

Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

ЛЕГІНЬ НАДІЯ ІГОРІВНА



УДК 615.322+582.795

**ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ
ПІДЛІСНИКА ЄВРОПЕЙСЬКОГО (*SANICULA EUROPAEA* L.)**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Львів – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармації Івано-Франківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України

Науковий керівник: кандидат фармацевтичних наук, доцент
Грицик Любов Миколаївна,
Івано-Франківський національний
медичний університет,
доцент кафедри організації та економіки фармації
і технології ліків

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор,
Лубенець Віра Ільківна,
Національний університет «Львівська політехніка»,
в. о. завідувача кафедри технології біологічно
активних сполук, фармації та біотехнології

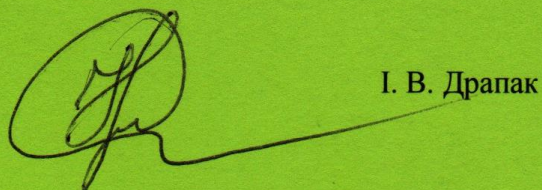
доктор фармацевтичних наук, професор
Ільїна Тетяна Василівна,
Національний фармацевтичний університет,
професор кафедри фармакогнозії

Захист відбудеться “12” березня 2021 року о 12³⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6).

Автореферат розісланий “09” лютого 2021 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради


І. В. Драпак

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. За оцінками експертів, близько 25 % лікарських засобів, що застосовують у медичній практиці в усьому світі, отримують з лікарської рослинної сировини. Одним з важливих завдань фармації та медицини є дослідження нових перспективних джерел біологічно активних речовин (БАР) серед представників флори України з метою розширення асортименту рослинних препаратів різного спектру дії. Фітопрепарати характеризуються низькою токсичністю, що дозволяє використовувати їх тривалий час для профілактики і лікування багатьох захворювань без ризику виникнення побічних явищ.

Велику увагу привертають рослини, які здавна використовують у народній медицині України та країн Європи. До них належить підлісник (п.) європейський (*Sanicula (S.) europaea* L.).

До роду Підлісник (*Sanicula* L.) родини Селерові (*Apiaceae* Lindl.) належать близько 50 видів, з яких на території країн СНД зростають 3 види: п. червоноквітковий (*S. rubrifolia* Fr. Schmidt.), п. європейський (*S. europaea* L.), п. китайський (*S. chinensis* Bge.). В Україні зростає тільки п. європейський, поширений у Карпатах, на Правобережжі, на лівобережному Поліссі та у Криму, в тінистих, добре зволжених лісах.

У народній медицині п. європейський використовують як кровоспинний, протизапальний, ранозагоювальний, відхаркувальний, жовчогінний, в'язучий, сечогінний, седативний, антибактеріальний та протигрибковий засіб. Настій трави або відвар кореневищ з коренями вживають при легеневих, шлункових, кишкових, ниркових, маткових та гемороїдальних кровотечах, при запальних захворюваннях шлунково-кишкового тракту, бронхітах та пневмоніях. Зовнішньо його використовують при лікуванні свіжих та гнійних ран, юнацьких вугрів, фурункулів та карбункулів, при лікуванні опіків, обморожень та інших шкірних пошкодженнях. Сировину п. європейського використовують для полоскань і промивань при запаленні ясен, слизової оболонки рота і горла, при ангінах, стоматитах тощо. Рослина в Україні є неофіційною і лікарські засоби на її основі відсутні на фармацевтичному ринку.

Широкий спектр використання п. європейського у народній медицині вказує на доцільність встановлення його хімічного складу, який на сьогодні вивчено недостатньо. Тому актуальним є фармакогностичне дослідження сировини п. європейського з метою одержання фармакологічно активних субстанцій різної спрямованості дії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету: «Дослідження деяких дикорослих і культивованих лікарських рослин західного регіону України та розробка лікарських засобів на їх основі» (номер державної реєстрації 0110 U 006205) та «Дослідження культивованих і дикорослих рослин західного регіону України та розробка технологій їх застосування з лікувальною метою» (номер державної реєстрації 0118 U 003809).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було фармакогностичне дослідження п. європейського та встановлення можливості створення лікарських засобів на основі БАР досліджуваної сировини.

Для досягнення поставленої мети вирішувались такі завдання:

- проведення інформаційного пошуку та аналізу даних літератури щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу і застосування п. європейського у медицині;
- вивчення основних груп БАР п. європейського;
- виділення та ідентифікація БАР із сировини п. європейського;
- кількісне визначення вмісту БАР у сировині п. європейського;
- встановлення параметрів технологічного процесу отримання екстрактів із сировини п. європейського, одержання екстрактів та їх стандартизація;
- дослідження фармакологічних властивостей екстрактів;
- вивчення природних запасів, встановлення можливості культивування п. європейського;
- встановлення основних морфолого-анатомічних діагностичних ознак підземних та надземних органів п. європейського;
- визначення терміну придатності сировини на основі моніторингу показників якості трави п. європейського;
- розробка проєктів методів контролю якості на траву та екстракт, інструкції із заготівлі та сушіння трави п. європейського.

Об'єкти дослідження: трава, листки, стебла, кореневища з коренями п. європейського, екстракти, індивідуальні БАР, умови зростання рослини.

Предмет дослідження: виділення, ідентифікація БАР досліджуваних об'єктів, кількісне визначення вмісту БАР, розробка технологічних параметрів одержання сухих екстрактів, їх стандартизація та вивчення фармакологічної активності, культивування п. європейського.

Методи дослідження. Морфолого-анатомічні та органолептичні – опис та ідентифікація п. європейського; ресурсознавчі – виявлення масивів заростей п. європейського, встановлення біологічного запасу сировини; фізичні та фізико-хімічні – тонкошарова і паперова хроматографія, спектроскопія та спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях спектру, атомно-абсорбційна спектрометрія; хімічні – ідентифікація і визначення кількісного вмісту діючих речовин; токсикологічні, фармакологічні та мікробіологічні – дослідження гострої токсичності, кровоспинної, ранозагоювальної, протизапальної та антимікробної активності. 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 було проведено фармакогностичні, фармакологічні та ресурсознавчі дослідження п. європейського.

Вперше у надземних та підземних органах п. європейського встановлено наявність основних груп БАР. Визначено кількісний вміст окиснюваних фенолів, суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, тритерпенових сапонінів, гідроксикоричних та органічних кислот, в тому числі кислоти аскорбінової, вітаміну K_1 .

Вперше виділено та встановлено кількісний вміст фракцій водорозчинних полісахаридів (ВРПС), пектинових речовин (ПР), геміцелюлози А (ГцА) та геміцелюлози Б (ГцБ) у траві та кореневищах з коренями п. європейського; встановлено їх мономерний склад.

Вперше у траві п. європейського ідентифіковано 10 фенольних сполук: 6 метаболітів таніну – галокатехін, катехін, епікатехін, катехіну галат, епікатехіну галат, елагову кислоту; 2 флавоноїди – кемферол, апігенін; кумарин; ферулову кислоту; 3 сполуки стероїдної природи – β -ситостерол, стигмастан-3,5-дієн, стигмастерол; у складі ефірної олії 13 компонентів летких сполук – β -патчулен, β -кедрен, транс- α -бергамотен, β -хелміскапен, α -кадінен, α -муурулен, бісаболен, (-)-каламенен, 1-метил-6-метилєнбіцикло[3.2.0] гептан, гептакозан, 4,11-селінадієн, гексагідрофарнезилацетон; жирні кислоти – пальмітолеїнову, пальмітинову, лінолеву, ліноленову, стеаринову, бегенову, трикозанову, лігноцеринову, церотинову; амінокислоти – треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, лізин, гістидин, аспарагінову та глутамінову кислоти, серин, пролін, цистин, гліцин, аланін, тирозин, аргінін.

В кореневищах з коренями вперше виявлено 11 фенольних сполук: 7 метаболітів таніну – галову та елагову кислоти, галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, епікатехіну галат; апігенін; кумарин; 2 гідроксикоричні кислоти – кофейну, ферулову; амінокислоти – треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, лізин, гістидин, аспарагінова та глутамінова кислоти, серин, пролін, цистин, гліцин, аланін, тирозин, аргінін.

Вперше методами рідинно-рідинного фракціонування, хроматографії на колонках силікагелю, препаративної хроматографії на папері, дробної кристалізації з трави п. європейського виділено в індивідуальному стані 6 гідроксикоричних кислот (кофейну, хлорогенову, неохлорогенову, розмаринову, ферулову, *n*-кумарову) та 1 флавоноїд (рутин); з підземних органів п. європейського – 5 гідроксикоричних кислот (кофейну, хлорогенову, неохлорогенову, розмаринову, ферулову).

Вперше досліджено елементний склад трави та кореневищ з коренями п. європейського.

Вперше встановлено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки сировини п. європейського, числові показники доброякісності трави п. європейського, які використано для ідентифікації та стандартизації рослинної сировини.

