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

ЛИСЮК РОМАН МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 615.322: 615.074: 616.61:582.736

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН З НЕФРОПРОТЕКТОРНОЮ (ГІПОАЗОТЕМІЧНОЮ) АКТИВНІСТЮ

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 фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України.

Науковий керівник: кандидат фармацевтичних наук, доцент
ДАРМОГРАЙ РОМАН ЄВДОКИМОВИЧ
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
доцент кафедри фармакогнозії і ботаніки

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ГРИЦИК АНДРІЙ РОМАНОВИЧ
Івано-Франківський національний медичний університет,
завідувач кафедри фармації

доктор фармацевтичних наук, професор
КОВАЛЬОВА АЛЛА МИХАЙЛІВНА
Національний фармацевтичний університет,
професор кафедри фармакогнозії

Захист відбудеться « 12 » травня 2021 року о 12^{00} 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 у науковій бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького за адресою: 79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6.

Автореферат розісланий « 12 » квітня 2021 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради, доцент Драпак І.В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Нефрологічні патології мають тенденцію до прогресуючого перебігу із формуванням хронічної ниркової недостатності (ХНН), за якої необхідна замісна терапія (гемодіаліз, перитонеальний діаліз, трансплантація нирки) (Suzuki et al., 2005), яка погіршує якість життя та є досить високовартісною. Щорічний глобальний темп приросту пацієнтів на перитонеальному діалізі (понад 272 000 пацієнтів у світі) оцінюється у 8 % та для гемодіалізу – у 6 – 7 % (Li et al., 2017).

Пошук ефективних засобів фармакологічної корекції порушення функцій нирок при ХНН є актуальним питанням сучасної нефрології й фармакології (Gaikwadet al., 2012; Lakshmi et al., 2012; Esmail and Ali, 2019). Широко розповсюджені гострі та хронічні запальні захворювання нирок та сечовидільної системи часто супроводжуються гіперазотемією, зумовленою зниженням виведення з організму рідини і продуктів азотистого обміну. Для лікування ниркових захворювань рекомендуються серед інших і рослинні засоби, які виявляють гіпоазотемічну дію (Штрыголь и др., 2014; Наказ МОЗ України № 593…Протоколи).

На сьогодні існує потреба у лікарських засобах з гіпоазотемічною активністю, номенклатурний перелік яких є вкрай обмеженим, що зумовлює необхідність пошуку та розробки нових засобів на основі доступної рослинної сировини з достатньою ресурсною базою.

Враховуючи сучасні наукові дані щодо гіпоазотемічної активності індивідуальних сполук рослинного походження, одним з важливих напрямів вивчення вибрано скринінгові фармакологічні дослідження даної специфічної активності рослинної сировини, що містить речовини-маркери флавоноїдної структури, зокрема робінін, гіперозид, цинарозид, гомоорієнтин.

Ґрунтуючись на хемотаксономічній концепції (Ковальова та ін., 2011) пошуку нових перспективних видів лікарської рослинної сировини (ЛРС), науковий інтерес викликають робінінвмісні види лікарських рослин, зокрема вітчизняні види роду *Astragalus L,* деякі з яких у сучасній світовій медичній практиці вважаються ефективними лікарськими засобами.

Беручи до уваги наявність ресурсної бази в Україні представників роду Астрагал, вивчення фітохімічного складу і специфічної фармакологічної активності, зокрема гіпоазотемічної, неофіцинальних видів роду з достатньою ресурсною базою та інтродукованих, а також можливостей культивування найбільш перспективних представників, з метою подальшого отримання нових фітопрепаратів та індивідуальних біологічно активних речовин (БАР) природного походження є актуальною проблемою для фармації.

Зв’язок із науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану Проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної наукової роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького за темою “Синтез та перетворення нових фізіологічно-активних речовин – похідних неконденсованих, конденсованих і макрогетероциклічних азолідонів і

споріднених гетероциклічних систем, з використанням методів віртуального синтезу, вивчення фізико-хімічних властивостей та проведення фармакологічного скринінгу одержаних сполук, дослідження різних видів рослин Прикарпатської флори з метою одержання нових лікарських засобів, розробка технології лікарських форм нових складів та опрацювання сучасних методик фармацевтичного та токсикологічного аналізу" (№ державної реєстрації 0111U010499). Шифр теми ІН 10.06.0001.16.

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є пошук і комплексне фармакогностичне вивчення видів лікарських рослин флори України з потенційною нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести пошук перспективних сировинних джерел флори України з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю на основі фітохімічного скринінгу, з використанням сучасних методів аналізу;
- проаналізувати дані наукових першоджерел щодо поширення, морфологічних ознак, хімічного складу, стандартизації сировини, фармакологічної активності й використання видів роду Астрагал у медицині;
- опрацювати вибір оптимальних методик для екстрагування речовин-маркерів, їх ідентифікації та кількісного визначення;
- розробити технологію одержання біологічно активних субстанцій з перспективних джерел для дослідження їх фармакологічної активності, обґрунтувавши склад лікарських форм;
- вибрати оптимальну стандартизовану методику для експериментального моделювання ураження нирок (ниркової недостатності), що дозволить оцінювати гіпоазотемічну активність та її можливі механізми після введення запропонованих фітосубстанцій;
- дослідити прогнозовану гіпоазотемічну активність фітозасобів, отриманих із сировинних органів перспективних видів лікарських рослин, у порівнянні з референс-препаратом;
- здійснити дослідження макро- й мікроскопічних ознак компонентів розроблених нефропротекторних (гіпоазотемічних) засобів;
- дослідити якісний склад і кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин у сировині;
- розробити методики ідентифікації і кількісного визначення вмісту діючих речовин для стандартизації сировини;
- встановити показники доброякісності, розробити проєкти методів контролю якості (МКЯ) на «Астрагалу солодколистого траву» і добавку дієтичну (ДД) Фіточай «Нефропротектол».

Об'єкт дослідження. Комплексне фармакогностичне вивчення перспективних видів лікарських рослин з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю й одержаних на їх основі лікарських рослинних засобів (ЛРЗ).

Предмет дослідження. Ідентифікація та кількісне визначення флавоноїдів, катехінів, гідроксикоричних кислот, мікроелементів,

полісахаридів; визначення макро- і мікроскопічних діагностичних ознак для ідентифікації надземних органів астрагалу солодколистого; розробка проєктів методів контролю якості (МКЯ) на «Астрагалу солодколистого траву» і добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол»; стандартизація отриманих фітозасобів та встановлення спектру фармакологічної активності.

Методи дослідження. Морфологічні, органолептичні і анатомічні – опис, ідентифікація, стандартизація сировини; фізико-хімічні – тонкошарова хроматографія (ТШХ), високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), ВЕРХ з УФ-детектуванням; газорідинна хроматографія – мас-спектрометрія (ГРХ-МС), атомно-абсорбційної спектрофотометрія з електротермічною атомізацією (ААС/ЕА), спектрофотометрія (СФ) в УФ- та видимих областях спектрів; фармакологічні *in vivo* – нефропротекторна й гіпоазотемічна дія за стандартними методиками; статистичні – дослідження кореляції і обробка результатів експерименту.

Наукова новизна отриманих результатів. Проведено комплексний пошук перспективних сировинних джерел флори України з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю на основі принципів хемотаксономічного аналізу та фітохімічного скринінгу.

Вперше проведено комплексне фармакогностичне вивчення вітчизняної сировини трави астрагалу солодколистого, досліджено якісний склад і кількісний вміст БАР сировини; методами ТШХ та ВЕРХ за хроматографічним профілем ідентифіковано флавоноїди, катехіни й гідроксикоричні кислоти; методом ААС/ЕА кількісно визначено вміст мікроелементів у складі трави астрагалу солодколистого.

Вперше проведено ідентифікацію та визначення кількісного вмісту індивідуальних моносахаридів у надземних органах астрагалу солодколистого, використовуючи метод ГРХ-МС.

Уперше у процесі дослідження виявлено та описано, відповідно до вимог ДФУ, діагностичні ознаки трави астрагалу солодколистого та визначено критерії стандартизації даної сировини.

Вперше розроблено і апробовано методику кількісного визначення суми флавоноїдів у надземних органах астрагалу солодколистого методом УФ-спектрофотометрії.

Обґрунтовано та розроблено склад комплексного рослинного засобу гіпоазотемічної дії ДД Фіточай «Нефропротектол», до якого запропоновано компоненти: квітки робінії звичайної, листя і квітки глоду, листя берези і трава споришу.

Вперше встановлено гіпоазотемічну активність сумарних рідких екстрактів з надземних органів астрагалу солодколистого, астрагалу серпоплодого і астрагалу козлятникоподібного, а також розробленої ДД Фіточай «Нефропротектол».

Для трави астрагалу солодколистого і добавки дієтичної Фіточай «Нефропротектол» опрацьовано критерії стандартизації за органолептичними властивостями, числовими показниками якості та кількісним вмістом основних БАР.

Вперше теоретично обґрунтовано і експериментально підтверджено розроблену «Концептуальну модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю».

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати фармакогностичного та фармакологічного дослідження трави астрагалу солодколистого, астрагалу козлятникоподібного і астрагалу серпоплодого, а також ДД Фіточай «Нефропротектол» свідчать про можливість використання ЛРЗ на їх основі у практичній медицині.

Результати досліджень макро- та мікроскопічних ознак надземних органів астрагалу солодколистого використано для розробки інформаційного листа № 72 «Морфологічні та анатомічні ознаки трави астрагалу солодколистого», рекомендованого до видання Експертною проблемною комісією «Фармація» МОЗ та НАМН України (протокол № 109 від 10 березня 2020 р.).

За результатами досліджень розроблено проєкти МКЯ на «Астрагалу солодколистого траву» і добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол».

На добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол» у співпраці з ПрАТ «Ліктрави» (м. Житомир) розроблено Технічні умови України ТУ У 10.8-00481181-013:2019 (зміна №1) «Дієтичні добавки «Фіточаї».

Теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено «Концептуальну модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю», яка може використовуватись науково-дослідними установами з метою опрацювання та впровадження нових лікарських засобів (ЛЗРП) різної терапевтичної дії.

