

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

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Лисюк Роман Миколайович

УДК 615.322: 615.074: 616.61:582.736

ДИСЕРТАЦІЯ

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН З НЕФРОПРОТЕКТОРНОЮ (ГІПОАЗОТЕМІЧНОЮ) АКТИВНІСТЮ

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

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

_____ Р. М. Лисюк

Науковий керівник: Дармограй Роман Євдокимович, кандидат
фармацевтичних наук, доцент

Львів– 2021

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. Дисертаційна робота захищається в спеціалізованій вченій раді Д 35.600.02 при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького, МОЗ України, Львів, 2021.

Дисертація присвячена вирішенню актуальної наукової задачі — пошуку і комплексному фармакогностичному вивченню видів лікарських рослин флори України з потенційною нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю.

Проведено вивчення фармацевтичного ринку України та складу ЛЗРП для лікування захворювань сечовидільної системи фармакотерапевтичної групи G04B «Засоби, що застосовуються в урології» класифікаційної системи АТХ; 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.

Детально вивчено хімічний склад та особливості фармакологічної активності офіційних видів роду Леспедеца, для яких клінічно доведено значну гіпоазотемічну активність. 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. Виконано аналіз методів дослідження гіпоазотемічної активності рослинних засобів і використання референс-препаратів на різних моделях токсичного пошкодження нирок.

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 (*n*-кумарова, ферулова, розмаринова кислоти), а також мікроелементи (селен, цинк, мідь, манган).

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

Вивчено морфолого-біологічні характеристики робінінвмісних видів, інтродукованих в умовах м. Львова – астрагалу серпоплодного, астрагалу козлятникоподібного, астрагалу солодколистого і леспедеци двоколірної.

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*.

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, епікатехінгалату – 0,2, а також вміст гідроксикоричних кислот: хлорогенової (0,03 %), кавової (0,01 %), *n*-кумарової (0,13 %), ферулової (0,06 %) та розмаринової (0,015 %).

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 серпоплодного, трави споришу, листя і квіток глоду, листя берези, які у своєму складі містять маркери нефропротекторної активності. Визначено кількісний вміст найбільш важливих мікроелементів у фізіологічному і токсикологічному аспектах у надземних органах астрагалу солодколистого, астрагалу серпоплодного і астрагалу козлятникоподібного.

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

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».

Вперше теоретично обґрунтовано і експериментально підтверджено розроблену «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.

SUMMARY

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.

The study of the pharmaceutical market of Ukraine and the composition of herbal drug preparations for the treatment of diseases of the urinary system,includedinto the pharmacotherapeutic group G04B "Drugs used in urology" of the Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification system, has been carried out;determination of the TOP-10 medicinal plant materials (MPM) in the composition of these drugs and the generalization of data on their pharmacological properties related to renal diseases have been performed. It has been established that the checklist of hypoazotemic herbal drugs produced by Ukrainian manufacturers, 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 the phytomedicines and the presence of active markers in their composition. 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 been conducted.

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. 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.

The morphological and biological characteristics of robinin-containing species – *Astragalus glycyphyllos*, *A. falcatus*, *A. galegiformis*, *Lespedeza bicolor* – under conditions of introduction in the city of Lviv have been studied.

The composition and content of flavonoids and hydroxycinnamic acids, including markers of hypoazotemic activity, have been studied by TLC and HPLC methods in phytosubstances obtained on the basis of plant raw materials of the legume family (*Astragalus glycyphyllos*, *A. falcatus*, *A. galegiformis*, *Robinia pseudoacacia*); chromatographic profiles of promising species of the genus *Astragalus* have been investigated.

Quantitative content of 5 individual flavan-3-ols, mg/g, has been established for the first time in the aerial portion of *Astragalus glycyphyllos* by the method of HPLC with UV-detection: gallocatechin – 3.7, epigallocatechin – 1.7, epicatechin –

0.5, gallic acid – 0, 4, catechin – 0.2, epicatechin gallate – 0.2, as well as the content of hydroxycinnamic acids: chlorogenic (0,03%), caffeic (0,01%), *p*-coumaric (0,13%), ferulic (0,06%) and rosmarinic acid (0,015%).

It has been evaluated the content of the totality of flavonoids (from 7.3 to 32.6 mg / g, expressed as rutin and dry matter) and the trace element composition, mg / kg (iron 54.2 – 267.4, zinc 20.7 – 156.0 , manganese 8,6 – 176,8, copper 2,7 – 14,0) in aerial parts of *Astragalus glycyphyllos*, *A. falcatus*, *A. galegiformis*, as well as in *Polygoni avicularis herba*, *Flores et folia Crataegi*, *Betulae folium*, which contain markers of nephroprotective activity. The quantitative content of the most important microelements in physiological and toxicological aspects in the aboveground organs *Astragalus glycyphyllos*, *A. falcatus*, *A. galegiformis* has been determined.

Hypoazotemic activity of total extracts from aerial parts of *Astragalus glycyphyllos*, *A. falcatus*, *A. galegiformis* has been established for the first time and "Nephroprotectolum" – dietary supplement Phytotea in the form of herbal collection –has been developed.

According to the results of performed macro- and microscopic examination of aboveground organs of milk-vetch (*Astragalus glycyphyllos* L.), for the first time the characteristic diagnostic features of the plant material have been established, and were further used to develop quality indicators and control methods for *Herba Astragali glycyphylli*.

"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.

Список публікацій здобувача:

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).

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).

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.(Особистий внесок – та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

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.(Особистий внесок – заготівля сировини, участь у проведенні досліджень, збір та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

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.(Особистий внесок – та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

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 Teleuță [et al.]org. com.;

2017 June 1-3; Chişinău, Republic of Moldova: S. n., Tipogr. "Pixel Print"; 2017, p. 91.(Особистий внесок – збір та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

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.(Особистий внесок – заготівля сировини, участь у проведенні досліджень, збір та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

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.(Особистий внесок – збір та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

25. Лисюк Р. М., Нектегаєв І. О., Антонів О. І., Болеста М. І., Лешишин 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.(Особистий внесок – заготівля сировини, участь у проведенні експериментальних досліджень, збір та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

26. Єзерська О.І., Гудзь Н.І., Лисюк Р.М. Фіточаї, що застосовуються в урології, - лікарські засоби чи парафармацевтики. Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту. Матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжн.уч.; 2016 Квіт 15; Х.: Вид-во НФаУ; 2016, с. 127-128. (Особистий внесок - огляд та аналіз матеріалів).

27. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є. Аналіз наявності рослинних гіпоазотемічних засобів на сучасному фармацевтичному ринку України. Хімія

природних сполук. Матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф.; 2012 Жовт 30-31; Тернопіль; 2012, с. 125-126. (Особистий внесок - огляд та аналіз ринку, підготовка тез до друку).

28. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є., Конахович Р. Б. Аналіз фармакопейних видів лікарських рослин нефропротекторної дії. Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку. Збірник тез наукових робіт учасників міжн. наук.-практ.конф.; 2017 Січ 27-28; Львів: ГО «Львівська медична спільнота»; 2017, с. 65-68. (Особистий внесок - огляд та аналіз літературних джерел, підготовка тез до друку).

29. Лисюк Р. М., Нектегаєв 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. (Особистий внесок – заготівля сировини, участь у проведенні експериментальних досліджень, збір та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

30. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Хтей Х.І. Вивчення фенольного складу трави астрагалу серпоплодного. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів. Матеріали VII наук.-пр.конф. з міжн.уч.; 2018 Вер 27-28; Тернопіль : Укрмедкнига; 2018, с. 27-28. (Особистий внесок – заготівля сировини, участь у проведенні експериментальних досліджень, збір та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

31. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є. Вивчення вітчизняних видів роду *Astragalus* з метою розширення номенклатури офіцинальних лікарських рослин. Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень. Матер. міжн. наук. конф.; 2014 Черв 4-5; Березоточа, Лубни; 2014, с. 163-165. (Особистий внесок - огляд та аналіз літературних джерел, підготовка тез до друку).

32. 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. (Особистий внесок – заготівля сировини, участь у проведенні експериментальних досліджень, збір та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

33. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Нектегаєв 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. (Особистий внесок - огляд та аналіз літературних джерел, підготовка тез до друку).

34. Лисюк Р.М., Дармограй Р. Є., Михайловська В.В. Особливості впливу селену на органи сечовидільної системи. Матер. міжн.науково–практичної конф. з міжн. участю «Бабенківські читання», присв. пам'яті акад. Г.О. Бабенка; 2015 Жовт. 29-30; Івано-Франківськ; 2015, с. 68. (Особистий внесок - огляд та аналіз літературних джерел, підготовка тез до друку).

35. Lysiuk R. M., Darmohray R. Y., Mykhailovska V. V., Matthew Uche Eze. *Fabaceae* Plants as Valuable Sources of Microelements and Promising Nephroprotective Agents. XVI–е чтения В.В. Подвысоцкого: Бюллетень материалов научной конференции; 2017 Мая 18-19; Одесса: УкрНИИ медицины транспорта; 2017, с.18-19. (Особистий внесок - огляд та аналіз літературних джерел, підготовка тез до друку).

36. Lysiuk R.M. Hypoazotemic effects of some *Fabaceae* plants. Роль та місце медицини у забезпеченні здоров'я людини у сучасному суспільстві: матер. міжн. наук. – практ. конф.; 2013 Груд. 12; Одеса; 2013, с. 14-16.

37. Lysiuk R.M., Darmohray R.Y. Isoorinenin – containing medicinal plants as promising sources of nephroprotective phytopharmaceuticals. Міжн. науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів»; 2015 Квіт 23; Х.: Вид-во НФаУ; 2015, с.

82.(Особистий внесок - огляд та аналіз літературних джерел, підготовка тез до друку).

38. Lysiuk R.M., Darmohray R.Y., Mykhailovska V.V. Plants, yielding robinin, as promising sources of nephroprotective herbal drugs. Матер. II міжн. наук.-практ. інтернет – конференції «Technological and Biopharmaceutical Aspects of Drugs Developing with Different Orientation of Action»; 2015 Лист. 12-13; Х.: Вид-во НФаУ; 2015, р. 12–13. (Особистий внесок - огляд та аналіз літературних джерел, підготовка тез до друку).

39. 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. (Особистий внесок – заготівля сировини, участь у проведенні експериментальних досліджень, збір та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

40. Lysiuk R, Mboya J. M., Darmohray R. Beneficial Nephroprotective Effects of Plant Materials for Treatment of Diabetic Nephropathy. Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали шостої Міжнародної науково–практичної конференції; 2017 Гру 26-27; Полтава–Лубни: Комунальне видавництво «Лубни»; 2018, р. 164-167. (Особистий внесок - огляд та аналіз літературних джерел, підготовка тез до друку).

41. Lysiuk R, Darmohray R. Plants of the genus *Astragalus* used for medicinal purposes. Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії.: зб. тез наук. робіт міжн. наук. – практ. конф. 2013 Лист 8 – 9; Одеса; 2013, с. 30–32.(Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, підготовка тез до друку).

42. Lysiuk R. Cynaroside: physico-chemical characteristics, plant sources, isolation, pharmacological effects. Сучасні тенденції у медичних та

фармацевтичних науках. Зб. матер. міжн. наук. – практ. конф.; 2013 Груд 27-28; Київ; с. 90–94.

43. Лисюк Р.М., Нектегаєв 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. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, збір та аналіз матеріалу, підготовка тез до друку).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	21
ВСТУП	22
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ	30
РОСЛИН НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ (ГІПОАЗОТЕМІЧНОЇ)	
АКТИВНОСТІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	
1.1. Поширеність та сучасний стан лікування нефрологічних	30
захворювань у світі та Україні	
1.2. Аналіз номенклатури лікарських засобів рослинного походження	32
нефропротекторної (гіпоазотемічної) дії	
1.3. Біологічно активні субстанції рослинного походження та	38
особливості їх нефропротекторної активності при порушеннях	
функціонування нирок	
1.4. Аналіз методів дослідження гіпоазотемічної активності рослинних	50
засобів	
1.5. Види роду Леспедеца як основа для пошуку перспективних	53
нефропротекторних рослинних препаратів	
1.6. Види роду Астрагал як перспективні засоби для лікування	56
нефрологічних розладів	
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	67
2.1. Об'єкти дослідження	67
2.2. Методи дослідження, прилади, реактиви	71
2.2.1.Макроскопічне дослідження	71
2.2.2. Мікроскопічний аналіз	73
2.2.3. Виявлення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот методом ТШХ	74
2.2.4. Вивчення складу флавоноїдів і гідроксикоричних кислот	75
методом ВЕРХ	
2.2.5. Встановлення якісного і кількісного вмісту катехінів і галової	75
кислоти методом ВЕРХ з УФ-детектуванням	

2.2.6. Дослідження якісного і кількісного вмісту гідроксикоричнихкислот методом ВЕРХ	78
2.2.7. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту моносахаридівметодом ГРХ-МС	79
2.2.8. Встановлення якісного і кількісного вмісту мікроелементів методом ААС/ЕА	81
2.2.9. Дослідження кореляції між вмістом суми флавоноїдів та окремих мікроелементів	83
2.2.10. Вивчення <i>in vivo</i> гіпоазотемічної активності на моделі гострої експериментальної сулемової нефропатії щурів	85
РОЗДІЛ 3. ВИВЧЕННЯ МОРФО-БІОЛОГІЧНИХ ТА МІКРОСКОПІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЕРСПЕКТИВНИХ РОСЛИННИХ ДЖЕРЕЛ МАРКЕРІВ ГІПОАЗОТЕМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ	89
3.1. Дослідження морфо-біологічних характеристик інтродукованих робінінвмісних видів	89
3.2. Вивчення морфологічних ознак надземних органів астрагалу солодколистого	96
3.3. Мікроскопічний аналіз трави астрагалу солодколистого	97
Висновки до розділу 3	105
РОЗДІЛ 4 ФІТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ СИРОВИННИХ ОРГАНІВ ПЕРСПЕКТИВНИХ ФЛАВОНОЇДОВМІСНИХ РОСЛИН	107
4.1. Виявлення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот методом ТШХ	107
4.2. Вивчення складу флавоноїдів і гідроксикоричних кислот методом ВЕРХ	109
4.3. Встановлення якісного і кількісного вмісту катехінів і галової кислоти методом ВЕРХ з УФ-детектуванням	113
4.4. Дослідження якісного і кількісного вмісту гідроксикоричнихкислот методом ВЕРХ	115

4.5. Вивчення якісного складу і кількісного вмісту моносахаридівметодом ГРХ-МС	118
4.6. Встановлення якісного і кількісного вмісту мікроелементів методом ААС/ЕА	122
4.7. Дослідження кореляції між вмістом суми флавоноїдів та окремих мікроелементів	125
4.8.Розробка методики кількісного визначення вмісту флавоноїдів у траві астрагалу солодколистого методом диференціальної спектрофотометрії	128
Висновки до розділу 4	132
РОЗДІЛ 5 ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТІВ ВИДІВ РОДУ АСТРАГАЛ І ЗАСОБУ НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ (ГІПОАЗОТЕМІЧНОЇ) ДІЇ	136
5.1. Скринінгові дослідження гіпоазотемічної дії екстрактів видів роду Астрагал	137
5.2. Вивчення ренальних механізмів дії екстракту трави астрагалу солодколистого	140
5.3. Дослідження нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності фіточаю «Нефропротектол»	143
Висновки до розділу 5	145
РОЗДІЛ 6 РОЗРОБКА СКЛАДУ ЗАСОБУ ГІПОАЗОТЕМІЧНОЇ ДІЇ. СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТРАВИ АСТРАГАЛУ СОЛОДКОЛИСТОГО І ФІТОЧАЮ «НЕФРОПРОТЕКТОЛ»	148
6.1. Обґрунтування складу засобу гіпоазотемічної дії	148
6.2. Розробка МКЯ на добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол»	155
6.3. Стандартизація сировини трави астрагалу солодколистого за розділами «Ідентифікація А, В»	158
6.4. Стандартизація сировини трави астрагалу солодколистого за розділами «Ідентифікація С» і «Кількісне визначення»	161

6.5. Концептуальна модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю	163
Висновки до розділу 6	164
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	167
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	170
ДОДАТКИ	201

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

А. – астрагал

ААС/ЕА – атомно-абсорбційна спектрометрія з електротермічною атомізацією

АС – астрагал солодколистий

АТХ – Анатомо-терапевтично-хімічна класифікація ВООЗ (Anatomical Therapeutic Chemical Classification System, ATC)

БАР – біологічно активна речовина

БС – Ботанічний сад

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ГКК – гідроксикоричні кислоти

ГНН – гостра ниркова недостатність

ГРХ-МС – газорідинна -хромато-мас-спектрометрія

ДФУ – Державна Фармакопея України

ДН – діабетична нефропатія

ЛЗРП – лікарський засіб рослинного походження

ЛРС – лікарська рослинна сировина

ЛРЧ – лікарський рослинний чай

МКЯ – методи контролю якості

МП – модельна патологія

СКХ – сечокам'яна хвороба

СФ – спектрофотометрія

ТШХ – тонкошарова хроматографія

УФ – ультрафіолетове світло

ХНН – хронічна ниркова недостатність

ВСТУП

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 (Gaikwad et 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 робітні вмісні 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, неофіційних 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 проекти 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), вискоефективна 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 серпоплодного 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 серпоплодного, 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» (Додаток Д), рекомендованого до видання Експертною проблемною комісією «Фармація» МОЗ та НАМН України (протокол № 109 від 10 березня 2020 р.).

За результатами досліджень розроблено проекти 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 «Фіточай».

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 (Додаток Б): 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 проекти МКЯ на «Астрагалу солодколистого траву» і ДД Фіточай «Нефропротектол»; проаналізовано та систематизовано результати дослідження нефропротекторної й гіпоазотемічної активності екстрактів трави астрагалу солодколистого, трави астрагалу серпоплодного 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.

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи обговорено та викладено на з'їздах та науково-практичних конференціях (НПК) різного рівня (Додаток А): 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.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ РОСЛИН НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ (ГІПОАЗОТЕМІЧНОЇ) АКТИВНОСТІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1. Поширеність та сучасний стан лікування нефрологічних захворювань у світі та Україні

Сучасною особливістю лікування різноманітних захворювань є все ширше використання лікарських засобів рослинного походження (фітопрепаратів), особливо коли такі патології мають хронічний характер. Достатньо поширеним захворюванням нирок і видільної системи є хронічна ниркова недостатність, для лікування якої застосовують зокрема і засоби, що мають здатність виводити продукти білкового обміну з крові та сечі (гіпоазотемічні засоби) [63].

Кінцевим результатом прогресування хронічних захворювань нирок є формування хронічної ниркової недостатності (ХНН) – однієї з найважливіших проблем сучасної нефрології [86].

Важливість нефрологічної патології проявляється як в загально медичному, так і в соціально-економічному аспектах, оскільки, інвалідизуються хворі молодого, працездатного віку.

В Україні зареєстровано 490234 хворих на ХНН, що становить 1078,5 на 100 тис. населення. Найчастіше причинами даної патології є діабетична нефропатія, хронічний гломерулонефрит, гіпертензивна нефропатія, хронічний пієлонефрит [86].

Нирки – життєво необхідний орган для виведення з організму токсичних речовин та підтримання водного, мінерального та електролітного балансу на рівні, сумісному з життям. Прогресування ураження нирок може

приводити до необхідності штучної фільтрації крові шляхом діалізу й трансплантації нирки [244], тому важливо докладати зусиль для сповільнення розвитку ниркових захворювань і запобігання їх переходу у термінальну стадію.

Хронічна ниркова недостатність (ХНН) внаслідок поступового руйнування значної кількості нефронів зумовлює серйозну проблему у сучасному світі. Діабетична нефропатія є серед головних її причин. Фітотерапевтичні засоби можуть не лише допомогти у запобіганні необхідності діалізу шляхом лікування причин та наслідків ниркової недостатності, але і у зменшенні багатьох несприятливих ефектів самого діалізу [260].

Інфекції сечовивідних шляхів (ІСШ) та СКХ є найпоширенішими захворюваннями в урологічній практиці. Серед причин звернення пацієнтів до амбулаторних лікувальних установ ІСШ за частотою поступаються лише інфекціям респіраторного тракту. Актуальність соціально-економічного й загально-медичного аспекту СКХ полягає в тому, що дане захворювання нерідко характеризується частими рецидивами, стійким і тяжким перебігом. Станом на 2010 рік поширеність інфекцій нирок і захворюваність на інші нефрологічні захворювання серед дорослого населення України становила 1781,5 та 242 випадків на 100 тис. населення відповідно [63, 86, 89].

Багато сучасних антибіотиків, зокрема аміноглікозидної структури, та хіміотерапевтичних препаратів можуть викликати нефротоксичні ураження [60, 159, 184]. Серед механізмів комплексної нефропротекторної дії важливою складовою є гіпоазотемічна активність [60]. Іншими складовими нефропротекторної активності вважають зокрема і наступні фармакологічні ефекти: антигіпоксантий, детоксикуючий, діуретичний, підтримання швидкості клубочкової фільтрації, нормалізація концентраційної функції нирок, антигіпертензивний, гемореологічний, ендотеліопротекторний, антиоксидантний та мембранопротекторний, протизапальний, імуотропний та ін.[117].

Пошук ефективних засобів фармакологічної корекції порушення функцій нирок при ХНН є актуальним питанням сучасної нефрології й фармакології [156, 159, 184].

Для лікування ниркових захворювань рекомендуються серед інших і рослинні засоби, які виявляють гіпоазотемічну дію [81, 118].

Асортимент гіпоазотемічних лікарських засобів вітчизняного виробництва є вкрай обмеженим, що зумовлює необхідність пошуку та розробки нових препаратів на основі доступної рослинної сировини з достатньою ресурсною базою [60, 63].

1.2. Аналіз номенклатури лікарських засобів рослинного походження нефропротекторної (гіпоазотемічної) дії

Широко розповсюджені в даний час гострі та хронічні запальні процеси нирок та сечовидільної системи часто супроводжуються гіперазотемією, зумовленою зниженням виведенням з організму рідини і продуктів азотистого обміну [207]. Для лікування даної патології рекомендуються рослинні засоби, які виявляють гіпоазотемічну дію. Гіпоазотемічні засоби не виділено в окрему фармакологічну підгрупу згідно класифікаційної системи АТХ, їх вносять до підгрупи “Інші засоби, що використовуються в урології” (Код АТХ G04B X) [54].

Питання розробки та впровадження на вітчизняний фармацевтичний ринок лікарських засобів нефропротекторної (гіпоазотемічної) дії є актуальним і важливим.

Обмежений арсенал вітчизняних фітопрепаратів нефропротекторної (гіпоазотемічної) дії [60, 63] зумовлює необхідність детального вивчення сировинних джерел сучасних лікарських засобів рослинного походження (ЛЗРП) аналогічної активності, що наявні на світовому фармацевтичному ринку. До таких засобів у сфері лікування урологічних та нефрологічних

захворювань належать препарат Леспенефрил, який успішно використовується у світовій медичній практиці 60 років, а також його аналоги, отримані на основі видів роду Леспедеца.

Як гіпоазотемічний і діуретичний засіб для симптоматичного лікування хронічної ниркової недостатності в Україні на даний час зареєстровано лише єдиний лікарський засіб – Леспефрил (заявник ЗАТ "ВІФІТЕХ", Російська Федерація), який отримують з надземної частини леспедеци двоколірної (*Lespedeza bicolor*). Основними діючими речовинами даного засобу є флавоноїди гіперозид, леспедин, робінін, гомоорієнтин [24, 25], які в індивідуальному стані чинять гіпоазотемічну дію.

На світовому ринку наявні аналогічні засоби на основі інших видів роду Леспедеца (насамперед Леспенефрил), що сприяють зниженню концентрації продуктів азотистого обміну в крові та вмісту інтерлейкіну-8 у сироватці крові, підвищують кліренс азотистих сполук (сечовини, креатиніну і сечової кислоти), посилюють фільтрацію у каналцях, підвищують виведення натрію, покращують стан патологічно змінених ниркових каналців [54, 91, 102, 117, 259].

Нами проведено вивчення [63] фармацевтичного ринку України та складу ЛЗРП для лікування захворювань сечовидільної системи фармакотерапевтичної групи G04B «Засоби, що застосовуються в урології» класифікаційної системи АТХ.

У групу G04B Державного реєстру лікарських засобів України [30] станом на 01.01.2021 внесено 30 найменувань ЛЗРП для лікування нефрологічних пацієнтів (табл. 1.1).

Дані лікарські засоби містять 65 рослинних субстанцій, 36 із них зустрічаються у складі готових лікарських засобів доволі рідко, а 29 входять до складу двох і більше ЛЗРП.

Таблиця 1.1.

