed.

It has been first found that the extracts, WSPS, pectin substances and the WSPS-with-pectin complexes exhibit an immunomodulatory effect. It has been first determined that the level of the immunomodulatory effect of alcohol and water-alcohol extracts depends on the content of hydroxycinnamic acids.

The results of the phytochemical study have been introduced in research work in a number of a corresponding higher educational institutions of Ukraine.

Key words: *Galium verum*, *Galium aparine*, phytochemical study, biologically active substances, extracts, immunomodulatory effect, antimicrobial effect.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ			25
ВСТУП			26
РОЗДІЛ 1	БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ *GALIUM VERUM* L. ТА *GALIUM APARINE* L. (огляд літератури)		36
	1.1	Ботанічна характеристика та географічне розповсюдження *Galium verum* L. та *Galium aparine* L.	36
	1.2	Хімічний склад *G. verum* та *G. aparine*	38
	1.2.1	Хімічний склад *G. verum*	39
	1.2.2	Хімічний склад *G. aparine*	41
	1.3	Фармакологічна активність *G. verum* та *G. aparine* їх застосування у медицині	43
	1.3.1	Фармакологічна активність *G. verum* та його застосування у медицині	43
	1.3.2	Фармакологічна активність *G. aparine* та його застосування у медицині	49
	1.4	Застосування у народному господарстві	52
Висновки до розділу 1			53
РОЗДІЛ 2	МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ		55
	2.1	Характеристика об’єктів досліджень	55
	2.2	Методи фітохімічного дослідження	56
	2.3	Методи визначення технологічних параметрів сировини та екстрактів	64
	2.3.1	Визначення втрати в масі при висушуванні та золи загальної	64
	2.3.2	Визначення насипного об’єму до та після усадки сировини	65

	2.3.3	Визначення насипної густини	65
	2.3.4	Визначення питомої густини	65
	2.3.5	Визначення об’ємної густини	66
	2.3.6	Визначення пористості	66
	2.3.7	Визначення нарізності шару	67
	2.3.8	Визначення вільного об’єму шару	67
	2.3.9	Визначення коефіцієнту поглинання екстрагенту	67
	2.4	Методи дослідження біологічної активності екстрактів	68
	2.4.1	Визначення антимікробної та протигрибкової активності	68
	2.4.2	Визначення імуномодулювальної активності	69
РОЗДІЛ 3	ВИВЧЕННЯ КОРЕЛЯТИВНИХ ЗВ’ЯЗКІВ МІЖ МОРФОЛОГІЧНИМИ ОЗНАКАМИ І НАЯВНІСТЮ БАР У ВИДАХ РОДУ *GALIUM*		72
	3.1	Вивчення корелятивних зв’язків між морфологічними ознаками і наявністю флавоноїдів у видах роду *Galium*	73
	3.2	Вивчення корелятивних зв’язків між морфологічними ознаками і наявністю фенолкарбонових і гідроксикоричних кислот у видах роду *Galium*	85
	3.3	Вивчення корелятивних зв’язків між морфологічними ознаками і наявністю іридоїдів у видах роду *Galium*	92
Висновки до розділу 3			112
РОЗДІЛ 4	ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ ІЗ ТРАВИ *GALIUM VERUM* ТА ІЗ ТРАВИ *GALIUM APARINE*, ВСТАНОВЛЕННЯ ЇХ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ		115

	4.1	Визначення технологічних параметрів сировини	115
	4.2	Дослідження закономірностей екстрагування основних груп БАР із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*	118
	4.2.1	Вплив ступеню подрібненості ЛРС на вихід БАР	118
	4.2.2	Вплив тривалості екстракції на вихід БАР	120
	4.2.3	Вплив кратності екстракції на вихід БАР	121
	4.2.3.1	Вплив кратності екстракції на вихід екстрактивних речовин	121
	4.2.3.2	Вплив кратності екстракції на вихід ВРПС	125
	4.2.3.3	Вплив кратності екстракції на вихід фенольних сполук	127
	4.3	Розробка технологічних схем одержання екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*	133
	4.4	Визначення вмісту БАР у екстрактах із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*	134
	4.4.1	Визначення вмісту екстрактивних речовин	134
	4.4.2	Визначення вмісту ВРПС	135
	4.4.3	Визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот	135
	4.4.4	Визначення вмісту суми флавоноїдів	136
	4.4.5	Визначення вмісту суми поліфенольних сполук	137
	4.5	Дослідження БАР екстрактів	138
	4.5.1	Дослідження ВРПС	138
	4.5.2	Дослідження фенольних сполук екстрактів	145
	4.5.3	Дослідження сполук методом УЕРХ-МС	149
	4.5.4	Дослідження сапонінів екстрактів	153
	4.6	Дослідження пектинових речовин із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*	158

	4.6.1	Отримання пектинових речовин	158
	4.6.2	Кількісне визначення функціональних груп пектинових речовин	160
	4.7	Дослідження комплексу ВРПС з пектиновими речовинами	161
	4.8	Дослідження можливості комплексної переробки трави *G. verum* та трави *G. aparine*	163
Висновки до розділу 4			166
РОЗДІЛ 5	СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ТА ЕКСТРАКТІВ ІЗ ТРАВИ *GALIUM VERUM* L. ТА ІЗ ТРАВИ *GALIUM APARINE* L. ТА ПІДТВЕРДЖЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ		173
	5.1	Стандартизація трави *G. aparine*	173
	5.2	Стандартизація водного екстракту рідкого з трави *G. aparine*	179
	5.3	Стандартизація спиртового екстракту рідкого з трави *G. verum*	183
	5.4	Дослідження антимікробної активності екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*	188
	5.5	Дослідження імуномодулювальної дії субстанцій із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*	190
Висновки до розділу 5			196
ВИСНОВКИ			200
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ			203
ДОДАТКИ			226

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЕС – атомно-емісійна спектроскопія

БАР – біологічно активні речовини

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ВРПС – водорозчинні полісахариди

ДФУ – Державна фармакопея України

ЛРС – лікарська рослинна сировина

МКЯ – методи контролю якості

ПХ – паперова хроматографія

п. – підмаренник

РБТЛ – реакція бластної трансформації лімфоцитів

СФ – спектрофотометрія

ТШХ – тонкошарова хроматографія

УЕРХ-МС – ультраефективна рідинна хроматографія з мас-детектуванням

УФ – ультрафіолетова спектроскопія

ФГА – фітогемаглютинін

ФС – фармакопейна стаття

ЄФ – Європейська фармакопея

G. – *Galium*

GA-V – екстракт (екстрагент вода) із трави *G. aparine*

GA-20 – екстракт (екстрагент 20 % етанол) із трави *G. aparine*

GA-60 – екстракт (екстрагент 60 % етанол) із трави *G. aparine*

GA-96 – екстракт (екстрагент 96 % етанол) із трави *G. aparine*

GV-V – екстракт (екстрагент вода) із трави *G. verum*

GV-20 – екстракт (екстрагент 20 % етанол) із трави *G. verum*

GV-60 – екстракт (екстрагент 60 % етанол) із трави *G. verum*

GV-96 – екстракт (екстрагент 96 % етанол) із трави *G. verum*

UHPLC-DAD-MS – ультраефективна рідинна хроматографія з діодно-матричним детектором та тандемною мас-спектрометрією

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Одним із важливих завдань сучасної фармацевтичної науки є пошук ефективних лікарських засобів на основі біологічно активних речовин (БАР) рослинного походження та розробка технологій комплексної переробки лікарської рослинної сировини (ЛРС).

Рід Підмаренник (*Galium* L.) родини Маренові (*Rubiaceae* Juss.) у світовій флорі налічує 659 офіційно зареєстрованих видів, 145 з яких зростають у європейських країнах, у тому числі близько 70 на території України. До найбільш розповсюджених видів роду відносяться підмаренник справжній (*Galium* (*G.*) *verum* L.) та підмаренник чіпкий (*Galium aparine* L.). В Україні їх здавна застосовують у народній медицині як сечогінні, жовчогінні, кровоспинні, протизапальні, седативні та бактерицидні засоби. Настойка трави підмаренника справжнього входить до складу вітчизняного препарату «Тазалок», який застосовують в гінекології, рідкий екстракт підмаренника справжнього є складовою частиною біологічно активних добавок «Energy Gynex» та «Energy Regalen» (Energy Group, Чехія) для нормалізації стану ендокринної системи, активізації роботи шлунково-кишкового тракту, нирок. Гомеопатичний засіб «Galium-Heel» (Heel, Німеччина) містить *G. aparine* у розведенні D3 4 г/100 г, який виявляє імуномодулювальну, протизапальну, дезінтоксикаційну та дренажну дії, використовується при нейроциркуляторній дистонії (ВСД) вертеброгенного ґенезу (дегенеративного, травматичного, запального, неопластичного та іншого характеру ураження хребців); екстракт із надземної частини *G. aparine* міститься у складі біологічно активної добавки «Lymphatic Drainage» (Nature’s sunshine products, INC, США), який тонізує роботу лімфатичної системи, традиційно використовується для лікування збільшених лімфовузлів та має сечогінну дію.

Порушення функцій імунної системи відіграють основну роль у хронізації захворювань, розвитку їх ускладнень. Сучасне погіршення екологічної ситуації, зростання інформаційного та нервово-емоційного навантаження, зниження соціальної захищеності населення, стрімке збільшення активності патогенних інфекцій, як ендемій, так і пандемій, збільшується кількість вторинних імунодефіцитів. У зв'язку з їх поширенням проблема захворювань, зумовлених порушенням у системі імунітету, переросла у глобальну медико-соціальну проблему. Все більшу роль у корекції імунодефіцитних станів відіграють лікарські засоби рослинного походження. Проте, на фармацевтичному ринку України фітопрепаратів із імуномодулювальною активністю нараховується незначна кількість.

Назріла необхідність проведення поглибленого фармакогностичного дослідження трави *G. verum* і трави *G. aparine* та детального аналізу біологічно активних речовин (БАР) екстрактів із даної сировини. У Національному фармацевтичному університеті (НФаУ) розроблено лікарські субстанції та встановлено імуномодулювальну дію субстанцій із представників роду *Asperula* L., які ряд систематиків відносять до роду *Galium* L.

Отже, актуальним є створення лікарських засобів для стимуляції імунітету із трави підмаренника справжнього та підмаренника чіпкого, системне, комплексне дослідження отриманих субстанцій, встановлення класів БАР, які спричинюють фармакологічний ефект.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану Проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи НФаУ «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є визначення оптимальних джерел БАР серед видів роду Підмаренник, фітохімічне

дослідження та визначення параметрів стандартизації лікарських субстанцій на їх основі, обґрунтування можливого взаємозв’язку імуномодулювальної дії із вмістом основних груп БАР.

Для досягнення цієї мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести аналіз та узагальнення сучасних літературних даних з питань ботанічної характеристики, ареалів зростання, хімічного складу і застосування підмаренника справжнього та підмаренника чіпкого в медичній та фармацевтичній практиці; окреслити коло невирішених питань;
- провести дослідження взаємозв’язку між морфологічними ознаками і наявністю окремих біологічно активних речовин у видах роду *Galium* з метою обґрунтування вибору об'єктів дослідження;
- провести стандартизацію трави *G. aparine;*
- встановити технологічні та числові параметри досліджуваної сировини;
- визначити параметри екстрагування БАР з досліджуваної ЛРС та розробити технологію отримання рідких екстрактів;
- провести дослідження якісного складу і кількісного вмісту основних груп БАР в одержаних екстрактах;
- визначити доцільність комплексної переробки трави *G. verum* та *G. aparine*;
- провести стандартизацію екстрактів, які проявляють найвищу фармакологічну активність;
- провести дослідження антимікробної та імуномодулювальної активності отриманих екстрактів;
- провести дослідження взаємозв’язку між вмістом основних груп БАР у екстрактах та рівнем їх імуномодулювальної активності.

Об’єкт дослідження – морфологічне та хроматографічне дослідження видів роду Підмаренник, комплексне фітохімічне вивчення трави та екстрактів *G. verum* та *G. aparine*.

Предмет дослідження – встановлення хімічного складу сировини, виявлення взаємозв'язку між морфологічними ознаками та наявністю окремих іридоїдів, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів у видах роду Підмаренник; стандартизація трави *G. aparine*; визначення технологічних параметрів трави *G. verum* та *G. aparine* та оптимальних параметрів екстрагування БАР з них; встановлення доцільності комплексної переробки сировини; одержання екстрактів, встановлення їх хімічного складу та визначення вмісту БАР в них; стандартизація отриманих екстрактів; вивчення їх антимікробної та імуномодулювальної активності; встановлення залежності між хімічним складом та рівнем імуномодулювальної активності одержаних екстрактів.

Методи дослідження. Фізичні – визначення втрати в масі при висушуванні, загальної золи тощо; фізико-хімічні – паперова хроматографія (ПХ), тонкошарова хроматографія (ТШХ), високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), ультраефективна рідинна хроматографія з тандемною мас-спектрометрією (УЕРХ-МС), хромато-мас-спектрометрія (ГХ-МС), атомно-абсорбційна спектроскопія, спектрофотометрія; хімічні – реакції ідентифікації БАР; технологічні – вибір екстрагенту, співвідношення сировини – екстрагенту, встановлення тривалості та кратності екстракції; фармакологічні – *in vitro* з використанням стандартних методик; математичні. Статистичну обробку експериментальних даних проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0 Т.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту» та «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та тестів».

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведено дослідження взаємозв'язку між морфологічними ознаками видів роду *Galium* і наявністю в них флавоноїдів: ізоройфоліну, лютеолін-7-О-арабінозилглюкозиду, діосметин-7-О-глюкопіранозиду, палюстрозиду, діосметин-7-О-ксилоглюкозиду; фенолкарбонової та гідроксикоричних кислот: ванілінової, кофейної, неохлорогенової; іридоїдів: асперулозиду, асперулозидової кислоти, деацетиласперулозиду, 10-

деацетиласперулозидової кислоти, скандозиду, монотропеїну, геніпозидової кислоти.

Вперше визначено технологічні параметри трави *G. verum* та трави *G. aparine*: насипний об'єм та насипну густину до та після усадки сировини, питому, об'ємну густину, пористість, нарізність, вільний об'єм шару, коефіцієнти поглинання розчинників.

Вперше встановлено закономірності екстрагування основних груп БАР із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*. Оптимальними умовами екстрагування БАР є: розміри часток ЛРС 3 – 4 мм, співвідношення сировина – екстрагент 1 : 10, кратність екстракції – 3, тривалість одноразової екстракції 30 хв.

Вперше у траві *G. aparine* ідентифіковано та встановлено вміст *n*-гідроксибензойної кислоти, 4-О- та 5-О-кофеїлхінних кислот, 3,4-, 3,5- та 4,5-О-дикофеїлхінних кислот, ізорамнетин-3-О-глюкорамнозиду, кверцитрину та кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозиду, останній вперше виявлено для роду *Galium*. Вперше у траві *G. verum* та траві *G. aparine* виявлено та встановлено вміст еускафової та торментинової кислот, бетуліну та лупеолу. У траві *G. verum* вперше виявлено уваол та встановлено його вміст.

Уточнено наукові дані щодо мономерного складу та вмісту відновлюваних цукрів у ВРПС в траві *G. verum* та *G. aparine*, досліджено амінокислотний, елементний склад ВРПС, встановлено вміст золи в них. Досліджено динаміку екстрагування пектинових речовин із шроту трави *G. verum* та *G. aparine,* встановлено вміст золи в них та визначено елементний склад. Уточнено наукові дані стосовно вмісту в них функціональних груп.

Вперше отримано сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами та встановлено їх співвідношення в комплексах.

Встановлено доцільність комплексної переробки досліджуваної сировини – отримання ВРПС після послідовно отриманих раніше із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* ліпофільних та фенольних комплексів.

Розроблено параметри стандартизації екстракту рідкого (екстрагент вода очищена) із трави *G. aparine* та екстракту рідкого (екстрагент 96% етанол) із трави *G. verum,* досліджено 5 серій їх на відповідність розробленим вимогам.

Уточнено наукові дані стосовно антибактеріальної активності субстанцій із трави *G. verum* та із трави *G. aparine.*

Вперше з'ясовано, що екстракти, ВРПС, пектинові речовини та сумарний комплекс ВРПС і пектинових речовин із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* проявляють імуномодулювальну активність. Визначено пряму залежність між вмістом гідроксикоричних кислот і рівнем імуномодулювальної активності спиртових і спирто-водних екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine.* Встановлено синергічну дію ВРПС і фенольних сполук у складі водних екстрактів трави *G. verum* і трави *G. aparine.*

Встановлено, що сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* мають вищий рівень імуномодулювальної дії, ніж окремо ВРПС та пектинові речовини.

Новизну досліджень підтверджено патентами України на корисну модель «Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника справжнього» (№ u 2017 04409, бюл. № 21 від 10.11.17) та «Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника чіпкого» (№ u 201901943, бюл. № 15 від 12.08.19).

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати дозволяють розширити відомості про хімічний склад та біологічну активність підмаренника справжнього та підмаренника чіпкого. За результатами проведених фітохімічних та фармакологічних досліджень доведено можливість використання субстанцій із трави підмаренника справжнього та

із трави підмаренника чіпкого як імуномодулювальних засобів.

На основі визначених технологічних параметрів ЛРС та закономірностей екстрагування БАР розроблено технологічну схему одержання рідких екстрактів, полісахаридних комплексів, пектинових речовин та сумарних вуглеводних комплексів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* з антибактеріальною та імуномодулювальною активністю. У 4 екстрактах із трави *G. verum* (GV-V, GV-20, GV-60, GV-96) та 4 екстрактах із трави *G. aparine* (GA-V, GA-20, GA-60, GA-96) визначено вміст основних груп БАР: водорозчинних полісахаридів (ВРПС), гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, суми поліфенольних сполук та сухий залишок.

На основі отриманих результатів досліджень розроблено проекти методик контролю якості (МКЯ) «Підмаренника чіпкого трава» «Підмаренника чіпкого екстракт рідкий» та «Підмаренника справжнього екстракт рідкий».

Розроблену технологію отримання екстракту рідкого з трави підмаренника справжнього апробовано на обладнанні ТОВ «КФК» Грін фарм Косметик» (акт № 10/01 від 21.01.19 р.), МКЯ на розроблений екстракт передано для подальшої фармацевтичної розробки та впровадження у виробництво.

Результати досліджень впроваджені у навчальний процес: кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету; кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету; кафедри організації, економіки фармації та фармакогнозії Одеського національного медичного університету; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького; кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею здобувача. Безпосередньо автором здійснено:

- інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації, результати яких стали підґрунтям для визначення невирішених раніше питань;

- морфологічний та хроматографічний аналіз видів роду *Galium* і визначення перспективності трави *G. verum* та трави *G. aparine* для створення лікарських засобів;

- визначення технологічних параметрів сировини і параметрів екстрагування основних груп БАР з неї; розроблено технологічну схему та отримано 4 екстракти із трави *G. verum* та 4 екстракти із трави *G. aparine*;

- встановлено наявність та визначено кількісний вміст основних груп БАР в екстрактах: ВРПС, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, суми поліфенольних сполук;

- отримано ВРПС, в яких визначено мономерний, амінокислотний та елементний склад, встановлено вміст золи;

- отримано пектинові речовини, в яких визначено вміст функціональних груп, елементний склад, встановлено вміст золи;

- отримано сумарний комплекс ВРПС з пектиновими речовинами;

- встановлено можливі шляхи комплексної переробки досліджуваної сировини;

- проаналізовано і систематизовано результати фармакологічних досліджень, встановлено залежність між рівнем імуномодулювальної активності і вмістом окремих груп БАР у екстрактах;

- розроблено проекти МКЯ «Підмаренника чіпкого трава» «Підмаренника чіпкого екстракт рідкий» та «Підмаренника справжнього екстракт рідкий».

Дисертантом проведено статистичну обробку результатів, оформлено всі розділи дисертаційної роботи, сформульовано основні положення та висновки роботи на основі одержаних експериментальних даних. Автором взято безпосередню участь у оформленні патентів України на корисну модель, статей та тез доповідей на науково-практичних заходах.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження: Ільїна Т. В., Горяча О. В., Кашпур Н. В., Ковальова А. М., Комісаренко А. М., Кошовий О. М., Шемчук Н. С., Криворучко О. В., Кутова В. І., Осолодченко Т. П., Голембіовська О. І., Торяник Е. Л., Базілко А., Граніка С. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Співавторами наукових праць дисертанта захищені такі дисертації: Ільїна Т. В. «Фармакогностичне дослідження рослин родини *Rubiaceae* та перспективи їх використання в медицині», Харків, 2015. 621 с.; Горяча О. В. «Фармакогностичне дослідження видів роду *Galium* L. флори України», Харків, 2013. 230 с.

Усі узагальнення, положення та результати, викладені в дисертації, виконані автором особисто та захищаються вперше. Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: XXIII – XXIV Міжнародні науково-практичні конференції молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2016, 2017); IV Всеукраїнська науково-практична конференція «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2016); VIII Національний з’їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття : тенденції та перспективи» (Харків, 2016); VI – **VII** науково-практичні конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2016, 2018); IV – V Международные научные конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, Республика Казахстан, 2016, 2017); I, III – IV Міжнародні науково-практичні конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2017,

2019, 2020); Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 2018); The 9th Intenational Pharmaceutical Conference dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy «Sciences and Practice 2018» (Kaunas, Lithuania, 2018); международная конференция «Современные достижения фармацевтической науки и практики», посвященная 60-летию фармацевтического факультета Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета (Витебск, 2019); міжнародна науково-практична конференція «Planta+. Досягнення та перспективи», присвячена пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) (Київ, 2020).

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 252 сторінках машинописного тексту, вона складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації становить 178 сторінок друкованого тексту. Роботу ілюстровано 49 таблицями та 46 рисунками. Список використаних джерел містить 209 найменувань, з яких 47 кирилицею та 162 латиною.

РОЗДІЛ 1
БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ *GALIUM VERUM* L. ТА *GALIUM APARINE* L.
(Огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика та географічне розповсюдження *Galium verum* L. та *Galium aparine* L.

Космополітичний рід підмаренник *Galium* L. родини маренові *Rubiaceae* Juss. налічує 659 офіційно зареєстрованих видів, 145 з яких описані для Європи (рис. 1.1) [106].

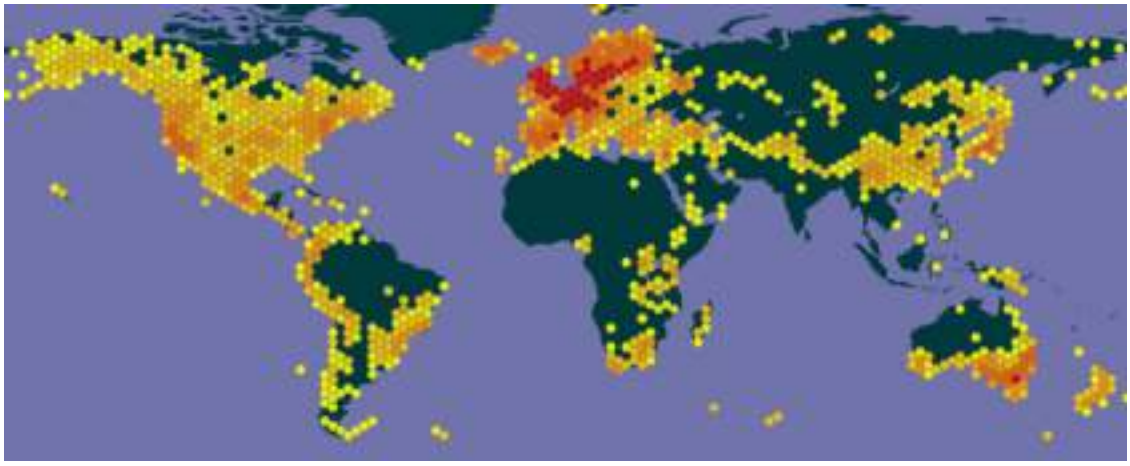


Рис. 1.1 Ареал представників роду *Galium*

Назва походить від грецьк. γάλα (*gala*) – молоко. Етимологія назви пояснюється тим, що при поїданні коровами квітучої трави підмаренника їх молоко набувало червонуватого забарвлення і швидше згорталось. Підмаренник має здатність згортати молоко, тому не випадково у татар підмаренник називается йогирт, від якого походить і слово йогурт.

У флорі України налічується від 51 до 70 видів [44, 158].

Підмаренники – багаторічні, рідше однорічні трави з розгалуженим стеблом. Листки разом із прилистками розташовані в мутовках по 4-16. Квітки у верхівкових волотистих суцвіттях або винятково в пазушних

півзонтиках. Край чашечки без зубців, непомітний. Віночок колесоподібний з коротко дзвоникоподібною або вузько кільцеподібною трубочкою і чотирироздільним, рідко три роздільним, білим або жовтим, рідше червоним, відгином. Тичинок 3-4. Стовпчиків два, вільні або при основі з'єднані. Плід сухий, двійчастий горішок, голий або нерідко щетинистий.

З великого роду *Galium* L. підмаренник справжній *Galium verum* L. (*G. verum*) і підмаренник чіпкий *Galium aparine* L. (*G. aparine*) відносяться до рослин з надзвичайно великим ареалом: підмаренник справжній поширений у Центральній та Західній Європі, на Сході Канади та США, на Північному Сході Росії та у Китаї (рис. 1.2); підмаренник чіпкий поширений по всій Європі, Північній Америці та деяких частинах Азії, ареал його на півночі доходить до Аляски і Гренландії, як заносна рослина зустрічається у Австралії, Новій Зеландії та суб-Антарктичних островах (рис. 1.3) [75, 161, 173, 186, 188, 196].

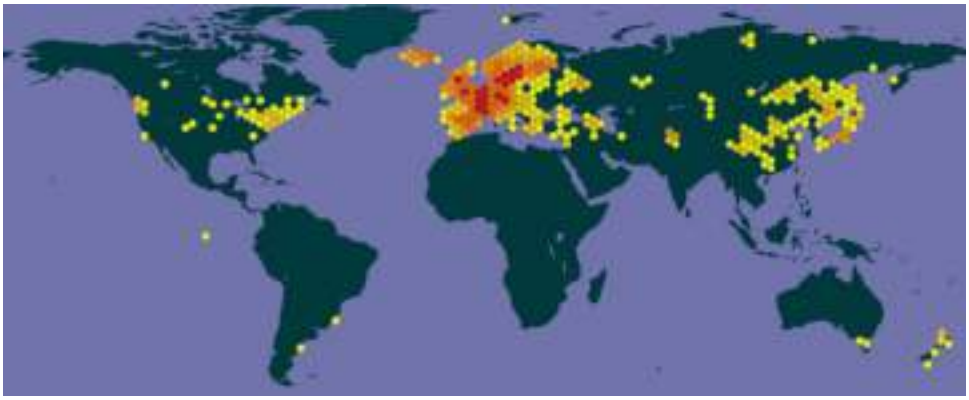


Рис. 1.2 Ареал *G. verum*

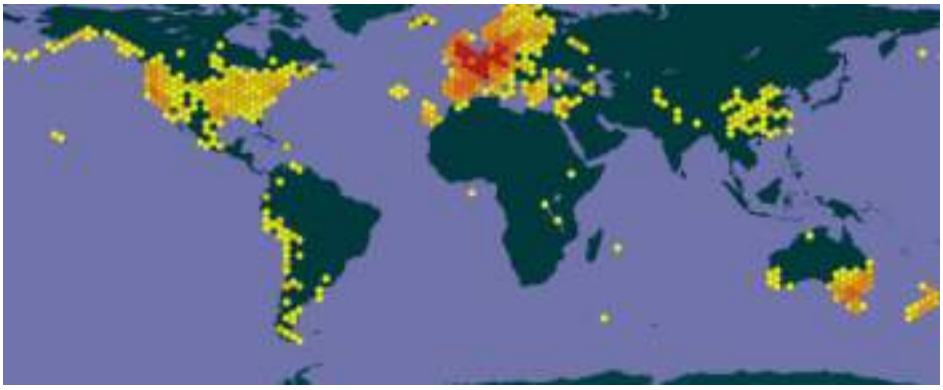


Рис. 1.3 Ареал *G. aparine*

G. verum – це багаторічна трав'яниста кореневищна рослина. Стебла підведені, 30-125 см заввишки, округло чотиригранні, у нижній частині голі та гладенькі, у верхній мають незначне опушення. Листки сидячі, вузьколінійні, до ниткоподібних, з однією повздовжньою жилкою й загорнутими донизу краями, у мутовках по 8-12, зверху темно-зелені, зісподу – блідо-зеленуваті або білуваті, на верхівці витягнуті в коротеньке вістря. Квітки яскраво-жовті, запашні, дрібні, правильні, двостатеві, зрослопелюсткові, 3-5 мм в діаметрі, зібрані у густі верхівкові волоті. Плід – сухий горішок. Цвіте у червні-липні. Росте переважно на луках, узліссях, степових схилах і кам'янистих відслоненнях [44, 156, 190, 196].

G. aparine – це багаторічна трав'яниста рослина, вкрита гачкоподібно загнутими волосками. Стебла полеглі, або лазячі, 50-200 см заввишки, вкриті гачкоподібними волосками, розгалужені, чотиригранні, у вузлах не роздуті, не дуже міцні. Листки прості, розташовані в кільцях по 6-8, нижні – обернено яйцеподібні, серединні й верхні – клиноподібно-ланцетні, по краю і зісподу по серединній жилці негусто вкриті відігнутими назад гачкоподібними волосками для прикріплення до інших рослин, зверху розсіянощетинисті, на верхівці – відтягнуті в тонке вістря, краї листової пластинки рівні. Квітки дрібні, правильні, полігамні (двостатеві й чоловічі), зрослопелюсткові, в пазушних півзонтиках, більших за листки; віночок до 2 мм у діаметрі, білуватий, колесоподібий, з чотирироздільним відгином. Зав'язь нижня. Плід – сухий горішок, 3-5 мм завдовжки, вкритий дрібними гачкоподібними волосками, темно-коричневого кольору [184]. Рослина, як правило, зростає пучками і утворює компактні скупчення [44, 156, 190, 196].

1.2 Хімічний склад *G. verum* та *G. aparine*

Дослідженням хімічного складу підмаренника справжнього та підмаренника чіпкого займаються вчені багатьох країн [4, 39, 50-52, 55, 57, 60, 61, 66, 68-70, 73, 79-81, 83, 86, 89, 90, 93-96, 103-105, 111, 120, 122, 123,

126-129, 131, 142, 143, 145, 149, 151, 157, 167, 169, 177, 178, 185, 189, 199, 208, 209].

На кафедрі фармакогнозії НФаУ (ХФІ) дослідження були розпочаті ще у 60-х роках XX ст. М. І. Борисовим [3, 71], пізніше продовжені його учнями – М. С. Журавльовим, М. М. Литвиненко, А. Г. Богаєвським. Тема отримала новий розвиток у роботах Горячої О. В. [10, 16, 17, 25, 33, 49, 125, 170] та Ільїної Т. В. [16, 17, 25, 26, 33, 48, 62, 125]. Були спроби знайти залежність між морфологічними ознаками видів та наявністю в них окремих флавоноїдів: космосіїну, цинарозиду, гіперозиду, астрагаліну, кемпферол-3-О-рутинозиду та морфологічними ознаками видів роду *Galium*, в яких виявлено ці сполуки [26].

1.2.1 Хімічний склад *G. verum*

У траві *G. verum* в результаті числених фітохімічних досліджень виявлено *фенолкарбонові кислоти*: бензойну, фенілоцтову, саліцилову, ванілінову [10, 26], сиренєву, галову [174], 3-гідрокси-бензойну [145]; *гідроксикоричні кислоти*: хлорогенову [26, 83, 93, 126, 145, 151, 174], *п*-кумарову [83, 126, 151, 174], ферулову [26, 83, 151, 174], кофейну [126, 136, 151, 174], коричну, синапову, сальвіанолову [151].

Глікозиди флавоноїдів: кверцетину, кемпферолу, ізорамнетину, лютеоліну, апігеніну, діосметину. *Флавоноли*: кверцетин [83, 145, 151] та його глікозиди кверцетрин [83], ізокверцитрин [80, 83, 151, 174], рутин (кверцетин-3-О- рутинозид) [26, 83, 93, 126, 131, 136, 145, 151, 174]; кемпферол [83, 174] та його глікозид астрагалін (кемпферол-3-О-β-глюкопіранозид) [131]; ізорамнетин [80, 151] та його глікозид нарциссин (3-рамноглюкозид ізорамнетину) [80, 136]; фізетин [151].

Флавони: хризин [151], апігенін [26] та його глікозиди апігенін-7-О-глюкозид [26], апігенін-4´-О-рамнозид [104], апігенін-7-*О*-(3,4-ди-*О*-ацетил)-*α*-L-рамнопіранозил-(1 → 6)-*β*-D-глюкопіранозид [51]; лютеолін [26, 126, 174] та його глікозиди цинарозид (лютеолін-7-О-глюкозид) [126, 136],

лютеолін-7-O-α-L-рамнопіранозил(1→2)-β-D-глюкопіранозид [136], лютеолін -7-O-диглюкозид [26]; діосметин [80, 177] і його глікозиди діосметин-7-O-β-D-глюкопіранозид [80], діосмін [192], діосметин-7-O-α-l-рамнопіранозил-(1-2)-[β-d-ксилопіранозил-(1-6)]-β-d-глюкопіранозид та 3,5,7,3',4',3",5",7",3"',4"'-декагідрокси-[8-CH2-8"]-біфлавон [105, 209].

Флаванони: нарінгенін [174], гесперидин (гесперетин-7-O-глюкозид) [151].

Інші групи флавоноїдів: (+)-катехін, (–)-епікатехін [147]; *транс*-2´,3,4,4´,6´-пентагідроксихалкон [104].

Лігнани: (+)-пінорезинол-4,4'-O-біс-β-D-глюкопіранозид, епіпінорезинол, (+)-медіорезинол [79], галіверозид А [52].

Іридоїди: асперулозид [39, 73, 96, 128, 129, 131, 143], деацетиласперулозид [143], 3,4-дигідро-3-метокси-асперулозид [73, 128], 10-*n*- дигідрокумароїл-деацетиласперулозид [143], монотропеїн [73, 79, 129, 131], скандозид [73, 129, 141], 6-ацетилскандозид [73, 129], 6-O-епі-ацетилскандозид [73, 131], геніпозид [79], 6-α-гідроксигеніпозид [79], геніпозидова кислота [73], 10-*n*-дигідрокумароїл-6-α-гідроксигеніпозид [143], 10-дезацетиласперулозидова кислота [73, 79, 129, 131], асперулозидова кислота [73, 129, 131, 143], асперулозидової кислоти метиловий естер [143], дафіллозид [73, 131], деацетил-дафіллозид [73, 131], логанін [73, 129], секогаліозид [73,], іридоїдні естери з *n*-гідроксифенілпропіоновою кислотою [129], аукубін [79], моріндолід [79].

Монотерпенові глікозиди: бетулалбузид А і (2E)-2,6-диметил-2,7-октадієн-1,6-діол-6-O-β-глюкопіранозид [131].

Антрахінони: 3-дигідрокси-2-метил-антрахінон, фісціон, 2-гідрокси-1,3-диметил-антрахінон, 2,5-дигідрокси-1,3-диметокси-антрахінон [50, 149]; 1,3-дигідрокси-2-метоксиметил-антрахінон, 1,3-диметокси-2-гідрокси-антрахінон, 1,3-дигідрокси-2-ацетокси-антрахінон; 1-гідрокси-2-гідрокси-метил-антрахінон, 1,3-дигідрокси-2-метил-антрахінон, 1-метокси-2-гідрокси-антрахінон; 1,3-дигідрокси-2-гідрокси-метил-6-метокси-антрахінон, 1,6-

дигідрокси-2-метил-антрахінон [69, 149]; 2,5-дигідрокси-1-метокси-антрахінон, 1-гідрокси-2-гідроксиметил-3-метоксиантрахінон [79].

Компоненти ефірної олії: ліналоол, *цис*-ліналоолоксид, *транс*-ліналоолоксид, *цис*-епоксиліналоол, *транс*-епоксиліналоол, хо-трієнол, *α*-терпінеол, борнеол, камфора, *β*-іонон, сквален, бензиловий спирт, 4-вінілфенол, 2-метокси-4-вінілфенол [25, 26, 125], каркакрол [145].

Сапоніни: олеанолова кислота, β-ситостерол [126], урсолова кислота, урсоловий альдегід і рубіфолева кислота [80].

Амінокислоти: аспарагінова, глутамінова, треонін, серин, аланін, лізин, гістидин, гліцин, аргінін [26, 39], 4-гідроксипролін, аспарагін, глутамін, пролін, γ-аміномасляна, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, цистин, цистеїн, тирозин [26].

Карбонові кислоти: яблучна, лимонна, щавлева, бурштинова, малонова, фумарова, лауринова, міристинова, пентадеканова, пальмітинова, пальмітолеїнова, 7,10-гексадекадієнова, маргаринова, 7,10,13-гексадекатрієнова, стеаринова, олеїнова, лінолева, ліноленова, арахінова, бегенова, лігноцеринова [26].

Досліджувався також елементний склад [10, 26, 39, 90].

У проведених раніше дослідженнях було визначено параметри стандартизації трави *G. verum*, розроблено проекти МКЯ «Підмаренника справжнього трава», «Підмаренника справжнього трави екстракт сухий «ВСС-Т» (сумарний спиртовий екстракт, очищений від ліпофільних сполук), «Підмаренника справжнього трави екстракт сухий «ОПК-ТС» (водний екстракт, очищений від полісахаридів) [10].

1.2.2 Хімічний склад *G. aparine*

У траві *G. aparine* в результаті числених фітохімічних досліджень виявлено *фенолкарбонові кислоти*: протокатехова (3,4-дигідроксибензойна)

[39], гентизинова (2,5-дигідроксибензойна) [83], 4-гідрокситруксилова (4-метоксибензойна) [167], ванілінова [39], галова [39, 167].

Гідроксикоричні кислоти: *п*-кумарова (*п*-гідроксикорична) [39], хлорогенова, кофейна, ферулова [26, 39, 83], кафтарова [83], цикорієва [39].

Кумарини: умбеліферон, скополетин, ескулетин [39].

Глікозиди флавоноїдів: кверцетину, кемпферолу, лютеоліну. *Флавоноли*: кверцетин [39, 57, 81, 83] та його глікозиди ізокверцитрин [57, 83], гіперозид [39, 57, 83], рутин (кверцетин-3-О- рутинозид) [39, 55, 57, 81, 83]; дигідрокверцетин [39]; кемпферол [39] та його глікозид астрагалін (кемпферол-3-О-β-глюкопіранозид) [81].

Флавони: апігенін [81]; лютеолін [57, 83] та його глікозид цинарозид (лютеолін-7-О-диглюкозид) [81].

Інші групи флавоноїдів: епікатехін [39], неогесперидин (дигідрохалкон) [55].

Тритерпеноїд уваол [55].

Серед *стероїдних сполук* виявлено *β*-ситостерол [26, 55, 70, 185], кампестерол [26, 70], γ-ситостерол, стигмаста-3,5-дієн [170], ситостенон [26], C_{14}-метилфітостероли – метилергост-8-єнол, обтусіфоліол, дигідрообтусіфоліол [70], даукостерол [185].

Іридоїди: асперулозид [39], асперулозидова кислота [89, 129], 10-деацетиласперулозидова кислота [89, 129], скандозид [129], монотропеїн [129].

Компоненти ефірної олії: лімонен, 1,8-цинеол, γ-терпінен, *п*-цимен, бонеол, карвенон, *ar*-куркумен, *β*-дамасценон, *цис*-каламен, ізофітол [85], фітол [26], неофітадієн [85], *транс*-неофітадієн, *транс-, цис*-неофітадієн, *цис*-неофітадієн [26, 170], гексагідрофарнезилацетон [26, 85], сквален [26, 170], бензофенон [26], бензальдегід, коричний альдегід, фенілоцтова кислота, 2-метокси-4-вінілфенол, ванілін [170].

Монотерпенові лактони: дигідроактинідіолід [26, 170], лоліолід [170].

Антраценпохідні – нордамнакантал (1,3-дигідрокси-антрахінон-2-ал) [60].

Амінокислоти: аспарагінова, глютамінова кислоти, треонін, серін, аланін, лізин, гістидин, гліцин, аргінін [26, 39], 4-гідроксипролін, аспарагін,

глутамін, пролін, γ-аміномасляна, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, цистин, цистеїн, тирозин [26].

Цукри: глюкоза, арабіноза, галактоза, ксилоза, рамноза, галактуронова кислота [39].

Карбонові кислоти: яблучна, лимонна, щавлева, малонова, фумарова, стеаринова, олеїнова [26], каприлова, капронова, міристинова, пальмітолеїнова, пальмітинова, лінолева, ліноленова [26, 170], маргаринова кислота [170].

У проведених раніше дослідженнях було встановлено параметри стандартизації для трави *G. aparine*. Проте, дослідження зі стандартизації даної сировини не проводились, проекту МКЯ «Підмаренника чіпкого трава» створено не було [26].

Результати морфолого-таксономічного і хемотаксономічного дослідження дозволили встановити кореляційну залежність між наявністю окремих важливих у фармакологічному відношенні флавоноїдів – космосіїну, цинарозиду, гіперозиду, астрагаліну, кемпферол-3-О-рутинозиду та морфологічними ознаками частини видів роду *Galium*, в яких виявлено ці сполуки [26]. Але залежність між морфологічними ознаками видів та наявністю в них інших флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та іридоїдів встановлено не було.

1.3 Фармакологічна активність *G. verum* та *G. aparine* їх застосування у медицині

У народній медицині види роду підмаренник використовуються як діуретики, холеретики, проти діареї, при лікуванні захворювань шлунку, подагрі та епілепсії [59, 63-65, 119, 134, 135, 171]. В експерименті продовжуються пошуки оптимальних методів отримання субстанцій з видів роду та дослідження їх фармакологічної активності [10, 26, 33, 53, 137, 145, 162].

1.3.1 Фармакологічна активність *G. verum* та його застосування у медицині

Вітчизняний препарат «Тазалок» («Про-фарма», Україна) використовують для корегування клімактеричних симптомів, при порушеннях менструального циклу, предменструальному синдромі, альгодисменореї, дисменореї, фіброзно-кістозній мастопатії, ретенційних кістах яєчників. До складу препарату (10 мл) входить настойка суміші лікарської рослинної сировини на 40 % етанолі (1:10): лабазнику шестипелюсткового коренів (*Filipendulae vulgaris* radix) – 0,28 г, петрушки кучерявої коренів свіжих (*Petroselini* radix) – 0,225 г, селери коренів свіжих (*Apiumi* radix) – 0,17 г, підмареннику справжнього трави (*Galii* herba) – 0,135 г, льонку звичайного трави (*Linariae* herba) – 0,11 г, нагідок квіток (*Calendulae* flores) – 0,08 г. Препарат проявляє селективну антиестрогенну активність, призводить до ритмічного продукування і нормалізації співвідношення гонадотропних гормонів, сприяє зниженню рівня пролактину та підвищенню рівня прогестерону, усуває дисбаланс між естрадіолом і прогестероном, нормалізує другу фазу менструального циклу [41].

Трава *G. verum* входить до складу біологічно активної добавки «Energy Gynex» (Energy Group, Чехія) для детоксикації і регенерації тіла, гармонізації ендокринної системи, профілактики жіночого безпліддя, регуляції менструального циклу та ін. Містить рідкий екстракт *G. verum*, що має жовчогінну дію та нормалізує роботу печінки [118].

«Energy Regalen» (Energy Group, Чехія) – біологічно активна добавка для нормалізації роботи шлунково-кишкового тракту; підтримує секрецію шлункового соку, сприяє регенерації печінки після перенесеного гепатиту, мононуклеозу, або після алкогольної інтоксикації; підтримує нормальний рівень холестерину тощо. Містить рідкий екстракт *G. verum*, який проявляє позитивну дію на лімфатичну систему, функції печінки, селезінки та використовується як діуретичний та спазмолітичний засіб [179].

G. verum при внутрішньому застосуванні має сечогінну, заспокійливу дію при надмірній дратівливості і безсонні [146, 198, 204], у нетрадиційній медицині Сербії зовнішньо використовується при ранах, висипаннях та вуграх [58, 172]. Суха трава *G. verum* застосовується таким же чином у Чорногорії, на території Боснії та Герцеговини – як сечогінний засіб при запаленні сечового міхура та нирок, при ранах, що довго не гояться, при епілепсії або істеріях [99, 100]. Використання *G. verum* для лікування захворювань сечовивідної системи та інфекцій зареєстровано на території Косово та Македонії [150, 153, 199, 202].

Експериментальні дослідження субстанцій з трави *G. verum* свідчать про їх седативну активність [58]. Екстракт з трави *G. verum* проявляє захисний ефект проти анакінетичного стресу у щурів [180, 181]. При дослідженні нейротропних властивостей водного та водно-спиртового (70 % етанол) екстрактів з трави *G. verum* встановлено, що вони викликають чітку тенденцію до зниження локомоторної активності у піддослідних мишей [26].

В експерименті екстракт з надземних частин *G. verum* проявляє сильну антиоксидантну активність, яку автори досліджень пов’язують з наявністю флавоноїдів і інших фенольних сполук у екстракті [66, 142]. Водночас відмічається, що такий клас сполук, як іридоїди, практично не впливає на рівень антирадикальої активності [86].

Антиоксидантна активність метанольного екстракту з трави *G. verum* проявляє більш сильну здатність інактивувати вільні радикали (IC_{50} =26,98 мкг/мл), слабку гемолітичну дію та, застосовуючи модифікований метод Елмана, слабку активацію холінестерази людської сироватки крові [191].

У проведених раніше Горячою О. В. та Ільїною Т. В. дослідженнях було розроблено проект методик контролю якості (МКЯ) «Трава підмаренника справжнього» та визначено параметри стандартизації трави п ідмаренника чіпкого;розроблено технологічну схему одержання сухого екстракту із трави *G. verum,* за якою екстракція проводиться шляхом послідовної дробної перколяції сировини 70 % етанолом, ліпофільні сполуки видаляються хлороформом і очищена витяжка упарюється на вакуум-випарному апараті до

сухого залишку [10, 26]. Також було отримано сухий екстракт шляхом трикратної мацерації сировини водою при загальному співвідношенні сировина–екстрагент 1 : 10, тривалості кожної екстракції 2 години при температурі 80 ºС, подальшого видалення полісахаридів 96 % етанолом та упарювання до сухого залишку [10, 26]. При цьому дослідження параметрів отримання екстрактів (вплив ступеню подрібненості сировини, тривалості екстракції, кількості її повторів і т.д.) практично не проводились. Крім того, отримані раніше екстракти були вкрай гігроскопічними, що викликало труднощі при їх зберіганні. А їх очистка від так званих «супутніх речовин» мала як плюси, так і мінуси, оскільки при цьому вилучалась частина важливих БАР. На отримані екстракти було розроблено проекти МКЯ.

При дослідженні гепатопротекторної активності водного та водно-спиртового (70 % етанол) екстрактів з трави *G. verum* на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту у щурів встановлено, що механізм гепатопротекторної активності екстрактів реалізується шляхом зменшення цитолізу гепатоцитів і окислювального стресу. При проведенні гістопатологічного дослідження клітин печінки тварин не виявлено дегенеративно-дистрофічних змін і ознак гемодинамічних порушень. Гепатопротекторна активність водного екстракту була вищою, ніж водно-спиртового і практично відповідною активності референс-препарату Силібору [10].

Окремі дослідження присвячені дослідженню можливості використання екстрактів з трави *G. verum* при серцевих патологіях. Так, 4-тижневе лікування екстрактом *G. verum* зменшує гіпертрофію лівого шлуночка і значно покращує функцію серця в дослідах *in vivo*. Окрім того, екстракт *G. verum* зберігає скорочувальну здатність серця, систолічну функцію і коронарну вазодилятаційну відповідь після ішемії. Це також зменшувало структурне ураження серця. Екстракт *G. verum* призводив до зниження регенерації більшості прооксидантів, рівень яких вимірювався, що зменшувало окисне ураження серця. Таким чином встановлено кардіопротекторну активність екстракту *G. verum* та окремі її механізми [178].

Продовжуються дослідження антимікробної активність субстанцій з трави *G. verum* [10, 16, 17, 26, 39, 61, 62, 73, 83, 138, 206].

При дослідженні диско-дифузним методом антимікробної активності екстрактів із квіток, листя та стебел *G. verum*, отриманих з використанням різних розчинників було встановлено, що етанольний екстракт з квіток проявляв антимікробну активність по відношенню до *Bacillus subtilis* (27 мм), *Schizosaccharomyces pombe* (12 мм), *Escherichia coli* (8 мм); етанольний екстракт з листя – по відношенню до *Bacillus subtilis* (17 мм) та *Escherichia coli* (8 мм); етанольний екстракт із стебел – по відношенню до *Salmonella typhimurium* (8 мм) та *Escherichia coli* (8 мм); ацетоновий екстракт із квіток – по відношенню до *Shigella* ssp. (24 мм); ацетоновий екстракт із листя – по відношенню до *Shigella* ssp. (29 мм), *Bacillus subtilis* (18 мм) та *Staphylococcus epidermidis* (9 мм); ацетоновий екстракт із стебел – по відношенню до *Bacillus cereus* (10 мм) та *Staphylococcus epidermidis* (8 мм); ефірний екстракт (діетиловий ефір) з квіток – по відношенню до *Escherichia coli* та *Salmonella typhimurium* (по 9 мм); ефірний екстракт (діетиловий ефір) з листя – по відношенню до *Schizosaccharomyces pombe* (14 мм), *Pichia membranifaciens* та *Saccharomyces cerevisiae* (по 13 мм), *Staphylococcus epidermidis* та *Sarcina lutea* (по 10 мм), *Bacillus cereus* (9 мм), *Bacillus subtilis, Salmonella typhimurium* та *Escherichia coli* (по 8 мм); ефірний екстракт (діетиловий ефір) із стебел – по відношенню до *Pichia membranifaciens, Saccharomyces cerevisiae* та *Schizosaccharomyces pombe* (по 12 мм), *Salmonella typhimurium* та *Escherichia coli* (по 8 мм) [138].

При дослідженні методом «колодязів» було виявлено, що ліпофільна (хлороформна) фракція трави *G. verum* є високоактивною до *Staphylococcus aureus* (діаметр затримки росту 32,4 мм) та до *Bacillus subtilis* (30,3 мм), проявляє достатню активність до *Proteus vulgaris* (15,1 мм). Фенольні фракція (суміш етилацетат-96 % етанол (8 : 2)) проявила високу активність по відношенню до *Staphylococcus. aureus* (діаметр затримки росту 30,4 мм), достатню чутливість по відношенню до *Pseudomonas aeruginosa* та *Bacillus subtilis* (по 20,3 мм), помірну активність до *Candida albicans* (15,2 мм) [10, 26]. Встановлено їх мінімальну

бактеріостатичну та бактерицидну концентрацію, вплив на адгезивні та протилізоцимні властивості мікроорганізмів [16, 17]. Було досліджено також антибактеріальну активність ліпофільних і фенольних комплексів з трави п *G. verum* по відношенню до 26 музейних і клінічних штамів бактерій та 17 штамів грибів родів *Candida, Galactomyces, Zygosaccharomyces, Cryptococcus, Rhodotorula, Pichia, Kluyveromyces, Aspergillus.* Встановлено високу активність субстанцій по відношенню до штамів родів *Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus* [26]. В той же час у даних дослідженнях не встановлено антимікробну активність водного та водно-спиртових екстрактів з даної сировини, що не корелює з даними інших досліджень.

Значна кількість робіт вчених різних країн присвячена дослідженню протипухлинної активності субстанцій з *G. verum*. Виявлено протипухлинну активність водного екстракту *G. verum* при карциномі гортані [94].

Встановлено, що водний настій трави *G. verum* може бути корисним як профілактичний та / або супутній терапевтичний засіб при лікуванні раку голови та шиї, оскільки у первинних кератиноцитах слизової оболонки захищає ДНК від бенз-[α]-пірену, одного з найбільш токсичних ДНК агентів у сигаретному димі [111].

Протипухлинні властивості водного та водно-спиртового (70 % етанол) екстрактів трави *G. verum* вивчались також методом контактного впливу субстанцій на клітини асцитної карциноми Ерліха. Було виявлено, що більш виражену цитотоксичну дію на ракові клітини проявляє водний екстракт, який в дозі 50 мг викликає загибель 21 % ракових клітин [26].