Виявлено місця зростання рослини на території Івано-Франківської та Чернівецької областей. Вперше визначено запаси сировини п. європейського на Прикарпатті та Буковині. На основі проведених фенологічних та агротехнічних досліджень встановлено можливість культивування п. європейського в умовах Прикарпаття.

Новизну досліджень підтверджено та захищено патентом України на корисну модель № 132069 «Спосіб одержання екстракту з трави підлісника європейського з кровоспинною дією».

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати фармакогностичного дослідження вказують на можливість використання сировини

п. європейського як перспективного джерела БАР з кровоспинними та ранозагоювальними властивостями.

Досліджено параметри екстракції БАР, отримано 4 сухі екстракти з сировини п. європейського. Доведено можливість використання екстрактів трави п. європейського як лікарських засобів з кровоспинною, ранозагоювальною, протизапальною та антимікробною дією.

Розроблено проекти методів контролю якості (МКЯ) «Підлісника європейського трава», «Підлісника європейського трави екстракт сухий» та «Інструкцію із заготівлі та сушіння трави підлісника європейського».

За матеріалами дисертаційної роботи видано монографію «Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації», яку разом з іншими результатами досліджень впроваджено в навчальний процес кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України»; кафедри фармації ДВНЗ «Буковинський державний медичний університет»; кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету; кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика; кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО Запорізького державного медичного університету; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету; кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету; кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії ДЗ «Луганський державний медичний університет» (акти впровадження від 07.02.2018, 19.02.2018, 20.02.2018, 22.02.2018, 23.02.2018, 26.02.2018, 05.03.2018, 20.03.2018, 22.03.2018, 06.04.2018, 18.04.2018, 15.05.2018 рр. відповідно), практичну роботу випробувального центру ДП «Івано-Франківськстандартметрологія» та ТОВ «Фітолік» (акти впровадження від 14.03.2018 та 16.03.2018 р. відповідно).

Особистий внесок здобувача. Безпосередньо автором проведено патентно-інформаційний пошук та аналіз сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи; виділено та ідентифіковано БАР, встановлено кількісний вміст основних груп БАР в траві та кореневищах з коренями п. європейського в залежності від місця зростання; опрацьовано оптимальні технологічні параметри одержання екстрактів з трави та кореневищ з коренями п. європейського та проведено їх стандартизацію; досліджено фармакологічну активність та токсичність екстрактів п. європейського; встановлено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки надземних та підземних органів п. європейського; виявлено масиви заростей п. європейського, встановлено урожайність, біологічний запас сировини; розроблено проекти МКЯ «Підлісника європейського трава», «Підлісника європейського трави екстракт сухий» та «Інструкції із заготівлі та сушіння трави підлісника європейського».

Результати досліджень самостійно проаналізовано та систематизовано, оформлено у вигляді таблиць, рисунків, схем, актів впровадження, проєктів МКЯ, фотознімків. Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на 81-ій науково-практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю “Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених” (Івано-Франківськ, 2012); III Всеукраїнській науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2012); Міжнародній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Вода і здоров’я людини» (Ужгород, 2013); 82-ій, 83-ій, 84-ій науково-практичних конференціях студентів і молодих вчених з міжнародною участю “Інновації в медицині” (Івано-Франківськ, 2013, 2014, 2015); 5-ій науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2013); I міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2014); XI науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Слобожанські читання. Медичне та фармацевтичне право України: інновації, якість, безпека та перспективи розвитку» (Харків, 2014); IV науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (Харків, 2014); I міжнародній науково-практичній internet-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2014); VIII міжнародній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти збереження здоров’я людини» (Ужгород, 2015); II міжнародній науковій конференції «Агробіорізноманіття для покращення харчування, здоров’я та якості життя» (Nitra, 2015).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу Івано-Франківського національного медичного університету та Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького 11 листопада 2020 року.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 22 наукові праці, у тому числі 11 статей (із них 6 – у фахових наукових виданнях України та 2 у іноземних виданнях), 1 патент України на корисну модель, 1 монографію і 9 тез доповідей.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 260 сторінках машинописного тексту (обсяг основного тексту – 186 сторінок), вона складається з анотації, вступу, огляду літератури, експериментальної частини, яка містить розділ з описом об’єктів і методів дослідження та три розділи з результатами експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертацію ілюстровано 31 рисунком та 54 таблицями. Список використаних джерел містить 160 найменувань, з яких 121 кирилицею та 39 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, визначено предмет та об'єкти дослідження, його мету і завдання, розкрито наукову новизну, висвітлено теоретичне та практичне значення роботи, зазначено особистий внесок дисертанта та ступінь апробації одержаних результатів.

Розділ 1. Підлісник європейський – перспективна лікарська рослина. Наведено аналіз сучасного стану вивчення видів роду Підлісник. Проаналізовано та узагальнено дані українських та світових першоджерел з ботанічної характеристики, сучасного стану вивчення хімічного складу, використання в науковій та народній медицині, гомеопатії. Аналіз наукових першоджерел свідчить про недостатню вивченість хімічного складу, широке застосування видів роду Підлісник в народній медицині. Враховуючи досвід використання у народній медицині, перспективним є проведення фітохімічних та фармакологічних досліджень п. європейського та створення на його основі нових лікарських субстанцій різної фармакологічної спрямованості.

Розділ 2. Методи та матеріали дослідження. У розділі наведено характеристику об'єктів дослідження, відомості про прилади, матеріали, методи та реактиви, які використовували при проведенні досліджень.

Розділ 3. Вивчення складу біологічно активних речовин підлісника європейського. У розділі представлено результати виявлення та визначення вмісту БАР у надземних та підземних органах п. європейського.

За результатами фітохімічного аналізу встановлено, що досліджувана сировина п. європейського містить похідні простих фенолів, таніни, флавоноїди, тритерпенові сапоніни, кумарини, гідроксикоричні та карбонові кислоти, амінокислоти, вільні цукри, полісахариди, вітамін K_1 .

У результаті хроматографічного аналізу органічних кислот в порівнянні з достовірними зразками в траві п. європейського ідентифіковано аскорбінову, яблучну, лимонну та щавлеву кислоти; в кореневищах з коренями – щавлеву, лимонну та яблучну кислоти.

Для виділення БАР з трави та кореневищ з коренями п. європейського та поділу їх на індивідуальні сполуки використовували методи розподільного фракціонування в системі “рідина – рідина”, колонкової хроматографії на силікагелі, препаративної хроматографії на папері з наступною рехроматографією та дробною кристалізацією. Виділені речовини ідентифіковано на підставі їх спектральних та хроматографічних характеристик; температури плавлення та при змішуванні із достовірними зразками відповідних сполук.

За результатами проведених досліджень із трави п. європейського виділено 7 речовин – 6 гідроксикоричних кислот, 1 флавоноїд; із кореневищ з коренями п. європейського – 5 речовин (5 гідроксикоричних кислот) (табл. 1).

За результатами якісних реакцій та флуоресценцією плям в УФ-світлі до і після обробки специфічними реактивами речовини ГК₁ – ГК₆ віднесено до гідроксикоричних кислот, речовину Фл₁ – до флавоноїдів, що підтверджується даними УФ-спектрів.

**Фізико-хімічні властивості виділених фенольних сполук
підлісника європейського**

Сполука		Загальна формула	Т.пл., °C	УФ- спектр, λ, нм	Значення Rf в системі розчинників *	Вид сировини **
ГК ₁	Кофейна кислота (3,4-дигідроксикорична кислота)	C ₉ H ₈ O ₄	194- 195	245, 299, 325	0,81 (А); 0,34 (Б)	1, 2
ГК ₂	Хлорогенова кислота (5-О- кофеїл-D-хінна кислота)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	203- 205	240, 298, 325	0,62 (А); 0,65 (Б); 0,87 (В)	1, 2
ГК ₃	Розмаринова кислота (естер кофейної і 3,4-дигідроксифеніл молочної кислоти)	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	171- 175	220, 290, 326	0,87 (А); 0,40 (Б)	1, 2
ГК ₄	Ферулова кислота (3-метокси-4- оксикорична кислота)	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	167- 169	230, 291, 323	0,43 (А); 0,47 (Б); 0,92 (В)	1, 2
ГК ₅	n-Кумарова кислота (4-гідроксикорична кислота)	C ₉ H ₈ O ₃	212- 214	220, 310	0,48 (А), 0,89 (Б);	1
ГК ₆	Неохлорогенова кислота (3-О- кофеїл-D-хінна кислота)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Аморф.	235, 299, 325	0,38 (А); 0,60 (Б); 0,90 (В)	1, 2
Фл ₁	Рутин (3-О-β-D- рутинозид-5,7,3',4'- тетрагідроксифлавоон)	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	189- 192	257, 265, 360	0,46 (А)	1

Примітки. *Система розчинників: А – n-бутанол-оцтова кислота-вода (4:1:2); Б – 2,5 % оцтова кислота; В – 60 % оцтова кислота. **Вид сировини: 1 – трава п. європейського; 2 – кореневища з коренями п. європейського.