**ЛЗРП групи G04B «Засоби, що застосовуються в урології»,
внесені до Державного реєстру лікарських засобів України**

Назва ЛЗРП та виробник	Лікарська форма	Кількість лікарських форм	Кількість рослинних препаратів, субстанцій у складі засобу
АФЛАЗИН® (ТОВ "ВАЛАРТІН ФАРМА")	Капсули	1	1
КАНЕФРОН® Н (Біонорика СЕ)	Краплі оральні, таблетки	2	3
ЛЕСПЕФРИЛ (ЗАТ "ВІФІТЕХ" (заявник), ПАТ "Лубнифарм" (виробник))	Розчин оральний	1	1
НЕФРОДОЛ (ПрАТ "Технолог")	Таблетки	1	3
НЕФРОФІТ (ТОВ "Науково-виробнича фармацевтична компанія "Ейм")	Збір, фільтр-пакети	2	12
СОЛДАГОРЕН (Др. Густав Кляйн ГмбХ & Ко. КГ)	Краплі оральні	1	3
СПОРИШУ (ГРЧАКА ПТАШИНОГО) ТРАВА (ПрАТ Фармацевтична фабрика "Віола"/ ПрАТ "Ліктрави"/ ТОВ "Тернофарм" / ПАТ "Лубнифарм")	Трава у пачках/Трава у фільтр-пакетах	2	1
ТРИНЕФРОН-ЗДОРОВ'Я (ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я")	Краплі оральні / Капсули	2	3
ТУТУКОН (Мігуель і Гарріга С.А.)	Розчин оральний	1	8
УРОЛЕСАН® (ПАТ "Галичфарм")	Краплі оральні / Сироп / Капсули	3	5
УРОНЕФРОН® (ПАТ "Фармак")	Краплі / Сироп / Гель / Таблетки	4	9
УРОХОЛУМ (ТОВ "ДКП "Фармацевтична фабрика", м. Житомир)	Краплі	1	10
ФІТОЛІЗИН ПЛЮС® (ПАТ "Фармак")	Паста	1	9
ФІТОЛІЗИН® (ТОВ Гербаполь Варшава)	Паста для приготування суспензії для орального застосування	1	9
ФІТОЛІТ (ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я")	Капсули / Розчин оральний	2	4
ФІТОЛІТ ФОРТЕ Н (ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я")	Капсули	1	4
ФІТОНЕФРОЛ (ПрАТ "Ліктрави")	Збір	1	5
ФІТОЦИСТОЛ (ПрАТ "Ліктрави")	Збір	1	4
ФЛОРИКС (Драгенофарм Апотекар Пюшль ГмбХ)	Таблетки	1	1
ЦИСТИНОЛ АКУТ (Шапелер & Брюммер ГмбХ & Ко КГ)	Таблетки	1	1
ЦИСТО-АУРИН (Фарма Вернігероде ГмбХ)	Таблетки	1	1
ЦИСТОН® (Хімалай Драг Компані)	Таблетки	1	14

Розподіл зареєстрованих ЛЗРП за лікарськими формами виглядає наступним чином: капсули – 5, таблетки – 7, краплі – 6, сиропи – 2, гелі та пасти для орального застосування – 3, збори – 3, лікарська рослинна сировина – 1. У найбільшій кількості лікарських форм представлені препарати Уронефрон (краплі, сироп, гель, таблетки) та Уролесан (краплі оральні, сироп, капсули), що дає можливість призначення даних ЛЗ пацієнтам різних вікових категорій.

Переважає більшість зареєстрованих ЛЗРП для лікування захворювань нирок є полікомпонентними (24 найменування), монокомпонентними – лише 6, що вказує на доцільність розробки нових полікомпонентних засобів, враховуючи дану тенденцію.

Аналогічними за складом препаратами є Канефрон та Тринефрон, що містять екстракти трави золототисячника, кореня любистку, листя розмарину, а також Фітолізин, Фітолізин плюс й Уронефрон (екстракти лушпиння цибулі, кореневища пирію, листя берези, насіння гуньби, коріння петрушки, трави золотарника, трави хвоща польового, трави гірчака пташиного, корені любистку).

Серед вітчизняних виробників лідерами з асортиментних позицій ЛЗРП даної групи є ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я" (Тринефрон краплі оральні й капсули; Фітоліт капсули та розчин оральний; Фітоліт форте Н капсули), ПАТ "Фармак" (Уронефрон краплі, сироп, гель, таблетки; Фітолізин плюс паста), ПрАТ "Ліктрави" (Споришу трава; Фітонефрол збір; Фітоцистолзбір), ПАТ "Галичфарм" (Уролесан краплі оральні, сироп, капсули).

Важливо зазначити, що протоколом лікування дітей з інфекціями сечової системи і тубулоінтерстиціальним нефритом [82] поряд з п'ятьма готовими ЛЗРП (канефрон Н, уролесан, фітолізин, цистон), рекомендованих для застосування при мікробному запаленні сечових шляхів, також наведено перелік 27 фітокомпонентів (рослинних субстанцій), з яких пацієнтам

повинні готувати настої або відвари в домашніх умовах, що ускладнює лікування, оскільки деякі з рослинних субстанцій не є офіційними або відсутні на фармацевтичному ринку України [63].

Варто відзначити, що в Україні зареєстровано 3 зборів та 1 лікарську рослинну сировину, що випускаються у пачках та / або фільтр-пакетах[63].

Восени 2010 року було зареєстровано і виведено на український фармацевтичний ринок фітопрепарат Леспефрил [80]. Препарат імпортувався з Росії, отримується з леспедеци двоколірної (*Lespedeza bicolor*), яка росте на Далекому Сході. Леспефрил застосовують як гіпоазотемічний і діуретичний засіб для симптоматичного лікування хронічної ниркової недостатності [54, 207]. Влітку 2016 року Леспефрил(розчин оральний по 100 мл у флаконах № 1, по 100 мл у банках № 1) було перереєстровано до 21.06.2021; виробник ПАТ "Лубнифарм", Україна; заявник – ЗАТ "Віфітех", Російська Федерація [79]. 100 мл розчину отримують із пагонів леспедези двоколірної (*Cormus Lespedeza bicolor Turcz.*) 70,8 г.

Іншим нашим дослідженням [35] встановлено відмінності між ЛЗРП у формі чаїв, що застосовуються в урології, та парафармацевтиками для лікування захворювань сечовидільної системи. На основі Державного реєстру лікарських засобів України (група G04B) нами встановлено, що досліджувані ЛРЧ представлені 8 асортиментними позиціями, які розподілені за лікарськими формами наступним чином: збори – 3, трава у пачках і/або у фільтр-пакеті – 5 [35].

На ринку харчових продуктів України знаходиться певна кількість фіточаїв для лікування захворювань сечовидільної системи. До складу цих фіточаїв також входить значно більша кількість видів ЛРС: квітки ромашки лікарської, квіти липи, листя м'яти перцевої, меліси, берези, толокнянки, трава хвоща польового, звіробою тощо. Проте ці фіточаї зареєстровані як дієтичні добавки - парафармацевтики [35]. Також нами проаналізовано склади фіточаїв Селезньова для лікування урологічних і нефрологічних захворювань та встановлено, що так як і для лікарських рослинних чаїв

(ЛРЧ) найбільш популярною ЛРС, яка входить до їх складу, є трава хвоща польового, гірчака пташиного, звіробою, листя мучниці звичайної, берези, квіти ромашки лікарської [35].

Результати подальшого детального аналізу ТОП-10 ЛРС, що входять до складу ЛЗРП групи G04B «Засоби, що застосовуються в урології» Державного реєстру лікарських засобів України, на предмет ресурсних характеристик, доведеної ефективності, а також специфічної нефропротекторної та гіпоазотемічної активності стали важливими чинниками при розробці нових ефективних препаратів для лікування ниркових захворювань [63].

Нашим дослідженням [72] встановлено ТОП-10 ЛРС у складі лікарських засобів групи G04B і проведено узагальнення даних щодо фармакологічних властивостей, які мають терапевтичне значення при ниркових захворюваннях. До переліку ЛРС увійшли: трава хвоща польового, трава гірчака пташиного, листя мучниці, корінь любистка лікарського, трава золотарника звичайного, листя берези, коріння петрушки, листя розмарину, трава звіробою, стовпчики з приймочками кукурудзи.

Вкрай обмежений асортимент специфічних рослинних гіпоазотемічних засобів на сучасному фармацевтичному ринку України спонукало до активного пошуку нових перспективних джерел фітозасобів для лікування ниркової недостатності на основі вітчизняної рослинної сировини з достатньою ресурсною базою [54, 63].

Маркери – компоненти або групи компонентів рослинної субстанції, рослинного препарату або ЛЗРП зі встановленою хімічною структурою, які є важливими при контролі якості, незалежно від того, чи виявляють вони біологічну активність. Аналітичні маркери застосовують з аналітичною метою; активні маркери, як правило, роблять внесок у терапевтичну дію [85].

Достатньо актуальними є інформаційно-пошукові дослідження щодо даного виду фармакологічної активності видів ЛРС вітчизняної флори та їх хімічного складу, теоретичне обґрунтування і практичне вивчення рослинних

субстанцій, що містять активні речовини-маркери флавоноїдної структури з гіпоазотемічною дією [63].

1.3. Біологічно активні субстанції рослинного походження та особливості їх нефропротекторної активності при порушеннях функціонування нирок

Нефропротекторні, зокрема гіпоазотемічні, властивості флавоноїдів та сумарних фракцій з лікарських рослинних субстанцій вивчалися на різних моделях експериментальних нефропатій [18,21, 24, 25, 26,38– 40, 87, 97, 101,102, 105, 106, 119, 151, 174, 191, 215, 241, 242].

Серед важливих механізмів дії флавоноїдів, що викликають інтерес у науковців, варто зазначити значний антиоксидантний потенціал [19, 21, 49, 99, 105, 110, 117, 128, 174, 175], зокрема при ниркових захворюваннях [242].

Відомо, що флавоноїдні речовини впливають на функцію нирок, підвищуючи діурез і зменшуючи кількість азотистих речовин в крові [12, 102]. Флавоноїди в залежності від будови проявляють різний фармакологічний ефект: при фармакологічному вивченні низки природніх сполук було встановлено, що вони виявляють діуретичну або гіпоазотемічну дію. При зіставленні структури цих речовин з отриманими фармакологічними результатами видно, що сила ефекту також залежить від природи цукрового компонента і структури функціональних груп, місця їх приєднання до флавоноїдного ядра. Наприклад, рутин, на відміну від кемпферол-3-рутинозиду, має оксигрупи в 3'-положенні, і його активність на 20% вище; введення метоксили в це ж положення (нарцисин) знижує гіпоазотемічну активність на таку ж величину [15, 102].

Істотний вплив має природа вуглеводного компонента. Нарцисин і кейозид відрізняються між собою природою гексози у вуглеводному залишку – D-глюкоза і D-галактоза, відповідно – ця особливість в будові робить

молекулу кейозиду майже у 4 рази активнішою, ніж молекулу нарцисину [15, 102].

У групі кемпферолу робінін володіє найбільш вираженою дією [12]. Його молекула містить, як і кейозид, 3-поміж цукрових компонентів робінобіозу у третьому положенні. Кверцетин-3-монозиди (авікулярин, гіперозид) мають порівняно високу гіпоазотемічну активність і незначно відрізняються у цьому плані від свого аглікона кверцетину, а за діуретичною активністю вони значно поступаються робініну [15].

Флавоноїдний глікозид цинарозид (7-О-β-D-глюкопіранозид-5,3',4'-тригідроксифлавонон)(рис. 1.1),отриманий та досліджений (у формі таблеток по 0,05г) узбецькими науковцями, за гіпоазотемічною активністю не поступається препарату порівняння Леспенефрилу [215].

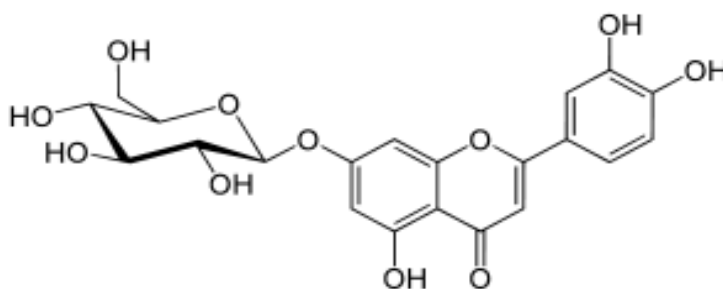


Рис. 1.1. Цинарозид (лютеоліну-7-О-β-D-глюкопіранозид)

Предметом сучасних фармакологічних досліджень стали нефропротекторні властивості флавоноїду кверцетину та різноманітних лікарських форм на його основі [18-21,38–40,109–111].

Серед вітчизняних фітосубстанцій, розроблених на основі флавоноїдного глікозиду гіперозиду (кверцетин-3-О-галактозиду) (рис. 1.2), слід відзначити ін'єкційну форму "Гіфларин", що виявляє гіпоазотемічну активність [115].

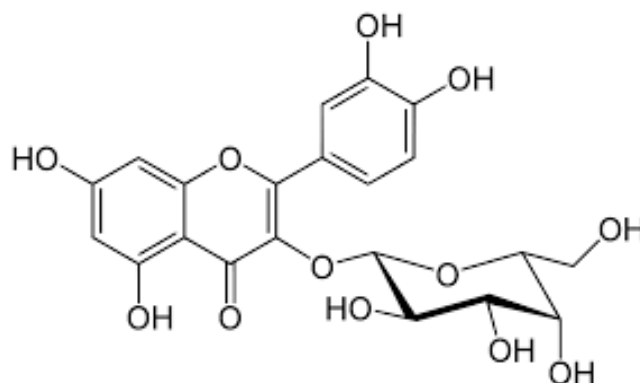


Рис. 1.2. Гіперозид (кверцетин-3-О-галактозид)

Для робінін- і гіперозидвмісних фітопрепаратів, розроблених вітчизняними науковцями (гліфазин, гіфларин, флавацетин, рідкий екстракт листя робінії, засоби на основі листя берези бородавчатої та листя смородини чорної) було доведено гіпоазотемічну активність [10, 26, 41, 51, 87, 115, 119], але промисловий випуск їх не проводиться [54,207].

Робінін, $C_{33}H_{40}O_{19}$, гідроксифлавоновий триглікозид(рис. 1.3), структурно є кемферол-3-О- β -D- робінобіозидо-7-О-L-рамнопіранозидом, або ж кемпферол-3-рамнозилгалактозидом-7-рамнозидом [216], який має діуретичні та гіпоазотемічні властивості [2, 13,44, 45, 96].

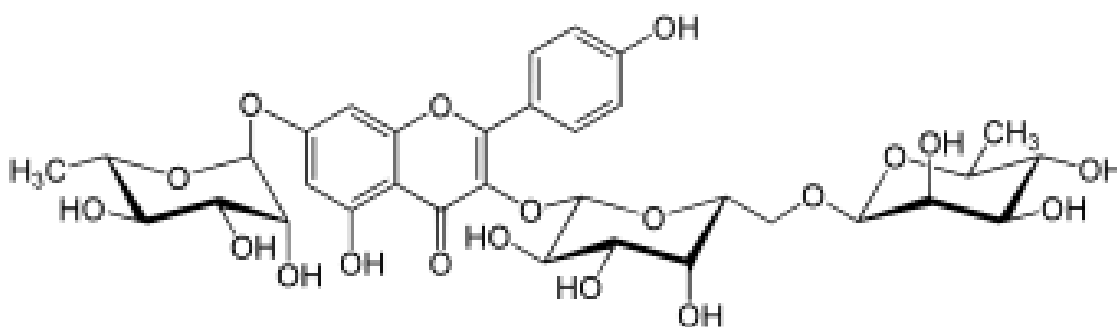


Рис. 1.3. Робінін (кемпферол-3-рамнозилгалактозид-7-рамнозид)

Робінін вперше згадано в літературі Zwenger і Dronke у 1861 році, які отримали його в індивідуальному стані з робінії звичайної (*Robinia pseudoacacia*). Нещодавні дослідження також підтвердили його наявність у даній рослині [26, 248]. Хоча спочатку робінін було описано як глюкозид

кверцетину, повну ж структуру встановлено згодом Zemplen та Bognar у 1941 році [248].

Надземна частина астрагалу серпоплодного (*A. falcatus* Lam.) містить до 2,2% робініну [3, 134], стебла–0,16-1.12% [4]; у стеблах і листках поряд з робініном (1-2,33%) виявлено також і 3-О-β-рутинозид кемпферолу. Вміст робініну у бутонах, квітках, плодах астрагалу серпоплодного становив 1.1%, 1,47-1,48%, 0,47%, відповідно [4, 92].

У надземних органах *Astragalus falcatus* ідентифіковано наступні флавоноїди: робінін, трифолін, кемпферолу 3-О-β-галактозид-3,4-ди-(О-α-L-рамнозид), кемпферолу 3-О-β-ксилозид, космосійн, астрагалін, нікотифлорин [6,134, 161, 228].

У результаті хроматографічного вивчення флавоноїдів культивованого на Полтавщині астрагалу серпоплідного (*Astragalus falcatus*) встановлено, що основним компонентом є робінін, вміст якого у сумі флавоноїдів складає близько 85%. Мінорні компоненти представлені глікозидами як кемпферолу, так і кверцетину. Запропоновано методидики якісного (тонкошарова хроматографія, Silica gel 60 F254, розчин порівняння робінін, кемпферол та кверцетин) і кількісного (диференційна спектрофотометрія, AlCl₃, 397 нм) визначення флавоноїдів. Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на робінін становив 3,58-4,2% [96].

Спосіб отримання тріозидів «Фларонін», які виявляють гіпоазотемічну дію, з квіток робінії звичайної, з використанням органічного розчинника, було запропоновано Н.П. Максютіною для застосування при ниркових захворюваннях (СКХ, хронічний пієлонефрит, туберкульоз нирок, полікістоз, хронічний гломерулонефрит) [73]. М.Д. Аланією та співавторами запатентовано спосіб отримання робініну з трави астрагалу серпоплодного методом екстракції 70-80° етиловим спиртом [5].

Робінін було виділено з таких родів родини *Fabaceae*: *Trifolium*, *Melilotus*, *Robinia*, *Oxytropis*, *Pueraria*, *Phaseolus*, *Vigna*, *Vicia*, *Canavalia*, *Genista*. Серед джерел робініну з-поміж інших ботанічних родин

ідентифіковані *Vinca major*, *V. minor*, *V. erecta*; *Nelumbo nucifera*; *Cheiranthus allionii*; *Alternanthera brasiliana*, деякі види роду *Cordia* [17, 134, 210]. Наявність робініну також встановлена у сировинних органах леспедеци двоколірної (*Lespedeza bicolor*) [25].

Поширення флавонового глікозиду робініну у рослинах досить обмежене, оскільки на даний час у світовій флорі він зустрічається у близько 43 видах з 5 ботанічних родин [210]. Родина *Fabaceae* вміщує найбільшу кількість робінінвмісних видів (36), у тому числі 18 з них з роду *Astragalus*, тому може вважатися найбільш перспективним рослинним таксоном для пошуку та подальшої фармацевтичної розробки нефропротекторних рослинних препаратів – джерел робініну. Серед дикорослих видів флори України, що містять робінін, виявлено 18 таксонів; *Lespedeza bicolor* Turcz. і *Astragalus falcatus* Lam. є інтродукованими на території нашої держави [17, 45, 134].

Серед вітчизняних видів роду *Astragalus* наявність робініну встановлена у *A. galegiformis* L. [2], *A. glycyphyllos* Pall., *A. utriger* Pall., *A. danicus* Retz., *A. tauricus* Pall., *A. monspessulanus* L. [43, 45].

Робінін, природна сполука флавоноїдної структури, заслуговує на особливу увагу, завдяки своїй гіпоазотемічній дії. Враховуючи вміст робініну, поширення його сировинних джерел на території України, їх природні запаси та / або можливості вирощування, серед перспективних джерел даного флавоноїду вважаємо представників наступних родів: *Astragalus*, *Lespedeza*, *Melilotus* та *Vinca*. Робінінвмісні види лікарських рослин з достатньою ресурсною базою або перспективні у плані інтродукції варто піддавати скринінговому дослідженню ренальних механізмів дії, з метою розробки лікарських засобів рослинного походження нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності [210].

Ізоорієнтин (також відомий як гомоорієнтин, лютеолін-6-С-глюкозид, леспекапітозид) структурно є флавоном (рис. 1.4). Речовина вперше була

виділена з *Polygonum orientale*. Описано селективний синтез ізоорієнтину з комерційно доступного флороацетофенону [180].

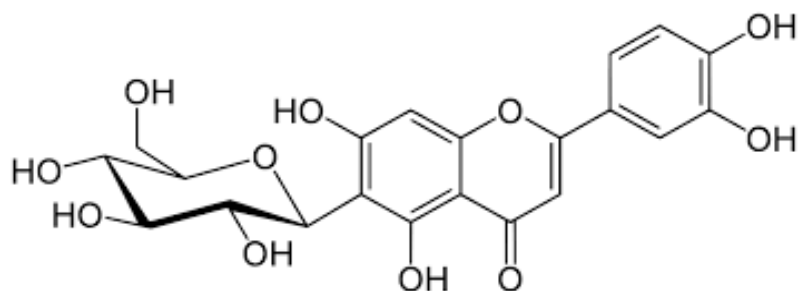


Рис. 1.4. Ізоорієнтин (гомоорієнтин, лютеолін-6-С-глюкозид)

При введенні понад 7 діб (добова доза від 0,005 до 0,01 г, що вводиться перорально, внутрішньовенно або внутрішньом'язово) леспекапітозид викликає зниження рівня сечовини при екстраренальній азотемії. При гіперазотемії ниркового походження (підгострий нефрит, хронічний нефрит, який не досяг термінальної стадії) такі результати лікування є сприятливими [146].

Методом фракціонування, спрямованого на біоаналіз, з *Gentiana olivieri* виділено ізоорієнтин як основний та потужний гіпоглікемічний компонент у щурів на моделі діабету, викликаного стрептозотоцином, а також як антигіперліпідемічний [235].

Встановлено роль ізоорієнтину у цитозахисті від окислювального пошкодження та його активність, пов'язана з перехопленням вільних радикалів [192]. Продемонстровано, що ізоорієнтин володіє значною антиноцицептивною (протибольовою) та протизапальною активністю у щурів та мишей [182].

Серед важливих лікарських рослин, що застосовуються у світовій медичній практиці, наявність ізоорієнтину встановлена у *Crataegus monogyna*, *Crataegus pentagyna*, *Cymbopogon citratus*, *Fagopyrum esculentum*, *Hypericum perforatum*, *Lespedeza bicolor*, *Lespedeza capitata*, *Lythrum salicaria*, *Passiflora incarnata*, *Theobroma cacao*, *Viola tricolor* [209].

Цинарозид (3',4',5,7-тетрагідроксифлавоон 7-О-β-D-глюкопіранозид, або лютеоліну-7-О-β-D-глюкопіранозид) є цінним природним активним чинником і заслуговує на особливу увагу, завдяки важливим фармакологічним ефектам, зокрема гіпоазотемічній активності [215].

Серед лікарських рослин, які широко застосовуються, цинарозид наявний у *Galium verum*, *Melissa officinalis*, *Tanacetum vulgare* [162, 204].

Зважаючи на вміст цинарозида, поширення сировинних джерел даної сполуки в межах України та їх природні запаси, можливості вирощування, серед перспективних джерел цинарозида слід відзначити види лікарських рослин: *Agrimonia eupatoria*, *Melissa officinalis*, *Cynara scolymus*, *Tanacetum vulgare*, види роду *Salix* [204].

Цинарозид, отриманий з *Ferula varia*, виявляв гіпоазотемічну активність на рівні відомого лікарського препарату Леспенефрил; узбецькими науковцями розроблено технологію отримання лікарської форми цинарозида в таблетках по 0,05 г [215].

Цинарозид захищає клітини Н9с2 кардіоміобластів від H₂O₂-індукованого апоптозу, зменшуючи генерацію реактивних форм кисню та інгібуючи активацію каспази [257]. Сполука виявляла протиішемічну дію в ізольованих серцях щурів, що може бути пов'язано з її антиоксидантними властивостями [232, 263].

Експерименти *in vitro* показали, що цинарозид поглинає вільні радикали і зменшує окислення ліпопротеїдів низької щільності [139]. Сполука в індивідуальному стані діє на грамнегативні бактерії, пригнічує ріст *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*, проявляє антимуtagenну активність [263].

Серед видів ЛРС та рослинних препаратів, які входять до Європейської фармакопеї і ДФУ 2.0. [27, 157], цинарозид визначають при ідентифікації *Arnicae flos*, *Cynarae folium*, *Arnicae tinctura*, *Cynarae folii extractum siccum* [204].

Авторка дослідження [183] пропонує використовувати цинарозид як

стандартний зразок, з метою стандартизації квіток *Tanacetum vulgare* та трави *Agrimonia eupatoria*.

Серед фітопрепаратів, розроблених на основі гіперозиду, є Гіфларин, гіпоазотемічний засіб, отриманий з *Hyperici herba*[115]. Гіфларин (*Solutio Hyflarini pro injectionibus*, діюча речовина – кверцетин-галактозид, або гіперозид) – гіпоазотемічний та сечогінний препарат, запропонований для лікування ниркової недостатності. Гіфларин також має протизапальну, знеболюючу та капіляррозміцнюючу дію. Лікарські форми гіфларину: 1% розчин для ін'єкцій (2,0 та 5,0 мл) і 5% розчин для перорального застосування [14, 37, 114].

У індивідуальному стані гіперозид виявляє антиалергічні та протикашлеві властивості, поліпшує діурез, знижує артеріальний тиск та рівень холестерину, чинить протипухлинну дію. Він також широко застосовується в медицині для зняття болю та захисту серцево- та мозково-судинної функцій [188]. Показано, що дана сполука чинить протизапальну дію за рахунок пригнічення вироблення TNF- α , IL-6 та оксиду азоту в ліпополісахарид-індукованих перитонеальних макрофагах мишей [175].

Як перехоплювач реактивних форм кисню, гіперозид виконує безліч видів біологічних функцій, зокрема забезпечує запобігання окислення вітаміну Е, індукованого вільними радикалами, у ліпопротеїди низької щільності людини; знижує загальний холестерин; підвищує активність супероксиддисмутази та ліпопротеїдів високої щільності; захищає від апоптозу, індукованого ішемією та реперфузійними ушкодженнями, у кардіоміоцитах щурів; запобігає травмам слизової шлунка, індукованим етанолом, у мишей. Сполука ефективно запобігала апоптозу PC12 клітин, на що вказує зниження рівня позаклітинної лактатдегідрогенази [190]. Гіперозид виявляє потужну антиоксидантну дію щодо DPPH радикалів, значення IC50 становить 1,31 мкг / мл [227].