Ряд робіт вчених присвячено дослідженню фармакологічної активності окремих сполук, виділених з трави *G. verum*. Так, було виявлено, що діосметин з трави *G. verum* має протипухлинні властивості. Під його впливом підвищується рівень інтерлейкіну-2 в сироватці крові і значно зменшується рівень фактора некрозу пухлини α, трансформуючого фактору росту β1 і інтерлейкіну-10 дозозалежним чином. Діосметин значно збільшує масу тимусу порівняно з контролем, може інгібувати ріст пухлини і захищати індукований

пухлиною апоптоз тимусу, а механізм тісно пов'язаний із зменшенням загибелі клітин у тимусі і ліганд-ліганд-L-залежним шляхом [177].

Діосмін, виділений з *G. verum,* проявляє ангіопротекторну активність, що було досліджено на моделі венозного тромбозу у щурів, оскільки може впливати на регулювання білку CEP-350 [192].

Досліджено ефекти захисту та антиапоптозу флавонів *G. verum* на ендотеліальні клітини пупкової вени людини, вражені перекисом водню. Встановлено, що флавони *G. verum* здатні зменшувати інгібування проліферації клітини пупкової вени людини, тобто, здатні захистити клітини пупкової вени від окисного пошкодження, а механізм пов'язаний з регулюванням секреції ендотеліну-1 та пептиду, пов’язаного з генами кальцитоніну [176].

При дослідженні китайськими вченими інгібування клітинної проліферації та індукції апоптозу флавоноїду діосметіну-7-O-β-D-ксилопіранозил-(1→6)-β-D-глюкопіранозиду з *G. verum* на ракові клітини печінки HepG2 і вивченні його механізму встановлено, що сполука може пригнічувати проліферацію та викликати апоптоз у клітинах HepG2. Механізм пов'язаний з модуляцією рівня експресії РНК bax / bcl-2 [152].

Було встановлено, що іридоїд асперулозид, який міститься в тому числі і в траві *G. verum* та *G. aparine*, стимулює метаболізм при високо-жировій дієті у щурів, тобто здатен впливати на метаболізм при ожирінні [67].

Для нового лігнанового глікозиду з трави *G. verum,* який отримав назву галіверозид А, встановлена інсектицидна активність [52].

У Китаї запатентовано ряд рослинних зборів, до складу яких входить трава *G. verum*: для лікування гастриту [166], головного болю [200], рибного ентериту [54], екземи вульви [76], асциту [201], як бактерицидний і заспокійливий засіб для шкіри [88, 154], тонізуючий засіб [87].

Дані рослинні засоби відрізняються низькою собівартістю, значною ефективністю, високою швидкістю вилікування, меншою кількістю рецидивів, відсутністю токсичних побічних ефектів.

1.3.2 Фармакологічна активність *G. aparine* та його застосування у медицині

Трава *G. aparine* не застосовується в офіційній медицині, але входить до складу окремих гомеопатичних засобів, таких як «Galium-Heel» (Heel inc., Німеччина) – препарат імуномодулювальної, протизапальної, дезінтоксикаційної та дренажної дії, що базується на активації захисних сил організму і нормалізації порушених функцій [110].

Через аптечні мережі України реалізуються ряд біологічно активних добавок, до складу яких входить трава *G. aparine*.

«Лімфатік-дренаж» – біологічно активна добавка (Nature`s sunshine products, INC. (США) для покращення роботи лімфатичної та кровоносної систем, сприяє дезінтоксикації, покращеню метаболізму та підвищенню імунітету. У 100 г препарату міститься 6 г екстракту *G. aparine*, який тонізує лімфатичну систему та виявляє діуретичну дію [148].

В народній медицині різних країн *G. aparine* використовується при захворюваннях нирок та сечового міхура, захворюваннях шкіри та підвищеному артеріальному тиску [98, 115, 173], захворюваннях печінки, при набряках, нетриманні сечі, болісному сечовипусканні, нирковокам’яній хворобі, запаленнях нирок та сечового міхура, запаленнях шлунку, кишечника. Масляні настої з трави підмаренника чіпкого використовуються зовнішньо при захворюваннях шкіри, висипаннях, екземі, лишаї, раку шкіри [112, 199, 207].

У народній медицині Пакистану сік *G. aparine* застосовується як сечогінний засіб, а також при раку, набряках, інфекціях сечового міхура та нирок [97, 186]. Подрібнені корені *G. aparine* у поєднанні з екстрактом перцю стручкового (*Capsicum annuum* L.) та козячим або овечим молоком в нетрадиційній медицині Китаю застосовують при нічній сліпоті [101].

Сучасні травники та гомеопати використовують рослину для лікування цинги, псоріазу, висипів та багатьох інших шкірних захворювань. Настій як заспокійливий засіб застосовується при безсонні, при сонячних опіках та

веснянках, відвар або настій із свіжої трави також наноситься на обличчя м'якою тканиною або губкою з тією ж метою. Подрібнена трава застосовувалась у Франції як примочки при виразках та пухирцях [72].

В ряді опублікованих робіт наведено результати експериментальних досліджень щодо встановлення антиоксидантної активності субстанцій з трави *G. aparine*. Встановлено антиоксидантну активність етанольного екстракту з трави *G. aparine* [83]. Вивчалась антиоксидантна активність петролейного, хлороформного, метанольного та водного екстрактів *G. aparine*. Найбільшу активність виявив метанольний екстракт, найнижчу – водний [159]. В іншій роботі також досліджувалась антиоксидантна активність метального екстракту *G. aparine*, його н-гексанової, етилацетатної, бутанольної та водної фракцій на різних моделях. Але результати були дещо іншими: встановлено, що найбільшу антиоксиданту активність проявляє водна фракція [103].

Метанольний екстракт з трави *G. aparine* виявляє високу антирадикальну активність (97,70 %) в дозі 300 мкг / мл, що краще, ніж у флавоноїду рутину (95,80 %); протипухлинну активність при раку товстої кишки [55].

Ряд експериментальних робіт присвячені дослідженню протипухлинної дії субстанцій з трави *G. aparine*. Так, при вивченні протипухлинного ефекту різних екстрактів з трави *G. aparine* проти клітин раку молочної залози [MCF-7] [ATCC HTB-22], ракових клітин товстої кишки людини [Caco-2] [ATCC HTB-37] та периферичних лімфоцитів людини було встановлено, що етилацетатний екстракт проявляє вищий цитотоксичний та апоптотичний ефект на периферичні лімфоцити людини у порівнянні з метанольним екстрактом. Етилацетатний екстракт демонструє дозо-залежний цитотоксичний ефект на клітинну лінію MCF-7 (34,35 %, 43,27 % та 49,30 %, при дозах 100, 200 та 300 мкг/мл відповідно). Метанольний екстракт проявляє вищу цитотоксичну дію на клітини MCF-7 (34,30 ± 0,063, 55,67 ± 0,131 та 71,14 % при дозах 100, 200 і 300 мкг/мл, відповідно). Обидва екстракти *G. aparine* мають дозо-залежний апоптотичний ефект по відношенню до ліній клітин MCF-7 та Caco-2 через 48 годин, але метанольний екстракт виявився більш ефективним [55].

Метанольний екстракт з трави *G. aparine* має антипроліферативний та апоптотичний вплив на клітини раку молочної залози людини [68, 95].

При дослідженні *in vitro* антипроліферативної активності петролейної фракції екстракту, отриманого шляхом екстракції трави *G. aparine* 60 % етанолом, на клітинах лейкозу K562 методом МТТ, встановлено пригнічення проліферації клітин лейкозу K562 компонентами петролейної фракції з дозо-залежним та залежним від часу взаємозв'язком. Виявлено, що дибутилфталат має найсильнішу активність, а *β*-ситостерол проявляє помірну активність [185].

На моделі тетрахлорметанового гепатиту у щурів досліджувались гепатопротекторні властивості *G. aparine* у складі рослинного збору. Було встановлено, що суміш *Berberis lycium*, *G. aparine* та *Pistacia wholeerrima* проявляє гепатозахисні ефекти шляхом корекції біохімічних параметрів досліджуваних тварин [120].

Антрахінонові сполуки кореневища *G. aparine* мають інсектицидну дію [60].

Було встановлено, що етанольний екстракт трави *G. aparine* не проявляє антимікробну активність по відношенню до *Staphylococcus aureus* (ATCC 49444), *Listeria monocytogenes* (ATCC 13076), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) *Candida albicans* (ATCC10231) [83].

Але ліпофільні (хлороформний та етилацетатно-спиртовий (8:2)) комплекси проявляють значну антимікробну дію по відношенню до *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *Candida albicans* 885-663 [62, 170].

В Китаї запатентовано засіб для лікування анорексії, до складу якого входить трава *G. aparine* [92].

1.4 Застосування у народному господарстві

Трава *G. verum* в Китаї входить до складу корму для вирощування курей у інкубаторах, який відрізняється посиленням росту і розвитку курчат,

підвищенням їх активності, покращенням імунітету [74].

На Балканах кореневища та корені *G. verum* використовувались для забарвлення вовни в червоний / фіолетовий колір [91, 155, 160], тоді як висушені верхівкові частини трави використовувались як інсектицид при блохах [124, 160].

Квітки *G. verum* використовуються при виготовленні сирів Double Gloucester і Cheshire [160, 175].

Молоде листя та пагони *G. aparine* використовують в їжу аналогічно шпинату, в салат або суп. З висушеної трави готують чай, тоді як дозрілі плоди, зібрані влітку, використовують як каву. Цей же вид має застосування в гомеопатії [116].

Висновки до розділу 1

1. Аналіз літературних джерел показав, що підмаренник справжній (*G. verum*) та підмаренник чіпкий (*G. aparine*) відносяться до шайпоширеніших видів, в тому числі на території України, а отже, мають достатню сировинну базу і використовуються як седативні, сечогінні, жовчогінні засоби, для нормалізації роботи ендокринної системи. Сировина *G. verum* входить до складу вітчизняного препарату «Тазалок» та закордонних дієтичних добавок, *G. aparine* – до складу гомеопатичного засобу «Galium-Heel» та дієтичних добавок.

2. Значна кількість наукових робіт присвячена дослідженню хімічного складу представників роду Підмаренник, в тому числі трави *G. verum* та *G. aparine*. Були спроби знайти залежність між морфологічними ознаками видів та наявністю в них окремих флавоноїдів та морфологічними ознаками частини видів роду *Galium*, в яких виявлено ці сполуки. Але залежність між морфологічними ознаками видів та наявністю в них інших флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та іридоїдів встановлено не було.

3. Продовжуються пошуки оптимальних технологій отримання субстанцій з трави *G. verum* та *G. aparine* та дослідження їх фармакологічної активності. Окремо стоїть питання взаємозв'язку «хімічний склад-активність» для субстанцій.

4. У проведених раніше дослідженнях було визначено параметри стандартизації трави *G. verum* та *G. aparine,* розроблено проекти МКЯ «Підмаренника справжнього трава», «Підмаренника справжнього трави екстракт сухий «ВСС-Т» (сумарний спиртовий екстракт, очищений від ліпофільних сполук), «Підмаренника справжнього трави екстракт сухий «ОПК-ТС» (водний екстракт, очищений від полісахаридів). Проекту МКЯ «Підмаренника чіпкого трава» створено не було.

5. Це стало підставою для визначення перспективних джерел БАР серед видів роду Підмаренник, проведення фітохімічних та технологічних досліджень сировини *G. verum* та *G. aparine*, отримання екстрактів з них, проведення їх фітохімічних та фармакологічних досліджень, встановленню залежності між фармакологічною активністю і вмістом БАР в них з подальшою розробкою проектів методик контролю якості та створенню фітозасобів.

РОЗДІЛ 2.
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Характеристика об’єктів дослідження.

Об’єктами морфологічного дослідження стали: *G. aparine* L., *G. articulatum* Lam., *G. atropatanum* Grossh., *G. baicalense* Pobed., *G. boreale* L., *G. brachyphyllum* Roem. et Schult., *G. calcareum* (Alb.) Pobed., *G. Czerepanovii* Pobed., *G. elongatum* J.S.Presl & C.B.Presl., *G. erectum* Huds., *G. Juzepczukii* Pobed., *G. karakulense* Pobed., *G. mollugo* L., *G. palustre* L., *G. pamiro-alaicum* Pobed., *G. polonicum* Blocki, *G. Ruprechtii* Pobed.,, *G. Schultesii* Vest., *G. septentrionale* Roem. et Schult., *G. soongoricum* Schrenk., *G. triflorum* Michx., *G. rubioides* L., *G. ruthenicum* Willd., *G. spurium* L., *G. tenuissimum* M. B., *G. tricorne* Stokes in With., *G. turkestanicum* Pobed., *G. uliginosum* L., *G. ussuriense* Pobed., *G. verticillatum* Danthoine, *G. verum* L.

Об’єктами хроматографічного дослідження стали: *G. aparine* L., *G. boreale, G. calcareum, G. elongatum, G. erectum, G. Juzepczukii, G. mollugo, G. palustre, G. polonicum, G. rubioides, G. ruthenicum, G. Schultesii, G. spurium, G. tenuissimum, G. verticillatum, G. verum* L., *G. uliginosum* (Додаток А).

Об’єктами фітохімічного дослідження стала трава 2 видів роду Підмаренник: підмаренника справжнього (*G. verum* L.) та підмаренника чіпкого (*G. aparine* L.); екстракти, отримані із даної сировини: GV-V, GV-20, GV-60, GV-96 із трави *G. verum* та GA-V, GA-20, GA-60, GA-96 із трави *G. aparine*.

Сировину заготовляли у 2015-2018 рр. на території м. Харкова та Харківської обл. у фазу повного цвітіння: підмаренник справжній – наприкінці червня, підмаренник чіпкий – наприкінці травня.

Надземну частину рослин зрізали ножем на рівні середини стебла, відокремлювали частини рослин, що побуріли, після чого 2-3 години пров’ялювали траву. Далі сировину розрізали на відрізки 5-8 см, розкладали тонким шаром на стелажах та сушили у сушарці «Садочок» при 30-35 ºС.

Подрібнення сировини здійснювали на роторному млині виробництва заводу «Спецтехобладнання» (м. Харків) та контролювали за допомогою ситового аналізу.

2.2 Методи фітохімічного дослідження

Дослідження якісного складу БАР у сировині та отриманих екстрактах проводили за допомогою загальноприйнятих якісних реакцій, а також паперової хроматографії (ПХ), тонкошарової хроматографії (ТШХ) та високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [11-14].

При виконанні досліджень використовували атестовані та повірені прилади, реактиви з наявними сертифікатами та зазначеним терміном придатності.

Для виявлення полісахаридів проводили їх осадження з водних витягів 96 % етанолом; амінокислоти виявляли за реакцією з нінгідрином; флавоноїди – за ціанідоновою реакцією, реакціями з розчинами феруму (III) хлориду, алюмінію (III) хлориду, лугами; дубильних речовин – з розчинами залізо-амонійних галунів та желатини; іридоїдів – з розчинами Трим-Хілла та Шталя; сапонінів – за пінною пробою, за пінною пробою у кислому та лужному середовищах, осадженням розчином плюмбуму (II) ацетату та за реакцією з розчином купруму (II) сульфату; алкалоїдів – з розчинами реактивів Драгендорфа, Вагнера і Бушарда.

Для хроматографічних досліджень використовували різні марки паперу "Filtrak" (FN-1, 4, 7, 14) і пластинки «Silufol UV-254», «Silufol UV-366», «Sorbfil»-ПТСХ-А-УФ, «Silicagel 60 F 254» (Merck).

Хроматографування проводили у висхідному та низхідному напрямках розчинників з одно-, двомірною і багаторазовою розгонкою при температурі 20-25 ºС у таких системах розчинників (співвідношення у системах розчинників, позначені цифрами, брали в об’ємних частках):

А. *етилацетат Р – кислота мурашина безводна Р – вода Р* (10 : 2 : 3);

B. *бутанол Р – кислота оцтова льодяна Р – вода Р* (4 : 1 : 2);

C. розчин 150 мл/л *кислоти оцтової Р*;

D. розчин 20 мл/л *кислоти оцтової Р*;

E. розчин 300 мл/л *кислоти оцтової Р*;

F. *ізо-пропанол Р – вода Р* (3 : 2).

На хроматограмах речовини виявляли до і після обробки відповідними хромогенними реактивами за забарвленням у денному світлі та за флуоресценцією в УФ-світлі при довжині хвилі 366 і 254 нм:

№ 1) парами розчину *амоніаку концентрованого Р*;

№ 2) розчином 50г/л *нінгідрину Р* в *96 % спирті Р*;

№ 3) розчином 30 г/л *калію гідроксиду Р у 96 % спирті Р*;

№ 4) розчином 100 г/л *натрію гідроксиду Р у 96 % спирті Р*;

№ 5) розчином 20 г/л *алюмінію хлориду у 96 % спирті Р*;

№ 6) реактивом Шталя;

№ 7) реактивом Трим-Хілла;

№ 8) 3 % розчином феруму (III) хлориду.

№ 9) розчин 9,3 г/л аніліну і 16,6 г/л *о*-фталевої кислоти у насиченому водою *н-бутанолі Р*.

Мономерний склад вуглеводів визначали після їх попереднього гідролізу 10 % розчином кислоти сульфатної та нейтралізації її залишку барію карбонатом за універсальним індикатором. Хроматографічне дослідження цукрів проводили низхідним методом на папері Filtrak FN № 4 у системі розчинників *В* паралельно зі стандартними зразками. Як стандартні зразки моносахаридів використовували арабінозу, галактозу, глюкозу, ксилозу, рамнозу та фруктозу (концентрація усіх розчинів становила 1 мг/мл). Після обробки хроматограм анілінфталатним реактивом № 9 та нагрівання у сушильній шафі при 100-105 ºС моноцукри проявлялися у вигляді червоних та коричневих плям.

Хроматографічне дослідження фенолкарбонових, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів проводили методом двомірної ПХ у системах

розчинників A – I напрямок і B та C – II напрямок та одновимірної ПХ у системах розчинників D та E з вірогідними зразками гідроксикоричних (ванілінової, ферулової, хлорогенової, неохлорогенової, кофейної) кислот. Наявність фенолкарбонових кислот встановлювали за забарвленням плям у денному та УФ-світлі до і після обробки хроматограм реактивами №№ 1, 6, 8; наявність гідроксикоричних кислот та флавоноїдів – за забарвленням плям у денному та УФ-світлі до і після обробки хроматограм реактивами №№ 1, 4, 7.

Хроматографічне дослідження іридоїдів проводили методом висхідної ТШХ у системах розчинників A та F, як хромогенний проявник використовували реагенти №№ 6, 7. Хроматограми аналізували у денному світлі.

Якісний і кількісний аналіз амінокислот проводили методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на хроматографі Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованим проточним вакуумним дегазатором G1379A, 4-канальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, діодно-матричним детектором G1316A. Для визначення суми амінокислот до наважки субстанції (10 мг) добавляли 3 мл 6 н. водного розчину кислоти хлоридної, який містив 0,4 % *β*-меркаптоетанолу і витримували у герметично закритій віалі в ультразвуковій бані протягом 24 год. при температурі 110 °С [132, 133]. Після цього віалу центрифугували і її вміст фільтрували. Відбирали в реакційну віалу на 2 мл 100 мкл фільтрату і поміщали в вакуумний ексікатор при температурі 40-45 °С і тиску 1,5 мм. рт. ст. до повного видалення кислоти хлоридної. У віалу для аналізу послідовно добавляли автоматичним дозатором 200 мкл 0,8 М боратного буферу (pH = 9,0), 200 мкл 20 мМ розчину 9-флуоренілметоксикарбоніл хлориду в ацетонітрилі. Через 10 хв. у реакційну віалу добавляли 20 мкл 150 мМ розчину амантадину гідрохлориду в 50 % водному ацетонітрилі [132, 133]. Режим елюювання проводили за схемою, наведеною в таблиці 2.1.

Умови хроматографування: робочий тиск елюенту 220-275 кПа; температура термостату колонки 50 °С; об’єм проби 2 мкл. Параметри

детектування: масштаб вимірювань 1,0; час сканування 0.5 сек. Довжина хвилі детектування 265 нм. Ідентифікацію амінокислот проводили за часом утримання стандартів відповідних амінокислот (ТУ 6-09-3147-83).

Таблиця 2.1

Градієнтний режим хроматографування

Час, хв	A% 0,05M водн. р-н натрію ацетату, pH=6,5	B% 0,10 M водн. р-н натрію ацетату: ACN= (23:22, v/v), pH=6.5	C % H_2O	D % ацето нітрил	Швидкість подачі рухомої фази мл/хв
0	70	30	0	0	1,5
3.87	27	73	0	0	1,5
5.73	0	100	0	0	1,5
7.83	0	100	0	0	1,5
8.17	0	0	15	85	1,5
10.00	0	0	2	98	2,0
10.10	70	30	0	0	2,0
11.00	70	30	0	0	2,0

Якісний і кількісний аналіз моноцукрів проводили методом хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС) на хроматографі Agilent 6890N/5973inert. Колонка капілярна HP-5ms, 30m × 0,25mm × 0,25mkm (Agilent technologies, USA). Температура випаровувача 250 °C, температура інтерфейсу 280 °C. Розділення в режимі програмування температури – початкова температура 160 °C впродовж 8 хв., підвищення з градієнтом 5 °C/хв до 240 °C. Кінцева температура впродовж 6 хв. Пробу об’ємом 1 мкл вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія через колонку 1,2 мл/хв. Ідентифікацію проводили за часом утримання стандартів моносахаридів та з

використанням бібліотеки мас-спектрів NIST02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби.

Для визначення суми моносахаридів до наважки у ВРПС додавали 5 мл 2М трифтороцтової кислоти. Гідроліз проводили при 100 °С, впродовж 6 год. Відбирали 2 мл гідролізату, упарювали та промивали водою до видалення трифтороцтової кислоти. Ресуспендували додаванням 2 мл водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 2,5 мг на пробу. Для отримання альдонітрильних похідних моносахаридів відбирали 0,3 мл гідролізату, упарювали досуха на роторному випаровувачі та додавали 0,3 мл дериватизуючого реактиву (32мг/мл гідроксиламіну солянокислого в суміші піридин/метанол (4:1 v/v). Розчин витримували впродовж 25 хв. при 75 °С. Ацетилювання альдонітрильних похідних моносахаридів проводили впродовж 15 хв при 75 °С. До реакційної суміші додавали 1 мл дихлоретану, надлишок дериватизаційних реагентів видаляли подвійною екстракцією 1N розчином кислоти хлоридної та води. Дихлоретановий шар висушували досуха та розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1 v/v).

Ідентифікацію моносахаридів досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримування стандартних моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин сорбітолу. Масу (в мг) моносахариду на 1 кг сировини розраховували за формулою :

$$X = \frac{Sx \times Cvs \times Vppo \times 1000}{Svs \times m \times Vekstr} \qquad (2.1)$$

де:

Sx – площа піку моносахариду;

Cvs – концентрація внутрішнього стандарту;

Vроз – об‘єм розчинника для гідролізу проби;

Svs – площа піку внутрішнього стандарту;

m – наважка субстанції;

Vekstr – об‘єм розчину для дериватизації.

Дослідження складу фенольних сполук проводили методом ВЕРХ на рідинному хроматографі Shimadzu LC20 Prominence в модульній системі, оснащеній чотирьохканальним насосом LC20AD, термостатом колонок CTO20A, автоматичним пробовідбірником SIL20A, діодно-матричним детектором SPDM20A і ChemStation LC20. Хроматографування проводили в таких умовах: колонка Phenomenex Luna C18(2), розміром 250 мм х 4,6 мм, розмір часток 5 мкм; температура колонки 35 °С; довжина хвилі детектування 330 нм (для гідроксикорчних кислот, глікозидів флавоноїдів), 370 нм (для агліконів флавоноїдів), 280 нм (для дубильних речовин); швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби, що вводився – 5 мкл [9, 113].

Рухома фаза: елюент А: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді; елюент Б: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі в градієнтному режимі (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Режим хроматографування

Час хроматографування (хв.)	Елюент А, %	Елюент Б, %
0–5	95	5
5–35	95 → 75	5 → 25
35–40	75	25
40–60	75 → 50	25 → 50
60–65	50 → 20	50 → 80
65–70	20	80
70–85	95	5

Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та за відповідністю УФ-спектрам речовин-стандартів.

Вміст речовин розраховували за формулою 2.2:

$$X, \text{ мг/мл} = \frac{A_{pr} \times C_{st} \times P}{A_{st} \times 100}, \quad (2.2)$$

де A_{pr} – площа піку речовини на хроматограмі досліджуваного розчину;

A_{st} – площа піку речовини на хроматограмі стандартного розчину;

P – активність стандарту, %

C_{st} – концентрація речовини в стандартному розчині, мг в мл.

Для аналізу фенольних сполук та іридоїдів методом ультраефективної рідинної хроматографії з діодно-матричним детектором та тандемною мас-спектрометрією (UHPLC-DAD-MS), використовували систему Dionex Ultimate 3000RS (Dionex, Німеччина), поєднану з спектрометром Amazon SL. Розділення проводили на колонці Kinetex XB-C18 (150 мм × 2,1 мм × 1,7 мкм, Phenomenex, США) при температурі 25 °C. Швидкість потоку встановлювали на рівні 0,3 мл / хв. Рухома фаза А: водний розчин мурашиної кислоти (0,1%); В – розчин 0,1% мурашиної кислоти в ацетонітрилі. Використовували наступне градієнтне елюювання: 0 хв – 4% В, 60 хв – 26% В, 90 хв – 95% В. УФ-спектри виявлених сполук реєструвались в діапазоні від 190 до 450 нм. Довжина хвилі детектування 254 нм. Масові спектри реєстрували в режимі негативних та позитивних іонів. Сполуки ідентифікували на основі УФ-та МС-спектрів. Проведено порівняння з наявними хімічними стандартами та відповідною літературою [78, 82, 114, 121].

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту сапонінів визначали методом ВЕРХ на рідинному хроматографі Shimadzu LC20 Prominence в модульній системі, оснащеній чотирьохканальним насосом LC20AD, термостатом колонок CTO20A, автоматичним пробовідбірником SIL20A, діодно-матричним детектором SPDM20A і ChemStation LC20 в таких умовах: колонка X-Bridge C18, розміром 150 мм*4,6 мм з розміром зерна 5 мкм (фірма Waters); температура колонки – 30 ^{0}C; довжина хвилі детектування – 205 нм; швидкість потоку рухомої фази – 1,0 мл/хв; об’єм проби, що вводився – 20 мкл. Рухома фаза: метанол для ВЕРХ та 0,2 % розчин амонію ацетату (pH = 6,75) у співвідношенні (80 : 20), режим елюювання ізократичний.

Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та за відповідністю УФ-спектрам речовин-стандартів [77, 144, 165]. Детектування тритерпенових сапонінів проводили при 205 нм, виходячи з їх максимуму поглинання при 200-210 нм. Кількісне визначення індивідуальних компонентів проводили з використанням зовнішніх розчинів стандартних зразків. Вміст речовин розраховували за формулою 2.3:

$$X, \text{ мг/мл} = \frac{A_{pr} \times m_{st} \times P}{A_{st} \times V_{st} \times 100}, \quad (2.3)$$

де A_{pr} – площа піку речовини на хроматограмі досліджуваного розчину;

A_{st} – площа піку речовини на хроматограмі розчину стандартного зразку;

m_{st} – маса стандартного зразку речовини у розчині стандартного зразку, мг;

V_{st} – розведення розчину стандартного зразку, мл;

P – чистота стандартного зразку, %.

Визначення вмісту водорозчинних полісахаридів (ВРПС), пектинових речовин (ПР) та їх комплексів проводили гравіметричним методом після їх осадження з водних витягів 96 % етанолом.

Визначення вмісту моноцукрів проводили у отриманих попередньо гідролізатах вуглеводних комплексів методом спектрофотометрії після реакції з пікриновою кислотою при λ=463 ±2 нм у перерахунку на глюкозу на спектрофотометрі Evolution 60 S UV-Visible (Thermo scientific) [30].

Кількісне визначення функціональних груп пектинових речовин – вільних карбоксильних, метоксильованих карбоксильних, загальну кількість карбоксильних та метоксильних груп проводили титриметричним методом [27].

Для визначення вільних карбоксильних груп ($К_в$) близько 1 г (точна наважка) пектинових речовин поміщали у конічні колби місткістю 300 мл, змочували 96 % етанолом з метою запобігання комкуванню, добавляли 100 мл води очищеної, перемішували і залишали на ніч для повного розчинення пектинів. Суміші титрували розчином натрію гідроксиду (0,1 моль/л) при додаванні 6 крапель індикатора Хінтона (водні розчини

фенолового червоного, 0,4 % бромтимолового синього, крезолового червоного і дистильованої води у співвідношенні 3 : 1 : 1 : 1) до появи червоного забарвлення, що не зникало протягом хвилини.

Для визначення метоксильованих карбоксильних груп ($К_м$) до проб після визначення вільних карбоксильних груп добавляли 10 мл розчину натрію гідроксиду (0,5 моль/л), закривали колби і залишали на 2 години при кімнатній температурі для омилення метоксильованих карбоксильних груп. Після цього в колби добавляли 10 мл кислоти хлоридної (0,5 моль/л) і надлишок кислоти хлоридної відтитровували розчином натрію гідроксиду (0,1 моль/л).

Загальну кількість карбоксильних груп ($К_з$) вираховували як суму вільних ($К_в$) і метоксильованих ($К_м$) карбоксильних груп.

Ступінь метоксильованості (етерифікації) пектинів знаходили як відношення метоксильованих карбоксильних груп ($К_м$) до загальної кількості ($К_з$) карбоксильних груп ($К_з$) (у відсотках).

Визначення вмісту фенольних сполук проводили методом абсорбційної спектрофотометрії: при λ=327 нм в перерахунку на хлорогенову кислоту (гідроксикоричні кислоти) [203, 205], λ=410 нм в перерахунку на рутин (флавоноїди) [13] та λ=270 нм в перерахунку на галову кислоту [35, 43] на спектрофотометрі Evolution 60 S UV-Visible (Thermo scientific).

Елементний склад екстрактів визначали на атомно-емісійному спектрофотометрі ДФС-8. Аналіз заснований на повному спалюванні речовини у розряді дуги перемінного струму з джерелом збудження спектрів типу IBS-28 при силі струму 16 А та експозиції 60 с. Для одержання спектрів і їх реєстрації використовували спектрограф ДФС-8. Ділянка спектра – 250-350 нм [29].

2.3 Методи визначення технологічних параметрів сировини

2.3.1 Визначення втрати в масі при висушуванні та золи загальної

Визначення втрати в масі при висушуванні та золи загальної проводили згідно з ДФУ, *2.2.32* та *2.4.16* відповідно [11].

2.3.2 Визначення насипного об’єму до та після усадки сировини

Визначення насипного об’єму до і після усадки проводили відповідно до вимог ДФУ, *2.9.15* [11].

У сухий циліндр поміщали без ущільнення 10,0 г подрібненої сировини. Фіксували об’єм, який займає сировина V_0. Для визначення насипного об’єму після усадки закріплювали циліндр на підставці й проводили 10, 500, 1250 зіскоків циліндра і фіксували об’єми V_{10}, V_{500}, V_{1250} з точністю до найближчої позначки. Проводили 3 повтори та фіксували середнє значення. Здатність до усадки визначали за різницею об’ємів до та після усадки сировини.

2.3.3 Визначення насипної густини

Насипна густина – це відношення маси подрібненої сировини з природною вологістю до її повного об’єму, що займає сировина разом з порами часток і вільним об’ємом між ними. Для її визначення 10,0 г (точну наважку) подрібненої сировини поміщали в сухий мірний циліндр на 100 мл, злегка струшуючи (без ущільнення) і визначали об’єм, який вона займає. Розрахунок проводили за формулою 2.4:

$$d_н, \text{ г/см}^3 = \frac{m_x}{V_x}, \qquad (2.4),$$

де m_x – маса подрібненої сировини, г;

V_x – об’єм, який займає сировина, см^3.

Також визначали насипну густину сировини після ущільнення її в мірному циліндрі.

2.3.4 Визначення питомої густини

Питома густина визначається як відношення маси до об’єму абсолютно

сухої сировини. Для її визначення 2,5 г (точну наважку) подрібненої сировини вміщували в мірну колбу із зворотнім холодильником на 50 мл, заливали водою очищеною до мітки 50 мл і витримували на киплячій водяній бані протягом 2 год, періодично перемішуючи. Потім колбу охолоджували до температури 20 ºС і доводили об'єм водою очищеною до мітки 50 мл. Зважували колбу з сировиною і водою. Попередньо визначали вагу колби з водою. Значення питомої густини розраховували за формулою 2.5:

$$d_n, \text{ г/см}^3 = \frac{m_x \times d_в}{m_x + G - F}, \qquad (2.5),$$

де m_x – маса абсолютно сухої подрібненої сировини, г;

$d_в$ – густина води, г/см^3 ($d_в$ = 0,9982 г/см^3);

G – маса колби з водою очищеною;

F – маса колби з водою і сировиною, г.

2.3.5 Визначення об'ємної густини

Об'ємна густина визначається як відношення маси неподрібненої сировини з природною вологістю до її повного об'єму, що вміщує пори, щілини та капіляри, наповнені повітрям. Для її визначення 10,0 г (точну наважку) неподрібненої сировини занурювали в мірний циліндр на 500 мл з водою очищеною (300 мл) і визначали об'єм. За різницею об'ємів у мірному циліндрі визначали об'єм, який зайняла сировина (формула 2.6):

$$d_o, \text{ г/см}^3 = \frac{m_y}{V_o}, \qquad (2.6),$$

де m_y – маса неподрібненої сировини, г;

V_o – об'єм, який займає сировина, см^3.

2.3.6 Визначення пористості

Пористість сировини характеризує величину внутрішнього вільного простору часток сировини і визначається відношенням різниці між питомою

густиною і об’ємною густиною до питомої густини (формула 2.7):

$$П_c = \frac{d_п - d_о}{d_п}, \quad (2.7)$$

де $d_п$ – питома густина сировини, г/см^3;

$d_о$ – об’ємна густина сировини, г/см^3.

2.3.7 Визначення нарізності шару

Нарізність є характеристикою вільного простору між частками сировини. Визначається як відношення різниці між об’ємною густиною і насипною густиною до об’ємної густини (формула 2.8):

$$П_р = \frac{d_о - d_н}{d_о}, \quad (2.8),$$

де $d_о$ – об’ємна густина сировини, г/см^3;

$d_н$ – насипна густина сировини, г/см^3.

2.3.8 Визначення вільного об’єму шару

Вільний об’єм шару сировини характеризує відносний об’єм вільного простору в одиниці сировини (внутрішній вільний простір часток та між частками). Визначається як відношення різниці між питомою густиною і насипною густиною до питомої густини (формула 2.9):

$$V = \frac{d_п - d_н}{d_п}, \quad (2.9),$$

де $d_п$ – питома густина сировини, г/см^3;

$d_н$ – насипна густина сировини, г/см^3.

2.3.9 Визначення коефіцієнту поглинання екстрагенту

Коефіцієнт поглинання характеризує кількість розчинника, який заповнює пори та міжклітинний простір в сировині та не вилучається зі шроту.

Близько 50,0 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали в колбу, заливали 500 мл екстрагента, нагрівали на киплячій водяній бані із зворотнім холодильником протягом 30 хв. Колбу охолоджували до температури 20 ºС, після чого витяг фільтрували через попередньо змочений екстрагентом паперовий фільтр. Настоювання в аналогічних умовах повторювали ще двічі. Коефіцієнт поглинання визначали за відношенням різниці об'єму розчинника, яким було залито сировину та об'єму зливу після екстракції до маси наважки сировини (формула 2.10):

$$К_{пе} = \frac{V_1 - V_2}{m_н}, \qquad (2.10),$$

де V_1 – об'єм екстрагенту, яким заливали сировину, мл;

V_2 – об'єм зливу після екстракції і віджимання шроту, мл;

$m_н$ – наважка сировини, г.

2.4 Методи дослідження біологічної активності екстрактів

Фармакологічні дослідження проводили *in vitro* на базі ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» відповідно вимогам Наказу МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів».

2.4.1 Визначення антимікробної та протигрибкової активності

Дослідження антимікробної, протигрибкової активності проводилось у лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» під керівництвом к. біол. н., старшого наукового співробітника Т. П. Осолодченко.

Оцінку антибактеріальної активності проводили на стандартних

штамах мікроорганізмів, регламентованих ВООЗ для вивчення антимікробної дії препаратів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* 885-663.

Антибактеріальну активність досліджували *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів») [34]. Мікробне навантаження складало 10^7 мікробних клітин на 1мл середовища і визначалось візуально за оптичним стандартом каламутності за McFarland.

Для визначення антимікробної дії культури мікроорганізмів вирощували на м'ясо-пептонному агарі при t=37 °С. Термін культивування мікроорганізмів складав 24 години. Для визначення протигрибкової активності використовували середовище Сабуро. Ступінь чутливості мікроорганізмів по відношенню до досліджуваних екстрактів оцінювали за розміром зон затримки їх росту.

Оцінку чутливості мікроорганізмів проводили за наступними критеріями:

- відсутність зон затримки зростання мікроорганізмів, а також зони затримки до 10 мм указувала на те, що мікроорганізм не чутливий до внесеної субстанції або обраної концентрації субстанції;

- зони затримки зростання діаметром 10-15 мм свідчили на малу чутливість культури до випробовуваної концентрації субстанції;

- зони затримки зростання діаметром 15-25 мм розцінювалися, як показник достатньої чутливості мікроорганізму до випробовуваної субстанції;

- зони затримки зростання, діаметр яких перевищував 25 мм, свідчили про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваних субстанцій.

Статистичну обробку результатів проводили за С. Гланц [8].

2.4.2 Визначення імуномодулювальної ої активності

Дослідження імуномодулювальної активності проводилось у лабораторії імунореабілітології ДУ «Інститут мікробіології та імунології

ім. І. І. Мечникова НАМН України» під керівництвом к. біол. н., старшого наукового співробітника Н. В. Кашпур [6, 10, 45, 99, 152, 164, 193, 194].

Імуномодулювальну дію субстанцій вивчали *in vitro* в реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) [24, 31, 45, 141].

Як матеріал для тестування субстанцій використовували мононуклеарні клітини (лімфоцити), які були вилучені з венозної гепаринізованої крові шляхом центрифугування з використанням градієнта щільності фіколл-верографіна (щільність 1,077 г/мл) за стандартною методикою [24, 31, 38].

Отримані клітини культивували в середовищі 199, яке було доповнене 10 % розчином ембріональної телячої сироватки, 2 мм L-глутаміну, 100 мкг/мл гентаміцину. Суспензію 1 млн. клітин в 1 мл культурального середовища з додаванням субстанцій інкубували протягом 15 – 18 годин в термостаті при 37 °С, з 5 % CO_2, в атмосфері насиченої водяної пари.

Інтенсивність проліферативної реакції оцінювали за показниками активації синтезу ДНК, яка фіксувалася шляхом обробки зразків моноклональними антитілами до білку S-періоду клітинного мітотичного циклу – бромдеоксіурідину (BrdU) Antibody (3H579) концентрацією 100 мг/мл (Santa Cruz Biotechnology). Після остаточної підготовки зразків для постановки проточно-цитометричного аналізу з використанням флуоресцентного детектора отримали числові данні загальної кількості клітин та відсоток бластних форм у зразках.

Відомо, що рослинний лектин фітогемаглютинін (ФГА) є мітогеном для усіх Т-лімфоцитів [197]. Тому з метою встановлення кондиційності умов культивування клітин, а також для вивчення потенційної проліферативної активності основних популяцій Т-лімфоцитів як контроль проводили мітогенну стимуляцію лімфоцитів ФГА в концентрації 2,5 мкг/мл. Експеримент містив постановку реакції РБТЛ без додавання досліджуваних субстанцій (спонтанна бластна трансформація).

Перед постановкою РБТЛ готували розведення екстрактів у співвідношеннях 1/200, 1/20, 1/10. По 100 мкл субстанцій вносили до 100 мкл первинних культур імунокомпетентних клітин.

Статистичну обробку результатів дослідів проводили методом математичної статистики за ДФУ, з використанням пакета програми *Microsoft Excel – Statistica* 6.1 *Stat* [8, 12, 28].

РОЗДІЛ 3
ВИВЧЕННЯ КОРЕЛЯТИВНИХ ЗВ'ЯЗКІВ МІЖ МОРФОЛОГІЧНИМИ ОЗНАКАМИ І НАЯВНІСТЮ БАР У ВИДАХ РОДУ *GALIUM*

Для прогнозування наявності тих чи інших БАР в сировині окремих видів необхідним є встановлення взаємозв'язків між сукупністю морфологічних ознак рослин та їх хімічним складом. В проведених раніше дослідженнях (Ільїна Т. В., 2015) було встановлено взаємозв'язки між морфологічними ознаками видів роду *Galium* L. та наявністю у них таких флавоноїдів, як космосіїн, цинарозид, астрагалін, гіперозид та нікотифлорин [26]. Продовжуючи розпочаті раніше дослідження нами було досліджено залежність між морфологічними ознаками видів та наявністю інших фенольних сполук і іридоїдів, оскільки саме вони часто є видоспецифічними. Зазвичай спостерігається стабільність агліконового складу флавоноїдів для виду і широка варіабельність їх глікозидів, яка часто корелює з морфологічними ознаками рослин, проте залежить від багатьох факторів: об'єму виду, його ареалу, внутрішньовидового поліморфізму, екологічної диференціації, що підтверджує ствердження про адаптативну роль флавоноїдів у фізіології рослин.

Для встановлення морфологічних ознак видів, а саме: *G. aparine, G. articulatum, G. atropatanum, G. baicalense, G. boreale, G. brachyphyllum, G. calcareum, G. Czerepanovii, G. elongatum, G. erectum, G. Juzepczukii, G. karakulense, G. mollugo, G. palustre, G. pamiro-alaicum, G. polonicum, G. rubioides, G. Ruprechtii, G. ruthenicum, G. Schultesii, G. septentrionale, G. soongoricum, G. spurium, G. tenuissimum, G. tricorne, G. triflorum, G. turkestanicum, G. verticillatum, G. verum, G. uliginosum, G. ussuriense,* використовували гербарні зразки, які зберігаються у Гербаріумі кафедри фармакогнозії НФаУ та ХНУ ім. Каразіна. Було визначено 348 маркерів, з яких 194 ознаки вегетативних органів, 154 ознаки генеративних органів [44].

3.1 Вивчення корелятивних зв’язків між морфологічними ознаками і наявністю флавоноїдів у видах роду *Galium*

Виявлення і ідентифікацію фенольних сполук проводили в етанольних (70 %) витягах з ЛРС за допомогою паперової хроматографії (ПХ). Рухливість сполук визначалася на папері "Filtrak" (FN-1, 4, 7, 14) в хроматографічних системах B (I напрямок) та C (II напрямок); A (I напрямок) та C (II напрямок); D, E (п. 2.2). Після сушіння всі пластинки переглядали в УФ-світлі при 254 нм та 366 нм до і після обробки 3 % спиртовим розчином калію гідроксиду. Враховували також дані, отримані іншими дослідниками [3, 4, 10, 26, 39, 57, 73, 79-81, 83, 86, 93, 105, 126, 131, 136, 145, 167, 169. 189, 208].

У 15 видах: *G. atropatanum*, *G. calcareum*, *G. Czerepanovii*, *G. erectum*, *G. Juzepczukii*, *G. karakulense*, *G. mollugo*, *G. palustre*, *G. pamiro-alaicum*, *G. polonicum*, *G. Ruprechtii*, *G. ruthenicum*, *G. Schultesii*, *G. verticillatum*, *G. verum* було встановлено наявність таких флавоноїдів: рутину, ізоройфоліну, лютеолін-7-О-арабінозилглюкозиду, діосметин-7-О-глюкопіранозиду, палюстрозиду (діосметин-7-О-β-D-глюкопіранозил(6→1)-α-L-арабінозиду), діосметин-7-О-ксилоглюкозиду (рис. 3.1) [18, 48]. Рутин міститься у всіх досліджуваних видах, тобто він є типовою сполукою.

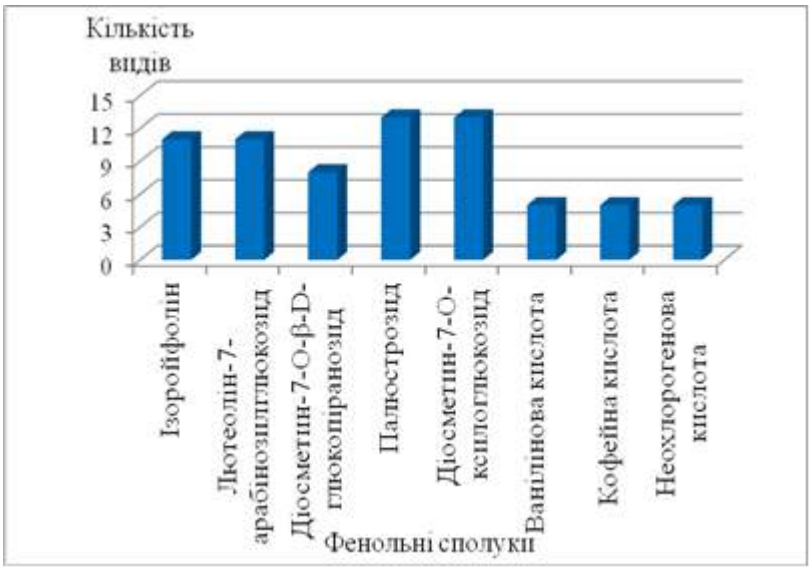


Рис. 3.1 Частота зустрічаємості окремих фенольних сполук у видах роду *Galium*

Ізоройфолін виявлено у 11 видах: *G. palustre*, *G. karakulense*, *G. verum*, *G. pamiro-alaicum*, *G. ruthenicum*, *G. calcareum*, G. *Juzepczukii*, *G. erectum*, *G. mollugo*, *G. Schultesii*, *G. polonicum* (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Типові морфологічні ознаки видів, які містять ізоройфолін

Морфологічні ознаки	*G. palustre* L.	*G. karakulense* Pobed.	*G. verum* L.	*G. pamiro-alaicum* Pobed.	*G. ruthenicum* Willd.	*G. mollugo* L.	*G. erectum* Huds.	*G. Juzepczukii* Pobed.	*G. calcareum* (Alb.) Pobed.	*G. Schultesii* Vest.	*G. polonicum* Blocki
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Кореневища червонуваті або бурі	-	1	-	1	1	1	1	1	-	-	-
Стебло 30 см	1	-	1	-	1	1	1	-	1	1	-
Стебло 35 см	1	-	1	-	1	1	1	-	1	1	-
Стебло 40 см	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-
Стебло 45 см	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-
Стебло 50 см	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-
Стебло 55 см	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-
Стебло 60 см	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1
Стебло 70 см	1	1	1	1	1	1		-	1	1	1
Стебло чотиригранне	-	1	1	1	-	1	1	-	1	1	1
Стебло гіллясте	1	1	-	-	1	1	-	1	1	1	1
Стебло голе	1	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1
Листки середні по 6	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	-

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Листки середні по 7	-	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-
Листки середні по 8	-	-	1	1	1	1	1	-	1	1	1
Листки продовгуваті	1	1	1	1	-	1		-	1	-	-
Листки ланцетні	-	1	1	-	-	1	1	-		1	1
Листки лінійні	1	-	1	1	1	1	1	-	1	1	1
Листки короткозагострені	-	-	1	1	-	1	-	1	1	1	1
Краї завернуті вниз	-	-	1	1	1		1	1	1	-	-
Листки голі	-	-	1	1	-	1	-	1	1	1	-
Листки з щетинистим опушенням	1	-	1	1	1	1	-	-	-	1	1
Листки шорсткі по краях	1	-	1	-	1	1	1	1	1	1	1
Рихла волоть	1	1	-	1	-	1	1		1	1	1
Квітконос голий	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1
Квітконіжка гола	1	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1
Квітконіжка рівна квіткам	1	1	-	-	1	1	-	-	1	-	1
Квітконіжка довша за квітки	1	-	-	1	1	1	-	-	-	1	1
Віночок білий	1	1	-	-	-	1	1	-	-	1	1
Віночок 3 мм	1	-	1	-	1	1	1	1		1	-
Віночок 3,5 мм	1	1	-	1	1	-	-	-	1	1	-
Лопаті продовгуваті	-	1	1	1	1	-	-	-	1	1	-
Лопаті яйцеподібні	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1	1
Стовпчик двуроздільний у верхній третині	1	1	1	-	1	-	-	-	-	1	1
Плодоніжки жовті	1	-	1	1	1	-	-	1	1	1	1
Плоди голі	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1

Примітка. «–» – ознаку не знайдено.

Серед 11 видів, у яких виявлено ізоройфолін, для 6 видів (тобто 54,5 %) спільними є такі морфологічні ознаки (1) – кореневища червонуваті або бурі, листки продовгуваті, ланцетні, з загорнутими донизу краями, голі, квітконіжка рівна квіткам або довша за квітки, віночок білий, 3,5 мм у діаметрі, лопаті продовгуваті, стовпчик двуроздільний у верхній третині; для

7 (або 64 %) видів (2) – стебло 30 – 35 см, середні стеблові листки по 6-7 у мутовці, короткозагострені, із щетинистим опушенням, віночок 3 мм у діаметрі; для 9 (або 82 %) видів (3) – стебло 40 – 55 см або 70 см, стебло голе, листки лінійні, шорсткі по краях, квітконіжка гола, лопаті віночка яйцеподібні; для 10 (або 91 %) видів (4) – стебло 60 см, плоди голі; для 8 (або 73 %) видів (5) – стебло чотиригранне, гіллясте, середні стеблові листки по 8 у мутовці, суцвіття рихла волоть, квітконос голий, плодоніжки голі (рис. 3.2).

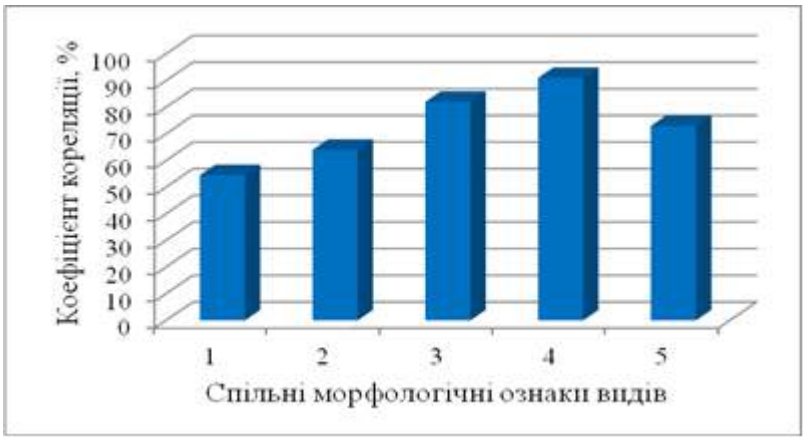


Рис. 3.2 Кореляція наявності ізоройфоліну з морфологічними ознаками видів

Лютеолін-7-арабінозилглюкозид ідентифіковано у 11 видах: *G. verticillatum, G. verum, G. ruthenicum, G. atropatanum, G. mollugo, G. erectum, G. Juzepczukii, G. calcareum, G. Schultesii, G. polonicum, G. Czerepanovii* (табл. 3.2). З них для 8 видів (тобто 73 %) спільними морфологічними ознаками є (1) – стебло 30 см, чотиригранне, голе, середні стеблові листки по 6 або 8 у мутовці, короткозагострені, верхні приквіткові листки поодинокі, лопаті віночка яйцеподібні; для 7 видів (або 64 %) (2) – стебло 35 – 50 см, або 60 см, пряме, гіллясте, середні листки по 7 у мутовці, ланцетні, голі, віночок 3 мм у діаметрі; для 6 видів (або 54,5 %) (3) – стебло 55 см або 70 см, листки із щетинистим опушенням, квітконіжка коротка, віночок жовтий, плодоніжки жовті; для 9 видів (або 82 %) (4) – листки лінійні, шорсткі по краях, приквіткові листки парні, квітконос і квітконіжка голі, плоди голі; для 10 видів (або 91 %) (5) – напівзонтики верхівкові (рис. 3.3).