Результати дисертаційного дослідження щодо морфолого-анатомічної будови та хімічного складу сировинних органів астрагалу солодколистого, нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності перспективних видів лікарських рослин, впроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу ЗВО України: кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету, кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, кафедри фармації ФПО Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», кафедри фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету, кафедри фармацевтичної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, кафедри фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії Буковинського державного медичного університету, кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто проведено інформаційно-патентний пошук за темою дисертаційної роботи. Проаналізовано і узагальнено дані першоджерел щодо поширення, морфологічних ознак, хімічного складу, стандартизації сировини, фармакологічної активності й використання видів роду Астрагал у медицині;

досліджено зразки сировини астрагалу солодколистого за макро- і мікроскопічними ознаками; проведено дослідження якісного складу і кількісного вмісту основних груп БАР аналізованої сировини та запропоновано підходи до стандартизації; розроблено проєкти МКЯ на «Астрагалу солодколистого траву» і ДД Фіточай «Нефропротектол»; проаналізовано та систематизовано результати дослідження нефропротекторної й гіпоазотемічної активності екстрактів трави астрагалу солодколистого, трави астрагалу серпоплодого і трави астрагалу козлятникоподібного, ДД Фіточай «Нефропротектол»; проведено статистичну обробку даних; написано розділи дисертації, сформульовано висновки.

Постановку мети, завдань дослідження, а також обговорення та узагальнення результатів здійснено за участю наукового керівника. Співавторами наукових праць є Дармограй Р. Є., Калинюк Т. Г., Заліська О. М., Гудзь Н. І., Ковальська Н. П., Антоняк Г. Л, Іскра Р. Я., Панас Н. Є., Нєктєгаєв І. О., Єзерська О. І., Смалюх О. Г., Барчук О. З., Скібіцька М. І., Козачок С. С, Денис А. І., Нестер М. І., Михайловська В. В., Заріцька Є. Г., Янович Д. В., Рахметов Д. Б., Бондарчук О. П., Галабурда А. В., Антонів О. І., Болеста М. І., Лещишин М. М., Конахович Р. Б., Гайдук Р. Б., Хтей Х. І., Konieczynski P., Viapiana A., Wesolowski M., Bjørklund G., Dadar M., Chirumbolo S., Mansuetus Mboya J., Stecko M.-P., Matthew Uche Eze.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи обговорено та викладено на з'їздах та науково-практичних конференціях (НПК) різного рівня: 2nd International Conference and Workshop "Plant – the source of research material" (2012 Oct. 18-20; Lublin, Republic of Poland); 3rd International Conference and Workshop "Plant – the source of research material" (2013 Oct. 16-18; Lublin, Republic of Poland); 4th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice (2013 Nov. 23; Kaunas, Lithuania); International Scientific Symposium "Conversation of Plant Diversity" (2017 June 1-3; Chişinău, Republic of Moldova); II International Scientific Conference ,,Pharmaceutical Sciences in XXI Century" (2014 May 2-4; Tbilisi, Georgia); The international scientific conference "Advances of science" (2018 Dec. 21; Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Ukraine, Kyiv); International scientific and practical conference «Prospects for the development of medicine in EU countries and Ukraine» (2018 Dec. 21-22; Wloclawek, Republic of Poland); НПК з міжн.уч. та школою молодих вчених «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну» (2014 Жовт. 1-3; Харків); IV Всеукр. НПК з міжн. уч. «Хімія природних сполук» (2016 Квіт. 21-22; Тернопіль); НПК з міжн.уч., присв. 20-й річн. засн. Дня фармацевтичного працівника України «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (2019 Вер. 19-20; Харків).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 43 наукові праці, з них 17 статей (2 статті у міжнародних наукових виданнях, індексованих у базі Scopus; 3 у фахових виданнях; 1 у науковому фаховому виданні Білорусі; 7 у закордонних виданнях; 4 статті у інших виданнях); 1 монографія (Switzerland); 25 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, 5 розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку літератури та 5 додатків. Загальний обсяг дисертації становить 221 сторінку. Роботу ілюстровано 42 рисунками, 17 таблицями. Список використаної літератури становить 267 публікацій, з них 120 кирилицею та 147 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність вибраної теми, сформульовано мету і завдання, визначено об'єкти й предмет дослідження, зазначено наукову новизну, практичну значущість результатів досліджень, вказано зв'язок із науковими програмами та ініціативними темами університету, наведено відомості щодо впровадження і апробації результатів дисертаційної роботи.

Розділ 1. Сучасний стан і перспективи досліджень рослин нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності (огляд літератури). У першому розділі дисертаційного дослідження проведено вивчення фармацевтичного ринку України та складу ЛЗРП для лікування захворювань сечовидільної системи фармакотерапевтичної групи G04B «Засоби, що застосовуються в урології» Анатомо-терапевтично-хімічної класифікації ВООЗ; визначено ТОП-10 ЛРС у складі лікарських засобів даної групи і проведено узагальнення даних щодо фармакологічних властивостей, які мають терапевтичне значення при ниркових захворюваннях. Встановлено, що асортимент вітчизняних гіпоазотемічних ЛЗРП, які є важливими при лікуванні ХНН та інших нефропатій, є вкрай обмеженим, що зумовило необхідність пошуку та розробки на основі доступної рослинної сировини з достатньою ресурсною базою нових засобів для фармакологічної корекції порушення функцій нирок.

Проаналізовано дані щодо особливостей гіпоазотемічної активності ЛРС, сумарних препаратів та індивідуальних сполук рослинного походження при порушеннях функціонування нирок, з метою встановлення взаємозв'язку між гіпоазотемічною активністю фітозасобів і наявністю активних речовин-маркерів у їх складі. Проведено інформаційно-пошукові дослідження щодо хімічного складу видів ЛРС вітчизняної флори, які виявляють нефропротекторну (гіпоазотемічну) активність. Здійснено теоретичне обґрунтування вибору для подальшого вивчення рослинних субстанцій, що містять активні речовини-маркери флавоноїдної структури з гіпоазотемічною дією (робінін, ізоорієнтин, цинарозид, гіперозид), певні сполуки класу катехінів, гідроксикоричних кислот (*п*-кумарова, ферулова, розмаринова кислоти), мікроелементи (селен, цинк, купрум, манган).

Узагальнено сучасні наукові дані щодо хімічного складу, фармакологічної активності і медичного застосування офіцинальних видів роду *Astragalus L*, зокрема при захворюваннях нирок. Як перспективний напрям для скринінгових фармакологічних досліджень гіпоазотемічної активності запропоновано використовувати рослинну сировину, що містить речовини-маркери флавоноїдної структури.

Розділ 2. Об'єкти та методи дослідження. Об'єкти дослідження – 7 видів флавоноїдовмісної сировини, які у своєму складі містять активні маркери нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності: трава астрагалу солодколистого, трава астрагалу козлятникоподібного, трава астрагалу серпоплодого, трава споришу, квітки робінії звичайної, листя і квітки глоду, листя берези (усього 33 зразки ЛРС: 21 зразок від дикорослих та культивованих видів, заготовлених на території західних областей України, у м. Києві та у Чернігівській обл., й 12 комерційних зразків українських, білоруських і румунських виробників). Для проведення експериментальних досліджень використано сучасні фізичні, фізико-хімічні, хімічні, фармакогностичні, фармакологічні та статистичні методи.

Розділ 3. Вивчення ресурсних, інтродукційних та морфолого-анатомічних характеристик перспективних рослинних джерел маркерів гіпоазотемічної активності. У третьому розділі дисертаційної роботи, вивчено морфолого-біологічні характеристики робінінвмісних видів роду Астрагал (*Astragalus* (*A.*) *galegiformis, A. falcatus, A. glycyphyllos*) і Леспедеца (*Lespedeza bicolor*), інтродукованих в умовах м. Львова.

Астрагал козлятникоподібний (*A. galegiformis* L.) у 2019 р. успішно інтродуковано у Ботанічному саду ЛНМУ імені Данила Галицького з насіння, отриманого у рамках наукової співпраці з Національним ботанічним садом імені М. М. Гришка (проф. Д. Б. Рахметов). В умовах інтродукції астрагал козлятникоподібний – багаторічна трав'яниста морозостійка рослина, до 1 м заввишки (упродовж першого року інтродукції – до 25 см), квітконоси довші за листки; грона негусті, 10-20 см завдовжки, віночок жовтий; боби 3-гранні, з обох боків загострені, видовжені. Цвіте у червні – серпні, у липні – вересні формуються плоди.

В умовах інтродукції астрагал серпоплодий (*A. falcatus* Lam.) – багаторічна рослина з прямостоячим стеблом, 40-120 см заввишки, з 15-20 парами листочків; листки 8-17 см завдовжки, 15-25 мм завширшки, видовжені, знизу густо опушені; зі зрослими прилистками, розташованими в нижній частині стебла; віночок жовтий; плід – біб, 15-25 мм завдовжки, видовжений і загострений, злегка зігнутий, стиснений з боків, з притиснутими волосками. Цвіте у червні – серпні, з липня по вересень триває фаза плодоношення.

Встановлено, що вегетація інтродукованого астрагалу солодколистого (*A. glycyphyllos* L.) розпочинається у третій декаді березня – першій декаді квітня. Період бутонізації припадає на травень – червень. Цвітіння розпочинається у першій – другій декаді червня, рясне цвітіння спостерігається упродовж липня та серпня. Період плодоношення може тривати з червня по вересень, а вегетація неушкоджених пагонів – до перших заморозків (кінець листопада). Вимерзання рослин досліджуваного виду не спостерігалось. Довжина пагонів коливається від 0,5 до 1,2 м, зрідка до 1,5 м. Плід – біб, 2,0-3,5 см завдовжки. Рослина розмножується насінням і вегетативно. Лабораторна схожість свіжозібраного насіння *A. glycyphyllos* (у стадії воскової зрілості) становить 46,8 %. Схожість у ґрунті стратифікованого насіння 80,2 %, а лабораторна схожість скарифікованого насіння після стратифікації – 60,4 %.

