

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ШИНКОВЕНКО ІГОР ЛЕОНІДОВИЧ

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

**ФІТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ СИРОВИНИ ТА ЕКСТРАКТІВ НА ОСНОВІ
ВИДІВ РОДУ ПІДМАРЕННИК**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті Міністерства охорони здоров'я України

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор

ІЛЬІНА ТЕТЯНА ВАСИЛІВНА,

Національний фармацевтичний університет,
професор кафедри фармакогнозії.

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор

ГРИЦИК АНДРІЙ РОМАНОВИЧ,

Івано-Франківський національний медичний університет,
завідувач кафедри фармації;

доктор біологічних наук, професор

ТРЖЕЦИНСЬКИЙ СЕРГІЙ ДМИТРОВИЧ,

Запорізький державний медичний університет,

завідувач кафедри фармакогнозії, фармакології і ботаніки.

Захист відбудеться “16” грудня 2020 року о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої ученої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий “16” листопада 2020 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
професор

В. А. Георгіянц

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

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 генезу (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 ендемії, так і пандемії, 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 спричиняють 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» (№ и 2017 04409, бюл. № 21 від 10.11.17) та «Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника чіпкого» (№ и 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 International Pharmaceutical Conference dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy «Sciences and Practice 2018» (Kaunas, Lithuania, 2018); міжнародна конференція «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).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 25 наукових робіт, у тому числі 8 статей у наукових фахових виданнях, з яких 4 статті в іноземних виданнях, що індексуються базами даних Scopus та WoS, 15 тез доповідей, 2 патенти України на корисну модель.

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.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У першому розділі «Ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування *Galium verum* L. та *Galium aparine* L. (огляд літератури)» проаналізовано дані наукових першоджерел про ботанічну характеристику, ареали

зростання, хімічний склад, фармакологічну активність та застосування у медицині *Galium verum* L. і *Galium aparine* L. Встановлено, що на сьогодні ряд питань залишаються не з'ясованими. Тому актуальним є проведення фітохімічних досліджень сировини та екстрактів *G. verum* та *G. aparine*, розробка оптимальних параметрів отримання субстанцій із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*, дослідження їх фармакологічної активності, з'ясування взаємозв'язку «хімічний склад – активність» для отриманих субстанцій, опрацювання проектів методик контролю якості.

У другому розділі «Матеріали і методи досліджень» наведено характеристику об'єктів досліджень, відомості про прилади, матеріали, методи та реактиви, які використовували при проведенні досліджень.

У третьому розділі «Вивчення корелятивних зв'язків між морфологічними ознаками і наявністю БАР у видах роду *Galium*» представлено результати дослідження взаємозв'язків між морфологічними ознаками 31 виду роду *Galium* та наявністю в них окремих флавоноїдів, фенолкарбонових та гідроксикоричних кислот та іридоїдів, виявлених хроматографічними методами (табл. 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: стебло 30 – 35 см, чотиригранне; листки лінійні, шорсткі по краях; віночок 3 мм у діаметрі; квітконос і квітконіжка голі; плоди голі. Встановлено взаємозв'язок між наявністю похідних апігеніну, лютеоліну та діосметину й такими ознаками як: стебло голе; середні стеблові листки у кільцях по 6 – 8; віночок 3 мм у діаметрі, лопаті віночка яйцеподібні. Лише ізоройфолін корелює з такою ознакою як плодоніжка гола. Для фенолкарбонових і гідроксикоричних кислот (ванілінової, кофейної та неохлорогенової) просліджується кореляція приблизно на одному рівні з такими морфологічними ознаками як: стебло до 30 см заввишки; листки короткозагострені, голі, приквіткові листки парні; плоди двійчасті. З наявністю двох з трьох виявлених ароматичних кислот корелюють такі морфологічні ознаки як: стебло висхідне, гіллясте, голе; середні стеблові листки у кільцях по 7 – 8, ланцетні, продовгуваті, 18 – 20 мм завдовжки, 1 – 2,5 мм завширшки; верхні приквіткові листки поодинокі; суцвіття – вузька, видовжена волоть; квітконіжка гола; лопаті віночка продовгуваті; стовпчик двороздільний від низу. Наявність у видах іридоїдів (асперулозиду, асперулозидової кислоти, деацетиласперулозиду, 10-деацетиласперулозидової кислоти, скандозиду, монотропеїну та геніпозидової кислоти) корелює з такими типовими морфологічними ознаками як: стебло чотиригранне; середні стеблові листки у кільцях по 6 – 7, ланцетні; напівзонтики верхівкові; квітконіжка гола; плоди голі. Лише деацетиласперулозид і 10-деацетиласперулозидова кислота корелюють з такою морфологічною ознакою як плодоніжки голі. Лише скандозид і геніпозидова кислота корелюють з такою морфологічною ознакою як мерикарпії кулясті. Монотропеїн, який відрізняється від решти сполук наявністю –ОН групи по 7 положенню ядра, корелює з такою ознакою як стебло від 75 до 100 см заввишки. Понад 90 % сполук, які відносяться до трьох різних груп БАР, корелюють з такими ознаками як: стебло до 30 см завдовжки; середні стеблові листки у кільцях по 7; квітконіжка гола.