Сполука також відіграє важливу роль у фармацевтичному аналізі. Гіперозидвизначають при ідентифікації [27, 157] наступних видів ЛРС:

Agrimoniae herba, Fagopyri herba, Sambuci flos, Equiseti herba, Gentianae radix, Crataegi fructus, Tiliae flos, Lythri herba, Malvae folium, Verbasci flos, Passiflorae herba, Hyperici herba, Hypericum perforatum ad praeparationes homoeopathicas, Anisi stellati fructus, Violae herba cum flore [196]

Гіперозид також виявляють при аналізі таких фармакопейних ЛЗРП: *Gentianae tincture, Matricariae extractum fluidum, Melissa folii extractum siccum, Passiflorae herbae extractum siccum, Menthae piperitae folii extractum siccum, Hyperici herbae extractum siccum quantificatum*. Наступні види ЛРС та рослинні засоби стандартизуються [27, 157] за вмістом флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид: *Betulae folium* (не менше 1,5 %), *Calendulae flos* (0,4%), *Solidaginis herba* (2,5%), *Solidaginis virgaureae herba* (0,5%), *Crataegi folium cum flore* (1,5%), *Polygoni avicularis herba* (0,30%), *Leonuri cardiaca herba* (0,2%), *Carthami flos* (1,0%) [196].

З огляду на вміст гіперозиду, поширення видів на території України, можливості вирощування у промислових масштабах, відповідно до вимог GACP, серед найбільш перспективних джерел гіперозиду є наступні роди: *Crataegus, Hypericum, Polygonum, Betula, Solidago* [196].

Дані щодо нефропротекторної активності індивідуальних сполук класу катехінів на різних моделях експериментальних нефропатій нами детально висвітлено у публікації [199].

Дослідженнями [122, 127, 140] встановлена нефропротекторна роль деяких рослинних сполук класу гідроксикоричних кислот.

n-Кумарова кислота чинить антигіперглікемічну та антиоксидантну дію у щурів на моделі експериментального стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету. Пероральне введення *n*-кумарової кислоти (100 мг/кг маси тіла) знижувало рівень глюкози в крові та нормалізувало рівень інсуліну, ферментативну та неферментативну антиоксидантну активність у експериментальних тварин. Гістопатологічне дослідження підшлункової залози, печінки та нирок виявило протекторну здатність *n*-кумарової кислоти на моделі цукрового діабету, спричиненого введенням стрептозоцину [127].

Ферулова кислота вивчалась [140] як можливий агент для пом'якшення нефротоксичності, спричиненої цисплатином (модель гострого ушкодження нирок); встановлено, що дана сполука здатна зменшувати загибель клітин та відкладання колагену, а також підвищувати спроможність клітин до регенерації. На думку дослідників [140], ферулова кислота є перспективним нефропротекторним засобом, що заслуговує подальшого доклінічного дослідження.

Розмаринова кислота суттєво пригнічувала гіпертрофію клубочків та їх кількісні втрати, гломерулосклероз, перекисне окислення ліпідів, а також знижувала підвищений рівень сечовини та креатиніну в сироватці крові щурів на моделі діабетичної нефропатії, спричиненої алоксаном. Уведення розмаринової кислоти (200 мг/кг/доба) підтримувало рівень креатиніну у сироватці крові піддослідних тварини на тому ж рівні, що і у контрольної групи [122].

ХНН як наслідок оксидативного стресу зокрема пов'язана з низькою концентрацією селену і глутатіону у сироватці крові, зниженням активності тромбоцитарної глутатіонпероксидази (ГПО) [145, 181, 262]. Дефіцит селену викликає нирковий окислювальний стрес та ураження нирок за участю TGF- β [242].

Глутатіон (GSH) бере участь у багатьох клітинних процесах, включно з детоксикацією електрофільних проміжних продуктів обміну ксенобіотиків та активних форм кисню [144]. Проксимальні каналці нефронів людини вважаються основним джерелом для активності ГПО (GPX3 mRNA) у плазмі [131].

Глутатіон бере участь у багатьох різноманітних хімічних реакціях і генерує великий набір тіоефірів, S кон'югатів глутатіону, які часто детоксифікуються та виводяться. Функціонування глутатіону веде до послідовної модифікації, виведення з жовчних проток і остаточної екскреції нирками з меркаптановими кон'югатами [239]. Флавоноїди розглядаються як перспективні детоксиканти, оскільки завдяки їхній прооксидантній

активності активують ферменти детоксикації через елемент антиоксидантної/ електрофільної відповіді (ARE/ErRE) у домені індуктора [135]. Кверцетин та інші флавоноїди чинять антиоксидантну активність та здатні до перехоплення реактивних форм кисню і вільних радикалів; ці поліфеноли індуюють детоксикаційні ферменти фази II, включно зGST- (глутатіонтрансферазою) і CYP (цитохромом P450) - опосередкованими каскадами детоксикації, захищаючи клітини від оксидативного стресу і електрофільних токсикантів [135, 150].

Селен відіграє важливу роль у клітинному антиоксидантному захисті в якості необхідного компонента селенопротеїнів людини, однією з важливих функцій яких є детоксикація сполук, зокрема токсичних важких металів, шкідливий вплив яких в організмі селен здатен зменшувати [130].

Глутатіонпероксидаза є найбільш відомим селенопротеїном, для якого встановлено захисний ефект при цисплатин-індукованій нефротоксичності. У лабораторних тварин доведено захисну дію парентерального введення органічного та неорганічного селену на цій же моделі експериментальної нефропатії [155]. Глутатіонпероксидаза сприяє запобіганню утворення вільних радикалів і знижує ризик окисного пошкодження тканин, у тому числі нирок та їх судинних компонентів [243, 262]. Селеніт натрію на моделі токсичного ураження клітин нирок атлантичного плямистого дельфіна сулемою забезпечував нефропротекторний ефект, запобігав проліферації та загибелі клітин [67, 252].

При нирковій дисфункції концентрації цинку, міді, мангану, селену та деяких інших мікроелементів у діалізних пацієнтів суттєво зменшуються, наявний суттєвий дефіцит та зниження рівня регуляції Cu-Zn супероксиддисмутази та Mn супероксиддисмутази [67, 181, 205]; недостатність мангану, який входить до складу ферменту аргінази, що каталізує розщеплення аргініну з утворенням сечовини, корелює зі зниженням кліренсу креатиніну [165].

Оскільки фітосубстанції на основі видів роду *Astragalus* рекомендовані для поповнення аліментарного дефіциту селену в організмі [50], у пошуку нових перспективних видів ЛРС нефропротекторної дії особливе зацікавлення викликають вітчизняні види роду Астрагал, відомі накопичувачі селену.

Дослідження вмісту селену в лікарських рослинах, як його природних джерел, є важливим завданням. Перспективні рослинні джерела селену флори України є важливими об'єктами для вивчення їх можливої нефропротекторної дії методами експериментальної фармакології, оскільки вміст даного мікроелемента у них може зумовлювати прояв даного виду активності [67, 205].

На даний час декілька рослинних засобів успішно застосовують у комплексній терапії діабетичної нефропатії, зокрема корені астрагалу монгольського [264], листя гінкго [265]. Серед екстрактів офіційних рослин, що мають ресурсну базу або культивування яких налагоджено в Україні, на моделі діабетичної нефропатії позитивні результати встановлено для *Nigella sativa*, *Trigonella foenum-graecum*, *Rosmarinus officinalis*, *Ginkgo biloba*, *Linum usitatissimum*, *Silybum marianum* [126], *Galega officinalis*, *Glycyrrhiza glabra*, *Glycine max*, *Silybum marianum*, приймочок *Zea mays*, сумарної флавоноїдної фракції квіток та листя *Fagopyrum esculentum*. Серед індивідуальних рослинних сполук, розмаринова кислота, берберин, реїн та резвератрол виявили нефропротекторну активність при експериментальній діабетичній нефропатії [200, 201, 213].

Аналіз наукових джерел показує, що нефропротекторні властивості встановлено для наступних лікарських форм на основі офіційної ЛРС наявною в Україні сировинною базою: жирної олії льону (*Linum usitatissimum*), відвару стовпчиків з приймочками кукурудзи (*Zea mays*), відвару мучниці (*Arctostaphylos uva-ursi*), екстрактів: листя гінкго дволопатевого (*Ginkgo biloba*), плодів чорниці (*Vaccinium myrtillis*), плодів

розторопші (*Silybum marianum*), трави золотарника звичайного (*Solidago virgaurea*), листя берези бородавчастої (*Betula verrucosa*) [55].

Отож, наведені наукові дані щодо нефропротекторних властивостей офіцинальних рослинних субстанцій, підтверджених у клінічних дослідженнях та на моделях експериментальних нефропатій можуть бути використані при опрацюванні складу перспективних лікарських засобів рослинного походження нефропротекторної дії, розроблених на основі офіцинальних видів лікарських рослин, що мають в Україні сировинну базу [55].

Враховуючи сучасні наукові дані щодо гіпоазотемічної активності індивідуальних сполук рослинного походження, перспективним напрямом вважаємо скринінгові фармакологічні дослідження даної специфічної активності рослинної сировини, що містить активні маркери флавоноїдної структури, зокрема робінін, гіперозид, цинарозид, ізоорієнтин.

1.4. Аналіз методів дослідження гіпоазотемічної активності рослинних засобів

Останніми роками значна увага науковців зосереджена на пошуку нових лікарських засобів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності, оскільки важливо забезпечити уповільнення прогресування хронічних захворювань нирок до термінальної стадії ХНН.

При дослідженні гіпоазотемічної дії біологічно активних сполук природного походження найчастіше використовуються наступні моделі токсичного пошкодження нирок: сулемова, міоглобінурична (гліцеролова), гентаміцинова, етиленгліколева, а також ураження нирок калію хроматом, оскільки дані моделі позитивно відрізняються терміном проведенням спостережень, вартістю та доступністю нефротоксину, методологією виконання [60].

Як референс-препарати здебільшого використовують лікарські засоби на основі видів роду Леспедеца, а також засоби Хофітол, Канефрон. Важливо також зазначити виражені антигіпоксанти властивості референт-препаратів леспефлану та канефрону на основних моделях гіпоксії[60].

Вибір оптимальних стандартизованих методик для експериментального ураження нирок (моделі ниркової недостатності), з метою оцінки гіпоазотемічної дії та її можливих механізмів, є важливим завданням вітчизняної науки у плані пошуку нових фітозасобів зазначеної активності [60].

Гостру ниркову недостатність [24] на щурах моделюють одноразовим внутрішньоочеревинним введенням сулеми у дозі 2 мг/кг. Досліджуваний препарат Леспефлан (2 мл/кг) вводять 1 раз на добу внутрішньо через зонд впродовж 10 діб. На 4 добу після введення сулеми у контрольних тварин вміст сечовини крові зростає у понад вісім разів.

Серед основних завдань нашої роботи є отримання та вивчення на моделі сулемової нефропатії гіпоазотемічної активності фітосубстанцій з лікарської рослинної сировини (ЛРС) з достатньою ресурсною базою в Україні або перспективних у плані інтродукції, які могли б стати замінниками Леспефлану, який нами використано як референс-препарат.

Хронічну ниркову недостатність [12] відтворюють на щурах-самцях шляхом підшкірного введення 0,1% розчину сулеми в дозі 4 мг/кг тричі протягом 3 діб. Леспенефрил (1,2 мл/кг) вводять внутрішньошлунково. Досліджувані препарати вводять 1 раз на добу, починаючи після останнього введення сулеми. Концентрацію сечовини та креатиніну в крові й сечі визначають на 14 та 21 добу дослідження [38].

Сулемовий нефрит [97] у щурів викликають одноразовим внутрішньоочеревинним введенням сулеми в дозі 0,5 мг/кг з визначенням у крові на 6 добу біохімічних показників.

Модель міоглобінуричної (гліцеролової) гострої ниркової недостатності ґрунтується на внутрішньом'язевому введенні щурам 8 мг/кг 50% розчину

гліцеролу [33, 75, 147]. Гіперазотемія сягає максимуму на 2 добу, значно зростає креатинін крові (понад 600 мкмоль/л) [78].

Етиленгліколеву гостру ниркову недостатність викликають підшкірним введенням щурам етиленгліколю у дозі 6 мл/кг [77, 116]. Гіперкреатинемія зростає в середньому до 200 мкмоль/л, в окремих тварин може сягати 589 мкмоль/л [105].

Для моделювання ниркової недостатності за допомогою калію хромату його вводять підшкірно в дозі 0,7 мл/кг у вигляді 2,5 % розчину, виготовленому на ізотонічному розчині натрію хлориду. Рівень креатиніну крові зростає у 3,7 разу (до 220 мкмоль/л) порівняно з інтактними тваринами. Визначення рівня креатиніну та сечовини у сироватці крові проводять на 8 добу після введення нефротоксину [22, 40].

Для відтворення гентаміцинової моделі нефропатії, даний антибіотик вводять підшкірно, внутрішньоочеревинно або внутрішньом'язево в дозах 40-100 мг/кг, 1 або 2 рази на добу, впродовж 4 – 10 днів [172, 223, 240]. На 6-7 добу введення гентаміцину спостерігається гіперазотемія [106]. Характерна особливість гентаміцинової моделі – можливе зменшення концентрації калію в крові [240].

Цисплатинову експериментальну модель відтворюють одноразовим внутрішньоочеревинним введенням щурам даного протипухлинного засобу в дозах 5 мг/кг [219] або 7 мг/кг [176]. Гіперазотемія розвивається на 4-5 добу після введення цисплатину; вміст калію у плазмі крові не змінюється.

При використанні моделі ішемії/реперфузії нирок у поєднанні з введенням ліпополісахарид *Escherichia coli* зростає вміст сечовини та креатиніну крові [261].

У поодиноких дослідженнях з визначення гіпоазотемічної активності рослинних екстрактів та їх індивідуальних компонентів як нефротоксини використовували нирковий гомогенат [146], циклоспорин [129], нафталін [224], заліза нітрilotриацетат [151], калію бромат [174], абамектин [121], кадмію хлорид [220].

1.5. Види роду Леспедеца як основа для пошуку перспективних нефропротекторних рослинних препаратів

Детальне вивчення хімічної природи діючих речовин та особливостей їх фармакологічної активності офіційальних видів роду, для яких клінічно доведено терапевтичну ефективність, може слугувати інструментом у пошуку нових перспективних рослинних джерел з достатньою сировинною базою в Україні, враховуючи базові положення філогенетичної теорії [62].

Для лікування захворювань нирок у якості гіпоазотемічних і натрійуретичних засобів запропоновані настоянка з трави північноамериканського виду леспедеци головчастої – *Lespedeza capitata* (Леспенефрил) [260] і водно-спиртовий розчин очищеного екстракту під назвою Леспефлан з трави леспедеци двоколькової – *Lespedeza bicolor* Turcz., поширеної в основному на Далекому Сході, що чинить гіпоазотемічну, діуретичну та протизапальну дію [8, 52]. Основні БАВ настоянки та екстракту охарактеризовані як глікозиди лютеоліну (орієнтін, гомоорієнтін та ін.) [91].

Леспенефрил – один з перших нефротропних фітопрепаратів з доведеною ефективністю. Найбільш ефективно препарат діє на ранніх стадіях ХНН, що підтверджує доцільність його профілактичного застосування не лише як гіпоазотемічного засобу у переддіалізній стадії, але і з метою профілактики прогресування ранніх стадій захворювання, при зниженні швидкості клубочкової фільтрації до 60-30 мл/хв [118].

Леспенефрил застосовують при гострих і хронічних гломерулонефритах, що супроводжуються гіперазотемією. Леспенефрил може застосовуватись при хронічному гломерулонефриті з помірним порушенням клубочкової фільтрації і ретенційною азотемією, а також при позанирковій азотемії [118].

Препарат імпортного виробництва Леспенефрил на основі леспедеци головчатої (*Lespedeza capitata*), присутній в Україні до 2010 року, не виготовляється виробником [54].

Надземні органи *L. capitata* містять флавоноїди (близько 0.1% у перерахунку на суху речовину) та дубильні речовини, останніх особливо багато у молодих листках [141]. У траві леспедеци головчастої ідентифіковано флавонові глікозиди (гомоорієнтин, або ізоорієнтин, сапонаретин, вітексин, орієнтин); аглікони флавонолів (кверцетин, кемпферол); флавонолові глікозиди (ізорамнетин-3-рутинозид, рутин, кемпферол-3-рамноглюкозид), ди-С-глікозилфлавоноли (корлінозид, ізокорлінозид, ізошафтозид, неокорлінозид, неошафтозид, шафтозид); у листі –проціанідини В-1, В-3, В-6, С-2 [90, 189, 249].

За хімічним складом до леспедеци головчастої близькі *Lespedeza bicolor* та *L. hedysaroides* [49].

Настойка і сума флавоноїдів *Lespedeza bicolor* Turcz. виявляють діуретичну, гіпоазотемічну, антистресову і протипухлинну дію, зменшують вміст холестерину в крові [90].

Флавоноїди леспедеци двоколірної та засіб на її основі Леспефлан усувають порушення білково-енергетичного обміну на різних моделях гострої ниркової недостатності. Посилення білкового синтезу підтверджується зниженням активності аргінази й утворення сечовини у печінці [25,116].

Комплекс біологічно активних речовин, що входять до складу препарату Леспефрил, сприяє збільшенню ниркової фільтрації, зменшує азотемію, збільшує діурез, посилює виведення натрію і в меншій мірі калію. Леспефрил застосовують дорослим як гіпоазотемічний і діуретичний засіб для симптоматичної терапії при хронічній нирковій недостатності, гострих та хронічних (помірного ступеня) нефритах, що супроводжуються гіперазотемією, а також при позанирковій азотемії [90].

Гіпоазотемічну і сечогінну дію засобу Леспефлан було досліджено [25] при лікуванні гострої ниркової недостатності, викликаній розчином сулеми. Леспефлан виявив здатність знижувати рівень сечовини та креатиніну у крові та активувати їх виведення нирками, підвищувати діурез, кліренс натрію й клубочкову фільтрацію. Механізм гіпоазотемічної дії цього засобу пов'язаний з пригніченням активності печінкової аргінази, оскільки цей фермент відіграє ключову роль у детоксикації продуктів обміну азоту – сечовини та креатиніну.

Основними діючими речовинами *Lespedeza bicolor* є флавоноїди (0,25-0,7%): аглікони флавонолів (кверцетин, кемпферол); флавонолові глікозиди (трифолін, ізокверцитрин, леспедин, та їх похідні); флавонові глікозиди орієнтин, гомоорієнтин, вітексин, ізовітексин [8, 16, 52, 90].

Важливо зазначити, що сировинні органи леспедеци двоколірної містять зокрема флавоноїдні сполуки гіперозид, леспедин, робінін та гомоорієнтин, які в індивідуальному стані чинять гіпоазотемічну дію.

Хоча леспедеца двоколірна (*Lespedeza bicolor*) дико зростає на Далекому Сході [152], нами було продемонстровано можливість її успішної інтродукції в умовах Західної України [202].

Враховуючи ресурсні особливості представників роду *Lespedeza* в Україні та аналіз результатів проведеного вивчення фітохімічного складу, зокрема активних маркерів специфічної активності (гіпоазотемічної) [62], актуальним завданням вважається дослідження видів даного роду, що вирощуються у ботанічних садах, на предмет їх інтродукційного потенціалу, а також інших перспективних сировинних джерел, які містять відповідні активні маркери, з метою отримання нових фітопрепаратів та індивідуальних біологічно активних речовин (БАР) рослинного походження із заданими фармакологічними характеристиками.

1.6. Види роду Астрагал як перспективні засоби для лікування нефрологічних розладів

Дослідження вітчизняних та інтродукованих лікарських рослин є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки.

Грунтуючись на хемотаксономічній концепції пошуку нових перспективних видів ЛРС, особливе зацікавлення викликають робінінвмісні види лікарських рослин, зокрема вітчизняні види роду *Astragalus*, деякі з яких у сучасній світовій медичній практиці вважаються ефективними лікарськими засобами [9,43, 44].

Рід *Astragalus* L. є найчисельнішим за кількістю видів родини бобових (*Fabaceae*) і одним з найбільших серед родів судинних рослин на планеті, адже охоплює близько 3000 видів трав'янистих рослин та кущів, здебільшого багаторічних [132, 233]. 133 видів роду зростає у Європі [228], в Україні – 50 [218].

Головний центр видового різноманіття роду охоплює території від Північної Африки до Близького Сходу, з поширенням від Середземноморського регіону до району, що оточує Перську затоку в Іраку, Ірані та на Аравійському півострові. Другий центр видового біорізноманіття роду *Astragalus* L. охоплює область на схід від Каспійського моря від Афганістану та Пакистану до Центральної Азії, Китаю й Індії [132].

Необхідно відзначити, що Червона книга України (1996 р.) містила 8 представників роду *Astragalus* L., актуальне ж видання [31] – 18.

Рослини роду Астрагал внесено до багатьох фармакопей й інтенсивно вивчаються науковцями України та інших держав світу [195].

Види даного роду виявляють широкий спектр фармакологічних ефектів, серед основних – сечогінні, протизапальні, бактерицидні, гіпотензивні, седативні [187, 194], нефропротекторні, противірусні, імуномодельючі, антигіпоксанти, нейропротекторні [258], радіопротекторні [138].

Щонайменше 30 видів даного роду застосовуються у науковій та народній медицині держав світу [194, 231]. Їх широко застосовують у медичній практиці як діуретичні, протимікробні, серцево-судинні, жовчогінні та противірусні засоби [195].

Сучасний стан вивчення та перспективи використання у народній медицині та різних сферах людської діяльності видів роду *Astragalus* з достатнім ресурсним потенціалом, які зростають у Центральній та Східній Європі, наведено у нашій публікації [211].

Значна кількість видів роду, які використовуються з лікувальною метою, багаті флавоноїдами та сапонінами [138, 161, 171, 178, 179, 187, 231, 221, 258]. Різноманітні типи полісахаридів відіграють важливу роль у фармакологічних ефектах рослин роду Астрагал [229].

Певні види роду *Astragalus* є концентраторами таких мікроелементів, як Se, Mo, V, Co, Li, Ba, Sr, Ni, що впливають на синтез БАР різних груп. *A. falcatus* та *A. dasyanthus* містять Mn, Zn, Cu у терапевтичних дозах і є концентраторами Fe, Mo, Ba, Se. Дані два офіційальні види характеризуються накопиченням сапонінів, флавоноїдів, тритерпеноїдів, кумаринів, алкалоїдів, які мають високу антиоксидантну активність [9].

ДФУ [27, 28] містить монографію на корені астрагалу монгольського (*Astragali mongholici radix*), що зростає у Східному Сибіру, на Далекому Сході, Китаї, Кореї та Японії, широко використовуються в китайській, корейській і тибетській медицині як сечогінний і шлунково-кишковий засіб, а також при хворобах селезінки, при порушеннях обміну речовин, як жовчогінний та серцево-судинний, тонізуючий і загальнозміцнюючий засіб. Корені цього виду рекомендовані до використання в деяких країнах Західної Європи як імуностимулюючий і діуретичний засіб [90,255].

Використання *Astragali mongholici radix*, що описане в народній медицині, охоплює лікування нефриту, хронічного бронхіту, післяпологового нетримання сечі,прокази та цереброваскулярних травм [255].

Офіційальний вид – астрагал шерстистоквітковий (*Astragalus dasyanthus*) – занесено до Червоної книги України, 1997 IUCN Red List of Threatened Plants (Європейського червоного списку та Червоного списку МСОП) [31, 193, 251].

Астрагал шерстистоквітковий трапляється на степових схилах у Лісостепу і дуже рідко – на півночі Степу [23]. Вид введено в культуру (виросшують на плантаціях як лікарську рослину), культивують в Криворізькому та Кременецькому ботанічних садах [31].

Препарати астрагалу шерстистоквіткового виявляють седативну, гіпотензивну та кардіотонічну дію; підвищують діурез, поліпшують функціональну діяльність печінки, позитивно впливають на процес зсідання крові [23].

Настій *Herba Astragali dasyanthi* використовують в офіційальній медицині як діуретичний, гіпотензивний та седативний засіб [193]. У науковій медицині настій астрагалу шерстистоквіткового призначають при гіпертонії I-II ступенів, хронічній коронарній недостатності (стенокардії), серцево-судинній недостатності, хронічному і гострому гломерулонефритах. Особливо ефективним є застосування на початкових стадіях цих захворювань, при схильності до набряків і переважанні збудливих процесів у нервовій системі [23].

Листя та квітки астрагалу серпоплодного – *Folia et flores Astragali falcati* – рекомендовано для промислового виробництва індивідуального флавонового глікозиду флароніну (робініну), який є кемферол-3-O-D-робінобіозил-7-O-L-рамнопіранозидом і проявляє гіпоазотемічну активність. Фларонін покращує екскреторну функцію нирок, знижує рівень залишкового азоту, сечовини й креатиніну в крові [3, 173]. З 1998 року препарат успішно застосовується для лікування хронічної ниркової недостатності, викликаній пієлонефритом та іншими нирковими захворюваннями [173].

Беручи до уваги, що 18 видів роду *Astragalus* L., включно з офіційним таксоном астрагалом шерстистоквітковим, мають обмежені природні запаси і внесені до Червоної книги України, важливим напрямом дослідження є пошук можливих замінників офіційних видів ЛРС серед ботанічно близьких видів з достатньою сировинною базою, з метою розробки на їх основі лікарських засобів рослинного походження.

Високий продуктивний потенціал, багатий хімічний склад, наявність нефропротекторної та антимутагенної активності зумовлюють доцільність аналізу астрагалу козлятникподібного (*Astragalus galegiformis*) як перспективного джерела для створення дієтично-профілактичних продуктів та ефективних лікарських засобів [64]. Цікавими є результати дослідження, проведеного турецькими науковцями [164], які вивчали мутагенні й антимутагенні властивості екстрактів шести видів роду Астрагал флори Туреччини на штамх *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537 і *Escherichia coli* WP2uvrA; екстракти усіх видів не виявляли генотоксичності, натомість антимутагенна активність екстракту *Astragalus galegiformis* щодо 9-аміноакридину становила 54.39%, що відкриває значні перспективи його застосування як фітосубстанції та консерванту.