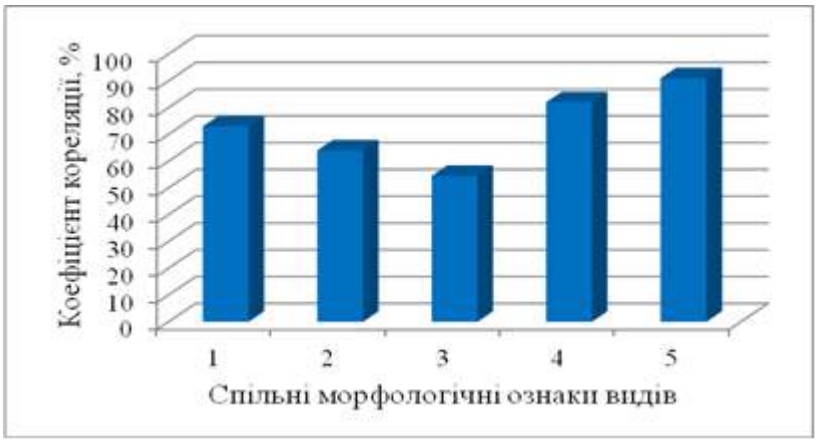


Рис. 3.3 Кореляція наявності лютеолін-7-арабінозилглюкозиду з морфологічними ознаками видів

Таблиця 3.2

Типові морфологічні ознаки видів, які містять лютеолін-7-арабінозилглюкозид

Морфологічні ознаки	*G. verticillatum* Danth.	*G.verum L.*	*G. ruthenicum* Willd.	*G. atropatanum* Grossh.	*G. mollugo* L.	*G.erectum* Huds.	*G. Juzepczukii* Pobed.	*G. calcareum* (Alb.) Pobed.	*G. Schultesii* Vest.	*G. polonicum* Blocki	*G. Czerepanovii* Pobed.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Ст. 30 см	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	1
Ст. 35 см	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	-
Ст. 40 см	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	-
Ст. 45 см	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	-
Ст. 50 см	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	-
Ст. 55 см	-	1	1	-	1	1	-	1	1	-	-
Ст. 60 см	-	1	1	-	1	1	-	1	1	1	-
Ст. 70 см	-	1	1	-	1		-	1	1	1	-

Продовж. табл. 3.2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Стебло пряме	1	1	1	1	-	1	-	-	1	-	1
Стебло чотиригранне	1	1	-	-	1	1	-	1	1	1	1
Стебло гіллясте	-	-	1	-	1	-	1	1	1	1	1
Стебло голе	-	1	-	-	1	1	1	1	1	1	1
Листки середні по 6	-	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1
Листки середні по 7	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	-
Листки середні по 8	-	1	1	1	1	1	-	1	1	1	-
Листки ланцетні	-	1	-	1	1	1	-	-	1	1	1
Листки лінійні	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	-
Листки короткозагострені	1	1	-	-	1	-	1	1	1	1	1
Краї завернуті вниз	1	1	1	1	-	1	1	1	-	-	-
Листки голі	1	1	-	-	1	-	1	1	1	-	1
Листки з щетинистим опушенням	1	1	1	-	1	-	-	-	1	1	-
Листки шорсткі по краям	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-
Приквіткові листки верхні поодинокі	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-
Приквіткові листки парні	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-
Напівзонтики верхівкові	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Квітконос голий	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	1
Квітконіжка гола	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	1
Квітконіжка коротка	1	-	-	1	1	1	1	1	-	-	-
Віночок жовтий	1	1	1	1	-	-	1	1	-	-	-
Віночок 3 мм	-	1	1	1	1	1	1	-	1	-	-
Лопасті яйцевидні	1	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-
Плодоніжки жовті	-	1	1	-	-	-	1	1	1	1	-
Плоди голі	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	1

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Діосметин-7-O-β-D-глюкопіранозид ідентифіковано у 8 видах: *G. verum*, *G. pamiro-alaicum*, *G. ruthenicum*, *G. mollugo*, *G. erectum*, *G. Juzepczukii*, *G. calcareum*, *G. Czerepanovii* (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Типові морфологічні ознаки видів, які містять діосметин-7-O-β-D-глюкопіранозид

Морфологічні ознаки	*G. verum* L.	*G. pamiro-alaicum* Pobed.	*G. ruthenicum* Willd.	*G. mollugo* L.	*G. erectum* Huds.	*G. Juzepczukii* Pobed.	*G. calcareum* (Alb.) Pobed.	*G. Czerepanovii* Pobed.
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Кореневища червонуваті або бурі	-	1	1	1	1	1	-	-
Стебло 25 см	-	-	1	1	1	1	1	1
Стебло 30 см	1	-	1	1	1	-	1	1
Стебло 35 см	1	-	1	1	1	-	1	-
Стебло 40 см	1	1	1	1	1	-	1	-
Стебло 45 см	1	1	1	1	1	-	1	-
Стебло 50 см	1	1	1	1	1	-	1	-
Стебло 55 см	1	1	1	1	1	-	1	-
Стебло 60 см	1	1	1	1	1	-	1	-
Стебло 70 см	1	1	1	1	-	-	1	-
Стебло пряме	1	1	1	-	1	-	-	1
Стебло чотиригранне	1	1	-	1	1	-	1	1
Стебло голе	1	1	-	1	1	1	1	1
Листки середні по 6	1	1	-	1	1	1	1	1

Продовж. табл. 3.3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Листки середні по 7	1	1	1	1	1	-	1	-
Листки середні по 8	1	1	1	1	1	-	1	-
Листки лінійні	1	1	1	1	1	-	1	-
Листки короткозагострені	1	1	-	1	-	1	1	1
Краї завернуті вниз	1	1	1	-	1	1	1	-
Листки голі	1	1	-	1	-	1	1	1
Листки шорсткі по краям	1	-	1	1	1	1	1	-
Рихла волоть	-	1	-	1	1	-	1	1
Волоть вузька видовжена	-	1	1	1	1	-	1	-
Квітконос двічі трійчасто розгалуджений	1	-	-	1	-	1	1	1
Квітконос голий	1	1	-	1	1	1	1	1
Квітконіжка гола	1	1	-	1	1	1	1	1
Віночок жовтий	1	1	1	-	-	1	1	-
Віночок 3 мм	1	-	1	1	1	1	-	-
Лопасті яйцевидні	-	1	1	1	1	1	-	-
Плодоніжки жовті	1	1	1	-	-	1	1	-
Мерикарпіїв 2, один недорозвинутий	1	1	1	-	-	1	-	1
Плоди голі	1	1	-	1	1	1	1	1

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Сполука корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні 62,5 % (1) – кореневища червонуваті або бурі, стебло 35 см, або 70 см, пряме, суцвіття вузька видовжена рихла волоть, квітконос двічі трійчасто розгалужений, віночок жовтий, 3 мм у діаметрі, лопаті яйцеподібні, плодоніжка жовта, один з двох мерикарпіїв недорозвинутий; на рівні 75 % (2) – стебло 25-30 см, або 40-60 см, чотиригранне, середні стеблові листки у кільцях по 7-8, лінійні,

короткозагострені, краї завернуті донизу, голі, шорсткі по краях; на рівні 87,5 % (3) – стебло голе, середні листки у мутовках по 6, квітконос і квітконіжка голі, плоди голі (рис. 3.4).

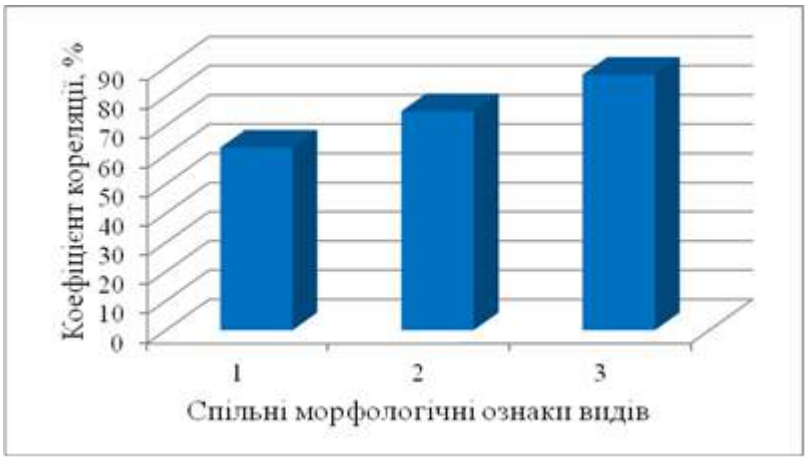


Рис. 3.4 Кореляція наявності діосметин-7-O-β-D-глюкопіранозиду з морфологічними ознаками видів

Палюстрозид (діосметин-7-O-β-D-глюкопіранозил(6→1)-α-L-арабінозид) та діосметин-7-O-ксилоглюкозид ідентифіковано у 13 видах: *G. palustre, G. karakulense, G. Ruprechtii, G. verum, G. pamiro-alaicum, G. ruthenicum, G. atropatanum, G. mollugo, G. erectum, G. Juzepczukii, G. calcareum, G. polonicum, G. Czerepanovii* (табл. 3.4).

Сполуки корелюють з такими морфологічними ознаками: на рівні 54 % (1) – кореневища червонуваті або бурі, стебло 25 см, 35 см, середні стеблові листки у кільцях по 7, продовгуваті, короткозагострені, краї закручені донизу, шириною 1,5 мм, із щетинистим опушенням; квітконіжка довша за квітки, віночок білий, 3 мм у діаметрі, стовпчик двуроздільний у верхній третині; на рівні 69 % (2) – стебло 30 см, або 40-50 см, або 60 см, чотиригранне, голе, листки лінійні, шорсткі по краях, суцвіття рихла волоть, квітконіжка гола, лопаті віночка яйцеподібні; на рівні 61,5 % (3) – стебло 55 см або 70 см, гіллясте, середні стеблові листки у кільцях по 6 або 8, квітконос голий, плодоніжки жовті; на рівні 84,5 % (4) – плоди голі (рис. 3.5).

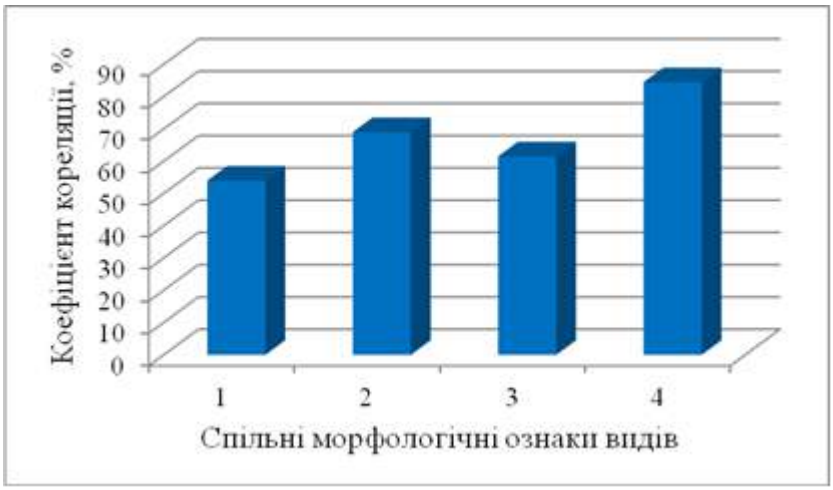


Рис. 3.5 Кореляція наявності палюстрозиду та діосметин-7-О-ксилоглюкозиду з морфологічними ознаками видів

Таблиця 3.4

Типові морфологічні ознаки видів, які містять палюстрозид та діосметин-7-О-ксилоглюкозид

Морфологічні ознаки	*G. palustre* L.	*G. karakulense* Pobed.	*G. Ruprechtii* Pobed.	*G. verum* L.	*G. pamiro-alaicum* Pobed.	*G. ruthenicum* Willd.	*G. atropatanum* Grossh.	*G. mollugo* L.	*G. erectum* Huds.	*G. Juzepczukii* Pobed.	*G. calcareum* (Alb.) Pobed.	*G. polonicum* Blocki	*G. Czerepanovii* Pobed.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Кореневища червонуваті або бурі	-	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-	-	-
Стебло 25 см	-	-	1	-	-	1	-	1	1	1	1	-	1
Стебло 30 см	1	-	1	1	-	1	1	1	1	-	1	-	1
Стебло 35 см	1	-	-	1	-	1	1	1	1	-	1	-	-
Стебло 40 см	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1	-	-
Стебло 45 см	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1	-	-

Продовж. табл. 3.4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Стебло 50 см	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1	-	-
Стебло 55 см	1	1	-	1	1	1	-	1	1	-	1	-	-
Стебло 60 см	1	1	-	1	1	1	-	1	1	-	1	1	-
Стебло 70 см	1	1	-	1	1	1	-	1	-	-	1	1	-
Стебло чотиригранне	-	1	1	1	1	-	-	1	1	-	1	1	1
Стебло гіллясте	1	1	1	-	-	1	-	1	-	1	1	1	-
Стебло голе	1	-	-	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1
Листки середні по 6	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1
Листки середні по 7	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	1	-	-
Листки середні по 8	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-
Листки продовгуваті	1	1	1	1	1	-	-	1	-	-	1	-	-
Листки лінійні	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-
Листки короткозагострені	-	-	-	1	1	-	-	1	-	1	1	1	1
Краї завернуті донизу	-	-	-	1	1	1	1	-	1	1	1	-	-
Ширина листка 1,5 мм	-	-	1	-	-	-	1	-	1	1	1	1	1
Листки з щетинистим опушенням	1	-	1	1	1	1	-	1	-	-	-	1	-
Листки шорсткі по краям	1	-	1	1	-	1	-	1	1	1	1	1	-
Рихла волоть	1	1	1	-	1	-	-	1	1	-	1	1	1
Квітконос голий	-	-	-	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1
Квітконіжка гола	1	-	-	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1
Квітконіжка довша за квітки	1	-	1	-	1	1	-	1	-	-	-	1	1
Віночок білий	1	1	1	-	-	-	-	1	1	-	-	1	1
Віночок 3 мм	1	-	-	1	-	1	1	1	1	1	-	-	-

Продовж. табл. 3.4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Лопасті яйцевидні	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-	1	-
Стовпчик двуроздільний у верхній третині	1	1	1	1	-	1	-	-	-	-	-	1	1
Плодоніжки жовті	1	-	1	1	1	1	-	-	-	1	1	1	-
Плоди голі	1	1	1	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

При порівнянні отриманих результатів встановлено, що ряд морфологічних ознак приблизно на одному рівні корелює з наявністю у сировині більшості виявлених хімічних сполук. Це: стебло 30 – 35 см, чотиригранне, листки лінійні, шорсткі по краях, віночок 3 мм у діаметрі, квітконос і квітконіжка голі, плоди голі (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Загальні морфологічні ознаки, що корелюють з виявленими флавоноїдами у видах *Galium*

Морфологічні ознаки	Коефіцієнт кореляції, %			
	Ізоройфолін	Лютеолін-7-*О*-арабіно-глюкозид	Діосметин-7-*О*-глюкопіранозид	Палюстрозид, діосметин-7-*О*-ксилоглюкозид
1	2	3	4	5
Стебло 30 см	64	73	75	69
Стебло 35 см	64	64	62,5	54
Стебло 40 см	82	64	75	69
Стебло 60 см	91	64	75	69
Стебло 70 см	82	54,5	62,5	61,5

Продовж. табл. 3.5

1	2	3	4	5
Стебло чотиригранне	73	73	75	69
Стебло голе	82	73	87,5	69
Листки середні по 6	64	73	87,5	61,5
Листки середні по 7	64	64	75	54
Листки середні по 8	73	73	75	61,5
Листки лінійні	82	82	75	69
Листки шорсткі по краях	82	82	75	69
Віночок 3 мм у діаметрі	64	64	62,5	54
Лопаті віночка яйцеподібні	82	73	62,5	69
Квітконос голий	73	82	87,5	61,5
Квітконіжка гола	82	82	87,5	69
Плодоніжки жовті	-	54,5	62,5	61,5
Плодоніжки голі	73	-	-	-
Плоди голі	91	82	87,5	84,5

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Спостерігається взаємозв’язок між такими ознаками, як: стебло голе, середні стеблові листки у кільцях по 6-8, віночок 3 мм у діаметрі, лопаті віночка яйцеподібні – та наявністю похідних апігеніну, лютеоліну та діосметину. Тільки ізоройфолін корелює з такою ознакою, як плодоніжка гола.

3.2 Вивчення корелятивних зв’язків між морфологічними ознаками і наявністю фенолкарбонових і гідроксикоричних кислот у видах роду *Galium*

В результаті власних досліджень та даних інших дослідників встановлено, що хлорогенова, 3-*п*-кумароїлхінна та 5-*п*-кумароїлхінна кислоти є типовими для видів роду Підмаренник, оскільки були виявлені у

більшості видів [3, 4, 10, 20, 26, 39, 42, 57, 73, 79-80, 83, 86, 93, 123, 126, 136, 145, 167-169, 189, 195, 208].

Ванілінову кислоту ідентифіковано у 5 видах: *G. triflorum*, *G. aparine*, *G. rubioides*, *G. verum*, *G. carpaticum* (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Типові морфологічні ознаки видів, які містять ванілінову кислоту у видах *Galium*

Морфологічні ознаки	*G. triflorum* Michx.	*G. aparine* L.	*G. rubioides* L.	*G. verum* L.	*G. carpaticum* Klokov
1	2	3	4	5	6
Багаторічні рослини	-	-	1	1	1
Кореневище повзуче	1	-	1	1	1
Стебло 30-35 см	1	1	-	1	1
Стебло 70-80 см	-	1	1	1	1
Стебло чотиригранне	1	1	-	1	1
Стебло опушене по ребрах	1	1	1	-	-
Середні стеблові листки у мутовках по 6	1	1	-	1	1
Середні стеблові листки у мутовках по 7-8	-	1	-	1	1
Жилка 1	1	-	-	1	1
Листки ланцетні	1	1	-	1	1
Листки продовгуваті	1	-	-	1	1
Листки короткозагострені	1	1	-	1	1
Листки довжиною 18-19 мм	-	-	1	1	1
Листки довжиною 20 мм	1	-	1	1	1

Продовж. табл. 3.6

1	2	3	4	5	6
Листки довжиною 22-25 мм	1	-	1	-	1
Листки довжиною 30 мм	-	1	1	-	1
Листки голі	1	1	-	1	-
Верхні приквіткові листки поодинокі	-	1	1	1	1
Приквіткові листки парні	-	-	1	1	1
Напівзонтики верхівкові	1	-	1	1	-
Квітконос голий	1	-	1	1	-
Квітконіжка гола	1	1	1	1	-
Віночок білий	1	1	1	-	1
Віночок діаметром 3,5 мм	1	-	1	-	1
Віночок діаметром 4 мм	1	-	1	-	1
Плоди довжиною 1,5 мм	1	-	1	1	1
Плоди двійчасті	1	1	-	1	-
Плоди голі	-	-	1	1	1

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Сполука корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні 60 % – багаторічні рослини, стебло опушене по ребрах, середні стеблові листки у кільцях по 7-8, жилка 1, листки продовгуваті, довжиною 18-19 мм або 22-30 мм, голі, приквіткові листки парні, напівзонтики верхівкові, квітконос голий, віночок діаметром 3,5-4 мм, плоди двійчасті, голі; на рівні 80 % – кореневище повзуче, стебло 30-35 см, або 70-80 см, чотиригранне, середні стеблові листки у кільцях по 6, ланцетні, короткозагострені, довжиною 20 мм, верхні приквіткові листки поодинокі, квітконіжка гола, віночок білий, плоди завдовжки 1,5 мм.

Кофейну кислоту знайдено у 5 видах: *G. aparine* L., *G. verum* L., *G. mollugo* L., *G. fagetorum* Klok., *G. pseudomollugo* (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Типові морфологічні ознаки видів, які містять кофейну кислоту у видах *Galium*

Морфологічні ознаки	*G. aparine* L.	*G. verum* L.	*G. mollugo* L.	*G. pseudomollugo* klokov	*G. fagetorum* Klokov
1	2	3	4	5	6
Стебло 30-35 см	1	1	1	-	1
Стебло 60-80 см	1	1	1	1	-
Стебло 90-100 см	1	1	1	-	-
Стебло висхідне, гіллясте	-	-	1	1	1
Стебло голе	-	1	1	1	-
Листки у кільцях по 9-10	-	1	-	1	1
Листки продовгуваті	-	1	1	1	1
Листки ланцетні	1	1	1	-	-
Листки лінійні, короткозагострені	1	1	1	1	-
Листки довжиною 18-19 мм	-	1	-	1	1
Листки довжиною 20 мм	-	1	1	1	1
Листки шириною 1 мм	-	1	-	1	1
Листки шириною 2 мм	1	-	-	1	1
Листки шириною 2,5 мм	-	-	1	1	1
Листки голі	1	1	1	-	1
Приквіткові листки парні	-	1	1	1	1

Продовж. табл. 3.7

1	2	3	4	5	6
Приквіткових листків по 4-6	-	1	1	1	-
Волоть вузька видовжена	-	-	1	1	1
Квітконіжка гола	1	1	1	-	1
Віночок білий	1	-	1	1	-
Лопаті продовгуваті	1	1	-	-	1
Стовпчик двуроздільний від низу	1	-	-	1	1
Плоди двійчасті	1	1	1	-	-

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Для даних 5 видів кофейна кислота корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні рівні 60 % – стебло 90-100 см, висхідне, гіллясте, голе, листки у кільцях по 9-10, ланцетні, довжиною 18-19 мм, шириною 1-2,5 мм, приквіткових листків по 4-6, волоть вузька видовжена, лопаті віночка продовгуваті, стовпчик двуроздільний від низу, плоди двійчасті; на рівні 80 % – стебло 30-35 см або 60-80 см, листки продовгуваті, лінійні, коротко загострені, довжиною 20 мм, голі, приквіткові листки парні, квітконіжка гола.

Неохлорогенову кислоту виявлено у 5 видах: *G. aparine* L., *G. hercynicum* Weig., *G. Juzepczukii* Pobed., *G. fagetorum* Klok., *G. pseudomollugo* (табл. 3.8).

Для даних 5 видів неохлорогенова кислота корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні 60 % – стебло 20-25 см або 35-55 см, має стерильні гілки, голе, листки короткозагострені, довжиною 6-9 мм або 12-15 мм, шириною 3 мм, приквіткові листки парні, суцвіття волоть вузька видовжена, віночок 4 мм у діаметрі, лопаті продовгуваті або яйцеподібні, плоди двійчасті; на рівні 80 % – стебло 30 см, висхідне, гіллясте, листки у кільцях по 7-8, довжиною 10 мм, шириною 1-2,5 мм, голі, верхні приквіткові листки поодинокі, віночок 3,5 мм у діаметрі, стовпчик двуроздільний від низу.

Таблиця 3.8

Типові морфологічні ознаки видів, які містять неохлорогенову кислоту у видах *Galium*

Морфологічні ознаки	*G. aparine* L.	*G. hercynicum* Weig.	*G. Juzepczukii* Pobed.	*G. pseudomollugo* klokov	*G. fagetorum* Klokov
1	2	3	4	5	6
Стебло 20-25 см	-	1	1	-	1
Стебло 30 см	1	1	1	-	1
Стебло 35 см	1	-	1	-	1
Стебло 40-55 см	1	-	-	1	1
Стебло висхідне, гіллясте	-	1	1	1	1
Стебло має стерильні гілки	-	-	1	1	1
Стебло голе	-	1	1	1	-
Листки у кільцях по 7-8	1	-	1	1	1
Листки короткозагострені	1	-	1	1	-
Листки довжиною 6-9 мм	-	1	1	-	1
Листки довжиною 10 мм	-	1	1	1	1
Листки довжиною 12-15 мм	-	-	1	1	1
Листки шириною 1-2,5 мм	-	1	1	1	1
Листки шириною 3 мм	-	1	-	1	1
Листки голі	1	1	1	-	1
Верхні приквіткові листки поодинокі	1	-	1	1	1
Приквіткові листки парні	-	-	1	1	1
Суцвіття волоть вузька видовжена	-	-	1	1	1
Віночок 3,5 мм у діаметрі	-	1	1	1	1
Віночок 4 мм у діаметрі	-	1	1	-	1
Лопаті продовгуваті	1	-	1	-	1

Продовж. табл. 3.8

1	2	3	4	5	6
Лопаті яйцеподібні	-	1	1	-	1
Стовпчик двуроздільний від низу	1	-	1	1	1
Плоди двійчасті	1	1	1	-	-

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

При порівнянні отриманих результатів встановлено, що ряд морфологічних ознак приблизно на одному рівні корелює з наявністю у сировині всіх виявлених кислот. Це: стебло 30 см заввишки, листки короткозагострені, голі, приквіткові листки парні, плоди двійчасті (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Загальні морфологічні ознаки, що корелюють з виявленними фенолкарбоновими та гідроксикоричними кислотами у видах *Galium*

Морфологічні ознаки	Коефіцієнт кореляції, %		
	Ванілінова кислота	Кофейна кислота	Неохлорогенова кислота
1	2	3	4
Стебло 30 см	80	83,3	83,3
Стебло висхідне	-	60	83,3
Стебло гіллясте	-	60	83,3
Стебло голе	-	60	60
Середні стеблові листки у кільцях по 7-8	60	-	83,3
Листки ланцетні	80	60	-
Листки продовгуваті	60	83,3	-
Листки короткозагострені	80	83,3	60

Продовж. табл. 3.9

1	2	3	4
Листки голі	60	83,3	83,3
Листки довжиною 20 мм	80	83,3	-
Листки довжиною 18-19 мм	60	60	-
Листки шириною 1-2,5 мм	-	60	83,3
Верхні приквіткові листки поодинокі	80	-	83,3
Приквіткові листки парні	60	83,3	60
Волоть вузька видовжена	-	60	60
Квітконіжка гола	80	83,3	-
Лопаті віночка продовгуваті	-	60	60
Стовпчик двуроздільний від низу	-	60	83,3
Плоди двійчасті	60	60	60

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

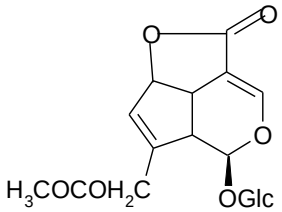
Такі морфологічні ознаки, як: стебло висхідне, гіллясте, голе; середні стеблові листки у кільцях по 7-8, ланцетні, продовгуваті, довжиною 18-20 мм, шириною 1-2,5 мм; верхні приквіткові листки поодинокі; суцвіття волоть, вузька, видовжена; квітконіжка гола; лопаті віночка продовгуваті; стовпчик двуроздільний від низу корелюють з наявністю двох з трьох виявлених ароматичних кислот.

3.3 Вивчення корелятивних зв’язків між морфологічними ознаками і іридоїдами у видах роду *Galium*

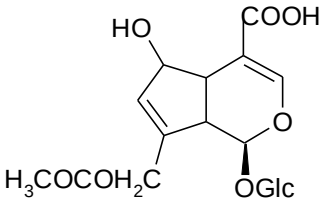
Оскільки рід *Galium* характеризується наявністю іридоїдів групи асперулозиду, які є цінними у фармакологічному відношенні сполуками [67, 83, 130], доцільним стало встановлення кореляційних взаємозв’язків між морфологічними ознаками видів роду Підмаренник і наявністю в них іридоїдів.

Виявлення та ідентифікацію іридоїдів проводили в етанольних (70 %) витягах з ЛРС за допомогою паперової хроматографії та тонкошарової хроматографії. Рухливість іридоїдів визначалася на папері «Filtrak» (FN-4) або пластинках силікагелю 254 TLC в хроматографічних системах А або F (п. 2.2). Після сушіння всі пластинки переглядали в УФ-світлі при 254 нм та 366 нм до і після обробки реактивом Трим-Хілла з наступним нагріванням.

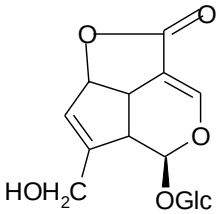
З літературних джерел [3, 4, 79, 89, 96, 127-129, 131, 143, 157] відомо, що у видах роду Підмаренник зустрічаються такі іридоїди: асперулозид (1), асперулозидова кислота (2), деацетиласперулозид (3), 10-деацетил-асперулозидова кислота (4), скандозид (5), монотропеїн (6), геніпозидова кислота (7) (рис. 3.6, 3.7).



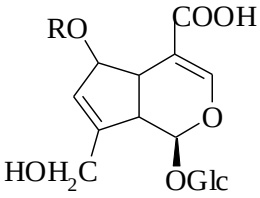
(1)



(2)

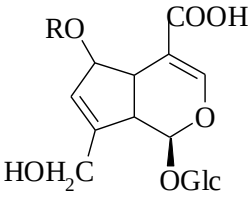


(3)



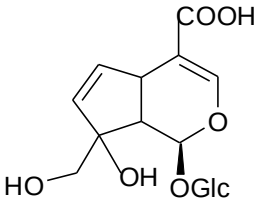
де R=α-OH

(4)

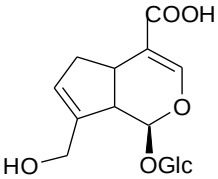


де R=β-OH

(5)



(6)



(7)

Рис. 3.6 Структура іридоїдів видів роду Підмаренник

В результаті власних досліджень та даних інших дослідників асперулозид було ідентифіковано у 16 видах, а саме: *G. aparine*, *G. articulatum*, *G. atropatanum*, *G. baicalense*, *G. boreale*, *G. erectum*, *G. mollugo*, *G. palustre*, *G. pamiro-alaicum*, *G. ruthenicum*, *G. Schultesii*, *G. spurium*, *G. tricorne*, *G. triflorum*, *G. turkestanicum*, *G. verum* (рис. 3.7, табл. 3.10) [195].

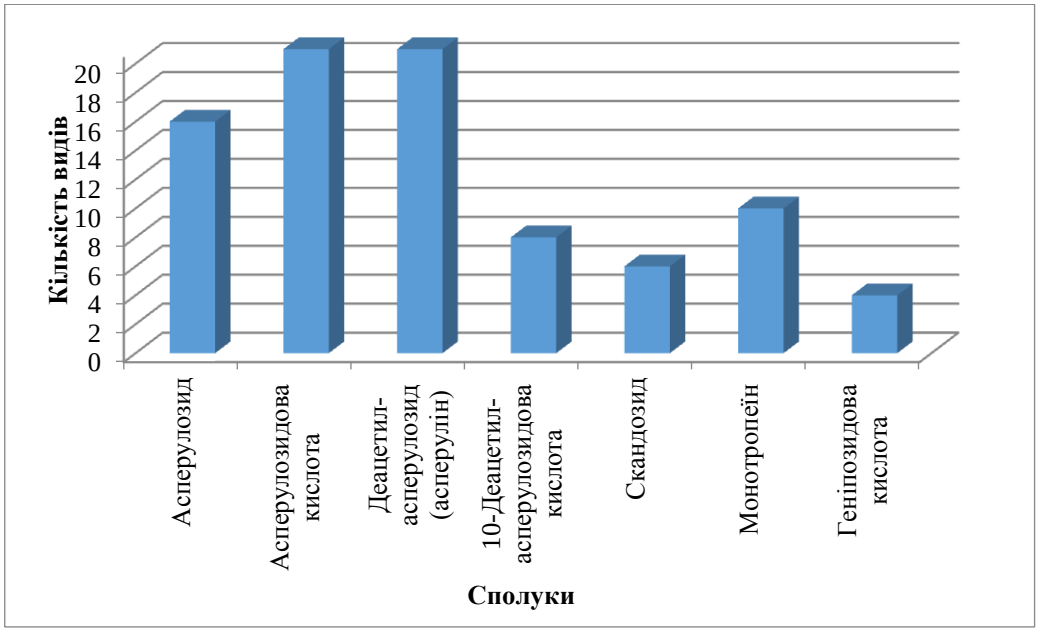


Рис. 3.7 Частота зустрічаємості іридоїдів у видах роду Підмаренник.

Таблиця 3.10

Типові морфологічні ознаки видів *Galium*, які містять асперулозид

Морфологічні ознаки	*G. triflorum* Michx.	*G. tricorne* Stockes.	*G. aparine* L.	*G. spurium* L.	*G. palustre* L.	*G. baicalense* Pobed.	*G. articulatum* Lam.	*G. boreale* L.	*G. turkestanicum* Pobed.	*G.verum* L.	*G. pamiro-alaicum* Pobed.	*G. ruthenicum* Willd.	*G. atropatanum* Grossh.	*G. mollugo* L.	*G. erectum* Huds.	*G. Schultesii* Vest.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Стебло 30-35 см	1	1	1	-	1	-	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1
Стебло 40-45 см	1	1	1	-	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Стебло 50 см	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Продовж. табл. 3.10

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Стебло 55-60 см	1	1	1	-	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1
Стебло пряме	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1
Стебло чотиригранне	1	1	1	-	-	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	1
Листки у мутовках по 6	1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1
Листки у мутовках по 7-8	-	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1
Жилка 1	1	1	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Листки лінійно-ланцетні	-	1	1	1	-	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1	1
Листки із щетинистим опушенням	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	-	1
Листки шорсткі по краях	-	-	-	-	1	-	1	1	1	1	-	1	-	1	1	1
Верхні приквіткові листки поодинокі	-	-	1	-	-	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-
Приквіткові листки парні	-	1	-	-	1	1	1	1	-	1	1	1	-	1	1	1
Напівзонтики верхівкові	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Квітконіжка гола	1	-	1	-	1	-	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1
Плодоніжки жовті	1	1	1	1	1	-	-	1	-	1	1	1	-	-	-	1
Плоди двійчасті	1	1	1	1	1	1	-	-	-	1	1	1	-	1	1	1
Плоди голі	-	-	-	1	1	1	1	-	1	1	1	-	-	1	1	1

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Для даних 16 видів наявність асперулозиду корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні 81,25 % (1) – стебло 30-35 см або 55-60 см, жилка одна; на рівні 87,5 % (2) – стебло 40-45 см; на рівні 93,75 % (3) – стебло 50

см; на рівні 62,5 % (4) – стебло пряме, чотиригранне, листки лінійно-ланцетні, із щетинистим опушенням, плодоніжки жовті, плоди голі; на рівні 56,25 % (5) – середні стеблові листки у кільцях по 6-8, шорсткі по краях, верхні приквіткові листки поодинокі, квітконіжка гола; на рівні 68,75 % (6) – приквіткові листки парні; на рівні 75 % (7) – напівзонтики верхівкові, плоди двійчасті (рис. 3.8).

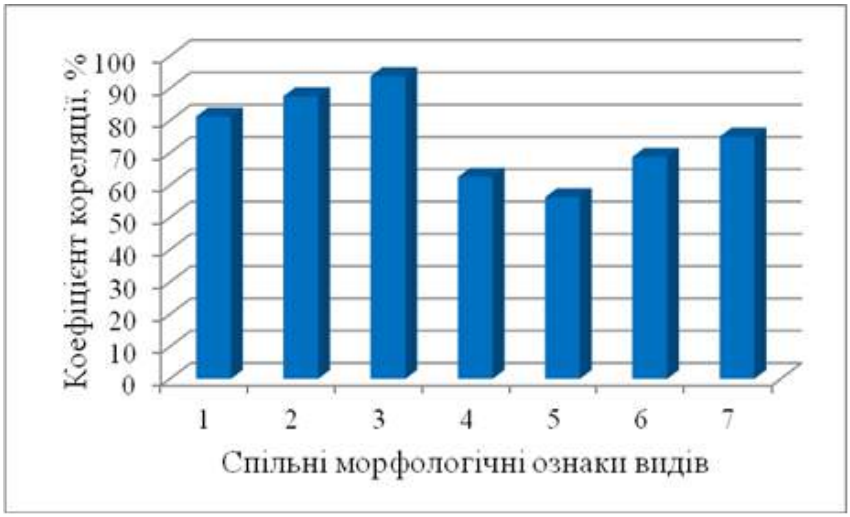


Рис. 3.8 Кореляція наявності асперулозиду з морфологічними ознаками видів

Асперулозидову кислоту було ідентифіковано у 21 виді (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

Типові морфологічні ознаки видів *Galium*, які містять асперулозидову кислоту

Морфологічні ознаки	*G. tricorne* Stockes.	*G. aparine* L.	*G. spurium* L.	*G. palustre* L.	*G. karakulense* Pobed.	*G. elongatum* Presl	*G. Ruprechtii* Pobed.	*G. rubioides* L.	*G. ussuriense* Pobed.	*G. septentrionale* Roem. et Schult.	*G. verum* L.	*G. pamiro-alaicum* Pobed.	*G. ruthenicum* Willd.	*G. atropatanum* Grossh.	*G. mollugo* L.	*G. erectum* Huds.	*G. calcareum* (Alb.) Pobed.	*G. Schultesii* Vest.	*G. polonicum* Blocki	*G. Czerepanovii* Pobed.	*G. brachyphyllum* Roem. Et Schult.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Стебло 30 см	1	1	-	1	-	-	1	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1	1

Продовж. табл. 3.11

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Стебло 35 см	1	1	-	1	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-	-	-
Стебло 40-45 см	1	1	-	1	1	-	-	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-
Стебло 50 см	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-
Стебло 55 см	1	1	-	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	-	-	-
Стебло 60 см	1	1	-	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	-	-
Стебло 70 см		1	-	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1	-	1	1	1	-	-
Стебло 75-80 см	-	1	-	-	-	1	-	1	1	1	1	1	1	-	1	-	-	1	1	-	-
Стебло пряме	-	-	-	-	-	1	-	1	1	1	1	1	1	1	-	1	-	1	-	1	-
Стебло чотиригранне	1	1	-	-	1	1	1	-	-	-	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	1
Стебло голе	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-
Листки у мутовках по 6	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1	1
Листки у мутовках по 7	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	1
Листки у мутовках по 8	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-
Жилка 1	1	-	-	1	1	1	1	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Листки ланцетні	1	1	1	-	1	1	-	-	-	1	1	-	-	1	1	1	-	1	1	-	1
Листки лінійні	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1
Листки із щетинистим опушенням	-	-	-	1	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	1	-	-	1	1	-	-
Листки шорсткі по краях	-	-	-	1	-	-	1	1	1	1	1	-	1	-	1	1	1	1	1	-	-
Верхні приквіткові листки поодинокі	-	1	-	-	1	1	1	1	1	-	1	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1
Приквіткові листки парні	1	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1
Суцвіття рихла волоть	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-
Напівзонтики верхівкові	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Квітконос голий	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-
Квітконіжка гола	-	1	-	1	-	1	-	1	1	1	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-

Продовж. табл. 3.11

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Квітконіжка довша за квітки	1	-	-	1	-	1	1	-	-	1	-	1	1	-	1	-	-	1	1	1	1
Віночок білий	-	1	-	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1
Віночок 3 мм у діаметрі	1	-	-	1	-	1	-	-	1	1	1	-	1	1	1	1	-	1	-	-	-
Віночок 3,5 мм у діаметрі	-	-	-	1	1	1	-	1	1	1	-	1	1	-	-	-	1	1	-	1	-
Лопаті яйцеподібні	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	1
Плодоніжки жовті	1	1	1	1	-	1	1	-	-	-	1	1	1	-	-	-	1	1	1	-	1
Плоди двійчасті	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	1	1	1	-	1	1	1	1	-	1	1
Плоди голі	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Це *G. tricorne*, *G. aparine*, *G. spurium*, *G. palustre*, *G. karakulense*, *G. Ruprechtii*, *G. elongatum*, *G. rubioides*, *G. ussuriense*, *G. septentrionale*, *G. verum*, *G. pamiro-alaicum*, *G. ruthenicum*, *G. atropatanum*, *G. calcareum*, *G. mollugo*, *G. Czerepanovii*, *G. Schultesii*, *G. polonicum*, *G. erectum*, *G. brachyphyllum*. Для даних видів асперулозидова кислота корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні 66,6 % (1) – стебло 30 см, або 40-45 см, або 70 см, чотиригранне, листки лінійні, суцвіття рихла волоть, квітконіжка гола, віночок білий; 52,4 % (2) – стебло 35 см або 75-80 см, пряме, голе, середні стеблові листки у кільцях по 7-8, з щетинистим опушенням, квітконос голий, віночок 3-3,5 мм в діаметрі, лопаті яйцеподібні; 80,95 % (3) – стебло 50 см; 71,4 % (4) – стебло 55 см, верхні приквіткові листки поодинокі, плоди голі; 76,19 % (5) – стебло 60 см; жилка 1, плоди двійчасті; 57,1 % (6) – середні стеблові листки у кільцях по 6, шорсткі по краях, квітконіжка довша за квітки; 61,9 % (7) – листки ланцетні, плодоніжки жовті; 85,71 % (8) – приквіткові листки парні, напівзонтики верхівкові (рис. 3.9).

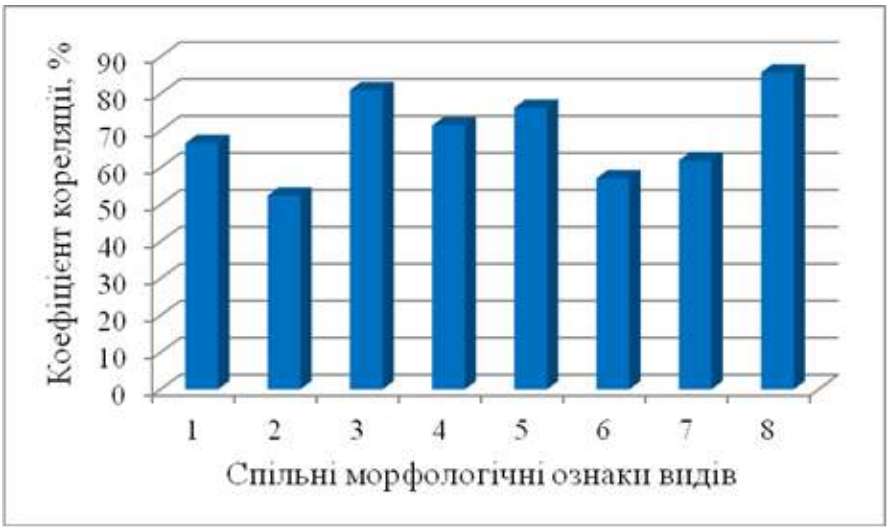


Рис. 3.9 Кореляція наявності асперулозидової кислоти з морфологічними ознаками видів

Деацетил-асперулозид (асперулін) було ідентифіковано у 21 виді: *G. soongoricum*, *G. tricorne*, *G. aparine*, *G. spurium*, *G. tenuissimum*, *G. verticillatum*, *G. palustre*, *G. karakulense*, *G. Ruprechtii*, *G. elongatum*, *G. uliginosum*, *G. verum*, *G. pamiro-alaicum*, *G. atropatanum*, *G. calcareum*, *G. Juzepczukii*, *G. mollugo*, *G. Czerepanovii*, *G. Schultesii*, *G. polonicum*, *G. brachyphyllum* (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Типові морфологічні ознаки видів *Galium*, які містять деацетил-асперулозид

Морфологічні ознаки	*G. soongoricum* Schrenk.	*G. tricorne* Stockes.	*G. aparine* L.	*G. spurium* L.	*G. tenuissimum* M.B.	*G. verticillatum* Danth.	*G. palustre* L.	*G. karakulense* Pobed.	*G. elongatum* Presl	*G. Ruprechtii* Pobed.	*G. uliginosum* L.	*G.verum* L.	*G. pamiro-alaicum* Pobed.	*G. atropatanum* Grossh.	*G. mollugo* L.	*G. Juzepczukii* Pobed.	*G. calcareum* (Alb.) Pobed.	*G. Schultesii* Vest.	*G. polonicum* Blocki	*G. Czerepanovii* Pobed.	*G. brachyphyllum* Koem. et Schult.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Стебло 30 см	1	1	1	-	1	-	1	-	-	1	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1	1
Стебло 35 см	-	1	1	-	1	-	1	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	-	-	-

Продовж. табл. 3.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Стебло 40-45 см	-	1	1	-	1	-	1	1	-	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	-	-
Стебло 50 см	-	1	1	1	1	-	1	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	-	-
Стебло 55 см	-	1	1	-	-	-	1	1	1	-	1	1	1	-	1	-	1	1	-	-	-
Стебло 60 см	-	1	1	-	-	-	1	1	1	-	1	1	1	-	1	-	1	1	1	-	-
Стебло 70 см	-	-	1	-	-	-	1	1	1	-	1	1	1	-	1	-	1	1	1	-	-
Стебло чотиригранне	1	1	1	-	1	1	-	1	1	1	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1
Стебло голе	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-
Листки в кільцях по 6	-	1	1	-	1	-	-	-	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1
Листки в кільцях по 7	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	-	-	1
Листки в кільцях по 8	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-
Жилка 1	1	1	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Листки ланцетні	-	1	1	1	1	-	-	1	1	-	1	1	-	1	1	-	-	1	1	-	1
Листки лінійні	-	1	1	1	1	1	1	-	-	-	1	1	1	1	1	-	1	1	1	-	1
Листки короткозагострені	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-
Листки голі	1	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	1	1	-	1	1	1	1	-	1	-
Верхні приквіткові листки поодинокі	-	-	1	-	1	-	-	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	-	1
Приквіткові листки парні	-	1	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1
Суцвіття рихла волоть	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	-	1	-	1	-	1	1	1	1	-
Напівзонтики верхівкові	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Квітконос довший за приквіткові листки	1	1	1	1	1	-	1	-	1	1	1	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-
Квітконіжка гола	1	-	1	-	-	1	1	-	1	-	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-
Віночок білий	1	-	1	-	1	-	1	1	1	1	1	-	-	-	1	1	-	1	1	1	1
Лопаті віночка яйцеподібні	-	-	-	-	-	1	1	1	1	-	1	-	1	1	1	1	-	1	1	-	1
Плодоніжки жовті	1	1	1	1	1	-	1	-	1	1	1	1	1	-	-	1	1	1	1	-	1
Плоди двійчасті	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	-	1	1
Плоди голі	-	-	-	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Для даних 21 виду деацетил-асперулозид корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні 52,4 % – стебло 35 см, або 55 см, або 70 см, голе, листки в кільцях по 7, коротко загострені, голі, суцвіття рихла волоть; 57,1 % – стебло 40-45 см або 60 см, листки в кільцях по 8, квітконос довший за приквіткові листки, лопаті віночка яйцеподібні; 61,9 % – листки ланцетні, квітконіжка гола; 66,6 % – стебло 50 см, листки в кільцях по 6, верхні приквіткові листки поодинокі, віночок білий; 71,4 % – стебло 30 см, листки лінійні, приквіткові листки парні, напівзонтики верхівкові, плоди голі; 76,19 % – плодоніжки голі; 80,95 % – стебло чотиригранне; 90,47 % – жилка 1, плоди двійчасті.

10-Деацетил-асперулозидову кислоту було ідентифіковано у 8 видах: *G. tricorne, G. aparine, G. palustre, G. verum, G. ruthenicum, G. mollugo, G. Schultesii, G. erectum* (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Типові морфологічні ознаки видів *Galium*, які містять 10-деацетил-асперулозидову кислоту

Морфологічні ознаки	*G. tricorne* Stockes.	*G. aparine* L.	*G. palustre* L.	*G. verum* L.	*G. ruthenicum* Willd.	*G. mollugo* L.	*G. erectum* Huds.	*G. Schultesii* Vest.
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Стебло 70 см	-	1	1	1	1	1	-	1
Стебло чотиригранне	1	1	-	1	-	1	1	1
Стебло голе	-	-	1	1	-	1	1	1
Листки у кільцях по 6	1	1	-	1	-	1	1	1
Листки у кільцях по 7-8	1	1	-	1	1	1	1	1
Жилка 1	1	-	1	1	1	1	1	1
Листки ланцетні	1	1	-	1	-	1	1	1
Листки шорсткі по краях	-	-	1	1	1	1	1	1

Продовж. табл. 3.13

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Листки із щетинистим опушенням	-	-	1	1	1	1	-	1
Верхні приквіткові листки поодинокі	-	1	-	1	1	1	1	1
Приквіткові листки парні	1	-	1	1	1	1	1	1
Напівзонтики верхівкові	-	-	1	1	1	1	1	1
Квітконіжка гола	-	1	1	1	-	1	1	1
Віночок білий	-	1	1	-	-	1	1	1
Віночок 3 мм у діаметрі	1	-	1	1	1	1	1	1
Лопаті яйцеподібні	-	-	1	-	1	1	1	1
Плодоніжки жовті	1	1	1	1	1	-	-	1
Плоди голі	-	-	1	1	-	1	1	1

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Для даних 8 видів 10-деацетил-асперулозидова кислота корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні 75 % (1) – стебло 70 см, чотиригранне, середні стеблові листки у кільцях по 6, ланцетні, шорсткі по краях, верхні приквіткові листки поодинокі, напівзонтики верхівкові, квітконіжка гола, плодоніжка жовта; 62,5 % (2) – стебло голе, листки із щетинистим опушенням, віночок білий, лопаті віночка яйцеподібні, плоди голі; 87,5 % (3) – середні стеблові листки у кільцях по 7-8, жилка 1, приквіткові листки парні, віночок 3 мм у діаметрі (рис. 3.10)

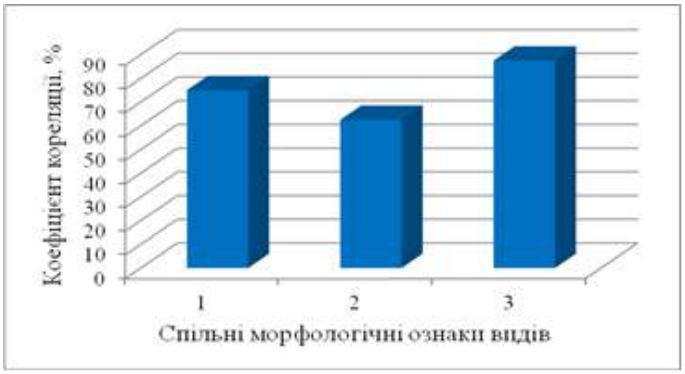


Рис. 3.10 Кореляція наявності 10-деацетил-асперулозидової кислоти з морфологічними ознаками видів

Скандозид (асперулову кислоту) (5) було індентифіковано у 6 видах: *G. tricorne*, *G. aparine*, *G. palustre*, *G. verum*, *G. Schultesii*, *G. erectum* (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Типові морфологічні ознаки видів *Galium*, які містять скандозид

Морфологічні ознаки	*G. tricorne* Stockes.	*G. aparine* L.	*G. palustre* L.	*G. verum* L.	*G. erectum* Huds.	*G. Schultesii* Vest.
1	2	3	4	5	6	7
Стебло чотиригранне	1	1	-	1	1	1
Стебло голе	-	-	1	1	1	1
Листки у кільцях по 6-8	1	1	-	1	1	1
Жилка 1	1	-	1	1	1	1
Листки ланцетні	1	1	-	1	1	1
Листки шорсткі по краях	-	-	1	1	1	1
Верхні приквіткові листки поодинокі	-	1	-	1	1	1
Приквіткові листки парні	1	-	1	1	1	1
Напівзонтики верхівкові	-	-	1	1	1	1
Квітконос довший за приквіткові листки	1	1	1	-	-	1
Квітконіжка гола	-	1	1	1	1	1
Віночок білий	-	1	1	-	1	1
Віночок 3 мм у діаметрі	1	-	1	1	1	1
Плодоніжки жовті	1	1	1	1	-	1
Мерикарпії шаровидні	1	1	1	-	-	1
Плоди голі	-	-	1	1	1	1

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Для даних 6 видів скандозид корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні 66,7 % – стебло голе, листки шорсткі по краях, верхні приквіткові листки поодинокі, напівзонтики верхівкові, квітконос довший за приквіткові листки, віночок білий, мерикарпії шаровидні, плоди голі; на рівні 83,3 % – стебло чотиригранне, середні стеблові листки у кільцях по 6-8, жилка 1, листки ланцетні, приквіткові листки парні, квітконіжка гола, віночок 3 мм у діаметрі, плодоніжки жовті.

Монотропеїн (6) було ідентифіковано у 10 видах: *G. tricorne*, *G. aparine*, *G. palustre*, *G. verum*, *G. pamiro-alaicum*, *G. ruthenicum*, *G. atropatanum*, *G. mollugo*, *G. Schultesii*, *G. erectum* (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

Типові морфологічні ознаки видів *Galium*, які містять монотропеїн

Морфологічні ознаки	*G. tricorne* Stockes.	*G. aparine* L.	*G. palustre* L.	*G. verum* L.	*G. pamiro-alaicum* Pobed.	*G. ruthenicum* Willd.	*G. atropatanum* Grossh.	*G. mollugo* L.	*G. erectum* Huds.	*G. Schultesii* Vest.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Стебло 30-35 см	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1
Стебло 55-60 см	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1
Стебло 70 см	-	1	1	1	1	1	-	1	-	1
Стебло 75-100 см	-	1	-	1	1	1	-	1	-	1
Стебло пряме	-	-	-	1	1	1	1	-	1	1
Стебло чотиригранне	1	1	-	1	1	-	-	1	1	1
Стебло голе	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1
Листки у кільцях по 6	1	1	-	1	1	-	1	1	1	1

Продовж. табл. 3.15

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Листки у кільцях по 7-8	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1
Жилка 1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1
Листки ланцетні	1	1	-	1	-	-	1	1	1	1
Листки із щетинистим опушенням	-	-	1	1	1	1	-	1	-	1
Листки шорсткі по краях	-	-	1	1	-	1	-	1	1	1
Верхні приквіткові листки поодинокі	-	1	-	1	1	1	-	1	1	1
Приквіткові листки парні	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1
Напівзонтики верхівкові	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1
Квітконіжка гола	-	1	1	1	1	-	-	1	1	1
Квітконіжка довша за квітки	1	-	1	-	1	1	-	1	-	1
Віночок 3 мм у діаметрі	1	-	1	1	-	1	1	1	1	1
Лопаті яйцеподібні	-	-	1	-	1	1	1	1	1	1
Плодоніжки жовті	1	1	1	1	1	1	-	-	-	1
Плоди двійчасті	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1
Плоди голі	-	-	1	1	1	-	-	1	1	1

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Для даних 10 видів монотропеїн корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні 90 % (1) – стебло 30-35 см, або 55-60 см, середні стеблові листки у кільцях по 7-8, жилка 1, приквіткові листки парні, плоди двійчасті; 70 % (2) – стебло 70 см, чотиригранне, листки ланцетні, верхні приквіткові листки поодинокі, квітконіжка гола, лопаті яйцеподібні, плодоніжки жовті; 60 % (3) – стебло 75 – 100 см, пряме, голе, листки із щетинистим опушенням, шорсткі по краях; квітконіжка довша за квітки, плоди голі; 80 % (4) – середні

стеблові листки у кільцях по 6, напівзонтики верхівкові, віночок 3 мм у діаметрі (рис. 3.11).