В продуктах лужної деструкції речовин ГК₁, ГК₂, ГК₆ знайдено протокатехову кислоту, речовини ГК₄ – ванілінову кислоту, речовини ГК₅ – n-оксибензойну кислоту. Лужний гідроліз речовини ГК₃ приводить до утворення кофейної кислоти, речовин ГК₂ та ГК₆ – еквімолекулярних кількостей кофейної та D-хінної кислот. Місце приєднання кофейної кислоти до D-хінної встановлено за результатами лактонізації цих сполук.

Глікозидна природа речовини Фл₁ доведена негативним результатом ціанідинової проби за Бріантом (утворені червоні продукти реакції не переходять в октанольний шар), відновленням реактиву Фелінга після кислотного гідролізу, в УФ-світлі на хроматограмах речовина має темно-коричневу флуоресценцію, яка переходить в жовту під дією пари аміаку. При дослідженні продуктів кислотного гідролізу речовини Фл₁ було встановлено аглікон, який за фізико-хімічними властивостями ідентифіковано з кверцетином. В нейтралізованому гідролізаті хроматографією на папері в системі розчинників n-бутанол-піридин-вода (6:4:3) в порівнянні з достовірними зразками було виявлено D-глюкозу і L-рамнозу. Змішана проба речовини Фл₁ і достовірного зразка рутину не викликала депресії температури плавлення і на хроматограмах давала одну нероздільну пляму. Згідно одержаних результатів речовину Фл₁ можна охарактеризувати як 3-О-β-D-рутинозид-5,7,3',4'-тетрагідроксифлавоон.

Методом ВЕРХ у траві п. європейського ідентифіковано 14 фенольних сполук, а в кореневищах з коренями – 13 сполук (табл. 2).

Таблиця 2

Фенольні сполуки трави та кореневищ з коренями підлісника європейського

Вміст БАР, мг/кг					
Сполука	Трава	Кореневища з коренями	Сполука	Трава	Кореневища з коренями
<i>Таніни</i>			<i>Флавоноїди</i>		
Галокатехін	3129,25	3121,25	Кверцетин	119,00	-
Катехін	840,75	292,75	Кемпферол	18,63	-
Епікатехін	479,88	1912,63	Апігенін	108,50	135,75
Катехіну галат	969,13	-	<i>Гідроксикоричні кислоти</i>		
Епікатехіну галат	11058,63	1815,88	Хлорогенова кислота	324,38	383,25
Елагова кислота	25,88	93,65	Розмаринова кислота	4933,50	3330,25
Галова кислота	-	61,63	Кофейна кислота	257,50	191,75
Епігалокатехін	-	1946,88			
<i>Кумарини</i>			Ферулова кислота	89,63	103,00
Кумарин	97,38	97,06			

Серед танінів найбільший вміст у траві п. європейського припадає на епікатехіну галат – 1,11 %; кореневища з коренями найбільше містять у своєму складі галокатехін – 0,31 %. Серед ідентифікованих флавоноїдів у траві п. європейського переважає кверцетин. Найбільший вміст гідроксикоричних кислот у траві та кореневищах з коренями п. європейського припадає на розмаринову кислоту – 0,49 % та 0,33 % відповідно. І трава, і кореневища з коренями містять кумарин.

В траві п. європейського методом ГХ/МС виявлено 39 компонентів летких сполук, з яких 14 ідентифіковано та встановлено їх вміст (табл. 3).

Таблиця 3

Ідентифіковані леткі сполуки трави підлісника європейського

Сполука	Вміст, мг/кг	Сполука	Вміст, мг/кг
β -Патчулен	19,80	Бісаболен	36,34
β -Кедрен	65,72	(-)-Каламенен	6,05
Каріофілен	20,00	Каріофілену оксид	2,46
транс- α -Бергамотен	5,86	1-метил-6-метиленбіцикло[3.2.0] гептан	126,68
β -Хелміскапен	356,61	Гептакозан	12,48
α -Кадінен	33,02	4,11-Селінадієн	31,30
α -Муурулен	12,97	Гексагідрофарнезилацетон	17,56
Загальний вміст, мг/кг		746,86	

Серед ідентифікованих компонентів летких сполук найбільшу частку складають сесквітерпеноїди. Переважаючими за вмістом є біциклічні сполуки (479,97 мг/кг). Домінуючими терпеноїдами є: біциклічний сесквітерпеноїд

β -хелміскапен (356,61 мг/кг); трициклічний – β -кедрен (65,72 мг/кг), моноциклічний – бісаболен (36,34 мг/кг).

У траві п. європейського методом ГХ-МС ідентифіковано і визначено вміст трьох сполук стероїдної природи. Найбільший вміст встановлено для β -ситостеролу – 282,82 мг/кг, дещо менший для стигмастан-3,5-дієну – 112,72 мг/кг та найменший для стигмастеролу – 39,16 мг/кг.

Вперше з сировини п. європейського виділено фракції ВРПС, ПР, ГцА та ГцБ. Вміст ВРПС у траві та кореневищах з коренями п. європейського становить $2,02 \pm 0,10$ % та $1,18 \pm 0,06$ %, ПР – $1,50 \pm 0,06$ % та $1,09 \pm 0,05$ %, ГцА – $1,26 \pm 0,06$ % та $2,87 \pm 0,14$ %, ГцБ – $3,32 \pm 0,15$ % та $2,48 \pm 0,12$ % відповідно.

Для дослідження мономерного складу полісахаридів вивчали динаміку їх гідролізу сульфатною кислотою протягом 1, 3 та 5 годин. Встановлено, що повне розщеплення полімерних сполук до молекул мономерів відбувається протягом 3 год. При подальшому гідролізі зменшується кількість мономерів, що свідчить про їх деструкцію. Методом ПХ та ТШХ ідентифіковано такі моносахарида як глюкоза, арабіноза, ксилоза, фруктоза, рамноза, а також глюкуронову та галактуринову кислоти.

Дослідження амінокислотного складу сировини п. європейського проводили на амінокислотному аналізаторі ААА Т-339 М у порівнянні з розчинами стандартних гідролізатів амінокислот згідно з ДСТУ ISO 13903:2005. У сировині п. європейського ідентифіковано та встановлено вміст 17 амінокислот, серед яких 7 незамінних та 10 замінних. Загальна сума амінокислот у траві п. європейського становить 100,10 мг/100 г (з них 31,37 мг/100 г незамінних), а у кореневищах з коренями п. європейського – 99,06 мг/100 г (з них 14,49 мг/100 г незамінних). Домінуючими амінокислотами у траві п. європейського є аспарагінова кислота (12,42 мг/100 г), гліцин (12,21 мг/100 г), аланін (9,81 мг/100 г), аргінін (9,12 мг/100 г); у кореневищах з коренями п. європейського – аргінін (25,38 мг/100 г), пролін (11,54 мг/100 г), аланін та аспарагінова кислота (по 10,77 мг/100 г).

Склад жирних кислот у траві п. європейського визначено методом ГХ/МС. Ідентифіковано 9 жирних кислот, з них 6 насичених та 3 ненасичені (табл. 4).

Таблиця 4

**Якісний склад та кількісний вміст жирних кислот
трави підлісника європейського**

Насичені	Вміст, мг/кг*	Вміст, %**	Ненасичені	Вміст, мг/кг*	Вміст, %**
Пальмітинова	3400,77	35,36	Пальмітолеїнова	175,65	1,83
Стеаринова	338,36	3,52			
Бегенова	325,60	3,39	Лінолева	2892,98	30,08
Трикозанова	сліди	сліди			
Лігноцеринова	493,93	5,13	Ліноленова	1784,69	18,55
Церотинова	206,27	2,14			

Примітка: * – мг/кг в сировині; ** – % відсоток від суми виявлених компонентів.

Загальний вміст жирних кислот становить 9618,25 мг/кг. Кількість ненасичених і насичених кислот знаходиться майже у рівному співвідношенні – 50,46 % і 49,54 % від загального вмісту. Серед ненасичених жирних кислот

переважають ліолева (2892,98 мг/кг) та ліоленова (1784,69 мг/кг) кислоти, а серед насичених – пальмітинова (3400,77 мг/кг) кислота.

Методом ААС досліджено мінеральний склад трави та кореневищ з коренями п. європейського. Серед макроелементів в траві п. європейського в найбільшій кількості накопичується К (2740 мг/100 г), а серед мікроелементів – Fe (7,98 мг/100 г); у кореневищах з коренями встановлено найвищий вміст макроелементу Са (2260 мг/100 г) та мікроелементу Mn (5,81 мг/100 г). Вміст важких металів (Cd та Pb) знаходиться в межах допустимих концентрацій.

У траві, листках, стеблах та кореневищах з коренями п. європейського визначено вміст суми поліфенолів, танінів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, вітаміну K_1 , тритерпенових сапонінів, окиснюваних фенолів, органічних кислот, в тому числі аскорбінової кислоти (табл. 5).