Широкий спектр фармакологічної дії, обумовлений вмістом різних класів БАР, значний досвід застосування у народній медицині України й багатьох інших держав [9, 44], а також достатня сировинна база викликають особливе зацікавлення до одного з видів даного роду, а саме астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos*) й лікарських засобів на його основі.

Рослину за її дією відносять до жовчо- і сечогінних, відхаркувальних, заспокійливих, судинорозширювальних засобів [48, 76].

За фармакологічними властивостями астрагал солодколистий (АС) майже не відрізняється від астрагалу шерстистоквіткового. Рослина неофіційна. У народній вітчизняній і зарубіжній медицині астрагал солодколистий рекомендується зокрема при захворюваннях нирок та сечових шляхів, при каменях нирок [23].

Деякими дослідниками [9,70,142] *Astragalus glycyphyllos* розглядається як фармакологічний аналог астрагалу шерстистоквіткового, перспективне джерело вітамінно-мінерального комплексу і біологічно активних сполук з максимально вираженою антиоксидантною активністю.

Для тетрациклічного сапоніну 17(R),20(R)-3 β ,6 α ,16 β -тригідроксициклоартаніл-23-карбонова кислота 16-лактон 3-O- β -D-глюкопіранозиду з флавоноїдом камелліазидом А, виділених з надземних органів *Astragalus glycyphyllos*, встановлено *in vitro* нейропротекторну і антиоксидантну активність [236]. Болгарськими вченими також досліджено склад сапонінів у культурах *A. glycyphyllos*, вирощених *in vitro*, та виявлено їх антипроліферативний вплив [237], який особливо був вираженим на клітинах раку сечового міхура.

У зарубіжній науковій медицині АС використовується як сечогінний засіб. У народній вітчизняній і зарубіжній медицині рекомендується зокрема при захворюваннях нирок та сечових шляхів, при каменях нирок [23, 92]. Трава у формі відвару застосовується в Україні як сечогінний засіб. Відвар його надземної частини застосовується в Карпатах як сечогінний засіб при сечокам'яній хворобі та інших захворюваннях нирок та сечовивідних шляхів [9, 48, 92]. Настояї трави АС застосовують при гіпертонічній хворобі, хронічній серцево-судинній недостатності та при захворюваннях нирок [48].

Листя та насіння *A.glycyphyllos* використовуються на Кавказі при сечокам'яній хворобі, олігурії. Настій рослини демонструє діуретичні властивості; його водні спиртові екстракти антибактеріальну активність [9, 92].

Наявність робініну та інших фенольних сполук у сировинних органах АС зумовило доцільність детальних фармакологічних досліджень, з метою оптимізації й розширення спектру використання астрагалу солодколистого, зокрема і як аналога офіційних видів даного роду [61, 68].

Оскільки майже всі рослини, які використовуються у сучасній науковій медицині перейшли з народної, увага до даних щодо етнофармакологічних

досліджень часто має істотний вплив на ефективність пошуку перспективних рослинних препаратів. Вивчення досвіду народної медицини може бути одним із провідних методів пошуку нових офіцинальних видів ЛРС. Представлені нами наукові дані [194] щодо етнофармакологічних характеристик видів роду *Astragalus* є корисними для оптимізації застосування офіцинальних астрагалів у сучасній світовій фітотерапевтичній практиці, а також для фармацевтичної розробки нових фітозасобів на основі найбільш перспективних рослинних субстанцій, отриманих зі сировинних органів видів даного роду.

Враховуючи ресурсні особливості в Україні представників роду Астрагал, важливими завданнями вважаємо вивчення фітохімічного складу та специфічної фармакологічної активності, зокрема гіпоазотемічної, неофіцинальних видів роду з достатньою ресурсною базою, а також можливостей промислового культивування найбільш перспективних представників, включно з інтродукованими видами, з метою подальшого отримання нових фітопрепаратів та індивідуальних БАР природнього походження [61, 195, 208].

Отже, проведено вивчення фармацевтичного ринку України та складу ЛЗРП для лікування захворювань сечовидільної системи фармакотерапевтичної групи G04B «Засоби, що застосовуються в урології» класифікаційної системи АТХ; 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.

Детально вивчено хімічний склад та особливості фармакологічної активності офіційних видів роду Леспедеца, для яких клінічно доведено значну гіпоазотемічну активність, з метою пошуку серед об'єктів вітчизняної флори, на основі базових положень філогенетичної теорії, перспективних рослинних аналогів з достатньою сировинною базою.

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.

Виконано аналіз методів дослідження гіпоазотемічної активності рослинних засобів і використання референс-препаратів на різних моделях токсичного пошкодження нирок.

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 (*n* - кумарова, ферулова, розмаринова кислоти), а також мікроелементи (селен, цинк, купрум, манган).

Узагальнено сучасні наукові дані щодо хімічного складу, фармакологічної активності і медичного застосування офіційних видів роду *Astragalus*, зокрема при захворюваннях нирок.

Запропоновано як перспективний напрям для скринінгових фармакологічних досліджень гіпоазотемічної активності використовувати рослинну сировину, що містить речовини-маркери флавоноїдної структури.

Результати досліджень розділу 1 наведено в публікаціях:

1. Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? *Food Chem Toxicol*. 2017 Dec.;110:240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
2. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є. Рослини роду *Lespedeza* як перспективні джерела сучасних лікарських засобів. *Фітотерапія. Часопис*. 2015;2:31-35.
3. 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.
4. Лысюк Р.М., Гудзь Н.И., Дармограй Р.Е., Езерская О.И. Растительные субстанции для лечения урологических и нефрологических заболеваний. *Рецепт*. 2016;19(2):235-239.
5. 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.
6. Lysiuk R, Darmohray R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus*. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*;2016;3:46-53. DOI:10.18052/www.scipress.com/IJPPE.3.46
7. 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.
8. Lysiuk R, Mansuetus Mboya J. Herbal drugs for the treatment of diabetic nephropathy: Current status and prospects for the application. *J Kidney Treat Diagn*. 2020;3(2):3-4

9. 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.
10. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є. Аналіз наявності рослинних гіпоазотемічних засобів на сучасному фармацевтичному ринку України. Хімія природних сполук. Матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф.; 2012 Жовт 30-31; Тернопіль; 2012, с. 125-126.
11. 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.
12. Lysiuk R, Darmohray R. Plants of the genus *Astragalus* used for medicinal purposes. Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії.: зб. тез наук. робіт міжн. наук. – практ. конф. 2013 Лист 8 – 9; Одеса; 2013, с. 30–32.
13. 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.
14. Lysiuk R. Cynaroside: physico-chemical characteristics, plant sources, isolation, pharmacological effects. Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках. Зб. матер. міжн. наук. – практ. конф.; 2013 Груд 27-28; Київ; с. 90–94.
15. Lysiuk R.M. Hypoazotemic effects of some *Fabaceae* plants. Роль та місце медицини у забезпеченні здоров'я людини у сучасному суспільстві: матер. міжн. наук. – практ. конф.; 2013 Груд. 12; Одеса; 2013, с. 14-16.
16. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є. Вивчення вітчизняних видів роду *Astragalus* з метою розширення номенклатури офіційних лікарських рослин.

- Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень. Матер. міжн. наук. конф.; 2014 Черв 4-5; Березоточа, Лубни; 2014, с. 163-165.
17. Lysiuk R.M., Darmohray R.Y. Isoorinenin – containing medicinal plants as promising sources of nephroprotective phytopharmaceuticals. Міжн. науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів»; 2015 Квіт 23; Х.: Вид-во НФаУ; 2015, с. 82.
 18. Lysiuk R.M., Darmohray R.Y., Mykhailovska V.V. Plants, yielding robinin, as promising sources of nephroprotective herbal drugs. Матер. II міжн. наук.-практ. інтернет – конференції «Technological and Biopharmaceutical Aspects of Drugs Developing with Different Orientation of Action»; 2015 Лист. 12-13; Х.: Вид-во НФаУ; 2015, р. 12–13.
 19. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Михайловська В.В. Особливості впливу селену на органи сечовидільної системи. Матер. міжн. науково–практичної конф. з міжн. участю «Бабенківські читання», присв. пам'яті акад. Г. О. Бабенка; 2015 Жовт. 29-30; Івано-Франківськ; 2015, с. 68.
 20. Єзерська О.І., Гудзь Н.І., Лисюк Р.М. Фіточаї, що застосовуються в урології, - лікарські засоби чи парафармацевтики. Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту. Матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжн.уч.; 2016 Квіт 15; Х.: Вид-во НФаУ; 2016, с. 127-128.
 21. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є., Конахович Р. Б. Аналіз фармакопейних видів лікарських рослин нефропротекторної дії. Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку. Збірник тез наукових робіт учасників міжн. наук.-практ. конф.; 2017 Січ 27-28; Львів: ГО «Львівська медична спільнота»; 2017, с. 65-68.
 22. Lysiuk R. M., Darmohray R. Y., Mykhailovska V. V., Matthew Uche Eze. *Fabaceae* Plants as Valuable Sources of Microelements and Promising Nephroprotective Agents. XVI–е чтения В.В. Подвысоцкого: Бюллетень материалов научной конференции; 2017 Мая 18-19; Одесса: УкрНИИ медицины транспорта; 2017, с.18-19.

23. Lysiuk R, Mboya J. M., Darmohray R. Beneficial Nephroprotective Effects of Plant Materials for Treatment of Diabetic Nephropathy. Лікарськєрослинництво: віддосвідуминулогодоновітніхтехнологій: матеріалишостоїМіжнародноїнауково–практичноїконференції; 2017 Гру 26-27; Полтава–Лубни: Комунальневидавництво «Лубни»; 2018, р. 164-167.
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., Нектегаєв 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.
26. 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.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкти дослідження

Об'єкти дисертаційного дослідження – 7 видів флавоноїдовмісної сировини, які у своєму складі містять активні маркери нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності: трава астрагалу солодколистого, трава астрагалу козлятникподібного, трава астрагалу серпоплодного, трава споришу, квітки робінії звичайної, листя і квітки глоду, листя берези (усього 33 зразки ЛРС), місця їх збору, часу заготівлі та періоду вегетації наведено у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1.

Дані щодо місць і часу заготівлі аналізованих зразків ЛРС

№	Рослина	ЛРС	Місце збору, тип	Час заготівлі, період вегетації
1	2	3	4	5
1	Астрагал солодколистий (<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.)	трава астрагалу солодколистого (<i>Astragali glycyphylli herba</i>)	м. Львів, Ботанічний сад Львівського національного університету імені Івана Франка, 49°82'99" пн.ш., 24°06'14" сх.д.; культивована	2 липня 2014 р., рясне цвітіння
2	Астрагал солодколистий (<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.)	трава астрагалу солодколистого (<i>Astragali glycyphylli herba</i>)	м. Львів, Сихів 49°79'15" пн.ш., 24°04'15" сх.д.; дикоросла	9 липня 2015 р., рясне цвітіння
3	Астрагал солодколистий (<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.)	трава астрагалу солодколистого (<i>Astragali glycyphylli herba</i>)	м. Львів, Сихів 49°79'15" пн.ш., 24°04'15" сх.д.; дикоросла	28 травня 2016 р., бутонізація

Продовж. табл. 2.1.

1	2	3	4	5
4	Астрагал солодколистий (<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.)	трава астрагалу солодколистого (<i>Astragali glycyphylli herba</i>)	м. Львів, Ботанічний сад Львівського національного університету імені Івана Франка, 49°82'99" пн.ш., 24°06'14" сх.д.; культивована	8 червня 2016 р., цвітіння
5	Астрагал солодколистий (<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.)	трава астрагалу солодколистого (<i>Astragali glycyphylli herba</i>)	м. Львів, Ботанічний сад Львівського національного університету імені Івана Франка, 49°82'99" пн.ш., 24°06'14" сх.д.; культивована	15 липня 2016 р., рясне цвітіння
6	Астрагал солодколистий (<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.)	трава астрагалу солодколистого (<i>Astragali glycyphylli herba</i>)	м. Львів, Сихів 49°79'15" пн.ш., 24°04'15" сх.д.; дикоросла	9 червня 2017 р., цвітіння
7	Астрагал солодколистий (<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.)	трава астрагалу солодколистого (<i>Astragali glycyphylli herba</i>)	м. Отинія Івано-Франківської обл. (околиці); дикоросла	2 червня 2017 р., цвітіння
8	Астрагал козлятничко-подібний (<i>Astragalus galegiformis</i> L.)	трава астрагалу козлятничко-подібного (<i>Astragali galegiformis herba</i>)	м. Київ, Інтродукційна ділянка відділу нових культур Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України; культивована	9 липня 2016 р., цвітіння

Продовж. табл. 2.1.

1	2	3	4	5
9	Астрагал козлятничко- подібний (<i>Astragalus galegiformis</i> L.)	трава астрагалу козлятничко- подібного (<i>Astragali galegiformis herba</i>)	м. Львів, Ботанічний сад Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького 49°83'58" пн.ш., 24°05'01" сх.д.; культивована	17 вересня 2019 р., формування вегетативних органів, 1-ий рік вегетації
10	Астрагал серпоплодий (<i>Astragalus falcatus</i> Lam.)	трава астрагалу серпоплодного (<i>Astragali falcate herba</i>)	м. Львів, Ботанічний сад Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького 49°83'58" пн.ш., 24°05'01" сх.д.; культивована	29 жовтня 2015 р., пізнє плодоношен ня
11	Астрагал серпоплодий (<i>Astragalus falcatus</i> Lam.)	трава астрагалу серпоплодного (<i>Astragali falcati herba</i>)	м. Київ, Інтродукційна ділянка відділу нових культур Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України; культивована	9 липня 2016 р., рясне цвітіння
12	Астрагал серпоплодий (<i>Astragalus falcatus</i> Lam.)	трава астрагалу серпоплодного (<i>Astragali falcati herba</i>)	м. Львів, Ботанічний сад ЛНМУ імені Данила Галицького 49°83'58" пн.ш., 24°05'01" сх.д.; культивована	2 липня 2017 р., рясне цвітіння

Продовж. табл. 2.1.

1	2	3	4	5
13	Робінія звичайна (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.)	квітки робінії звичайної (<i>Flores Robiniae pseudoacaciae</i>)	м. Львів, Сихів 49°80'05" пн.ш., 24°04'18" сх.д.	9 травня 2015 р., рясне цвітіння
14	Береза повисла (<i>Betula pendula</i> Roth)	листя берези (<i>Betulae folium</i>)	м. Рава-Руська Львівської обл., 50°22'97" пн.ш., 23°60'67" сх.д.	23 липня 2016 р.
15	Береза повисла (<i>Betula pendula</i> Roth)	листя берези (<i>Betulae folium</i>)	м. Рава-Руська Львівської обл., 50°22'97" пн.ш., 23°60'67" сх.д.	16 жовтня 2016 р., часткове пожовтіння листіків
16	Береза повисла (<i>Betula pendula</i> Roth)	листя берези (<i>Betulae folium</i>)	м. Рава-Руська Львівської обл., 50°22'97" пн.ш., 23°60'67" сх.д.	30 травня 2017 р., пізнє цвітіння
17	Гірчак пташиний, спориш (<i>Polygonum aviculare</i> L.)	трава споришу (<i>Polygoni avicularis herba</i>)	м. Львів, Сихів 49°79'61" пн.ш., 24°05'18" сх.д.; дикоросла	28 травня 2016 р., раннє цвітіння
18	Гірчак пташиний, спориш (<i>Polygonum aviculare</i> L.)	трава споришу (<i>Polygoni avicularis herba</i>)	м. Ніжин Чернігівської обл., 51°04'52" пн.ш., 31°80'36" сх.д. дикоросла	15 липня 2016 р., рясне цвітіння
19	Глід одноматочковий (<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.)	листя і квітки глоду (<i>Crataegi folium et flos</i>)	м. Львів, Сихів 49°79'48" пн.ш., 24°05'09" сх.д.	28 травня 2016 р., рясне цвітіння

Продовж. табл. 2.1.

1	2	3	4	5
20	Глід одноматочковий (<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.)	листя і квітки глоду (<i>Crataegi folium et flos</i>)	м. Львів, Ботанічний сад ЛНМУ імені Данила Галицького 49°83'58" пн.ш., 24°05'07" сх.д.	16 травня 2016 р., раннє цвітіння
21	Глід одноматочковий (<i>Crataegus monogyna</i> Jacq.)	листя і квітки глоду (<i>Crataegi folium et flos</i>)	м. Львів, Парк культури та відпочинку ім. Б. Хмельницького 49°82'90" пн.ш., 24°02'20" сх.д.	28 травня 2016 р., рясне цвітіння

Об'єднаний зразок аналізованих видів ЛРС масою близько 10 г формували з щонайменше п'яти проб, відібраних на площі біля 10 м². Всі зразки поміщали у поліетиленові пакети і транспортували у лабораторію для подальших аналізів [160].

Також у дослідженні використовувались зразки (табл.2.2.) флавоноїдовмісних видів ЛРС, придбаних у аптечних закладах України, Румунії та Білорусі, у яких нами проводилось визначення вмісту мікроелементів та суми флавоноїдів.

2.2. Методи дослідження, прилади, реактиви

2.2.1. Макроскопічне дослідження

Вивчення морфологічних ознак проводили за допомогою лупи і бінокюляру. Досліджувані види рослин ідентифікували за макроскопічними характеристиками [32, 246].

Встановлення видової належності зразків сировини проводилось за консультативною допомогою д. с-г.н., проф. Д. Б. Рахметова, Відділ нових культур Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України (Київ); О. О. Кагало, канд. біол.н., Інститут екології Карпат НАН України

(Львів); канд. біол.н., ст. наук. співроб. М. І. Скибіцької, Ботанічний сад ЛНУ ім. Івана Франка (Львів).

Таблиця 2.2.

Дані щодо досліджуваних комерційних зразків ЛРС

№ зразка	Назва ЛРС	№ серії	Країна походження
22	Глоду листя і квітки (<i>Crataegi folium et flos</i>)	0010115	Україна
23	Глоду листя і квітки (<i>Crataegi folium et flos</i>)	20615	Україна
24	Глоду листя і квітки (<i>Crataegi folium et flos</i>)	31505663	Румунія
25	Глоду листя і квітки (<i>Crataegi folium et flos</i>)	150903	Румунія
26	Глоду листя і квітки (<i>Crataegi folium et flos</i>)	E27082017	Румунія
27	Глоду листя і квітки (<i>Crataegi folium et flos</i>)	110116	Білорусь
28	Споришу трава (<i>Polygoni avicularis herba</i>)	030315	Україна
29	Споришу трава (<i>Polygoni avicularis herba</i>)	030315	Україна
30	Споришу трава (<i>Polygoni avicularis herba</i>)	21113	Україна
31	Споришу трава (<i>Polygoni avicularis herba</i>)	31403803	Румунія
32	Споришу трава (<i>Polygoni avicularis herba</i>)	E14042017	Румунія
33	Споришу трава (<i>Polygoni avicularis herba</i>)	010715	Білорусь

2.2.2. Мікроскопічний аналіз

Дослідження мікроскопічної будови зразків ЛРС проводили методом світлової мікроскопії. Для мікроскопічного аналізу використовували висушені і свіжозібрані зразки сировинних органів

Для дослідження мікроскопічних ознак трави астрагалу солодколистого висушену сировину розм'яшували кип'ятінням у 5 % розчині натрію гідроксиду; з розм'якшених об'єктів відразу виготовляли тимчасові препарати. Мікропрепарати переглядали під мікроскопом при збільшенні в 40, 100 та 400 разів, застосовуючи розчин хлоралгідрату.

З метою встановлення основних мікроскопічних діагностичних ознак трави астрагалу, проведено аналіз фрагментів висушених і свіжозібраних листків, стебел, рахісу та квітів.

Для виявлення локалізації слизу, пектинів та фенольних сполук у листовій пластині, рахісі й стеблі було проведено мікроскопічне дослідження з використанням спиртового розчину метиленового синього та розчину феруму (III) хлориду на поперечних зрізах із свіжої трави астрагалу солодколистого.

Із свіжої трави астрагалу солодколистого за допомогою леза виготовляли поперечні зрізи через листову пластинку, рахіс, стебло і поверхневі препарати верхньої і нижньої епідерми, заключали тимчасові мікропрепарати у воду очищену. Аналогічно виготовляли мікропрепарати зі свіжої сировини і з додаванням спиртового розчину метиленового синього (1:5000).

Мікропрепарати переглядали під мікроскопом, застосовуючи розчин хлоралгідрату. Для вивчення тимчасових препаратів використовували тринокулярний світловий мікроскоп фірми ULAB при збільшенні в 40, 100 та 400 разів. Фотографували зрізи за допомогою дзеркальної фотокамери Canon EOS 550.

2.2.3. Виявлення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот методом ТШХ

Ідентифікацію флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у досліджуваних видах ЛРС здійснено методом тонкошарової (ТШХ) хроматографії [98, 100].

Для випробування методом ТШХ сировину, подрібнену до розміру частинок, які проходять через сито з діаметром отворів 5 мм, екстрагували спиртом (50% об/об) під час нагрівання на водяній бані зі зворотним холодильником [98].

Для приготування розчину порівняння використовували стандартні зразки (Fluka) речовин-свідків: рутин, гіперозид, апігеніну-7-глюкозид, лютеолін, лютеоліну-7-глюкозид, апігенін, кемпферол, кверцетин, хлорогенова, цикорієва, кавова, ферулова і розмаринова кислоти.

Свідки (2,5мг; 5,0мг) розчиняли у метанолі і доводили об'єм розчину тим ж розчинником до 20 мл. На лінію старту хроматографічної пластинки наносили смуги завдовжки 10 мм, 10 мкл випробовуваного розчину та 20 мкл розчинів порівняння.

Для проведення ідентифікації методом ТШХ використовували хроматографічні пластинки MERCK Silica gel F254 і систему розчинників: мурашина кислота безводна – вода – етилацетат (10:10:80).

Для проявлення хроматограм застосовували розчин 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру в метанолі та 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р [27, 100].

Підтвердження тотожності здійснювали шляхом порівняння величин R_f-зон на хроматограмі розчину порівняння та випробовуваного розчину.

Усі реагенти, що застосовувались при вивченні вмісту різних груп БАР у досліджуваних зразках сировинних органів, а також процеси приготування розчинів відповідали вимогам Державної Фармакопеї України [28].

2.2.4. Вивчення складу флавоноїдів і гідроксикоричних кислот методом ВЕРХ

Виявлення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у досліджуваних видах ЛРС проведено методом вискоєфективної рідинної (ВЕРХ) хроматографії [98, 100, 133].

Установлення тотожності фенольних сполук методом ВЕРХ здійснено на рідинному хроматографі Agilent 1200 із хроматографічною колонкою XTerra C18 розміром 4,6×250 мм, з розміром часток 5 мкм. Рухома фаза А: розчин натрію дигідрофосфату моногідрату – 0,6 г/л, доведений до рН 2,5 кислотою фосфорною; рухома фаза В: ацетонітрил. Швидкість подачі рухомої фази – 1 мл/хв, градієнтне елюювання. Детектування здійснено за допомогою діодно-матричного детектора за довжини хвилі 330 нм [100, 133].

Об'єм введеної проби - 100 мкл; температура термостата колонки 25 °С[133].

Під час проведення випробування методом ВЕРХ застосовували розчини стандартних зразків речовин-свідків: хлорогенову, кавову, ферулову, цикорієву і розмаринову кислоти, рутин, гіперозид, апігенін-7-глюкозид, лютеолін, кверцетин, апігенін, кемферол (Fluka).

Ідентифікацію речовин проведено шляхом порівняння часу утримування піків на хроматограмах випробовуваного розчину і суміші сполук-стандартів:

Оцінювання кількісного вмісту кожної з ідентифікованої чи неідентифікованої сполуки класу флавоноїдів та ГКК нами здійснено методом внутрішньої нормалізації.

2.2.5. Встановлення якісного і кількісного вмісту катехінів і галової кислоти методом ВЕРХ з УФ-детектуванням

Ідентифікацію та кількісне визначення катехінів та галової кислоти у траві АС виконано з використанням методу ВЕРХ [234,238].

Пробопідготовка ЛРС для аналізу катехинів та галової кислоти

Ретельно подрібнену висушену рослинну сировину 1,00 (точна наважка), поміщають в круглодонну колбу об'ємом на 50 мл і екстрагують 50 мл водою бідистильованою (Simplicity SIMSV00 Water Purification System Millipore) протягом 30 хв на кип'ячій водяній бані із зворотнім холодильником при перемішуванні. Після охолодження, отриманий екстракт кількісно переносять в мірну колбу об'ємом 50 мл, доводять об'єм розчину до мітки водою бідистильованою. Отриманий розчин ретельно перемішують, фільтрують через целюлозний мембранний фільтр з діаметром пор 0,45 мкм у хроматографічний флакон (віал), вміст якого безпосередньо вводять у хроматографічну систему.

Обладнання та умови хроматографічного розділення:

Аналіз катехинів та галової кислоти у траві астрагалу солодколистого нами здійснено методом ВЕРХ [234,238] на хроматографі Agilent 1200 3DLCSystemTechnologies (США), укомплектованому діодноматричним детектором G1315C, проточним вакуумним дегазатором G1322A, автосамплером (автоматичним інжектором) G1329A, термостатом колонок G1316A, у комплексі з програмним забезпеченням Agilent ChemStation.