Леспедеца двоколірна (*Lespedeza bicolor* Turcz), 3,5-5,2 м заввишки, з багатьма тонкими сильногалузистими, прутовидними, вгору притисненими гілками. Вегетаційний період куща леспедеци двоколірної триває 148 – 165 днів. Лабораторна схожість скарифікованого насіння місцевої репродукції досягає 80,6 %, ґрунтова схожість – 66,7 %. Вид добре адаптується до різних типів ґрунтів, умов вологості та освітленості. Леспедеца двоколірна швидко росте і цвіте рясно. Надземні частини рослини часто вимерзають, особливо під час холодних зим, але здатні до відростання протягом найближчого періоду вегетації, цвісти та плодоносити. Леспедеца двоколірна після пошкодження або видалення надземних стебел відростає з кореневої крони. Вид розмножується і насінням. Вага 1000 насінин – 8,7 г.

На основі тривалих спостережень за розвитком інтродуцентів встановлено, що їх морфологічна будова в умовах м. Львова відрізняється від тих, які зростають у звичайних умовах існування, наступними морфометричними параметрами: більшою висотою (астрагал козлятникоподібний, астрагал серпоплодий, леспедеца двоколірна) або довжиною (астрагал солодколистий) надземної частини, сильнішою галузистістю стебла, більшими розмірами листочків і кількістю суцвіть на одній рослині, й, відповідно, вищою врожайністю надземної фітомаси культивованих екземплярів. Порівняльний аналіз накопичення флавоноїдів як основних діючих речовин у траві астрагалу солодколистого, заготовленого у м. Львові протягом аналогічного періоду вегетації, засвідчує, що сумарний вміст даних сполук у культивованій сировині є незначно вищим, порівняно з дикорослими екземплярами виду.

Отримані результати спостереження за інтродукованими робінінвмісними видами підтверджують їх широку екологічну амплітуду (загальний стан рослин, здатність до насіннєвого розмноження, стійкість до шкідників, морозостійкість) та створюють передумови для розширення площ під вирощування даних видів рослин в умовах західного регіону України як перспективних джерел нових нефропротекторних ЛЗРП.

У результаті проведеного аналізу встановлено макроскопічні ознаки трави астрагалу солодколистого, які ввійшли до МКЯ на сировину. Для стандартизації ЛРС проведено мікроскопічний аналіз трави астрагалу солодколистого (табл. 1).

Епідерма пелюстки складається з видовжених прямокутних тонкостінних клітин із сильно звивистими стінками і зморшкуватою кутикулою. На епідермі чашолистка зустрічаються такі ж самі за будовою прості волоски, як і на листках, тільки тонкостінні. Епідермальні клітини чашолистка округлої форми, тонкостінні, слабозвивисті. Особливо багато їх накопичується по краях зубчиків чашечки. Поміж стромою пиляка потрапляють у поле зору пилкові зерна округлої форми із хвилястою екзиною.

На поперечному зрізі через центральну жилку листкової пластинки свіжозібраного астрагалу солодколистого спостерігається один крупний колатеральний провідний пучок, оточений з усіх сторін механічними волокнами. Тип будови листкової пластинки дорзивентральний, до верхньої

епідерми прилягають 2-3 шари стовпчастого мезофілу, під яким розміщується губчастий мезофіл.

Таблиця 1

Мікроскопічні ознаки листя астрагалу солодколистого

Характеристика	Листкова пластинка	
Дорзивентральна, амфістоматична	до верхньої епідерми прилягають 2-3 шари стовпчастого мезофілу, під яким розміщується губчастий мезофіл	
Жилка	один крупний колатеральний провідний пучок, оточений з усіх сторін механічними волокнами	
Форма клітин верхнього і нижнього епідермісу пластинки листка. Особливості кутикулярного шару	Верхній епідерміс	Нижній епідерміс
	багатокутні, слабкозвивистостінні; епідермальні клітини над жилкою і по краю листочків прямостінні, видовжені; кутикула зморшкувата	більш звивистостінні; над жилкою і по краю прямостінні, видовжені; епідермальні клітини над жилкою і по краю листочків прямостінні, видовжені
Наявність і тип продихів	аномоцитний, округлий	аномоцитний, округлий
Оболонки епідермальних клітин	тонкостінні	
Наявність і тип волосків, розміщення, характер оболонки клітин	відсутні	прості волоски, притиснуті до поверхні, з 1–2 коротких базальних клітин і однієї великої видовженої термінальної клітини з бородавчастою кутикулою; навколо волоска розташована нечітка розетка
Наявність включень в клітинах мезофілу	дрібні призматичні кристали кальцію оксалату розміщені поодиноко або групами	
Рахіс листка	на поперечному зрізі має серцевидну будову, складається з 5 колатеральних провідних пучків: три з них крупніші від двох інших; кожний пучок оточений механічними деревними і луб'яними волокнами жовто-коричневого кольору	

При вивченні локалізації фенольних сполук у свіжій сировині з використанням 3% розчину феруму (III) хлориду, на поперечному зрізі листкової пластинки, рахіса і стебла виявлено, що фенольні сполуки накопичуються у ділянці флоеми, хлорофілоносної паренхіми та коленхіми.

Розділ 4. Фітохімічне вивчення сировинних органів перспективних флавоноїдовмісних видів рослин. З використанням методу ТШХ при детектуванні в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм у досліджуваних зразках сировини видів родини Бобові – квітках робінії звичайної, траві астрагалу солодколистого, траві астрагалу серпоплодого, траві астрагалу козлятникоподібного – виявлено зони із жовто-оранжевою, жовто-зеленою та блакитною флуоресценцією. На основі характеру забарвлення і величин R_f зон на хроматограмах розчинів порівняння та випробовуваних екстрактів у сировинних зразках ідентифіковані: хлорогенова кислота, гомоорієнтин, рутин,

гіперозид та апігенін (квітки робінії звичайної); кавова кислота, гомоорієнтин, рутин, гіперозид, розмаринова кислота й апігенін (трава астрагалу солодколистого); хлорогенова кислота, кавова кислота, гомоорієнтин, рутин та гіперозид (трава астрагалу серпоплодого). У траві астрагалу козлятникоподібного не було виявлено спільних сполук з розчинами порівняння, які застосовувались в аналізі методом ТШХ.

Визначення вмісту флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у досліджуваних зразках квіток робінії звичайної, трави астрагалу солодколистого, трави астрагалу серпоплодого і трави астрагалу козлятникоподібного проведено методом ВЕРХ. Оцінювання кількісного вмісту індивідуальних сполук класу флавоноїдів та гідроксикоричних кислот здійснено методом внутрішньої нормалізації у відсотках від загального вмісту фенольних сполук. У результаті проведеного аналізу методом ВЕРХ, у траві астрагалу солодколистого виявлено наявність і встановлено кількісний вміст кавової кислоти – 2,91 %, гомоорієнтину – 1,7 %, рутину –1,98 %, гіперозиду – 6,31 %, розмаринової кислоти – 0,75 % та апігеніну – 0,97 %. Серед наведених сполук у траві астрагалу солодколистого вперше ідентифіковано кавову та розмаринову кислоти, гіперозид, рутин та гомоорієнтин.

У надземних органах культивованого астрагалу серпоплодого методом ВЕРХ встановлено наявність хлорогенової кислоти, кавової кислоти, гомоорієнтину, рутину і гіперозиду, які ідентифіковано вперше.

З використанням методу ВЕРХ у траві культивованого астрагалу козлятникоподібного ідентифіковано ферулову кислоту та лютеолін-7-глюкозид (рис. 1).

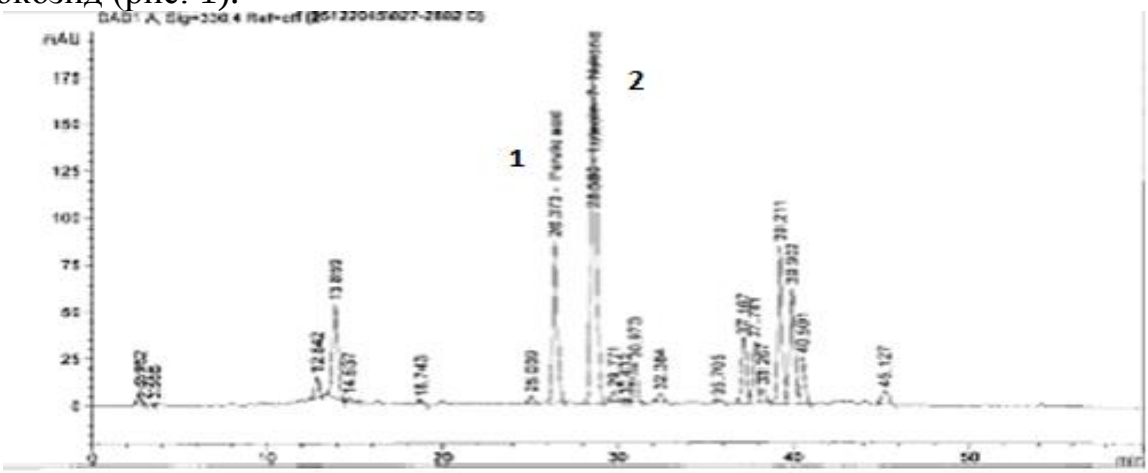

Рис. 1. Хроматограма ВЕРХ екстракту трави астрагалу козлятникоподібного: 1 – ферулова кислота, 2 – лютеолін-7-глюкозид

Із застосуванням методу ВЕРХ у квітках робінії звичайної ідентифіковано хлорогенову кислоту, гомоорієнтин, рутин, гіперозид і апігенін; з них гомоорієнтин ідентифіковано вперше.

На основі вивчення вмісту флаван-3-олів та галової кислоти методом ВЕРХ з УФ-детектуванням у надземних органах *A. glycyphyllos* виявлено та кількісно визначено 5 індивідуальних флаван-3-олів та галову кислоту, їх сумарний вміст складає 0,67 % (рис. 2, табл. 2).