Таблиця 5

Кількісний вміст основних груп БАР у сировині підлісника європейського

Метод аналізу	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 9			
	Трава	Листки	Стебла	Кореневища з коренями
Сума поліфенолів				
Спектрофотометричний у перерахунку на пірогалол (760 нм)	10,43 ± 0,03	10,95 ± 0,04	2,17 ± 0,03	7,45 ± 0,04
Перманганатометричний (метод Левенталю)	4,11 ± 0,13	4,68 ± 0,15	1,62 ± 0,11	3,36 ± 0,11
Таніни				
Спектрофотометричний у перерахунку на пірогалол (760 нм)	7,28 ± 0,03	7,91 ± 0,04	1,21 ± 0,01	6,21 ± 0,02
Флавоноїди				
Спектрофотометричний у перерахунку на рутин (408 нм)	2,37 ± 0,01	2,72 ± 0,02	0,91 ± 0,01	0,087 ± 0,01
Гідроксикоричні кислоти				
Спектрофотометричний у перерахунку на розмаринову кислоту (325 нм)	1,26 ± 0,01	1,68 ± 0,01	0,55 ± 0,04	1,18 ± 0,01
Вітамін K_1				
Спектрофотометричний у перерахунку на вікасол (230 нм)	0,96 ± 0,04	1,03 ± 0,08	0,75 ± 0,05	0,37 ± 0,02
Тритерпенові сапоніни				
Фотоколориметрий у перерахунку на олеанолову кислоту	0,86 ± 0,01	1,05 ± 0,01	0,38 ± 0,02	0,33 ± 0,02
Органічні кислоти				
Титриметричний у перерахунку на яблучну кислоту	1,45 ± 0,11	1,88 ± 0,03	1,15 ± 0,02	1,63 ± 0,10
Аскорбінова кислота				
Титриметричний у перерахунку на абсолютно суху сировину	0,059 ± 0,003	0,067 ± 0,002	0,018 ± 0,001	-

Результати проведених досліджень (табл. 5) вказують, що вміст суми поліфенолів у сировині п. європейського становить від 2,17 % до 10,95 %; вміст окиснюваних фенолів – від 1,62 % до 4,68 %; вміст танінів – від 1,21 % до 7,91 %; вміст суми флавоноїдів знаходиться в межах від 0,087 % до 2,72 % в залежності від виду сировини. Встановлено, що максимальний вміст суми поліфенолів, окиснюваних фенолів, танінів і флавоноїдів накопичується в листках п. європейського (10,95 %, 4,68 %, 7,91 % та 2,72 % відповідно).

Вміст тритерпенових сапонінів в досліджуваній сировині знаходиться в межах від 0,33 % до 1,05 %; гідроксикоричних кислот – від 0,55 % до 1,68 %. Найбільший вміст тритерпенових сапонінів та гідроксикоричних кислот накопичується в листках п. європейського і становить 1,05 % та 1,68 % відповідно.

За результатами дослідження (табл. 5) було встановлено, що вміст вітаміну K_1 знаходиться в межах від 0,37 % до 1,03 %, органічних кислот – від 1,15 % до 1,88 %, аскорбінової кислоти – від 0,018 % до 0,067 % залежно від виду сировини. Найбільший вміст вітаміну K_1 , органічних кислот, в тому числі аскорбінової кислоти, накопичується в листках п. європейського і становить 1,03 %, 1,88 % та 0,067 % відповідно.

Отримані результати свідчать, що максимальна кількість БАР накопичується в листках п. європейського, а дещо нижчий вміст – у траві. На підставі проведених фітохімічних, морфологічних досліджень та з урахуванням фітомаси листків для подальших досліджень обрано траву п. європейського.

Вивчено вплив умов зростання на накопичення БАР в траві п. європейського, заготовленої в природніх умовах зростання та в культивованій сировині (2015 р.) Дані вмісту БАР у траві п. європейського з двох місць зростання в різних областях України та в культивованій сировині наведені в таблиці 6.

Таблиця 6

Залежність вмісту БАР у траві підлісника європейського від місця зростання

Місця заготівлі	Вміст БАР, %, $\bar{x} \pm \Delta x$, n = 9				
	Сума поліфенолів	Таніни	Гідроксикоричні кислоти	Флавоноїди	Органічні кислоти
Івано-Франківська обл., Тисменицький район, околиці с. Вовчинці	10,14±0,03	7,16±0,02	1,27±0,06	2,37±0,02	1,41±0,02
Чернівецька обл., Сторожинецький район, околиці с. Глибочок	9,53±0,07	6,87±0,04	1,21±0,05	2,31±0,01	1,15±0,05
Навчально-дослідні ділянки лікарських рослин (культивована сировина)	10,29±0,04	7,02±0,02	1,25±0,02	2,39±0,01	1,41±0,04

Встановлено, що вміст всіх груп БАР в траві п. європейського не залежить від місця зростання рослини. За вмістом БАР культивована сировина практично не відрізняється від сировини, заготовленої в природніх умовах зростання.

Розділ 4. Виділення комплексів біологічно активних речовин п. європейського та дослідження їх фармакологічної активності. Визначено технологічні параметри сировини п. європейського (питому густину, об'ємну

густину, насипну густину, порізність, пористість сировини, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання екстрагенту) та встановлено оптимальні умови одержання екстрактів. Встановлено, що оптимальними параметрами виділення БАР була екстракція сировини п. європейського, подрібненої до розміру частинок 1,0 – 2,5 мм, водою очищеною або 70 % етанолом впродовж 30 хв. Оптимальне співвідношення сировини до екстрагента становить 1:10. Повнота виділення БАР досягається при трикратному екстрагуванні. Отримані витяжки висушували ліофільно в сублімаційному апараті типу КС-30.

Екстракти п. європейського являють собою гігроскопічні порошки від світло-жовтого до темно-коричневого кольору, розчинні у воді або 70 % етанолі, нерозчинні в органічних розчинниках. Вихід одержаних екстрактів становив 21,57 % – 28,45 % залежно від природи екстрагенту та виду сировини.

В екстрактах визначали кількісний вміст БАР (табл. 7).

Таблиця 7

Кількісний вміст БАР в екстрактах підлісника європейського

Умовне позначення екстракту	Екстрагент	Вихід, %	Втрата в масі при висушуванні, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 6	Вміст БАР, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 6				
				Сума поліфенолів	Гідроксикоричні кислоти	Полісахариди	Тритерпенові сапоніни	Флавоноїди
ПЄ _{тр.} -В	Вода очищена	25,28	4,59±0,14	13,54 ±0,24	2,18 ±0,05	4,97 ±0,23	1,65 ±0,04	3,61 ±0,14
ПЄ _{тр.} -70	70 % етанол	21,57	3,80±0,11	15,02 ±0,19	2,87 ±0,07	-	1,36 ±0,03	5,46 ±0,23
ПЄ _{к.к.} -В	Вода очищена	28,45	4,02±0,12	11,08 ±0,15	2,21 ±0,07	2,91 ±0,14	0,83 ±0,01	0,13 ±0,01
ПЄ _{к.к.} -70	70 % етанол	26,64	3,89±0,10	12,24 ±0,24	2,61 ±0,08	-	0,72 ±0,02	0,21 ±0,02

Визначено, що вміст основних груп БАР в екстрактах трави п. європейського вищий ніж в екстрактах, одержаних з кореневищ з коренями. Вміст суми поліфенолів, флавоноїдів та гідроксикоричних кислот вищий у екстрактах, отриманих з використанням екстрагенту 70 % етанолу, а тритерпенових сапонінів – в екстрактах, отриманих з використанням екстрагенту води очищеної.

З метою стандартизації екстрактів ПЄ_{тр.}-В, ПЄ_{тр.}-70, ПЄ_{к.к.}-В, ПЄ_{к.к.}-70 визначали основні числові показники у 5 серіях кожного екстракту.

Гостру токсичність та фармакологічну активність екстрактів п. європейського досліджували при консультативній допомозі завідувача кафедри анатомії людини професора О. Г. Попадинець та доцента кафедри анатомії людини В. М. Іваночка. Вивчення біохімічних та гематологічних показників крові дослідних тварин проводили на базі «Центру біоелементології» ІФНМУ (свідоцтво про технічну компетентність № 037/19 від 13 червня 2019 р. до 12 червня 2024 р.).

Для визначення гострої токсичності екстрактів використовували методику доклінічного вивчення нешкідливості лікарських засобів (Стефанов О.В., 2001 р.).

Встановлено, що внутрішньошлункове введення екстрактів п. європейського в дозі 5000 мг/кг не призводить до загибелі тварин та змін в їх поведінці. Внутрішні органи дослідних тварин за морфологічною будовою залишалися без змін, гематологічні та деякі біохімічні показники крові знаходились на рівні контрольних. Це дає можливість віднести досліджувані екстракти до IV класу токсичності речовин з $LD_{50} = 500 - 5000$ мг/кг (малотоксичні).