Для розділення комплексу досліджуваних сполук на окремі компоненти здійснювали обернено-фазну хроматографію, використовуючи хроматографічну колонку Discovery C₁₈ HPLC Column (Supelco-504971): розмір 250×4,6 мм (L×I.D.) з передколонковим 20 мм фільтром; сорбент: сілікагель, модифікований октадецильними групами, який має діаметр зерен 5 мкм. Температура термостата колонки 25 °C.

Як рухому фазу використовували: сольвент А - 0,1% трифлуороцтова кислота у 5% ацетонітрилі та сольвент В– 0,1 % трифлуороцтова кислота та ацетонітрил; максимальна швидкість подачі рухомої фази 0,5 мл/хв. Опис градієнтного режиму елюювання (форма, ступінчаста), який нами застосовано для аналізу катехинів та галової кислоти, наведено у таблиці 2.3.

Час сканування 0,6 с, діапазон детектування – 190-400 нм, довжина хвилі 280 нм, час хроматографування – 40 хв. Введення проб виконували з використанням автосемплера; об'єм введеної проби – 10 мкл [238].

Таблиця 2.3.

**Характеристики градієнтного режиму елюювання,
використаного при визначенні
флаван-3-олів та галової кислоти**

Час, хв	A, %	B, %
0.00	100	0
1.00	100	0
8.00	88	12
10.00	88	12
15.00	75	25
20.00	75	25
25.00	25	75
28.00	25	75
29.00	100	0

Ідентифікували катехіни та галову кислоту, порівнюючи їх УФ-спектри та час утримання з відповідними даними аналітичних стандартів. Як стандарти використано: (-) епігалокатехін (EGC, Supelco, № 49037-U), (+) катехін (C, Supelco, № 49040-U), (-) епікатехін (EC, Supelco, № 49045-U), (-) епікатехін галат (ECG, Supelco, № 49060-U), (-) галокатехін (GC, Supelco, № 49069-U), галову кислоту (GA, Supelco, № 5995-86-8).

Кількісний вміст досліджуваних сполук визначали шляхом побудови калібрувальної кривої на основі отриманих даних щодо площі піків та масової концентрації кожного стандарту в трьох повтореннях для 5 різних значень концентрації.

2.2.6. Дослідження якісного і кількісного вмісту гідроксикоричних кислот методом ВЕРХ

Ідентифікацію та кількісне визначення гідроксикоричних кислот (ГКК) у траві АС виконано з використанням методу ВЕРХ [46, 74].

Обладнання та умови хроматографічного розділення:

Розділення комплексу ГКК на окремі компоненти здійснювали методом ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 з DLCSYSTEM Technologies (США), який укомплектований проточним вакуумним дегазатором G1322A, чотирьох каналним насосом градієнту низького тиску G1311A, автосамплером (автоматичний інжектор) G1329A, термостатом колонок G 1316A, детекторами діодноматричним G1315C та рефрактометричним G1362A у комплексі з комп'ютерним програмним забезпеченням Agilent ChemStation [46, 74].

Пробопідготовка та аналіз рослинної сировини:

Близько 1 г рослинної сировини (точна наважка) ретельно подрібнювали, екстрагували 50 мл 60% розчину метанолу протягом 15 хв на водяній бані із зворотним холодильником при перемішуванні. Після цього фільтрували, кількісно переносили в мірну колбу місткістю 50 мл і доводили до мітки об'єм розчину 60% метанолом. Отриманий розчин фільтрували через мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм [74].

Методика визначення: здійснювали обернено-фазну хроматографію, використовували хроматографічну колонку SupelcoDiscoveryC₁₈ (№ 50512) розміром 250 × 4,6 мм із сорбентом силікагелем, модифікованим октадецильними групами, яка має діаметр зерен 5 мкм. Як рухомих фаз використовували: сольвент А – 0,005 N ортофосфорна кислота та сольвент В – ацетонітрил [46, 74].

Режим хроматографування: максимальна швидкість подачі рухомої фази 0,7 мл/хв при градієнтному елююванні з рухомими фазами – сумішшю

бідистильованої води, підкисленої сольвентами А (до рН = 2,85) і В, робочий тиск елюента 100-120 бар (10000–12000 кПа); температура термостата колонки 25 °С; об'єм введеної проби 10 мкл, сумарний час хроматографування – 50 хв.

Режим елюювання ГКК – градієнтний: 0 хв 5 % «В», 8 хв 8 % «В», 15 хв 10 % «В», 30 хв 20 % «В», 40 хв 40 % «В», 41-42 хв 75 % «В», 43-50 хв 5 % [74].

Час сканування 0,6 с, діапазон детектування – 190-400 нм, довжина хвилі УФ-спектру – 320 нм (ферулова, *n*-кумарова кислоти) і 330 нм (хлорогенова і розмаринова кислоти) [74].

Для приготування рухомої фази використовували ацетонітрил і ортофосфорну кислоту - Chromasolv gradient grade, for HPLC, > 99,9% (Sigma-Aldrich). Бідистильовану воду отримували з використанням системи Simplicity SIMSV00 Water Purification System Millipore (Merck KGaA, Darmstadt, Німеччина). Для екстракції ГКК застосовано метанол марки Chromasolv gradient grade, for HPLC, > 99,9% (Sigma-Aldrich). Сполуки – стандарти – хлорогенова, кадова, *n*-кумарова, ферулова, розмаринова кислоти – виробництва Sigma Chemical Co.

2.2.7. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту моносахаридів методом ГРХ-МС

Проведені нами ідентифікація і кількісне визначення моносахаридів базується на екстракції вільних цукрів та отриманні ацетатів їх альдонітрильних похідних з подальшим аналізом методом газо-рідинної хромато-мас-спектрометрії (ГРХ-МС, GLC-MS), з використанням принципів методик [88, 148, 163].

Обладнання та умови хроматографічного розділення:

Хроматографічне розділення проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N / 5973 inert (Agilent technologies, США). Колонка капілярна HP-5ms (30м×0,25мм×0,25мкм, Agilent technologies, США). Температура випаровувача 250 °С, температура інтерфейсу 280 °С. Розділення проводили в режимі програмування температури - початкову температуру 160 °С витримували упродовж 8 хв., піднімали з градієнтом 5 °С/хв до 240 °С. Кінцеву температуру витримували впродовж 6 хв. Пробу, об'ємом 1 мкл, вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування здійснювали в режимі SCAN у діапазоні 38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія через колонку 1,2 мл/хв.

Ідентифікацію проводили за часом утримання стандартів моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби.

Пробопідготовка та аналіз рослинної сировини:

Рослинну сировину перетирали до порошкоподібного стану в скляній ступці. Наважку препарату 500 мг поміщали в круглодонну колбу, додавали розчин 80% етилового спирту з внутрішнім стандартом із розрахунку 500 мкг на пробу. Екстракцію вільних моносахаридів проводили на водяній бані при 100 °С з використанням зворотного холодильника впродовж 2 год.

Для отримання альдонітрильних похідних моносахаридів відбирали 2 мл екстракту, упарювали досуха на роторному випаровувачі та додавали 0,3 мл дериватизуючого реагенту (32мг/мл гідроксиламіну солянокислого в суміші з піридин/метанолом (4:1 v/v)). Розчинений екстракт витримували впродовж 25 хв при 75 °С. Для ацетилювання альдонітрильних похідних моносахаридів додавали 1 мл оцтового ангідриду та витримували впродовж 15 хв при 75 °С. До реакційної суміші додавали 2 мл дихлоретану, надлишок дериватизаційних реагентів видаляли подвійною екстракцією 1N розчином соляної кислоти та води. Дихлоретановий шар висушували досуха та розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1 v/v).

Ідентифікацію моносахаридів досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримування стандартних моносахаридів та з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин сорбітолу.

Масу моносахариду (X) на 1 кг сировини (мг/кг) розраховували за формулою 2.1:

$$\frac{X = S_x \times M_{\text{вст}} \times V_c \times 1000}{S_{\text{вст}} \times m_n \times V_e} \quad (2.1)$$

де:

S_x – площа піку досліджуваного моносахариду

$M_{\text{вст}}$ – маса внутрішнього стандарту у пробі

V_c – об'єм розчинника для екстракції

S_d – площа піку внутрішнього стандарту

m – наважка препарату

V_e – об'єм екстракту для дериватизації

2.2.8. Встановлення якісного і кількісного вмісту мікроелементів методом ААС/ЕА

Мікроелементи у досліджуваних зразках рослинної сировини кількісно визначали методом атомно-абсорбційної спектрометрії з електротермічною атомізацією (ААС/ЕА) після повної мікрохвильової мінералізації зразків у системі «Milestone Start D» за переведення їх в розчинну форму та визначення концентрації в розчинах (метод стандартних добавок, ДФУ 2.2.22) [29] у закритих аналітичних автоклавах з коригуванням непитої абсорбції фону матриці методом Зеємана [120].

Реактиви. У роботі використовували азотну кислоту кваліфікації "ос. ч." згідно з ГОСТ 11125; воду високоочищену згідно з ДФУ; паладієвий

модифікатор для атомно-абсорбційної спектрометрії з концентрацією паладію 10г/дм^3 виробництва фірми Merck; державні стандартні зразки України (ДСЗУ) – розчини стандартних зразків (СЗ) мангану, міді, селену, свинцю, кадмію; цинку і кобальту з атестованим значенням масової концентрації іонів $1,0\text{мг/см}^3$. Основні стандартні розчини готували з готових стандартних розчинів ДСЗУ. Робочі стандартні розчини (РСЗ) готували шляхом стадійного розведення основних стандартних розчинів 1% розчином кислоти азотної: ДСЗУ (1мг/см^3) до концентрації 10мкг/см^3 (розчин А); розчин А, 1% розчином кислоти азотної – до концентрації $0,1\text{мкг/см}^3$.

Для побудови калібрувального графіка готували розчини з різною концентрацією досліджуваних мікроелементів (в межах робочого діапазону визначення для спектрофотометра) методом стандартних добавок, використовуючи розчини РСЗ – $0,1\text{мкг/см}^3$, як вихідні.

Підготовка зразків. Процедура підготовки зразків полягала у повній мінералізації проб сумішшю азотної кислоти та високоочищеної води у реакційній камері тefлонового аналітичного автоклаву з мікрохвильовим розкладанням зразків за умов підвищеного тиску.

Наважки зразку ($0,6\text{г}$) у тefлоновому стакані вносили безпосередньо в реакційну камеру автоклаву, додавали 3мл . високоочищеної води, з наступним додаванням 6мл 65% азотної кислоти. Закриті автоклави нагрівали у системі мікрохвильової мінералізації «Milestone Start D». Програму зміни температури автоклавів протягом часу мінералізації представлено у таблиці 2.4. Отриманий після мінералізації охолоджений розчин, кількісно переносили із реакційної камери автоклаву в мірну колбу, місткістю 25см^3 , і доводили до мітки високоочищеною водою.

Розчин зразків аналізували на атомно-абсорбційному спектрометрі AA 240 Z (Zeeman Atomic Absorption Spectrometer) VARIAN, обладнаному електротермічним атомізатором з графітовою кюветою (GTA 120 Graphitetube Atomizer) та автосамплером (PSD 120 Programable Sample Dispenser).

Таблиця 2.4.

**Параметри програми зміни температури автоклавів
протягом часу мінералізації**

Етап	Час (хв., с.)	Температура (°C)	Потужність випромінювання (Вт)
1	5.00	80	≤350
2	3.30	160	≤800
3	4.30	195	≤1000
4	14.00	195	≤800

У таблиці 2.5. наведено фізико-хімічні та фізико-технологічні параметри, яких дотримувались при визначенні кількісного вмісту мікроелементів в аналізованих зразках рослинної сировини.

Таблиця 2.5.

**Параметри методу атомно-абсорбційної спектроскопії
досліджуваних зразків рослинної сировини**

Досліджуваний мікроелемент	Лінії поглинання елементу довжиною хвилі, nm	Напруга лампи резонансного випромінювання, mA	Швидкість потоку аргону, L/min	Температура стадії озолення, °C	Температура стадії атомізації, °C	Ширина щілини монохроматора, nm
Манган	279,5	10	0,3	700	2400	0,2
Купрум	327,4	10	0,3	800	2300	0,5
Селен	196,0	10	0,3	1000	2600	1,0
Плюмбум	283,3	5	0,3	400	2100	0,5
Кадмій	228,8	5	0,3	250	1800	0,5

2.2.9. Дослідження кореляції між вмістом суми флавоноїдів та окремих мікроелементів

Зразки рослинної сировини подрібнювали завчасно на лабораторному млинку Knifetec 1095 (Höganäs, Швеція) і зберігали у поліетиленових контейнерах до початку проведення аналізу.

Пробопідготовка для визначення сумарної концентрації мікроелементів у досліджуваних пробах: Точну наважку (близько 1,0 г) обробляли сумішшю HNO_3 (65% розчин Selectipur) та H_2O_2 (30% розчин) (3 + 5, об/об) (Merck, Німеччина), використовуючи процедуру мікрохвильової мінералізації зразків (UniClever BM-1z, Plazmatronika Wrocław, Польща).

Метод полум'яно-атомної абсорбційної спектроскопії (A250 plus spectrometer, Varian, Австралія) нами застосовано для встановлення вмісту Fe, Mn, Zn та Cu, як в отриманих мінералізатах з лікарських рослин, так і у водних екстрактах (настоях), приготовлених з досліджуваних видів ЛРС.

Для приготування настою, точну наважку зразка ЛРС (близько 2 г) поміщали у склянку на 250 мл, додаючи 100 мл кип'яченої деіонізованої води, отриманої в системі подвійної дистиляції (Heraeus Quarzglas, Німеччина). Зразки заварювали протягом 15 хв під скляною кришкою, після чого розчин фільтрували через фільтрувальний папір з середніми розмірами пор. Отриманий екстракт переносили в мірну колбу і розбавляли до 100 мл бідистильованою водою.

Спектрофотометричний метод з УФ-детектуванням на основі методу [266] нами використано для визначення суми флавоноїдів із застосуванням спектрофотометра SP-870 (Metertek, Південна Корея). Обрана для аналізу методика колориметричного визначення з розчином хлориду алюмінію дозволяє кількісно визначати флавоноїди у перерахунку на рутин при аналітичній довжині хвилі 510 нм.

Статистичні розрахунки – кореляційний аналіз, кластерний аналіз (CA), метод головних компонент (PCA) – були проведені за допомогою програмного забезпечення Statistica 10 (StatSoft Inc., Tulsa, США) на основі параметричних тестів із рівнем значущості $p < 0,05$ [226]. Односторонній аналіз дисперсії (ANOVA) і post hoc Т'юкі тест (post hoc Tukey test) проведено для перевірки значущості відмінності між досліджуваними зразками.

2.2.10. Вивчення *in vivo* гіпоазотемічної активності на моделі гострої експериментальної сулемової нефропатії щурів

Дослідження гіпоазотемічної дії *in vivo* сумарних рослинних екстрактів, у складі яких наявні флавоноїди, здатні в індивідуальному стані виявляти гіпоазотемічну активність (гіперозид, цинарозид, робінін, гомоорієнтин та ін.), нами проводились на експериментальній моделі гострої сулемової ниркової недостатності на щурах, яку спричинюють одноразовим внутрішньоочеревинним введенням нефротоксину у дозі 2 мг/кг [25], за показниками вмісту креатиніну та сечовини у крові і сечі лабораторних тварин.

Експериментальне фармакологічне дослідження гіпоазотемічної активності і гострої токсичності аналізованих рослинних екстрактів проведено на 114 дорослих щурах-самцях, масою 180 – 240 г, які перебували, згідно вимог санітарно-гігієнічних норм, у пластикових клітках на стандартному харчовому раціоні в умовах віварію ЛНМУ імені Данила Галицького.

Маніпуляції та утримання тварин здійснено з дотриманням вимог гуманного поводження з лабораторними тваринами, наведеними у «Директиві Парламенту і Ради Європи 2010/63/EU від 22.09.2010 про захист тварин, що використовуються для наукових цілей», законі України «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципах експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики [36, 94, 154].

Проведення досліджень на тваринах здійснено за узгодженням з комісією з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 2 від 16 лютого 2015 р., протокол № 9 від 21 грудня 2020 р.).

Сумарні екстракти сировинних органів досліджуваних видів рослин, які містять активні маркери гіпоазотемічної активності, отримували шляхом настоювання подрібненої висушеної сировини на 70° етанолі (сировина-екстрагент 1:10). Перед введенням дослідним тваринам отримані рослинні екстракти попередньо упарювали до 1/3 об'єму, після чого доводили водою очищеною до первинного об'єму [215].

Визначення гострої токсичності (середньої летальної дози – DL_{50}) проведено для доклінічного вивчення нешкідливості досліджуваних біологічно активних субстанцій на лабораторних тваринах.

У дослідження увійшли 30 дорослих щурів (самці з масою 200-240 г), які розподілено на 5 груп по 6 тварин у кожній, у відповідності до доз аналізованих екстрактів.

Перед оральним введенням досліджуваної фітосубстанції тварини не отримували їжу протягом ночі. Рідкі екстракти тваринам вводились внутрішньошлунково в дозах 100, 200, 300, 400, 500 мг/кг маси тіла. Після введення речовин за тваринами проводилися спостереження протягом 14 днів з фіксацією клінічних проявів інтоксикації, часу їх настання та зникнення, а також загибелі лабораторних тварин [103].

Аналізовані екстракти вводили внутрішньо щурам у розрахунку 2 мл/кг; у такій ж дозі аналогічно вводили 1 раз на добу і препарат порівняння Леспефлан (внутрішньо через зонд). Нефротоксин вводили внутрішньоочеревинно, одноразово у дозі 2 мг/кг [25]. Щурам групи модельної патології вводили відповідну кількість води. За контроль було взято 6 здорових щурів.

При завершенні експерименту, на 4 добу після введення розчину нефротоксину, після декапітації на фоні ефірного наркозу, у лабораторних тварин здійснювали забір біологічного матеріалу (кров, нирки) і здійснювали визначення рівня основних маркерів видільної функції нирок – креатиніну і сечовини у сечі та сироватці крові.

Ефективність рослинних екстрактів на моделі гострої ниркової недостатності *in vivo* встановлювали з урахуванням змін функціональних показників нирок щурів, оцінюючи її на основі розрахованих значень гіпоазотемічної активності за креатиніном, % (формула 2.2), та гіпоазотемічної активності за сечовиною, % (формула 2.3) [87].

Гіпоазотемічна активність за креатиніном (Cr), % =

$$100\% - ((Cr \text{ досл. групи} / Cr \text{ групи МП}) \times 100) \quad (2.2)$$

Гіпоазотемічна активність за сечовиною (U), % =

$$100\% - ((U \text{ досл. групи} / U \text{ групи МП}) \times 100) \quad (2.3)$$

Для моніторингу розвитку патології нирок проводили загальний аналіз сечі білих щурів з використанням тесту CITOLAB 11 та аналізатора CITOLAB READER 300 (Pharmasco Ltd., Україна).

Визначення вмісту креатиніну проведено ензиматичним колориметричним методом, вимірюючи інтенсивність забарвлення при довжині хвилі 546 нм; дослідження концентрації сечовини у біоматеріалі проводили ферментативним кінетичним методом, з використанням уреази та глютаматдегідрогенази, вимірюючи швидкість зміни оптичної густини при довжині хвилі 340 нм з використанням реагентів фірми “CORMAY” та автоматичного біохімічного аналізатора CORMAY ACCENT-200 (PZ Cormay, Poland).

Гістологічне дослідження нирок проведено після декапітації щурів і забору крові з використанням світлового мікроскопа за допомогою фарбування зрізів тканин гематоксиліном та еозином після промивання у фізіологічному розчині, фіксації у 10% формаліні і депарафінізації. Для мікроскопічного вивчення гістопатологічних змін готували парафінові гістологічні зрізи товщиною 5 - 6 мкм за допомогою роторного мікротома [149].

Статистична обробка результатів фармакологічного дослідження [53] для виявлення відмінностей між експериментальними групами проводилась з використанням непараметричного U-критерію Манна-Уїтні, який дозволяє встановити відмінності у значеннях параметрів між малими вибірками.

Математичні розрахунки здійснено з використанням пакету програм SPSS. Результати представлені як середнє арифметичне вибірки $\pm SD$ (стандартне відхилення). Відмінності між досліджуваними групами вважались статистично значущими при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ВИВЧЕННЯ МОРФО-БІОЛОГІЧНИХ ТА МІКРОСКОПІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЕРСПЕКТИВНИХ РОСЛИННИХ ДЖЕРЕЛ МАРКЕРІВ ГІПОАЗОТЕМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

3.1. Дослідження морфо-біологічних характеристик інтродукованих робінінвмісних видів

Для сировинного забезпечення фармації характерна недостатня кількість вітчизняної сировини рослинного походження. Із 151 фармакопейного виду лікарських рослин в Україні достатні запаси є лише для 47 дикорослих видів, 32 види введені в культуру, що загалом становить 52 %. 38 видів (25 %) зростають в Україні, але у недостатній кількості, що веде до дефіциту сировини та потреби її імпортування, 34 види (23 %) необхідно ввозити для потреб фармацевтичної промисловості України. Актуальність системного наукового пошуку лікарської рослинної сировини, яка містить важливі біологічно активні сполуки, серед рослин флори України та введення її до реєстру офіційних лікарських рослин є беззаперечною [93]. Інтродукція перспективних видів рослин розглядається як один з важливих напрямів для забезпечення потреб фармацевтичної промисловості.

Оскільки 18 видів роду *Astragalus* L., включно з офіційним видом астрагалом шерстистоквітковим, мають обмежені природні запаси і внесені до Червоної книги України [31], важливим напрямом наукових досліджень є пошук можливих замінників офіційних видів серед ботанічно близьких видів з достатньою ресурсною базою.

У світлі вищенаведеного, значний науково-практичний інтерес серед рослин вітчизняної флори викликає астрагал солодколистий (*Astragalus glycyphyllos*), який у народній вітчизняній і зарубіжній медицині рекомендують при захворюваннях нирок та сечових шляхів, при каменях нирок, гіпертонічній хворобі, хронічній серцево-судинній недостатності.

Саме його розглядають як фармакологічний аналог астрагалу шерстистоквіткового і вважають перспективним джерелом вітамінно-мінерального комплексу та антиоксидантних біологічно активних сполук [56].

Astragalus glycyphyllos зростає на території практично усіх європейських держав, найчастіше у південних регіонах в горах, лісах, чагарниках, по берегах водойм [136], а також в Азії: Туреччина, Іран, Кавказ, Казахстан, Сибір [247]. Трапляється по всій території України у мішаних лісах, на узліссях, полях, по чагарниках [23]; у Карпатах росте в лісах, на узліссях, серед чагарників у рівнинному і передгірному поясах [48]. Потенційно-сировинна територія – майже вся Україна, за винятком південних степових районів; на світлих узліссях соснових, дубово-соснових, дубових, букових лісів, серед чагарників. Сировинні ресурси виду достатні для ведення промислової заготівлі [76].

Астрагал солодколистий – дикорослий вид в умовах Львівської області. З метою вивчення перспектив промислового вирощування виду, інтродукційні дослідження проводяться у Ботанічному саду ЛНМУ імені Данила Галицького та БС Львівського національного університету імені Івана Франка.

Astragalus glycyphyllos інтродуковано у БС ЛНУ імені Івана Франка у 1998 році з насіння, яке первинно було зібрано з дикорослих особин у нижньому ярусі Карпат. Упродовж багаторічного вивчення при культивуванні астрагалу солодколистого не застосовували жодних стимуляторів росту, добрив чи додаткового зрошення.

Встановлено, що в умовах інтродукції на відкритому ґрунті у Ботанічному саду вегетація виду 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 *Astragalus glycyphyllus* (у стадії воскової зрілості) становить 46,8%. Схожість у ґрунті стратифікованого насіння 80,2%, а лабораторна схожість скарифікованого насіння після стратифікації – 60,4%.

Враховуючи комплексну оцінку успішності інтродукції, можна констатувати, що *Astragalus glycyphyllos* є перспективним видом для вирощування в умовах Львівської області, з метою подальшого застосування у медичній практиці.

Астрагал козлятникоподібний (*Astragalus galegiformis* L.) – багаторічна трав'яниста рослина родини Бобових. Досягає до 1 м заввишки, квітконоси довші за листки; грона негусті, 10-20 см завдовжки, віночок жовтий; боби 3-гранні, з обох боків загострені, видовжені. Цвіте у червні-серпні, плодоносить у липні-вересні.

В Україні *A. galegiformis* зрідка зустрічається в Західному (Одеська обл.) і Правобережному (Київська обл.) Лісостепу, зростає по луках [32,108]. Загальний ареал даного виду охоплює також Румунію, Туреччину, Кавказ, південні райони європейської частини Росії, Туркменістан [108,247].

Всебічне інтродукційне та селекційне дослідження, а також розробка наукових основ введення в культуру *A. galegiformis* – перспективної енергетичної рослини – ведеться у відділі нових культур Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України [93, 137]. Астрагал козлятникоподібний – багаторічна морозостійка культура – вважається перспективною кормовою рослиною, добре поїдається тваринами, є високоврожайною та багатою на вміст протеїну [93,112].

Важливо зазначити, що сировинні органи досліджуваної рослини містять біологічно активні сполуки, які в індивідуальному стані виявляють

значну гіпоазотемічну дію, зокрема робінін, ізоастрагалегозид [1,7]. Для екстракту надземних органів астрагалу козлятниковподібного (*A. galegiformis*) нашими *in vivo* дослідженнями [57] на моделі гострої сулемової нефропатії встановлено наявність гіпоазотемічної активності.

Астрагал козлятниковподібний нами у 2019 р. було успішно інтродуковано (рис. 3.1.) у Ботанічний сад ЛНМУ імені Данила Галицького з насіння, отриманого у рамках наукової співпраці з Національним ботанічним садом імені М.М. Гришка, у якому активно вивчаються біологічні і фітохімічні аспекти видів роду Астрагал в умовах інтродукції (проф. Д. Б. Рахметов).