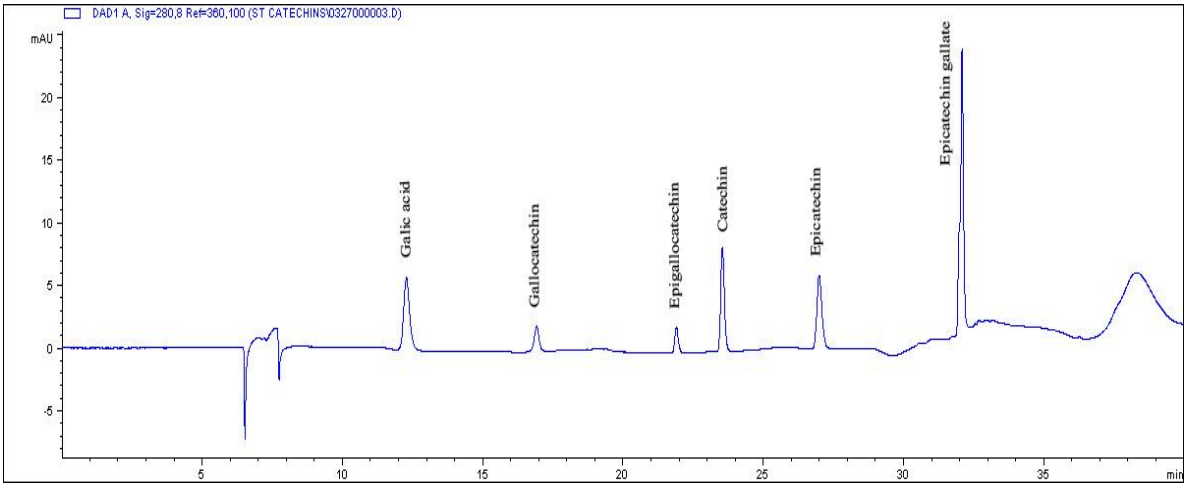

Рис 2. Хроматограма ВЕРХ з УФ-детектуванням катехінів і галової кислоти при 280 нм

Дослідження якісного складу і кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у траві *A. glycyphyllos* L. проведено з використанням методу ВЕРХ при довжинах хвиль 320 і 330 нм (табл. 3).

Таблиця 2

Вміст катехінів і галової кислоти у траві астрагалу солодколистого

Час утримування, хв	Ідентифікована сполука	Кількісний вміст, мг/г
12,30	Галова кислота	0,4
16,74	(-)-Галокатехін	3,7
21,55	(-)-Епігалокатехін	1,7
23,19	(+)-Катехін	0,2
26,17	(-)-Епікатехін	0,5
31,69	(-)-Епікатехіну галат	0,2
Сумарний вміст		6,7

Таблиця 3

Вміст гідроксикоричних кислот у траві астрагалу солодколистого

Ідентифікована сполука	Час утримування, хв	Кількісний вміст, мг/кг	Вміст, %
Хлорогенова кислота	23,99	254	0,03
Кавова кислота	25,74	84	0,01
п-Кумарова кислота	31,80	1314	0,13
Ферулова кислота	40,31	562	0,06
Розмаринова кислота	41,66	155	0,015

Вперше виявлено та кількісно визначено гідроксикоричні кислоти: хлорогенова (0,03%), кавова (0,01%), *п*-кумарова (0,13%), ферулова (0,06%) та

розмаринова кислоти (0,015%). Ідентифікацію гідроксикоричних кислот проведено шляхом порівняння значень їх часу утримування та УФ-спектрів з характеристиками стандартних речовин (рис. 3 та рис. 4).

Розроблено і апробовано аналітичну методику для визначення у траві астрагалу солодколистого сумарного вмісту флавоноїдів методом диференціальної спектрометрії, у перерахунку на кверцетину дигідрат і рутину тригідрат, за довжини хвилі поглинання 400 нм. Встановлено, що 70 % етанол екстрагував найбільшу кількість флавоноїдів трави астрагалу солодколистого, що вказує на вміст флавонів і глікозидів флавонолів, які мають максимум поглинання за довжини хвилі від 385 до 395 нм і 410 - 412 нм, відповідно.

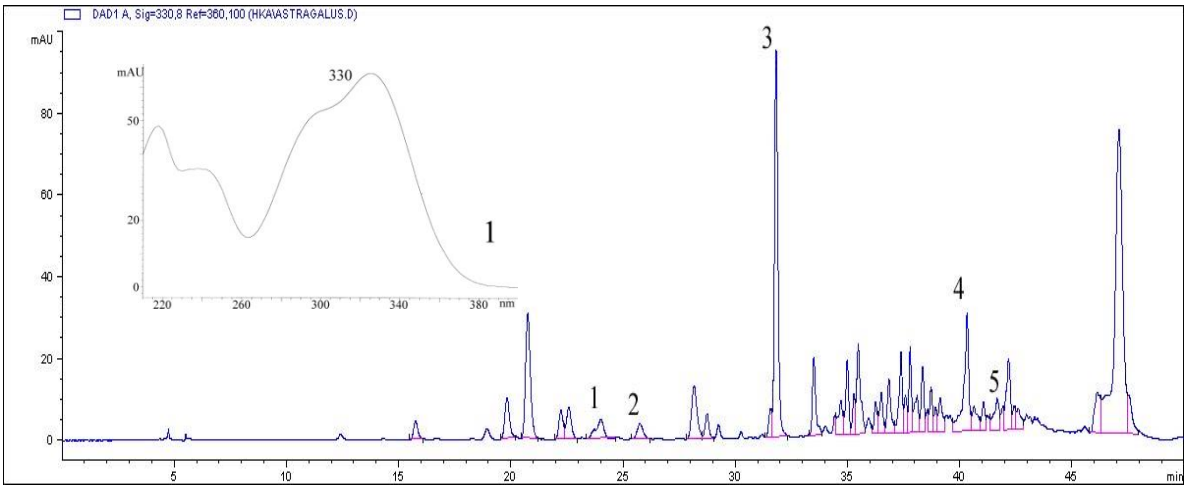

Рис. 3. Хроматограма екстракту трави *A. glycyphyllos* L. при λ=330 нм: 1 – хлорогенова кислота; 2 – кавова кислота, 3 – *n*-кумарова кислота; 4 – ферулова кислота; 5 – розмаринова кислота

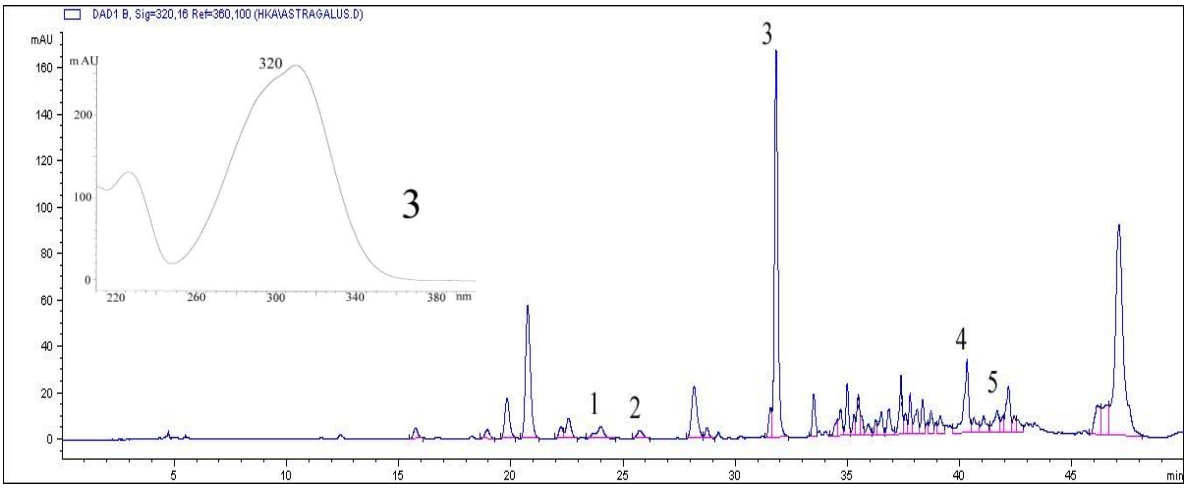

Рис. 4. Хроматограма екстракту трави *A. glycyphyllos* L. при λ = 320 нм: 1 – хлорогенова кислота; 2 – кавова кислота, 3 – *n*-кумарова кислота; 4 – ферулова кислота; 5 – розмаринова кислота

Вміст моносахаридів надземної частини астрагала солодколистого встановлено методом визначення вільних моносахаридів, який ґрунтується на

екстракції даного класу сполук та отриманні їх ацетильованих альдононітрилів з подальшим аналізом методом ГРХ-МС.

Моносахариди було ідентифіковано шляхом порівняння значень часу утримування із достовірними зразками моносахаридів (манноза, глюкоза, сорбіт і сахароза), а також мас-спектрів електронної бібліотеки NIST 02. Усього у траві *A. glycyphyllos* ідентифіковано 9 сполук моносахаридної структури: β-D-арабінофураноза, D-манноза, D-глюкоза, β-L-рамнофуранозид, (+)-пінітол, L-ідітол, міо-інозитол, D-сорбіт, сахароза.

Враховуючи, що види роду Астрагал можуть бути концентраторами певних мікроелементів, а також важливу роль даного класу сполук у комплексній нефропротекторній дії, за допомогою методу атомно-абсорбційної спектрометрії з електротермічною атомізацією визначено кількісний вміст Se, Cu, Zn, Mn, Co у надземних органах астрагалу солодколистого, астрагалу серпоплодого й астрагалу козлятникоподібного. За вмістом Pb та Cd досліджувані сировинні органи відповідають вимогам, що регламентуються директивами ВООЗ: не більше 10 мг/кг та 0,3 мг/кг відповідно.

Для встановлення можливих кореляційних зв’язків між вмістом суми флавоноїдів та есенціальних мікроелементів, визначено сумарний вміст флавоноїдів у 65 дикорослих та культивованих зразках ЛРС, представлених 9 ботанічними видами, та комерційними зразками виробництва України, Румунії та Білорусі. Результати проведених експериментальних досліджень показують, що метали у зразках сировини кількісно містились в наступному порядку: Fe> Mn> Zn> Cu, як у вихідній сировині, так і в отриманих настоях. Загальний вміст флавоноїдів, визначений в аналізованих зразках, коливався у межах від 10,0 до 191,8 мг/г, у перерахунку на суху речовину.