Кореляція наявності іридоїдів, флавоноїдів, фенолкарбонових та гідроксикоричних кислот з морфологічними ознаки видів *Galium*

Морфологічні ознаки	Коефіцієнт кореляції, %													
	Асперулозид	Асперулозидова кислота	Деацетиласперулозид	10-Деацетил-асперулозидова кислота	Скандозид	Монотропєїн	Геніпозидова кислота	Ізоройфолін	Лютеолін-7-О-арабінозидо-глюкозид	Діосметин-7-О-глюкопіранозид	Палюстрозид, діосметин-7-О-ксилоглюкозид	Ванілінова кислота	Кофейна кислота	Неохлорогенова кислота
Стебло до 30 см	81	67	71	-	-	90	-	64	73	75	69	80	83	83
Стебло до 35 см	81	52	52	-	-	90	-	64	64	63	54	-	-	-
Стебло до 40 см	88	67	57	-	-	-	-	82	64	75	69	-	-	-
Стебло до 60 см	81	76	57	-	-	90	-	91	64	75	69	-	-	-
Стебло до 70 см	-	67	52	75	-	70	-	82	55	63	62	-	-	-
Стебло голе	-	52	52	63	67	60	75	82	73	88	69	-	60	60
Стебло чотиригранне	63	67	81	75	83	70	75	73	73	75	69	-	-	-
Середні стеблові листки у кільцях по 6	56	57	67	75	83	80	75	64	73	88	62	-	-	-
Середні стеблові листки у кільцях по 7	56	52	52	88	83	90	75	64	64	75	54	60	-	83
Середні стеблові листки у кільцях по 8	56	-	57	88	83	90	75	73	73	75	62	60	-	83
Листки ланцетні	63	62	62	75	83	70	75	-	-	-	-	80	60	-
Листки шорсткі по краях	56	57	-	75	67	60	75	82	82	75	69	-	-	-
Верхні приквіткові листки поодинокі	56	71	67	75	67	70	-	-	-	-	-	80	-	83
Приквіткові листки парні	69	86	71	88	83	90	-	-	-	-	-	60	83	60
Віночок 3 мм у діаметрі	-	52	-	88	83	80	-	64	64	63	54	-	-	-
Лопаті віночка яйцеподібні	-	52	57	63	-	70	75	82	73	63	69	-	-	-
Квітконіжка гола	56	67	62	75	83	70	75	82	82	88	69	80	83	-
Плодоніжки жовті	63	62	-	75	83	70	75	-	55	63	62	-	-	-
Плоди голі	63	71	71	63	67	60	75	91	82	88	85	-	-	-

Отже, види *G. verum* та *G. aparine* повною мірою відповідають виявленим закономірностям. З урахуванням їх поширення практично по всій території України і значної сировинної бази, ці види є найбільш перспективними для отримання комплексів БАР.