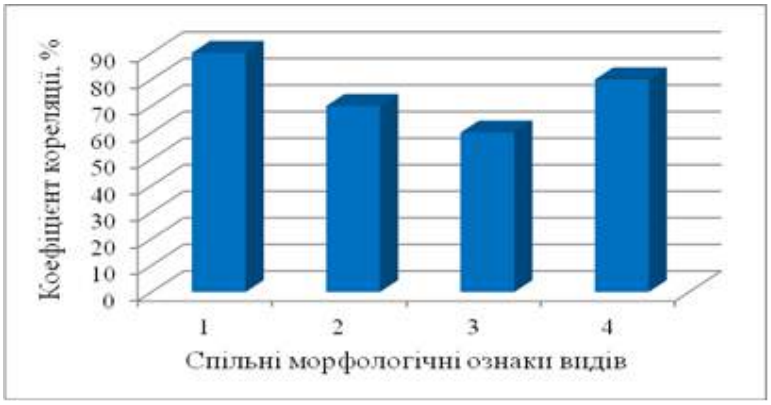


Рис. 3.11 Кореляція наявності монотропеїну з морфологічними ознаками видів

Геніпозидову кислоту (7) було ідентифіковано у 4 видах: *G. tricorne*, *G. palustre*, *G. Schultesii*, *G. erectum* (табл. 3.16).

Таблиця 3.16

Типові морфологічні ознаки видів, які містять геніпозидову кислоту у видах *Galium*

Морфологічні ознаки	*G. tricorne* Stockes.	*G. palustre* L.	*G. erectum* Huds.	*G. Schultesii* Vest.
1	2	3	4	5
Стебло чотиригранне	1	-	1	1
Стебло голе	-	1	1	1
Листки у кільцях по 6-8	1	-	1	1
Листки ланцетні	1	-	1	1
Листки шорсткі по краях	-	1	1	1
Суцвіття рихла волоть	-	1	1	1
Напівзонтики верхівкові	-	1	1	1

Продовж. табл. 3.16

1	2	3	4	5
Квітконос довший за приквіткові листки	1	1	-	1
Квітконіжка гола	-	1	1	1
Квітконіжка довша за квітки	1	1	-	1
Віночок білий	-	1	1	1
Лопаті яйцеподібні	-	1	1	1
Плодоніжки жовті	1	1	-	1
Мерикарпії шаровидні	1	1	-	1
Плоди голі	-	1	1	1

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Для даних 4 видів геніпозидова кислота корелює з такими морфологічними ознаками: на рівні 75 % – стебло чотиригранне, голе, середні стеблові листки у кільцях по 6-8, ланцетні, шорсткі по краях, суцвіття рихла волоть, напівзонтики верхівкові, квітконос довший за приквіткові листки, квітконіжка гола, довша за квітки, віночок білий, лопаті яйцеподібні, плодоніжки жовті, мерикарпії шаровидні, плоди голі.

При порівнянні результатів дослідження встановлено, що з наявністю усих ідентифікованих у видах іридоїдів в різній мірі корелює ряд морфологічних ознак, таких як: стебло чотиригранне, середні стеблові листки у кільцях по 6-7, ланцетні, напівзонтики верхівкові, квітконіжка гола, плоди голі (табл. 3.17).

Лише дезацетиласперулозид і 10-дезацетиласперулозидова кислота корелюють з такою морфологічною ознакою, як плодоніжки голі. Лише скандозид і геніпозидова кислота корелюють з такою морфологічною ознакою, як мерикарпії шароподібні. Спостерігається взаємозв’язок між такою ознакою, як: стебло 75-100 см заввишки і наявністю у видах монотропеїну, який відрізняється від решти сполук наявністю –ОН групи по 7 положенню ядра.

Таблиця 3.17

Загальні морфологічні ознаки, що корелюють з наявністю окремих іридоїдів у видах *Galium*

Морфологічні ознаки	Коефіцієнт кореляції, %						
	Асперулозид	Асперулозидова кислота	Деацетил-асперулозид	10-Деацетил-асперулозидова кислота	Скандозид	Монотропеїн	Геніпозидова кислота
1	2	3	4	5	6	7	8
Стебло 30 см	81,25	66,6	71,4	-	-	90	-
Стебло 35 см	81,25	52,4	52,4	-	-	90	-
Стебло 40-45 см	87,5	66,6	57,1	-	-	-	-
Стебло 50 см	93,75	80,95	66,6	-	-	-	-
Стебло 55 см	81,25	71,4	52,4	-	-	90	-
Стебло 60 см	81,25	76,19	57,1	-	-	90	-
Стебло 70 см	-	66,6	52,4	75	-	70	-
Стебло 75-100 см	-	-	-	-	-	60	-
Стебло пряме	62,5	52,4	-	-	-	60	-
Стебло голе	-	52,4	52,4	62,5	66,7	60	75
Стебло чотиригранне	62,5	66,6	80,95	75	83,3	70	75
Середні стеблові листки у кільцях по 6	56,25	57,1	66,6	75	83,3	80	75
Середні стеблові листки у кільцях по 7	56,25	52,4	52,4	87,5	83,3	90	75
Середні стеблові листки у кільцях по 8	56,25	-	57,1	87,5	83,3	90	75
Листки лінійні	62,5	66,6	71,4	-	-	-	-
Листки ланцетні	62,5	61,9	61,9	75	83,3	70	75

Продовж. табл. 3.17

1	2	3	4	5	6	7	8
Листки із щетинистим опушенням	62,5	52,4	-	62,5	-	60	-
Листки шорсткі по краях	56,25	57,1	-	75	66,7	60	75
Жилка одна	81,25	76,19	90,47	87,5	83,3	90	-
Верхні приквіткові листки поодинокі	56,25	71,4	66,6	75	66,7	70	-
Приквіткові листки парні	68,75	85,71	71,4	87,5	83,3	90	-
Суцвіття рихла волоть	-	66,6	52,4	-	-	-	75
Напівзонтики верхівкові	75	85,71	71,4	75	66,7	80	75
Віночок білий	-	66,6	66,6	62,5	66,7	-	75
Віночок 3 мм в діаметрі	-	52,4	-	87,5	83,3	80	-
Лопаті яйцеподібні	-	52,4	57,1	62,5	-	70	75
Квітконос довший за приквіткові листки	-	-	57,1	-	66,7	-	75
Квітконіжка гола	56,25	66,6	61,9	75	83,3	70	75
Квітконіжка довша за квітки	-	57,1	-	-	-	60	75
Плодоніжки жовті	62,5	61,9	-	75	83,3	70	75
Плодоніжки голі	-	-	76,19	75	-	-	-
Плоди голі	62,5	71,4	71,4	62,5	66,7	60	75
Плоди двійчасті	75	76,19	90,47	-	-	90	-
Мерикарпії шароподібні	-	-	-	-	66,7	-	75

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Порівнюючи корелятивні зв’язки між морфологічними ознаками видів роду Підмаренник і наявністю сполук, можна твердити, що переважна більшість сполук корелюють з такими ознаками, як: стебло 30 см, середні стеблові листки у кільцях по 7, квітконіжка гола (табл. 3.18).

Таблиця 3.18

Найбільш типові морфологічні ознаки видів *Galium*, які корелюють з наявністю в них іридоїдів, флавоноїдів, фенолкарбонових та гідроксикоричних кислот

Морфологічні ознаки	Коефіцієнт кореляції, %													
	Асперулозид	Асперулозидова кислота	Деацетил-асперулозид	10-Деацетил-асперулозидова кислота	Скандозид	Монотропеїн	Геніпозидова кислота	Ізоройфолін	Лютеолін-7-*О*-арабіно-глюкозид	Діосметин-7-*О*-глюкопіранозид	Палюстрозид, діосметин-7-*О*-ксилоглюкозид	Ванілінова кислота	Кофейна кислота	Неохлорогенова кислота
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Стебло до 30 см	81,25	66,6	71,4	-	-	90	-	64	73	75	69	80	83,3	83,3
Стебло до 35 см	81,25	52,4	52,4	-	-	90	-	64	64	62,5	54	-	-	-
Стебло до 40 см	87,5	66,6	57,1	-	-	-	-	82	64	75	69	-	-	-
Стебло до 60 см	81,25	76,19	57,1	-	-	90	-	91	64	75	69	-	-	-
Стебло до 70 см	-	66,6	52,4	75	-	70	-	82	54,5	62,5	61,5	-	-	-

Продовж. табл. 3.18

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Стебло голе	-	52,4	52,4	62,5	66,7	60	75	82	73	87,5	69	-	60	60
Стебло чотиригранне	62,5	66,6	80,95	75	83,3	70	75	73	73	75	69	-	-	-
Середні стеблові листки у кільцях по 6	56,25	57,1	66,6	75	83,3	80	75	64	73	87,5	61,5	-	-	-
Середні стеблові листки у кільцях по 7	56,25	52,4	52,4	87,5	83,3	90	75	64	64	75	54	60	-	83,3
Середні стеблові листки у кільцях по 8	56,25	-	57,1	87,5	83,3	90	75	73	73	75	61,5	60	-	83,3
Листки ланцетні	62,5	61,9	61,9	75	83,3	70	75	-	-	-	-	80	60	-
Листки шорсткі по краях	56,25	57,1	-	75	66,7	60	75	82	82	75	69	-	-	-
Верхні приквіткові листки поодинокі	56,25	71,4	66,6	75	66,7	70	-	-	-	-	-	80	-	83,3
Приквіткові листки парні	68,75	85,71	71,4	87,5	83,3	90	-	-	-	-	-	60	83,3	60
Віночок 3 мм в діаметрі	-	52,4	-	87,5	83,3	80	-	64	64	62,5	54	-	-	-
Лопаті віночка яйцеподібні	-	52,4	57,1	62,5	-	70	75	82	73	62,5	69	-	-	-
Квітконіжка гола	56,25	66,6	61,9	75	83,3	70	75	82	82	87,5	69	80	83,3	-
Плодоніжки жовті	62,5	61,9	-	75	83,3	70	75	-	54,5	62,5	61,5	-	-	-
Плоди голі	62,5	71,4	71,4	62,5	66,7	60	75	91	82	87,5	84,5	-	-	-

Примітка. «–» – ознаку не знайдено

Висновки до розділу 3

1. Встановлено, що ряд морфологічних ознак приблизно на одному рівні корелюють з наявністю у сировині більшості виявлених флавоноїдів (ізоройфоліну, лютеолін-7-О-арабінозилглюкозиду, діосметин-7-О-глюкопіранозиду, палюстрозиду, діосметин-7-О-ксилоглюкозиду). Це: стебло 30 – 35 см, чотиригранне, листки лінійні, шорсткі по краях, віночок 3 мм у діаметрі, квітконос і квітконіжка голі, плоди голі. Спостерігається взаємозв'язок між такими ознаками, як: стебло голе, середні стеблові листки у кільцях по 6-8, віночок 3 мм у діаметрі, лопаті віночка яйцеподібні – та наявністю похідних апігеніну, лютеоліну та діосметину. Тільки ізоройфолін корелює з такою ознакою, як плодоніжка гола.

2. Для фенолкарбонових і гідроксикоричних кислот (ванілінової, кофейної та неохлорогенової) прослідкується кореляція приблизно на одному рівні з такими морфологічними ознаками: стебло до 30 см заввишки, листки короткозагострені, голі, приквіткові листки парні, плоди двійчасті. Такі морфологічні ознаки, як: стебло висхідне, гіллясте, голе; середні стеблові листки у кільцях по 7-8, ланцетні, продовгуваті, завдовжки 18-20 мм, завширшки 1-2,5 мм; верхні приквіткові листки поодинокі; суцвіття волоть, вузька, видовжена; квітконіжка гола; лопаті віночка продовгуваті; стовпчик двуроздільний від низу корелюють з наявністю двох з трьох виявлених ароматичних кислот.

3. Наявність іридоїдів (асперулозиду, асперулозидової кислоти, деацетиласперулозиду, 10-деацетил-асперулозидової кислоти, скандозиду, монотропеїну, геніпозидової кислоти) у видах корелює з такими їх типовими морфологічними ознаками: стебло чотиригранне, середні стеблові листки у кільцях по 6-7, ланцетні, напівзонтики верхівкові, квітконіжка гола, плоди голі. Лише дезацетиласперулозид і 10-дезацетиласперулозидова кислота корелюють з такою морфологічною ознакою, як плодоніжки голі. Лише скандозид і геніпозидова кислота корелюють з такою морфологічною

ознакою, як мерикарпії шароподібні. Монотропеїн, який відрізняється від решти сполук наявністю –ОН групи по 7 положенню ядра корелює з такою ознакою, як стебло 75-100 см заввишки.

4. Порівнюючи корелятивні зв'язки між морфологічними ознаками видів роду Підмаренник і наявністю сполук, які відносяться до іридоїдів, флавоноїдів та ароматичних кислот, можна твердити, що переважна більшість (14 з 15) сполук, які відносяться до трьох різних груп БАР корелюють з такими ознаками, як: стебло до 30 см, середні стеблові листки у кільцях по 7, квітконіжка гола.

5. Результати дослідження свідчать, що види *G. verum* та *G. aparine* повною мірою відповідають виявленим закономірностям. А з урахуванням їх поширення практично по всій території України, а отже, і значної сировинної бази, вони є найбільш перспективними для отримання комплексів БАР.

6. В цілому знайдені закономірності сприяють цілеспрямованому пошуку окремих сполук серед видів роду *Galium*.

Результати досліджень цього розділу опубліковані у таких наукових працях:

1. A Comparative Study of Morphological Features and Flavonoid Composition of Galium L. Genus Species / T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovaleva, O. M. Koshovyi and I. L. Shinkovenko. *Der Pharmacia Lettre*, 2016. Vol. 8, № 13. P. 316 – 321. Видання бази Скопус. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, участь у аналізі результатів та написання статті).

2. Дослідження кореляційних зв'язків між морфологічними ознаками і флавоноїдним складом видів роду Galium L. / Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, О. В. Горяча, І. Л. Шинковенко. *Хімія природних сполук:* матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 21-22 квіт. 2016 р. Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 25 – 27. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, обробка результатів та підготовка тез).

3. Дослідження кореляційних зв'язків між морфологічними ознаками та

іридоїдним складом видів роду Galium L. / Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, І. Л. Шинковенко, О. В. Горяча, О. М. Кошовий, Н. В. Бородіна. *Planta+. Досягнення та перспективи*: міжнар. наук.-практ. конфер., присвячена пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), м. Київ, 20-21 лютого 2020 р. К. : ПАЛИВОДА А. В., 2020. С. 83–86. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, обробка результатів та підготовка тез).

РОЗДІЛ 4
ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ ІЗ ТРАВИ *GALIUM VERUM* ТА ІЗ ТРАВИ *GALIUM APARINE,* ВСТАНОВЛЕННЯ ЇХ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ

4.1 Визначення технологічних параметрів сировини

Процес екстрагування БАР з ЛРС має складний фізико-хімічний характер, зумовлений взаємодією молекул екстрагенту – розчинника з молекулами клітинних структур ЛРС і залежить від багатьох факторів, в тому числі від технологічних властивостей сировини, зокрема вологості, насипної густини до та після усадки, насипного об’єму до та після усадки, коефіцієнту набухання та поглинання, подрібненості сировини тощо.

Втрата в масі при висушуванні та вміст золи загальної для трави *G. verum* та *G. aparine* були встановлені в попередніх дослідженнях [10, 26]. Визначення насипного об’єму та насипної густини трави *G. verum* та трави *G. aparine* до та після усадки сировини проводили згідно з п. 2.3.3 та п. 2.3.4 (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Насипний об’єм та насипна густина трави *G. verum* та трави *G. aparine* до та після усадки

n = 3

Об’єм усадки	Кількість струшувань	Насипний об’єм до усадки, $см^3$	Насипний об’єм після усадки, $см^3$	Насипна густина до усадки, $г/см^3$	Насипна густина після усадки, $г/см^3$	Здатність до усадки, $см^3$
1	2	3	4	5	6	7
G. verum						
V_{10}	10	56,0 ± 0,4	55,0 ± 0,7	0,18 ± 0,01	0,20 ± 0,01	6,0
V_{500}	490		53,0 ± 0,8			
V_{1250}	750		50,0 ± 0,8			

Продовж. табл. 4.1

1	2	3	4	5	6	7
G. aparine						
V_{10}	10	58,0 ± 0,9	56,0 ± 0,7	0,17 ± 0,01	0,23 ± 0,01	14,0
V_{500}	490		50,0 ± 0,7			
V_{1250}	750		44,0 ± 0,8			

З результатів досліджень видно, що насипний об’єм трави *G. verum* зменшився з 56 мл початкового до 50 мл, тобто на 10,71 %. Насипний об’єм трави *G. aparine* зменшився з 58 мл початкового до 44 мл, тобто на 24,14 %. Насипна густина трави *G. verum* зросла після усадки з 0,18 г/см^{3}до 0,2 г/см^3, трави *G. aparine* – з 0,17 г/см^3 до 0,23 г/см^3.

Визначення питомої густини сировини проводили згідно п. 2.3.5. Встановлено, що для трави *G. verum* вона становить 1,41 г/см^3, для трави *G. aparine* – 1,47 г/см^3.

Визначення об’ємної густини сировини проводили згідно п. 2.3.6. Для трави *G. verum* цей показник становить 0,58 г/см^3, для трави *G. aparine* – 0,48 г/см^3.

Питома, насипна та об’ємна густина дозволяють визначити пористість, нарізність і вільний об’єм шару. Від величини пористості й нарізності залежить швидкість змочування й набрякання матеріалу. Пористість і нарізність сировини обумовлює її поглинаючу здатність.

Пористість ЛРС встановлювали відповідно до п. 2.3.7. Для трави *G. verum* вона складає 0,59, для трави *G. aparine* – 0,67.

Нарізність ЛРС встановлювали відповідно до п. 2.3.8. При набуханні сировини її частки збільшуються; якщо висота шару сировини в екстракторі незначна, нарізність також буде збільшуватися, при значній висоті відбувається запресування ЛРС, відповідно нарізність буде зменшуватися. Для трави *G. verum* нарізність складає 0,69, для трави *G. aparine* – 0,65.

Вільний об’єм шару сировини встановлювали згідно з п. 2.3.9. Для трави *G. verum* він становить 0,87, для трави *G. aparine* – 0,88 (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Результати визначення основних технологічних параметрів трави *G. verum* та трави *G. aparine*

n = 3

Технологічні параметри	*G. verum*	*G. aparine*
Насипний об’єм до усадки, $см^3$	56,00 ±0,40	58,00 ± 0,90
Насипний об’єм після усадки, $см^3$	50,00 ± 0,80	44,00 ± 0,80
Насипна густина до усадки, $г/см^3$	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,01
Насипна густина після усадки, $г/см^3$	0,20 ± 0,01	0,23 ± 0,01
Питома густина, $г/см^3$	1,41 ± 0,07	1,47 ± 0,07
Об’ємна густина, $г/см^3$	0,58 ± 0,03	0,48 ± 0,02
Пористість	0,59	0,67
Нарізність	0,69	0,65
Вільний об’єм шару	0,87	0,88

Як видно з результатів досліджень, трава *G. verum* та *G. aparine* суттєво відрізняється за такими показниками, як насипний об’єм після усадки, насипна густина після усадки, питома густина, об’ємна густина, пористість, нарізність. Проте, такі показники, як насипний об’єм до усадки та вільний об’єм шару, мають близькі значення для двох досліджуваних видів сировини.

Для визначення такого параметру екстрагування досліджуваної сировини як співвідношення сировини і екстрагенту необхідно було визначити коефіцієнт поглинання розчинників.

Визначення коефіцієнту поглинання екстрагенту проводили відповідно до п. 2.3.10. Як екстрагент використовували етанол (96 %, 60 % та 20 %) та воду очищену (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Результати визначення коефіцієнту поглинання розчинника

n=3

ЛРС	Екстрагент	Коефіцієнт поглинання розчинника
G. verum	Вода очищена	3,50 ± 0,17
	Етанол 20 %	2,74 ± 0,13
	Етанол 60 %	2,46 ± 0,12
	Етанол 96 %	1,52 ± 0,07
G. aparine	Вода очищена	3,60 ± 0,17
	Етанол 20 %	3,22 ± 0,16
	Етанол 60 %	2,00 ± 0,10
	Етанол 96 %	1,66 ± 0,08

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що коефіцієнти поглинання всіх розчинників дещо вищі для трави *G. aparine,* що може частково пояснюватися більшим ступенем опушеності рослини у порівнянні з *G. verum*.

4.2 Дослідження закономірностей екстрагування основних груп БАР із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

4.2.1 Вплив ступеню подрібненості ЛРС на вихід БАР

Відомо, що ступінь подрібнення сировини впливає на вихід БАР з неї [5]. Поверхня поділу фаз «тверде тіло – рідина» залежить від ступеня подрібнення сировини й буде тим більша, чим менші її частки. Однак з практики відомо, що при занадто тонкому подрібнюванні сировина може злежуватися, через такі маси проходження екстрагенту утруднюється, що призводить до неповного екстрагування БАР. Крім того, фільтрування

витягів з надмірно подрібненої сировини також ускладнюється. Тому доцільним було дослідити вплив ступеню подрібненості трави *G. verum* та трави *G. aparine* на вихід екстрактивних речовин.

Ступінь подрібненості досліджуваної сировини визначали за допомогою ситового аналізу згідно з ДФУ, 2.9.12 [14]. Екстрагування здійснювали шляхом нагрівання на киплячій водяній бані, використовуючи як екстрагенти воду очищену, етанол 20 %, 60 % та 96 %. Співвідношення сировина – екстрагент 1 : 10. Вміст екстрактивних речовин визначали згідно з п. 2.2. Результати наведено в таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

Залежність виходу екстрактивних речовин від ступеня подрібнення трави *G. verum* та трави *G. aparine*

ЛРС	Екстрагент	Ступінь подрібнення, мм	Сухий залишок, %
1	2	3	4
G. verum	Вода очищена	1-2	8,02 ± 0,30
		3-4	8,89 ± 0,37
		5	8,56 ± 0,34
	Етанол 20 %	1-2	7,05 ± 0,27
		3-4	7,60 ± 0,25
		5	7,35 ± 0,28
	Етанол 60 %	1-2	7,79 ± 0,31
		3-4	8,04 ± 0,33
		5	7,85 ± 0,30
	Етанол 96 %	1-2	5,83 ± 0,25
		3-4	6,10 ± 0,27
		5	5,95 ± 0,30
G. aparine	Вода очищена	1-2	13,55 ± 0,55
		3-4	14,30 ± 0,67
		5	14,04 ± 0,64

Продовж. табл. 4.4

1	2	3	4
G. aparine	Етанол 20 %	1-2	11,82 ± 0,40
		3-4	12,07 ± 0,44
		5	11,90 ± 0,42
	Етанол 60 %	1-2	14,07 ± 0,59
		3-4	14,35 ± 0,65
		5	14,17 ± 0,62
	Етанол 96 %	1-2	8,44 ± 0,31
		3-4	8,61 ± 0,28
		5	8,23 ± 0,30

Як видно з результатів досліджень для обох видів досліджуваної сировини найбільший вихід екстрактивних речовин при використанні різних розчинників встановлено при частках розміром 3-4 мм, а отже він є оптимальним.

4.2.2 Вплив тривалості екстракції на вихід БАР

Для визначення оптимального терміну вилучення БАР із досліджуваної сировини здійснювали екстракцію за тих же умов, що і в п. 4.2.1 протягом 20, 30, 45 та 60 хв. Співвідношення сировина – екстрагент 1 : 10. Вміст екстрактивних речовин визначали згідно з п. 2.2 (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

Залежність виходу екстрактивних речовин із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* від тривалості екстракції

ЛРС	Екстрагент	Тривалість екстракції, хв	Сухий залишок, %
1	2	3	4
G. verum	Вода очищена	20	6,02 ± 0,29

Продовж. табл. 4.5

1	2	3	4
G. verum	Вода очищена	30	8,87 ± 0,35
		45	8,90 ± 0,36
		60	8,92 ± 0,36
	Етанол 20 %	20	5,15 ± 0,25
		30	8,62 ± 0,30
		45	8,68 ± 0,32
		60	8,70 ± 0,32
	Етанол 60 %	20	5,12 ± 0,31
		30	8,04 ± 0,33
		45	8,11 ± 0,30
		60	8,12 ± 0,32
	Етанол 96 %	20	4,83 ± 0,25
		30	6,10 ± 0,27
		45	6,15 ± 0,30
		60	6,16 ± 0,31
G. aparine	Вода очищена	20	10,25 ± 0,45
		30	14,30 ± 0,67
		45	14,34 ± 0,64
		60	14,37 ± 0,60
	Етанол 20 %	20	8,82 ± 0,31
		30	12,07 ± 0,44
		45	12,11 ± 0,42
		60	12,13 ± 0,43
	Етанол 60 %	20	10,07 ± 0,59
		30	14,35 ± 0,65
		45	14,37 ± 0,62
		60	14,38 ± 0,59
	Етанол 96 %	20	5,44 ± 0,27
		30	8,61 ± 0,28
		45	8,64 ± 0,32
		60	8,65 ± 0,30

Результати дослідження свідчать, що при використанні води як розчинника за 30 хв. вилучається 99,44 % екстрактивних речовин із трави *G. verum* та 99,51 % із трави *G. aparine*; при використанні 20 % етанолу із трави *G. verum* вилучається 98,96 % екстрактивних речовин та із трави *G. aparine* 99,50 %; при використанні 60 % етанолу із трави *G. verum* вилучається 99,01 % екстрактивних речовин та із трави *G. aparine* 99,79 %; при використанні 96 % етанолу із трави *G. verum* вилучається 99,02 % екстрактивних речовин та із трави *G. aparine* 99,53 %. Отже, оптимальним часом екстракції для обох видів сировини і всіх використаних екстрагентів є 30 хв, оскільки із збільшенням часу екстракції збільшується кількість енерговитрат, а вихід екстрактивних речовин збільшується незначно.

4.2.3 Вплив кратності екстракції на вихід БАР

Для визначення оптимальної кількості екстракцій з метою максимального вилучення БАР із досліджуваної сировини здійснювали екстракцію за тих же умов, що і в п. 4.2.1. Процедуру повторювали по 6 разів для кожного екстрагенту.

4.2.3.1 Вплив кратності екстракції на вихід екстрактивних речовин

Вміст екстрактивних речовин визначали згідно з п. 2.2. Результати наведено в таблиці 4.6.

Таблиця 4.6

Залежність виходу екстрактивних речовин із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* від кратності екстракцій

ЛРС	Екстрагент	Злив	Сухий залишок, %
1	2	3	4
G. verum	Вода очищена	1	8,89 ± 0,29
		2	8,84 ± 0,32

Продовж. табл. 4.6

1	2	3	4
G. verum	Вода очищена	3	3,38 ± 0,35
		4	1,05 ± 0,09
		5	0,18± 0,03
		6	0,08 ± 0,01
	Етанол 20 %	1	8,62 ± 0,30
		2	6,40 ± 0,22
		3	4,92 ± 0,25
		4	1,00 ± 0,10
		5	0,15 ± 0,01
		6	0,06 ± 0,01
	Етанол 60 %	1	8,04 ± 0,33
		2	6,90 ± 0,26
		3	3,60 ± 0,15
		4	1,20 ± 0,05
		5	0,16 ± 0,02
		6	0,10 ± 0,01
	Етанол 96 %	1	6,10 ± 0,27
		2	5,00 ± 0,19
		3	2,70 ± 0,11
		4	0,80 ± 0,09
		5	0,13 ± 0,04
		6	0,10 ± 0,01
G. aparine	Вода очищена	1	14,30 ± 0,67
		2	9,70 ± 0,33
		3	4,38 ± 0,24
		4	0,95 ± 0,12
		5	0,55 ± 0,04
		6	0,13 ± 0,01

Продовж. табл. 4.6

1	2	3	4
G. aparine	Етанол 20 %	1	12,07 ± 0,44
		2	8,52 ± 0,21
		3	4,68 ± 0,20
		4	0,81 ± 0,07
		5	0,13 ± 0,02
		6	0,10 ± 0,01
	Етанол 60 %	1	14,35 ± 0,65
		2	7,24 ± 0,32
		3	3,04 ± 0,12
		4	0,88 ± 0,03
		5	0,13 ± 0,02
		6	0,11 ± 0,01
	Етанол 96 %	1	8,61 ± 0,28
		2	4,59 ± 0,24
		3	3,14 ± 0,22
		4	0,65 ± 0,10
		5	0,14 ± 0,03
		6	0,11 ± 0,01

Результати дослідження свідчать, що оптимальною для всіх розчинників є трикратна екстракція сировини (рис 4.1 – 4.2).

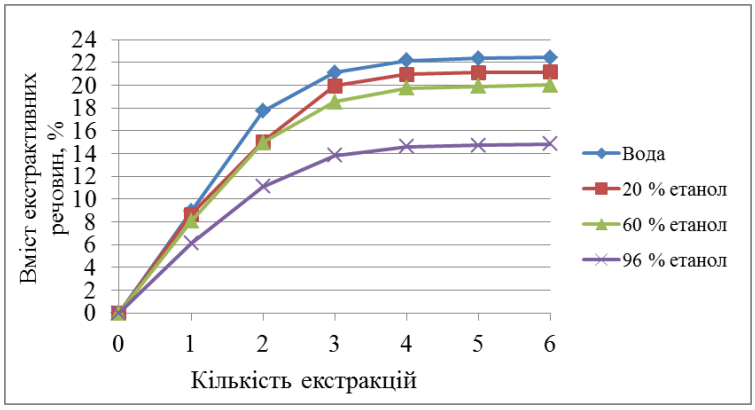


Рис. 4.1 Динаміка виходу екстрактивних речовин із трави *G. verum*

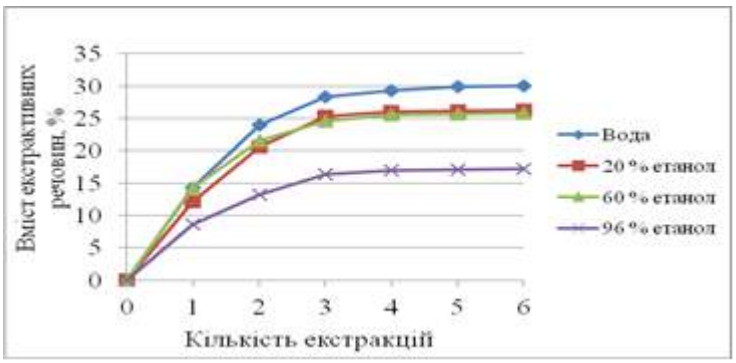


Рис. 4.2 Динаміка виходу екстрактивних речовин із трави *G. aparine*

Так, при екстрагуванні сировини водою за три екстракції сировини вилучається 94,16 % екстрактивних речовин із трави *G. verum* та 94,57 % із трави *G. aparine.* При екстрагуванні сировини 20 % етанолом за три екстракції вилучається 93,68 % екстрактивних речовин із трави *G. verum* та 96,05 % із трави *G. aparine.* При екстрагуванні сировини 60 % етанолом за три екстракції вилучається 92,70 % екстрактивних речовин із трави *G. verum* та 95,65 % із трави *G. aparine.* При екстрагуванні сировини 96 % етанолом за три екстракції вилучається 93,05 % екстрактивних речовин із трави *G. verum* та 94,78 % із трави *G. aparine* [46, 139]. Вихід екстрактивних речовин із трави *G. aparine* вищий, ніж із трави *G. verum.*

4.2.3.2 Вплив кратності екстракції на вихід ВРПС

Для дослідження динаміки виходу водорозчинних полісахаридів (ВРПС) у водному та водно-спиртовому (20 % етанол) витягах з досліджуваної сировини їх упарювали під вакуумом на ротаційному випарювачі до 1/3 об’єму. ВРПС висаджували з розчинів додаванням трикратного для трави *G. verum* та п’ятикратного для трави *G. aparine* об’єму 96 % етанолу (при меншому співвідношенні водного розчину і етанолу ВРПС випадають у вигляді смолистого осаду), відділяли центрифугуванням (10 хв. при 3000 об/хв.), промивали осад 96 % етанолом і знову центрифугували за

тих же умов. Після їх висушування визначали вміст у зливах гравіметрично (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

Залежність виходу ВРПС із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* від кратності екстракцій

ЛРС	Екстрагент	Злив	Вміст ВРПС, %
G. verum	Вода очищена	1	2,76 ± 0,12
		2	2,25 ± 0,10
		3	1,26 ± 0,09
		4	0,74 ± 0,02
		5	0,18 ± 0,02
		6	0,05 ± 0.01
	Етанол 20 %	1	1,51 ± 0,11
		2	0,54 ± 0,03
		3	0,33 ± 0,04
		4	0,19 ± 0,03
		5	0,10 ± 0,03
		6	0,03 ± 0,01
G. aparine	Вода очищена	1	4,73 ± 0,12
		2	3,01 ± 0,13
		3	1,89 ± 0,11
		4	0,58 ± 0,03
		5	0,15 ± 0,01
		6	0,10 ± 0,01
	Етанол 20 %	1	2,49 ± 0,10
		2	0,75 ± 0,03
		3	0,55 ± 0,02
		4	0,22 ± 0,01
		5	0,12 ± 0,01
		6	0,04 ± 0,01

Загальний вихід ВРПС із трави *G. verum* у водному витягу при здійсненні чотириразової екстракції становить 7,01 %, за 6 екстракцій – 7,24 %; у водно-спиртовому витягу при здійсненні чотириразової екстракції – 2,57 %, за 6 екстракцій – 2,70 % [19].

Загальний вихід ВРПС із трави *G. aparine* у водному витягу при здійсненні триразової екстракції становить 9,63 %, за 6 екстракцій – 10,46 %; у водно-спиртовому витягу при здійсненні триразової екстракції – 3,79 %, за 6 екстракцій – 4,17 % [32].

Результати дослідження свідчать, що трикратна екстракція водою дозволяє вилучити 86,64 % ВРПС із трави *G. verum*, чотириразова екстракція – 96,82 % (рис 4.3).

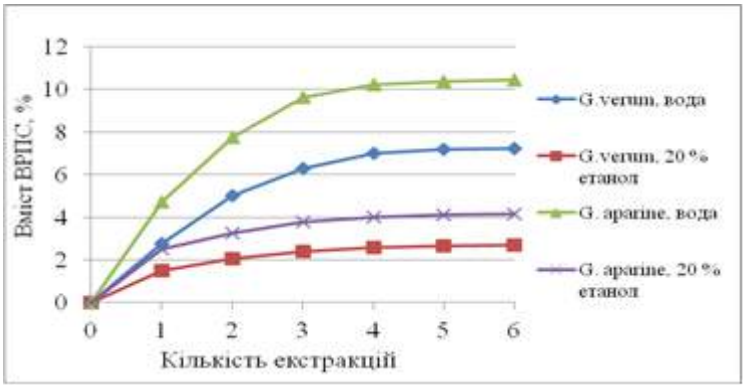


Рис. 4.3 Динаміка виходу ВРПС із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

При використанні 20 % етанолу трикратна екстракція дозволяє вилучити 88,15 % ВРПС з трави *G. verum*, чотириразова екстракція – 95,19 %. Для трави *G. aparine* трикратна екстракція водою дозволяє вилучити 92,07 % ВРПС, чотириразова екстракція – 97,61 %; з водно-спиртового витягу за три екстракції вилучається 90,89 % ВРПС, за чотири рази – 96,16 %. Тому для виділення ВРПС із трави *G. verum* оптимальною є чотириразова екстракція розчинниками, із трави *G. aparine* – триразова.

4.2.3.3 Вплив кратності екстракції на вихід фенольних сполук

Для встановлення динаміки виходу гідроксикоричних кислот,

флавоноїдів та суми поліфенольних сполук із досліджуваної сировини здійснювали екстракцію за тих же умов, що і в п. 4.2.1 в шести повторностях протягом 30 хв. кожну. Співвідношення сировина – екстрагент 1 : 10. Вміст сполук визначали згідно з п. 2.2 (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

Залежність виходу фенольних сполук із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* від кратності екстракцій

ЛРС	Екстрагент	Злив	Вміст гідроксикоричних кислот, %	Вміст флавоноїдів, %	Вміст суми поліфенольних сполук, %
1	2	3	4	5	6
G. verum	Вода очищена	1	1,22 ± 0,06	0,17 ± 0,007	1,52 ± 0,07
		2	1,48 ± 0,07	0,17 ± 0,007	1,61 ± 0,08
		3	0,54 ± 0,02	0,04 ± 0,001	0,53 ± 0,02
		4	0,22 ± 0,01	0,02 ± 0,001	0,21 ± 0,01
		5	0,12 ± 0,006	0,003*	0,10 ± 0,005
		6	0,09 ± 0,004	0,0012*	0,07 ± 0,003
	Етанол 20 %	1	0,87 ± 0,04	0,09 ± 0,004	1,22 ± 0,04
		2	1,42 ± 0,07	0,12 ± 0,006	1,73 ± 0,06
		3	0,79 ± 0,04	0,03 ± 0,001	0,95 ± 0,04
		4	0,24 ± 0,001	0,01 ± 0,001	0,23 ± 0,01
		5	0,10 ± 0,005	0,007*	0,12 ± 0,006
		6	0,02 ± 0,001	0,003*	0,03 ± 0,001
	Етанол 60 %	1	1,52 ± 0,07	0,11 ± 0,005	1,38 ± 0,06
		2	1,69 ± 0,08	0,09 ± 0,001	1,51 ± 0,06
		3	1,04 ± 0,05	0,03 ± 0,001	0,95 ± 0,04
		4	0,31 ± 0,01	0,025 ± 0,001	0,39 ± 0,01
		5	0,12 ± 0,005	0,010 ± 0,001	0,11 ± 0,005
		6	0,04 ± 0,002	0,006*	0,05 ± 0,002

Продовж. табл. 4.8

1	2	3	4	5	6
G. verum	Етанол 96 %	1	1,19 ± 0,05	0,08 ± 0,004	1,10 ± 0,05
		2	0,99 ± 0,04	0,06 ± 0,003	1,18 ± 0,04
		3	0,47 ± 0,02	0,043 ± 0,002	0,44 ± 0,02
		4	0,16 ± 0,008	0,015 ± 0,001	0,15 ± 0,005
		5	0,12 ± 0,005	0,01 ± 0,001	0,11 ± 0,005
		6	0,02 ± 0,001	0,003*	0,035 ± 0,001
G. aparine	Вода очищена	1	0,84 ± 0,04	0,11 ± 0,005	0,58 ± 0,03
		2	0,73 ± 0,04	0,13 ± 0,006	0,51 ± 0,02
		3	0,3 ± 0,01	0,023 ± 0,001	0,24 ± 0,01
		4	0,11 ± 0,005	0,01 ± 0,005	0,095 ± 0,004
		5	0,05 ± 0,002	0,005*	0,054 ±0,002
		6	0,04 ± 0,002	-	0,04 ± 0,002
	Етанол 20 %	1	0,83 ± 0,04	0,12 ± 0,05	0,75 ± 0,04
		2	0,76 ± 0,04	0,14 ± 0,05	0,61 ± 0,03
		3	0,33 ± 0,01	0,012 ± 0,005	0,31 ± 0,01
		4	0,10 ± 0,005	0,01 ± 0,005	0,11 ± 0,005
		5	0,04 ± 0,002	0,005*	0,03 ± 0,002
		6	0,02 ± 0,001	-	0,02 ± 0,001
	Етанол 60 %	1	1,09 ± 0,05	0,13 ± 0,005	0,74 ± 0,03
		2	0,65 ± 0,02	0,10 ± 0,001	0,44 ± 0,02
		3	0,23 ± 0,01	0,06 ± 0,003	0,17 ± 0,01
		4	0,11 ± 0,005	0,005*	0,10 ± 0,005
		5	0,09 ± 0,004	0,003*	0,07 ± 0,003
		6	0,05 ± 0,002	-	0,04 ± 0,002
	Етанол 96 %	1	0,79 ± 0,004	0,15 ± 0,07	0,63 ± 0,03
		2	0,41 ± 0,02	0,078 ± 0,004	0,33 ± 0,01
		3	0,29 ± 0,01	0,017 ± 0,001	0,18 ± 0,01
		4	0,09 ± 0,004	0,011 ± 0,001	0,08 ± 0,004
		5	0,05 ± 0,002	0,004*	0,04 ± 0,002
		6	0,03 ± 0,001	-	0,02 ± 0,001

Примітка. * – результат знаходиться за межами похибки методу; - результат негативний.

Як видно з результатів досліджень за час перших трьох екстракцій у водний витяг із трави *G. verum* вилучається 3,24 % гідроксикоричних кислот, що складає 88,28 % від їх загальної суми; при використанні у якості розчинника 20 % етанолу екстрагується 3,38 % гідроксикоричних кислот, що складає 90,37 % від їх загальної суми; при використанні 60 % етанолу – 4,25 %, що складає 90,04 % від їх загальної суми; при використанні 96 % етанолу – 2,65 %, що складає 89,83 % від їх загальної суми (рис. 4.4).

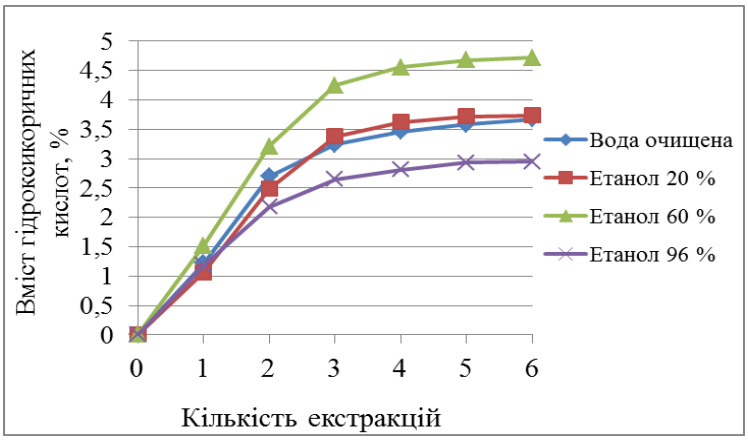


Рис. 4.4 Динаміка виходу гідроксикоричних кислот із трави *G. verum*

За час перших трьох екстракцій з трави *G. verum* вихід флавоноїдів у водному витягу складає 0,38 %, що становить 95,00 % від їх загального виходу; у водно-спиртовому (20 % етанол) витягу – 0,24 %, що становить 92,31 % від їх загального виходу; у водно-спиртовому (60 % етанол) витягу – 0,24 %, що складає 88,35 % від їх загального виходу; у спиртовому (96 % етанол) витягу – 0,18 %, що становить 86,73 % від їх загального виходу (рис. 4.5).

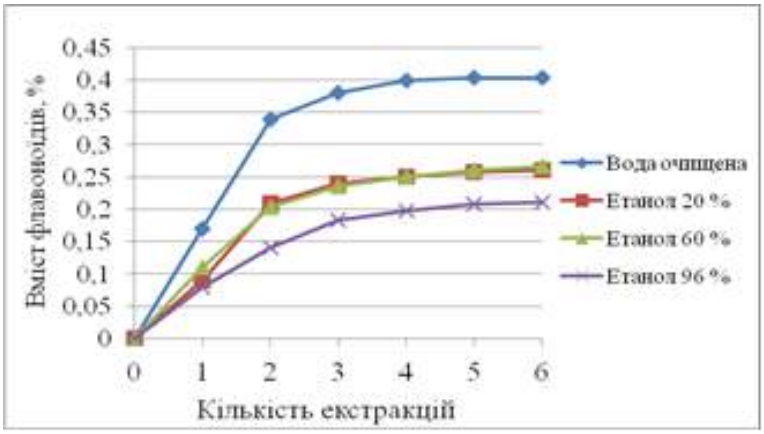


Рис. 4.5 Динаміка виходу флавоноїдів із трави *G. verum*

За час перших трьох екстракцій із трави *G. verum* у водному витягу вихід поліфенольних сполук складає 3,66 % , що становить 90,59 % від їх загальної суми; у водно-спиртовому (20 % етанол) витягу – 3,90 %, що становить 91,12 % від їх загальної суми; у водно-спиртовому (60 % етанол) – 3,84 %, що складає 87,47 % від їх загальної суми; у спиртовому (96 % етанол) витягу – 2,72 %, що становить 90,22 % від їх загальної суми (рис. 4.6).

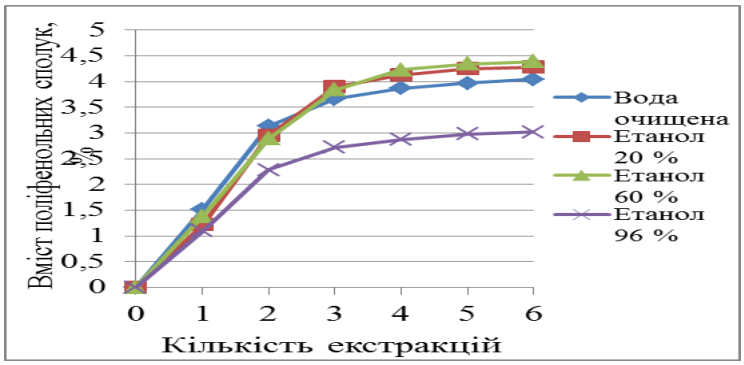


Рис. 4.6 Динаміка виходу суми поліфенольних сполук із трави *G. verum*

Для трави *G. aparine* у водний витяг за час перших трьох екстракцій вилучається 1,87 % гідроксикоричних кислот, що складає 90,33 % від їх загальної суми; у водно-спиртовий витяг (20 % етанол) – 1,92 %, що складає 92,30 % від їх суми; у водно-спиртовий витяг (60 % етанол) – 1,97 %, що складає 88,74 % від їх суми; у спиртовий витяг (96 % етанол) – 1,49 %, що складає 89,76 % від їх суми (рис. 4.7).

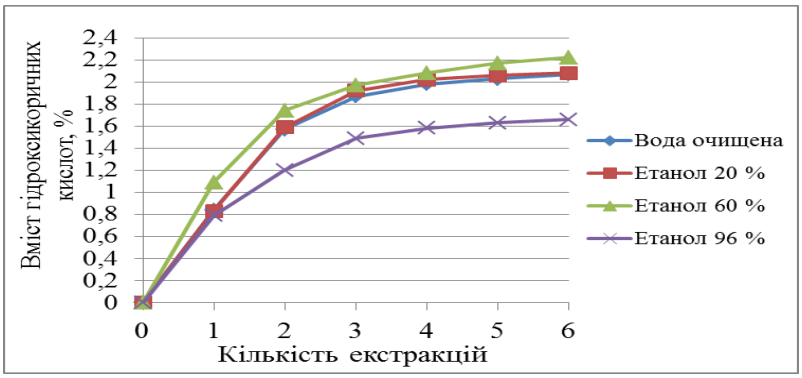


Рис. 4.7 Динаміка виходу гідроксикоричних кислот із трави *G. aparine*

За час перших трьох екстракцій із трави *G. aparine* вихід флавоноїдів у водному витягу складає 0,26 %, що становить 94,60 % від їх загального виходу;

у водно-спиртовому (20 % етанол) витягу – 0,27 %, що становить 94,77 % від їх загального виходу; у водно-спиртовому (60 % етанол) витягу – 0,29 %, що складає 97,31 % від їх загального виходу; у спиртовому (96 % етанол) витягу – 0,19 %, що становить 92,68 % від їх загального виходу (рис. 4.8).

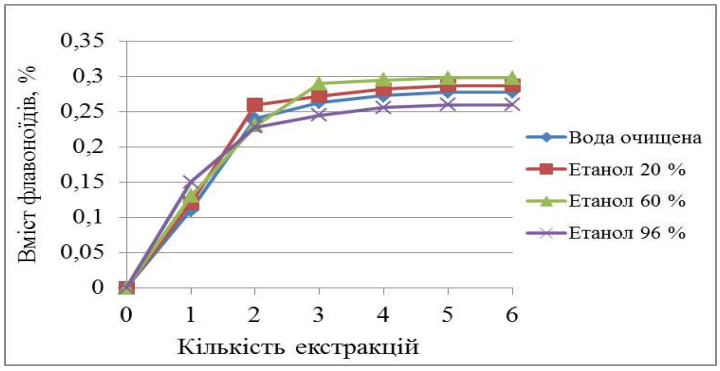


Рис. 4.8 Динаміка виходу флавоноїдів із трави *G. aparine*

За час перших трьох екстракцій із трави *G. aparine* у водному витягу вихід поліфенольних сполук складає 1,33 % , що становить 88,08 % від їх загальної суми; у водно-спиртовому (20 % етанол) витягу – 1,67 %, що становить 91,26 % від їх загальної суми; у водно-спиртовому (60 % етанол) – 1,35 %, що складає 86,54 % від їх загальної суми; у спиртовому (96 % етанол) витягу – 1,14 %, що становить 89,06 % від їх загальної суми (рис. 4.9).

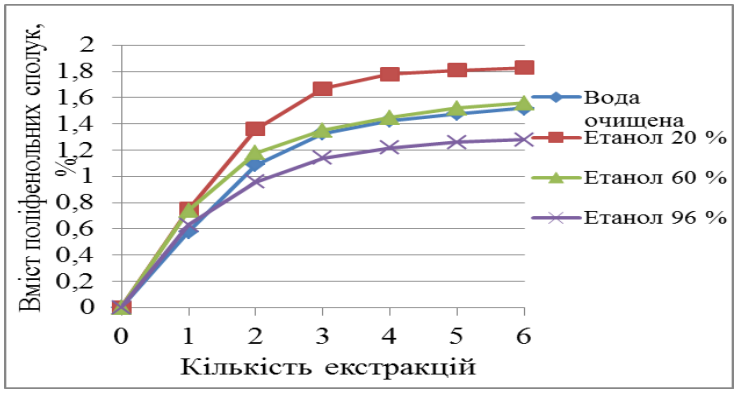


Рис. 4.9 Динаміка виходу суми поліфенольних сполук із трави *G. aparine*

Отже, трикратна екстракція сировини дозволяє вилучити з досліджуваної сировини в середньому близько 90 % фенольних сполук, тому вона є оптимальною.

4.3 Розробка технологічних схем одержання екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

На основі отриманих даних визначено оптимальні технологічні параметри виготовлення екстрактів рідких: ступінь подрібнення ЛРС 3-4 мм, співвідношення сировина-екстрагент 1 : 10, кількість екстракцій – 3 по 30 хв. кожна, метод екстрагування – мацерація при нагріванні на водяному нагрівнику; подальше концентрування розчину до співвідношення сировина – готовий продукт 1 : 1. Як екстрагенти використовували воду очищену, 20 %, 60 % та 96 % етанол (рис. 4.9).