Дані аналізу мікроелементів та флавоноїдів у сировині двох з 9 ботанічних видів – трави споришу, листя і квіток глоду, стандартизованих за вмістом флавоноїдів, які у подальшому було введено до складу розробленого збору гіпоазотемічної дії, наведено у таблиці 4.

Кілька суттєвих кореляцій, з використанням мультиваріантних статистичних методів – методу головних компонент (PCA, principal component analysis), кластерного аналізу – було встановлено між аналітами, особливо між вмістом екстрагованого у настій Fe з іншими металами, а також суми флавоноїдів і Fe, Zn та Mn. На основі дисперсійного аналізу виявлено значні відмінності серед 65 досліджуваних зразків із різних країн, особливо між зразками з Білорусії; спостерігались також відмінності у вмісті мікроелементів внаслідок приналежності до різних ботанічних видів, особливо вмісту Fe у траві споришу, у порівнянні з іншими ботанічними видами. Лише у випадку кількісного вмісту Zn різниця серед різних видів рослин не була статистично значущою. Щодо інших металів та їх вмісту у настоях, ці відмінності були значними, як і для загального вмісту флавоноїдів. Встановлено кореляційний зв’язок між сумарним вмістом флавоноїдів і екстрагованого у настій Mn у листках з квітками глоду і траві споришу (r=0,87).

В аналізованих зразках листя берези, трави споришу, листя і квіток глоду, трави астрагалу солодколистого, трави астрагалу серпоплодого, які у своєму

складі містять маркери нефропротекторної активності, встановлено такі діапазони значень вмісту мікроелементів: феруму – 54,2 – 267,4 мг/кг, цинку – 20,7 – 156,0 мг/кг, мангану – 8,6 – 176,8 мг/кг, купруму – 2,7 – 14,0 мг/кг.

Таблиця 4

Вміст мікроелементів (мг/кг) і суми флавоноїдів (мг/г)*
у досліджуваних зразках ЛРС

№ зразка	ЛРС	Сумарний вміст Fe	Fe ex	Сумарний вміст Zn	Zn ex	Сумарний вміст Mn	Mn ex	Сумарний вміст Cu	Cu ex	Сумарний вміст флавоноїдів
22	*Crataegi folium et flores*	101,31	8,30	31,81	8,41	23,50	2,75	3,05	1,65	17,98
23		90,43	6,58	44,43	11,83	21,06	10,31	2,41	1,83	112,16
24		121,44	8,36	14,00	0,33	27,56	10,06	2,83	1,74	71,37
25		206,88	5,19	206,87	12,31	35,04	10,31	4,27	1,77	103,08
26		193,38	14,10	27,62	11,98	21,81	7,97	3,00	1,61	85,95
27		129,50	Н.В.	34,25	8,47	34,44	11,75	3,51	2,06	90,71
28	*Polygoni aviculare herba*	418,13	1,94	20,81	3,44	50,17	10,76	5,48	2,72	30,46
29		237,12	1,14	11,69	6,53	33,52	12,46	5,19	2,61	28,09
30		356,88	1,25	16,25	8,28	37,10	14,33	5,86	2,83	34,62
31		509,38	3,25	16,50	4,39	85,84	24,59	5,96	2,51	24,15
32		405,62	4,19	10,31	4,06	43,81	19,07	6,05	2,83	35,44
33		283,88	Н.В.	28,94	8,75	54,38	17,94	2,04	1,44	43,02

Примітки: ex – кількісний вміст мікроелемента, що екстрагується водою; Н.В. – не визначено (менше межі чутливості); * – у перерахунку на суху речовину.

Вміст флавоноїдів у досліджених зразках зазначених видів, заготовлених від дикорослих і культивованих екземплярів у м. Львів, Львівській та Чернігівській областях, визначено у межах від 7,3 до 32,6 мг/г, у перерахунку на рутин і суху речовину.

Розділ 5. Вивчення фармакологічних властивостей екстрактів видів роду Астрагал і засобу нефропротекторної (гіпоазотемічної) дії. З метою пошуку перспективних нефропротекторних засобів – замінників імпортної субстанції леспедеци двоколірної (*Lespedeza bicolor* Turcz.), здійснено скринінгові дослідження гіпоазотемічної активності екстрактів видів роду Астрагал. Експериментальне фармакологічне дослідження гіпоазотемічної активності і гострої токсичності аналізованих рослинних екстрактів проведено на 114 дорослих щурах-самцях, масою 180 – 240 г, з використанням експериментальної моделі гострої нефропатії, індукованої введенням сулеми, дотримуючись міжнародних вимог гуманного поводження з лабораторними тваринами (протокол № 2 від 16 лютого 2015 р., протокол № 9 від 21 грудня 2020 р. засідання комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів Львівського національного

медичного університету імені Данила Галицького). Фармакологічні дослідження проведено за консультативної допомоги співробітника кафедри фармакології ЛНМУ імені Данила Галицького І. О. Нєктєгаєва.

Досліджено *in vivo* вплив сумарних екстрактів надземних органів астрагалу солодколистого, астрагалу козлятникоподібного та астрагалу серпоплодого на показники функції нирок лабораторних тварин. На етапі скринінгового вивчення проведено дослідження на 36 щурах, які були розподілені на 6 груп по 6 особин у кожній: інтактні тварини, групи модельної патології, референс-препарату, астрагалу солодколистого, астрагалу серпоплодого та астрагалу козлятникоподібного. Як референс-препарат вибрано Леспефлан, який застосовують як гіпоазотемічний і діуретичний засіб для симптоматичної терапії при хронічній нирковій недостатності.

Встановлено здатність одержаних екстрактів досліджуваних флавоноїдовмісних видів роду Астрагал помітно знижувати у декапітованих щурів рівень креатиніну і сечовини крові в умовах експериментальної нефропатії. Введення сулеми негативно впливає на стан нирок, що веде до порушення їх функціональної активності і розвитку гострої ниркової недостатності з підвищенням у крові рівня продуктів азотистого обміну – креатиніну і сечовини. У групі контрольної патології на 4 добу після введення розчину нефротоксину вміст креатиніну крові зростає у майже 17 разів, порівняно з інтактними тваринами.

Прояв гіпоазотемічної дії можна пояснити присутністю у сировинних органах досліджених представників роду Астрагал терапевтичних маркерів зазначеної активності, насамперед флавоноїдної структури: робініну, гомоорієнтину, гіперозиду у траві астрагалу солодколистого; робініну й ізоастрагалегозиду у надземних органах астрагалу козлятникоподібного; кемпферол-3-О-β-рутинозиду і робініну у надземній частині астрагалу серпоплодого.

На стадії вивчення механізмів дії екстракту трави астрагалу солодколистого, фармакологічні дослідження проведені з використанням 54 щурів: 24 щурі, розподілені на 4 групи, по 6 особин у кожній (інтактні тварини, групи модельної патології, референс-препарату, екстракту астрагалу солодколистого); визначення гострої токсичності екстракту трави астрагалу солодколистого проведено на 30 щурах, розподілено на 5 груп по 6 тварин у кожній, відповідно до доз аналізованого екстракту (100, 200, 300, 400, 500 мг/кг маси тіла). Для встановлення механізмів дії також проаналізовано вміст сечовини і креатиніну у сечі щурів з використанням моделі гострої сулемової нефропатії.

Внутрішньошлункове введення екстракту *A. glycyphyllos* у максимальній дозі (5000 мг/кг маси) не викликало загибелі лабораторних тварин протягом 14 діб, симптоми отруєння були відсутніми, що дозволило віднести субстанцію до четвертого класу токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення, згідно методичних рекомендацій з доклінічного вивчення лікарських засобів (Стефанов, 2001).

В усіх групах досліджувані препарати вводили перорально щодня, починаючи за тиждень до відтворення патології. Результати застосування даного підходу свідчать, що проходження однотижневого курсу прийому аналізованого екстракту трави *A. glycyphyllos* до введення нефротоксину, у групах модельної патології, референс-препарату і трави *A. glycyphyllos* забезпечувало на 4 добу після введення сулеми менш різке зростання рівня сечовини і креатиніну плазми крові. Креатинін і сечовина плазми крові були нижчими у групах референс-препарату і екстракту трави *A. glycyphyllos,* порівняно з групою модельної патології. На етапі вивчення гіпоазотемічної активності ДД Фіточай «Нефропротектол», фармакологічні дослідження проведені з використанням 24 щурів, розподілених на 4 групи, по 6 особин у кожній: інтактні тварини, групи модельної патології, референс-препарату, екстракту ДД Фіточай «Нефропротектол» (табл. 5).

Таблиця 5

Біохімічні параметри плазми крові і сечі щурів на моделі гострої сулемової нефропатії (M±SD, n=24)

Група тварин	Сечовина плазми крові, ммоль/л	Креатинін плазми крові мкмоль/л	Сечовина сечі, ммоль/л	Креатинін сечі, мкмоль/л, до введення сулеми	Креатинін сечі, мкмоль/л, після введення сулеми
1 група (інтакт)	7,43±2,06	44,40±9,09	87,50±5,74	12,48±2,36	-
2 група (модельна патологія, МП)	27,85±4,17 p1=0,064	746,00±16,69 p1=0,064	32,40±0,14 p1=0,064	2,10±0,46 p1=0,034	1,40±0,57
3 група (МП+ референс-препарат)	11,47±6,97 p1=0,480 p2=0,083	190,33±91,86 p1=0,034 p2=0,083	59,50±14,93 p1=0,034 p2=0,083	1,93±0,42 p1=0,034 p2=0,658	4,63±0,76 p2=0,083
4 група (МП+ екстракт ДД Фіточай «Нефро-протектол»	13,38±1,93 p1=0,034 p2=0,083	150,47±18,10 p1=0,021 p2=0,064	51,85±6,45 p1=0,021 p2=0,064	2,12±0,55 p1=0,020 p2=0,857	4,50±0,96 p2=0,064

Примітки. p1 – рівень значущості відмінностей порівняно з групою 1 (інтакт). p2 –рівень значущості відмінностей порівняно з групою 2 (МП).