У четвертому розділі «Одержання субстанцій з трави *Galium verum* та *Galium aparine*, встановлення їх компонентного складу» наведено результати експериментальних досліджень з визначення технологічних параметрів сировини, закономірностей екстрагування основних груп БАР із сировини, розробки технологічної схеми отримання екстрактів із сировини, визначення вмісту БАР в них, вивчення компонентного складу окремих груп БАР у екстрактах, встановлення доцільності комплексної переробки сировини.

Визначено для трави *G. verum* та для трави *G. aparine*: насипний об'єм до усадки (см³) становить 56,0 та 58,0; насипний об'єм після усадки (см³) – 50,0 та 44,0; насипна густина до усадки (г/см³) – 0,18 та 0,17; насипна густина після усадки (г/см³) – 0,20 та 0,23; питома густина (г/см³) – 1,41 та 1,47; об'ємна густина (г/см³) – 0,58 та 0,48; пористість – 0,59 та 0,67; нарізність – 0,69 та 0,65; вільний об'єм шару – 0,87 та 0,88 відповідно. Встановлено коефіцієнти поглинання екстрагентів для трави *G. verum* та *G. aparine*: для води очищеної – 3,32 та 3,46; для 20 % етанолу – 2,60 та 3,10; для 60 % етанолу – 2,36 та 2,80; для 96 % етанолу – 1,50 та 1,60 відповідно.

Виявлено закономірності екстрагування основних груп БАР із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*. Встановлено, що оптимальними умовами екстрагування БАР є: розміри часток ЛРС 3 – 4 мм, співвідношення сировина – екстрагент 1 : 10, кратність екстракції – 3, тривалість одноразової екстракції 30 хв. Розроблено технологічну схему одержання рідких екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*, які отримали умовні назви GV-V, GV-20, GV-60, GV-96 та GA-V, GA-20, GA-60, GA-96 відповідно.

Методом ГХ-МС досліджено мономерний склад ВРПС із екстракту GV-V та екстракту GA-V (рис. 1).

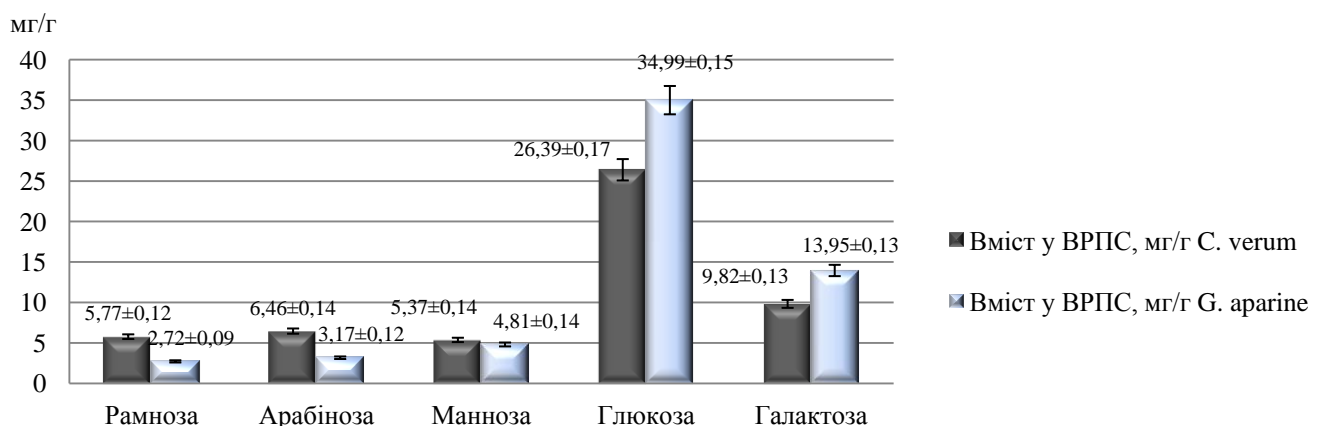


Рис. 1 Мономерний склад ВРПС *G. verum* та ВРПС *G. aparine*

Виявлено та встановлено вміст рамнози, арабінози та манози, домінуючими сполуками у ВРПС із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* є глюкоза (26,39 мг/г і 34,99 мг/г відповідно) та галактоза (9,82 мг/г і 13,95 мг/г відповідно).