Рис. 3.1. Етапи інтродукції астрагалу козлятниковподібного протягом вегетаційного сезону 2019 року у Ботанічному саду ЛНМУ імені Данила Галицького

До початку травня 2019 року розсада зберігалась у кімнатних умовах. 7 травня розсаду передано в оранжерею Ботанічного саду, а у червні рослину було висаджено в умови відкритого ґрунту на інтродукційну ділянку. 17 вересня сировинні органи астрагалу козлятниковидного заготовлено для подальших досліджень.

В умовах інтродукції у м. Львові, астрагал козлятниковидний – 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.

Астрагал серпоплодий (*Astragalus falcatus* Lam.) – трав'яниста багаторічна рослина родини Бобові (рис. 3.2.), природний ареал якого охоплює Кавказ, Закавказзя, Дагестан; центральні і південно-східні регіони Росії; Туреччину [246, 247]. Культивують *Astragalus falcatus* у деяких західноєвропейських державах, США [92]. В Україні даний вид є виключно інтродукованим.

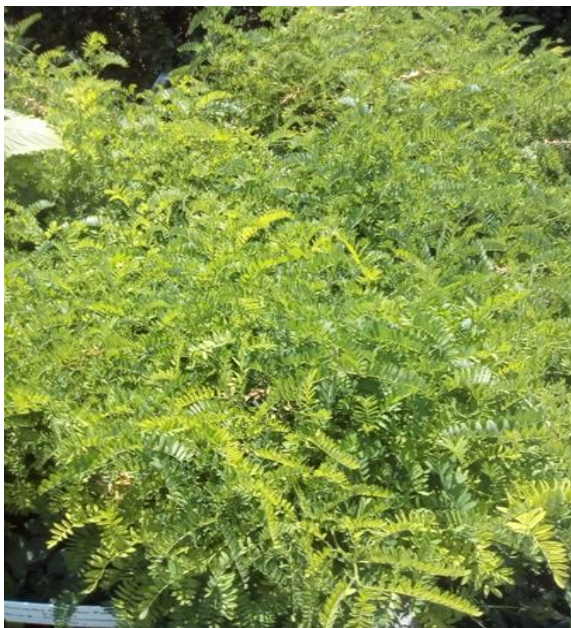


Рис 3.2. Вегетація астрагалу серпоплодного у Ботанічному саді ЛНМУ імені Данила Галицького

В умовах інтродукції у м. Львові (БС ЛНМУ імені Данила Галицького), *Astragalus 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 прилистки, розташованими найнижче; 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.

Слід відзначити, що листки і квіти *Astragalus falcatus* рекомендуються для отримання флавонового глікозиду флароніну (робініну) гіпоазотемічної дії, який успішно застосовується для лікування хронічної ниркової недостатності.

Рослини роду Леспедеца у дикорослому стані на території України не зустрічаються. Леспедеца двоколірна (*Lespedeza bicolor* Turcz.) культивується у парках майже скрізь, крім посушливих районів [11]. Наукову інтродукцію *Lespedeza bicolor* здійснено у ботанічних садах університетів міст Києва, Львова, Дніпропетровська та Чернівців, у Никітському ботанічному саду й Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України.

Нами вивчено особливості вирощування леспедеци двоколірної (*Lespedeza bicolor* Turcz.) в умовах західного регіону України. Леспедецу двоколірну було інтродуковано у БС ЛНУ імені Івана Франка (колекційна ділянка «Лікарські рослини») у 1998 р. з первинного насінневого матеріалу, отриманого з Японії.

В умовах інтродукції у м. Львові (БС ЛНУ імені Івана Франка), леспедеца двоколірна – кущ, заввишки 3,5-5,2 м, з багатьма тонкими сильногалузистими, прутovidними, вгору притисненими гілками (рис. 3.3.). Листя трійчато-складні, листочки еліптичні, округлі або видовжено-еліптичні, на верхівці з маленькою виїмкою і тонким шипиком. Молоді листки шовковисто опушені, дорослі – з рідкими притисненими білими

волосками. Суцвіття пірамідальне, віникоподібне. Квітки червоні або рожево-фіолетові. Плід – однонасінний біб з мереживом жилок.



Рис 3.3.Леспедеца двоколірна у фазі цвітіння у Ботанічному саду ЛНУ імені Івана Франка

Вегетаційний період куща леспедеци двоколірної, яка культивується в умовах відкритого ґрунту, 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. *Lespedeza bicolor* 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 також 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 (розділ 4, табл. 4.6, зразки № 4 і № 3, відповідно).

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.

3.2. Вивчення морфологічних ознак надземних органів астрагалу солодколистого

У результаті проведеного аналізу встановлено такі макроскопічні ознаки досліджуваної сировини – трави АС (рис. 3.4.):

Стебло астрагалу солодколистого зелене, опушене білуватими волосками або майже голе, борозенчасте.



Рис. 3.4. Зовнішній вигляд надземних органів астрагалу солодколистого

Листки чергові, черешкові, непарноперисті, із ланцетоподібними, загостреними, вільними, жовто-зеленими прозорими прилистками, 15 - 20 мм завдовжки; листочки видовжено-яйцеподібні або еліптичні, на верхівці притуплені, зрідка притиснуті, 1,8 - 6 см завдовжки; верхня поверхня зелена, гола, нижня – білувата, опушена.

Суцвіття – видовжена густа китиця із численних зеленувато-жовтих квіток, 11 - 15 мм завдовжки; квітка має дзвоникувату чашечку з нерівними шилоподібними зубцями, голу або інколи опушену та метеликоподібний віночок.

Плід – нерозкривний біб, 3 - 4 см завдовжки, 4 - 5 мм завширшки, дещо серпоподібнозігнутий, зближений з іншими бобами, які сходяться між собою верхівками; поверхня плоду гола, інколи з поодинокими волосками.

3.3. Мікроскопічний аналіз трави астрагалу солодколистого

Листкова пластинка астрагалу солодколистого дуже тонка, дорзи-вентральна, амфістоматична. Верхня епідерма (рис. 3.5) характеризується

тонкостінними багатокутними клітинами із слабозвивистими стінками, які покриті зморшкуватою кутикулою.

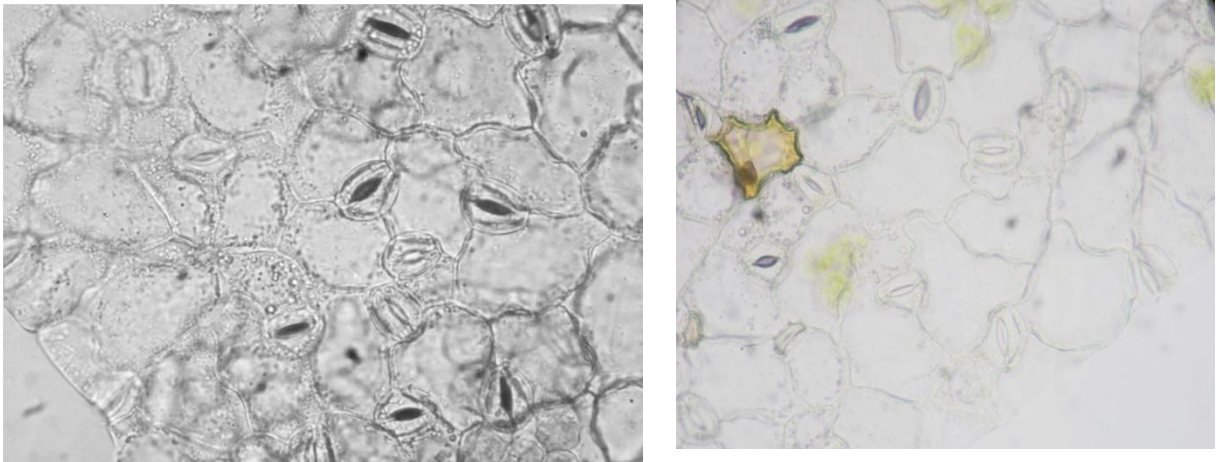


Рис. 3.5. Верхня епідерма астрагалу солодколистого (зб.1:400)

Клітини нижньої епідерми більш звивистостінні, ніж клітини верхньої епідерми. Епідермальні клітини над жилкою і по краю листочків прямостінні, видовжені. Продихи округлі. Продиховий комплекс аномоцитного типу. На нижній епідермі листка астрагалу солодколистого (рис. 3.6) розташовані трихоми, які рівномірно розподілені по всій листовій пластинці, а вздовж жилок і по краю листової пластинки зустрічаються частіше.

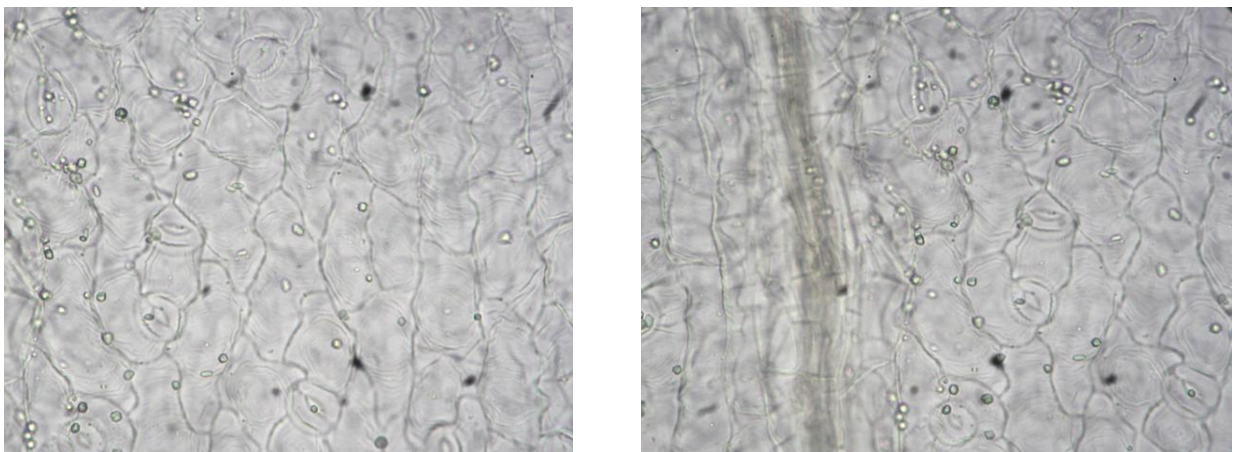


Рис. 3.6. Нижня епідерма астрагалу солодколистого (зб.1:400)

Прості волоски притиснуті до поверхні листка (рис. 3.7). Складаються з 1–2 коротких базальних клітин і однієї великої видовженої термінальної клітини з бородавчастою кутикулою.

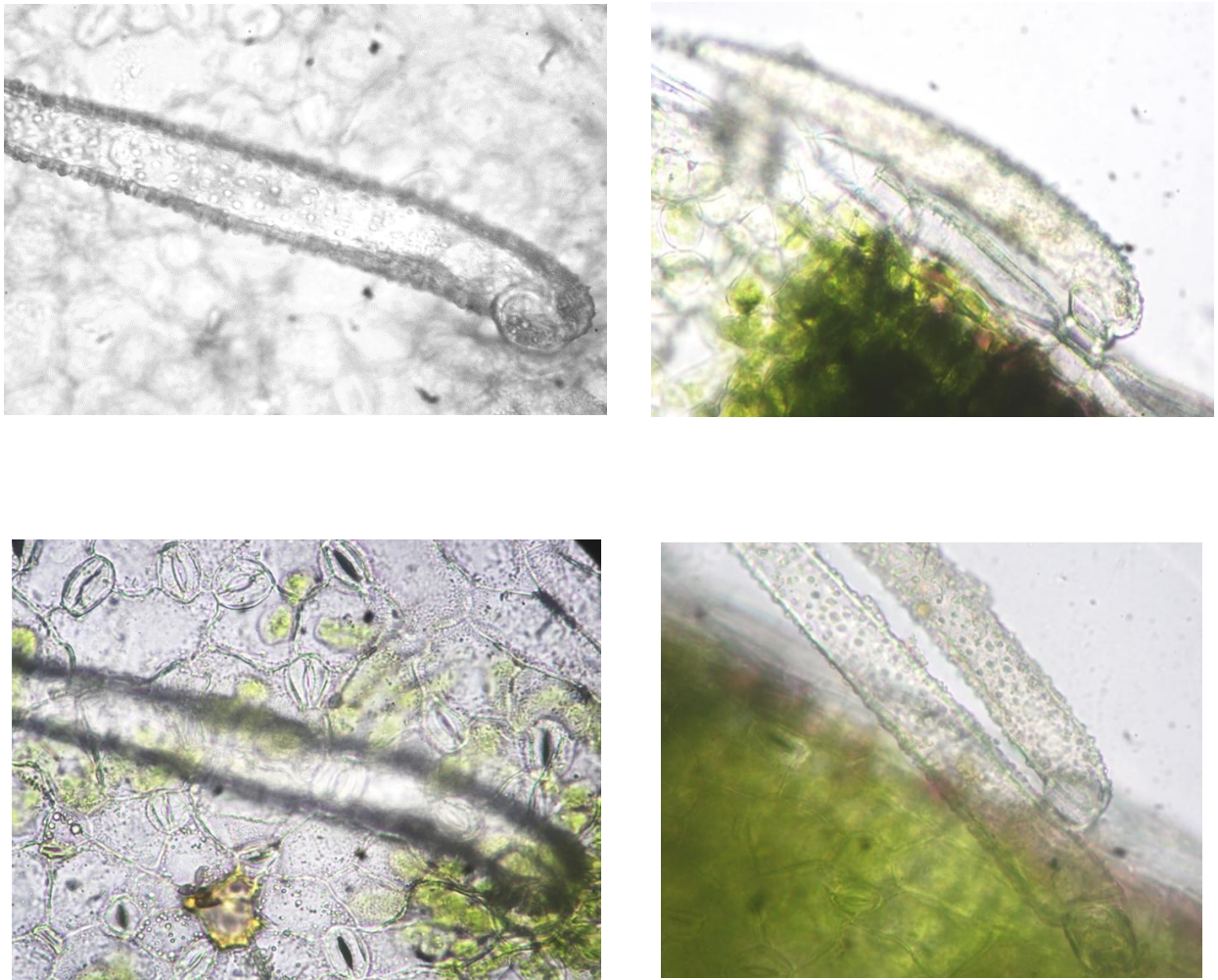


Рис. 3.7. Притиснутий до епідерми волосок (зб.1:400)

Термінальна клітина прикріплюється до ніжки з базальних клітини одним зі своїх країв, який є заокруглений. Інший край термінальної клітини загострений. При розгляданні волоска зверху просвітлюється кругле місце прикріплення термінальної клітини до ніжки волоска. Термінальні клітини містять повітря. Епідермальні клітини навколо волоска формують нечітку розетку. В мезофілі зустрічаються дрібні кристали кальцію оксалату овальної форми, які розміщені поодинокі або групами.

Епідерма пелюстки (рис. 3.8) складається з видовжених прямокутних тонкостінних клітин із сильнозвивистими стінками і зморшкуватою кутикулою.

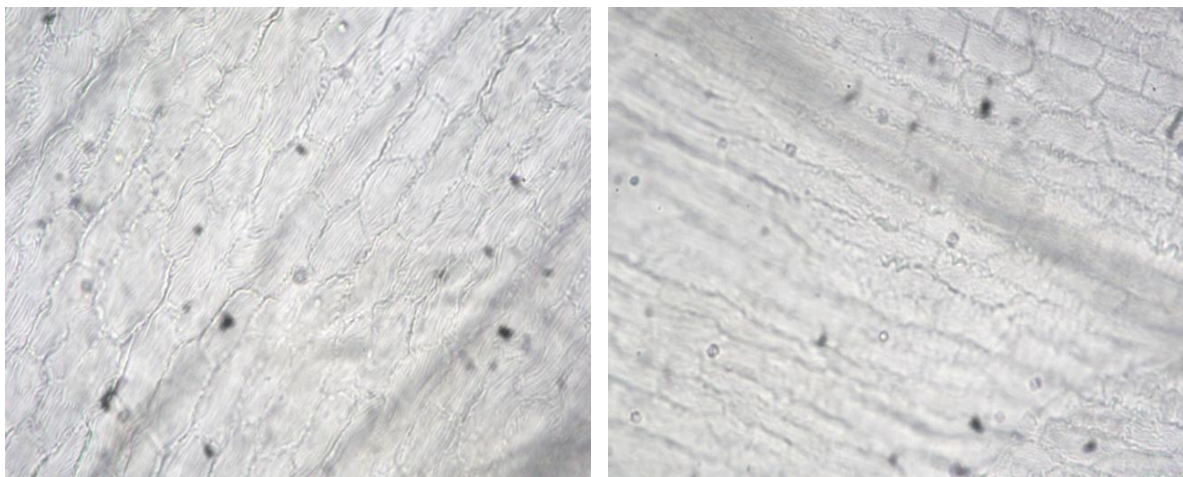


Рис. 3.8. Епідерма пелюстки (зовнішня і внутрішня), зб.1:100

На епідермі чашолистка (рис. 3.9) 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 строною пиляка (рис. 3.10) потрапляють в поле зору пилкові зерна округлої форми із хвилястою екзиною (рис. 3.11).

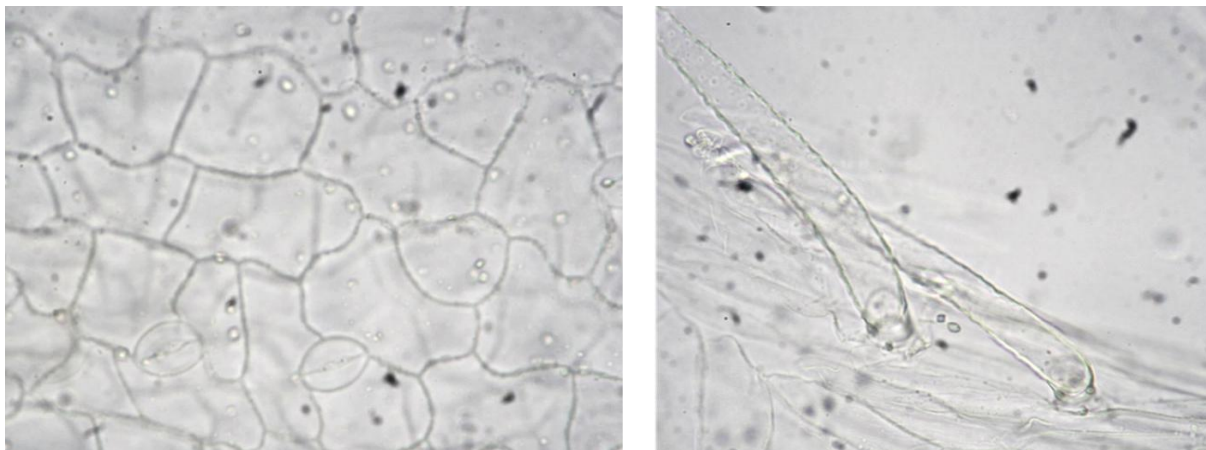


Рис. 3.9. Епідерма чашолистика, зб.1:100

На поперечному перерізі свіжої трави астрагалу солодколистого через центральну жилку листової пластинки (рис. 3.12) спостерігаємо один крупний колатеральний провідний пучок, оточений з усіх сторін механічними волокнами (рис. 3.13). Тип будови листової пластинки дорзивентральний, до

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

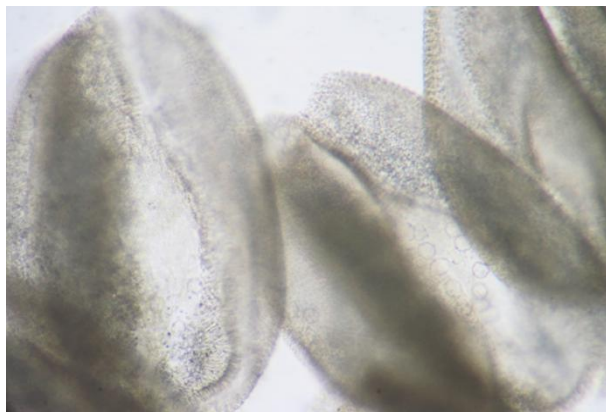


Рис. 3.10. Пиляки, зб.1:100

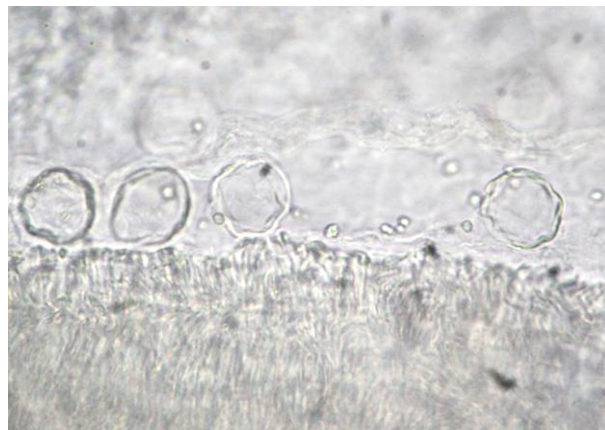


Рис. 3.11 Пилкові зерна, зб.1:400



Рис. 3.12 Поперечний переріз через центральну жилку листової пластинки, зб. 1:100



Рис. 3.13. Відкритий колатеральний провідний пучок центральної жилка листової пластинки, зб. 1:400

Рахіс листка в поперечному перерізі має серцевидну будову (рис. 3.14). Будова пучкова, складається з 5 колатеральних провідних пучків, причому три з них крупніші від двох інших. Кожен пучок оточений механічними деревними і луб'яними волокнами жовто-коричневого кольору.

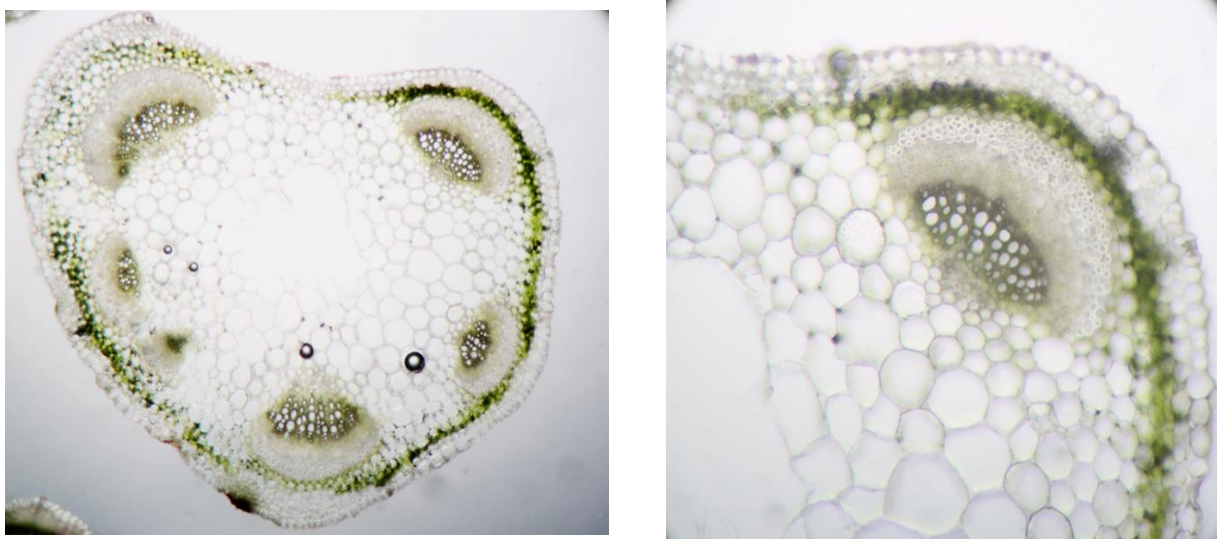


Рис. 3. 14. Поперечний переріз через рахіс, зб. 1:100, зб.1:400

Епідерма покрита тонким шаром кутикули. Під епідермою розміщується пластинчаста коленхіма, яка складається з 2-3 рядів клітин. Нижче від коленхіми є шар хлорофілоносної тканини, яка складається з 1-2 рядів клітин. Всередині розташовується крупноклітинна запасуюча тканина.

На поперечному перерізі стебло *A. glycyphyllos* перехідної будови (рис. 3.15). Епідерма покрита тонким шаром кутикули.

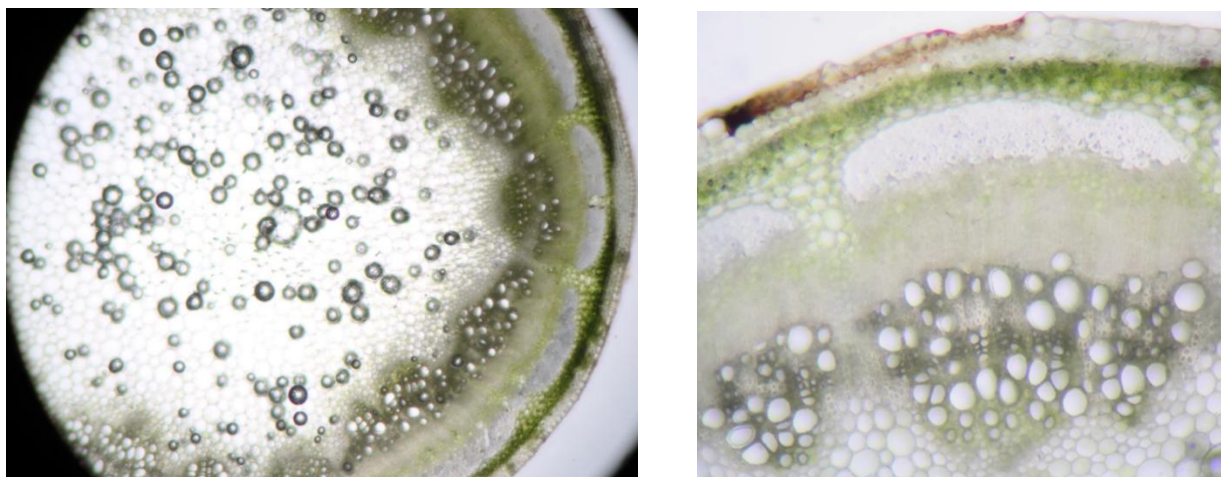


Рис. 3.15. Поперечний переріз через стебло, зб. 1:40, зб.1:100

Під епідермою розміщується дворядна пластинчаста коленхіма. Під коленхімою розміщений шар хлоренхіми, який між зоною луб'яних волокон стиснутий до трикутної форми. Зона луб'яних волокон за будовою нагадує півмісяці. В серцевині стебла міститься крупноклітинна запасуюча паренхіма.