Вивчено *in vivo* вплив на показники функції нирок лабораторних тварин сумарного екстракту розробленої ДД Фіточай «Нефропротектол», до складу якого входять квітки робінії звичайної, листя і квітки глоду, листя берези, трава споришу. Досліджено вміст сечовини і креатиніну у плазмі крові та сечі білих щурів з використанням моделі гострої сулемової нефропатії. Вміст креатиніну сечі вивчено на даній моделі до і після введення нефротоксину.

Порівняно з інтактними тваринами, рівень сечовини і креатиніну сечі на фоні введення нефротоксину в усіх групах тварин знижується. Порівняння вмісту креатиніну сечі до і після введення сулеми свідчить про його зменшення у групі модельної патології та зростання у групах, яким вводили ДД Фіточай «Нефропротектол» і препарат порівняння.

Проведеними дослідженнями встановлено різке зростання, порівняно з інтактними щурами, рівня креатиніну і сечовини крові у групі модельної патології, що веде до значного зниження цих маркерів ниркової функції у сечі лабораторних тварин.

Дані проведеного *in vivo* скринінгового фармакологічного вивчення механізмів дії ДД Фіточай «Нефропротектол» свідчать про його виражену гіпоазотемічну дію: у групах дослідних тварин, яким додатково до нефротоксину вводили сумарний екстракт зазначеного фіточаю та препарат порівняння Леспефлан (групи 3 і 4), концентрації креатиніну і сечовини крові були суттєво нижчими у порівнянні з групою модельної патології. Гіпоазотемічна активність розробленого фіточаю була на рівні препарату порівняння і за креатиніном становила 79,89 %, за сечовиною плазми крові – 51,96 %.

Розділ 6. Розробка складу засобу гіпоазотемічної дії. Стандартизація трави астрагалу солодколистого і фіточаю «Нефропротектол». Опрацьовано критерії стандартизації сировини трави *A. glycyphyllos* за розділами «Ідентифікація А, В, С» та «Кількісне визначення».

Обґрунтовано вибір компонентів фіточаю гіпоазотемічної дії, з урахуванням їх основних БАР і фармакологічної активності (Кобзар, 2007); наявності активних маркерів у складі; особливостей стандартизації за вмістом флавоноїдів, згідно ДФУ (статус офіцинальної сировини); присутність у складі ТОП-10 субстанцій ЛЗРП групи G04B Державного реєстру лікарських засобів України; достатність ресурсної бази в Україні; результатів власних фармакологічних досліджень *in vivo* нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності.

До складу розробленого фіточаю «Нефропротектол», гіпоазотемічну активність якого підтверджено експериментальними дослідженнями, увійшли флавоноїдовмісні види ЛРС – робінії звичайної квітки, глоду листя і квітки, берези листя, споришу трава, які містять у своєму складі такі аналітичні і терапевтичні маркери гіпоазотемічної активності: гіперозид (глоду листя і квітки, берези листя, споришу трава) та робінін (робінії звичайної квітки).

Розроблено проєкт МКЯ на добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол» (макроскопічні ознаки, органолептичні показники, кількісні показники якості засобу).

Згідно розробленого проєкту МКЯ на добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол», до показників доброякісності фітозасобу запропоновано наступні вимоги: вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид – не менше 1,5 %; втрата в масі при висушуванні – не більше 14 %; зола загальна – не більше 12 %; масова частка органічних домішок – не більше 3 %; масова частка мінеральних домішок – не більше 1 %; масова частка шматочків, що не

проходять крізь сито з отворами розміром 5600 мкм (для фіточаїв у пачках) – не більше 10 %; масова частка шматочків, що не проходять крізь сито з отворами розміром 2000 мкм (для фіточаїв у фільтр-пакетах) – не більше 10 %; отруйні рослини та зараженість комірниковими шкідниками – не допускається.

На добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол» у співпраці з ПрАТ «Ліктрави» (м. Житомир) розроблено Технічні умови України ТУ У 10.8-00481181-013:2019 (зміна № 1) “Дієтичні добавки “Фіточаї”.

За результатами експериментальних досліджень вперше теоретично обґрунтовано і експериментально підтверджено розроблену «Концептуальну модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю (рис. 5).

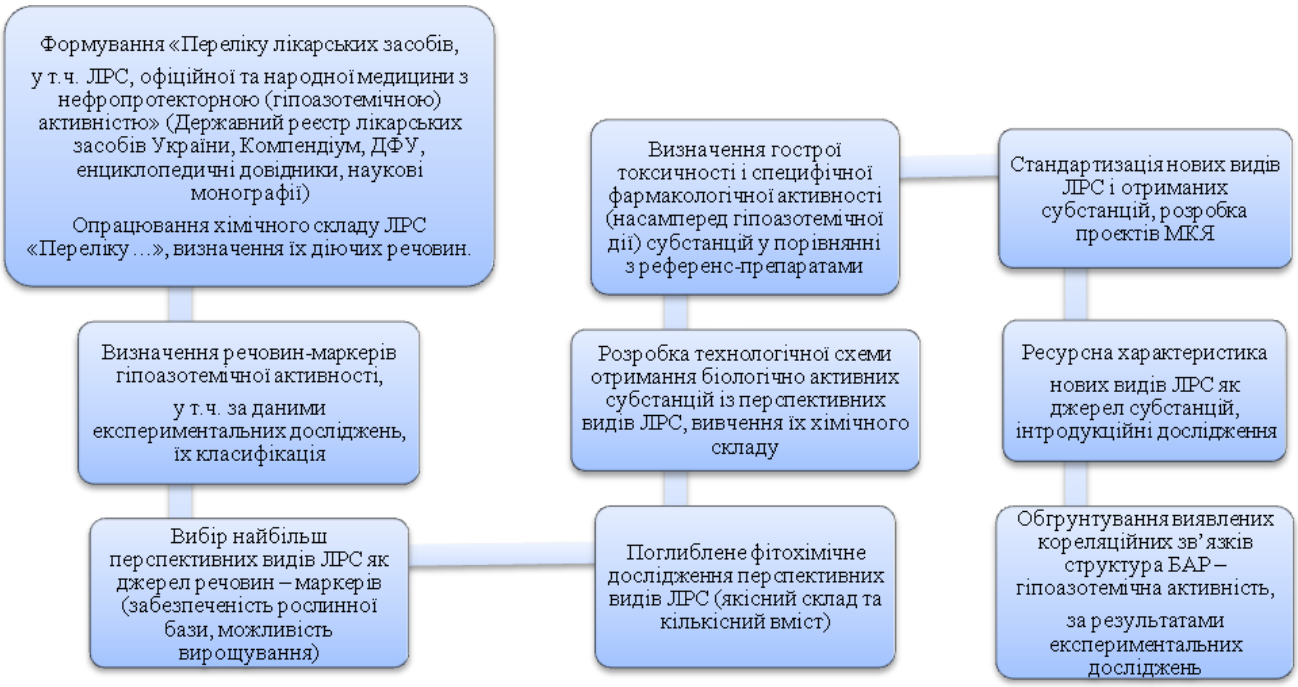

Рис. 5. Блок-схема «Концептуальної моделі пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю»

За результатами гігієнічної оцінки дієтичної добавки Фіточай «Нефропротектол», проведеної у Науковому центрі превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л. І. Медведя МОЗ України (звіт про НДР № 3/8-3729/68093Е від 25.11.2019 р.), досліджувані зразки за вмістом токсичних елементів, пестицидів, радіологічними і мікробіологічними показниками відповідали санітарним вимогам; фіточай є безпечним для здоров’я людини і може використовуватись за призначенням як дієтична добавка.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукового завдання, яка полягає у пошуку і фармакогностичному вивченні видів лікарських рослин з потенційною нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю.

1. Проведено пошук перспективних сировинних джерел флори України з нефропротекторною (гіпоазотемічною) дією на основі принципів фітохімічного скринінгу з використанням сучасних методів аналізу, а також опрацювання наукових першоджерел щодо поширення, морфологічних ознак, хімічного складу, стандартизації сировини, фармакологічної активності й використання видів роду Астрагал у медицині.

2. Опрацьовано оптимальні методи екстрагування з досліджуваних видів сировини речовин-маркерів, їх ідентифікації та кількісного визначення у досліджуваних видах сировини. Отримано біологічно активні субстанції з перспективних джерел для дослідження їх фармакологічної активності й обґрунтувано склад лікарських форм.

3. Вибрано оптимальну стандартизовану методику для експериментального моделювання ураження нирок (ниркової недостатності), що дозволило оцінювати гіпоазотемічну активність та її можливі механізми після введення досліджуваних фітосубстанцій у порівнянні із референс-препаратом.

4. Вперше вивчено морфолого-біологічні характеристики робінінвмісних видів, інтродукованих в умовах м. Львова – астрагалу серпоплодого, астрагалу козлятникоподібного, астрагалу солодколистого і леспедеци двоколірної. Отримані результати спостереження за інтродукованими видами підтверджують їх широку екологічну амплітуду та створюють передумови для культивування даних видів рослин в умовах західного регіону України як перспективних джерел нових нефропротекторних ЛЗРП.

5. Методами ТШХ і ВЕРХ вивчено склад та вміст флавоноїдів і гідроксикоричних кислот – маркерів гіпоазотемічної активності у фітосубстанціях, отриманих на основі рослинної сировини представників родини Бобові – астрагал солодколистий, астрагал серпоплодий і астрагал козлятникоподібний, робінія звичайна; вивчено хроматографічні профілі перспективних видів роду Астрагал.

6. Вперше встановлено у траві астрагалу солодколистого (метод ВЕРХ з УФ-детектуванням) кількісний вміст 5 індивідуальних флаван-3-олів, мг/г: галокатехіну – 3,7, епігалокатехіну – 1,7, епікатехіну – 0,5, галової кислоти – 0,4, катехіну – 0,2, епікатехін галату – 0,2, а також вміст гідроксикоричних кислот: хлорогенової (0,03 %), кавової (0,01 %), *п*-кумарової (0,13 %), ферулової (0,06 %) та розмаринової (0,015 %).