Визначення протизапальної активності екстрактів проводили на моделі гострого асептичного карагенінового запалення лапки щура в порівнянні з кверцетином (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ»). Більш виражену антиексудативну активність проявляє екстракт ПЄ_{тр.}-В, пригнічуючи запальну реакцію на 5 годину експерименту на 36,40 % (кверцетин – на 29,40 %).

Дослідження антимікробної активності методом дифузії в агар із застосуванням паперових дисків свідчить, що екстракти трави п. європейського виявляють бактеріостатичну активність відносно паличкоподібної та кокоподібної мікрофлори. Найбільшу активність проявляє екстракт ПЄ_{тр.}-70 по відношенню до *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 і *Escherichia coli* ATCC 25922 та екстракт ПЄ_{к.к.}-В по відношенню до *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Гемостатичні властивості досліджуваних екстрактів визначали за тривалістю кровотечі (за методом Дюке). Встановлено, що при нанесенні екстрактів п. європейського ПЄ_{тр.}-В та ПЄ_{тр.}-70 на рану час кровотечі суттєво зменшувався у порівнянні з контрольною групою тварин. Найбільш суттєве зниження кровотечі викликало застосування екстракту ПЄ_{тр.}-В (49,56 %), меншу кровоспинну активність проявляв екстракт ПЄ_{тр.}-70 (48,29 %) і найнижчу кровоспинну активність (23,15 %) викликав препарат порівняння «Екстракт перцю водяного рідкий» (ПрАТ «Фітофарм»). Результати дослідження вказують на наявність місцевої гемостатичної дії у субстанціях трави п. європейського. Спосіб одержання екстракту трави п. європейського з кровоспинною активністю захищено патентом України на корисну модель.

Вивчення ранозагоювальної дії екстрактів п. європейського проводили на моделі різаної асептичної рани. Результати досліджень свідчать, що при застосуванні екстрактів трави п. європейського ПЄ_{тр.}-В та ПЄ_{тр.}-70 спостерігається повне загоєння рани на 8 – 9 і 9 – 10 добу відповідно, референс-препарату «Рекутан» (ТзОВ «Здоров'я») – на 10 – 11 добу, а в контрольній групі тварин – на 15 – 16 добу. Краща ранозагоювальна дія та динаміка перебігу ранового процесу спостерігалася при застосуванні екстракту ПЄ_{тр.}-В.

На підставі проведених скринінгових фармакологічних досліджень екстрактів п. європейського встановлено, що виражену кровоспинну, ранозагоювальну, протизапальну та антимікробну активність проявляють екстракти трави п. європейського.

Перспективною субстанцією для розробки лікарської форми є екстракт ПЄ_{тр.}-В, результати стандартизації 5 серій якого наведено у таблиці 8.

На основі проведених досліджень нами запропоновано показники доброякісності екстракту трави п. європейського, які включено до проекту МКЯ «Підлісника європейського трави екстракт сухий».

**Показники якості екстракту трави підлісника європейського
(екстрагент – вода очищена)**

Показник якості	Допустимі межі	Результат				
		Серія 001	Серія 002	Серія 003	Серія 004	Серія 005
<i>Опис</i>	Порошок темно-коричневого кольору, без запаху	Відповідає				
<i>Розчинність</i>	Розчинний у воді, помірно розчинний у 40 % етанолі, нерозчинний в хлороформі, етилацетаті	Відповідає				
<i>Ідентифікація діючих речовин</i>	Метод ТІХХ	Відповідає				
<i>Втрата в масі при висушуванні, %</i>	Не більше 5,0 %	4,66	4,59	4,45	4,68	4,58
<i>Загальна зола, %</i>	Не більше 1,0 %	0,88	0,87	0,87	0,86	0,87
<i>Важкі метали</i>	Не більше 0,002 %	Відповідає				
<i>Мікробіологічна чистота</i>	В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 в 1 г	Відповідає				
<i>Сума поліфенолів, %</i>	Не менше 13,0 %	13,51	13,79	13,95	13,56	13,67

Розділ 5. Ресурсо-біологічні дослідження та розробка методів контролю якості на сировину підлісника європейського. Для ідентифікації досліджуваної рослинної сировини було проведено вивчення морфологічної та анатомічної будови трави та кореневищ з коренями п. європейського.

Морфологічні ознаки трави. Цілі або частково здрібнені шматки стебел, листків, квіток. Стебло голе, просте, до 3,0 мм у діаметрі. Листки довго- або короткочерешкові, пальчатороздільні, з 3 – 5 оберненояцеподібними дво-, тринадрізними пилчастими частками з зубцями, що закінчуються зубчиком. З верхнього боку листки темно-зеленого кольору, з нижнього – сіро-зеленого. Квітки дрібні, зібрані у 3 – 5-променевиї зонтик, оточений обгорткою з ланцетних, зубчастих або перистороздільних листочків; пелюстки білі або блідо-рожеві, виїмчасті, з довгою увігнутою всередину верхівкою. Запах слабкий, специфічний.

Анатомічні ознаки трави. Стебло п. європейського вкрите однорядною епідермою. В паренхімі стебла лежить велика кількість судинно-волокнистих пучків у вигляді кільця. У флоемі судинно-волокнистих пучків чітко видно групи ситоподібних трубок, які щільно зосереджені в луб'яній паренхімі. Камбій складається з трьох-чотирьох шарів тонкостінних клітин. У ксилемі розташовані

судини невеликими групами. Центральну частину стебла займає серцевина з великими тонкостінними клітинами.

Листкова пластинка дорсивентральної будови. Під верхньою епідермою наявна одношарова гіподерма. Мезофіл листка неоднорідний, містить 2 – 3-рядну палісадну паренхіму, утворену щільно розташованими прозенхімними клітинами овальної форми. Клітини верхньої епідерми (рис. 1 А) дещо витягнуті у тангентальному напрямі, із хвилясто-виїмчастими тонкостінними оболонками. Вдоль жилок епідермальні клітини дрібні, прозенхімні, в окремих місцях їх оболонки потовщені вервичкоподібно. Продихи у верхній епідермі відсутні.

Клітини нижньої епідерми зі звивистими оболонками. Серед них зустрічаються численні продихи, які розташовані на одному рівні з іншими епідермальними клітинами або дещо занурені (рис. 1 Б). Замикаючі клітини з потовщеними внутрішніми оболонками та вузькою щілиною, оточені трьома побічними клітинами, одна з яких менша або більша від двох інших (анізocитний тип продихового апарату).

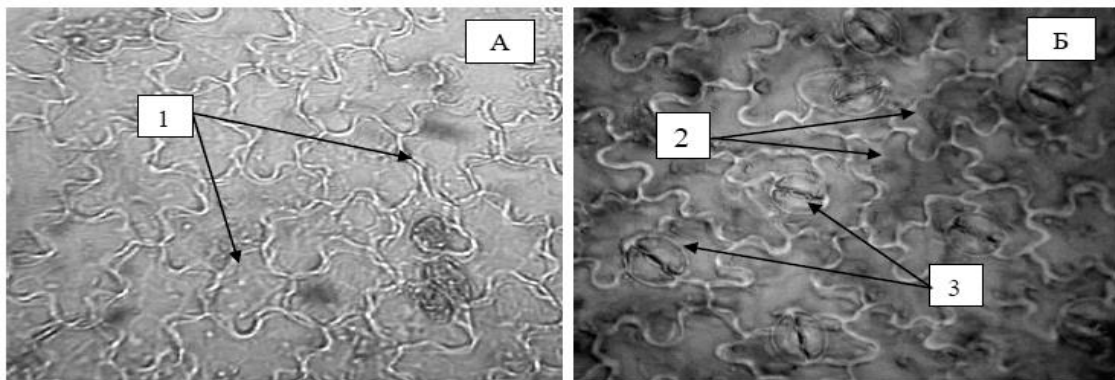


Рис. 1. Фрагмент анатомічної будови листка підлісника європейського: А – верхня епідерма, Б – нижня епідерма: 1 – клітини епідерми із хвилясто-виїмчастими тонкостінними оболонками; 2 – клітини епідерми зі звивистими оболонками; 3 – продиховий апарат анізоцитного типу

Черешок листка на поперечному зрізі має трикутну форму з невеликими виступами, вираженість яких збільшується з віком органу, а також у напрямку від базальної до верхівкової частини черешка. В середній частині черешка присутні п'ять судинно-волокнистих пучків, повернені ксилемою до центра. Клітини епідерми без потовщень мозаїчно чергуються з клітинами, що мають вервичкоподібно потовщені оболонки. Місцями клітини епідерми вкриті складчастою кутикулою (рис. 2).

Морфологічні ознаки кореневища з коренями. Шматки кореневища циліндрично-веретеноподібної форми близько 4 см завдовжки, 1 – 2 см у діаметрі, тверді та малогалузисті, з великою кількістю бічних коренів. Поверхня від темно-жовтого до жовтуватого-коричневого кольору, зморшкувата, із залишками коренів. Бічні корені циліндричні, іноді спірально закручені, завдовжки до 7 см, діаметром 0,1 – 0,2 см, темно-коричневого кольору.