При вивченні локалізації слизуу свіжій сировині астрагалу солодколистого з допомогою спиртового розчину метиленового синього (1:5000), на поперечному перерізі листової пластинки, рахіса і стебла чітко видно, що слизи накопичуються клітинах-ідіобластах запасуючої паренхіми (рис. 3.16). У поодиноких клітинах паренхіми забарвлення слизу з реактивом при проведенні дослідження на свіжій сировині залишається насиченого синього кольору. Пектинові речовини в міжклітинному просторі луб'яних волокон і клітин коленхіми забарвлюються в темно-синій колір.

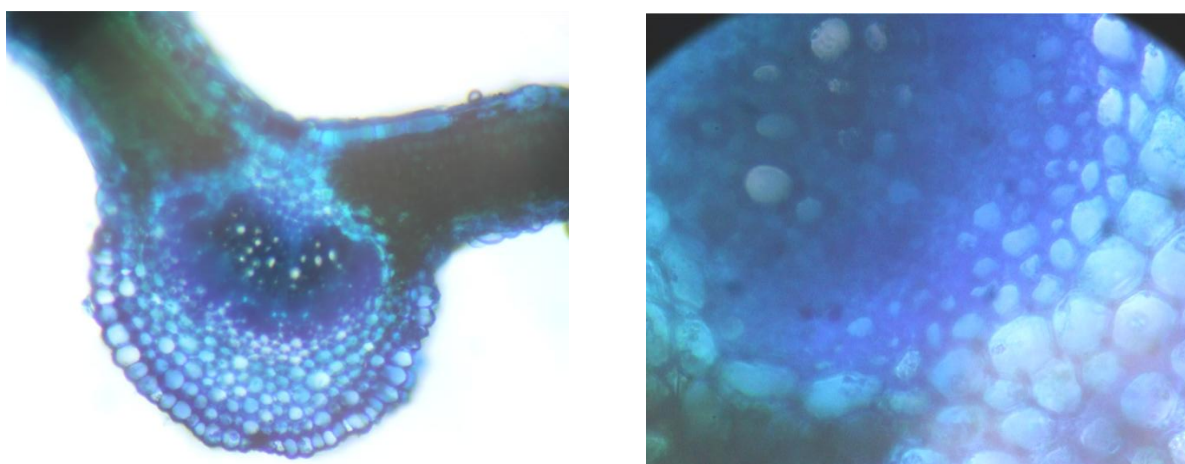


Рис. 3.16. Локалізація слизу і пектинових речовину свіжій сировині астрагалу солодколистого, зб. 1:100, зб.1:400

При вивченні локалізації фенольних сполук у свіжій сировині з використанням 3% розчину феруму (III) хлориду, на поперечному перерізі листової пластинки, рахіса і стебла (рис. 3.17) чітко видно, що фенольні сполуки накопичуються в ділянці флоєми, хлорофілоносної паренхіми та коленхіми.

Забарвлення фенольних сполук з реактивом при проведенні дослідження на свіжій сировині є темно-коричневого кольору.

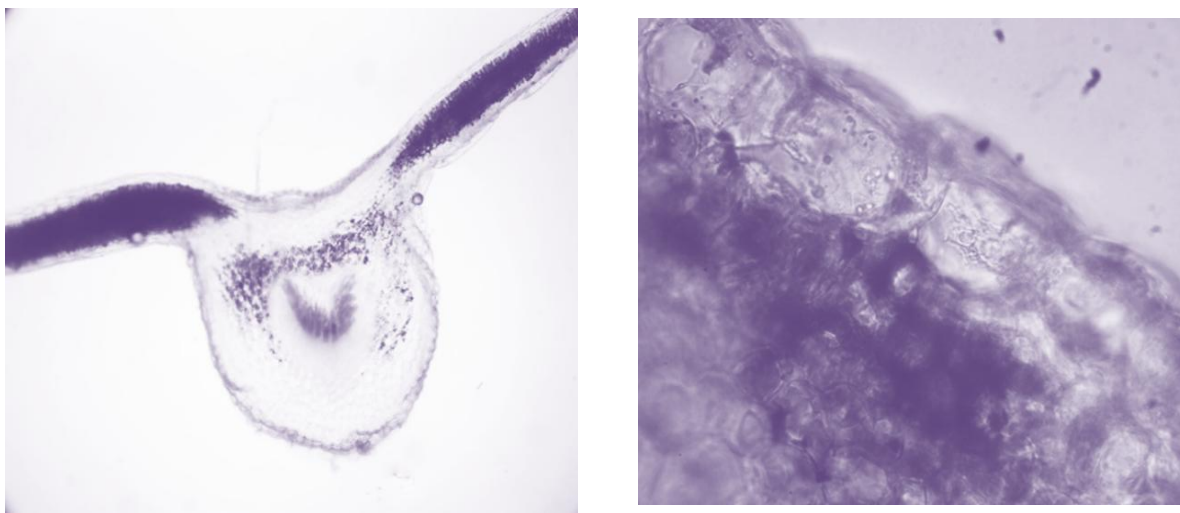


Рис. 3.17. Локалізація фенольних сполуку свіжій сировині астрагалу солодколистого, зб. 1:100, зб.1:400

Таким чином, нами проведено морфолого-анатомічне дослідження фрагментів висушених та свіжозібраних листків, стебел, рахісу та квіток; у результаті проведення аналізу поперечних зрізів із свіжої трави астрагалу солодколистого встановлено особливості локалізації слизу, пектинів та фенольних сполук в аналізованій рослинній сировині.

Серед важливих діагностичних мікроскопічних ознак сировини можна вважати трихоми листової пластини, які складаються з 1-2 коротких базальних клітин та однієї великої видовженої термінальної клітини з бородавчастою кутикулою; термінальна клітина прикріплюється до ніжки з базальних клітин одним зі своїх країв, який заокруглений, інший її край загострений.

Встановлені видові макро- і мікроскопічні характеристики надземної частини *Astragalus glycyphyllos* L. використано при складанні проєктів МКЯ на новий вид ЛРС – «Трава астрагалу солодколистого».

Висновки до розділу 3

1. Вивчено морфо-біологічні характеристики робінінвмісних видів роду Астрагал (*Astragalus glycyphyllus* L., *A. galegiformis* L., *A. falcatus* Lam.) і Леспедеца (*Lespedeza bicolor* Turcz.), інтродукованих в умовах Львова.

2. Проведено морфолого-анатомічне вивчення надземних сировинних органів астрагалу солодколистого – фрагментів висушених та свіжозібраних листків, стебел, рахісу та квіток; виявлено особливості локалізації слизу, пектинів та фенольних сполук.

3. Встановлені видові макро- і мікроскопічні характеристики надземної частини *Astragalus glycyphyllos* L. використано при опрацюванні проектів МКЯ на новий вид ЛРС – «Трава астрагалу солодколистого» як найбільш перспективної рослинної субстанції гіпоазотемічної дії.

Результати досліджень розділу 3 наведено в публікаціях:

1. Лисяк Р. М., Ковальська Н. П. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2019; 1:49–57. DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.1.9883>

2. 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.

3. 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.

4. 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 Teleuță [et al.]org. com.; 2017June1-3; Chișinău, Republic of Moldova: S. n., Tipogr. "Pixel Print"; 2017, p.91.

5. 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.

РОЗДІЛ 4

ФІТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ СИРОВИННИХ ОРГАНІВ ПЕРСПЕКТИВНИХ ФЛАВОНОЇДОВМІСНИХ РОСЛИН

4.1. Виявлення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот методом ТШХ

Ідентифікацію флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у досліджуваних зразках сировинних органів нами здійснено методом ТШХ [100, 133] (розділ 2, п. 2.2.3). Хроматограми розчинів порівняння і екстрактів зразків досліджуваних сировинних органів наведено на рисунках 4.1 та 4.2.

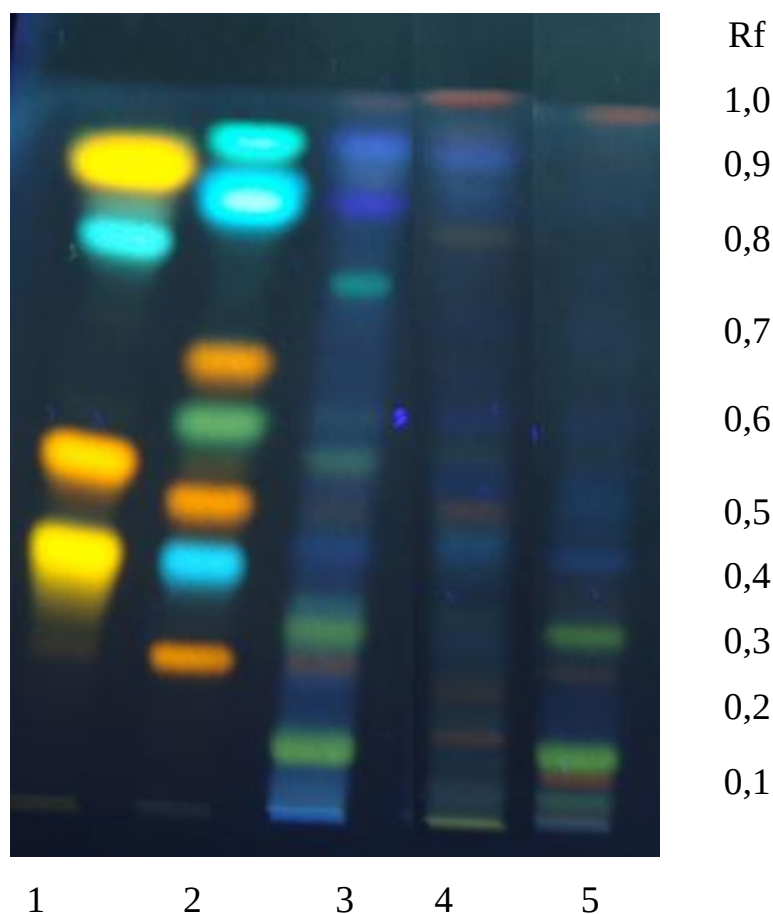


Рис. 4.1.Хроматограма флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у зразках видів родини Бобових (ТШХ)

Примітка: 1 – хроматограма розчину порівняння (гомоорієнтин, лютеолін-7-глюкозид, цикорієва кислота, лютеолін, кверцетин, апігенін; знизу вгору); 2 – хроматограма розчину порівняння (рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, апігенін-7-глюкозид, ізокверцетрин, розмаринова кислота, кавова кислота, кемпферол; знизу вгору); 3-5: хроматограми спиртових витягів із досліджуваних зразків видів родини Бобових: 3 – квітів робінії звичайної, 4 – трави астрагалу солодколистого, 5 – трави астрагалу серпоплодоного.

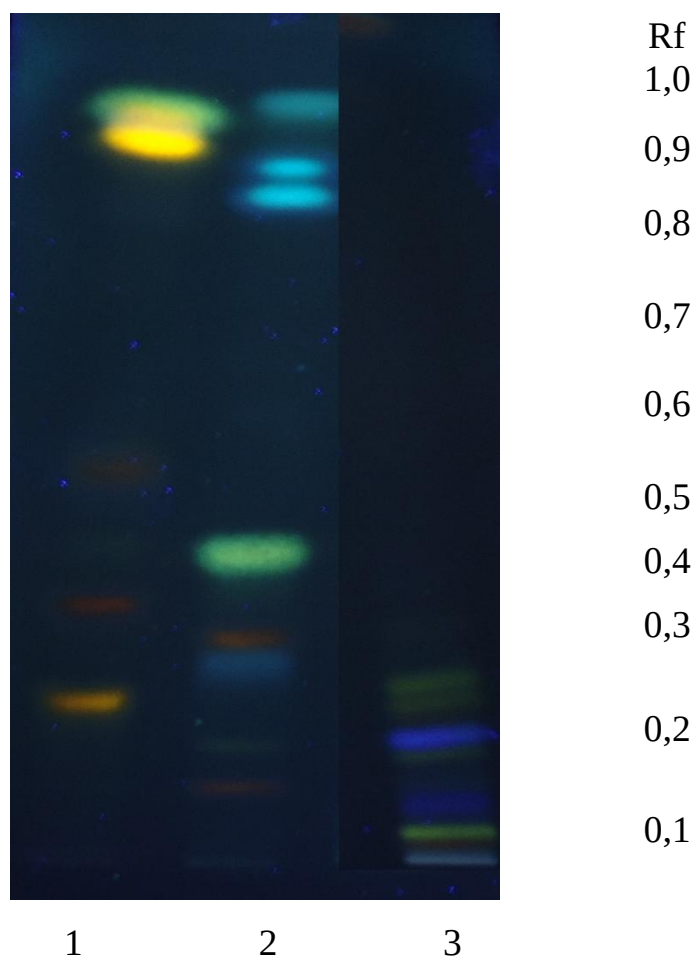


Рис. 4.2 Хроматограма флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у зразках трави астрагалу козлятничкоподібного (ТШХ)

Примітка: 1 – хроматограма розчину порівняння (гомоорієнтин, кверцетрин, ізокверцетрин, лютеолін, кверцетин, апігенін; знизу вгору); 2 – хроматограма розчину порівняння (рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, апігенін-7-глюкозид, розмаринова кислота, кавова кислота, кемпферол; знизу вгору); 3 – хроматограма спиртового витягу трави астрагалу козлятничкоподібного.

Проведеним аналізом методом ТШХ при детектуванні в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм у зразках аналізованих об'єктів виявлено зони із жовто-оранжевою, жовто-зеленою та блакитною флуоресценцією, що є характерним для фенольних сполук.

На основі характеру забарвлення і величин R_f зон на хроматограмах розчинів порівняння та випробовуваних екстрактів у зразках ідентифіковано:

хлорогенову кислоту, гомоорієнтин, рутин, гіперозид та апігенін (квітки робінії звичайної, зразок 13);кавову кислоту, гомоорієнтин, рутин, гіперозид, розмаринову кислоту й апігенін (трава астрагалу солодколистого, зразок 2); хлорогенову кислоту, кавову кислоту, гомоорієнтин, рутин та гіперозид (трава астрагалу серпоплодного, зразок 10). У траві астрагалу козлятникоподібного (зразок 8) методом ТШХ не виявлено спільних сполук з розчинами порівняння.

4.2. Вивчення складу флавоноїдів і гідроксикоричних кислот методом ВЕРХ

Визначення вмісту флавоноїдів та гідроксикоричних кислот (ГКК) у досліджуваних зразках сировинних органів нами виконано методом ВЕРХ [100,133](розділ 2, п. 2.2.4).

Оцінювання кількісного вмісту індивідуальних сполук класу флавоноїдів та ГКК здійснено методом внутрішньої нормалізації у відсотках від загального вмісту фенольних сполук. Типові хроматограми сполук-стандартів даних груп БАР наведено на рис. рис. 4.3., 4.4.

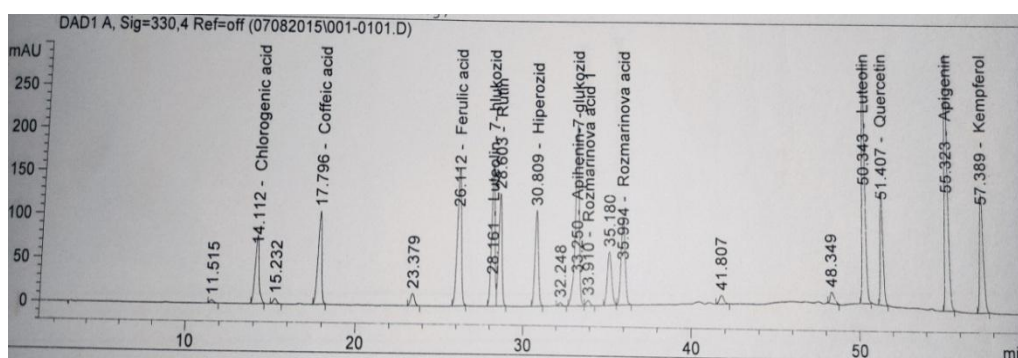


Рис. 4.3. Типова хроматограма суміші розчинів стандартів флавоноїдів та гідроксикоричних кислот методом ВЕРХ

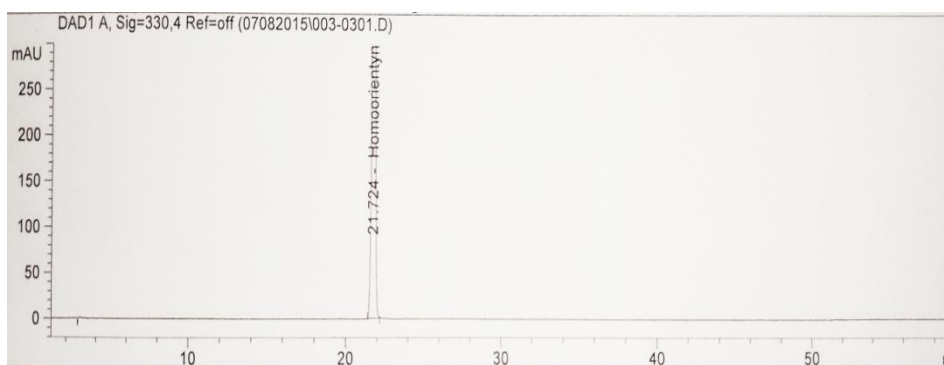


Рис. 4.4. Типова хроматограма ВЕРХ сполуки-стандарту гомоорієнтину

На даний час відомо, що флавоноїдні компоненти трави *A. glycyphyllos* представлені робініном, апігеніном, кемферолом та їхніми глікозидами, кверцитрином, ізорамнетином [44], 3-глікопіранозил окси- 4',5,7-тригідрокси-3'-метоксифлавоном, ізомуронулатолом [134].

У результаті проведеного аналізу методом ВЕРХ (рис. 4.5.), у траві астрагалу солодколистого (зразок 2) нами виявлено наявність кавової кислоти (2,91 %), гомоорієнтину (1,7%), рутину (1,98%), гіперозиду (6,31%), розмаринової кислоти (0,75%) та апігеніну (0,97%). Серед наведених сполук траві АС нами вперше ідентифіковано кавову та розмаринову кислоти, гіперозид, рутин, гомоорієнтин.

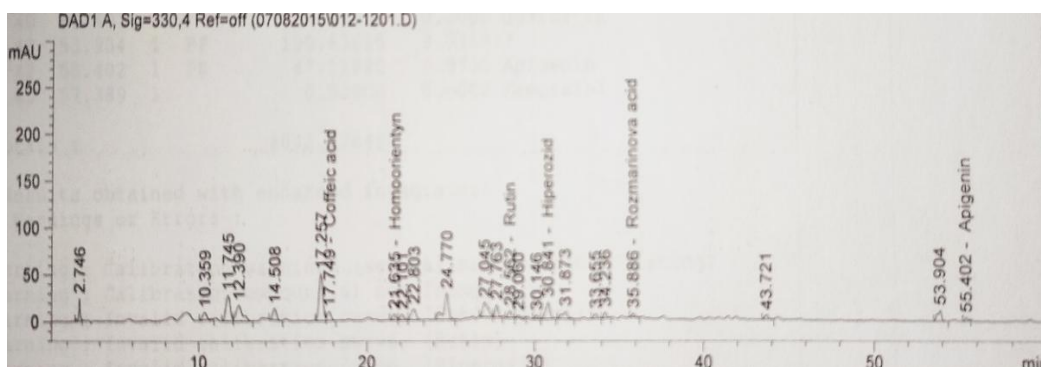


Рис. 4.5. ВЕРХ хроматограма екстракту трави астрагалу солодколистого

У даний час встановлено, що флавоноїдна фракція трави *A. falcatus* представлена робініном [3, 7, 92], кемпферол-3-O- β -рутинозидом [3, 92], які в індивідуальному стані чинять виражену гіпоазотемічну дію [1, 7, 15; 101]. Флавоноїдні олігозиди – фалкозиди А-Е – були ідентифіковані у листках та

квітках астрагалу серпоплодного [7]; серед них глікозид кверцетину фалкозид С і похідне ізорамнетину фалкозид D [124].

У літературних джерелах знаходимо дані, що надземні органи *Astragalus falcatus* містять гідроксикоричні кислоти [92], але склад індивідуальних сполук даної групи БАР не було вивчено.

У надземних органах культивованого виду астрагалу серпоплодного (зразок 10) нами методом ВЕРХ (рис. 4.6.) встановлено вміст хлорогенової кислоти (3,55%), кавової кислоти (2,61 %), гомоорієнтину (47,15%), рутину (3,13%) і гіперозиду (6,96%), у відсотках від загального вмісту фенольних сполук. Усі з наведених сполук трави астрагалу серпоплодного (хлорогенову і кавову кислоту, гомоорієнтин, рутин і гіперозид) нами ідентифіковано вперше.

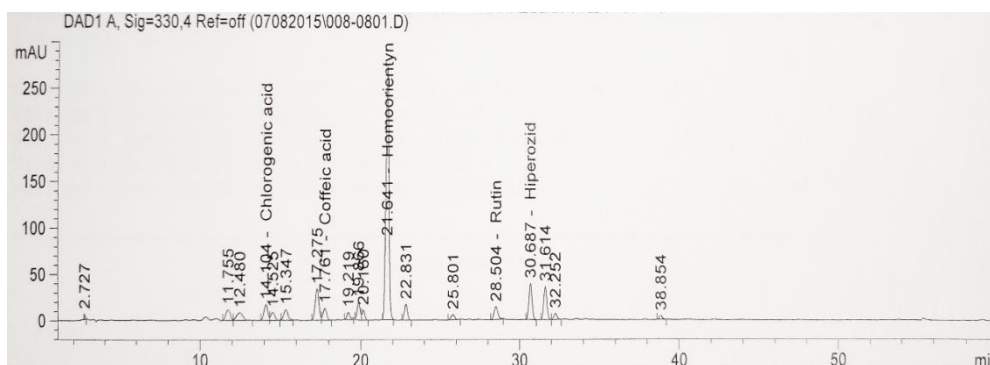


Рис. 4.6. ВЕРХ хроматограма екстракту трави астрагалу серпоплодного

Враховуючи наявність у складі аналізованої сировини значного вмісту гомоорієнтину, сполуки, яка в індивідуальному статі виявляє значну гіпоазотемічну активність, нами у подальшому проведено фармакологічне вивчення сумарного екстракту надземних органів *A. falcatus*, з метою встановлення ренальних механізмів дії та перспективи використання при захворюваннях сечовидільної системи.

У даний час відомо, що флавоноїдна фракція надземних органів *Astragalus galegiformis* представлена астрагаліном, кемпферолом, робініном, астрагалегозидом, глікозидами ізорамнетину, флагалозидами А-D, що є глікозидами кверцетину та ізорамнетину [7,124]. Важливо зазначити, що

сировинні органи досліджуваної рослини містять БАР, які в індивідуальному стані виявляють значну гіпоазотемічну дію, зокрема робінін та ізоастралегозид [1, 7].

У доступних літературних джерелах нами не знайдено даних по вивченню гідроксикоричних кислот у сировинних органах *A. galegiformis*.

Проведеним аналізом методом ВЕРХ у траві астрагалу козлятничкоподібного (зразок 8) ідентифіковано ферулову кислоту (13,89%) та лютеолін-7- глюкозид (30,94%), у відсотках від загального вмісту фенольних сполук (рис. 4.7).

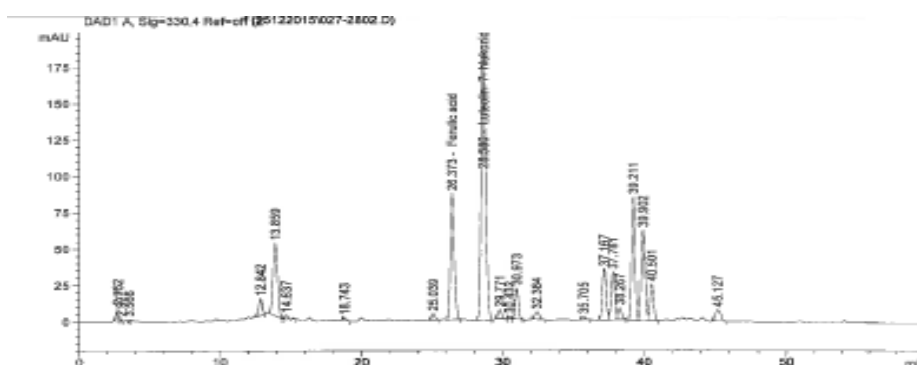


Рис. 4.7. Хроматограма ВЕРХ екстракту трави астрагалу козлятничкоподібного

Зважаючи на присутність у складі трави астрагалу козлятничкоподібного високого вмісту лютеолін-7- глюкозиду (цинарозиду), який в індивідуальному статі чинить помітну гіпоазотемічну дію, нами у подальшому проведено фармакологічне вивчення сумарного екстракту надземних органів досліджуваного виду для встановлення ренальних механізмів активності.