В отриманих за розробленою схемою екстрактах визначено вміст сухого залишку та основних груп БАР: ВРПС, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, суми поліфенольних сполук (табл. 2).

Методом ВЕРХ встановлено, що амінокислотний склад отриманих із досліджуваних екстрактів ВРПС є подібним: виявлено 19 амінокислот, з яких 9 незамінних, домінуючими є аспарагінова та глутамінова.

Визначено золу загальну у ВРПС: 14,82 % із GV-V і 13,55 % із GA-V. Встановлено елементний склад ВРПС. Домінуючими елементами є К, Са, Si, Р у ВРПС із екстракту GV-V та К, Si, Mg, Р у ВРПС із екстракту GA-V.

У результаті дослідження ВРПС екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* встановлено, що вміст відновлюваних цукрів складає 54,7 % для ВРПС із екстракту GV-V та 59,4 % для ВРПС із екстракту GV-20; 48,5 % для ВРПС із екстракту GA-V та 52,8 % для ВРПС із екстракту GA-20.

Таблиця 2

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

ЛРС	Екстракт	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta x$				
		Сухий залишок	ВРПС	Гідрокси-коричні кислоти	Флавоноїди	Сума поліфенольних сполук
<i>Трава G. verum</i>	GV-V (екстрагент - вода очищена)	21,11 ± 1,05	6,23 ± 0,31	3,24 ± 0,21	0,38 ± 0,02	3,66 ± 0,18
	GV-20 (екстрагент - етанол 20 %)	19,94 ± 0,89	2,40 ± 0,12	3,38 ± 0,15	0,24 ± 0,01	3,90 ± 0,14
	GV-60 (екстрагент - етанол 60 %)	18,54 ± 0,92	-	4,25 ± 0,21	0,24 ± 0,01	3,84 ± 0,19
	GV-96 (екстрагент - етанол 96 %)	13,80 ± 0,69	-	2,65 ± 0,13	0,18 ± 0,01	2,72 ± 0,13
<i>Трава G. aparine</i>	GA-V (екстрагент - вода очищена)	28,39 ± 1,41	9,63 ± 0,48	1,87 ± 0,09	0,26 ± 0,01	1,33 ± 0,06
	GA-20 (екстрагент - етанол 20 %)	25,27 ± 1,26	3,27 ± 0,16	1,92 ± 0,08	0,27 ± 0,01	1,67 ± 0,08
	GA-60 (екстрагент - етанол 60 %)	24,63 ± 1,23	-	1,97 ± 0,09	0,29 ± 0,01	1,35 ± 0,06
	GA-96 (екстрагент - етанол 96 %)	16,34 ± 0,81	-	1,49 ± 0,07	0,19 ± 0,01	1,14 ± 0,05

Методом ВЕРХ у екстрактах GV-60 та GA-60 ідентифіковано та встановлено вміст 11 сполук фенольної природи (табл. 4).

Фенольні сполуки рідких екстрактів GV-60 та GA-60

Сполука	Час утрим., хв	Вміст у екстракті, мг/мл	
		<i>G. verum</i>	<i>G. aparine</i>
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
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

Визначено 5 гідроксикоричних кислот – кофейна, хлорогенова, неохлорогенова, 3,5-дикофеїлхінна кислота, 3,5-дикофеїлхінна і 6 флавоноїдів – рутин, гіперозид, кверцетин, кверцитрин, ізокверцитрин та катехін. Домінуючими сполуками екстрактів GV-60 та GA-60 є рутин (4,18 мг/мл та 1,89 мг/мл відповідно) та хлорогенова кислота (2,53 мг/мл та 0,78 мг/мл відповідно). Екстракт GV-60 відрізняється значним вмістом 3,5- та 4,5 дикофеїлхінних кислот (1,60 та 1,23 мг/мл відповідно).