Анатомічні ознаки кореневища з коренями. Кореневище має безпучковий тип будови. Клітини корку перидерми на поперечному зрізі в 2 рази більші від клітин корку бічного кореня. Серцевина складається із великих клітин округлої форми.

Бічний корінь безпучкового типу будови (рис. 3). Субепідермальна коленхіма з нерівномірно-потовщеними оболонками клітин утворює 3 – 4-рядне суцільне кільце. Основна тканина утворена двома рядами дрібних клітин і 5 – 8 рядами товстостінних паренхімних клітин. У складі перидерми – 3 – 7 шарів тонкостінних, сплюснених, забарвлених у темно-коричневий колір клітин корку. У коровій частині та в ксилемі наявні промені механічних тканин, що розширюються в центробіжному напрямку. Вони різні за довжиною та досить рівномірно чергуються з променями паренхіми. Судини сітчасті, рідше кільчасті. Серцевина в центральній частині циліндрична. Наявні друзи кальцію оксалату.

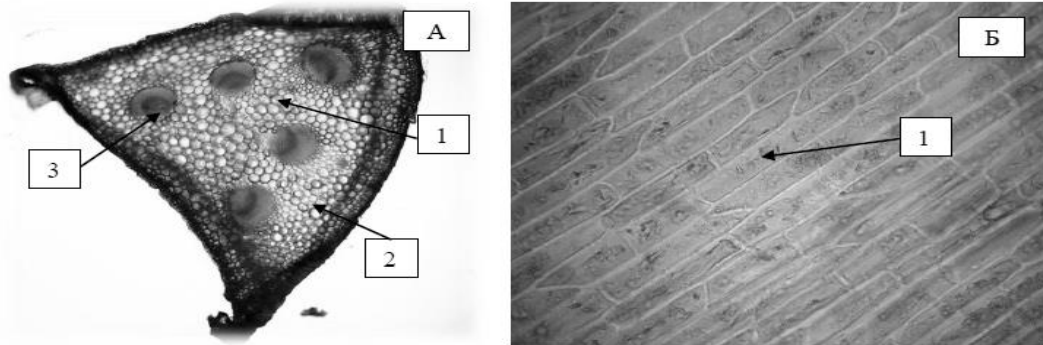


Рис. 2. Фрагмент анатомічної будови черешка листка підлісника європейського: А – поперечний зріз; Б – епідерма: 1 – клітини епідерми; 2 – міжклітинники; 3 – судинно-волоконисті пучки

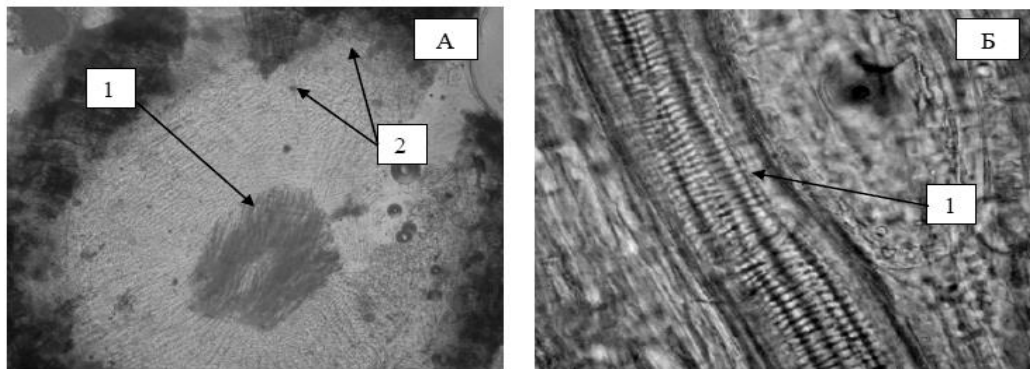


Рис. 3. Фрагмент анатомічної будови бічного кореня підлісника європейського: А – поперечний зріз, Б – поздовжній зріз: 1 – судини; 2 – друзи кальцію оксалату

Результати морфолого-анатомічних досліджень було використано при розробці проєкту МКЯ на траву п. європейського.

Встановлено місця зростання та біологічний запас п. європейського в Івано-Франківській та Чернівецькій областях. Встановлено урожайність трави п. європейського (1,38 – 3,86 г/м²), біологічний запас сировини (7,88 – 27,02 кг).

У зв'язку з недостатніми об'ємами заготівлі трави та запровадженням в Україні вимог GACP, актуальним є введення в культуру п. європейського. Для розробки умов культивування використовували насіння та посадковий матеріал п. європейського, заготовлені в Івано-Франківській обл. у 2012 р. Встановлено, що лабораторна схожість насіння п. європейського становить $35 \pm 2,3$ %, а польова – 20 ± 2 %. При дослідженні вегетативного розмноження п. європейського в парниках і у відкритому ґрунті встановлено, що найбільший відсоток вкорінення спостерігається у живців з бруньками відновлення (92 %). При висаджуванні весною

рослини починали відростати цього ж року, були повністю сформовані, на другий рік давали плоди.

Для стандартизації трави п. європейського проведено визначення числових показників: втрати в масі при висушуванні (не більше 10 %), вмісту загальної золи (не більше 10 %), сторонніх домішок (не більше 2 %) та вмісту суми поліфенолів (не менше 8 %).

З метою встановлення термінів придатності трави п. європейського зразки сировини зберігали у сухому, прохолодному, затемненому, добре провітрюваному приміщенні при температурі не вище 25 °C і вологості 80 % впродовж 2014 – 2016 рр., проводили товарознавчий аналіз кожні 6 місяців. Встановлено, що термін придатності трави п. європейського становить 2 роки.

На основі проведених досліджень нами запропоновано показники доброякісності трави п. європейського, які включено до проєктів МКЯ «Підлісника європейського трава» та «Інструкції із заготівлі та сушіння трави підлісника європейського».

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукового завдання, що полягає у комплексному фармакогностичному дослідженні п. європейського; встановленні якісного складу і кількісного вмісту БАР, одержанні екстрактів, вивченні їх фармакологічної активності, визначенні можливості забезпечення сировиною, розробці проєктів методів контролю якості на сировину та екстракт.

1. Встановлено, що в траві та кореневищах з коренями п. європейського наявні фенольні сполуки: прості феноли, гідроксикоричні кислоти, кумарини, флавоноїди, таніни; ефірна олія та тритерпенові сапоніни; полісахариди, амінокислоти та карбонові кислоти. За допомогою ПХ, ТШХ, ГХ-МС, ВЕРХ в траві п. європейського ідентифіковано 80 речовин, а в кореневищах з коренями – 50.

2. Вперше у п. європейському виявлено: у складі ефірної олії – β -патчулен, β -кедрен, каріофілен, транс- α -бергамотен, β -хелміскапен, α -кадінен, α -муурулен, бісаболен, (-)-каламенен, 1-метил-6-метиленбіцикло[3.2.0] гептан, гептакозан, 4,11-селінадієн, гексагідрофарнезилацетон; сполуки стероїдної природи – β -ситостерол, стигмастан-3,5-дієн, стигмастерол; гідроксикоричні кислоти – ферулову, неохлорогенову, *n*-кумарову; флавоноїди – кемпферол, апігенін; метаболіти танінів – галокатехін, катехін, епікатехін, катехіну галат, епікатехіну галат, елагову та галову кислоти, епігалокатехін; кумарин; жирні кислоти – пальмітолеїнову, пальмітинову, лінолеву, ліноленову, стеаринову, бегенову, трикозанову, лігноцеринову, церотинову; амінокислоти – треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, лізин, гістидин, аспарагінову та глютамінову кислоти, серин, пролін, цистин, гліцин, аланін, тирозин, аргінін.

3. У результаті проведених досліджень з використанням хімічних та фізико-хімічних методів аналізу, різних видів хроматографії порівняно з достовірними зразками, з сировини п. європейського виділено в індивідуальному стані та ідентифіковано 7 сполук – кофейну, хлорогенову, неохлорогенову, розмаринову, ферулову, *n*-кумарову кислоти та рутин.

4. У траві, листках, стеблах та кореневищах з коренями п. європейського визначено кількісний вміст (%) гідроксикоричних кислот (0,55 – 1,68), флавоноїдів (0,087 – 2,72), окиснюваних фенолів (1,62 – 4,68), суми поліфенолів (2,17 – 10,95), танінів (1,21 – 7,91), тритерпенових сапонінів (0,33 – 1,05), органічних кислот (1,15 – 1,88), в тому числі аскорбінової кислоти (0,018 – 0,067), вітаміну K_1 (0,37 – 1,03), ВРПС (1,18 – 2,02), ПР (1,09 – 1,50), ГцА (1,26 – 2,87), ГцБ (2,48 – 3,32).