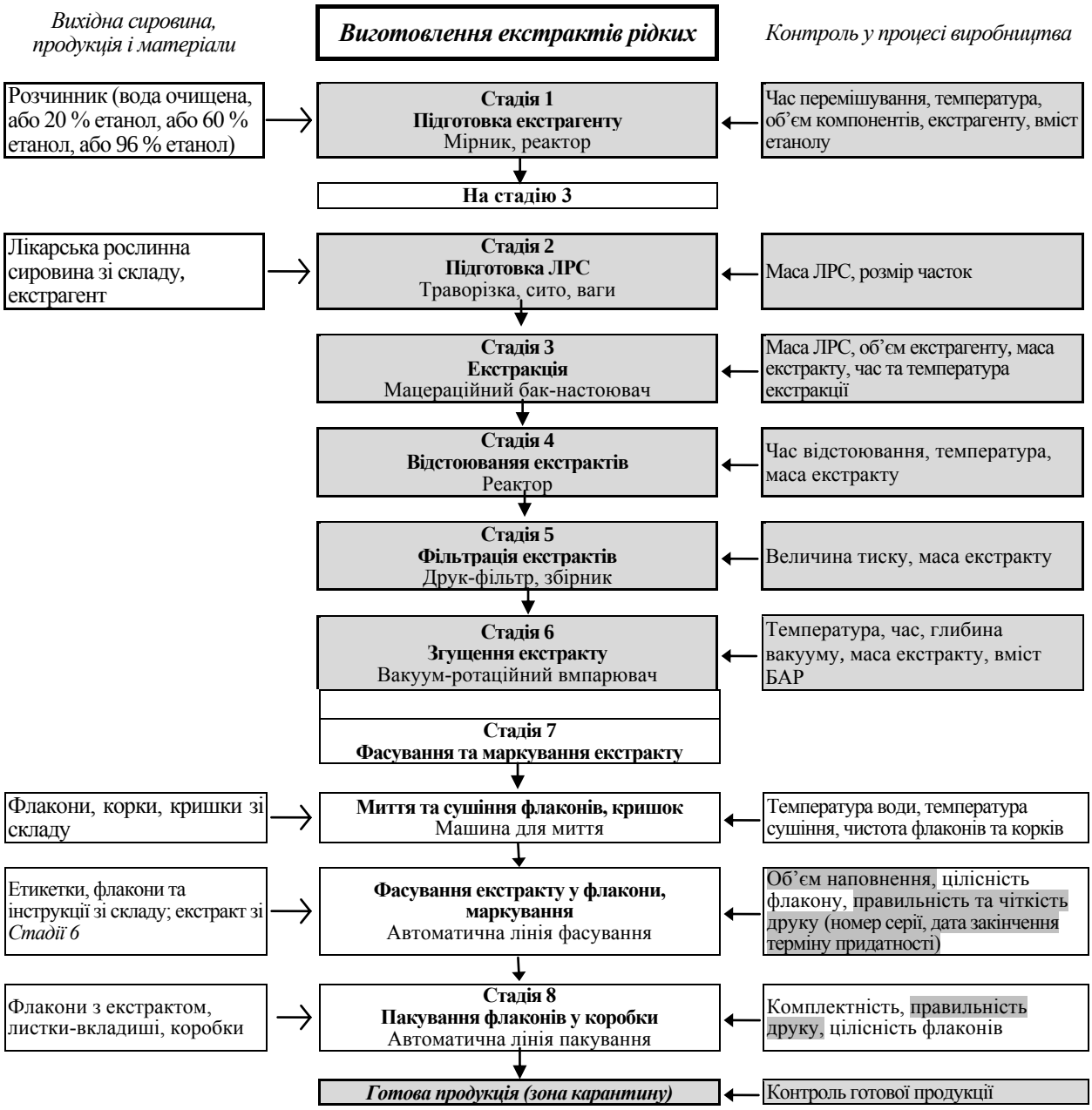


Рис. 4.9 Технологічна схема одержання екстрактів рідких із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

Одержані водні екстракти (під умовною назвою GV-V та GA-V) – це густі рідини темно-коричневого кольору; водно-спиртові (20 % та 60 % етанол, умовна назва GV-20, GV-60, GA-20 та GA-60) екстракти – густі рідини зелено-коричневого кольору; спиртові (96 % етанол, умовна назва GV-96 та GA-96) екстракти – густі рідини темно-зеленого кольору із специфічним запахом. З часом можливе випадіння осаду.

4.4 Визначення вмісту БАР у екстрактах із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

4.4.1 Визначення вмісту екстрактивних речовин

Визначення вмісту сухого залишку проводили гравіметричним методом відповідно до п. 2.2. Результати визначення вмісту сухого залишку в екстрактах з досліджуваної сировини наведено у таблиці 4.9.

Таблиця 4.9

Вміст сухого залишку в екстрактах із трави *G. verum* та *G. aparine*

(n = 6, P = 0,95)

ЛРС	Екстакт	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$
G. verum	GV-V	21,11 ± 1,05
	GV-20	19,94 ± 0,89
	GV-60	18,54 ± 0,92
	GV-96	13,80 ± 0,69
G. aparine	GA-V	28,39 ± 1,41
	GA-20	25,27 ± 1,26
	GA-60	24,63 ± 1,23
	GA-96	16,34 ± 0,81

У результаті досліджень встановлено, що в середньому вміст екстрактивних речовин суттєво більший у екстрактах із трави *G. aparine*, ніж

в аналогічних екстрактах із трави *G. verum*. Логічним є те, що найбільший вихід екстрактивних речовин відмічається у водних екстрактах (28,39 % для GA-V та 21,11 % для GV-V), найменший – у екстрактах, отриманих 96 % етанолом (16,34 % для GA-96 та 13,80 % для GV-96) [46, 137].

4.4.2 Визначення вмісту ВРПС

Визначення вмісту ВРПС проводили гравіметричним методом відповідно до п. 2.2. Результати визначення вмісту ВРПС в екстрактах з досліджуваної сировини наведено у табл. 4.10.

Таблиця 4.10

Вміст ВРПС в екстрактах із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

(n = 6, P = 0,95)

ЛРС	Екстракт	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$
G. verum	GV-V	6,23 ± 0,31
	GV-20	2,40 ± 0,12
G. aparine	GA-V	9,63 ± 0,48
	GA-20	3,27 ± 0,16

У результаті досліджень встановлено, що вміст ВРПС суттєво більший у екстрактах із трави *G. aparine*, ніж в екстрактах із трави *G. verum*. Логічним є те, що як розчинник для екстракції ВРПС найкращою є вода очищена (вихід ВРПС 9,63 % для GA-V та 6,23 % для GV-V) [19, 32].

4.4.3 Визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот

Визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот (у перерахунку на хлорогенову кислоту) проводили спектрофотометричним методом при λ = 327 нм відповідно до п. 2.2. Результати визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот в екстрактах з досліджуваної сировини наведено в таблиці 4.11.

Таблиця 4.11

Вміст суми гідроксикоричних кислот в екстрактах із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

(n = 6, P = 0,95)

ЛРС	Екстракт	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$
G. verum	GV-V	3,24 ± 0,21
	GV-20	3,38 ± 0,15
	GV-60	4,25 ± 0,21
	GV-96	2,65 ± 0,13
G. aparine	GA-V	1,87 ± 0,09
	GA-20	1,92 ± 0,08
	GA-60	1,97 ± 0,09
	GA-96	1,49 ± 0,07

У результаті досліджень встановлено, що в екстрактах із трави *G. verum* вміст суми гідроксикоричних кислот суттєво вищий, ніж в екстрактах із трави *G. aparine.* Найбільший вміст гідроксикоричних кислот відзначається у екстрактах, отриманих з використанням води очищеної та 60 % етанолу – 4,24 % у GV-V та 4,25 % у GV-60, 1,95 % у GA-V та 1,93 % у GA-60 % [20].

4.4.4 Визначення вмісту суми флавоноїдів

Визначення вмісту суми флавоноїдів (у перерахунку на рутин) проводили спектрофотометричним методом при $\lambda = 410$ нм відповідно до п. 2.2. Результати визначення вмісту суми флавоноїдів в екстрактах із досліджуваної сировини наведено у таблиці 4.12.

У результаті досліджень встановлено, що в екстрактах з трави *G. verum* вміст флавоноїдів дещо нижчий, ніж в екстрактах з трави *G. aparine.* Для *G. verum* найбільший вміст флавоноїдів відзначається у екстракті GV-V (0,38 %), найменший – у екстракті GV-96 (0,18 %).

Таблиця 4.12

Вміст суми флавоноїдів в екстрактах із трави *G. verum* та *G. aparine*

(n = 6, P = 0,95)

ЛРС	Екстракт	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$
G. verum	GV-V	0,38 ± 0,02
	GV-20	0,24 ± 0,01
	GV-60	0,24 ± 0,01
	GV-96	0,18 ± 0,01
G. aparine	GA-V	0,26 ± 0,01
	GA-20	0,27 ± 0,01
	GA-60	0,29 ± 0,01
	GA-96	0,19 ± 0,01

Для *G. aparine* найбільший вміст флавоноїдів відзначається у екстракті GA-V (0,31 %), найменший – у екстракті GA-96 (0,19 %).

4.4.5 Визначення вмісту суми поліфенольних сполук

Визначення вмісту суми поліфенольних сполук (у перерахунку на галову кислоту) проводили спектрофотометричним методом при λ = 270 нм відповідно до п. 2.2. Результати визначення вмісту суми поліфенольних сполук в екстрактах з досліджуваної сировини наведено у таблиці 4.13.

Таблиця 4.13

Вміст суми поліфенольних сполук в екстрактах із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

(n = 6, P = 0,95)

ЛРС	Екстракт	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$
1	2	3
G. verum	GV-V	3,66 ± 0,18

Продовж. табл. 4.13

1	2	3
	GV-20	3,90 ± 0,14
	GV-60	3,84 ± 0,19
	GV-96	2,72 ± 0,13
G. aparine	GA-V	1,33 ± 0,06
	GA-20	1,67 ± 0,08
	GA-60	1,35 ± 0,06
	GA-96	1,14 ± 0,05

У результаті досліджень встановлено, що в екстрактах з трави *G. verum* вміст суми поліфенольних сполук суттєво більший, ніж в екстрактах із трави *G. aparine.* Для *G. verum* найбільший вміст суми поліфенольних сполук відзначається у екстракті, отриманому з використанням 60 % етанолу та води очищеної (3,84 % та 3,66 % відповідно), найменший – у екстракті, отриманому з використанням 96 % етанолу (2,72 %). Для *G. aparine* найбільший вміст суми поліфенольних сполук встановлено у екстракті, отриманому з використанням 20 % етанолу (1,67 %), найменший – у екстракті, отриманому з використанням 96 % етанолу (1,14 %).

4.5 Дослідження БАР екстрактів

4.5.1 Дослідження ВРПС

Отримані з екстрактів GV-V та GA-V трави *G. verum* та *G. aparine* ВРПС представляють собою аморфні порошки світло-сірого кольору, розчинні у воді з утворенням опалесцюючих розчинів (pH 1 % водних розчинів знаходиться у межах 5,0 – 6,0), нерозчинні у органічних розчинниках; дають позитивні реакції з розчином нінгідрину (вільні амінокислоти), біуретовим реактивом (білок), розчином залізо-амонієвих галунів (дубильні речовини).

Втрату в масі при висушуванні та загальну золу встановлювали за методиками ДФУ (ст. 2.2.32 та 2.4.16) [11]. Вміст вологи у повітряно-сухому ВРПС з екстракту GV-V складає 7,52 %, з екстракту GA-V трави *G. aparine* – 7,16 %. Вміст ВРПС становить 29,51 % у складі екстрактивних речовин екстракту GV-V та 33,92 % у складі екстрактивних речовин екстракту GA-V (табл. 4.14) [19].

Таблиця 4.14

ВРПС у складі водних та водно-спиртових екстрактів

Екстракт	Вміст, %		Частка ВРПС у складі екстрактивних речовин, %
	Екстрактивні речовини	ВРПС	
GV-V	21,11	6,23	29,51
GV-20	19,94	2,40	12,03
GA-V	28,39	9,63	33,92
GA-20	25,27	3,27	12,94

Отримані з водно-спиртових (20 % етанол) екстрактів GV-20 та GA-20 ВРПС представляють собою аморфні порошки темно-сірого кольору, розчинні у воді з утворенням опалесцюючих розчинів (pH 1 % водних розчинів знаходиться у межах 5,0 – 6,0), нерозчинні у органічних розчинниках; дають позитивні реакції з розчином нінгідрину (вільні амінокислоти), біуретовим реактивом (білок), розчином залізо-амонієвих галунів (дубильні речовини). Вміст вологи у повітряно-сухому ВРПС з екстракту GV-20 складає 7,14 %, з GA-20 – 7,39 %. Вміст ВРПС становить 12,03 % у сухому залишку екстракту GV-20 та 12,94 % у сухому залишку екстракту GA-20.

Гідроліз ВРПС та їх хроматографічний аналіз проводили згідно з п. 2.2. При хроматографічному дослідженні гідролізатів було встановлено, що мономерний склад ВРПС в основному представлений *D*-галактозою, *L*-арабінозою, *D*-глюкозою та *L*-рамнозою.

В результаті ГХ-МС дослідження згідно з п. 2.2 у ВРПС *G. verum* та *G. aparine* було виявлено 10 сполук, з яких ідентифіковано 5 (рис. 4.10 – 4.11, табл. 4.15).

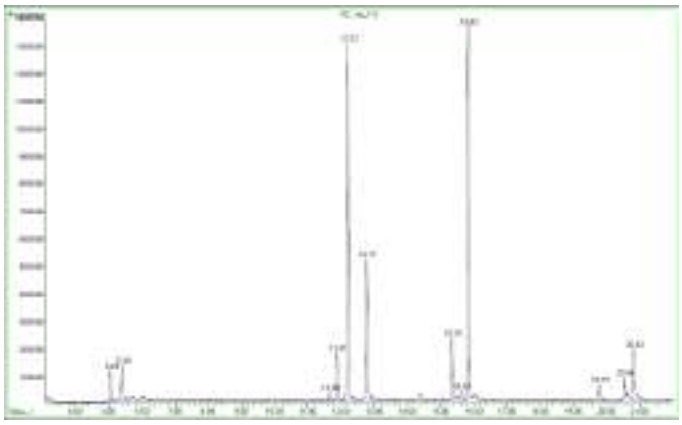


Рис. 4.10 Хроматограма альдонітрильних похідних моноцукрів *G. verum*

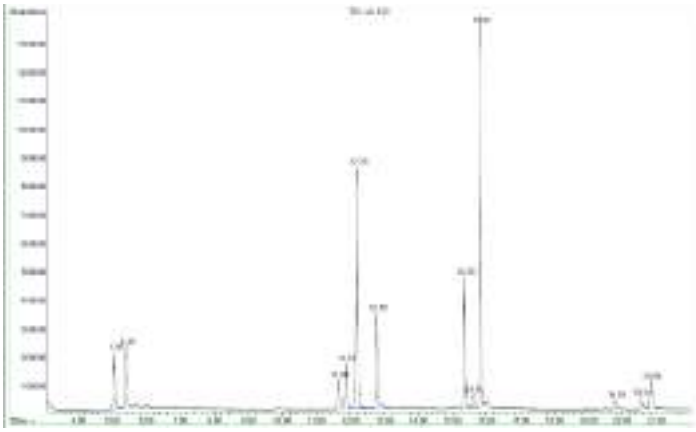


Рис. 4.11 Хроматограма альдонітрильних похідних моноцукрів *G. aparine*

Таблиця 4.15

Мономерний склад ВРПС *G. verum* та ВРПС *G. aparine*

Моносахарид	Час утрим., хв	Вміст у ВРПС, мг/г	
		C. verum	*G. aparine*
1	2	3	4
Рамноза	5,0546/5,063	5,77 ± 0,12	2,72 ± 0,09
Арабіноза	5,3945/5,403	6,46 ± 0,14	3,17 ± 0,12
Не ідентифік.	11,6378/11,6547	4,19 ± 0,10	1,07 ± 0,04

Продовж. табл. 4.15

1	2	3	4
Манноза	11,8673/11,8714	5,37 ± 0,14	4,81 ± 0,14
Глюкоза	12,1988/12,2157	26,39 ± 0,17	34,99 ± 0,15
Галактоза	12,764/12,7724	9,82 ± 0,13	13,95 ± 0,13
Не ідентифік.	15,348/15,3479	12,12 ± 0,15	5,24 ± 0,10
Манітол	15,6115/15,6114	ізомер внутрішнього стандарту	ізомер внутрішнього стандарту
Сорбітол	15,824/15,8282	внутрішній стандарт	внутрішній стандарт
Не ідентифік.	19,785/19,7849	1,04 ± 0,03	1,62 ± 0,04
Не ідентифік.	20,5457/20,5371	1,66 ± 0,04	1,06 ± 0,02
Не ідентифік.	20,839/20,8219	5,50 ± 0,90	7,35 ± 0,08
Разом		78,32	75,98

Встановлено, що у мономерному складі ВРПС обох видів домінують глюкоза та галактоза.

Визначення вмісту моноцукрів у гідролізатах ВРПС проводили методом спектрометрії після реакції з пікриновою кислотою при λ=463 нм у перерахунку на глюкозу [30]. В результаті спектрофотометричного визначення вмісту відновлюваних моноцукрів після гідролізу ВРПС встановлено, що їх частка у ВРПС складає 54,7 % для ВРПС, отриманого з водного екстракту GV-V та 59,4 % для ВРПС, отриманого з водно-спиртового екстракту GV-20; 48,5 % для ВРПС, отриманого з водного екстракту GA-V та 52,8 % для ВРПС, отриманого з водно-спиртового екстракту GA-20 трави *G. aparine* (табл. 4.16).

Отже, встановлено, що вміст відновлюваних моноцукрів у ВРПС, отриманих з водно-спиртових витягів сировини вищий для обох видів, ніж у ВРПС, отриманих з водних екстрактів; вміст ВРПС у екстрактах з трави *G. aparine* дещо нижчий, ніж у ВРПС з *G. verum.*

Таблиця 4.16

Вміст моноцукрів у ВРПС екстрактів трави *G. verum* та трави *G. aparine*

Екстракт	Вміст, %
GV-V	54,70 ± 2,73
GV-20	59,40 ± 2,90
GA-V	48,50 ± 2,41
GA-20	52,80 ± 2,62

Амінокислоти у ВРПС вивчалися відповідно до п. 2.2. При дослідженні амінокислот у ВРПС екстрактів GV-V та GA-V було виявлено 19 аміноксилот, 9 з яких є незамінними (рис. 4.12-4.14, табл. 4.17).

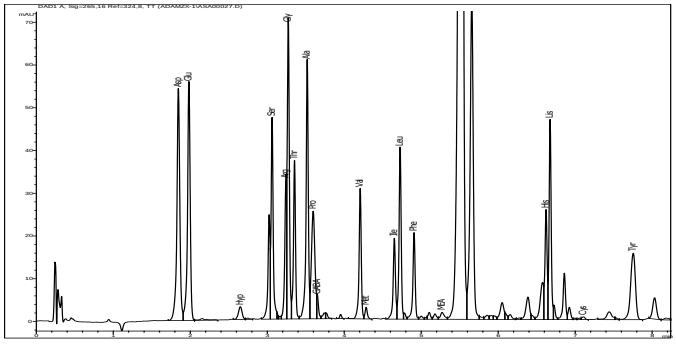


Рис. 4.12 Хроматограма амінокислот ВРПС екстракту GV-V

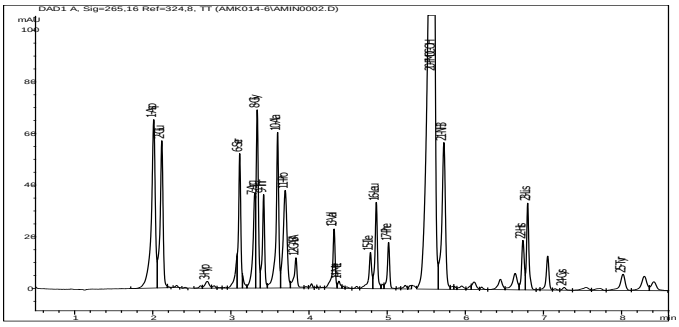


Рис. 4.13 Хроматограма амінокислот ВРПС екстракту GA-V

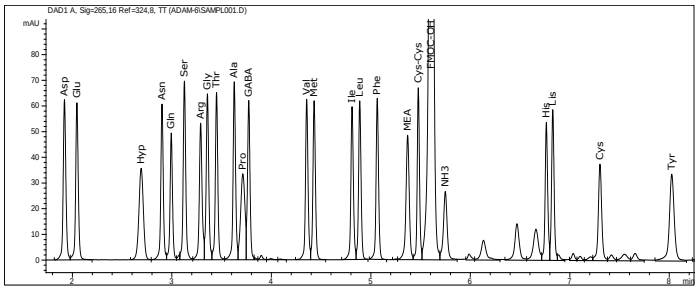


Рис. 4.14 Хроматограма стандартних зразків амінокислот

Таблиця 4.17

Амінокислоти ВРПС екстрактів GV-V та GA-V

Амінокислота	Час утрим., хв	Вид, вміст амінокислот в мг/100 г субстанції	
		G. verum	*G. aparine*
Аспарагінова	1.09/2.01	476,1	511,3
Глутамінова	2.01/2.11	513,4	445,7
4-Гідроксипролін	2.70	33,8	26,1
Серин	3.11	240,4	200,8
Аргінін*	3.30	279,7	268,1
Гліцин	3.34	235,5	218,5
Треонін*	3.42	211,2	192,4
Аланін	3.57/3.60	277,2	250,6
Пролін	3.60/3.70	271,1	351,1
γ-Аміномасляна	3.70/3.84	23,7	71,1
Валін*	4.20/4.33	185,2	108,9
Метіонін*	4.32/4.39	23,3	23,7
Ізолейцин*	4.70/4.79	138,8	95,2
Лейцин*	4.75/4.86	285,5	232,3
Фенілаланін*	4.92/5.02	185,1	132,7
Гістидин*	6.01/6.74	121,1	98,9
Лізин*	6.68/6.80	179,3	118,7
Цистеїн	7.14/7.27	4,9	5,6
Тирозин	7.79/8.02	160,7	61,9
Незамінні амінокислоти		1609,2	1270,9
Замінні амінокислоти		2236,8	2142,7
Сума		3846,0	3413,6

Примітка. * – незамінна амінокислота.

Амінокислотний склад ВРПС водних екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* подібний. Домінуючими амінокислотами є аспарагінова та глутамінова. Суттєво відрізняється віст *γ*-аміномасляної кислоти, валіну, лейцину, фенілаланіну та тирозину у досліджуваних субстанціях.

При дослідженні золи загальної у ВРПС визначено, що її вміст у ВРПС з екстракту GV-V становить 14,82 %, у ВРПС з екстракту GA-V – 13,55 %.

Елементний склад ВРПС визначали методом атомно-емісійною спектроскопії, заснованої на повному випаровуванні речовини в розряді дуги перемінного току (джерело збудження – ІВС-28) та реєстрації випромінювання спектрографом ДФС-8 [29] (табл. 4.18, рис. 4.15 – 4.16).

Таблиця 4.18

Елементний склад ВРПС екстрактів GV-V та GA-V

Вміст елементу, мг/100 г														
K	Na	Ca	Mg	Mn	Si	P	Fe	Al	Pb	Cu	Zn	Ni	Mo	Sr
G. verum														
6650	240	2380	715	83	2140	1900	215	355	4,7	1,1	14,2	0,23	0,23	23,8
G. aparine														
8000	480	200	1000	5,6	2800	1000	4,0	4,0	< 0,03	0,6	36	< 0,03	0,72	10

Примітка: Co < 0,03; Cd < 0,01; As < 0,01; Hg < 0,01.

У досліджуваних ВРПС ідентифіковано і визначено вміст 15 елементів. Серед них 6 макро- (K, Na, Ca, Mg, Si та P) і 9 мікроелементів (Fe, Al, Mn, Cu, Zn, Ni, Mo, Pb та Sr) (рис. 4.15 – 4.16) [19, 22].

Домінуючими елементами є K, Ca, Si та P у ВРПС екстракту *G. verum* та K, Si, Mg та P у ВРПС екстракту *G. aparine*.

ВРПС з екстракту *G. aparine* у елементному складі має суттєво вищий вміст K, Si, Mg та Na, і майже в 10 разів менший вміст Ca, ніж ВРПС з екстракту *G. verum*.

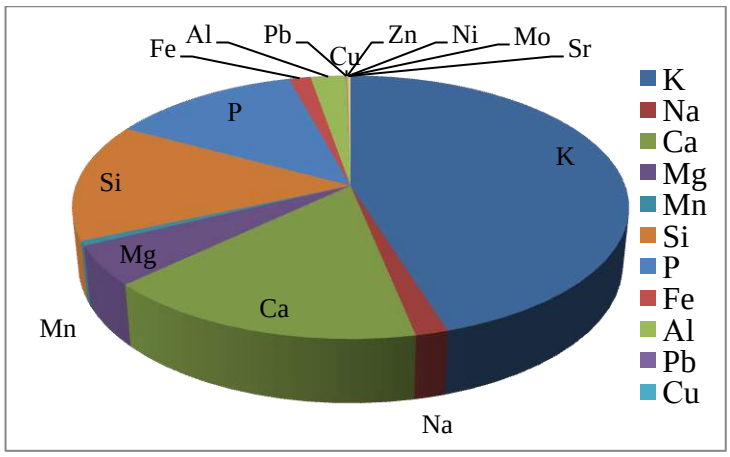


Рис. 4.15 Елементний склад ВРПС екстракту *G. verum*

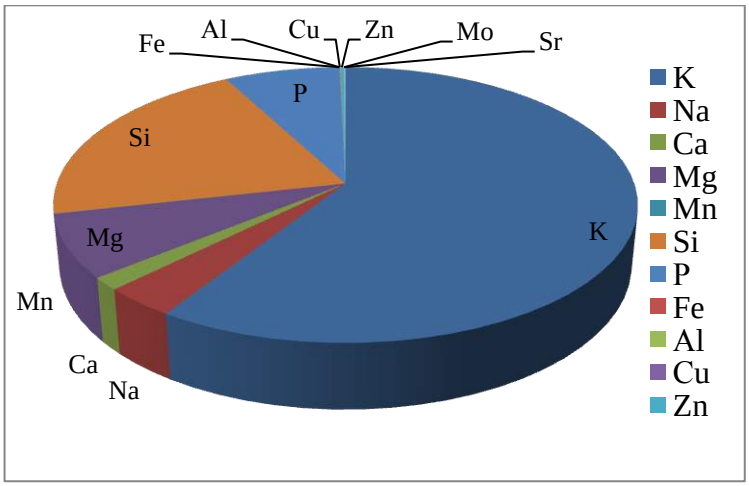


Рис. 4.16 Елементний склад ВРПС екстракту *G. aparine.*

Вміст важких металів знаходиться у межах допустимих концентрацій.

4.5.2 Дослідження фенольних сполук екстрактів

Дослідження фенольних сполук проводили у екстрактах з трави *G. verum,* та *G. aparine,* отриманих шляхом екстрагування 60 % етанолом (умовна назва GV-60 та GA-60). Отримані рідкі екстракти є густими рідинами зелено-коричневого кольору зі специфічним запахом. Із часом можливе випадіння осаду.

Методом ВЕРХ у досліджуваних екстрактах достовірно ідентифіковано по 11 сполук фенольної природи, з них 5 гідроксикоричних кислот і 6 флавоноїдів (рис. 4.17 – 4.18, табл. 4.19).

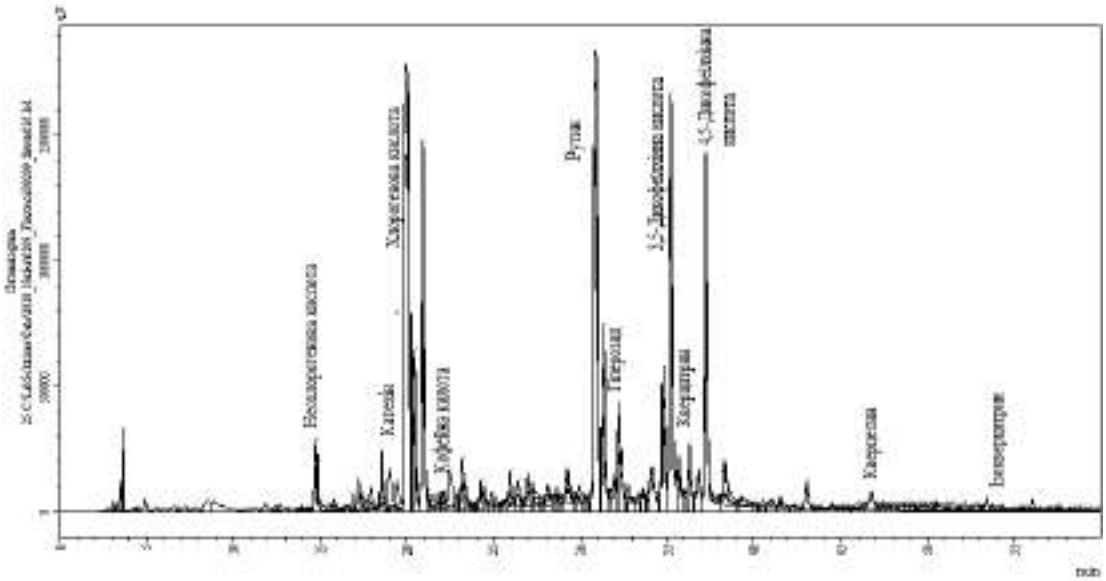


Рис. 4.17 ВЕР-хроматограма фенольних сполук екстракту GV-60

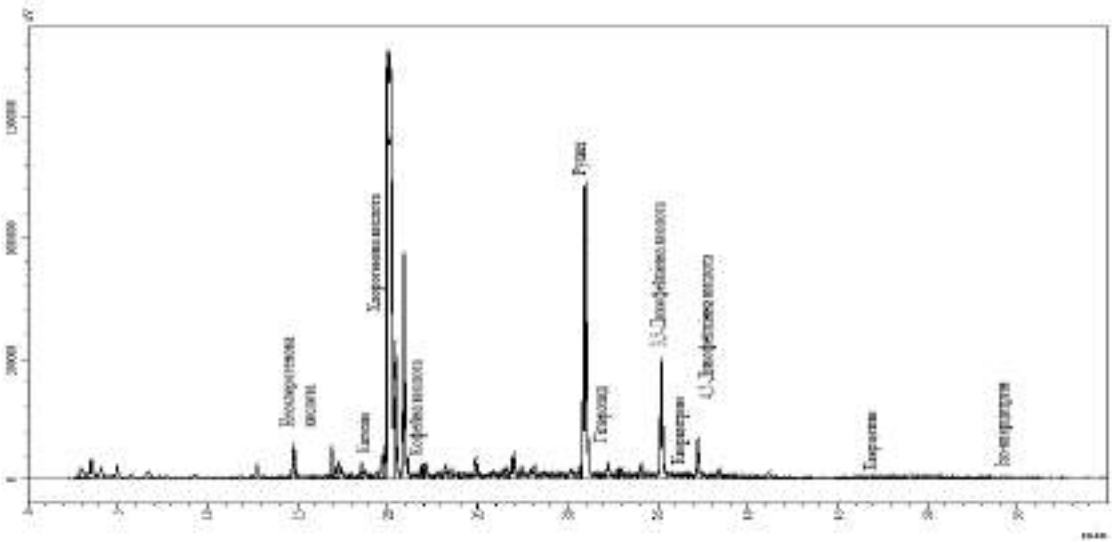


Рис. 4.18 ВЕР-хроматограма фенольних сполук екстракту GA-60

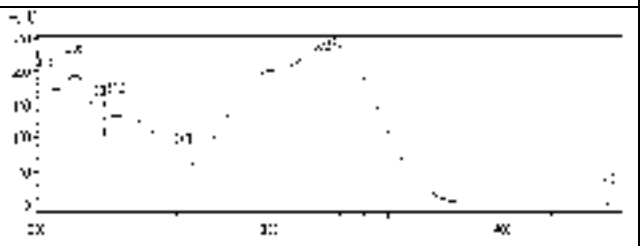
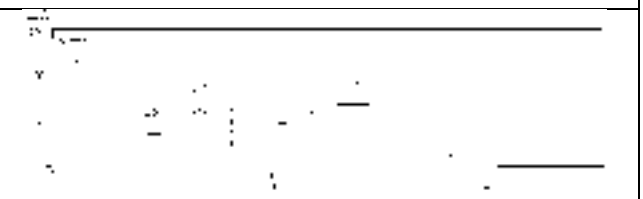
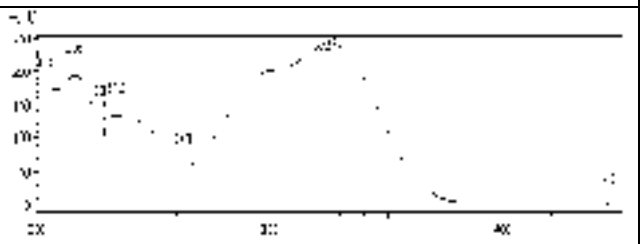
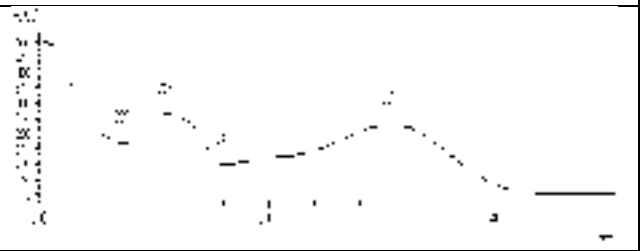
Окрім достовірно ідентифікованих фенольних сполук також встановлено за характерними УФ-спектрами наявність похідних хлорогенової кислоти з часом утримування 20,5-21 хв.

Сумарний вміст ідентифікованих гідроксикоричних кислот для екстракту з трави *G. verum* складає 5,60 мг/мл, для екстракту з трави *G. aparine* – 1,53 мг/мл. Сумарний вміст ідентифікованих флавоноїдів для

екстракту з трави *G. verum* складає 6,26 мг/мл, для екстракту з трави *G. aparine* – 3,28 мг/мл [42, 168, 195].

Таблиця 4.19

Фенольні сполуки рідких екстрактів GV-60 та GA-60

Сполука	Час утр., хв	Вміст у екстракті, мг/мл		УФ-спектр
		G. verum	*G. aparine*	
1	2	3	4	5
Неохлорогенова кислота *	14.8-15.0	0,21 ± 0,01	0,11 ± 0,01	
Катехін	19.4	0,35 ± 0,01	0,13 ± 0,01	
Хлорогенова кислота	20.0-20.4	2,53 ± 0,08	0,78 ± 0,01	
Кофейна кислота	21.8-22.0	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	
Рутин	30.9-31.0	4,18 ± 0,03	1,89 ± 0,02	

Продовж. табл. 4.19

1	2	3	4	5
Гіперозид	31.8-32.4	0,99 ± 0,01	0,31 ± 0,01	
3,5-Дикофеїлхінна кислота *	35.0	1,60 ± 0,03	0,48 ± 0,01	
Кверцитрин	35.5-35.9	0,58 ± 0,01	0,02 ± 0,01	
4,5-Дикофеїлхінна кислота *	37.0	1,23 ± 0,02	0,13 ± 0,01	
Кверцетин	46.6-47.2	0,15 ± 0,01	0,03 ±0,01	
Ізокверцитрин	54.0	0,01	0,002	

Примітка. * – визначено у перерахунку на хлорогенову кислоту у зв’язку з відсутністю стандартних зразків.

Домінуючою сполукою серед флавоноїдів для обох досліджуваних екстрактів є рутин, серед гідроксикоричних кислот – хлорогенова кислота.

Але вміст рутину у екстракті з трави *G. verum* у 2,4 рази більший ніж у екстракті з трави *G. aparine,* вміст хлоргенової кислоти у екстракті з трави *G. verum* у 3,4 рази більший ніж у екстракті з трави *G. aparine.*

Отримані дані узгоджуються з попередніми дослідженнями стосовно присутності хлорогенової, 3,5-, 4,5-дикофеїлхінних кислот, рутину та кверцетину у водно-спиртовому екстракті з трави *G. verum* [26]. Проте, наявність інших виявлених у водно-спиртовому екстракті з трави *G. verum* сполук раніше встановлено не було. Для трави *G. verum* всі ідентифіковані методом ВЕРХ сполуки не є новими. Екстракти з трави *G. aparine* раніше не отримувались. Тому для водно-спиртового екстракту з трави *G. aparine* всі сполуки виявлено вперше. Для трави *G. aparine* вперше встановлено наявність кверцитрину, неохлорогенової, 3,5-дикофеїлхінної та 4,5-дикофеїхінної кислот.

При хроматографічному дослідженні екстракту трави *G. aparine* не виявлено апігенін та кемпферол, що підтверджує дані попередніх дослідників рослинної сировини підмаренника чіпкого [83].

4.5.3 Дослідження сполук методом УЕРХ-МС

Екстракти *G. aparine,* отримані за розробленою технологією, упарювали до сухого залишку, який розчиняли в метанолі або суміші метанол-вода до отримання кінцевої концентрації 10 мг/мл. Зразки фільтрували через шприцевий фільтр з діаметром отворів 0,45 мкм. Дослідження проводили згідно з п. 2.2.

Сполуки 4, 6, 7, 10, 12 – 14 показали характерні максимуми поглинання при 240, 325 нм з плечем при 300 нм, що характерно для похідних кофейної кислоти (рис. 4.19, табл. 4.20). На основі спостереження за закономірностями їх фрагментації та після порівняння з наявними хімічними стандартами вони були визначені як хлорогенові кислоти (сполуки 4, 6, 7, M-H при m/z = 353 в MS-) та дикофеїлхінні кислоти (сполуки 12-14, M-H при m/z = 515 в MS-). Сполуку 3 було ідентифіковано як просту фенольну кислоту (*n*-гідроксибензойну кислоту).

Таблиця 4.20

Дані UHPLC-DAD-MS/MS сполук, виявлених в екстрактах *G. aparine*

Пік, №	Сполука	Час утрим., хв.	UV [nm]	[M-H]- m/z	MS^2 іони	[M+H]- +m/z	MS^3 іони	Вміст у екстракті, мкг/мл			
								GA-V	GA-20	GA-60	GA-96
1	2	3	4	56	6	7	8	9	10	11	12
1	Монотропеїн[t]	2,1	237	389	369, 227, 209[b], 183, 137	381	183, 165, 153b, 137	5,27 ± 0,16	4,08 ± 0,10	3,55 ± 0,06	1,53 ± 0,02
2	10-Деацетил-асперулозидова кислота[t]	3,7	237	389	227[b], 209, 183	381	183b, 165	1,96 ± 0,03	3,66 ±	2,12 ± 0,07	1,03 ± 0,02
3	*п*-Гідроксибензойна кислота[s]	5,9	259, 294	153	-	155	-	-	н.в.	н.в.	н.в.
4	3-О-Кофеїлхінна кислота[s]	9,7	217, 241, 300[sh], 324	353	191[b], 179, 161	355	163[b]	1,05 ± 0,02	8,91 ± 0,09	3,72 ± 0,12	0,53 ± 0,03
5	Асперулозидова кислота[t]	14,0	235	431	371, 269, 251[b], 165	433	225, 165b	0,52 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,32 ± 0,01
6	5-О-Кофеїлхінна кислота[s]	16,2	219, 241, 299[sh], 325	353	191[b], 179	355	179b, 164	4,87 ± 0,08	18,44 ± 0,21	31,51 ± 0,19	40,61 ± 0,12
7	4-О-Кофеїлхінна кислота[s]	18,2	217, 241, 300[sh], 325	353	191, 179, 173[b]	355	337, 307, 163[b]	1,14 ± 0,02	8,12 ± 0,03	4,75 ± 0,08	1,16 ± 0,02

Продовж. табл. 4.20

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
8	Кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозид[s]	23,1	255, 263[sh], 353	771	609[b], 301	773	627, 611, 465[b], 303	0,10 ± 0,003	3,35 ± 0,10	2,95 ± 0,05	1,50 ± 0,02
9	Кверцетин-3-О-рамноглюкозид (рутин)[s]	36,9	255, 262[sh], 354	609	591, 301[b], 179	611	465, 303[b]	0,06 ± 0,002	1,08 ± 0,05	2,49 ± 0,03	6,33 ± 0,07
10	Кофейної кислоти похідне	38,0	254, 299[sh], 327	381	207, 191, 179[b], 135	383	365, 163[b]	-	-	-	н.в.
11	Ізорамнетин-3-О-глюкорамнозид[s]	40,4	259, 260[sh], 350	615	609[b], 542, 461, 313	617	-	-	н.в.	н.в.	-
12	3,4-О-Дикофеїлхінна кислота[s]	42,9	239, 300[sh], 324	515	353[b], 255, 173[b]	517	499[b], 317, 163	0,10 ± 0,004	н.в.	н.в.	-
13	3,5-О-Дикофеїлхінна кислота[s]	43,8	240, 299[sh], 324	515	353, 233, 191[b], 179	517	499[b], 147	0,09 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,42 ± 0,08	2,43 ± 0,11
14	4,5-О-Дикофеїлхінна кислота[s]	47,9	240, 300[sh], 325	515	515, 353[b], 299, 255, 203	517	499, 335[b], 278	-	н.в.	н.в.	н.в.

Примітка: s – проведено порівняння з хімічним стандартом, b – основний пік (найпоширеніший іон у зареєстрованому спектрі), sh- плече, t – орієнтовна ідентифікація, «-» – сполуку не виявлено, н.в. – вміст не визначено.

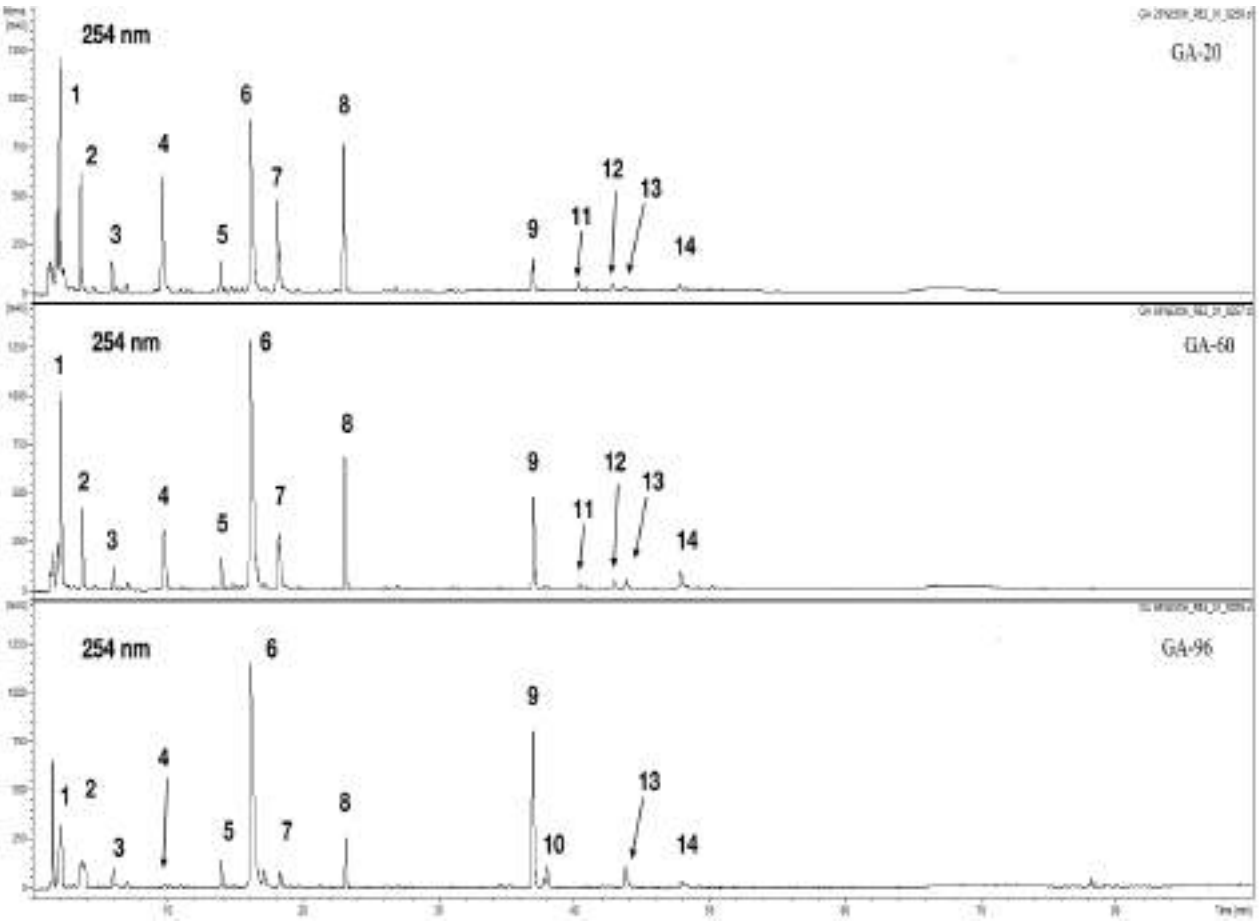


Рис. 4.19 Хроматографічні профілі рідких екстрактів з трави *G. aparine*

Сполука 10, присутня лише в екстракті, отриманому з використанням 96% етанолу (GA-96), є похідними кофейної кислоти, але подальша ідентифікація була неможлива через відсутність додаткових даних.

Речовини 8, 9 і 11 були ідентифіковані як флавоноїди з типовими максимумами поглинання, що спостерігаються приблизно при 255, 260 та 350 нм. Сполуку 9 визначено (M-H при m/z = 609, фрагментоване до 301 amu в режимі негативного іона) як популярне похідне кверцетину – рутин. Ця сполука раніше була описана у траві *G. aparine* та інших видах, що належать до роду *Galium* [81, 83]. Речовина 11 демонструвала більш високу молекулярну масу з псевдомомолекулярним іоном при m/z = 615 в MS-. Фрагментація показала легке розщеплення метильної групи MH-15 при m/z = 609 та наявність фрагменту аглікону в спектрі фрагментації при m/z = 315. Порівняння, проведене з наявними хімічними стандартами, призвело до

ідентифікації сполуки 11 як ізорамнетину-3-О-рамноглюкозиду. Речовину 8 також було визначено як похідне кверцетину завдяки наявності іону фрагменту аглікону при m/z = 301 в MS-. Молекулярна маса 772 amu та структури фрагментації в MS- та MS+ дають підстави вважати, що ця сполука складається з кверцетину, пов'язаного з 2 залишками глюкози та 1 рамнози, що відповідає кверцетину-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозиду.

Сполуки 1, 2 і 5 демонструють однаковий максимум поглинання приблизно при 235 нм. На підставі мас-спектрів молекулярні маси 390 amu були підтверджені для речовин 1 і 2, 432 amu – для речовини 5. Після порівняння з літературними даними сполуки були охарактеризовані як іридоїдні глікозиди. Сполуки 1 і 2 мали однакові молекулярні маси, і їх попередньо було ідентифіковано як монотропеїн та 10-деацетиласперулозидову кислоту відповідно. Речовину 5 було ідентифіковано як асперулозидову кислоту.

n-Гідроксибензойну кислоту, 3-О- та 4-О-кофеїлхінні кислоти, кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозид, ізорамнетин-3-О-глюкорамнозид, 3,4-, 3,5- та 4,5-О-дикофеїлхінні кислоти в траві *G. aparine* виявлено вперше. Кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозид вперше виявлено для роду *Galium*.

4.5.4 Дослідження сапонінів екстрактів

Дослідження сапонінів проводили в рідких екстрактах, отриманих з використанням 96 % етанолу (GV-96 та GA-96) згідно з п. 2.2.

Отримані рідкі екстракти є густими рідинами темно-зеленого кольору зі специфічним запахом. При зберіганні можливе випадіння осаду.

При хроматографічному аналізі сапонінів у екстракті GV-96 виявлено 26 сапонінів, з яких ідентифіковано 7, у екстракті GA-96 – 20 сапонінів, з яких ідентифіковано 6 (рис. 4.20 – 4.21, табл. 4.21).

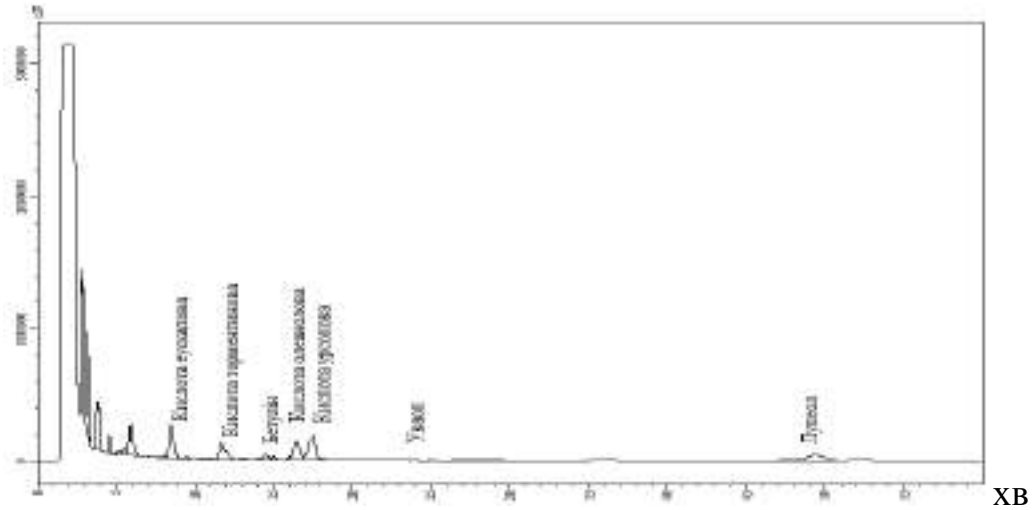


Рис. 4.20 Схема хроматограми сапонінів екстракту GV-96

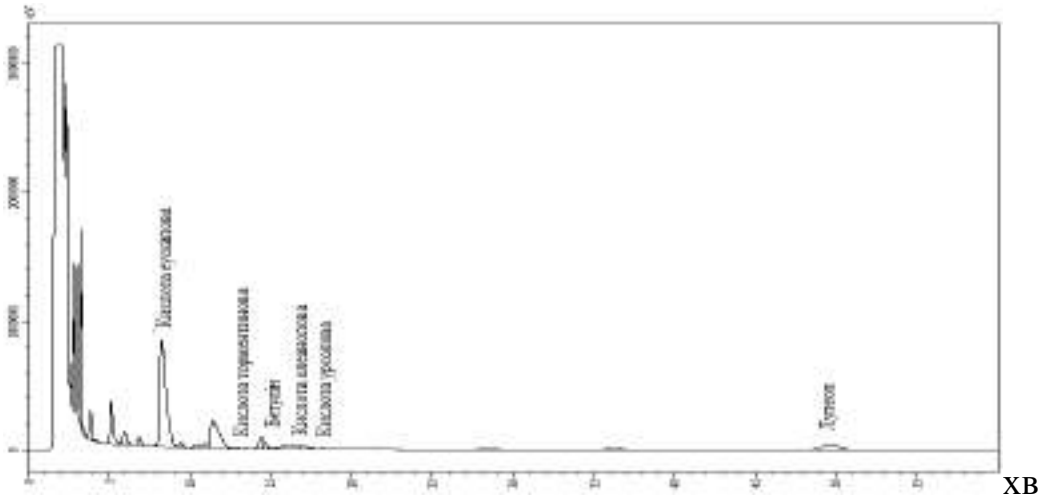


Рис. 4.21 Схема хроматограми сапонінів екстракту GA-96

Хроматографічне розділення олеанолової та урсолової кислот часто ускладнене подібністю їх хімічної структури. На цій підставі було підібрані оптимальні умови хроматографування та тип стаціонарної колонкової фази, які дозволили досягти показника розділення даних пентациклічних тритерпенових кислот близько 1,2. Час утримування олеанолової кислоти становив 16,247 хв, урсолової кислоти – 17,288 хв (рис. 4.22).