7. Визначено кількісний вміст найбільш важливих мікроелементів у фізіологічному і токсикологічному аспектах у надземних органах астрагалу солодколистого, астрагалу серпоплодого і астрагалу козлятникоподібного. Досліджено вміст суми флавоноїдів (від 7,3 до 32,6 мг/г, у перерахунку на

рутин і суху речовину) та мікроелементний склад, мг/кг (феруму 54,2 – 267,4, цинку 20,7 – 156,0, мангану 8,6 – 176,8, купруму 2,7 – 14,0) трави астрагалу солодколистого, трави астрагалу козлятникоподібного, трави астрагалу серпоплодого, трави споришу, листя і квіток глоду, листя берези, які у своєму складі містять маркери нефропротекторної активності. Вперше встановлено кореляційний зв'язок між сумарним вмістом флавоноїдів та екстрагованого у настій мангану у листках з квітками глоду і траві споришу.

8. Вперше визначено гіпоазотемічну активність сумарних екстрактів з надземних органів астрагалу солодколистого, астрагалу серпоплодого і астрагалу козлятникоподібного та розробленої ДД Фіточай «Нефропротектол».

9. За результатами макро- й мікроскопічного дослідження надземних органів астрагалу солодколистого вперше встановлені характерні діагностичні ознаки цього виду ЛРС, які були використані для опрацювання показників доброякісності та розробки проєктів методів контролю якості на «Астрагалу солодколистого траву» і добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол».

10. Вперше розроблено і експериментально підтверджено «Концептуальну модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю».

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові статті

1. Konieczynski P, Viapiana A, Lysiuk R, Wesolowski M. Chemical Composition of Selected Commercial Herbal Remedies in Relation to Geographical Origin and Inter-Species Diversity. *Biol Trace Elem Res*. (Q2, IF 2.450) 2018 Mar; 182(1):169-177. (Особистий внесок – заготівля сировини, підготовка зразків для аналізу, проведення частини експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

2. Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? *Food Chem Toxicol*. (Q1, IF 3.390) 2017 Dec.;110:240-250. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у підготовці тексту статті, підготовка статті до друку).

3. Лисюк Р. М., Ковальська Н. П. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2019; 1:49–57. (Особистий внесок – постановка експерименту, заготівля сировини, участь у проведенні експерименту, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

4. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є., Гудзь Н. І., Калинюк Т. Г. Аналіз номенклатури та складу сучасних лікарських засобів рослинного походження для лікування захворювань сечовидільної системи. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2015; 24 (4): 264-271. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у підготовці тексту статті, підготовка статті до друку).

5. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є. Рослини роду *Lespedeza* як перспективні джерела сучасних лікарських засобів. *Фітотерапія. Часопис*.

2015;2:31-35. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у підготовці тексту статті, підготовка статті до друку).

6. Лысюк Р. Н., Гудзь Н. И., Дармограй Р. Е., Езерская О. И. Растительные субстанции для лечения урологических и нефрологических заболеваний. *Рецепт.* 2016; 19 (2): 235-239. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у підготовці тексту статті, підготовка статті до друку).

7. Lysiuk R, Kozachok S. HPLC-UV Determination of Catechins and Gallic Acid in Aerial Parts of *Astragalus glycyphyllos* L. *Dhaka Univ. J. Pharm. Sci.* 2019 December. (Особистий внесок – постановка експерименту, заготівля сировини, участь у проведенні експерименту, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

8. Barchuk O. Z., Lysiuk R. M., Denys A. I., Zaliska O. M., Smalyuh O G., Nester M. I. Experimental study of goat's rue (*Galega officinalis* L.) herb and its liquid extracts. *The Pharma Innovation Journal.* 2017;6(11):393-397. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у проведенні експерименту, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

9. Lysiuk R, Hudz N. Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals. *Int J Trends Food Nutr*. 2017;1:e102:1-5. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у підготовці тексту статті, підготовка статті до друку).

10. Lysiuk R, Zaritska Y, Darmohray R. Investigation of microelements contents in aerial parts of *Agrimonia eupatoria* L., collected in Lviv region (Ukraine). *Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis. Studia Naturae*. 2016;1: 95-104. (Особистий внесок – заготівля сировини, підготовка зразків для аналізу, проведення частини експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

11. Lysiuk R, Mboya J. M. Herbal drugs for the treatment of diabetic nephropathy: Current status and prospects for the application. *J Kidney Treat Diagn*. 2020;3(2):3-4 (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у підготовці тексту статті, підготовка статті до друку).

12. Lysiuk R. M., Mboya J. M. Search for Promising Plant Extracts and Active Principles to Prevent and Treat Diabetic Nephropathy. *Austin J Plant Biol.* 2019;5(1):1022, P. 1-3. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у підготовці тексту статті, підготовка статті до друку).

13. Lysiuk R, Darmohray R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus. International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*; 2016;3:46-53. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у підготовці тексту статті, підготовка статті до друку).

14. Lysiuk R. M., Skibitska M., Stecko M.-P. GLC/MS – Determination of Monosaccharides Contents in Above-Ground Portions of *Astragalus glycyphyllos* L. *Медичний форум*. 2015;6(06):66–69. (Особистий внесок – заготівля сировини, підготовка зразків для аналізу, проведення частини експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

15. Лисюк Р., Дармограй Р., Заріцька Є., Галабурда А., Янович Д., Бондарчук О., Рахметов Д. Дослідження макро- і мікроелементного складу надземних органів інтродукованих видів роду *Astragalus.* Scientific proceedings of the International network AgroBioNet "Biodiversity after the Chernobyl Accident". Part 2; Nitra, Slovakia; 2016, p. 148–152. (Особистий внесок – заготівля сировини, підготовка зразків для аналізу, проведення частини експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

16. Lysiuk R. M., Darmohray R. Ye., Rakhmetov D. B., Bondarchuk O. P. Current trends and prospects for application of *Astragalus spp*. Scientific proceedings of the International network AgroBioNet of the institution and researcher of international research, education and development programme "Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality". Part 2; Nitra, Slovakia; 2015, p.442–445. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у підготовці тексту статті, підготовка статті до друку).

17. Lysiuk R, Kozachok S, Darmohray R. HPLC analysis of hydroxycinnamic acids from the aerial parts of *Astragalus glycyphyllos* L. In: Scientific proceedings of the international network AgroBioNet of the institution and researcher of international research, education and development programme "Agrobiodiversity for improving nutrition, health, and life quality 2016''. Editors: Ján Brindza and Svetlana Klymenko; 2016 November; Nitra, Slovakia: Slovak University of Agriculture in Nitra; 2016, p. 250-254. (Особистий внесок – заготівля сировини, підготовка зразків для аналізу, проведення частини експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

Монографія

18. Antonyak H, Iskra R, Panas N, Lysiuk R. Trace Elements and Minerals in Health and Longevity. Malavolta M., Mocchegiani E. (eds). Springer Nature Switzerland AG; 2018. Chapter, Selenium; p. 63-98. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у підготовці глави монографії, підготовка монографії до друку).

Тези доповідей

19. Lysiuk R. M. , Darmohray R. Ye. The current status of phytotherapy of chronic kidney insufficiency. 2nd International Conference and Workshop "Plant – the source of research material"; 2012 Oct. 18-20; Lublin; 2012, p.77.

20. Lysiuk R, Skibitska M. Introduction of *Lespedeza bicolor* Turcz. in the botanical garden of Ivan Franko National University of Lviv. 3rd International Conference and Workshop "Plant – the source of research material"; 2013 Oct 16-18; Lublin; 2013, p. 154.

21. Lysiuk R, Darmohray R. Search for promising sources of hyperoside. Book of abstracts: The 4th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice. 2013 Nov. 23; Kaunas, Lithuania; 2013, p. 99-101.

22. Lysiuk R, Darmohray R. Current State of Conservation and Introduction of *Astragalus Spp* in Ukraine as Sources of Promising Herbal Substances. In: International Scientific Symposium "Conversation of Plant Diversity", 5th edition.

Gheorghe Duca [et al.] progr. com.; Alexandru Teleuţă [et al.]org. com.; 2017 June 1-3; Chişinău, Republic of Moldova: S. n., Tipogr. “Pixel Print”; 2017, p. 91.

23. Lysiuk R., Skibitska M. Biological characters of *Astragalus glycyphyllus* under conditions of introduction. II International Scientific Conference „Pharmaceutical Sciences in XXI Century”; 2014 May 2-4; Tbilisi (Georgia): Tbilisi State Medical University; p. 230-231.

24. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є. Аналіз методів дослідження гіпоазотемічної активності рослинних засобів. Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну. Тези доповідей наук.-пр. конф. з міжн. уч. та школою молодих вчених; 2014 Жовт. 1-3; Х.: Титул; 2014, с. 73-75.

25. Лисюк Р. М., Нєктєгаєв І. О., Антонів О. І., Болеста М. І., Лещишин М. М. *In vivo* вивчення ренальних ефектів екстракту трави астрагалу козлятникоподібного (*Astragalus galegiformis* L.). In: Katjuhin L. N., Salov I. A., Danilova I. S., Burina N. S., editors. Advances of science. Proceedings of articles the international scientific conference; 2018 December 21; Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Ukraine, Kyiv: MCNIP; 2018, p. 112-116.

26. Лисюк Р. М., Нєктєгаєв І. О., Гайдук Р. Б. Скринінгове дослідження впливу сумарного екстракту надземної частини астрагала солодколистого на функцію нирок. В: С. М. Марчишин, Л. С. Фіра, К. А. Посохова, О. М. Олещук, редкол. Хімія природних сполук. Матеріали IV Всеукр. наук.-практ. конф. з міжн. уч.; 2016 Квіт 21-22; Тернопіль: ТДМУ; 2016, с. 93-94.

27. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є., Лещишин М. М. Інтродукційне та фітохімічне вивчення астрагалу козлятникоподібного. Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження. Матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.; 2020 Бер 11; Х.: НФаУ; 2020, с. 88 - 89.

28. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є., Нєктєгаєв І. О. Обґрунтування складу збору нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності. Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної internet-конференції; 2020 Лист. 26-27; Харків: НФаУ; 2020, с. 151-152.

29. Lysiuk R. M., Nektegaev I. O., Antoniv O. I., Bolesta M. I., Khtei Kh. I. Experimental investigation on hypoazotemic effects of *Astragalus falcatus* Lam. International scientific and practical conference «Prospects for the development of medicine in EU countries and Ukraine»; 2018 December 21–22; Wloclawek, Republic of Poland: Izdevnieciba «Baltija Publishing»; 2018, p.112-115.

30. Лисюк Р. М., Нєктєгаєв І. О. Види роду астрагал (*Astragalus* L.) як перспективні нефропротекторні (гіпоазотемічні) засоби. В: Котвіцька А. А. та ін., редкол. Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку. у 2 т. Матеріали наук.-практ. конф. з міжн. уч., присв. 20-й річн. засн. Дня фармацевтичного працівника України; 2019 Вер. 19-20; Харків: НФаУ; 2019, Т. 1. с. 246-247.

Результати наукових досліджень за матеріалами дисертації викладено, крім наведених вище, ще у 13 тезах доповідей та матеріалах конференцій різного рівня. Загалом опубліковано 43 наукові праці.

АНОТАЦІЯ

Лисюк Р. М. **Фармакогностичне дослідження видів лікарських рослин з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю. – 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.

Для визначення маркерів гіпоазотемічної активності методами ТШХ і ВЕРХ досліджено склад флавоноїдів та гідроксикоричних кислот перспективних фітосубстанцій. Здійснено якісний та кількісний аналіз основних груп БАР в субстанціях астрагалу солодколистого: флавоноїдів (ТШХ, ВЕРХ, диференціальна спектрометрія), катехінів (ВЕРХ з УФ-детектуванням), гідроксикоричних кислот (ВЕРХ), полісахаридів (ГРХ-МС), мікроелементів (ААС/ЕА). Проведено скринінгові дослідження гіпоазотемічної дії екстрактів видів роду Астрагал, вивчено ренальні механізми дії екстракту трави астрагалу солодколистого і нефропротекторну (гіпоазотемічну) активність добавки дієтичної Фіточай «Нефропротектол». Обґрунтовано склад фіточаю гіпоазотемічної дії, опрацьовано методики ідентифікації і кількісного визначення вмісту діючих речовин для стандартизації сировини, встановлено показники доброякісності та розроблено проєкти МКЯ на «Астрагалу солодколистого траву» і добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол». Вперше теоретично обґрунтовано і експериментально підтверджено «Концептуальну модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю».

Ключові слова: захворювання нирок, гіпоазотемічна активність, активні маркери, види роду Астрагал, екстракти, біологічно активні сполуки, трава астрагалу солодколистого, фіточай «Нефропротектол», стандартизація, фармакологічне вивчення.

АННОТАЦИЯ

Лысюк Р. Н. **Фармакогностическое исследования видов лекарственных растений с нефропротекторной (гипоазотемической) активностью. – Квалификационная научная работа 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.

Для определения маркеров гипоазотемической активности методами тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии исследовано состав флавоноидов и гидроксикоричных кислот перспективных фитосубстанций. Осуществлен качественный и количественный анализ

основных групп биологически активных веществ в субстанциях астрагала сладколистного: флавоноидов (тонкослойная и высокоэффективная жидкостная хроматография, дифференциальная спектрометрия), катехинов (высокоэффективная жидкостная хроматография с УФ-детектированием), гидроксикоричных кислот (высокоэффективная жидкостная хроматография), полисахаридов (газо-жидкостная хроматография – масс-спектрометрия), микроэлементов (атомно-абсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией). Проведено скрининговые исследования гипоазотемического действия экстрактов видов рода Астрагал, изучено ренальные механизмы действия экстракта травы астрагала сладколистного и нефропротекторную (гипоазотемическую) активность фиточая «Нефропротектол». Обоснованно состав фиточая гипоазотемического действия; с целью стандартизации сырья разработаны методики идентификации и количественного определения содержания действующих веществ, установлены показатели доброкачественности и разработаны проекты методов контроля качества на «Астрагала сладколистного траву» и добавку диетическую Фиточай «Нефропротектол». Впервые теоретически обоснована и экспериментально подтверждена «Концептуальная модель поиска и разработки новых растительных средств с нефропротекторной (гипоазотемической) активностью».

Ключевые слова: заболевания почек, гипоазотемическая активность, активные маркеры, виды рода Астрагал, экстракты, биологически активные соединения, трава астрагала сладколистного, фиточай «Нефропротектол», стандартизация, фармакологическое изучение.

ANNOTATION

Lysiuk, R. M. **Pharmacognostic study of medicinal plant species with nephroprotective (hypoazotemic) activity. – Qualifying scientific work as a manuscript.**

A thesis for a Candidate Degree in Pharmaceutical Sciences on specialty 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy.– Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2021.

The thesis is devoted to the search and multipurpose pharmacognostic study of promising medicinal plantspecies of the Ukrainian flora with nephroprotective (hypoazotemic) activity, based on chemotaxonomic analysis for the presence of active markers, followed by the development of draft quality control methods, obtaining herbal remedies and investigation of specific pharmacological action.

It has been established that the checklist of Ukrainian hypoazotemic herbal drugs, which are important in the treatment of chronic renal failure and other nephropathies, is rather limited, which necessitated the search and development of new remedies for pharmacological correction of renal dysfunction, based on available plant raw materials with sufficient resource base. The chemical composition and peculiarities of pharmacological activity of official species of the genus *Lespedeza*, for which significant hypoazotemic activity has been clinically proven, have been studied.Data on the peculiarities of hypoazotemic activity of MPM, herbal drug

preparations and individual compounds of plant origin in renal dysfunction have been analyzed in order to establish the relationship between hypoazotemic activity of phytomedicines and the presence of active markers in their composition. Information and research studies on the chemical composition of medicinal plant species in flora of Ukraine, that exhibit nephroprotective (hypoazotemic) activity, have been carried out. The analysis of methods for investigation of hypoazotemic activity of herbal remedies and use of reference preparations on various models of toxic renal damage has beenconducted. Theoretical substantiation on the choice for further study of plant substances containing active markers of flavonoid structure with hypoazotemic action (robinin, isoorientin, cynaroside, hyperoside), certain compounds of the class of catechins, hydroxycinnamic acids (*p*-coumaric, ferulic, rosmarinic acids), as well as trace elements (selenium, zinc, copper, manganese), have been performed. Current scientific data on the chemical composition, pharmacological activity and medical use of official species of the genus *Astragalus*, in particular for treatment of kidney diseases, have been summarized.

As a promising direction for screening pharmacological studies of hypoazotemic activity, the application of plant materials containing active markers of flavonoid structure has been proposed. Characteristics related to resource base, morphology and anatomy of perspective plant sources,containing markers of hypoazotemic activity, have been studied. Biologically active substances from herbs have been obtained and a quantitative determination of the main groups of biologically active substances, which impact for the manifestation of nephroprotective activity – flavonoids, hydroxycinnamic acids, trace elements – in the raw portionsfrom representatives of the genera *Astragalus, Betula, Polygonum, Crataegus, Robinia* has been carried out.

Qualitative and quantitative analyses of the main groups of biologically active compounds – flavonoids (TLC, HPLC, and differential spectrometry), catechins (HPLC with UV-detection), hydroxycinnamic acids (HPLC), polysaccharides (GLC-MS) –in the substances of *Astragalus glycyphyllos* have been performed. Using TLC and HPLC methods, the composition of flavonoids and hydroxycinnamic acids of promising phytosubstances obtained on the basis of plant raw materials from some members of the legume family (*Astragalus glycyphyllos, A. falcatus, A. galegiformis, Robinia pseudoacacia*) and other botanical families has been investigated for the content of markers of hypoazotemic activity.

Screening studies for the hypoazotemic effect of extracts from *Astragalus spp* have been carried out and the renal mechanisms of action of the extract from aerial parts of milk-vetch (*Astragalus glycyphyllos* L.) and the herbal collection of nephroprotective (hypoazotemic) activity Nephroprotectolum have been studied.

The composition of herbal mixture with hypoazotemic properties has been substantiated, a draft of methods for quality control of Nephroprotectolum (macroscopic, organoleptic and quantitative characteristics of the quality) has been developed and criteria for standardization of the plant material *Herba Astragali glycyphylli* have been proposed.

"The conceptual model for search and development of new herbal remedies with nephroprotective (hypoazotemic) activity" for the first time has been theoretically substantiated and experimentally confirmed.

Keywords: kidney diseases, hypoazotemic activity, active markers, *Astragalus spp.*, extracts, biologically active compounds, *Herba Astragali glycyphylli*, herbal collection *Nephroprotectolum*, standardization, pharmacological investigation.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

A.	– *Astragalus*
ААС/ЕА	– атомно-абсорбційна спектрофотометрія з електротермічною атомізацією
БАР	– біологічно активна речовина
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія
ВООЗ	– Всесвітня організація охорони здоров'я
ГРХ-МС	– газорідинна хроматографія – мас-спектрометрія
ДД	– добавка дієтична
ДФУ	– Державна Фармакопея України
ЛЗРП	– лікарський засіб рослинного походження
ЛРЗ	– лікарський рослинний засіб
ЛРС	– лікарська рослинна сировина
МКЯ	– методи контролю якості
МП	– модельна патологія
НПК	– науково-практична конференція
ТШХ	– тонкошарова хроматографія
УФ	– ультрафіолетове світло
ХНН	– хронічна ниркова недостатність

Підписано до друку 09.04.21
Формат 60х84/16. Папір офсетний.
Друк на різографі. Зам. №09/04-5
Ум. друк. арк. 0,9
Наклад 100 прим.

Видавництво “Галич-Прес”
Видавець ФОП Король І.В.
м. Львів, вул. Гнатюка, 17
Ел. пошта: lvivprint@ukr.net. Тел. 096-59-88-924
Свідоцтво ДК №5353 від 24.05.2017 р.