5. Встановлено оптимальні параметри отримання екстрактів з трави та кореневищ з коренями п. європейського: ступінь подрібнення – від 1,0 до 2,5 мм; екстрагент – вода очищена або 70 % етанол; співвідношення сировина-екстрагент – 1:10; час екстракції – 30 хв; кратність – 3. Розроблено технологічну схему та одержано 4 сухих екстракти. Визначено їх вихід із сировини (21,57 % – 28,45 %), вміст (%) основних груп БАР: полісахаридів (2,91 – 4,97), гідроксикоричних кислот (2,18 – 2,87), флавоноїдів (0,13 – 5,46), суми поліфенолів (11,08 – 15,02), тритерпенових сапонінів (0,72 – 1,65).

6. Встановлено, що отримані екстракти відносяться до IV класу токсичності (малотоксичні), виявляють гемостатичну дію, бактеріостатичну активність відносно паличкоподібної та кокоподібної мікрофлори. Найбільш виражену ранозагоювальну та антиексудативну активність проявляє екстракт ПЄ_{тр}-В.

7. Визначено діагностичні морфологічні та анатомічні ознаки трави та кореневищ з коренями п. європейського.

8. Визначено основні числові показники трави п. європейського: втрату в масі при висушуванні (не більше 10 %), вміст загальної золи (не більше 10 %), сторонніх домішок (не більше 2 %) та вміст суми поліфенолів (не менше 8 %). На основі дослідження показників доброякісності 5 серій сировини, їх змін в процесі зберігання встановлено, що термін придатності сировини є 2 роки.

9. Встановлено місця зростання п. європейського в Івано-Франківській та Чернівецькій областях. Визначено урожайність та біологічний запас. Встановлено умови культивування п. європейського в ґрунтово-кліматичних умовах Прикарпаття та проведено фенологічні спостереження за розвитком рослини.

10. За результатами фітохімічного та морфолого-анатомічного аналізу розроблено проекти МКЯ «Підлісника європейського трава», «Підлісника європейського трави екстракт сухий», «Інструкцію із заготівлі та сушіння трави підлісника європейського».

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дослідження антимікробної активності екстрактів підлісника європейського / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, А. Р. Грицик, В. О. Гондарук. *Український вісник психоневрології*. 2012. Т. 20, вип. 2 (71) додаток. С. 66 – 67. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень антимікробної активності підлісника європейського, узагальнення одержаних даних та оформлення статті до друку).

2. Ідентифікація видів роду *Sanicula* L. і *Astrantia* L. родини *Ariaceae* L. / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, вип. 2 (75) додаток. С. 76 – 78. (Особистий

внесок – проведення аналізу досліджуваної сировини, обробка одержаних даних та оформлення статті до друку).

3. Морфолого-анатомічне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, А. Р. Грицик, М. В. Мельник. *Фармацевтичний журнал*. 2014. № 4. С. 53 – 58. (Особистий внесок – проведення макро- та мікроскопічного аналізу сировини підлісника європейського, обробка одержаних даних та оформлення статті до друку).

4. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Грицик А. Р. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот в сировині *Sanicula europaea* L. *Український вісник психоневрології*. 2014. Т. 22, вип. 2 (79) додаток. С. 105 – 107. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, статистична обробка даних та оформлення статті до друку).

5. Дослідження елементного складу підлісника європейського та астранції великої / Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, Л. М. Грицик, А. Р. Грицик. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 2. С. 112 – 116. (Особистий внесок – участь у проведенні аналізу сировини підлісника європейського, обробка одержаних результатів та оформлення статті до друку).

6. Легінь Н. І., Грицик Л. М. Вивчення гострої токсичності екстрактів з трави підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.). *Фармаком*. 2018. № 3. С. 46 – 49. (Особистий внесок – проведення експериментальної частини, обґрунтування одержаних результатів та оформлення статті до друку).

7. Cultivation of *Apiaceae* L. family plants in Precarpathion region / L. M. Grytsyk, N. I. Legin, T. I. Kolyadzhyn, A. R. Grytsyk. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality*. Nitra: Slovak University of Agriculture. 2015. Part 1. P. 216 – 218. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, узагальнення одержаних даних, оформлення статті до друку).

8. Study of Amino Acid Composition of *Betonica* L., *Sanicula* L. and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadjin. *The Pharma Innovation Journal*. 2016. No 5 (7). P. 47 – 49. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання експериментальної частини з дослідження амінокислотного складу сировини підлісника європейського, узагальнення одержаних даних, оформлення статті до друку).

9. Пошук перспективних джерел лікарських засобів з кровозупинною дією / Л. М. Грицик, І. Л. Бензель, Н. І. Легінь, Н. І. Тучак, О. В. Нейко, І. А. Сас, А. Р. Грицик. *Актуальні проблеми профілактичної медицини: зб. наук. праць (Присвячується 80-річчю від дня народження професора М. Й. Гжегоцького та 25-річчю заснування лабораторії промислової токсикології)*. Львів, 2012. № 10. С. 52 – 59. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, узагальнення одержаних даних, оформлення статті до друку).

10. Фенологічні особливості росту та розмноження підлісника європейського / Л. М. Грицик, А. Р. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Козак. *Вода і здоров'я людини (До 150-річчя з дня народження В. І. Вернадського)*: матеріали міжнар. міждисциплінарної наук.-практ. конф., 19 – 20 квіт. 2013 р. Ужгород, 2013. С. 246 – 249. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з

дослідження фенологічних особливостей розмноження підлісника європейського, оформлення статті до друку).

11. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / М. В. Мельник, А. Р. Грицик, О. В. Нейко, І. А. Сас, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин. *Сучасні аспекти збереження здоров'я людини*: матеріали VIII міжнар. міждисциплінарної наук.-практ. конф. 17 – 18 квіт. 2015 р. Ужгород, 2015. С. 228 – 231. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, узагальнення одержаних даних, виконання експериментальної частини з агротехнології вирощування підлісника європейського, оформлення статті до друку).

12. Спосіб одержання екстракту з трави підлісника європейського з кровоспинною дією: пат. 132069 Україна: МПК А61К 9/00, А61К 36/23, А61Р 7/04. № u 201809017; заявл. 30.08.18 ; опубл. 11.02.19, Бюл. № 3. (Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, оформлення патенту).

13. Легінь Н. І. Досвід використання підлісника європейського в народній медицині. *Сучасні проблеми медицини і фармації в наукових розробках студентів і молодих вчених*: матеріали 81-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. участю, 29 – 30 берез. 2012 р. Івано-Франківськ, 2012. С. 201.

14. Грицик Л. М., Легінь Н. І. Дослідження полісахаридів трави підлісника європейського. *Хімія природних сполук*: матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф., 30 – 31 жовт. 2012 р. Тернопіль, 2012. С. 13 – 14. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження полісахаридного складу сировини підлісника європейського, узагальнення даних, оформлення тез до друку).

15. Легінь Н. І. Дослідження органічних кислот в траві та кореневищах з коренями підлісника європейського. *Інновації в медицині*: матеріали 82-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. участю, 18 – 19 квіт. 2013 р. Івано-Франківськ, 2013. С. 224.

16. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Грицик А. Р. Одержання екстрактів підлісника європейського. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали 5-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27 – 28 верес. 2013 р. Тернопіль : Укрмедкнига, 2013. С. 34 – 35. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, узагальнення даних, оформлення тез до друку).

17. Грицик Л. М., Легінь Н. І. Поширення підлісника європейського на території Західної України. *Теоретичні і практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали I міжнар. наук.-практ. internet-конф., 20 – 21 берез. 2014 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2014. С. 178 – 179. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення тез до друку).

18. Легінь Н. І. Ідентифікація біологічно активних речовин підлісника європейського. *Інновації в медицині*: матеріали 83-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. участю, 27 – 28 берез. 2014 р. Івано-Франківськ, 2014. С. 196.

19. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Грицик А. Р. Ідентифікація деяких біологічно активних речовин у надземних і підземних органах підлісника європейського

Sanicula europaea L. Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології: матеріали IV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 16 – 17 жовт. 2014 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2014 С. 88. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, узагальнення даних, оформлення тез до друку).

20. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Грицик А. Р. Дослідження гемостатичної активності екстрактів підлісника європейського. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 7 – 8 листоп. 2014 р. Х. : НфаУ, 2014. С. 56 – 57. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень, узагальнення даних, оформлення тез до друку).

21. Легінь Н. І. Визначення вмісту окиснюваних фенолів в сировині підлісника європейського. *Інновації в медицині*: матеріали 84-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. участю, 12 – 13 берез. 2015 р. Івано-Франківськ, 2015. С. 170 – 171.

22. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик. Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. 100 с. (Особистий внесок – збір матеріалів, узагальнення одержаних даних, оформлення монографії до друку).

АНОТАЦІЯ

Легінь Н. І. Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2021.

Дисертаційна робота присвячена комплексному фармакогностичному аналізу підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.). У досліджуваній сировині встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст груп БАР підлісника європейського: гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, танінів, амінокислот, полісахаридів, органічних кислот, в тому числі аскорбінової, жирних кислот, летких та стероїдних сполук, тритерпенових сапонінів, макро- та мікроелементів, вітаміну K_1 . Встановлено параметри одержання сухих екстрактів з трави та кореневищ з коренями підлісника європейського, визначено гостру токсичність та доведено кровоспинну, ранозагоювальну, протизапальну та антимікробну активність екстрактів трави підлісника європейського. Визначено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки надземних та підземних органів, термін придатності трави, встановлено місця зростання та біологічний запас сировини, проведено фенологічні спостереження за розвитком підлісника європейського та встановлено умови культивування.