В результаті проведених досліджень у рідких спиртових екстрактах трави *G. verum* та трави *G. aparine* ідентифіковано та встановлено вміст 7 та 6 сапонінів відповідно (табл. 4.21).

u >

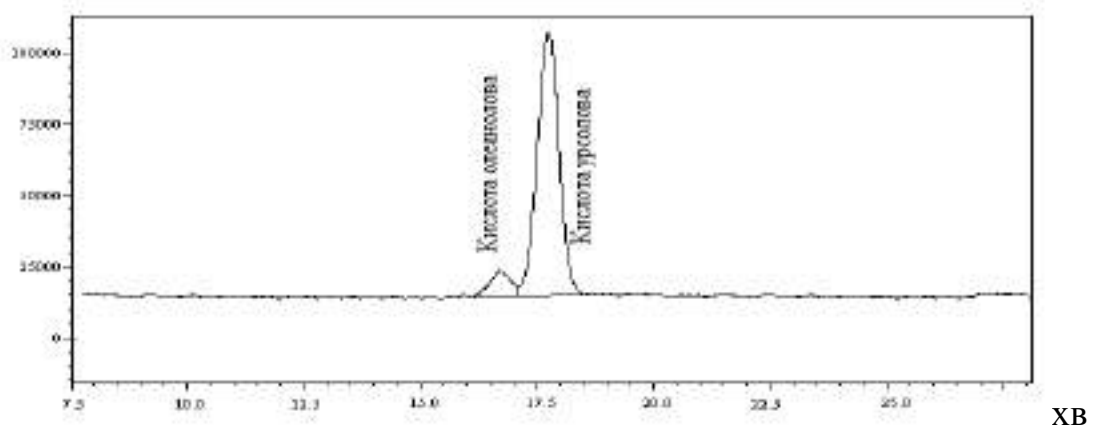


Рис. 4.22 Типова хроматограма суміші сполук-стандартів кислоти урсолової та кислоти олеанолової для розділення

Таблиця 4.21

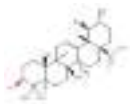
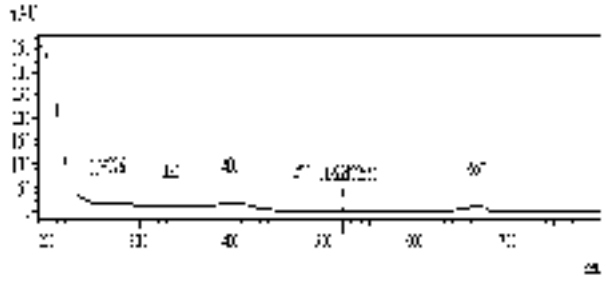
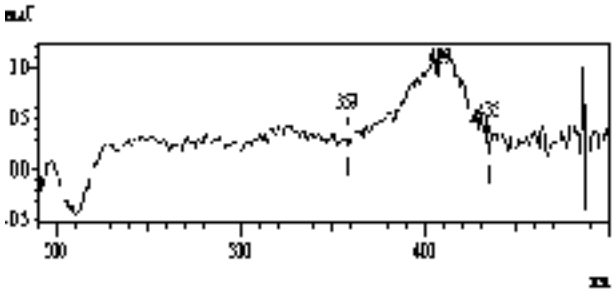
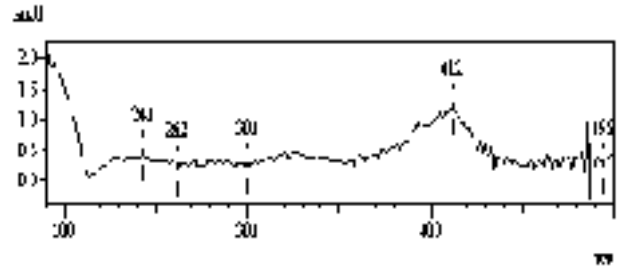
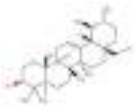
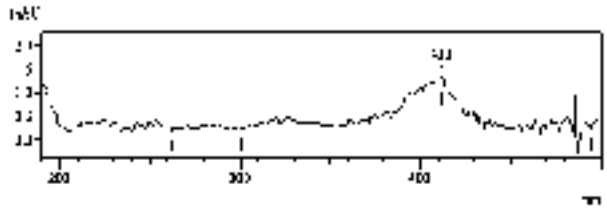
Сапоніни рідких екстрактів GV-96 та GA-96

Сполука	GV-96		GA-96	
	Час утрим., хв	Вміст речовини в екстракті, мг/мл	Час утрим., хв	Вміст речовини в екстракті, мг/мл
1	2	3	4	5
Еускафова кислота	8,44	0,87 ± 0,01	8,22	3,34 ± 0,03
Торментинова кислота	13,03	0,004	12,97	0,02
Бетулін	14,45	0,89 ± 0,02	14,60	0,62 ± 0,005
Олеанолова кислота	16,43	0,48 ± 0,005	16,30	0,21 ± 0,001
Урсолова кислота	17,47	1,04 ± 0,03	17,28	0,13 ± 0,001
Уваол	22,98	0,01	-	0,00
Лупеол	49,40	1,60 ± 0,02	49,68	1,20 ± 0,03
Разом		4,894		5,52

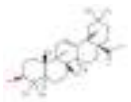
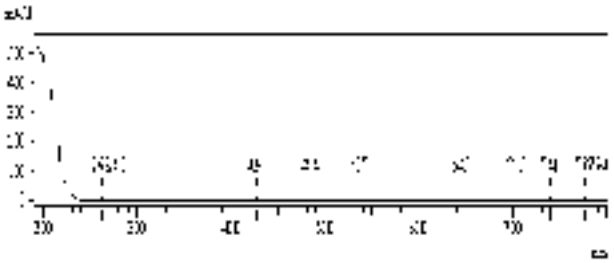
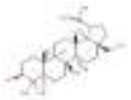
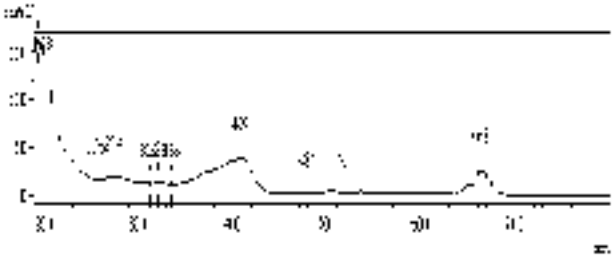
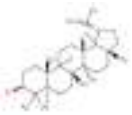
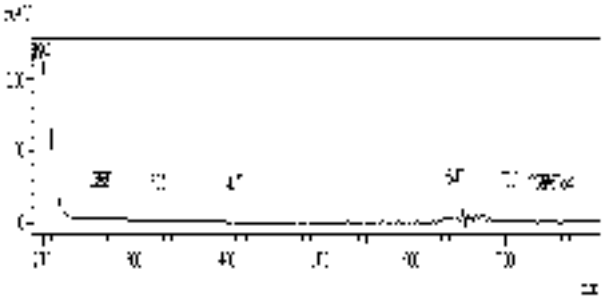
Ідентифіковані сполуки відносяться до урсанового (урсолова, еускафова, торментинова кислоти та уваол), олеананового (олеанолова кислота) та лупанового (бетулін та лупеол) типу. УФ-спектри сполук представлені в таблиці 4.22.

Таблиця 4.22

Характеристика ідентифікованих сапонінів екстрактів GV-96 та GA-96

Сполука	Структурна формула	УФ-спектр
1	2	3
Урсолова кислота		
Еускафова кислота		
Торменти-нова кислота		
Уваол		

Продовж. табл. 4.22

1	2	3
Олеанолова кислота		
Бетулін		
Лупеол		

Встановлено, що якісний склад сапонінів екстрактів рідких GV-96 та GA-96 подібний. З виявлених сапонінів уваол міститься лише у екстракті GV-96. У кількісному відношенні у екстракті GA-96 превалює еускафова кислота (3,34 мг/мл), тоді як у екстракті GV-96 – лупеол (1,60 мг/мл).

В екстракті *G. verum* переважають похідні лупану, вміст яких складає 2,50 мг/мл, вміст похідних урсану становить 1,92 мг/мл, олеанану – 0,48 мг/мл. У екстракті *G. aparine* в цілому домінують похідні урсану, вміст яких складає 3,50 мг/мл, вміст похідних лупану складає 1,82 мг/мл, олеанану – 0,21 мг/мл.

Результати дослідження підтверджують дані раніше проведених робіт про наявність у *G. verum* тритерпеноїдів типу урсану – урсолової кислоти [80].

Вперше у траві *G. verum* та *G. aparine* виявлено еускафову кислоту, торментинову кислоту, бетулін та лупеол. У траві *G. verum* вперше виявлено уваол [36].

Наявність у екстрактах *G. verum* та *G. aparine* домінуючих сполук – еускафової кислоти, лупеолу, урсолової кислоти та бетуліну створює підґрунтя для прогнозування таких видів фармакологічної активності, як гіпоглікемічної, протизапальної, протимікробної, антипротозойної, протипухлинної, противірусної, антипроліферативної, антиангіогенної та гіпохолестеринемічної [2, 102, 147, 164, 182].

Домінування у екстракті рідкому трави *G. verum* лупеолу разом з урсоловою кислоту свідчить про перспективність дослідження його протипухлинної дії. Домінування у екстракті рідкому трави *G. aparine* еускафової кислоти дозволяє говорити про перспективність в подальшому дослідження його гіпоглікемічної активності.

4.6 Дослідження пектинових речовин із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

Після отримання водних екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* логічним було отримати пектинові речовини зі шроту, який залишився. Пектинові речовини є самостійним важливим у фармакологічному відношенні класом БАР, який має медичне застосування.

4.6.1 Отримання пектинових речовин

Для отримання пектинових речовин шрот (точна наважка) який залишився після отримання водних екстрактів з трави досліджуваних видів заливали 0,33 % розчином щавлевої кислоти у співвідношенні сировина – екстрагент 1 : 7,5 і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 1 години (розчин з pH=3). Після цього добавляли воду очищену до співвідношення

сировина – екстрагент 1 : 20 і по краплям 25 % розчин амонію гідроксиду до pH=6, нагрівали на киплячій водяній бані на протязі 1 години. Отриманий розчин фільтрували, упарювали під вакуумом до 1/3 первинного об'єму і висаджували пектинові речовини додаванням 96 % етанолу у співвідношенні 1 : 3. Отриманий осад відділяли центрифугуванням протягом 10 хв при 3000 об/хв, промивали 96 % етанолом, повторно центрифугували, після чого висушували. Екстрагування проводили ще тричі водою очищеною при співвідношенні сировина – екстрагент 1 : 20. Отримані осади пектинових речовин зважували, висушували і знову зважували.

Вихід пектинових речовин у зливах для шроту *G. verum* становив (%): I – 3,88, II – 2,41, III – 0,81, IV – 0,12. Загальний вихід пектинових речовин склав 7,22 %. Вихід сухих пектинів із сирих складав 2,12 %, тобто пектинові речовини *G. verum* здатні утримувати 97,88 % води [140].

Вихід пектинових речовин у зливах для шроту *G. aparine* становив (%): I – 6,54, II – 4,97, III – 2,54, IV – 1,22. Загальний вихід пектинових речовин склав 15,27 %. Вихід сухих пектинів із сирих складав 3,52 %, тобто пектинові речовини *G. aparine* здатні утримувати 96,48 % води.

З результатів досліджень очевидним є, що у траві *G. aparine* вміст пектинових речовин вдвічі більший, ніж в траві *G. verum.* Для отримання пектинових речовин з *G. verum* оптимальною є триразова екстракція, з *G. aparine* – чотириразова екстракція їх із шроту.

Хроматографічне дослідження пектинових речовин проводили згідно з п. 2.2. Встановлено, що домінуючою у їх складі є галактуронова кислота.

Дослідження вмісту золи в отриманих пектинових речовинах проводили відповідно з ДФУ, *2.4.16* [11]. Встановлено, що вміст золи у пектинових речовинах складає 6,84 % для *G. verum* та 4,49 % для *G. aparine.*

Елементний склад пектинових речовин визначали згідно з п. 2.2. Результати дослідження наведено у таблиці 4.23.

Домінуючим елементом у пектинових речовинах є K. На відміну від ВРПС у елементному складі пектинових речовин достатньо високий вміст Na

порівняно із невеликим вмістом Ca та Mg, і зовсім незначний вміст Si. Отримані дані свідчать про те, що у складі пектинових речовин переважним чином містяться пектати K, Na, Ca та Mg [22, 47].

Таблиця 4.23

Елементний склад пектинових речовин з трави *G. verum* та *G. aparine*

Вміст елементу, мг/100 г														
K	Na	Ca	Mg	Mn	Si	P	Fe	Al	Pb	Cu	Zn	Ni	Mo	Sr
G. verum														
1700	410	410	205	5,1	54	100	4,1	12,2	0,13	0,23	12,2	0,17	0,054	6,1
G. aparine														
1050	250	200	180	2,2	45	45	15,7	6,7	0,045	0,67	17,1	0,54	0,067	2,47

Примітка: Co < 0,03; Cd < 0,01; As < 0,01; Hg < 0,01.

Вміст важких металів знаходиться у межах допустимих концентрацій.

4.6.2 Кількісне визначення функціональних груп пектинових речовин

Пектинові речовини представляють собою природний іонообмінник. Наявність вільних карбоксильних груп галактуронової кислоти зумовлює здатність пектинових кислот зв’язувати в шлунково-кишковому тракті іони важких металів з послідуючим утворенням нерозчинних комплексів (пектинати, пектати), які не всмоктуються і виводяться з організму. Ця властивість використовується для профілактики отруєння солями важких металів.

Дослідження вмісту вільних карбоксильних груп, метоксильованих карбоксильних груп, загальної кількості карбоксильних груп, метоксильних груп та ступеню етерифікації проводили згідно з п. 2.2.

При дослідженні складу функціональних груп у одержаних пектинових речовинах встановлено, що для пектинових речовин з трави *G. verum* вміст

вільних карбоксильних груп становить 9,13 %, метоксильованих карбоксильних груп – 0,56 %, загальна кількість карбоксильних груп – 9,69 %, метоксильних груп – 0,33 %, ступінь етерифікації – 5,78 %; для пектинових речовин з трави *G. aparine* вміст вільних карбоксильних груп становить 12,23 %, метоксильованих карбоксильних груп – 1,12 %, загальна кількість карбоксильних груп – 13,35 %, метоксильних груп – 0,82 %, ступінь етерифікації – 8,39 % (рис. 4.23).

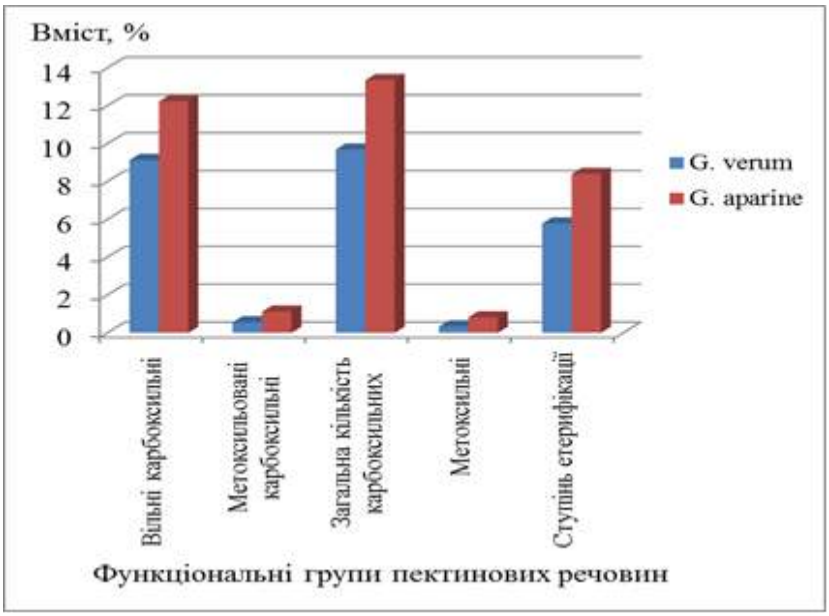


Рис. 4.23 Склад функціональних груп пектинових речовин із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

Отже, пектинові речовини як з *G. verum,* так і з *G. aparine* характеризуються невисоким ступенем етерифікації (< 50 %) що узгоджується в цілому з попередніми дослідженнями [39].

4.7 Дослідження комплексу ВРПС з пектиновими речовинами

Пошук оптимальної технології отримання полісахаридів з рослинної сировини, в тому числі ВРПС і пектинових речовин постійно продовжується [27, 37]. При цьому часто використовується технологічна схема, за якою ЛРС від початку обробляється кислотою, а потім проводиться виділення

полісахаридів. Фактично такий підхід дає змогу виділити комплекс відновлюваних та кислих полісахаридів, тобто ВРПС та пектинових речовин. Тому доцільно було провести дослідження з модифікації класичних методів отримання ВРПС та пектинових речовин для трави *G. verum* та*G. aparine.*

Для отримання комплексу ВРПС з пектиновими речовинами 50,0 г (точна наважка) подрібненої сировини заливали 500 мл 0,33 % розчину щавлевої кислоти (розчин з pH = 3), нагрівали на киплячій водяній бані протягом 1 години, добавляли 1,5 мл 25 % розчин амонію гідроксиду (розчин з pH=6), нагрівали на киплячій водяній бані протягом 1 год. Отриманий розчин фільтрували, упарювали під вакуумом до 1/3 первинного об'єму і висаджували полісахариди додаванням 96 % етанолу у співвідношенні 1 : 3. Осад відділяли центрифугуванням протягом 10 хв при 3000 об/хв, промивали 96 % етанолом, повторно центрифугували, після чого висушували. Екстрагування проводили іще двічі водою очищеною при співвідношенні сировина – екстрагент 1 : 20. Отримані осади висушували і зважували.

Вихід суми вуглеводів у зливах для трави *G. verum* становив (%): I – 7,29, II – 3,33, III – 2,74. Загальний вихід вуглеводів склав 13,36 %. Вихід суми вуглеводів у зливах для трави *G. aparine* становив (%): I – 11,92, II – 6,65, III – 5,10. Загальний вихід вуглеводів склав 23,67 % (рис. 4.24).

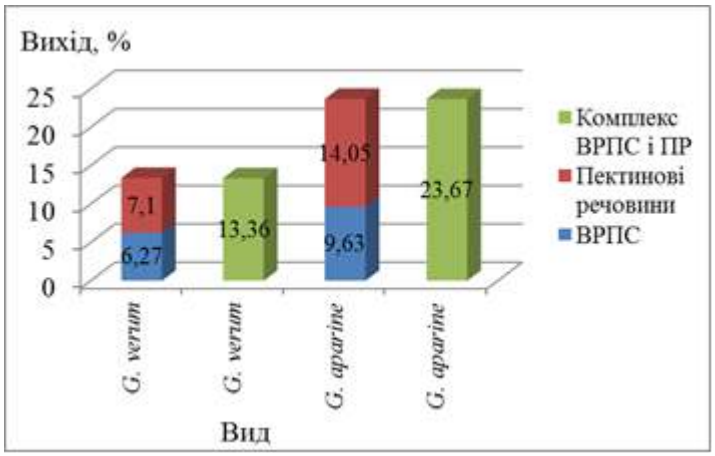


Рис. 4.24 Вихід ВРПС, пектинових речовин та їх сумарного комплексу із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

Отримані дані відрізняються за динамікою виходу речовин, але за загальним виходом за результатами трьох екстракцій корреспондують з даними, отриманими окремо для виходу ВРПС і пектинових речовин трави *G. verum* та *G. aparine.* Оскільки вихід сумарного комплексу ВРПС та пектинових речовин з трави *G. verum* складає 13,36 %, а сума окремих виходів ВРПС і пектинових речовин становить 13,37 %, можна стверджувати, що сумарний комплекс ВРПС та пектинових речовин містить 46,9 % ВРПС та 53,1 % пектинових речовин. Відповідно для сумарного комплексу ВРПС та пектинових речовин з трави *G. aparine* вміст ВРПС становить 40,67 % ВРПС, вміст пектинових речовин – 59,33 %.

4.8 Дослідження можливості комплексної переробки трави *G. verum* та трави *G. aparine*

У проведених раніше дослідженнях було оприлюднено результати послідовного отримання з трави *G. verum* та *G. aparine* ліпофільного (шляхом екстракції сировини хлороформом) та фенольного (екстракцією сумішшю етилацетат – 96 % етанол (8 : 2) комплексів та встановлення їх значної антимікробної та протигрибкової активностей [10, 26]. Доцільним було провести дослідження можливості комплексної переробки даної сировини, оскільки шрот, який залишився, мав містити значну кількість гідрофільних БАР. Як вихідну сировину для отримання екстрактів використовували шрот трави *G. verum* та *G. aparine*, який залишився після послідовного отримання за раніше описаними методиками ліпофільного комплексу шляхом екстракції хлороформом, потім фенольного комплексу шляхом екстракції сумішшю етилацетат – спирт (8:2) [10, 26, 33. 62].

Висушений шрот заливали гарячою водою очищеною при загальному співвідношенні сировина-екстрагент 1 : 10 та тривалості кожної екстракції 30 хвилин на киплячій водяній бані, після чого фільтрували. Процедуру повторювали тричі. Фільтрати об’єднували, концентрували під вакуумом до

співвідношення вихідна сировина – готовий продукт 1 : 1 (рис. 4.25).

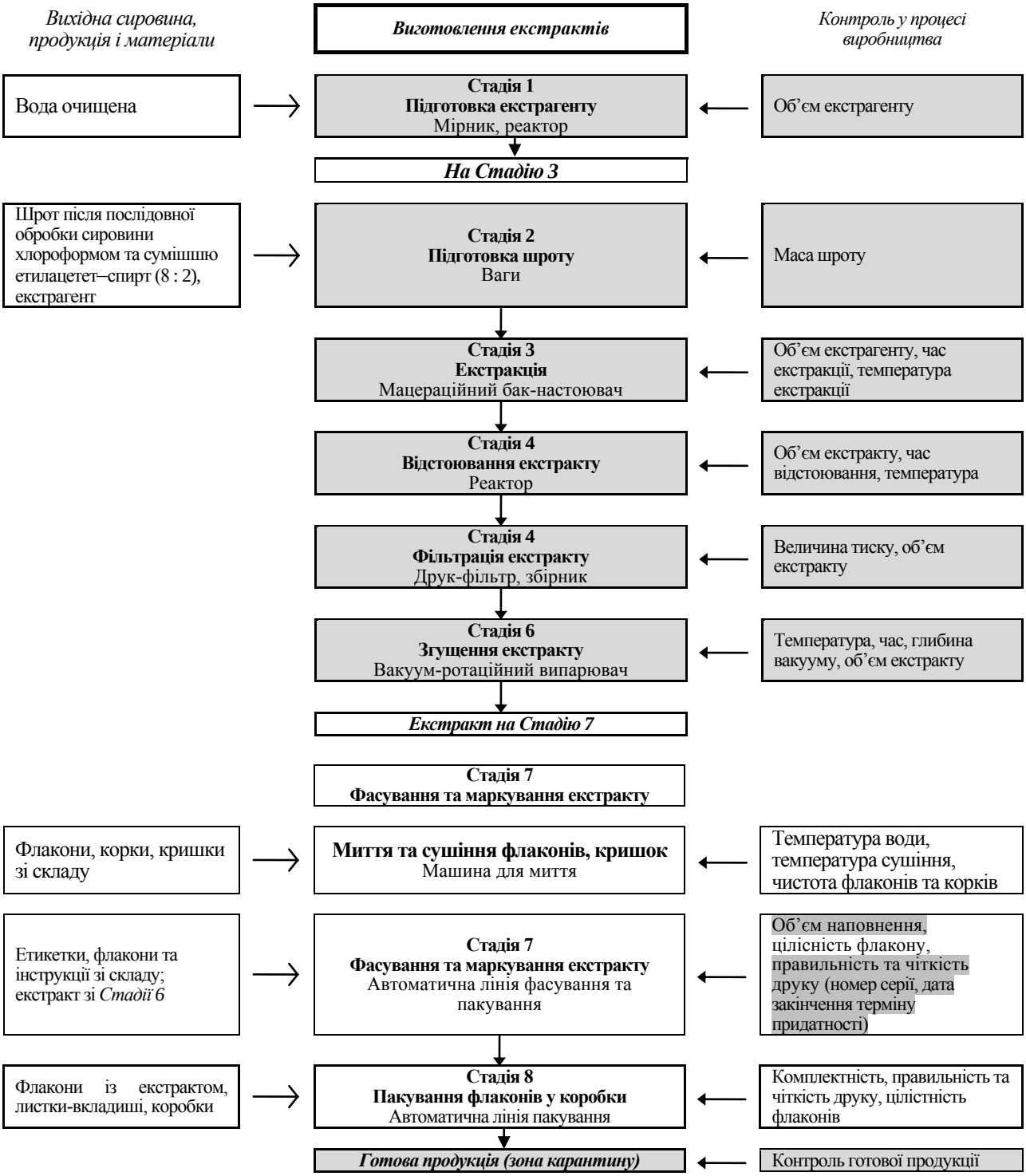


Рис. 4.25 Схема отримання екстрактів-N із шроту трави *G. verum* та *G. aparine*

У кожному зливі визначали об'єм зливу, вміст екстрактивних речовин, ВРПС, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та суми поліфенольних сполук згідно з п. 2.2 (табл. 4.24, рис. 4.26).

Таблиця 4.24

Дослідження вмісту БАР в екстрактах-N із шроту *G. verum* та із шроту *G. aparine*

Екстракція	Вміст, %									
	Сухий залишок		ВРПС		Гідроксикоричні кислоти		Флавоноїди		Сума поліфенольних сполук	
	G. verum	*G. aparine*	*G. verum*	*G. aparine*	*G. verum*	*G. aparine*	*G. verum*	*G. aparine*	*G. verum*	*G. aparine*
Екстракція 1	6,65 ± 0,33	11,95 ± 0,59	5,31 ± 0,25	9,12 ± 0,45	0,47 ± 0,02	0,41 ± 0,02	0,03 ± 0,001	0,06 ± 0,003	0,72 ± 0,03	0,65 ± 0,03
Екстракція 2	4,22 ± 0,21	6,07 ± 0,32	3,87 ± 0,19	5,23 ± 0,26	0,37 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,09 ± 0,004	0,04 ± 0,002	0,54 ± 0,02	0,57 ± 0,02
Екстракція 3	0,92 ± 0,05	1,05 ± 0,05	0,65 ± 0,03	0,92 ± 0,04	0,26 ± 0,01	0,15 ± 0,007	0,02 ±0,001	0,02 ± 0,001	0,46 ± 0,01	0,33 ± 0,01
Разом	11,79	17,07	9,83	15,27	1,10	0,89	0,14	0,12	1,72	1,55

Як показали результати дослідження, вихід екстрактивних речовин із шроту *G. verum* становить 11,79 %, із шроту *G. aparine* – 17,07 %. Вихід ВРПС збільшується від 6,23 % з трави до 9,83 % із шроту *G. verum*; від 9,63 % з трави до 15,27 % із шроту *G. aparine.* Тобто, при отриманні екстрактів із шроту вміст ВРПС в сухому залишку складає 83,37 % для *G. verum* та 89,46 % для *G. aparine.*

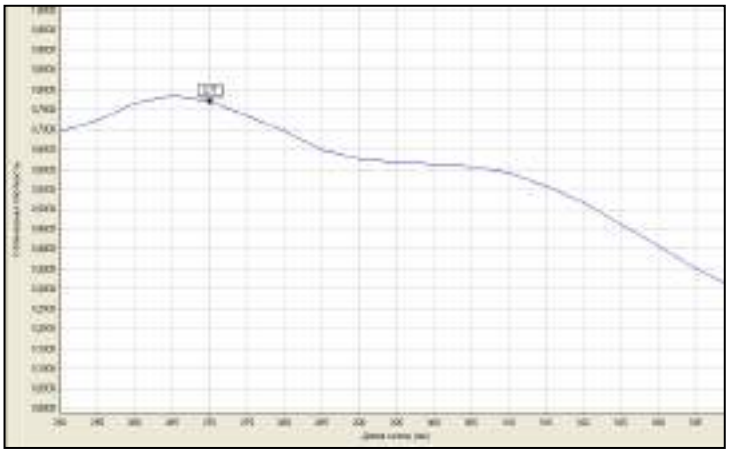


Рис. 4.26 УФ- спектр водного екстракту із шроту трави *G. verum*

Вміст фенольних сполук для екстрактів із шроту обох видів сировини менший, ніж у екстрактах з відповідної ЛРС (пп. 4.4.3 – 4.4.5). Це може пояснюватися значним вмістом їх у фенольних фракціях *G. verum* та *G. aparine,* отриманих шляхом екстрагування сумішшю етилацетат – 96 % етанол (8 : 2): гідроксикоричних кислот (%) – 9,06 та 11,22; флавоноїдів (%) – 8,07 та 0,39 [26].

Отже, результати досліджень свідчать про доцільність комплексної переробки трави *G. verum* та *G. aparine*, оскільки з даної сировини можна послідовно отримувати ліпофільні, фенольні комплекси, які проявляють значну антибактеріальну та антифунгальну дію [26], після чого використовувати шрот для отримання ВРПС.

Висновки до розділу 4

1. Вперше визначено технологічні параметри трави *G. verum* та трави *G. aparine*: насипний об’єму та насипну густину до та після усадки сировини,

питому, об'ємну густину, пористість, нарізність, вільний об'єм шару, коефіцієнти поглинання розчинників.

2. Вперше встановлено закономірності екстрагування основних груп БАР із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*. Виявлено, що оптимальними умовами екстрагування БАР є: розміри часток ЛРС 3-4 мм, співвідношення сировина – екстрагент 1 : 10, кратність екстракції – 3, тривалість кожної екстракції 30 хв.

3. На основі визначених технологічних параметрів ЛРС та закономірностей екстрагування БАР вперше розроблено технологічну схему одержання рідких екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*.

4. Вперше у отриманих за розробленою схемою екстрактах визначено вміст основних груп БАР. Максимальний вміст екстрактивних речовин та ВРПС встановлено у екстракті GA-V – 28,39 % та 9,63 % відповідно; у екстракті GV-V відмічається найбільший вміст флавоноїдів – 0,38%; у екстракті GV-60 – гідроксикоричних кислот та поліфенольних сполук – 4,25 % та 3,84 % відповідно.

5. Встановлено, що мономерний склад ВРПС водних екстрактів GV-V та GA-V із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* представлено *D*-галактозою, *L*-арабінозою, *D*-глюкозою, *D*-манозою та *L*-рамнозою. Домінуючими є глюкоза та галактоза. Вміст відновлюваних цукрів у ВРПС складає 54,7 % для ВРПС, отриманого з екстракту GV-V та 59,4 % для ВРПС, отриманого з екстракту GV-20; 48,5 % для ВРПС, отриманого з екстракту GA-V та 52,8 % для ВРПС, отриманого з екстракту GA-20. Вперше досліджено амінокислотний склад ВРПС екстрактів GV-V та GA-V. Домінуючими амінокислотами є аспарагінова та глутамінова. Вперше визначено золу загальну у ВРПС: 14,82 % з GV-V і 13,55 % з GA-V. Вперше досліджено елементний склад ВРПС. Домінуючими елементами є K, Ca, Si та P у ВРПС з екстракту GV-V та K, Si, Mg та P у ВРПС з трави GA-V.

6. Методом ВЕРХ у водно-спиртових (60 % етанол) екстрактах GV-60 та GA-60 ідентифіковано по 11 сполук фенольної природи, з них 5

гідроксикоричних кислот (кофейна, хлорогенова, неохлорогенова, 3,5-дикофеїлхінна кислота та 3,5-дикофеїлхінна) і 6 флавоноїдів (рутин, гіперозид, кверцетин, кверцитрин, ізокверцитрин та катехін). Вперше у екстракті із трави *G. verum* виявлено кофейну та неохлорогенову кислоти, гіперозид, кверцитрин, ізокверцитрин та катехін; у екстракті із трави *G. aparine* всі сполуки виявлено вперше. Для трави *G. aparine* вперше виявлено кверцитрин, неохлорогенову, 3,5-дикофеїлхінну та 4,5-дикофеїхінну кислоти.

7. Методом УЕРХ-МС у екстрактах із трави *G. aparine* ідентифіковано 13 сполук, з них 3 іридоїди, 1 фенолкарбонова та 6 гідроксикоричних кислот, 3 флавоноїди. Вперше в траві *G. aparine* виявлено *n*-гідроксибензойну кислоту, 3-О- та 4-О-кофеїлхінні кислоти, 3,4-, 3,5- та 4,5-О-дикофеїлхінні кислоти, ізорамнетин-3-О-глюкорамнозид та кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозид. Кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозид вперше виявлено для роду *Galium.*

7. Вперше методом ВЕРХ у спиртових (96 % етанол) екстрактах GV-96 та GA-96 ідентифіковано та встановлено вміст сапонінів: урсолової, олеанолової, еускафової, торментинової кислот, уваолу, бетуліну та лупеолу. У екстракті GA-96 превалює еускафова кислота (3,34 мг/мл), у екстракті GV-96 – лупеол (1,60 мг/мл). Вперше у траві *G. verum* та *G. aparine* виявлено еускафову та торментинову кислоти, бетулін та лупеол. У траві *G. verum* вперше виявлено уваол.

8. Із шроту, який залишився після отримання водних екстрактів з ЛРС отримано пектинові речовини, вихід яких склав 7,22 % для *G. verum* і 15,27 % для *G. aparine*. Вперше встановлено, що вміст золи у пектинових речовинах складає 6,84 % для *G. verum* та 4,49 % для *G. aparine*. Вперше дослідженно елементний склад пектинових речовин. Визначено склад функціональних груп у одержаних пектинових речовинах: вільних карбоксильних, метоксильованих карбоксильних, загальної кількості карбоксильних, метоксильних та ступінь етерифікації.

9. Вперше отримано сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами. Встановлено, що для *G. verum* він містить 46,9 % ВРПС та 53,1 % пектинових речовин; для *G. aparine* вміст ВРПС у сумарному комплексі становить 40,67 % ВРПС, вміст пектинових речовин – 59,33 %.

10. Вперше встановлено доцільність комплексної переробки трави *G. verum* і трави *G. aparine* – отримання ВРПС після послідовно отриманих раніше ліпофільного та фенольного комплексів.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Дослідження полісахаридів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Зб. наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика.* Вип. 28. 2017. С. 152–159. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).

2. The phytochemical profile and antibacterial activity of the fluid extracts of Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovalyova, T. P. Osolodchenko, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації.* 2017. № 4 (92). С. 25–28. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та підготовці статті).

3. Phenolic compounds of the liquid extract from cleavers herb (Galium aparine L.) / I. L. Shynkovenko, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. I. Golembiovska, N. S. Shemchuk, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації.* 2018. № 3 (95). С. 19–24. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі результатів та написанні статті).

4. Saponins of the extracts of Galium aparine and Galium verum / I. L. Shynkovenko, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. I. Golembiovska, O. M. Koshovyi. *Вісник фармації*. 2018. № 4 (96). С. 16–21. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).

5. Определение технологических параметров травы Galium verum и Galium aparine. И. Л. Шинковенко, Т. В. Ильина, А. М. Ковалева, О. Н. Кошевой, Н. В. Бородина. *Современные достижения фармацевтической науки и практики*: мат. междунар. конфер., посвящ. 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»/ под. ред. А. Т. Щастного. Витебск, 31 окт., 2019. Витебск : ВГМУ, 2019. С. 135–137. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, обробка результатів та підготовка тез).

6. Kutova V. M., Shynkovenko I. L., Ilyina T. V. Study of dynamics of bioactive substance extraction from Yellow Bedstraw (Galium verum) herb meal. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. XXIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 21 квіт. 2016 р. В 2-х томах, Т. 1. Х. : Вид-во НФаУ, 2016. С. 86. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі результатів та написанні тез).

7. Дослідження динаміки екстрагування гідроксикоричних кислот із шроту трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, О. В. Горяча, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Фармація XXI століття : тенденції та перспективи* : мат. VIII Нац. з’їзду фармацевтів України Харків, 13–16 вер. 2016 р. : у 2 т. Т.1 / М-во охорони здоровя України, Нац. фармац. ун-т; ред. кол.: В. П. Черних (голова) та ін.; уклад. : С. Ю. Данильченко та ін. Харків: НФаУ, 2016. С. 154. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та написанні тез).

8. Дослідження динаміки екстрарування флавоноїдів із шроту трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко, І. М. Поліщук. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарсбких препаратів* : мат. VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016р., м. Тернопіль. Тернопіль

: «Укрмедкнига», 2016. С. 79. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці тез).

9. Шинковенко И. Л., Ильина Т. В. Динамика экстрагирования биологически активных веществ из травы подмаренника настоящего. *Перспективы развития биологии, медицины и фармации* : мат. IV Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, 9-10 дек. 2016 г., г. Шымкент, Республика Казахстан. Хабаршысы. Вестник. 2016. № 4 (77). С. 61–62. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, обробці результатів та підготовці тез).

10. Kutova V. M., Shynkovenko I. L. Monitoring of the extraction of pectins from the herb of Galium verum L. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. XXIV Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 20 квіт. 2017 р. В 2-х томах, Т. 1. Х. : Вид-во НФаУ, 2017. С. 88. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці тез).

11. Шинковенко И. Л., Ильина Т. В. Элементный состав пектинов травы подмаренника настоящего (Galium verum L.). *Перспективы развития биологии, медицины и фармации* : мат. V Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, 9-10 дек. 2017 г., г. Шымкент, Республика Казахстан. Хабаршысы. Вестник. 2017. Т. VI, № 4 (81). С. 9–10. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та підготовці тез).

12. Полісахариди трави підмаренника чіпкого / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, 12-13 квіт. 2018 р. Х. : НФаУ, 2018. С. 312. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та написанні тез).

13. Елементний склад полісахаридів і пектинових речовин трави підмаренника чіпкого / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова,

А. М. Комісаренко. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27–28 вер. 2018 р. Тернопіль, ТДМУ : Укрмедкнига, 2018. С. 56–57. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці тез).

14. Phenolic compounds of the liquid extract of Lady's Bedstraw herb (Galium verum L.) / I. Shinkovenko, T. Ilina, A. Kovalyova, O. Goryacha, O. Golembiovska, A. Komissarenko. *Sciences and Practice 2018* : The 9th Internat. Pharmac. Conf. dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy, Nov. 09, 2018, Kaunas, Lithuania. P. 22. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, аналізі результатів та підготовці тез).

РОЗДІЛ 5
СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ТА ЕКСТРАКТІВ ІЗ ТРАВИ *GALIUM VERUM* ТА ІЗ ТРАВИ *GALIUM APARINE* ТА ПІДТВЕРДЖЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

У проведених раніше Горячою О. В. та Ільїною Т. В. дослідженнях було визначено параметри стандартизації трави *G. verum* та трави *G. aparine*, розроблено проект МКЯ «Підмаренника справжнього трава» [10, 26]. Проекту МКЯ «Підмаренника чіпкого трава» створено не було. Тому актуальним завданням стало дослідження серій трави підмаренника чіпкого та серій перспективних з фармакологічної точки зору екстрактів з трави підмаренника справжнього та трави підмаренника чіпкого на відповідність розробленим вимогам та створення проектів МКЯ.

5.1 Стандартизація трави *G. aparine*

Нами було проведено дослідження 5 серій трави *G. aparine*, заготовленої у 2016-2018 рр. (Додаток А) на відповідність розробленим раніше параметрам стандартизації (табл. 5.1).

Ідентифікація.

А. Шматки чіпких чотиригранних порожнистих стебел завдовжки 0,5-3 см, 4-6 мм у діаметрі, у вузлах потовщених і шорстко-волосистих, по ребрах – до низу спрямовані шипики. Листки лінійно-ланцетні, 30 мм завдовжки, 2-3 мм завширшки, на верхівці коротко-загострені, до основи поступово звужені, сидячі, жилка 1, зверху голі, по краях і по жилці вкриті шипиками, по 6-8 в мутовці. Квітконоси довгі, шорсткі. Квітки білі, 1,5 мм у діаметрі, лопаті продовгуваті.

В. Порошок сировини переглядають під мікроскопом у розчині *хлоральгідрату Р.* Уламки округло-чотиригранних стебел, всередині порожнистих; ребра видовженої форми, майже овальні, з довгими простими одноклітинними та маленькими гачкуватими волосками на поверхні, у ребрах концентрується 6-7 рядів кутової коленхіми.

Таблиця 5.1

Відповідність серій трави *G. aparine* параметрам її стандартизації

Параметр	Серія				
	21/05/2016, м. Харків	25/05/2018, м. Харків	10/06/2017, м. Яремче	15/06/2018, м. Яремче	15/05/2018, м. Херсон
Макроскопічні ознаки	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ
Мікроскопічні ознаки	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ
Ідентифікація Флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, іридоїди	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ
Втрата в масі при висушуванні не більше 13 %	12,28 ± 0,50	12,52 ± 0,37	12,83 ± 0,15	12,64 ± 0,34	11,52 ± 0,41
Зола загальна не більше 15 %	14,67 ± 0,32	14,33 ± 0,47	14,10 ± 0,55	13,98 ± 0,43	14,53 ± 0,40
Гідроксикоричних кислот не менше 2,0 %	2,90 ± 0,10	2,85 ± 0,05	2,92 ± 0,11	2,88 ± 0,07	2,86 ± 0,06

На верхній епідермі листків та над жилками прості одноклітинні, тонкостінні, видовжені, гачкуваті волоски з вузькою основою; по краю листкової пластинки спостерігаються прості одноклітинні товстостінні волоски з широкою основою і гачкувато-загнутою видовженою верхівкою. По краю пелюсток квіток ближче до верхівки виражена 2 рядна сосочкоподібна епідерма кулястої форми; з верхівками сосочків клітини містять коричневий секрет; з нижнього боку та по краю пелюсток – прості одноклітинні, тонкостінні, видовжені, гачкуваті волоски; секреторні клітини з ефірною олією.

С. Тонкошарова хроматографія. Випробування проводять методом ТШХ (ДФУ, 1 вид., *2.2.27*).

Випробовуваний розчин. До 1,0 г здрібненої на порошок сировини (355) *(2.9.12)* додають 10 мл *70 %* (*об/об*) *спирту Р*, нагрівають у водяній бані при температурі 60 °С протягом 30 хв, зрідка струшуючи, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння 1. 1,0 мг *кислоти хлорогенової Р,* 2,5 мг *рутину Р* розчиняють у 10 мл *96 % спирту Р*.

Пластинка. ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: кислота мурашина безводна Р - кислота оцтова льодяна Р - вода Р - етилацетат Р (5:5:12:44).

Об'єм проби, що наноситься: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: пластинку обприскують розчином 100г/1л *натрію гідроксиду Р* у *96 % спирті Р*; висушують на повітрі протягом 5 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: нижче (рис. 5.1) наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися 2 зони флуоресценції: вище середини – зона кислоти хлорогенової; у нижній третині хроматограми

– зона рутину. На хроматограмі випробуваного розчину повинні виявлятися коричнево-жовтава флуоресціююча зона на рівні зони рутину та блакитна флуоресціююча зона на рівні зони кислоти хлорогенової. На хроматограмі випробуваного розчину можуть виявлятися також блакитна флуоресціююча пляма у верхній третині хроматограми та інші слабкіші флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки	
	синя флуоресціююча зона
кислота хлорогенова (блакитна флуоресціююча зона)	блакитна флуоресціююча зона
рутин (коричнево-жовта флуоресціююча зона)	коричнево-жовта флуоресціююча зона
	синя флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 5.1 Схема хроматограм випробуваного розчину і розчину порівняння

Пластинка. ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Розчин порівняння 2. 2,0 мг *асперулозиду Р* розчиняють у 10 мл *96 % спирті Р*.

Рухома фаза: кислота мурашина безводна Р – кислота оцтова льодяна Р – вода Р – етилацетат Р (5:5:12:44).

Об'єм проби, що наноситься: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см від лінії старту.

Висушування: при температурі від 100 °С до 105 °С.

Виявлення: теплу пластинку обприскують сумішшю *кислоти оцтової льодяної Р, кислоти хлористоводневої концентрованої Р* та розчину 2г/100г *міді сульфату Р* (20:1:2), сушать при температурі від 100 °С до 105 °С

протягом 5 хв та переглядають у денному світлі.

Результати: нижче (рис. 5.2) наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі розчину порівняння має виявлятися синьо-зелена зона – зона асперулозиду. На хроматограмі випробуваного розчину повинна виявлятися синьо-зелена зона на рівні зони асперулозиду. На хроматограмі випробуваного розчину також має виявлятися синя зона нижче зони асперулозиду.

Верхня частина пластинки	
асперулозид (синьо-зелена зона)	синьо-зелена зона синя зона
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 5.2 Схема хроматограм випробуваного розчину і розчину порівняння

Втрата в масі при висушуванні.

Біля 1,00 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини (355), висушують у сушильній шафі при температурі 100-105 ºС протягом 2 годин. Охолоджують в ексикаторі над *фосфору (V) оксидом Р* і зважують. Втрата в масі при висушуванні не повинна перевищувати 13,00 % (ДФУ, І вид., *2.2.32*).

Загальна зола. Не більше 15,00 % (ДФУ, І вид., *2.4.16*).

Сторонні домішки

Лікарська рослинна сировина не повинна містити цвілі, комах та інших домішок тваринного походження (ДФУ, доп. 1, *2.8.2*). Кількість трави, що потемніла або побуріла не має перевищувати 3,0 %. Кількість інших сторонніх часток не має перевищувати 2,0 %.

Кількісне визначення

Гідроксикоричні кислоти

Вихідний розчин. 1,5 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини (350) *(2.9.12)* поміщають у колбу місткістю 200 мл, додають 90 мл *спирту* (*50 % об/об*) *Р*, нагрівають зі зворотнім холодильником у водяній бані протягом 30 хв, охолоджують до кімнатної температури та фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл крізь тампон із вати. Тампон промивають 10 мл *спирту* (*50 % об/об*) *Р* і промивну рідину фільтрують у ту саму колбу. Доводять об’єм розчину *спиртом* (*50 % об/об*) *Р* до позначки та перемішують. Одержаний розчин фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 15 мл фільтрату.

Випробовуваний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,*5 М розчину кислоти хлористоводневої*, 2 мл свіжоприготованого *розчину 10 г натрію нітриту Р* і 10 г *натрію молібдату* у 100 мл *води Р*, 2 мл розчину *натрію гідроксиду розведеного Р*, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки та перемішують.

Компенсаційний розчин. 1 мл вихідного розчину помішають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл *0,5 М розчину кислоти хлористоводневої* і 2 мл розчину *натрію гідроксиду розведеного Р*, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки та перемішують.

Відразу вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми гідроксикоричних кислот, X, у перерахунку на кислоту хлорогенову та абсолютно суху сировину, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A * V_{м.к.1} * V_{м..к2}}{m * 188},$$

A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм;

m – маса наважки випробовуваної сировини, у грамах;

$V_{м.к.1}$ – об'єм мірної колби 1, у мілілітрах;

$V_{м.к.2}$ – об'єм мірної колби 2, у мілілітрах;

188 – питомий показник поглинання кислоти хлорогенової за довжини хвилі 525 нм.

Сума гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову ($C_{16}H_{18}O_9$; *М.м.* 354.3) і абсолютно суху сировину має бути не менше 2,00 %.

5.2 Стандартизація водного екстракту рідкого із трави *G. aparine*

Опис. Густа рідина брунатного кольору; має специфічний запах. При зберіганні можливе випадіння осаду.

Ідентифікація

А. Вихідний розчин. 0,2 мл екстракту рідкого розчиняють у 10 мл *води очищеної Р*. Одержаний розчин використовують для проведення якісних реакцій.

До 1,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл розчину розчину 10 г/л *заліза (III) хлориду Р*; з'являється темно-зелене забарвлення (*фенольні сполуки*).

До 10,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл розчину 20 г/л *алюмінію хлориду Р у 96 % спирті Р*; в УФ-світлі (366 нм) виникає зеленувато-жовта флюоресценція (*флавоноїди*).

В. Тонкошарова хроматографія (ДФУ, 1 вид., *2.2.27*).

Випробуваний розчин. До 0,2 мл рідкого екстракту додають 8 мл *40 % (об/об) спирту Р*, струшують та фільтрують у пікнометр місткістю 10 мл. Одержаний фільтрат доводять *40 % (об/об) спиртом Р* до об'єму 10 мл.

Розчин порівняння. 2 мг *кислоти хлорогенової Р* та 2 мг *рутину Р* розчиняють у 2 мл *40 % спирту Р*.

Пластинка. ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: етилацетат - кислота оцтова льодяна - вода Р (60:20:20).

Об'єм проби, що наноситься: 20 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: пластинку обприскують розчином 100г/1л *натрію гідроксиду Р* у *96 % спирті Р*; висушують на повітрі протягом 5 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати А: нижче (рис. 5.3) наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися 2 зони флуоресценції: вище середини – зона кислоти хлорогенової; у нижній третині хроматограми – зона рутину. На хроматограмі випробуваного розчину повинні виявлятися коричнево-жовтава флуоресціююча зона на рівні зони рутину та блакитна флуоресціююча зона на рівні зони кислоти хлорогенової. На хроматограмі випробуваного розчину можуть виявлятися також блакитна флуоресціююча пляма у верхній третині хроматограми та інші слабкіші флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки	
кислота хлорогенова (блакитна зона) рутин (темно-жовта зона)	синя зона блакитна зона темно-жовта зона синя зона
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 5.3 Схема хроматограм випробуваного розчину і розчину порівняння

Пластинка. ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Розчин порівняння 2. 2,0 мг *асперулозиду Р* розчиняють у 10 мл *96 % спирті Р*.

Рухома фаза: кислота мурашина безводна Р – кислота оцтова льодяна Р – вода Р – етилацетат Р (5:5:12:44).

Об'єм проби, що наноситься: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см від лінії старту.

Висушування: при температурі від 100 °С до 105 °С.

Виявлення: теплу пластинку обприскують сумішшю *кислоти оцтової льодяної Р, кислоти хлористоводневої концентрованої Р* та розчину 2г/100г *міді сульфату Р* (20:1:2), сушать при температурі від 100 °С до 105 °С протягом 5 хв та переглядають у денному світлі.

Результати В: нижче (рис. 5.4) наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння.

На хроматограмі розчину порівняння має виявлятися 1 синьо-зелена зона – зона асперулозиду. На хроматограмі випробуваного розчину повинна виявлятися синьо-зелена зона на рівні зони асперулозиду. На хроматограмі випробуваного розчину також має виявлятися синя зона нижче зони асперулозиду.

Верхня частина пластинки	
асперулозид (синьо-зелена зона)	синьо-зелена зона синя зона
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 5.4 Схема хроматограм випробуваного розчину і розчину порівняння

Сухий залишок. Не менше 25,0 % (ДФУ, доп. 1, *2.8.16*).

Важкі метали. Визначення проводять з 5 мл препарату. Вміст важких металів має бути не більше 0,001 % (10 ppm) (ДФУ, доп. 3, *2.4.8*, метод А).

*Мікробіологічна чистота (*ДФУ, *5.1.4,* N, категорія 3 А, ДФУ, доп. 1, *2.6.12, 2.6.13*). В препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^4 бактерій і не більше 10^2 грибів у мілілітрі. Не допускається наявність бактерій род. *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* в 1 мл.

Кількісне визначення

Гідроксикоричні кислоти

Вихідний розчин. 1,0 мл екстракту рідкого поміщають у мірну колбу на 50 мл, додають *40 % (об/об) спирт Р*, енергійно струшують, доводять тим же розчинником до позначки та перемішують (розчин 1).

Випробовуваний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщають у пікнометр місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину *40 % (об/об) спиртом Р* до позначки та перемішують (розчин 2).

Компенсаційний розчин. 40 % (об/об) спирт Р.

Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину за довжини хвилі 325 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст гідроксикоричних кислот, X, у відсотках у перерахунку на кислоту хлорогенову обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A * V_2 * V_4}{V_1 * V_3 * 531},$$

А – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 325 нм;

m – маса наважки випробовуваного екстракту, у грамах;

V_1 – об’єм екстракту, у мілілітрах;

V_2 – об’єм вихідного розчину, у мілілітрах;

V_3 – об’єм вихідного розчину, взятий для розведення, у мілілітрах;

V_4 – об’єм випробовуваного розчину, у мілілітрах;

531 – питомий показник поглинання кислоти хлорогенової.

Сума гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову ($C_{16}H_{18}O_9$; *М.м.* 354.3) має бути не менше 1,70 %.

Нами було проведено дослідження 5 серій водного екстракту рідкого з трави *G. aparine* на відповідність розробленим параметрам стандартизації (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Відповідність серій водного екстракту рідкого GA-V із трави *G. aparine* параметрам його стандартизації

Параметр	Серія				
	29/06/16	30/05/18	20/06/17	28/06/18	25/07/18
Опис	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Ідентифікація Флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, іридоїди (ТШХ)	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Сухий залишок, не менше 25 %	25,63 ± 0,41	27,53 ± 0,35	28,91 ± 0,40	26,80 ± 0,35	27,93 ± 0,39
Важкі метали. Не більше 0,001 % (10 ppm)	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Мікробіологічна чистота	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Гідроксикоричних кислот не менше 1,7 %	1,75 ± 0,50	1,80 ± 0,07	1,90 ± 0,13	1,85 ± 0,07	1,82 ± 0,06

Встановлено, що всі вони відповідають розробленим параметрам.

5.3 Стандартизація спиртового екстракту рідкого із трави *G. verum*

Опис. Густа рідина темно-зеленого кольору; має специфічний запах. При зберіганні можливе випадіння осаду.

Ідентифікація

А. Вихідний розчин. 0,2 мл екстракту рідкого розчиняють у 10 мл *96 % спирту Р*. Одержаний розчин використовують для проведення якісних реакцій.

До 1,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл розчину розчину 10 г/л *заліза (III) хлориду Р*; з'являється темно-зелене забарвлення (*фенольні сполуки*).

До 10,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл розчину 20 г/л *алюмінію хлориду Р у 96 % спирті Р*; в УФ-світлі (366 нм) виникає зеленувато-жовта флюоресценція (*флавоноїди*).

В. Тонкошарова хроматографія (ДФУ, 1 вид., *2.2.27*).

Випробуваний розчин. До 0,2 мл рідкого екстракту додають 8 мл *96 % (об/об) спирті Р,* струшують та фільтрують у пікнометр місткістю 10 мл. Одержаний фільтрат доводять *96 % (об/об) спиртом Р* до об'єму 10 мл.

Розчин порівняння. 2 мг *кислоти кофейної Р,* 2 мг *кислоти хлорогенової Р* та 2 мг *рутину Р* розчиняють у 2 мл *96 % спирту Р*.

Пластинка. ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: етилацетат - кислота оцтова льодяна - вода Р (60:20:20).