Методом УЕРХ-МС у екстрактах з трави *G. aparine* виявлено 14 сполук, з них ідентифіковано 13, визначено кількісний вміст 10 (табл. 5, рис. 2). Сполуки представлено 3 іридоїдами – монотропеїном, 10-деацетиласперулозидовою та асперулозидовою кислотами; 7 ароматичними кислотами – *n*-гідроксибензойною, 3-О-, 4-О- та 5-О-кофеїлхінними, 3,4-О-, 3,5-О- та 4,5-О-дикофеїлхінними; 3 флавоноїдами – рутином, кверцетин-3-О-рамноглюкозид-7-О-глюкозидом та ізорамнетин-3-О-глюкорамнозидом. Домінуючою сполукою в усіх екстрактах є хлорогенова кислота. В екстракті GA-V відмічається значний вміст монотропеїну; у екстрактах GA-20 та GA-60 – 3-О- та 4-О-кофеїлхінних кислот; у екстракті GA-96 – рутину.

Вперше для роду *Galium* визначено флавоноїдний триглікозид – кверцетин-3-О-рутинозид-7-О-глюкозид.

Вперше методом ВЕРХ у екстрактах GV-96 та GA-96 ідентифіковано сапоніни та встановлено їх вміст: кислоти – урсолова, олеанолова, еускафова, торментинова; уваол, бетулін та лупеол (табл. 6).

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.

UHPLC-DAD-MS/MS виявлення сполук екстрактів *G. aparine*

Номер піку	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	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Монотропеїн ^t	2,1	237	389	369, 227, 209 ^b , 183, 137	381	183, 165, 153 ^b , 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	183 ^b , 165	1,96 ± 0,03	3,66 ±	2,12 ± 0,07	1,03 ± 0,02
3	<i>n</i> -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	191b, 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, 165 ^b	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	191b, 179	355	179 ^b , 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
8	Кверцетин-3-О-рамноглокозид-7-О-глокозид ^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-рамноглокозид (рутин) ^s	36,9	255, 262 ^{sh} , 354	609	591, 301b, 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.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
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.

Примітки: 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.