Розроблено проекти методів контролю якості «Підлісника європейського трава» та «Підлісника європейського трави екстракт сухий», «Інструкції із заготівлі та сушіння трави підлісника європейського».

Ключові слова: підлісник європейський, трава, кореневища з коренями, фармакогностичне дослідження, біологічно активні речовини, екстракт, фармакологічна дія.

АННОТАЦИЯ

Легинь Н. И. Фармакогностическое исследование подлесника европейского (*Sanicula europaea* L.). – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого МЗ Украины, Львов, 2021.

Диссертация посвящена комплексному фармакогностическому анализу подлесника европейского (*Sanicula europaea* L.). В исследуемом сырье установлен качественный состав и определено количественное содержание основных групп БАВ. Установлено содержание гидроксикоричных кислот, флавоноидов, танинов, аминокислот, полисахаридов, органических кислот, в том числе аскорбиновой, жирных кислот, летучих и стероидных соединений, тритерпеновых сапонинов, макро- и микроэлементов, витамина *K*₁. Определены технологические параметры получения сухих экстрактов из сырья подлесника европейского, установлена их острая токсичность и доказано кровоостанавливающее, ранозаживляющее, противовоспалительное и антимикробное действие. Определены морфолого-анатомические диагностические признаки надземных и подземных органов подлесника европейского, срок годности травы, установлены места произрастания и биологический запас сырья, проведены фенологические наблюдения за развитием подлесника европейского и установлены условия его культивирования.

Разработаны проекты методов контроля качества «Подлесника европейского трава» и «Подлесника европейского травы экстракт сухой», «Инструкции по заготовке и сушки травы подлесника европейского».

Ключевые слова: подлесник европейский, трава, корневища с корнями, фармакогностическое изучение, биологически активные вещества, экстракт, фармакологическое действие.

ANNOTATION

Legin N. I. Pharmacognostic research of *Sanicula europaea* L. – Qualification scientific work with the manuscript.

Thesis for the Scientific Degree of Candidate of Pharmaceutical Science in Specialty 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, 2021.

Thesis is devoted to the complex pharmacognostic research of *Sanicula europaea* L. raw materials.

It was determined that the raw materials of *Sanicula europaea* L. contain phenolic compounds: simple phenols, hydroxycinnamic acids, coumarins, flavonoids, tannins; essential oil and triterpene saponins; polysaccharides, amino acids and carboxylic acids. 80 substances were identified in the herb of *Sanicula europaea* L. and 50 substances were identified in rhizomes with roots of *Sanicula europaea* L. by the methods of paper chromatography, thin-layer chromatography, gas chromatography-mass spectrometry, high performance liquid chromatography.

For the first time 6 hydroxycinnamic acids (caffeic, chlorogenic, neochlorogenic, rosmarinic, ferulic, *p*-coumaric) and 1 flavonoid (rutin) were isolated individually from the

herb of *Sanicula europaea* L.; 5 hydroxycinnamic acids (caffeic, chlorogenic, neochlorogenic, rosmarinic, ferulic) were isolated from the underground parts of *Sanicula europaea* L.

14 phenolic compounds were identified in the herb of *Sanicula europaea* L. and 13 compounds were identified in rhizomes with roots of *Sanicula europaea* L. by the method of high-performance liquid chromatography. Among tannins the highest content in the herb of *Sanicula europaea* L. was of epicatechin gallate (1.11 %); in the rhizomes with roots – of epigallocatechin (0,20 %). Among the identified flavonoids in the herb of *Sanicula europaea* L. quercetin was the dominant. The highest content of hydroxycinnamic acids in the herb and rhizomes with roots of *Sanicula europaea* L. was detected for rosmarinic acid – 0.49 % and 0.33 % relatively. Both herb and rhizomes with roots contain coumarin. By the method of gas chromatography/mass spectrometry 3 compounds of steroid nature were identified in the herb of *Sanicula europaea* L.: stigmastan-3,5-diene, stigmasterol and β -sitosterol. 39 volatile compounds were detected, 14 of which were identified and quantified. Among the identified volatile compounds the dominant are sesquiterpenoids. The bicyclic compounds are predominant (479.97 mg/kg). The dominant terpenoids are: bicyclic sesquiterpenoid β -helmiscapen (356.61 mg/kg); tricyclic sesquiterpenoid β -cedrene (65.72 mg/kg), monocyclic sesquiterpenoid bisabolene (36.34 mg/kg). 9 fatty acids were identified in the herb of *Sanicula europaea* L.: palmitoleic, palmitic, linoleic, linolenic, stearic, behenic, tricosanoic, lignoceric and cerotic acids. Linoleic (2892.98 mg/kg) and linolenic (1784.69 mg/kg) acids prevail among unsaturated fatty acids, and palmitic acid prevails (3400.77 mg/kg) among saturated fatty acids.

17 amino acids, including 7 essential and 10 non-essential, were identified and quantified in the raw materials of *Sanicula europaea* L. The dominant amino acids in the herb of *Sanicula europaea* L. are aspartic acid (12.42 mg/100 g), glycine (12.21 mg/100 g), alanine (9.81 mg/100 g), arginine (9.12 mg/100 g); the dominant amino acids in the rhizomes with roots of *Sanicula europaea* L. are arginine (25.38 mg/100 g), proline (11.54 mg/100 g), alanine and aspartic acid (10.77 mg/100 g each).

The mineral composition of the herb and rhizomes with roots of *Sanicula europaea* L. was studied by atomic absorption spectrometry. In the herb of *Sanicula europaea* L. K prevails (2740 mg/100 g) among macroelements, and Fe prevails (7.98 mg/100 g) among microelements; in rhizomes with roots of *Sanicula europaea* L. Ca prevails (2260 mg/100 g) among macroelements and Mn prevails (5.81 mg/100 g) among microelements. The content of heavy metals (Cd and Pb) is within acceptable concentrations.

The parameters of obtaining extracts from the herb and rhizomes with roots of *Sanicula europaea* L. were processed for the first time. The obtained extracts are low-toxic and have bacteriostatic activity, wound-healing, hemostatic and antiexudative effects.

Diagnostic morphological and anatomical features of the herb and rhizomes with roots of *Sanicula europaea* L. were studied; main numerical quality indicators of *Sanicula europaea* L. herb were determined. It was determined that the shelf life of raw materials is 2 years. The places of growth of *Sanicula europaea* L. in Ivano-Frankivsk and Chernivtsi regions were found. Yield and biological stock were determined. The conditions of *Sanicula europaea* L. cultivation in the soil and climatic conditions of Precarpathian

region were established and phenological observation of the plant development were carried out.

The projects of methods of quality control “*Sanicula europaea* L. herb”, “Dry extract from *Sanicula europaea* L. herb” and “Instruction for harvesting and drying of *Sanicula europaea* L. herb” were developed on the basis of the results of phytochemical, morphological and anatomical analysis.

Key words: *Sanicula europaea* L., herb, rhizomes with roots, pharmacognostic research, biologically active substances, extract, pharmacological action.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

S.	– <i>Sanicula</i> ;
ААС	– атомно-абсорбційна спектрометрія;
БАР	– біологічно активні речовини;
ВЕРХ	– вискоєфективна рідинна хроматографія;
ВРПС	– водорозчинні полісахариди;
ГХ-МС	– газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ГцА	– геміцелюлоза А;
ГцБ	– геміцелюлоза Б;
ДФУ	– Державна фармакопея України;
ІФНМУ	– Івано-Франківський національний медичний університет;
МКЯ	– методи контролю якості;
п.	– підлісник;
ПЄ _{к.к.} -В	– екстракт кореневищ з коренями підлісник європейського (екстрагент – вода очищена);
ПЄ _{к.к.} -70	– екстракт кореневищ з коренями підлісник європейського (екстрагент – 70 % етанол);
ПЄ _{тр.} -В	– екстракт трави підлісник європейського (екстрагент – вода очищена);
ПЄ _{тр.} -70	– екстракт трави підлісник європейського (екстрагент – 70 % етанол);
ПР	– пектинові речовини;
ПХ	– паперова хроматографія;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія;
УФ	– ультрафіолетова спектроскопія.

Підписано до друку 05.02.2021.
Формат 60x84/16. Папір офсетний. Друк цифровий.
Гарнітура "Times New Roman". Ум. друк арк. 0,9
Наклад 100 пр. Зам. № 51 від 05.02.2021.

Виготовлювач підприємець Голіней О. М.
76000, Україна, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 128,
тел.: (0342) 580 432, +38 066 481 66 01,
+38 050 540 30 64
e-mail:gsm1502@ukr.net

Свідectво про державну реєстрацію фізичної особи-підприємця
Серія В01 № 585433 від 19.07.2002 р.