Об'єм проби, що наноситься: 20 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: пластинку обприскують розчином 100г/1л *натрію гідроксиду Р* у *96 % спирті Р*; висушують на повітрі протягом 5 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати А: нижче (рис. 5.5) наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На

хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися 3 зони флуоресценції: у верхній частині – зона кислоти кофейної, у середній частині – зона кислоти хлорогенової; у нижній треті – зона рутину. На хроматограмі випробуваного розчину повинні виявлятися синя флуоресціююча зона на рівні зони кислоти кофейної, блакитна флуоресціююча зона на рівні зони кислоти хлорогенової та темно-жовта флуоресціююча зона на рівні зони рутину. На хроматограмі випробуваного розчину можуть виявлятися також інші слабкіші флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки	
кислота кофейна (синя зона) кислота хлорогенова (блакитна зона) рутин (темно-жовта зона)	синя зона блакитна зона темно-жовта зона
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 5.5 Схема хроматограм випробуваного розчину і розчину порівняння

Пластинка. ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Розчин порівняння 2. 2,0 мг *асперулозиду Р* розчиняють у 10 мл *96 % спирті Р*.

Рухома фаза: кислота мурашина безводна Р – кислота оцтова льодяна Р – вода Р – етилацетат Р (5:5:12:44).

Об'єм проби, що наноситься: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см від лінії старту.

Висушування: при температурі від 100 °С до 105 °С.

Виявлення: теплу пластинку обприскують сумішшю *кислоти оцтової льодяної Р, кислоти хлористоводневої концентрованої Р* та розчину 2г/100г

міді сульфату Р (20:1:2), сушать при температурі від 100 °С до 105 °С протягом 5 хв та переглядають у денному світлі.

Результати В: нижче (рис. 5.6) наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння.

На хроматограмі розчину порівняння має виявлятися 1 синьо-зелена зона – зона асперулозиду. На хроматограмі випробуваного розчину повинна виявлятися синьо-зелена зона на рівні зони асперулозиду. На хроматограмі випробуваного розчину також має виявлятися синя зона нижче зони асперулозиду.

Верхня частина пластинки	
асперулозид (синьо-зелена зона)	синьо-зелена зона синя зона
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 5.6 Схема хроматограм випробуваного розчину і розчину порівняння

Сухий залишок. Не менше 12,0 % (ДФУ, доп. 1, *2.8.16*).

Вміст етанолу. Не менше 90,0 % об/об (ДФУ, доп. 1, *2.9.10, N, 5.5*).

Вміст метанолу і 2-пропанолу. Не більше 0.05 % (*об/об*) метанолу і не більше 0.05 % (*об/об*) 2-пропанолу (ДФУ, *2.9.11*).

Важкі метали. Визначення проводять із 5 мл препарату. Вміст важких металів має бути не більше 0,001 % (10 ppm) (ДФУ, доп. 3, *2.4.8*, метод А).

*Мікробіологічна чистота (*ДФУ, *5.1.4*, N, категорія 3 А, ДФУ, доп. 1, *2.6.12, 2.6.13*). В препараті допускається загальне число життєздатних

аеробних мікроорганізмів: не більше 10^4 бактерій і не більше 10^2 грибів у мілілітрі. Не допускається наявність бактерій род. *Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* в 1 мл.

Кількісне визначення

Гідроксикоричні кислоти

Вихідний розчин. 1,0 мл екстракту рідкого поміщають у мірну колбу на 50 мл, додають *96 % (об/об) спирт Р*, енергійно струшують, доводять тим же розчинником до позначки та перемішують (розчин 1).

Випробовуваний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщають у пікнометр місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину *96 % (об/об) спиртом Р* до позначки та перемішують (розчин 2).

Компенсаційний розчин. 96 % (об/об) спирт Р.

Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину за довжини хвилі 325 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст гідроксикоричних кислот, X, у відсотках у перерахунку на кислоту хлорогенову обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A * V_2 * V_4}{V_1 * V_3 * 531},$$

A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 325 нм;

m – маса наважки випробовуваного екстракту, у грамах;

V_1 – об’єм екстракту, у мілілітрах;

V_2 – об’єм вихідного розчину, у мілілітрах;

V_3 – об’єм вихідного розчину, взятий для розведення, у мілілітрах;

V_4 – об’єм випробовуваного розчину, у мілілітрах;

531 – питомий показник поглинання кислоти хлорогенової.

Сума гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову ($C_{16}H_{18}O_9$; *М.м.* 354.3) має бути не менше 2,50 %.

Нами було проведено дослідження 5 серій спиртового екстракту

рідкого з трави *G. verum* на відповідність розробленим параметрам стандартизації (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Відповідність серій спиртового екстракту рідкого GV-96 із трави *G. verum* параметрам його стандартизації

Параметр	Серія				
	21/06/15	02/08/15	30/06/16	04/07/16	05/07/17
Опис	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Ідентифікація Флавоноїди, гідроксикорич ні кислоти, іридоїди (ТШХ)	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Сухий залишок, не менше 12 %	12,63 ± 0,40	12,53 ± 0,25	12,91 ± 0,42	12,80 ± 0,33	12,93 ± 0,41
Важкі метали. Не більше 0,001 % (10 ppm)	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Мікробіологіч на чистота	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Гідроксикорич них кислот не менше 2,5 %	2,90 ± 0,10	2,85 ± 0,05	2,92 ± 0,11	2,88 ± 0,07	2,86 ± 0,06

Встановлено, що всі вони відповідають розробленим параметрам.

5.4 Дослідження антимікробної активності екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

Численні експериментальні дослідження у багатьох країнах

підтверджують антимікробні властивості видів роду *Galium*, в тому числі *G. verum* та *G. aparine* [61, 63, 83].

Проведені раніше дослідження свідчать про широкий спектр антимікробної та антифунгальної активності ліпофільних та фенольних фракцій *G. verum* та *G. aparine* [16, 17, 33, 62, 170].

Доцільно було провести дослідження антимікробної активності отриманих нами за розробленою технологією екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*. Оцінку антибактеріальної активності екстрактів проводили згідно з п. 2.4.1.

Для дослідження використовували по 0,3 мл отриманих екстрактів.

При дослідженні антимікробної активності екстрактів встановлено, що майже всі вони проявляють антимікробну активність (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Антимікробна активність екстрактів трави *G. verum* та трави *G. aparine*

Екстракт	Діаметри зон затримки росту в мм, (M+m), $p \leq 0,05$					
	Staphylococcus aureus	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Bacillus subtilis*	*Proteus vulgaris*	*Candida albicans*
1	2	3	4	5	6	7
G. verum						
GV-V	17,7 ± 0,4	17,3 ± 0,3	16,3 ± 0,3	18,7 ± 0,3	15,0 ± 0,2	15,6 ± 0,2
GV-20	20,0 ± 0,2	19,7 ± 0,2	15,7 ± 0,4	18,3 ± 0,2	15,3 ± 0,3	16,7 ± 0,3
GV-60	18,3 ± 0,3	17,3 ± 0,3	17,3 ± 0,3	21,0 ± 0,2	14,3 ± 0,3	16,4 ± 0,3
GV-96	20,7 ± 0,4	20,3 ± 0,3	18,7 ± 0,4	21,7 ± 0,3	18,7 ± 0,3	19,3 ± 0,4
G. aparine						
GA-V	16,5 ± 0,2	-	15,6 ± 0,4	18,4 ± 0,3	-	13,4 ± 0,3
GA-20	19,3 ± 0,3	-	15,8 ± 0,4	18,6 ± 0,3	11,2 ± 0,1	15,6 ± 0,4
GA-60	21,7 ± 0,4	10,0 ± 0,1	21,3 ± 0,3	20,8 ± 0,4	11,4 ± 0,1	21,4 ± 0,6
GA-96	24,9 ± 0,4	10,2 ± 0,1	24,8 ± 0,4	22,4 ± 0,3	13,7 ± 0,2	29,4 ± 0,7

Продовж. табл. 5.3

1	2	3	4	5	6	7
Контроль						
Вода	-	-	-	-	-	-
20 % етанол	-	-	-	-	-	-
60 % етанол	-	-	-	-	-	-
96 % етанол	-	-	-	-	-	-

Примітка. «–» – затримка росту мікроорганізмів відсутня.

По відношенню до *Staphylococcus aureus* достатньо активними виявились всі досліджувані екстракти. Найбільшу активність проявив екстракт GA-96.

Escherichia coli виявилась практично не чутливою до екстрактів з *G. aparine*, і достатньо чутливою до екстрактів з *G. verum*.

Pseudomonas aeruginosa та *Bacillus subtilis* показали достатній рівень чутливості по відношенню до всіх екстрактів.

Proteus vulgaris виявився достатньо чутливим до екстрактів з *G. verum* та мало чутливим до до екстрактів з *G. aparine*.

Candida albicans має достатній рівень чутливості по відношенню до всіх екстрактів, за виключенням екстракту GA-96 з *G. aparine*, який показав високу активність.

В середньому найбільшу антимікробну активність проявлять екстракти, отримані 96 % етанолом [15, 195].

5.5 Дослідження імуномодулювальної дії субстанцій із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

На фоні агресивного навколишнього середовища, зростання активності патогенних інфекцій збільшується кількість вторинних імунодефіцитів [21]. Тому особливої актуальності набуває проблема пошуку лікарських засобів,

які проявляють імуномодулювальну активність [40, 56]. Виняткове значення мають імуномодулювальні препарати рослинного походження. Вони не лише ефективно підвищують адаптаційні можливості організму, але і відновлюють його, порушені в процесі захворювань, функціональні можливості. Рослинні імуномодулятори діють фізіологічно, не кумулюють, мають великий діапазон між терапевтичною та токсичною дозами [1, 182, 183]. Завдяки поєднанню активних компонентів, рослини здатні забезпечувати різнобічну дію на організм – імуностимулювальну, протизапальну, антимікробну, противірусну, детоксикаційну [6, 7, 23, 163]. Це створює умови для комплексного та поліфункціонального впливу з лікувальною і профілактичною метою не лише на уражений хворобою орган, а на весь організм у цілому.

На фармацевтичному ринку України імуномодуляторів рослинного походження нараховується обмежена кількість. Тому актуальним для медицини та фармації є пошук та розробка вітчизняних ефективних лікарських засобів рослинного походження з імуномодулювальною дією.

Раніше було встановлено імуномодулювальну дію для екстрактів з трьох видів роду *Asperula* L. родини маренові (*Rubiaceae*) *in vitro* в реакції макрофагальної трансформації мононуклеарів периферичної крові [26].

Доцільним стало вивчення імуномодулювальної дії субстанцій з трави *G. verum* та *G. aparine* шляхом дослідження їх впливу на функціональну активність лімфоцитів в реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ). Для дослідження використовували екстракти з трави *G. verum* та *G. aparine*, ВРПС, пектинові речовини та сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами, отримані як зазначено у розділі 4.

Імуномодулювальну дію субстанцій вивчали *in vitro* в реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) згідно з п. 2.4.2.

Для того, щоб виявити вплив окремих груп БАР у складі екстрактів на рівень імуномодулювальної активності дослідження груп вуглеводів проводили в дозах, які відповідають їх виходу з сировини, а для ВРПС –

і вмісту у водних екстрактах, тобто 0,63 г ВРПС, 0,71 г пектинових речовин та 1,34 г сумарного їх комплексу з трави *G. verum*, або 0,96 г ВРПС, 1,4 г пектинових речовин та 2,37 г їх сумарного комплексу з трави *G. aparine* розчиняли в 10 мл води.

Для визначення активності водних екстрактів без ВРПС в них фільтрати, які залишились після видалення ВРПС, упарювали до сухого залишку. Оскільки сухий залишок у водному екстракті з трави *G. verum* складає 21,11 %, з них на ВРПС приходиться 6,27 %, можна обчислити, що на фенольний комплекс, який залишається після видалення ВРПС приходиться 14,84 %. Відповідно для водного екстракту *G. aparine* сухий залишок – 28,39 %, з них 9,63 % ВРПС і 18,76 % фенольного комплексу. Тому фільтрати, які залишились після видалення ВРПС з водних екстрактів, упарювали під вакуумом до сухого стану і розчиняли 1,48 г отриманого сухого екстракту (фенольний комплекс) *G. verum* та 1,88 г *G. aparine* у 10 мл води очищеної.

Перед постановкою РБТЛ готували розведення екстрактів, розчинів ВРПС, пектинових речовин та їх комплексів у співвідношеннях 1/200, 1/20, 1/10. По 100 мкл субстанцій вносили до 100 мкл первинних культур імунокомпетентних клітин.

Виявлено, що всі досліджувані субстанції значною мірою стимулюють трансформаційну активність мононуклеарних клітин периферичної крові (табл. 5.5). У порівнянні до спонтанної бластної трансформації лімфоцитів активність під впливом субстанцій збільшується від 26,6 % (водний екстракт *G. verum* без ВРПС у розведенні 1/200) до 59,4 % (водний екстракт *G. verum* у розведенні 1/20).

Серед субстанцій із трави *G. verum* найвищу активність проявляє водний екстракт GV-V в розведенні 1/20 – на 59,4 % вище порівняно із спонтанною трансформацією лімфоцитів та 18,5 % вище препарату порівняння ФГА.

Таблиця 5.5

Вплив субстанцій *G. verum* та *G. aparine* на показники бластної трансформації лімфоцитів (X ± m), n=5

Субстанції	Розве-дення	Вміст гідроксикоричних кислот/полісахаридів у екстрактах (мг/100 мкл)		РБТЛ, (%)	
		G. verum	*G. aparine*	*G. verum*	*G. aparine*
1	2	3	4	5	6
Спиртовий екстракт (96 % етанол)	1/200	0,013/-	0,007/-	63,1 ± 2,2**	36,9 ± 2,3**
	1/20	0,132/-	0,075/-	66,7 ± 2,4**	45,2 ± 3,0
	1/10	0,265/-	0,149/-	56,2 ± 2,3**	45,1 ± 3,1
Водно-спиртовий екстракт (60 % етанол)	1/200	0,021/-	0,009/-	41,7 ± 2,3**	34,6 ± 2,5**
	1/20	0,212/-	0,098/-	51,2 ± 2,4	38,5 ± 2,7**
	1/10	0,425/-	0,197/-	46,8 ± 2,6	36,8 ± 2,5**
Водно-спиртовий екстракт (20 % етанол)	1/200	0,016/-	0,009/-	55,2 ± 2,3**	32,4 ± 2,3**
	1/20	0,169/-	0,092/-	60,8 ± 2,5**	35,2 ± 2,5**
	1/10	0,338/-	0,192/-	57,6 ± 2,6**	34,7 ± 2,2**
Водний екстракт	1/200	0,016/0,03	0,009/0,05	62,7 ± 2,2**	60,8 ± 3,2**
	1/20	0,162/0,315	0,093/0,48	67,7 ± 2,6**	65,5 ± 3,3**
	1/10	0,324/0,63	0,187/0,96	61,3 ± 2,4**	61,6 ± 3,5**
Водний екстракт без ВРПС	1/200	0,016/-	0,009/-	34,9 ± 3,7**	37,6 ± 2,6**
	1/20	0,162/-	0,093/-	45,6 ± 3,3	39,8 ± 2,6**
	1/10	0,324/-	0,187/-	45,0 ± 3,4**	36,3 ± 2,3**
ВРПС	1/200	-/0,03	-/0,05	49,0 ± 3,2	48,7 ± 3,5
	1/20	-/0,315	-/0,48	61,7 ± 2,3**	58,6 ± 3,2**
	1/10	-/0,63	-/0,96	59,4 ± 3,3**	55,7 ± 3,3**
Пектинові речовини	1/200	-/0,04	-/0,07	51,0 ± 3,3	39,0 ± 3,2**
	1/20	-/0,36	-/0,70	62,7 ± 2,5**	52,7 ± 4,1**
	1/10	-/0,71	-/1,40	61,4 ± 3,1**	59,3 ± 3,1**

Продовж. табл. 5.5

1	2	3	4	5	6
Комплекс ВРПС з пектиновими речовинами	1/200	-/0,07	-/0,12	55,8 ± 3,6**	52,3 ± 3,2**
	1/20	-/0,67	-/1,19	63,2 ± 3,6**	61,7 ± 3,4**
	1/10	-/1,34	-/2,37	64,5 ± 3,3**	62,9 ± 3,5**
Контроль (ФГА)	-	$2,5x10^{-3}$		49,2 ± 2,3	48,1 ± 2,1
Спонтанна РБТЛ	-	-		8,3 ± 0,6	8,5 ± 0,7

Примітка. ** – P < 0.05 у порівнянні до ФГА.

Дещо нижчі показники при розведенні 1/200 – на 54,4 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 13,5 % вище ФГА; найнижчі при розведені 1/10 – на 53,1 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 11,1 % вище ФГА. Порівняно із активністю своїх складових – ВРПС та фенольного комплексу водний екстракт проявляє вищу активність [193].

Високу активність також має спиртовий екстракт GV-96 із трави *G. verum* в розведенні 1/20 – на 57,6 % вище порівняно із спонтанною трансформацією лімфоцитів та 17,5 % вище препарату порівняння ФГА. Дещо нижчі показники при розведенні 1/200 – на 54,8 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 13,9 % вище ФГА; найнижчі при розведені 1/10 – на 47,9,1 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 7,0 % вище ФГА [194].

Серед вуглеводів *G. verum* найвищу активність показав комплекс ВРПС з пектиновими речовинами: у розведенні 1/10 на 56,2 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 15,3 % вище ФГА, що дещо вище ніж рівень ВРПС та пектинових речовин у такому ж розведенні.

Найнижчу активність проявляє водний екстракт, очищений від ВРПС: при розведенні 1/10 – на 36,7 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 4,2 % нижче ФГА, 1/20 – на 37,3 % вище спонтанної трансформації

лімфоцитів та на 3,6 % нижче ФГА, 1/200 – на 26,6 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 14,3 % нижче ФГА.

Серед субстанцій із трави *G. aparine* найвищу активність проявляє водний екстракт GA-V в розведенні 1/20 – на 57,0 % вище порівняно із спонтанною трансформацією лімфоцитів та 17,4 % вище препарату порівняння ФГА. Дещо нижчі показники при розведені 1/10 – на 53,1 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 13,5 % вище ФГА; найнижчі при розведенні 1/200 – на 52,3 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 12,7 % вище ФГА. Порівняно із активністю своїх складових – ВРПС та фенольного комплексу водний екстракт GA-V проявляє вищу активність.

Серед вуглеводів *G. aparine* найвищу активність показав комплекс ВРПС з пектиновими речовинами: у розведенні 1/10 на 54,4 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 14,8 % вище ФГА. Нижчою є активність пектинових речовин і найнижча – ВРПС.

Спиртовий та водно-спиртові екстракти *G. aparine* (GA-96, GA-60, GA-20) проявляють майже вдвічі нижчу активність порівняно з водним екстрактом *G. aparine* (GA-V) та з аналогічними екстрактами з трави *G. verum.* Ймовірно імуномодулювальну активність зумовлюють гідроксикоричні кислоти, оскільки спиртовий і водно-спиртові екстракти *G. aparine* містять майже вдвічі менше гідроксикоричних кислот, ніж аналогічні екстракти *G. verum* і навпаки, містять суттєво більше флавоноїдів.

Найнижчу активність проявляє екстракт GA-20: при розведенні 1/10 – на 26,7 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 13,4 % нижче ФГА; 1/20 – на 26,7 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 12,9 % нижче ФГА; 1/200 – на 23,9 % вище спонтанної трансформації лімфоцитів та на 15,7 % нижче ФГА.

В середньому, найбільша стимуляція функціональної активності імунокомпетентних клітин при використанні 100 мкл досліджуваних субстанцій відзначається в розведенні 1/20.

Той факт, що для водних екстрактів із *G. verum* і *G. aparine* (GV-V та GA-V) відмічається вища активність сумарних екстрактів, ніж їх складових, дає підстави говорити про синергізм дії ВРПС та фенольних сполук, а отже про недоцільність вилучення ВРПС з водних екстрактів при отриманні субстанцій імуномодулювальної дії.

Також спільним для *G. verum* і *G. aparine* є те, що сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами мають вищий рівень імуномодулювальної дії, ніж окремо ВРПС та пектинові речовини. Отримані дані свідчать як про високу імуномодулюючу активність обох груп вуглеводів, а отже – про доцільність комплексної переробки ЛРС з метою отримання імуномодулюючих засобів, так і синергічну дію ВРПС і пектинових речовин, а отже – перспективність отримання сумарних їх комплексів.

Новизну досліджень підтверджено патентами України на корисну модель № 136235 «Спосіб одержання засобу імуномодулювальної дії з трави підмаренника чіпкого», № 120554 «Спосіб одержання засобу імуномодулювальної дії з трави підмаренника справжнього».

Висновки до розділу 5

1. Вперше розроблено проект МКЯ на траву *G. aparine* та проведено дослідження 5 серій трави на відповідність розробленим параметрам стандартизації. Запропоновано контролювати якість трави *G. aparine* за такими показниками: ідентифікацією за морфолого-анатомічними ознаками, наявністю флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та іридоїдів, втратою в масі при висушуванні (не більше 13 %), золою загальною (не більше 15 %), вмістом сторонніх домішок (не більше 5 %), вмістом гідроксикоричних кислот (не менше 2,0 %).

2. Вперше розроблено параметри стандартизації водного екстракту рідкого GA-V з трави *G. aparine* та спиртового екстракту рідкого GV-96 з трави *G. verum*, досліджено 5 серій їх на відповідність розробленим вимогам

та розроблено проекти МКЯ «Підмаренника чіпкого екстракт рідкий» та «Підмаренника справжнього екстракт рідкий».

3. Вперше досліджено антибактеріальну та антифунгальну активність водних, водно-спиртових та спиртових екстрактів рідких з трави *G. verum* та *G. aparine*. Встановлено, що всі досліджувані рідкі екстракти проявляють антимікробну активність, найбільшу – екстракти, отримані з використанням 96 % етанолу. Найбільш чутливим до усіх досліджуваних екстрактів виявився *Bacillus subtilis.*

4. Вперше виявлено, що екстракти, ВРПС, пектинові речовини та сумарний комплекс ВРПС і пектинових речовин з трави *G. verum* і *G. aparine* проявляють імуномодулювальну активність.

5. Вперше встановлено, що імуномодулювальну активність екстрактів зумовлюють гідроксикоричні кислоти, оскільки спиртовий і водно-спиртові екстракти *G. verum* за рівнем імуномодулювальної активності майже вдвічі перевищують аналогічні екстракти *G. aparine,* а у хімічному складі містять майже вдвічі більше гідроксикоричних кислот, ніж аналогічні екстракти *G. aparine.*

6. Вперше встановлено синергічну дію ВРПС і фенольних сполук у складі водних екстрактів трави *G. verum* і водних екстрактів трави *G. aparine,* що свідчить про недоцільність вилучення ВРПС з водних екстрактів при отриманні субстанцій імуномодулювальної дії.

7. Вперше встановлено, що сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами з трави *G. verum* і *G. aparine* мають вищий рівень імуномодулювальної дії, ніж окремо ВРПС та пектинові речовини. Отримані дані свідчать як про високу імуномодулювальну активність обох груп вуглеводів, а отже – про доцільність комплексної переробки трави *G. verum* і трави *G. aparine* з метою отримання імуномодулюювальних засобів, так і про синергічну дію ВРПС і пектинових речовин, а отже – перспективність отримання сумарних їх комплексів.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. The phytochemical profile and antibacterial activity of the fluid extracts of Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovalyova, T. P. Osolodchenko, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 25–28. (Особистий внесок – брав участь у частині експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

2. The immunomodulatory activity of the aqueous extract and complexes of biologically active compounds of Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. M. Koshovyi, E. L. Toryanyk, O. V. Kryvoruchko. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. № 67. P. 25–29. Видання бази Скопус. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстрактів, частина експериментальних досліджень та написаня статті).

3. The immunomodulatory activity of the ethanolic extracts from Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, N. S. Shemchuk, O. V. Kryvoruchko, A. M. Komissarenko. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. № 67 (3). P. 101–106. Видання бази Скопус. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстрактів, частина експериментальних досліджень та написаня статті).

4. Phytochemical profiles and in vitro immunomodulatory activity of ethanolic extracts from Galium aparine L. / T. Ilina, N. Kashpur, S. Granica, A. Bazylko, I. Shinkovenko, A. Kovalyova, O. Goryacha and O. Koshovyi. *Plants*. 2019. P. 541–554. Видання баз Scopus та Web of Science. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстрактів, частина експериментальних досліджень).

5. Дослідження антибактеріальної активності водного витягу з трави Galium verum L./ І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, О. В. Горяча, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : мат. І Міжнар. наук.-практ

конф., м. Харків, 30-31 бер. 2017 р. В 2-х т., Т. 2. Х. : НФаУ, 2017. С. 363. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та підготовці тез).

6. Дослідження імуномодулювальної дії вуглеводів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, Н. В. Кашпур. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : мат. III Міжнар. наук.-практ. конференції. У 2-х т. Т. 2. м. Харків, 14-15 бер. 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 317. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, аналізі результатів та написанні тез).

7. Спосіб одержання засобу імуномодулювальної дії з трави підмаренника справжнього: пат. 120554 України: A61K 36/74, A61P 37/02 (2006.01)/ І. Л. Шинковенко, Н. В. Кашпур, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. № u 2017 04409, заявл. 03.05.17.; опубл. 10.11.17., Бюл. № 21. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, аналізі результатів та оформленні патенту).

8. Спосіб одержання засобу імуномодулювальної дії з трави підмаренника чіпкого: пат. 136235 України: A61K 36/74, A61P 37/00, МПК (2019.01) / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, Н. В. Кашпур, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко, О. М. Кошовий. № u 201901943, заявл. 26.02.2019; опубл. 12.08.19, Бюл. № 15. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстракту, участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та оформленні патенту).

9. Вуглеводні комплекси трави *Galium verum* L. і *Galium aparine* L. та їх імуномодулююча активність /Т. В. Ільїна, І. Л. Шинковенко, Н. В. Кашпур, О. В. Горяча, А. М. Ковальова, О. М. Кошовий. *Ліки – людині Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : мат. IV міжнар. наук.-практ. конфер., м. Харків, 12-13 бер. 2020 р. У двох томах. Т. 2. Харків, НФаУ, 2020. С. 277 – 278. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання вуглеводних комплексів, участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та написанні тез).

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено експериментальне вирішення наукової проблеми комплексного фітохімічного дослідження сировини та екстрактів підмаренника справжнього (*Galium verum*) та підмаренника чіпкого (*Galium aparine*), розробки параметрів їх стандартизації, встановлення груп БАР, які зумовлюють їх імуномодулювальну дію, визначення доцільності комплексної переробки сировини.

1. За результатами власних фітохімічних досліджень та даних літератури вперше проведено дослідження взаємозв'язку між морфологічними ознаками видів роду *Galium* та наявністю в них іридоїдів, гідроксикоричних кислот та окремих флавоноїдів: ізоройфоліну, лютеолін-7-О-арабінозилглюкозиду, діосметин-7-О-глюкопіранозиду, палюстрозиду, діосметин-7-О-ксилоглюкозиду.

2. Розроблено проєкт МКЯ на траву *G. aparine* на основі дослідження 5 серій трави на відповідність параметрам стандартизації.

3. Визначено технологічні параметри трави *G. verum* та *G. aparine*: насипний об'єм та насипну густину до та після усадки сировини, питому, об'ємну густину, пористість, нарізність, вільний об'єм шару, коефіцієнти поглинання розчинників.

4. Вперше встановлено закономірності екстрагування основних груп БАР із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*. Розроблено технологічну схему одержання екстрактів рідких із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*. В отриманих екстрактах визначено вміст основних груп БАР: ВРПС, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, суми поліфенольних сполук та сухий залишок.

5. Встановлено, що вміст відновлюваних цукрів складає 54,7 % у ВРПС із водного екстракту та 59,4 % у ВРПС з водно-спиртового екстракту трави *G. verum*; 48,5 % у ВРПС із водного екстракту та 52,8 % у ВРПС із водно-спиртового екстракту трави *G. aparine*. Методом ГХ-МС встановлено,

що отримані ВРПС містять глюкозу, галактозу, рамнозу, арабінозу і манозу. Вперше визначено амінокислотний та елементний склад, вміст золи загальної (14,82 % з *G. verum* і 13,55 % із *G. aparine*).

6. Вперше для видів роду *Galium* визначено кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозид. Методом ВЕРХ та УЕРХ-МС у траві *G. aparine* вперше ідентифіковано *n*-гідроксибензойну кислоту, 4-О- та 5-О-кофеїлхінні кислоти, 3,4-, 3,5- та 4,5-О-дикофеїлхінні кислоти, ізорамнетин-3-О-глюкорамнозид, кверцитрин, та кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозид. Вперше методом ВЕРХ у траві *G. verum* та *G. aparine* визначено еускафову та торментинову кислоти, бетулін та лупеол. У траві *G. verum* вперше визначено уваол.

7. Встановлено доцільність комплексної переробки трави *G. verum* та трави *G. aparine*. Встановлено, що вихід пектинових речовин зі шроту, який залишився після отримання водних екстрактів із ЛРС *G. verum*, складає 7,22 %, із ЛРС *G. aparine* – 15,27 %. Встановлено, що вміст золи у пектинових речовинах *G. verum* й *G. aparine* складає 6,84 % й 4,49 % відповідно. Визначено елементний склад пектинових речовин. Вперше отримано сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами для *G. verum* та *G. aparine*, які містять 46,9 % ВРПС і 53,1 % пектинових речовин; 40,67 % ВРПС і 59,33 % пектинових речовин відповідно. Встановлено, що при отриманні ВРПС із шроту, який залишається після послідовно отриманих ліпофільних та фенольних комплексів, його вихід збільшується до 9,83 % із трави *G. verum* та до 15,27 % із трави *G. aparine.*

8. Вперше розроблено параметри стандартизації екстракту рідкого із трави *G. aparine* (екстрагент – вода очищена) та екстракту рідкого із трави *G. verum* (екстрагент – 96 % етанол) на основі дослідження 5 серій на відповідність розробленим вимогам; розроблено проєкти МКЯ «Підмаренника чіпкого екстракт рідкий» та «Підмаренника справжнього екстракт рідкий».

9. Вперше встановлено антибактеріальну та антифунгальну активність екстрактів рідких трави *G. verum* та трави *G. aparine*. Найбільшу активність виявляють екстракти GV-96 та GA-96. Найбільш чутливими до усіх досліджуваних екстрактів виявилися мікроорганізми *Bacillus subtilis.*

10. Вперше встановлено, що екстракти, ВРПС, пектинові речовини та сумарний вуглеводний комплекс із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* виявляють імуномодулювальну активність, більш виражену активність мають екстракти із трави *G. verum*. Вперше встановлено, що імуномодулювальну активність екстрактів (екстрагент 96 % етанол) із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* зумовлюють гідроксикоричні кислоти. Вперше виявлено синергічну дію ВРПС і фенольних сполук у складі екстрактів трави *G. verum* і *G. aparine* (екстрагент вода очищена), що вказує на недоцільність виділення та відокремлення ВРПС із водних екстрактів при отриманні субстанцій імуномодулювальної дії. Вперше встановлено, що сумарні вуглеводні комплекси із трави *G. verum* і *G. aparine* мають вищий рівень імуномодулювальної дії, ніж окремо ВРПС та пектинові речовини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Барнаулов О. Д. Фитотерапия больных бронхолегочными заболеваниями. СПб : Из-во Н-Л., 2008. 304 с.

2. Берштейн Л. М. Урсоловая кислота как противоопухолевое средство и активатор белка-онкосупрессора PTEN и бурого жира. *Вопросы онкологии*. 2012. Т. 58, № 6. С.744–747.

3. Борисов М. И. Фитохимическое исследование подмаренников русского, верболистного и крестообразного : автореф. дис. ... канд. фармац. наук: 15.00.02/М., 1964. 11 с.

4. Бубенчикова В. Н., Старчак Ю. А. Фенольные соединения и полисахариды подмаренника цепкого (Galium aparine L.). *Курский научно-практический весник «Человек и здоровье»*. 2008. № 3. С. 117–121.

5. Гарна С. В., Вєтров П. П., Георгіянц В. А. Взаємозв’язок основних технологічних параметрів рослинної сировини. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 1 (8). С. 54–57.

6. Гарник Т. П., Фролов В. М., Пересадін М. О. Ефективність препаратів рослинного походження деприві́ту та імуноплюсу в лікуванні хворих з синдромом хронічної втоми. *Укр. мед. альманах*. 2008. № 11 (5). С. 50–56.

7. Гарник Т. П., Фролов В. М., Пересадін М. О. Стан системи фагоцитуючих макрофагів у хворих з синдромом хронічної втоми при лікуванні препаратами рослинного походження деприві́том та імуноплюсом. *Укр. мед. альманах*. 2008. № 11 (6). С. 53–57.

8. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. М. : Практика, 2001. 459 с.

9. Голембіовська О. І. Розділення та ідентифікація поліфенолів суцвітть Prunella vulgaris L. методом ВЕРХ. *Вісник стоматології*. 2012. № 7 (80). С. 26–27.

10. Горяча О. В. Фармакогностичне дослідження видів роду Galium L. флори України: дис. ... канд. фармац. наук: 15.00.02/НФаУ. Х., 2013. 308 с.

11. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Х. : РІРЕГ, 2001. 556 с.

12. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 1 допов. Х. : РІРЕГ, 2004. 494 с.

13. Державна фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 2 допов. Х. : Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. 620 с.

14. Державна фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид., 3 допов. Х. : Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2009. 280 с.

15. Дослідження антибактеріальної активності водного витягу з трави Galium verum L./ І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, О. В. Горяча та ін. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : мат. І Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 30-31 бер. 2017 р. В 2-х т., Т. 2. Х. : НФаУ, 2017. С. 363.

16. Дослідження впливу ліпофільних фракцій трави підмаренника справжнього на адгезивні властивості мікроорганізмів / О. В. Горяча, Н. В. Кашпур, А. Ю. Волянський та ін. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2011. Т. 6, № 1. С. 78–82.

17. Дослідження впливу ліпофільних фракцій підмаренника справжнього на протилізоцимні властивості мікроорганізмів / Н. В. Кашпур, О. В. Горяча, А. Ю. Волянський та ін. *Клінічна фармація*. 2011. № 1. С. 43–45.

18. Дослідження кореляційних зв’язків між морфологічними ознаками і флавоноїдним складом видів роду Galium L. / Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, О.В. Горяча, І.Л. Шинковенко. *Хімія природних сполук*: мат.

IV наук.-практ. конференції, м. Тернопіль, 21-22 квіт. 2016 р. Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 25–27.

19. Дослідження полісахаридів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Зб. наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2017. Вип. 28. С. 152–159.

20. Дослідження рідких екстрактів з трави підмаренника справжнього (Galium verum L.) та їх антибактеріальної активності / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, О. В. Горяча та ін. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 25–28.

21. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и алергология. 4-е изд. Москва: МИА, 2010. 552 с.

22. Елементний склад полісахаридів і пектинових речовин трави підмаренника чіпкого / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 27-28 вер. 2018 р. Тернопіль, ТДМУ : Укрмедкнига, 2018. С. 56–57.

23. Ефективність вітчизняних препаратів рослинного походження Артіхолу та Імуноплюсу в медичній реабілітації хворих на неалкогольний стеатогепатит, поєднаний із синдромом підвищеної стомлюваності, та динаміка показників клітинної ланки імунітету / В. М. Фролов, Л. В. Кузнєцова, М. О. Пересадін, Я. А. Соцька. *Укр. мед. часопис*. 2008. № 5 (67). С. 119–124.

24. Использование микрометода для бласттрансформации лимфоцитов человека и животных / Е. П. Киселева, А. С. Цвейбах, Е. И. Гольдман, Н. В. Пигарева. *Иммунология*. 1985. № 1. С. 76–78.

25. Исследование эфирного масла цветков Galium verum L. / Т. В. Ильина, А. М. Ковалева, О. В. Горячая, А. Н. Александров. *Химия природ. соедин*. 2009. № 4. С. 493.

26. Ільїна Т. В. Фармакогностичне дослідження рослин родини Rubiaceae та перспективи їх використання в медицині: дис. ... д-ра. фармац. наук: 15.00.02/НФаУ. Х., 2015. 621 с.

27. Кайшева Н. Ш. Исследование природных полиуронидов и получение лекарственных средств на их основе: автореф. дис. -ра. фармац. наук : 15.00.02/ПГФА. Пятигорск., 2004. 52 с.

28. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 2000. 320 с.

29. Марченко З., Бальцежак М. Методы спектрофотометрии в УФ и видимой областях в неорганическом анализе. М. : Изд-во БИНОМ, 2007. 714 с.

30. Минина С. А., Каухова И. Е. Химия и технология фитопрепаратов. М.: Геотар-Мед., 2004. 516 с.

31. Никитин В. М. Справочник методов иммунологии. Кишинев : Штинца, 1982. 304 с.

32. Полісахариди трави підмаренника чіпкого / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, м. Харків, 12-13 квіт. 2018 р. Х. : НФаУ, 2018. С. 312.

33. Протигрибкова активність ліпофільних фракцій рослин роду Galium. Повідомлення 1. / Н. В. Кашпур, О. В. Горяча, Т. В. Ільїна та ін. *Клінічна фармація*. 2011. Т. 15, № 4. С. 50–53.

34. Решедько Г. К., Стецюк О. У. Особенности определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузным методом. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2001. Т. 3, № 4. С. 348–355.

35. Розробка методів стандартизації нового лікарського засобу піфламін / А. М. Ковальова, Г. В. Георгієвський, В. М. Ковальов та ін. *Фармаком*. 2002. № 2. С. 92–97.

36. Сапоніни екстрактів Galium aparine та Galium verum / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, О. В. Горяча та ін. *Вісник фармації*. 2018. № 4 (96). С. 16–21.

37. Сливкин А. И. Полиурониды. Структура, свойства, применение (обзор). *Вестник ВГУ. Серия химия, биология*. 2000. № 2. С. 30–46.

38. Спосіб оцінки функціональної активності лімфоцитів за допомогою біоаналізатора Agilent 2100: пат. № 105324 України: МПК (2016.01) G01N 21/00. № u201509727; заявл. 07.10.2015; опубліковано 10.03.2016, бюл. № 5.

39. Старчак Ю. А. Фармакогностическое изучение растений рода подмаренник: дис. … канд. фармац. наук: 15.00.02/Курск, 2009. 154 с.

40. Столяров И. Д. Иммунодиагностика и иммунокоррекция в клинической практике. СПб.: Сотис, 2003. 176 с.

41. Тазалок (Універсальне агентство «Про-Фарма») інструкція до застосування [Електронний ресурс] : за матеріалами електронної бази нормативно-директивних документів при МОЗ України – Режим доступу: http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=22937. Дата звернення: 20.03.2018.

42. Фенольні сполуки рідкого екстракту з трави підмаренника чіпкого (Galium aparine L.) / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова та ін. *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). С. 19–24.

43. Фитохимическое изучение сухого экстракта из листьев черники обыкновенной / О. Н. Кошевой, А. Л. Загайко, И. А. Колычев и др. *Azərbaycan əczaçiliq və farmakoterapiya jurnali*. 2016. № 1. P. 18–23.

44. Флора УССР / ред. М. І. Котов. К. : Вид-во: АН УРСР, 1961. Т.10. 491 с.

45. Фролов В. М., Пересадин Н. А., Пшеничный И. Я. Определение фагоцитарной активности моноцитов периферической крови у больных. *Лаборат. дело*. 1990. № 9. С. 27–29.

46. Шинковенко И. Л., Ильина Т. В. Динамика экстрагирования биологически активных веществ из травы подмаренника настоящего. *Перспективы развития биологии, медицины и фармации*: мат. IV Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, 9-10 дек. 2016 г., г. Шымкент, Республика Казахстан. Хабаршысы. Вестник. 2016. № 4 (77). С. 61–62.

47. Шинковенко И. Л., Ильина Т. В. Элементный состав пектинов травы подмаренника настоящего (Galium verum L.). *Перспективы развития биологии, медицины и фармации* : мат. V Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, Республика Казахстан, 9-10 дек. 2017 г. Хабаршысы. Вестник. 2017. Т. VI, № 4 (81). С. 9–10.

48. A Comparative Study of Morphological Features and Flavonoid Composition of Galium L. Genus Species / T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovaleva et al. *Der Pharmacia Lettre*. 2016. Vol. 8, № 13. P. 316–321.

49. A hepatoprotective activity of Galium verum L. extracts against carbon tetrachloride-induced injury in rats / O. V. Goryacha, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova et al. *Der Pharma Chem*. 2017. Vol. 9. P. 80–83.

50. A new anthraquinone from Galium verum L. / C. C. Zhao, J. H. Shao, X. Li et al. *Natural Product Research*. 2006. Vol. 20 (11). P. 981–984.

51. A new flavonoid glycoside from Galium verum / C. C. Zhao, J. H. Shao, C. J. Zhao, X. Li. *Chemistry of Natural Compounds*. 2011. Vol. 47 (4). P. 545–546.

52. A new insecticidal lignan glucoside from Galium verum / J. Chen, C.-C. Zhao, J.-H. Shao, J.-D. Fan, X.-H. Huang. *Chemistry of Natural Compounds*. 2017. Vol. 53 (4). P. 626–628.

53. A study of the extraction kinetics of the minerals from the white lady's bedstraw (Galium mollugo L.) by using an artificial neural network / P. Milić, D. Bekrić, S. Milić , K. Rajkovi. *Hem. Ind*. 2011. Vol. 65. P. 313–321.

54. A traditional chinese medicine composition for treating fish enteritis and its preparation method: pat. CN 106668757 A 20170517, China. Priority to 2015-11-09; application granted 2015-11-09; Publication of CN106668757A 2017-05-17.

55. Active phytochemical detecting, antioxidant, cytotoxic, apoptotic activities of ethyl acetate and methanol extracts of Galium aparine L. / Ö. S. Aslantürk, T. A. Çelik, B. Karabey, F. Karabey. *Br J Pharm Res*. 2017. Vol. 15. P. 1–16.

56. Alamgir M., Uddin S. J. Recent advances on the ethnomedicinal plants as immunomodulatory agents. *Ethnomedicine: A Source of Complementary Therapeutics*. 2010. Vol. 4. P. 227–244.

57. Al-Snafi A. E. Chemical Constituents and Medical Importance of Galium aparine – a Review. *IAJPS*. 2018. Vol. 05 (03). P. 1739–1744.

58. An ethnobotanical study on the usage of wild medicinal herbs from Kopaonik Mountain (Central Serbia) / S. Jarić, Z. Popović, M. Mačukanović-Jocić et al. *J Ethnopharmacol*. 2007. Vol. 111 (1). P. 160–175.

59. Anti-diabetic potential of aerial parts of Galium tricornutum (Dandy) Rubiaceae / S. T. Khan, M. Ahmed, R. A. Khan et al. *Trop J Pharm Res*. 2017. Vol. 16. P. 1573–1578.

60. Antifeedant activity of an anthraquinone aldehyde in Galium aparine L. against Spodoptera litura F. / M. Morimoto, K. Tanimoto, A. Sakatani, K. Komai. *Phytochemistry*. 2002. Vol. 60 (2). P. 163–166.

61. Antimicrobial activities of Galium species / F. Ergun, D. Deliorman, A. Veliolgu et al. *J. Fac. Pharm. Gazi*. 1999. Vol. 16, № 2. P. 7–11.

62. Antimicrobial activity of the genus Galium L. / T. V. Ilyina, O. V. Goracha, E. L. Toryanik et al. *Pharmacogn. Commn*. 2016. Vol. 6. P. 42–47.

63. Antimicrobial, anti-inflammatory, antiparasitic, and cytotoxic activities of Galium mexicanum / P. Bolivar, C. Cruz-Paredes, L. R. Hernández et al. *J Ethnopharmacol*. 2011. Vol. 137. P. 141–147.

64. Antioxidant activity of G. mollugo extracts obtained by different recovery techniques / P. S. Milić, L. P. Stanojević, K. M. Rajković et al. *Hem. ind.* 2013. Vol. 67 (1). P. 89–94.

65. Antioxidant and burn healing potential of Galium odoratum extracts / N. Kahkeshani, B. Farahanikia, P. Mahdaviani et al. *Res Pharm Sci*. 2013. Vol. 8. P. 197–203.

66. Antioxidant properties of Galium verum L. (Rubiaceae) extracts / N. Lakić, N. Mimica-Dukić, J. Isak, B. Božin. *Cent. Eur. J. Biol*. 2010. Vol. 5. P. 331–337.

67. Asperuloside stimulates metabolic function in rats across several organs under high-fat diet conditions, acting like the major ingredient of Eucommia leaves with anti-obesity activity / T. Fujikawa, T. Hirata, S. Hosoo et al. *J. Nutr. Sci*, 2012. Vol. 1 (e10), P. 1-11.

68. Atmaca H. Effects of Galium aparine Extract on the Angiogenic Cytokines and ERK1/2 Proteins in Human Breast Cancer Cells. *CBU J. of Sci*. 2017. Vol. 13 (1). P. 171-179.

69. Banthorpe D. V.; White J. J. Novel anthraquinones from undifferentiated cell cultures of Galium verum. *Phytochemistry*. 1995. Vol. 38. P. 107–111.

70. Benton J. M., Cobb A. H. The modification of phytosterol profiles and in vitro photosynthetic electron transport of Galium aparine L. (cleavers) treated with the fungicide, epoxiconazole. *J. Plant Growth Regul*. 1997. Vol. 22. P. 93–100.

71. Borisov M. I. Coumarins of the genera Asperula and Galium. *Chim Prirod Soed*. 1974. Vol. 10. P. 82.

72. Botanical.com, Clivers, Botanical: Galium aparine, https://botanical.com/botanical/mgmh/c/cliver74.html

73. Bradic J., Petkovic A., Tomovic M. Phytochemical and Pharmacological Properties of Some Species of the Genus Galium L. (Galium verum and mollugo). *Ser J Exp Clin Res*. 2018. Vol. 1-1, P. 1-7.

74. Breeding feed for black-bone chickens and preparation method of breeding feed: pat. CN 106213005 A 20161214 China: Y02P60/877. Priority to 2016-07-27; application granted 2016-07-27; Publication of CN106213005A 2016-12-14.

75. British Herbal Pharmacopoeia / ed. P. Bradley. BHMA: Bournemouth, 2010. 239 p.

76. Care cleaning lotion for treating vulva eczema and preparation method: pat. CN 106177074 A 20161207, China: A61K36/11. Priority to 2016-06-25; application granted 2016-06-25; Publication of CN106177074A 2016-12-07.

77. Cen J. H., Xia R. X. High-performance liquid chromatographic analysis of bioactive triterpenes in Perilla frutescens. *J. Pharm. Biomed. Anal*. 2003. Vol. 32. P. 1175–1179.

78. Chemical composition, antioxidative and anti-inflammatory activity of extracts prepared from aerial parts of *Oenothera biennis* L. and *Oenothera paradoxa* Hudziok obtained after seeds cultivation. / S. Granica, M. E. Czerwinska, J.P. Piwowarski et al. *J. Agric. Food Chem*. 2013. Vol. 61. P. 801-810.

79. Chemical constituents from whole plant of Galiun verum L. / Ch.-ch. Zhao, J.-h. Shao, Y.-w. Zhang et al. *Shenyang Yaoke Daxue Xuebao*. 2009. Vol. 26 (11). P. 904–906.

80. Chemical constituents of Galium verum / C. Zhao, J. Shao, D. Cao et al. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2009. Vol. 34 (21). P. 2761–2764.

81. Chemotaxonomic significance of flavonoids in some species of Galium (Rubiaceae) from Libya / H. Moubasher, M. Abd El-Ghani, S. Al-Wakeel, A. Bahoor. *Austin J. Plant Biol*. 2016. Vol. 2. P. 1014–1021.

82. Clifford M. N., Knight S., Kuhnert N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC–MS(n). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. Vol. 53. P. 3821–3832.

83. Comparative study of polyphenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of four Galium species (Rubiaceae) / L. Vlase, A. Mocan, D. Hanganu et al. *Dig J Nanomater Biostruct*. 2014. Vol. 9. P. 1085–1094.

84. Compendium of botanicals reported to contain naturally occuring substances of possible concern for human health when used in food and food supplements / Robert Anton, Ulla Beckman Sundh, Luc Delmulle et al. *EFSA Journal*. 2012. Vol. 10. P. 2663.

85. Composition of the essential oils of Galium aparine L. and Galium odoratum [L.] Scop. from Turkey / K. H. C. Baser, T. Ozek, N. A. Kirimer, L. Ergun. *Journal of Essential Oil Research*. 2004. Vol. 16 (4). P. 305–307.

86. Content of Bioactive Constituents and Antioxidant Potential of Galium L. Species / M. Friščić, M. Štibrić Baglama, M. Milović et al. *Croat. Chem. Acta*, 2018. Vol. 91 (3). P. 411–417.

87. Cordyceps militaris wine capable of preserving health, and preparation method thereof: pat. CN 106609234 A 20170503. China: A61K35/583. Priority to 2016-10-24; application granted 2016-10-24; Publication of CN106609234A 2017-05-03.

88. Cosmetic composition containing Ailanthi Radicis Cortex extract and Galium verum extract for anti-aging and whitening: pat. KR101522369B1 South Korea: A61K8/9789. Priority to 2014-08-28; application granted 2015-05-21; Publication of KR101522369B1 2015-05-21.

89. Deliorman D., Çalıs I., Ergun F. Iridoids from Galium aparine. *Pharmaceutical Biology*. 2001. Vol. 39 (3). P. 234–235.

90. Determination of some micronutrients and heavy metals content in medicinal plants from spontaneous flora of south-western Romania / I. Imbrea, I. Radulov, G. Pop et al. *Revista de Chimie*. 2016. Vol. 67 (7). P. 1389–1393.

91. Domac R. Flora Hrvatske – priručnik za određivanje bilja (II. izdanje). Zagreb: Školska knjiga, 2002. P. 314–316.

92. Drug for treatment of anorexia: pat. CN 106938027 China: A61K35/57. Priority to 2017-02-27; application granted 2017-02-27; Publication of CN106938027A 2017-07-11.

93. Du Q. A contrast of chlorogenic acid and rutin in different parts of Galium verum L. *Anhui Nongye Kexue*. 2011. Vol. 39 (24). P. 14632–14633, 14635.

94. Effect of Galium verum aqueous extract on growth, motility and gene expression in drug-sensitive and -resistant laryngeal carcinoma cell lines / M. Schmidt, C.-Ju. Scholz, G.-L. Gavril et al. *International journal of oncology*. 2014. Vol. 44 (3). P. 745–760.

95. Effects of Galium aparine extract on the cell viability, cell cycle and cell death in breast cancer cell lines / H. Atmaca, E. Bozkurt, M. Cittan, H. Dilek Tepe. *J Ethnopharmacol*. 2016. Vol. 186. P. 305–310.

96. Ergun F., Sener B. HPLC determination of iridoids found in some Galium species. *Gazi Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 1986. Vol. 3 (1). P. 59–63.

97. Ethnobotanical profiling of the medicinal flora of Kotli, Azad Jammu and Kashmir, Pakistan: Empirical reflections on multinomial logit specifications / M. S. Amjad, M. Arshad, A. Saboor et al. *Asian Pac J Trop Med*. 2017. Vol. 10. P. 503–514.

98. Ethnobotanical studies of Nubra valley – A cold arid zone of Himalaya / P. G. Kumar, S. Gupta, P. M. Murugan, S. B. Singh. *Ethnobot Leaflets*. 2009. Vol. 13. P. 752–765.

99. Ethnobotanical study on medicinal use of wild and cultivated plants in middle, south and west Bosnia and Herzegovina / B. Šarić-Kundalić, C. Dobeš, V. Klatte-Asselmeyer, J. Saukel. *J Ethnopharmacol*. 2010. Vol. 131. P. 33–55.

100. Ethnobotanical study on traditional uses of wild medicinal plants in Prokletije Mountains (Montenegro) / N. Menković, K. Šavikin, S. Tasić et al. *J Ethnopharmacol*. 2011. Vol. 133. P. 97–107.

101. Ethnobotany of medicinal plants from Tian Mu Shan Biosphere Reserve, Zhejiang-Province, China / M. I. Chaudhary, Q. He, Y. Y. Cheng, P. G. Xiao. *Asian J Plant Sci*. 2006. Vol. 5. P. 646–653.

102. Euscaphic acid, a new hypoglycemic natural product from folium Eriobotryae / Y.-x. Wu, T.-y. Jian, H. Lv et al. *Pharmazie.* 2008 Vol. 63 (10). P. 765–767.

103. Evaluation of diverse antioxidant activities of Galium aparine / J. Bokhari, R. M. Khan, M. Shabbir et al. *Spectrochim Acta A.* 2013. Vol. 102. P. 24–29.

104. Flavonoids and an ester derivative isolated from Galium verum L / A. Shafaghat, F. Salimi, N. Aslaniyan, Z. Shoaei. *World Applied Sciences Journal*. 2010. Vol. 11 (4). P. 473–477.