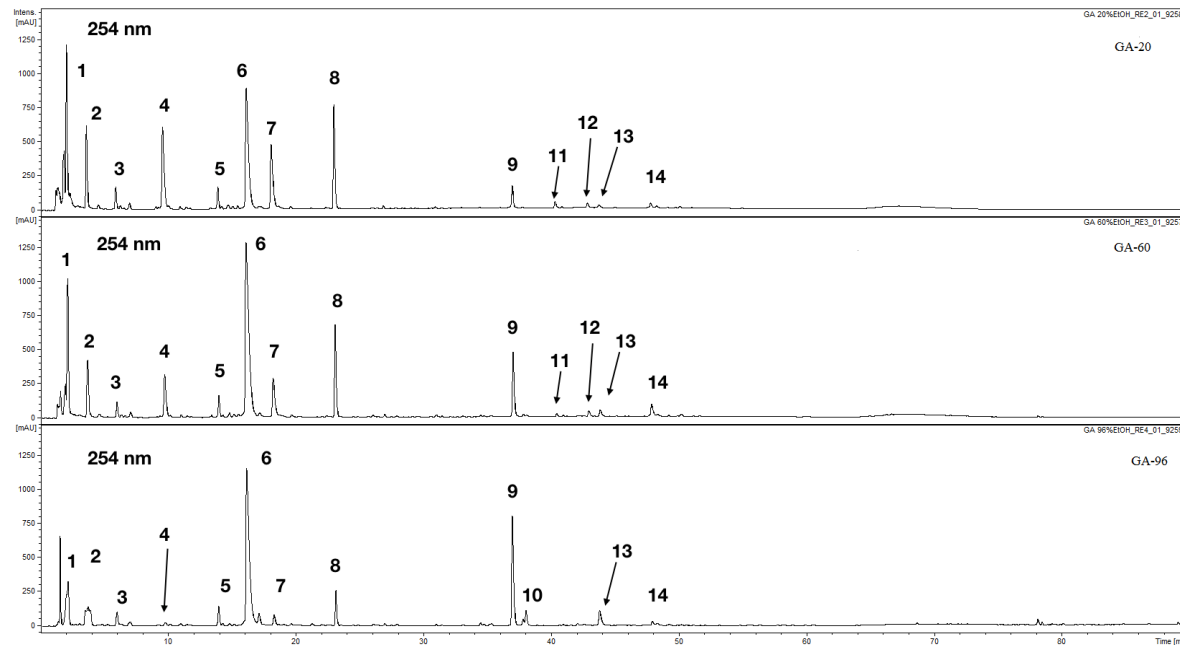


Рис. 2. HPLC-DAD-MS/MS хроматограми екстрактів *G. aparine* при 254 нм.

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*. Встановлено, що вміст золи у пектинових речовинах складає 6,84 % для *G. verum* та 4,49 % для *G. aparine*.

Таблиця 6

Сапоніни екстрактів GV-96 та GA-96

Сполука	GV-96		GA-96	
	Час утрим., хв	Вміст, мг/мл	Час утр., хв	Вміст, мг/мл
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
Всього		4,894		5,52

Досліджено елементний склад пектинових речовин. Визначено склад їх функціональних груп: вільних карбоксильних, метоксильованих карбоксильних, загальної кількості карбоксильних, метоксильних та ступінь етерифікації. Вперше отримано сумарні комплекси ВРПС з пектиновими речовинами. Встановлено, що для *G. verum* сумарний комплекс складається із 46,9 % ВРПС та із 53,1 % пектинових речовин; для *G. aparine* – із 40,67 % ВРПС та із 59,33 % пектинових речовин.

Доведено доцільність отримання ВРПС із водних екстрактів (умовна назва екстракти-N) із шроту, який залишається після послідовно отриманих ліпофільного та фенольного комплексів за методикою, описаною раніше Горячою О. В.

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

У п'ятому розділі «Стандартизація сировини та екстрактів із трави *Galium verum* та із трави *Galium aparine* та підтвердження їх фармакологічної активності» наведено результати досліджень зі стандартизації рослинної сировини та субстанцій, отриманих за розробленими технологіями.

Розроблено проєкт МКЯ на траву *G. aparine* на основі дослідження 5 серій сировини на відповідність розробленим 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 загальна (не більше 15 %), вміст сторонніх домішок (не більше 5 %), вміст гідроксикоричних кислот (не менше 2,0 %).

Вперше розроблено параметри стандартизації екстракту GA-V із трави *G. aparine* та екстракту GV-96 із трави *G. verum* на основі дослідження 5 серій. Розроблено проекти МКЯ «Підмаренника чіпкого екстракт рідкий» та «Підмаренника справжнього екстракт рідкий».

Вперше досліджено антибактеріальну та антифунгальну активність екстрактів GV-V, GV-20, GV-60, GV-96, GA-V, GA-20, GA-60 та GA-96. Найбільшу антимікробну активність виявляють екстракти GV-96 та GA-96 (табл. 7). Найбільш чутливим до усіх досліджуваних екстрактів виявився *Bacillus subtilis*.

Таблиця 7

Антимікробна активність екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*

Екстракт	Діаметри зон затримки росту в мм, (M+m), $p \leq 0,05$					
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Candida albicans</i>
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
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

Примітка. «-» – затримка росту мікроорганізмів відсутня.

Вперше проведено дослідження імуномодулювальної активності отриманих субстанцій *in vitro* в реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ). Виявлено, що екстракти, ВРПС, пектинові речовини та сумарний комплекс ВРПС і пектинових речовин із трави *G. verum* та із трави *G. aparine* суттєво збільшують рівень РБТЛ у порівнянні зі спонтанною трансформацією лімфоцитів (табл. 8).

Вперше встановлено, що рівень імуномодулювальної активності спиртових і спирто-водних екстрактів прямо пропорційний вмісту гідроксикоричних кислот в них: екстракти *G. verum* за рівнем імуномодулювальної активності майже вдвічі перевищують аналогічні екстракти *G. aparine*. Обґрунтування цього взаємозв'язку пояснюються вмістом гідроксикоричних кислот: екстракти *G. verum* містять майже вдвічі більше, ніж аналогічні екстракти *G. aparine*.

Вперше встановлено синергічну дію ВРПС і фенольних сполук у складі водних екстрактів із трави *G. verum* та із трави *G. aparine*, що свідчить про недоцільність вилучення ВРПС із водних екстрактів для отримання субстанцій імуномодулювальної дії.

Вперше 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.

**Імуномодулювальна активність екстрактів та комплексів БАР із трави
G. verum та із трави *G. aparine***

Субстанції	Розведення	Вміст гідроксикоричних кислот/полісахаридів у екстрактах (мг/100 мкл)		РБТЛ, (%)	
		<i>G. verum</i>	<i>G. aparine</i>	<i>G. verum</i>	<i>G. aparine</i>
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*
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)	-	2,5 × 10 ⁻³		49,2 ± 2,3	48,1 ± 2,1
Спонтанна РБТЛ	-	-		8,3 ± 0,6	8,5 ± 0,7

Примітки: – * $P < 0.05$ у порівнянні до ФГА; РБТЛ – реакція бластної трансформації лімфоцитів; ФГА – фітогемаглютинін.

Отримані дані свідчать як про високу імуномодулювальну активність обох груп вуглеводів, а отже – про раціональність комплексної переробки ЛРС з метою отримання імуномодулювальних засобів, так і про синергічну дію ВРПС і пектинових речовин, а отже – доцільність отримання сумарних їх комплексів.

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-кофеїлхініні кислоти, 3,4-, 3,5- та 4,5-О-дикофеїлхініні 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 проекти 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 ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові статті

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. Koshovyı. *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. Koshovyı

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 написання статті).

7. The immunomodulatory activity of the ethanolic extracts from *Galium verum* L. herb / I. L. Shinkovenko, N. V. Kashpur, T. V. Ilyina, 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 написання статті).

8. Phytochemical profiles and in vitro immunomodulatory activity of ethanolic extracts from *Galium aparine* L. / T. Ilyina, N. Kashpur, S. Granica, A. Bazylo, 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).

Патенти

9. Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з трави підмаренника справжнього: пат. 120554 України: А61К 36/74, А61Р 37/02 (2006.01) / І. Л. Шинковенко, Н. В. Кашпур, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко. № у 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: А61К 36/74, А61Р 37/00, МПК (2019.01) / І. Л. Шинковенко, Т. В. Ільїна, Н. В. Кашпур, А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко, О. М. Кошовий. № у 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).

Матеріали з'їздів та конференцій

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. X. : Вид-во НФаУ, 2016. С. 86.

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.

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 здоров'я України, Нац. фармац. ун-т; ред. кол.: В. П. Черних (голова) та ін.; уклад. : С. Ю. Данильченко та ін. Харків: НФаУ, 2016. С. 154.

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 лікарських препаратів* : мат. VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 10 – 11 листоп. 2016р., Тернопіль : Укрмедкнига, 2016. С. 79.

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.

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. I Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 30 – 31 бер. 2017 р. В 2-х т., Т. 2. X. : НФаУ, 2017. С. 363.

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. X. : Вид-во НФаУ, 2017. С. 88

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.

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. X. : НФаУ, 2018. С. 312.

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.

21. Phenolic compounds of the liquid extract of Lady's Bedstraw herb (*Galium verum* L.) / I. Shinkovenko, T. Iina, 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.

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.

23. Определение технологических параметров травы *Galium verum* и *Galium aparine* / И. Л. Шинковенко, Т. В. Ильина, А. М. Ковалева, О. Н. Кошевой, Н. В. Бородин. *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.

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. Бородин. *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.

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.