105. Flavonoids from Galium verum L. / C. C. Zhao, J. H. Shao, X. Li et al. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2008. Vol. 10 (7-8). P. 613–617.

106. Flora Europaea, 4th volume, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2010.

107. Flora jadranske obale i otoka / S. Kovačić, T. Nikolić, M. Ruščić et al. Zagreb: Školska knjiga, 2008. P. 182–183, 340–341.

108. Folk phytotherapy of the Amalfi Coast (Campania, Southern Italy) / V. Savo, G. Caneva, P. M. Guarrera, D. Reedy. *J Ethnopharmacol*. 2011. Vol. 135. P. 376–392.

109. Fukumoto L. R., Mazza G. Assessing, antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem*. 2000. Vol. 48. P. 3597–3604.

110. Galium – Heel (Heel inc.) інструкція до застосування [Електронний ресурс] : за даними сайту «tabletki.ua» – Режим доступу:

https://tabletki.ua/%D0%93%D0%B0%D0%BB%D0%B8%D1%83%D0%BC-%D1%85%D0%B5%D0%B5%D0%BB%D1%8C/ Дата звернення: 20.03.2018.

111. Galium verum aqueous extract strongly inhibits the motility of head and neck cancer cell lines and protects mucosal keratinocytes against toxic DNA damage / M. Schmidt, C. Polednik, J. Roller, R. Hagen. *Onkology reports*. 2014. Vol. 9. P. 1296-1302.

112. Gelenčir N. Prirodno liječenje biljem i ostalim sredstvima. Zagreb: Nakladni zavod Znanje, 1990. P. 202, 215–216.

113. Golembiovska O. I. Simultaneous determination of flavonoids and phenolic acids in different parts of Prunella vulgaris L. by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. *Int. J. Pharmacog. Phytochem*. 2014. Vol. 29 (1). P.1248-1255.

114. Granica S., Piwowarski J. P., Kiss A. K. Ellagitannins modulate the inflammatory response of human neutrophils ex vivo. *Phytomedicine*. 2015. Vol. 22. P. 1215–1222.

115. Grieve M. A modern herbal. [Електронний ресурс]: Режим доступу: https://www.botanical.com/botanical/ mgmh/c/ cross117.html, datum pristupa: 5.2.2018.

116. Grlić Lj. Enciklopedija samoniklog jestivog bilja. II. izdanje. Zagreb: August Cesarec Zagreb, 1990. P. 326–328.

117. Gudzenko A. Development and Validation of a RP-HPLC Method for The Simultaneous Determination of Luteolin and Apigenin in Herb of Achillea millefolium L. *Pharma Innov. J.* 2013. Vol. 2 (7). P. 7–14.

118. Gynex (Energy Group) інструкція до застосування [Електронний ресурс] : за матеріалами сайту корпорації Energy Group – Режим доступу: http://www.energy.sk/info/menu_x2035x.asp. Дата звернення: 20.03.2018.

119. Heide L., Leistner E. Enzyme activities in extracts of anthraquinone-containing cells of Galium mollugo. *Phytochem*. 1983. Vol. 22: P. 659–662.

120. Hepatoprotective effects of Berberis lycium, Galium aparine and Pistacia integerrima in carbon tetrachloride [CCl4] treated rats / M. A. Khan, J. Shafiullah, S. A. Malik, M. Shafi. *J Post Grad Med Inst*. 2008. Vol. 22 (2). P. 91–94.

121. Hierarchical Scheme for LC-MS(n) Identification of Chlorogenic Acids. /M. N. Clifford, S. Knight, K. L. Johnston, N. Kuhnert. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003., Vol. 51. P. 2900–2911.

122. How much selenium do medicinal plants contain? Results of a research of wild-growing species from Western Romania / D. S. Antal, C. M. Canciu, C. A. Dehelean, M. A. Anke. *Univ Oradea Fasc Biol*. 2010. Vol. 17. P. 23–28.

123. Identification and Characterization of Hydroxycinnamates of Six Galium Species from the Rubiaceae Family / R. Jaiswal, M. F. Matei, S. Deshpande, N. Kuhnert. Edited By: Hostettmann, Kurt. Handbook of Chemical and Biological Plant Analytical Methods. 2014. 2, P. 505-524.

124. Idolo M., Motti R., Mazzoleni S. Ethnobotanical and phytomedicinal knowledge in a long-history protected area, the Abruzzo, Lazio and Molise National Park (Italian Apennines). *J Ethnopharmacol*. 2010. Vol. 127, P. 379–395.

125. Ilina T. V., Kovaleva A. M., Goryachaya O. V. Essential oil from Galium verum flowers. *Chemistry of Natural Compounds*. 2009. Vol. 45, P. 587–588.

126. Investigations regarding the phytochemical study of some samples of Galium verum L. and Galium album Mill. / G. Ghiţă, R. Necula, A. Trifan et al. *An Stiint Univ Al I Cuza Iasi sect II a Biol veget*. 2012. Vol. 58. P. 45–50.

127. Iridioids and Alkanes in Twelve Species of Galium and Asperula / D. Corrigan, F. R. Timoney, M. X. D. Donnelly. *Phytochemystry*. 1978. Vol. 17. P. 1311–1313.

128. Iridoid glycosides from Galium verum / K. Horvath-Bojthe, F. Hetenyi, A. Kocsis et al. *Phytochem*. 1982. Vol. 21. P. 2917–2919.

129. Iridoid patterns in Galium L. and some phylogenetic considerations / M. I. Mitova, M. E. Anchev, N. V. Handjieva, S. S. Popov. *Z. Naturfosch C.* 2002. Vol. 57. P. 226–234.

130. Iridoids Are Natural Glycation Inhibitors / B. J. West, S. Deng, A. Uwaya et al. *Glycoconjugate Journal*, 2016. Vol. 33. P. 671–681.

131. Iridoids, Flavonoids and Monoterpene Glycosides from Galium verum subsp. verum / O. Demirezer, F. Gurbuz, Z. Guvenalp et al. *Turk J Chem*. 2006. Vol. 30. P. 525–534.

132. Jámbor A., Molnár-Perl I. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. Literature overview and further. *J. Chromatography A.* 2009. Vol. 1216, № 15. P. 3064–3077.

133. Jámbor A., Molnár-Perl I. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. *J. Chromatography A.* 2009. Vol. 1216, № 34. P. 6218–6223.

134. Jan A. K., Anis I.,, Shah M. R. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of Galium tricornutum subsp. longipedanculatum from Pakistan. *Chemistry of Natural Compounds*. 2015. Vol. 51 (1). P. 164–165.

135. Kidney-invigorating essence-boosting and euryales semen alcohol and preparation method thereof: pat. CN 106318814 A 20170111, China: A61K35/583. Priority to 2016-08-23; application granted 2016-08-23; Publication of CN106318814A 2017-01-11.

136. Kim D. K. Superoxide quenching activity of phenolic compounds from the whole plant of Galium verum var. asiaticum. *Natural Product Sciences*. 2011. Vol. 17 (4), P. 261–266.

137. Kinetic modeling and optimization of maceration and ultrasound-extraction of resinoid from the aerial parts of white lady’s bedstraw (Galium

mollugo L.) / P. S. Milić, K. M. Rajković, S. O. Stamenković, B. V. Veljković. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2013. Vol. 20. P. 525–534.

138. Kunduhoglu B., Pilatin S., Caliskan F. Antimicrobial screening of some medicinal plants collected from eskisehir, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*. 2011. Vol. 20 (4). P. 945–952.

139. Kutova V. M., Shynkovenko I. L., Ilyina T. V. Study of dynamycs of bioactive substunce extraction from Yellow Bedstraw (Galium verum) Herb Meal. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів*: тези доп. XXIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 21 квіт. 2016 р. В 2-х томах, Т. 1. Х. : Вид-во НФаУ, 2016. С. 86.

140. Kutova V. M. , Shynkovenko I. L. Monitoring of the extraction of pectins from the herb of Galium verum L. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. XXIV Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 20 квіт. 2017 р. В 2-х томах, Т. 1. Х. : Вид-во НФаУ, 2017. С. 88.

141. Kvatchoff V. G. Application de subculture de leycocytes en test-systeme devalution immunomodule de vims in vitro. *IV International Congress Cell Biology* : Abstracts. Montreal (Canada), 1988. P. 205.

142. Layali I., Ebrahimzadeh M. A., Joulaei M. Antioxidant properties of Galium verum. *International Journal of Life Science and Pharma Research*. 2016. Vol. 6 (3). P. 31–37.

143. Lee T. G.; Kim D. K. Iridoid Compounds from the Whole Plant of Galium verum var. asiaticum. *Nat. Prod. Sci*. 2013. Vol. 19. P. 227–230.

144. Leng G. Determination of oleanolic acid and ursolic acid in different parts of Mesona Chinensis Benth by RP–HPLC. *Chin. J. Spectrosc. Lab*. 2011. Vol. 28. P. 2111–2114.

145. Liquid Phase and Microwave-Assisted Extractions for Multicomponent Phenolic Pattern Determination of Five Romanian Galium Species Coupled with Bioassays / A Mocan, A Diuzheva, S Bădărău et al. *Molecules*, 2019. Vol. 24 (7), P. 1226–1242.

146. Lumpert M., Kreft S. Folk use of medicinal plants in Karst and Gorjanci, Slovenia. *J Ethnobiol Ethnomed*. 2017. Vol. 13. P. 16.

147. Lupeol as a magical drug / A. Wal, R.S. Srivastava, P. Wal et al. *Pharmaceutical And Biological Evaluations*. 2015. Vol. 2 (5). P. 142–151.

148. Lymphatic-drainage (Nature`s sunshine NSP) інструкція до застосування [Електронний ресурс] : за матеріалами сайту корпорації Nature`s sunshine NSP – Режим доступу: https://nsp.com.ua/shop/bady/146778.html Дата звернення: 20.03.2018.

149. Martins D., Nunez C. V. Secondary metabolites from Rubiaceae species. *Molecules*. 2015. Vol. 20. P. 13422–13495.

150. Marušić R. Ljekovitim biljem do zdravlja. Zagreb: Mladost, 1990. P. 307–308, 322, 342–343.

151. Matei A. O.; Gatea F., Radu G. L. Analysis of phenolic compounds in some medicinal herbs by LC-MS / *Journal of Chromatographic Science*. 2015. Vol. 53 (7). P. 1147–1154.

152. Mechanism of flavonoids from Galium verum on cell proliferation and apoptosis of HepG2 / H.-x. Li, Y.-li Ma, L.-en Shi et al. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. 2013. Vol. 44 (10). P. 1290-1294.

153. Medical ethnobotany of the Albanian Alps in Kosovo / B. Mustafa, A. Hajdari, F. Krasniqi et al. *J Ethnobiol Ethnomed*. 2012. Vol. 8. P. 6.

154. Medical sterilizing and skin-soothing cleaner and preparation method thereof: pat. CN 106692429 A 20170524 China: A61K36/185. Priority to 2016-12-09; application granted 2016-12-09; Publication of CN106692429A 2017-05-24.

155. Medicinal and useful plants in the tradition of Rotonda, Pollino National Park, Southern Italy / P. Di Sanzo, L. De Martino, E. Mancini, V. De Feo. *J Ethnobiol Ethnomed*. 2013. Vol. 9. P. 19.

156. Milović M. The flora of Šibenik and its surroundings. *Nat Croat*. 2002. Vol. 11. P. 171– 223.

157. Mitova M.I., Anchev M.E., Handjieva N.V. Iridoid patterns in Galium L. and some phylogenetic considerations. *Z. Naturforsch C*. 2002. Vol. 57 (3-4). P. 226-234.

158. Mosyakin S. L., Fedoronchuk M. M. Vascular plants of Ukraine: a nomenclatural checklist. К.: M. G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, 1999. 345 p.

159. Neelam S., Din Khan Z. U. Antioxidant activity of Galium aparine L from Punjab, Pakistan. *Pak J Bot*. 2012. Vol. 44. P. 251–253.

160. Nikolić T, Kovačić S. Flora Medvednice. Zagreb: Školska knjiga, 2008. P. 282–283, 436–437.

161. Nikolić V., Sigunov A., Diklić N. Appendix of the Flora of Serbia by new data for distribution plant species. Serbian Academy of Sciences and Arts, Belgrade. 1986.

162. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Total Extractive Substances from Galium verum L. / K. M. Rajković, S. Jeremić, P. S. Milić et al. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*. 2017. Vol. 61(3). P. 200–205.

163. Patil V. V., Bhangale S. C. Studies on immunomodulatory activity of Ficus carica. *Intern. J. of Pharmacy and Pharmac. Sciences*. 2010. Vol. 2 (4). P. 97–99.

164. Patočka J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine signification. *Journal of Applied Biomedicine*. 2003. Vol. 1. P. 7–12.

165. Pentacyclic Triterpene Distribution in Various Plants – Rich Sources for a New Group of Multi-Potent Plant Extracts / S. Jäger, H. Trojan, Th. Kopp et al. *Molecules*. 2009. Vol. 14 (6). P. 2016–2031.

166. Pharmaceutical composition for treating gastritis: pat. CN 107115473 A 20170901, China: A61K36/11. Priority to 2017-05-08; application granted 2017-05-08; Publication of CN107115473A 2017-09-01.

167. Phenolic compounds from Galium aparine var. tenerum /J. Yang, X. Cai, S. Mu, X. Yang. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2009. Vol. 34 (14). P. 1802–1804.

168. Phenolic compounds of the liquid extract of Lady's bedstraw herb (Galium verum L.) / I. Shinkovenko, T. Ilina, A. Kovalyova et al. *Sciences and Practice 2018 : The 9th International Pharmaceutical Conference dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy*, November 09, 2018 Kaunas, Lithuania. P. 22.

169. Phytochemical investigations on four Galium species (Rubiaceae) from Romania / A. Mocan, G. Crișan, L. Vlase et al. *Farmacia*, 2016. Vol. 64 (1). P. 95–99.

170. Phytochemical research of Galium aparine L. lipophilic complex and study of its antibacterial activity / O. V. Goryacha, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, N. V. Kashpur. *The Pharma Innovation Journal*. 2014. Vol. 3 (1). P. 7–10.

171. Pieroni A., Quave C. L. Traditional pharmacopoeias and medicines among Albanians and Italians in southern Italy: A comparison. *J Ethnopharmacol.* 2005. Vol. 101. P. 258–270.

172. Plant resources used in Serbian medieval medicine – Ethnobotany and ethnomedicine / S. Jarić, M. Mitrović, B. Karadžić et al. *Genet Resour Crop Evol*. 2014. Vol. 61. P. 1359–1379.

173. Plants of the world online, Galium aparine L. http://powo.science.kew.org/taxon/30007294-2.

174. Polyphenols analysis from different medicinal plants extracts using capillary zone electrophoresis (CZE) / A. O. Matei; F. Gatea, T. E. Dumitra, G. L. Radu. *Revista de Chimie*. 2016. Vol. 67 (6). P. 1051–1055.

175. Preparation method of bitter gourd and parslane herb tea: Pat. CN 106720769 A 20170531, China: A23F3/34. Priority to 2016-12-12; application granted 2016-12-12; Publication of CN106720769A 2017-05-31.

176. Protective effect of flavones from Galium verum L on human umbilical vein endothelial cells injured by hydrogen dioxide / L.-en Shi, Q. Ling, X.-lei Yang et al. *Zhongguo Xinyao Zazhi*. 2012. Vol. 21 (13). P. 1523-1527.

177. Protective effects of diosmetin extracted from Galium verum L. on the thymus of U14-bearing mice / R. Zhao, Z. Chen, G. Jia et al. *Can J Physiol Pharmacol*. 2011. Vol. 89 (9). P. 665–673.

178. Protective Effects of Galium verum L. Extract against Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury in Spontaneously Hypertensive Rats / J. Bradic, V. Zivkovic, I. Srejovic et al. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. Vol. 2019, P. 1-11.

179. 179].

180. Roman I., Puică C. Effects of Anakinetic Stress and Galium verum extract on the hyroid and ovary morphology in Wistar rats. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine*. 2013. Vol. 70. P. 167–169.

181. Roman I., Toma V. Al., Farcaş A. D. Protective effects of Galium verum L. extract on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under anakinetic stress conditions, in rats. histological aspects. *Studia Universitatis "Vasile Goldiş", Seria Ştiinţele Vieţii*. 2015. Vol. 25 (3). P. 207–214.

182. Saleem M. Lupeol, A Novel Anti-inflammatory and Anti-cancer Dietary Triterpene. *Cancer Lett*. 2009. Vol. 285 (2). P. 109–115.

183. Salem M. L. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. *Intern. Immunopharmacol*. 2005. Vol. 5. P. 1749–1770.

184. Saskatchewan University, Weed control in organic agriculture, Galium aparine, https://words.usask.ca/plsc243/weed-profiles/cleavers/.

185. Separation and purification and in vitro anti-proliferative activity of leukemia cell K562 of Galium aparine L. petroleum ether phase / G. Shi, J. Liu, W. Zhao et al. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2016. Vol. 24 (3). P. 241–244.

186. Sharma P., Samant S. S. Diversity, distribution and indigenous uses of medicinal plants in Parbati Valley of Kullu district in Himachal Pradesh, Northwestern Hima laya. *Asian J Adv Basic Sci*. 2014. Vol. 2. P. 77–98.

187. Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol*. 1999. Vol. 299. P. 152–178.

188. Šoljan D., Muratović E., Abadžić S. Biljke planina Bosne i Hercegovine. Sarajevo: TKD Šahinpašić, 2009. P. 260.

189. Tamas M., Stana D., Timis S. Comparative phytochemical research of Galium verum and G. mollugo L. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. 2006. Vol. 34. P. 18–20.

190. Tao C., Ehrendorfer F. Galium Linnaeus. Fl. China. 2011; 19:104–141.

191. The antioxidant, hemolytic and cholinesterase inhibition properties of Galium verum L. and Tragopogon pratensis subsp. pratensis / V. D. Mitic; V. P. Stankov-Jovanovic, M. D. Ilic et al. *Bulgarian Chemical Communications*. 2014. Vol. 46 (2). P. 269–276.

192. The effect of Diosmin on the blood proteome in a rat model of venous thrombosis / C. Cheng, H. Zhang, Y. Li et al. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017. Vol. 104 (Part_A), P. 778–787.

193. The Immunomodulatory Activity of the Aqueous Extract and Complexes of Biologically Active Compounds of Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilyina et al. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. № 67. С. 25–29.

194. The immunomodulatory activity of the ethanolic extracts from Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilina et al. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. № 67 (3). С. 101–106.

195. The Phytochemical Profile and Antibacterial Activity of the Fluid Extracts of Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, T. V. Ilyina, O. V. Goryacha et al. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 25–28.

196. The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-85676, http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-87863

197. The Significance Application of Indigenous Phytohemagglutinin (PHA) Mitogen on Metaphase and Cell Culture Procedure / A. Movafagh, H. Heydary, S. A. Mortazavi-Tabatabaei, E. Azargashb. *Iran. J. Pharm. Res*. 2011. Vol. 10 (4). P. 895–903.

198. Toplak G. K. Domaće ljekovito bilje. Zagreb: Mozaik knjiga, 2005. P. 114–115.

199. Tradicionalna upotreba, kemijski sastav i biološki učinci vrsta roda Galium L. / M. Friščić, M. Š. Baglama, M. Milović et al. *Farmaceutski glasnik: glasilo Hrvatskog farmaceutskog društva*. 2018. Vol. 74 (5). P. 343-350.

200. Traditional Chinese medicine for treating cluster headache: pat. CN 106692747 A 20170524, China: A61K35/02. Priority to 2016-12-25; application granted 2016-12-25; Publication of CN106692747A 2017-05-24.

201. Traditional Chinese medicine preparation for treating ascites due to cirrhosis and preparation method: pat. CN 106109726 A 20161116, China: A61K36/27. Priority to 2016-07-29; application granted 2016-07-29; Publication of CN106109726A 2016-11-16.

202. Traditional medicinal plant knowledge among Albanians, Macedonians and Gorani in the Sharr Mountains (Republic of Macedonia) / B. Rexhepi, B. Mustafa, A. Hajdari et al. *Genet Resour Crop Evol*. 2013. Vol. 60. P. 2055–2080.

203. Validation of Caffeic Acid in Emulsion by UV-Spectrophotometric Method / C. M. Spagnol, Th. S. Oliveira, V. I. Lucia Borges et al. *Physical Chemistry*. 2015. Vol. 5 (1). P. 16–22.

204. Wild plants used for food by Hungarian ethnic groups living in the Carpathian Basin / A. Dénes, N. Papp, D. Babai et al. *Acta Soc. Bot. Pol*. 2012. Vol. 81. P. 381–396.

205. Yezerska O., Kalynyuk T., Vronska L. Quantitative determination of hydroxycinnamic acids in Chicory root. *Chemistry and chemical technology*. 2013. Vol. 7 (3). P. 247–250.

206. Yigit D., Yigit N., Ozgen U. An investigation on the anticandidal activity of some traditional medicinal plants in Turkey. *Mycoses*. 2008. Vol. 52. P. 135–140.

207. Zahariev D., Taneva L., Racheva K. Medicinal plants in Rhodope Mts (South Bulgaria). *Acta Sci Natur*. 2015. Vol. 2. P. 99–109.

208. Zhao C. C. Studies on the chemical constituents and biological activities of fruits of Ailanthus altissima Swingle and Galium verum L. Ph. D. thesis, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang, China. 2007.

209. Zhao C. C., Shao J. H., Li X. A new bioflavonoid from Calium verum L. Chin. *J. Med. Chem*. 2006. Vol. 16 (6). P. 386–390.

ДОДАТКИ

Додаток А

Термін та місце заготівлі ЛРС

№ з/п	Вид підмаренників	Місце заготовки	Термін (місяць та рік)
1	*G. verum* L.	Харківська обл. – с. Руські Тишки; Івано-Франківська обл. – м. Галич	VI, 2014–2018 рр.
2	*G. aparine* L.	Харківська обл. – м. Харків; Івано-Франківська обл. – м. Яремче	V-VI, 2014–2018 рр.
3	*G. palustre*	Сумська обл. – м. Охтирка	VI, 2015 р.
4	*G. Schultesii*	Івано-Франківська обл. – м. Яремче	VI; 2015 р.
5	*G. erectum*	АР Крим – м. Алушта	VI; 2014 р.
6	*G. mollugo*	Харківська обл. – Ново-Водолажський р-н	VI; 2016 р.
7	*G. boreale*	Харківська обл. – м. Харків	VI; 2015 р.
8	*G. rubioides*	Харківська обл. – м. Харків	VI; 2016 р.
9	*G. polonicum*	Івано-Франківська обл. – Яблуневий перевал	VI; 2016 р.
10	*G. Juzepczukii*	АР Крим – м. Алушта	VI; 2014 р.
11	*G. calcareum*	АР Крим – м. Алушта	VI; 2014 р.
12	*G. uliginosum*	Харківська обл. – с. Соколове	VI; 2015 р.
13	*G. elongatum*	АР Крим – м. Бахчисарай	VI; 2014 р.
14	*G. verticillatum*	Херсонська обл. – с. Щасливцеве	VI; 2015 р.
15	*G. tenuissimum*	Запоріжська обл. – м. Мелітополь	VI; 2015 р.
16	*G. spurium*	Сумська обл. – м. Охтирка	VI, 2015 р.
17	*G. ruthenicum*	Харківська обл. – с. Соколове	VI; 2015 р.

Додаток Б

Список публікацій здобувача

1. Дослідження полісахаридів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Зб. наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2017. Вип. 28. С. 152 – 159. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).

2. The phytochemical profile and antibacterial activity of the fluid extracts of Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovalyova, T. P. Osolodchenko, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 25 – 28. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та підготовці статті).

3. Phenolic compounds of the liquid extract from cleavers herb (Galium aparine L.) / I. L. Shynkovenko, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. I. Golembiovska, N. S. Shemchuk, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). С. 19 – 24. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі результатів та написанні статті).

4. Saponins of the extracts of Galium aparine and Galium verum / I. L. Shynkovenko, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. I. Golembiovska, O. M. Koshovyi. *Вісник фармації*. 2018. № 4 (96), С. 16 – 21. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).

5. A comparative study of morphological features and flavonoid composition of Galium L. genus species / T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovaleva, O. M. Koshovyi and I. L. Shinkovenko. *Der Pharmacia Lettre*. 2016. Vol. 8, № 13. P. 316 – 321. Видання бази Скопус. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, участь у аналізі результатів та написання статті).

6. The immunomodulatory activity of the aqueous extract and complexes of biologically active compounds of Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko,

N. V. Kashpur, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. M. Koshovyi, E. L. Toryanyk, O. V. Kryvoruchko. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. № 67, P. 25 – 29. Видання бази Скопус. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстрактів, частина експериментальних досліджень та написаня статті).

7. The immunomodulatory activity of the ethanolic extracts from Galium verum L. herb / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, N. S. Shemchuk, O. V. Kryvoruchko, A. M. Komissarenko. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. № 67 (3). P. 101 – 106. Видання бази Скопус. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстрактів, частина експериментальних досліджень та написаня статті).

8. Phytochemical profiles and in vitro immunomodulatory activity of ethanolic extracts from Galium aparine L. / T. Ilina, N. Kashpur, S. Granica, A. Bazylko, I. Shinkovenko, A. Kovalyova, O. Goryacha and O. Koshovyi. *Plants*. 2019. Vol. 8 (12). P. 541 – 554. Видання баз Scopus та Web of Science. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстрактів, частина експериментальних досліджень).

9. Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника справжнього: пат. 120554 України: A61K 36/74, A61P 37/02 (2006.01)/ І. Л. Шинковенко, Н. В. Кашпур, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. № u 2017 04409, заявл. 03.05.17; опубл. 10.11.17, Бюл. № 21. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, аналізі результатів та оформленні патенту).

10. Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника чіпкого: пат. 136235 України: A61K 36/74, A61P 37/00, МПК (2019.01) / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, Н. В. Кашпур, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко, О. М. Кошовий. № u 201901943, заявл. 26.02.2019; опубл. 12.08.19, Бюл. № 15. (Особистий внесок – заготівля сировини, отримання екстракту, участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та оформленні патенту).

11. Kutova V. M., Shynkovenko I. L., Ilyina T. V. Study of dynamics of bioactive substance extraction from Yellow Bedstraw (Galium verum) Herb Meal. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. XXIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 21 квіт. 2016 р. В 2-х томах, Т. 1. Х. : Вид-во НФаУ, 2016. С. 86. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі результатів та написанні тез).

12. Дослідження кореляційних зв'язків між морфологічними ознаками і флавоноїдним складом видів роду Galium L. / Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, О. В. Горяча, І. Л. Шинковенко. *Хімія природних сполук*: матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 21-22 квіт. 2016 р. Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 25 – 27. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, обробка результатів та підготовка тез).

13. Дослідження динаміки екстрагування гідроксикоричних кислот із шроту трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, О. В. Горяча, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Фармація XXI століття : тенденції та перспективи* : мат. VIII Нац. з'їзду фармацевтів України Харків, 13 – 16 вер. 2016 р. : у 2 т. Т.1 / М-во охорони здоровя України, Нац. фармац. ун-т; ред. кол.: В. П. Черних (голова) та ін.; уклад. : С. Ю. Данильченко та ін. Харків: НФаУ, 2016. С. 154. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та написанні тез).

14. Дослідження динаміки екстрагування флавоноїдів із шроту трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко, І. М. Поліщук. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарсбких препаратів* : мат. VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 10 – 11 листоп. 2016р., Тернопіль : Укрмедкнига, 2016. С. 79. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці тез).

15. Шинковенко И. Л., Ильина Т. В. Динамика экстрагирования биологически активных веществ из травы подмаренника настоящего.

Перспективы развития биологии, медицины и фармации : мат. IV Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, 9 – 10 дек. 2016 г., г. Шымкент, Республика Казахстан. Хабаршысы. Вестник. 2016. № 4 (77). С. 61 – 62. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, обробці результатів та підготовці тез).

16. Дослідження антибактеріальної активності водного витягу з трави Galium verum L./ І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, О. В. Горяча, А. М. Ковальова, А. М.Комісаренко. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : мат. І Міжнар. наук.-практ конф., м. Харків, 30 – 31 бер. 2017 р. В 2-х т., Т. 2. Х. : НФаУ, 2017. С. 363. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та підготовці тез).

17. Kutova V. M., Shynkovenko I. L. Monitoring of the extraction of pectins from the herb of Galium verum L. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. XXIV Міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 20 квіт. 2017 р. В 2-х томах, Т. 1. Х. : Вид-во НФаУ, 2017. С. 88. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці тез).

18. Шинковенко И. Л., Ильина Т. В. Элементный состав пектинов травы подмаренника настоящего (Galium verum L.). *Перспективы развития биологии, медицины и фармации* : мат. V Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, 9 – 10 дек. 2017 г., г. Шымкент, Республика Казахстан. Хабаршысы. Вестник. 2017. Т. VI, № 4 (81). С. 9 – 10. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та підготовці тез).

19. Полісахариди трави підмаренника чіпкого / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, 12 – 13 квіт.

2018 р. Х. : НФаУ, 2018. С. 312. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та написанні тез).

20. Елементний склад полісахаридів і пектинових речовин трави підмаренника чіпкого / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27 – 28 вер. 2018 р. Тернопіль, ТДМУ : Укрмедкнига, 2018. С. 56 – 57. (Особистий внесок – брав участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці тез).

21. Phenolic compounds of the liquid extract of Lady's Bedstraw herb (Galium verum L.) / I. Shinkovenko, T. Ilina, A. Kovalyova, O. Goryacha, O. Golembiovska, A. Komissarenko. *Sciences and Practice 2018* : The 9th Internat. Pharmac. Conf. dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy, Nov. 09, 2018, Kaunas, Lithuania. P. 22. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, аналізі результатів та підготовці тез).

22. Дослідження імуномодулюючої дії вуглеводів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, Н. В. Кашпур. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : мат. III Міжнар. наук.-практ. конференції. У 2-х т. Т. 2. м. Харків, 14 – 15 бер. 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 317. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, аналізі результатів та написанні тез).

23. Определение технологических параметров травы *Galium verum* и *Galium aparine* / И. Л. Шинковенко, Т. В. Ильина, А. М. Ковалева, О. Н. Кошевой, Н. В. Бородина. *Современные достижения фармацевтической науки и практики*: мат. междунар. конфер., посвящ. 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»/ под. ред. А. Т. Щастного. Витебск, 31 окт., 2019. Витебск : ВГМУ, 2019. С. 135 –

137. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, обробка результатів та підготовка тез).

24. Дослідження кореляційних зв’язків між морфологічними ознаками та іридоїдним складом видів роду Galium L. / Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, І. Л. Шинковенко, О. В. Горяча, О. М. Кошовий, Н. В. Бородіна. *Planta+. Досягнення та перспективи*: міжнар. наук.-практ. конфер., присвячена пам’яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), м. Київ, 20 – 21 лютого 2020 р. К. : Паливода А. В., 2020. С. 83 – 86. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, обробка результатів та підготовка тез).

25. Вуглеводні комплекси трави *Galium verum* L. і *Galium aparine* L. та їх імуномодулююча активність /Т. В. Ільїна, І. Л. Шинковенко, Н. В. Кашпур, О. В. Горяча, А. М. Ковальова, О. М. Кошовий. *Ліки – людині Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : мат. IV міжнар. наук.-практ. конфер., м. Харків, 12 – 13 бер. 2020 р. У двох томах. Т. 2. Харків, НФаУ, 2020. С. 277 – 278. (Особистий внесок – брав участь у експериментальних дослідженнях, узагальненні результатів та написанні тез).

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. XXIII Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 21 квітня 2016 р., форма участі – публікація тез);

2. IV Всеукраїнська науково-практична конференція «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р., форма участі – публікація тез);

3. VIII Національний з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття : тенденції та перспективи» (Харків, 13–16 вересня 2016 р., форма участі – публікація тез);

4. VI Науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль 10–11 листопада 2016 р., форма участі – публікація тез);

5. IV Международная научная конференция молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, Республика Казахстан, 9-10 декабря 2016 р., форма участі – публікація тез);

6. I Міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 30-31 березня 2017 р., форма участі – публікація тез);

7. XXIV Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 20 квітня 2017 р., форма участі – публікація тез);

8. V Международная научная конференция молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, Республика Казахстан, 9-10 декабря 2017 р., форма участі –

публікація тез);

9. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 12-13 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез);

10. VII Науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 27–28 вересня 2018 р., форма участі – публікація тез);

11. The 9th Intenational Pharmaceutical Conference dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy «Sciences and Practice 2018» (Kaunas, Lithuania, November 09, 2018 р., форма участі – постерна доповідь);

12. III Міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 14-15 березня 2019 р., форма участі – усна доповідь);

13. Международная конференция «Современные достижения фармацевтической науки и практики», посвященная 60-летию фармацевтического факультета Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета (Витебск, 31 октября 2019 р., форма участі – публікація тез);

14. Міжнародна науково-практична конференція «Planta+. Досягнення та перспективи», присвячена пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) (Київ, 20-21 лютого 2020 р., форма участі – публікація тез);

15. IV Міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 12-13 березня 2020 р., форма участі – публікація тез).

Додаток В

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ Міністерства охорони здоров'я України
_____№_____
Реєстраційне посвідчення
№_____

Виробник **ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик"**
країна: **УКРАЇНА**

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Galii veri extractum fluidum

Підмаренника справжнього екстракт рідкий,

екстракт рідкий (субстанція)
у банках із скломаси для виробництва нестерильних лікарських форм

МАРКУВАННЯ

На етикетці українською та російською мовами вказують: назву заявника та виробника, їх адреси, назву препарату українською, російською та англійською мовами, масу препарату в кілограмах, умови зберігання, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності.

УПАКОВКА

По 1 кг у банки зі скломаси з гвинтовою горловиною з пластмасовими кришками, що нагвинчуються і прокладками з картону прокладочного. Горловину банки з кришкою обертають подпергаментом, обв'язують ниткою поліпропіленовою фибрильованою або шпагатом з луб'яних волокон, армованим хімічною ниткою, на кінці якої наклеюють етикетку з паперу, що самоклеїться.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Зберігають у захищеному від світла місці при температурі не вище + 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Копія вірна

Генеральний директор
ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик" Сафонов В.А.

Завідувач кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного університету Кошовий О.М.

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи (інноваційної та науково-дослідної) Національного фармацевтичного університету
професор _____ І. М. Владимирова
«22» _____02_____ 2020 р.

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ (ПРОЕКТ)

ПІДМАРЕННИКА ЧІПКОГО ТРАВА (*GALII APARINI* HERBA)

Термін введення встановлено з
«22» _____02_____ 2020 р.

МАРКУВАННЯ

На етикетці вказують: назва й адреса відправника, назва сировини, номер партії, масу партії, рік і місяць збору або заготівлі.

ТРАНСПОРТУВАННЯ

Відповідно до ДЕРЖСТАНДАРТ 17768-90.

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, чистому, що добре вентилюється, захищеному від світла місці, не зараженому комірними шкідниками, при температурі не вище 25 ^{0C}.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки

Розробники:

аспірант кафедри фармакогнозії НФаУ І. Л. Шинковенко

доктор фармацевтичних наук,
професор кафедри фармакогнозії НФаУ Т. В. Ільїна

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОГИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної
роботи (інноваційної та науково-
дослідної) Національного
фармацевтичного університету
професор _____ І. М. Владимирова
«22» _____08_____ 2020 р.

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ (ПРОЕКТ)

Galii aparini extractum fluidum

Підмаренника чіпкого екстракт рідкий,

екстракт рідкий (субстанція)
у банках із скломаси для виробництва нестерильних лікарських форм

Термін введення встановлено з
«22» _____08_____ 2020 р.

Сума гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову ($C_{16}H_{18}O_9$; *М.м.* 354.3) має бути не менше 1,70 %.

МАРКУВАННЯ

На етикетці українською та російською мовами вказують: назву заявника та виробника, їх адреси, назву препарату українською, російською та англійською мовами, масу препарату в кілограмах, умови зберігання, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності.

УПАКОВКА

По 1 кг у банки зі скломаси з гвинтовою горловиною з пластмасовими кришками, що нагвинчуються і прокладками з картону прокладочного. Горловину банки з кришкою обертають подпергаментом, обв'язують ниткою поліпропіленовою фібрильованою або шпагатом з луб'яних волокон, армованим хімічною ниткою, на кінці якої наклеюють етикетку з паперу, що самоклеїться.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Зберігають в захищеному від світла місці при температурі не вище + 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:

аспірант кафедри фармакогнозії НФаУ І. Л. Шинковенко

доктор фармацевтичних наук,

професор кафедри фармакогнозії НФаУ Т. В. Ільїна

Додаток Д

Акт приймання-передачі № 10/01

від 21.01.19 р.

ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик" в особі генерального директора Сафонов В.А. (надалі іменується «Замовник»), з однієї сторони, і Кошовий О.М., завідувач кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету (надалі іменується «Виконавець»), з іншої сторони, склали цей Акт про те, що Замовник прийняв від Виконавця:-

- блок-схеми та технологічні інструкції зі способу одержання рідкого екстрактів з трави підмаренника справжнього для написання технологічних регламентів;
- проекти методик контролю якості на одержані рідкі екстракти з трави підмаренника справжнього для розробки фармацевтичного досіє на лікарські засоби.

Розроблені проекти документації передані повністю, зауважень до їх якості, достовірності та відтворюваності в промислових та лабораторних умовах ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик" немає.

Документацію передав:

Завідувач кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного університету Кошовий О.М.

Документацію прийняв:

Генеральний директор
ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик" Сафонов В.А..

„ЗАТВЕРДЖУЮ"

Генеральний директор
ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик"
_____ Сафонов В.А.
„06" 11 05 _____ р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень аспіранта кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету **Шинковенко І. Л.** були використані при опрацюванні технології виробництва рідких екстрактів з трави підмаренника справжнього на промислових потужностях ТОВ ""КФК" Грін фарм Косметик" згідно проекту технологічної документації. Запропонована технологія повністю відтворюється у промислових умовах.

Було отримано три серії екстрактів, по 0,54, 0,92 та 0,84 кг, які відповідали показникам якості розроблених проектів методик контролю якості. Одержані екстракти передані для аналізу на стабільність, визначення терміну зберігання та розробки лікарських форм.

Запропонована технологія, отримана в результаті науково-технічної співпраці ТОВ ""КФК" Грін фарм Косметик" та кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

Директор з виробництва
ТОВ ""КФК" Грін фарм Косметик " Ніколов В.В.

Завідувач кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного університету Кошовий О.М.

„ЗАТВЕРДЖУЮ"

Генеральний директор

ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик"

_____ Сафонов В.А.

„06" 03 _____ р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Розроблені проекти методик контролю якості на рідкі екстракти з трави підмаренника справжнього, які були апробовані в лабораторних умовах ТОВ ""КФК" Грін фарм Косметик" та використані при аналізі якості екстрактів, які отримані на промисловому обладнанні. При розробці документації були використані матеріали науково-дослідної роботи аспіранта Шинковенко І.Л.

Запропоновані методики, отримані в результаті науково-технічної співпраці ТОВ ""КФК" Грін фарм Косметик" та кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

Отримані екстракти відповідали показникам якості розроблених проектів МКЯ та були передані для дослідження строків придатності.

Директор з виробництва
ТОВ ""КФК" Грін фарм Косметик " Ніколов В.В.

Завідувач кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного університету Кошовий О.М.

УКРАЇНА

ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 120554

СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ ІМУНОМОДУЛЮЮЧОЇ ДІЇ З ТРАВИ ПІДМАРЕННИКА СПРАВЖНЬОГО

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **10.11.2017.**

Заступник міністра економічного розвитку і торгівлі України М.І. Гітарчук

МІНІСТЕРСТВО ЕКОНОМІЧНОГО РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ УКРАЇНИ
ІДЕНТИФІКАЦІЙНИЙ КОД 37509588

УКРАЇНА

ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 136235

СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ ІМУНОМОДУЛЮЮЧОЇ ДІЇ З ТРАВИ ПІДМАРЕННИКА ЧІПКОГО

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **12.08.2019.**

Заступник Міністра економічного розвитку і торгівлі України Ю.П. Бровченко

МІНІСТЕРСТВО ЕКОНОМІЧНОГО РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ УКРАЇНИ
ІДЕНТИФІКАЦІЙНИЙ КОД 37598856

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший проректор
Запорізького державного медичного
університету, доцент
Авраменко Н.О.
«21» «07» 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: результати дослідження біологічно активних речовин та фармакологічної активності екстрактів трави підмаренника справжнього та підмаренника чіпкого.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, аспірант Шинковенко І. Л.

3. Джерела інформації:

1. Дослідження полісахаридів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Зб. наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*, 2017. Вип. 28. С. 152 – 159.
2. The Phytochemical Profile and Antibacterial Activity of the Fluid Extracts of *Galium verum* L. herb / I. L. Shinkovenko, T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovalyova, T. P. Osolodchenko, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації*, 2017. № 4 (92), С. 25–28.
3. Фенольні сполуки рідкого екстракту з трави підмаренника чіпкого (*Galium aparine* L.) / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, О. В. Горяча, О. І. Голембіовська , Н. С. Шемчук, А. М. Комісаренко. *Вісник фармації*, 2018. № 3 (95), С. 19-24.
4. The Immunomodulatory Activity of the Aqueous Extract and Complexes of Biologically Active Compounds of *Galium verum* L. herb / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. M. Koshovyi, E. L. Toryanyk, O. V. Kryvoruchko. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 2018. № 67, С. 25-29.
5. Phenolic compounds of the liquid extract of Lady's bedstraw herb (*Galium verum* L.) / I. Shinkovenko, T. Ilina, A. Kovalyova, O. Goryacha, O. Golembiovska, A. Komissarenko. «*Sciences and Practice 2018*» : The 9th International Pharmaceutical Conference dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy, November 09, 2018 Kaunas, Lithuania. P. 22.

4. **Де впроваджено**: кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, лекційний курс та наукові дослідження кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.
6. **Ефект від впровадження**: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу та фармакологічної активності представників родини Маренові.
7. **Термін впровадження:** 2018-2019 навчальний рік.

«21» «серпня» 2019 р.

Відповідальний за впровадження:
Зав. каф. фармакогнозії, фармакології
та ботаніки ЗДМУ,
д. біол. н., професор Тржецинський С.Д.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи
Запорізького державного медичного
університету, д.мед.н., професор
_____ Туманський В.О.
25 01 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: результати дослідження біологічно активних речовин та фармакологічної активності екстрактів трави підмаренника справжнього та підмаренника чіпкого.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, аспірант Шинковенко І. Л.

3. Джерела інформації:

1. Патент України. Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника справжнього A61K 36/74 (2006.01) A61P 37/02 (2006.01)/ І. Л. Шинковенко, Н. В. Кашпур, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко / заявник та патентоутримувач НФаУ. – заявка № u 2017 04409, заявл. 03.05.17.; опубл. 10.11.17., Бюл. № 21.
2. Saponins of the extracts of Galium aparine and Galium verum / I. L. Shynkovenko, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. I. Golembiovska, O. M. Koshovyi. *Вісник фармації*, 2018. № 4 (96), С. 16-21.
3. The immunomodulatory activity of the ethanolic extracts from *Galium verum* L. herb. / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, N. S. Shemchuk, O. V. Kryvoruchko, A. M. Komissarenko // *Ceska a Slovenska Farmacie*, 2018. № 67 (3), С. 101-106.
4. The Immunomodulatory Activity of the Aqueous Extract and Complexes of Biologically Active Compounds of *Galium verum* L. herb. / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. M. Koshovyi, E. L. Toryanyk, O. V. Kryvoruchko. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 2018. № 67, С. 25-29.
5. Шинковенко И. Л. Динамика экстрагирования биологически активных веществ из травы подмаренника настоящего / И. Л. Шинковенко, Т. В. Ильина. *Перспективы развития биологии, медицины и фармации* : мат. IV Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, 9-10 дек. 2016 г., г. Шымкент, Республика Казахстан. Хабаршысы. Вестник, 2016. № 4 (77), С. 61-62.

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії, фармхімії і технології ліків Запорізького державного медичного університету.

5. Форма впровадження: фітохімічні, технологічні та фармакологічні дослідження рослинної сировини під час виконання НДР.

6. Ефект від впровадження: вдосконалення методик досліджень рослинної сировини.

7. Термін впровадження: IV квартал 2018 р.

8. Зауваження та пропозиції: оформити результати дослідження у відповідних проектах фармакопейних статей.

Відповідальний за впровадження:
Зав. каф. фармакогнозії,
фармхімії і технології ліків ЗДМУ,
д.фарм.н., професор Мазулін О. В.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького член-кор. НАМНУ, професор
_____ Гжегоцький М.Р.
«___» _____ 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: результати дослідження біологічно активних речовин та фармакологічної активності екстрактів трави підмаренника справжнього та підмаренника чіпкого.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, аспірант Шинковенко І. Л.

3. Джерела інформації:

1. Патент України. Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника справжнього A61K 36/74 (2006.01) A61P 37/02 (2006.01)/ І. Л. Шинковеко, Н. В. Кашпур, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко / заявник та патентоутримувач НФаУ. – заявка № u 2017 04409, заявл. 03.05.17.; опубл. 10.11.17., Бюл. № 21.

2. The Immunomodulatory Activity of the Aqueous Extract and Complexes of Biologically Active Compounds of *Galium verum* L. herb. / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. M. Koshovyi, E. L. Toryanyk, O. V. Kryvoruchko. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 2018. № 67, С. 25-29.

3. The immunomodulatory activity of the ethanolic extracts from *Galium verum* L. herb. / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, N. S. Shemchuk, O. V. Kryvoruchko, A. M. Komissarenko. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 2018. № 67 (3), С. 101-106.

4. Дослідження полісахаридів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Зб. наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*, 2017. Вип. 28, С. 152 – 159.

5. Saponins of the extracts of *Galium aparine* and *Galium verum* / I. L. Shynkovenko, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. I. Golembiovska, O. M. Koshovyi. *Вісник фармації*, 2018. № 4 (96), С. 16-21.

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.

5. Форма впровадження: навчальний процес (лекційний курс та практичні заняття), наукові дослідження кафедри фармакогнозії і ботаніки.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу та фармакологічної активності деяких вітчизняних видів роду Підмаренник родини Маренові.

7. Термін впровадження: 2018-2019 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки
ЛНМУ імені Данила Галицького — доц. Дармограй Р. Є.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший проректор
Івано-Франківського національного
медичного університету,
д. біол. н., професор
_____ Ерстенюк Г. М.
«___» _____ 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: результати дослідження біологічно активних речовин та фармакологічної активності екстрактів трави підмаренника справжнього та підмаренника чіпкого.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, аспірант Шинковенко І. Л.

3. Джерела інформації:

1. Дослідження полісахаридів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Зб. наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*, 2017. Вип. 28, С. 152 – 159.
2. The Phytochemical Profile and Antibacterial Activity of the Fluid Extracts of *Galium verum* L. herb / I. L. Shinkovenko, T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovalyova, T. P. Osolodchenko, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації*, 2017. № 4 (92), С. 25 – 28.
3. Фенольні сполуки рідкого екстракту з трави підмаренника чіпкого (*Galium aparine* L.) / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, О. В. Горяча, О. І. Голембіовська , Н. С. Шемчук, А. М. Комісаренко. *Вісник фармації*, 2018. № 3 (95), С. 19-24.
4. The Immunomodulatory Activity of the Aqueous Extract and Complexes of Biologically Active Compounds of *Galium verum* L. herb / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. M. Koshovyi, E. L. Toryanyk, O. V. Kryvoruchko. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 2018. № 67, С. 25-29.
5. Полісахариди трави підмаренника чіпкого / І.Л. Шинковенко, Т.В. Ільїна, А.М. Ковальова, А.М. Комісаренко. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (12-13 квітня 2018 р.). Х. : НФаУ, 2018. С. 312.
6. **Де впроваджено**: кафедра фармації Івано-Франківського національного медичного університету.
7. **Форма впровадження:** навчальний процес, лекційний курс та наукові дослідження кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету.
8. **Ефект від впровадження**: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу та фармакологічної активності представників родини Маренові.
9. **Термін впровадження:** 2018-2019 навчальний рік.

«22» «01.06» 2019 р.

Відповідальний за впровадження:
Зав. каф. фармації ІФНМУ

д. фарм. н., професор Грицик А. Р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
В. о. проректора з науково-педагогічної роботи Одеського національного медичного університету,
д. мед. н., професор
_____ Вастьянов Р.С.
«___» _____ » 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: результати дослідження біологічно активних речовин та фармакологічної активності екстрактів трави підмаренника справжнього та підмаренника чіпкого.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, аспірант Шинковенко І. Л.

3. Джерела інформації:

1. The Immunomodulatory Activity of the Aqueous Extract and Complexes of Biologically Active Compounds of *Galium verum* L. herb. / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. M. Koshovyi, E. L. Toryanyk, O. V. Kryvoruchko. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 2018. № 67, С. 25-29.
2. The immunomodulatory activity of the ethanolic extracts from *Galium verum* L. herb. / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, N. S. Shemchuk, O. V. Kryvoruchko, A. M. Komissarenko. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 2018. № 67 (3), С. 101-106.
3. Дослідження полісахаридів трави підмаренника справжнього / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. *Зб. наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*, 2017. Вип. 28, С. 152 – 159.
4. The Phytochemical Profile and Antibacterial Activity of the Fluid Extracts of *Galium verum* L. herb / I. L. Shinkovenko, T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovalyova, T. P. Osolodchenko, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації*, 2017. № 4 (92), С. 25 – 28.
5. Фенольні сполуки рідкого екстракту з трави підмаренника чіпкого (*Galium aparine* L.) / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, О. В. Горяча, О. І. Голембіовська , Н. С. Шемчук, А. М. Комісаренко. *Вісник фармації*, 2018. № 3 (95), С. 19-24.
6. Saponins of the extracts of Galium aparine and Galium verum / I. L. Shynkovenko, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. I. Golembiovska, O. M. Koshovyi. *Вісник фармації*. 2018. № 4 (96), С. 16-21.

4. **Де впроваджено**: кафедра фармакогнозії Одеського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс та практичні заняття), наукові дослідження кафедри фармакогнозії Одеського національного медичного університету.
6. **Ефект від впровадження**: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу та фармакологічної активності представників родини Маренові.
7. **Термін впровадження:** 2018-2019 навчальний рік.

«14» «04» 2019 р.

Відповідальний за впровадження:
Зав. каф. фармакогнозії ОНМедУ,
д. мед. н., професор Рожковський Я. В.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної (інноваційної та науково-дослідної) роботи Національного фармацевтичного університету
д. біол. н., професор
_____ А. Л. Загайко
«14» «05» 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження біологічно активних речовин та фармакологічної активності екстрактів трави підмаренника справжнього та підмаренника чіпкого.
2. **Установа, автор**: Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, аспірант Шинковенко І. Л.
3. **Джерела інформації:**

1. Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника справжнього: пат. 120554 України: A61K 36/74 (2006.01) A61P 37/02 (2006.01)/ І. Л. Шинковенко, Н. В. Кашпур, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. № u 201704409, заявл. 03.05.17.; опубл. 10.11.17., Бюл. № 21.
2. Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника чіпкого: пат. 136235 України: A61K 36/74, A61P 37/00, МПК (2019.01) / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, Н. В. Кашпур, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко, О. М. Кошовий. № u 201901943, заявл. 26.02.2019; опубл. 12.08.19, Бюл. № 15.
3. The Immunomodulatory Activity of the Aqueous Extract and Complexes of Biologically Active Compounds of *Galium verum* L. herb. / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilyina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, O. M. Koshovyi, E. L. Toryanyk, O. V. Kryvoruchko. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 2018. № 67, С. 25-29.
4. The immunomodulatory activity of the ethanolic extracts from *Galium verum* L. herb. / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilina, A. M. Kovalyova, O. V. Goryacha, N. S. Shemchuk, O. V. Kryvoruchko, A. M. Komissarenko. *Ceska a Slovenska Farmacie*, 2018. № 67 (3), С. 101-106.
5. The Phytochemical Profile and Antibacterial Activity of the Fluid Extracts of *Galium verum* L. herb / I. L. Shinkovenko, T. V. Ilyina, O. V. Goryacha, A. M. Kovalyova, T. P. Osolodchenko, A. M. Komisarenko. *Вісник фармації*, 2017. № 4 (92), С. 25–28.

4. **Де впроваджено**: кафедра ботаніки Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, лекційний курс та наукові дослідження кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету.
6. **Ефект від впровадження**: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу та фармакологічної активності видів родини Маренові.
7. **Термін впровадження:** 2019-2020 навчальний рік.

«14» «05» 2019 р.

Відповідальний за впровадження:

зав. кафедри ботаніки НФаУ
д. фарм.н., професор Т.М. Гонтова