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 і фармакогнозія. – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертацію присвячено комплексному фітохімічному дослідженню трави та екстрактів підмаренника справжнього (*Galium verum*) та трави та екстрактів підмаренника чіпкого (*Galium aparine*), розробки параметрів їх стандартизації, встановлення груп БАР, які зумовлюють їх імуномодулювальну дію, визначення доцільності комплексної переробки сировини. Встановлено технологічні параметри сировини, динаміку екстрагування БАР з неї, розроблено технологію одержання екстрактів та субстанцій, досліджено їх хімічний склад та виявлено імуномодулювальну активність, встановлено параметри стандартизації. Розроблено проекти МКЯ «Трава підмаренника чіпкого», «Підмаренника чіпкого екстракт рідкий» та «Підмаренника справжнього екстракт рідкий».

Ключові слова: *Galium verum*, *Galium aparine*, фітохімічне, фармакологічне дослідження, стандартизація.

Шинковенко И. Л. Фитохимическое изучение сырья и экстрактов на основе видов рода Подмаренник. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Национальный фармацевтический университет, МЗ Украины, Харьков, 2020.

Диссертационная работа посвящена комплексному фитохимическому изучению травы и экстрактов подмаренника настоящего (*Galium verum*) и травы и экстрактов подмаренника цепкого (*Galium aparine*), разработке параметров их стандартизации, выявлению групп БАВ, обуславливающих их иммуномодулирующее действие, установлению целесообразности комплексной переработки сырья. Определены технологические параметры травы *G. verum* и травы *G. aparine*, динамика экстрагирования БАВ, разработана технология получения экстрактов и субстанций из сырья, исследован их химический состав, \neq установлена иммуномодулирующая активность, определены параметры стандартизации. Разработаны проекты МКК «Трава подмаренника цепкого», «Подмаренника цепкого экстракт жидкий» и «Подмаренника настоящего экстракт жидкий».

Ключевые слова: *Galium verum*, *Galium aparine*, фитохимическое, фармакологическое изучение, стандартизация.

Shinkovenko I. L. The phytochemical study of extracts on the basis of species of *Galium* genus. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The dissertation for a Candidate of pharmaceutical sciences degree (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 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. 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 8 liquid extracts from the herb of *G. verum* and *G. aparine* has

been developed. The content of the main BAS groups, i.e. extractives, soluble polysaccharides (WSPS), hydroxycinnamic acids, flavonoids and polyphenolic compounds, has been quantified in the extracts obtained in compliance with the flowchart specifications. 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. 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. 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 prevailing compounds in GV-60 and GA-60 are rutin and chlorogenic acid. 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-caffeoylquinic acids, 3,4-, 3,5- and 4,5-O-dicaffeoylquinic 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. Prevailing in extract GA-96 is euscaphic acid, whereas in extract GV-96 lupeol. In extract GV-96, prevailing are lupane derivatives, in extract GA-96 prevailing are ursane derivatives. With the view to a complex processing of raw material from the meal remaining after the production of water extracts from MPRM, pectin substances were obtained. 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. The elemental composition of the pectin substances indicated the prevailing presence of K, Na, Ca and Mg. The total ash in pectin substances has been quantified. 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 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 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 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 antibacterial and antifungal effect of liquid extracts from the herb *G. verum* and *G. aparine* 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. 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.

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

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР	– біологічно активні речовини;
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія;
ГХ/МС	– газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ДФУ	– Державна Фармакопея України;
МКЯ	– Методи контролю якості;
ПХ	– паперова хроматографія;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія.
УЕРХ-МС	– ультраефективна рідинна хроматографія з тандемною мас спектрометрією

Підписано до друку 11.11.2020 р. Формат 60x90/16

Папір офсетний. Гарнітура Times New Roman. Друк цифровий.

Ум. друк. арк. 0,9. Наклад 100 прим. Зам. № б/н.

Надруковано СПД ФО Степанов В.В., м. Харків, вул. Ак. Павлова, 311

Свідоцтво про державну реєстрацію В00 № 941249 від 28.01.2003 р.