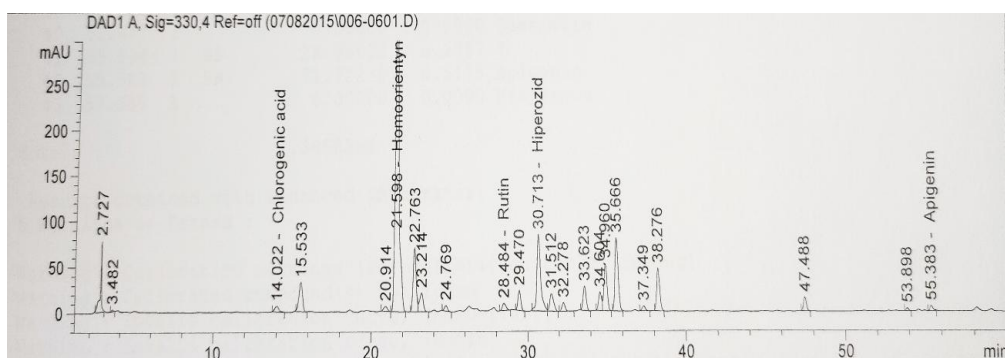


Рис. 4.8. ВЕРХ хроматографа екстракту квіток робінії звичайної

Методом ВЕРХ (рис. 4.8) у квітках робінії звичайної (зразок 13) ідентифіковано та визначено вміст (від загального вмісту фенольних сполук): хлорогенової кислоти (0,81%), гомоорієнтину (41,79%), рутину (0,89%), гіперозиду (9,95%) і апігеніну (0,52%). Серед зазначених сполук гомоорієнтин нами ідентифіковано вперше.

4.3. Встановлення якісного і кількісного вмісту катехінів і галової кислоти методом ВЕРХ з УФ-детектуванням

Проведений аналіз літературних джерел свідчить, що вивчення складу індивідуальних сполук класу катехінів у сировинних органах астрагалу солодколистого раніше не проводилось.

Проте у дослідженнях даної ЛРС визначався кількісний вміст катехінів [70] і сумарний вміст фенолів у перерахунку на галову кислоту [143, 245].

Лобановою (2011) за допомогою спектрофотометричного методу кількісно визначено суму катехінів, у перерахунку на катехін, у зразках різних морфологічних груп *A. glycyphyllos*, зібраних у передмісті Новосибірська (Російська Федерація) протягом різних періодів вегетації [70]. У насінні аналізованого виду спостерігався найвищий вміст (0,25%, у перерахунку на суху речовину) на початку плодоношення; вміст катехінів у листках коливався від 0,14% до 0,21%, у стеблах та оплоднях – 0,04–0,11%, у квітках досягав 0,11% на початку періоду цвітіння[70].

Загальний вміст флавоноїдів у зразках трави астрагалу солодколистого з Республіки Македонія становив 1,62 мг еквівалента катехіну / г, фенолів – 15,93 мг еквівалента галової кислоти / г, у перерахунку на суху речовину[245]. Для зразків молодих особин *A. glycyphyllos*, зібраних у Латвії, Butkutė *et al.* (2017) встановили, що вміст конденсованих дубильних речовин є меншим межі виявлення (3,2 мг еквівалента катехіну / г); загальний вміст

фенольних сполук у траві АС становив 18,5 мг під час цвітіння та 17,1 мг еквівалента галової кислоти / г на стадії стеблуння)[143].

Враховуючи можливий вклад поліфенольних сполук класу катехинів у прояв нефропротекторної активності [147, 170, 222], нами здійснено експериментальне вивчення вмісту катехинів (флаван-3-олів) та галової кислоти у надземних органах *A. glycyphyllos* методом ВЕРХ з УФ-детектуванням (розділ 2, п. 2.2.5.).

У результаті проведеного аналізу методом ВЕРХ з УФ-детектуванням водного екстракту трави *A. glycyphyllos* L. нами було виявлено та кількісно визначено 5 індивідуальних флаван-3-олів та галову кислоту (рис. 4.9., 4.10; табл. 4.1).

Отримані експериментальні дані щодо кількісного вмісту катехинів і галової кислоти у надземних органах астрагалу солодколистого наведено у таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Вміст катехинів і галової кислоти у *Astragali glycyphylli herba*

№	Час утримування, хв	λ , нм	Ідентифікована сполука	Кількісний вміст, мг/г
1	12.30	280	галова кислота	0.4
2	16.74	280	(-)-галокатехін	3.7
3	21.55	280	(-)-епігалокатехін	1.7
4	23.19	280	(+)-катехін	0.2
5	26.17	280	(-)-епікатехін	0.5
6	31.69	280	(-)-епікатехінгалат	0.2
Сумарний вміст				6.7

Серед ідентифікованих сполук даного класу БАР діапазон значень кількісного вмісту становив від 0,2 до 3,7 мг/г, а найбільший вміст встановлено для (-)-галокатехіну (3.7 мг/г) і (-)-епігалокатехіну (1.7 мг/г).

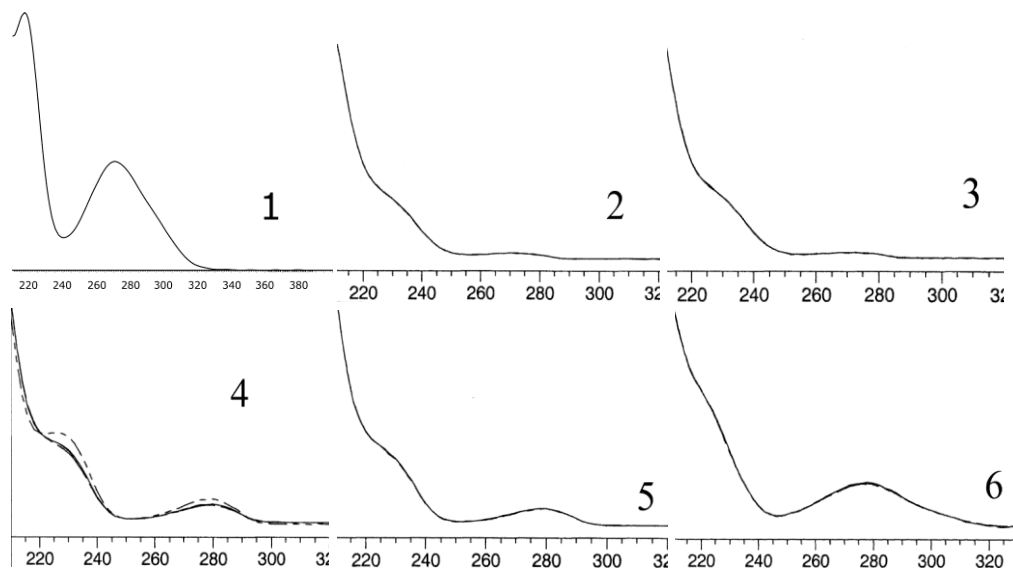


Рис. 4.9. УФ-спектри суміші стандартів катехінів та галлової кислоти при 280 нм: 1 – галлова кислота; 2 – галокатехін; 3 – епігалокатехін; 4 – катехін; 5 – епікатехін; 6 – епікатехін-галлат

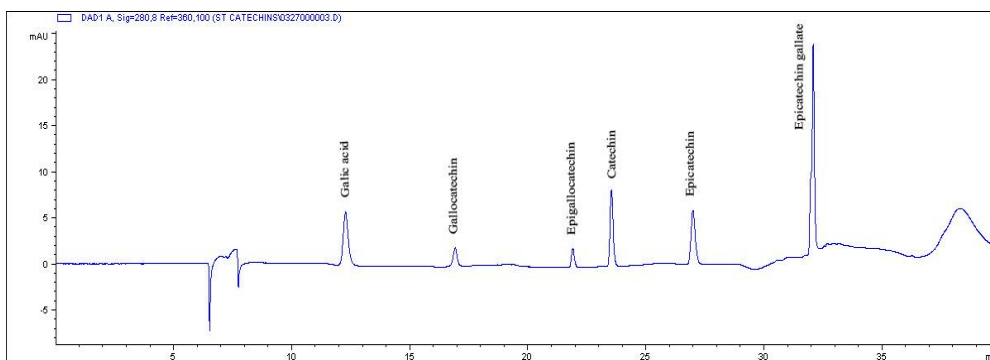


Рис. 4.10.Хроматограма ВЕРХ з УФ-детектуванням катехінів і галлової кислоти при 280 нм

Слід зазначити, що нами серед флавоно-3-олів встановлено наявність катехіну і епікатехіну галату у траві *A. glycyphyllos*, для яких в індивідуальному стані на різних експериментальних моделях ушкодження нирок продемонстровано [147, 222, 170] гіпоазотемічну активність.

4.4. Дослідження якісного і кількісного вмісту гідроксикоричних кислот методом ВЕРХ

Беручи до уваги, що дослідження різних видів біологічно активних речовин у рослинних субстанціях є важливим для подальшої розробки методів контролю якості рослинних препаратів та оптимізації їх медичного застосування, одним із завдань дослідження стало дослідження якісного складу і кількісного вмісту гідроксикоричних кислот методом ВЕРХ у надземних органах астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.). Слід зазначити, що для деяких з ГКК в індивідуальному стані встановлено нефропротекторну активність [122, 127, 140], а трава АС раніше не досліджувалась на вміст даного класу сполук.

З літературних джерел відомо, що трава астрагалу солодколистого містить гідроксикоричні кислоти [92], проте склад індивідуальних компонентів даного класу БАР не вивчався.

У результаті проведеного нами аналізу методом ВЕРХ (розділ 2, п. 2.2.6.) у досліджуваній рослинній сировині при довжинах хвиль 320 і 330 нм вперше виявлено та кількісно визначено наступні 5 сполук класу ГКК: хлорогенову, кавову, *n*-кумарову, ферулову та розмаринову кислоти. Найвищий кількісний вміст серед гідроксикоричних кислот у траві астрагалу солодколистого виявлено для *n*-кумарової кислоти – 1314 мг/кг (0,13%), а найменший – у кавової кислоти 84 мг/кг (0,01%).

Ідентифікацію гідроксикоричних кислот проводили методом ВЕРХ шляхом порівняння зі значеннями часу утримування та УФ-спектрами стандартних речовин. Результати ВЕРХ аналізованих зразків трави *Astragalus glycyphyllos* L. представлені на рисунках 4.11 і 4.12.

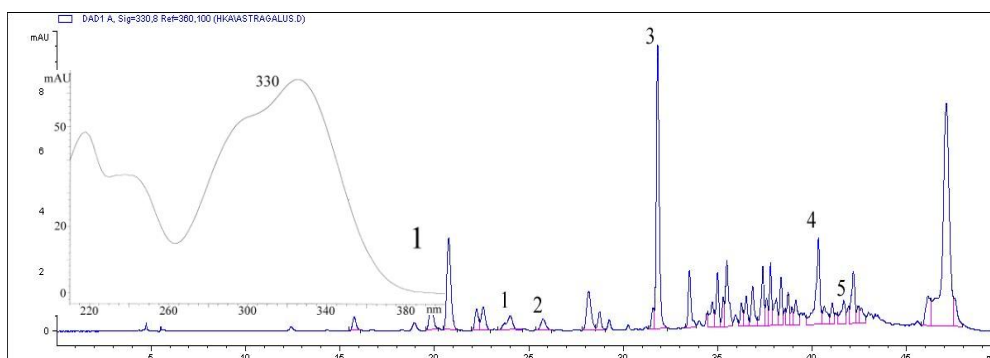


Рис. 4.11. Хроматограма трави *Astragalus glycyphyllos* L. при $\lambda = 330$ нм:
1 – хлорогенова кислота; 2 – кавова кислота, 3 – *n*-кумарова кислота; 4 –
ферулова кислота; 5 – розмаринова кислота

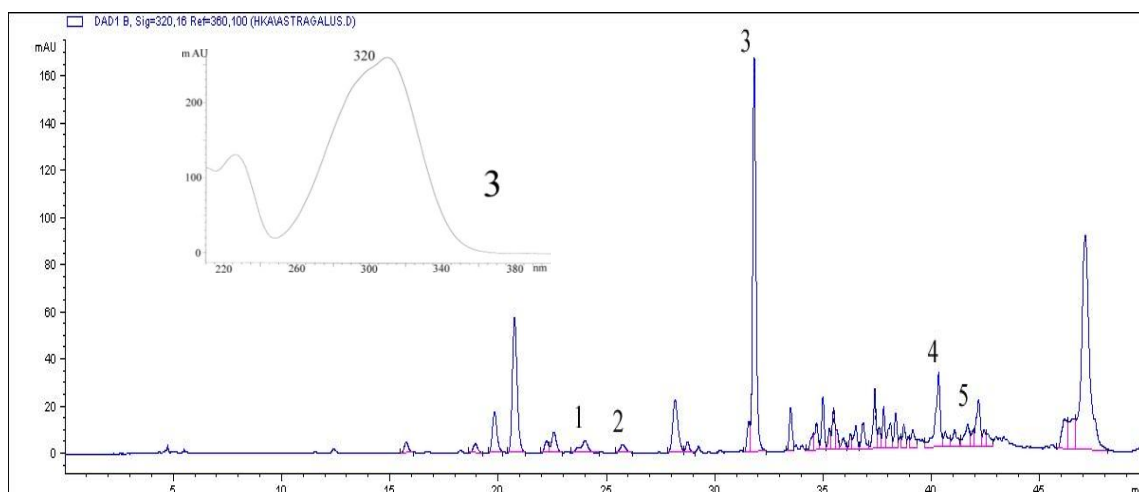


Рис. 4.12. Хроматограма трави *Astragalus glycyphyllos* L. при $\lambda = 320$ нм:
1 – хлорогенова кислота; 2 – кавова кислота, 3 – *n*-кумарова кислота; 4 –
ферулова кислота; 5 – розмаринова кислота

Отримані результати (час утримання та кількості ідентифікованих сполук) по визначенню вмісту гідроксикоричних кислот методом ВЕРХ у надземних органах *Astragalus glycyphyllos* L. представлено у таблиці 4.2.

Встановлено, що трава астрагалу солодколистого з-поміж гідроксикоричних кислот містить найбільшу кількість *n*-кумарової кислоти – 1314 мг/кг (0,13%), далі у порядку зменшення кількісного вмісту представлені ферулова кислота – 562 мг/кг (0,06%), хлорогенова кислота –

254 мг/кг (0,03%), розмаринова кислота – 155 мг/кг (0,015%) та кавова кислота – 84 мг/кг (0,01%).

Враховуючи, що деякі з ідентифікованих нами гідроксикоричних кислот в індивідуальному стані виявляють гіпоазотемічну активність, їх наявність у траві астрагалу солодколистого може, принаймні частково, сприяти позитивному впливу на сечовидільну систему, завдяки нефропротекторним механізмам даного класу БАС.

Таблиця 4.2

Вміст гідроксикоричних кислот у траві *Astragalus glycyphyllos* L.

Представник класу сполук ГКК	Час утримування (хв)	Кількісний вміст (мг/кг)	Вміст (%)
Хлорогенова кислота	23,99	254	0,03
Кавова кислота	25,74	84	0,01
<i>n</i> -Кумарова кислота	31,80	1314	0,13
Ферулова кислота	40,31	562	0,06
Розмаринова кислота	41,66	155	0,015

4.5. Вивчення якісного складу і кількісного вмісту моносахаридів методом ГРХ-МС

Зважаючи на недостатнє вивчення компонентного складу сахаридів, адже відомо лише, що рослина містить маніт і D-глюкозу [92], а також те, що різні види сахаридів мають важливий вплив на прояв біологічних ефектів

видів роду *Astragalus* L. [229], нами вивчено сахаридний склад трави *Astragalus glycyphyllos* L.

Вміст моносахаридів надземної частини астрагала солодколистого нами було встановлено у рослинному матеріалі методом визначення вільних моносахаридів, який ґрунтується на екстракції даного класу сполук та отриманні їх ацетильованих альдононітрилів з подальшим аналізом методом газорідинної хроматографії- мас- спектрометрії (ГРХ-МС) [88, 148, 163] (розділ 2, п. 2.2.7).

Усього нами виявлено 9 сполук моносахаридної структури. Моносахариди було ідентифіковано шляхом порівняння значень часу утримування з достовірними зразками моносахаридів (манноза, глюкоза, сорбіт і сахароза), а також мас-спектрів електронної бібліотеки NIST 02. Найбільший вміст серед моносахаридів у траві астрагалу солодколистого, заготовленого у стадії цвітіння, було встановлено для (+)-пінітолу, D-глюкози та сахарози.

Хроматограми стандартних зразків сахаридів представлені на рисунках 4.14 і 4.15, а досліджуваної ЛРС – на рисунку 4.16.

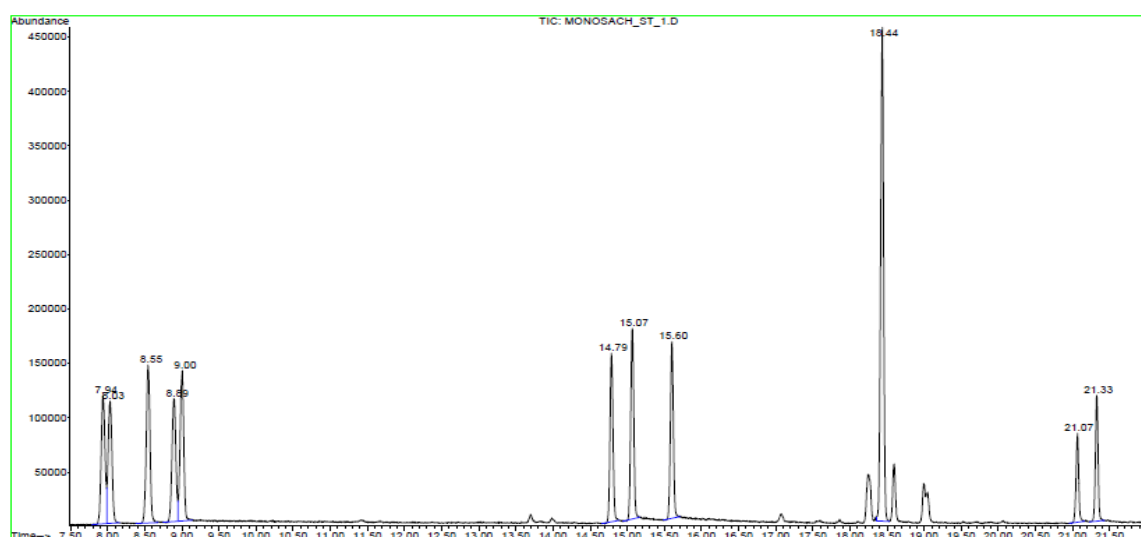


Рис. 4.14. Типова хроматограма стандартних зразків моносахаридів (час утримування)

Відзначені ГРХ-піки на хроматограмі для стандартного розчину моносахаридів, за зростанням значення часу утримання RT, відповідають рибозі, рамнозі, арабінозі, ксилозі, фукозі, маннозі, глюкозі, галактозі, сорбіту та фруктозі 1,2 (сахарозі).

Загалом у надземних органах астрагалу солодколистого ідентифіковано 9 моносахаридних сполук: β -D-арабінофураноза, D-манноза, D-глюкоза, β -L-рамнофуранозид, (+)-пінітол, L-ідітол, міо-інозитол, D-сорбіт, сахароза.

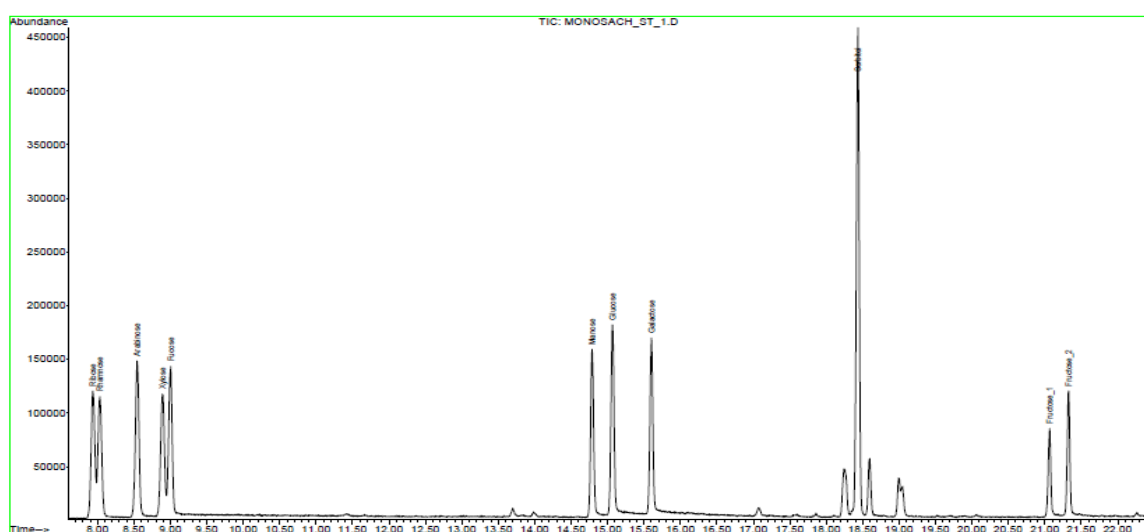


Рис. 4.15. Типова хроматограма стандартних зразків моносахаридів (час утримування)

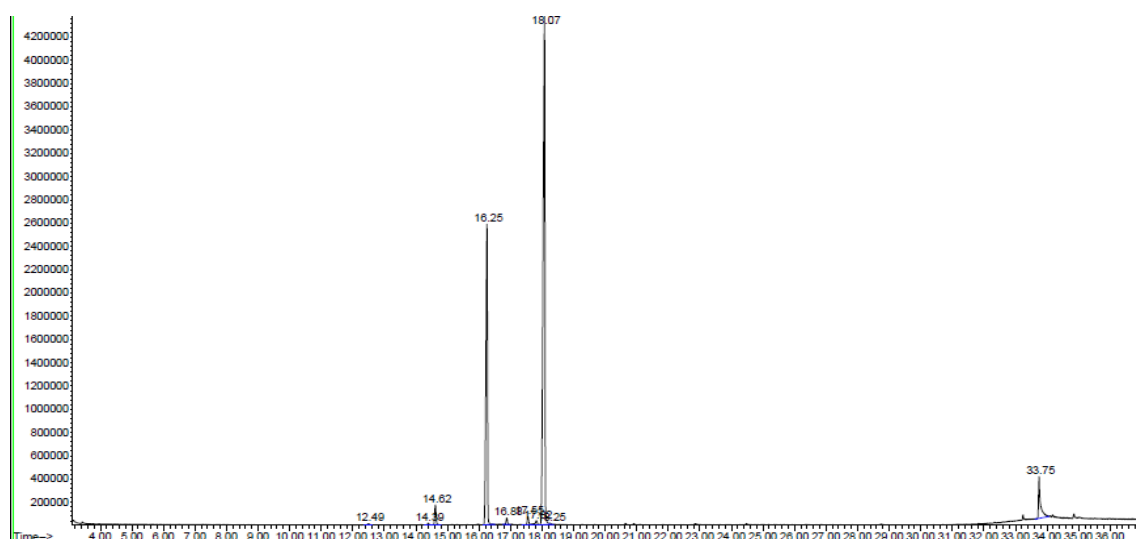


Рис. 4.16. Хроматограма аналізованих зразків трави *Astragalus glycyphyllos* L. методом ГРХ-МС

Наявність маннози, глюкози, сорбіту та сахарози в аналізованих сировинних органах також було підтверджено порівнянням зі значеннями часу утримування стандартних моносахаридів. Отримані дані (час утримання, назви ідентифікованих сполук та їх кількісний вміст) при застосуванні методу ГРХ/МС з метою визначення вмісту моносахаридів у надземних органах *Astragalus glycyphyllos* L. представлені в таблиці 4.3.

Таблиця 4.3

Виявлені у надземній частині *Astragalus glycyphyllos* L.

похідні моносахаридів

Пік	Час утримування (R.T.)	Ідентифікатор сполуки у базі даних (Library/ID)	Площа піку на хроматограмі	Вміст (мг/кг)	Ідентифікований моносахарид
1	12,494	1-nitro- β -D-arabinofuranose tetraacetate	556085	0,1195	β -D-арабінофураноза
2	14,39	2,3,4,5,6-penta-O-acetyl-D-manonitrile	590781	0,127	D-манноза
3	14,619	2,3,4,5,6-penta-O-acetyl-D-gluconitrile	5199420	1,1176	D-глюкоза
4	15,975	methyl-5-O-acetyl- β -L-rhamnofuranoside	219941	0,0473	β -L-рамнофуранозид
5	16,251	(+)-pinitol pentaacetate	87932699	18,9004	(+)-пінітол
6	16,88	L-iditol hexaacetate	1685289	0,3624	L-ідітол
7	17,552	myo-inositol hexaacetate	1994244	0,4286	міо-інозитол
8	18,074	D-sorbitol hexaacetate	Вн.станд .	Вн.станд.	D-сорбіт
9	33,752	sucrose octaacetate	14745884	3,1695	сахароза

Найвищий вміст серед моносахаридів у надземних частинах *Astragalus glycyphyllos* L. було встановлено для (+)-пінітолу (18,9004 мг/кг), сахарози (3,1695 мг/кг) і D-глюкози (1,1176 мг/кг). Вміст індивідуальних моносахаридів серед ідентифікованих у траві астрагалу солодколистого є у межах від 0,0473 мг/кг до 18,9004 мг/кг.

4.6. Встановлення якісного і кількісного вмісту мікроелементів методом ААС/ЕА

У пацієнтів з ХНН у сироватці крові спостерігається низька концентрація селену і зниження активності тромбоцитарної глутатіонпероксидази [181], яка, як і органічний та неорганічний селен, чинить протекторний ефект при цисплатин-індукованій нефротоксичності [155]. У діалізних пацієнтів суттєво зменшуються концентрації і деяких інших мікроелементів (Zn, Cu, Mn), знижується рівень регуляції Cu-Zn супероксиддисмутази та Mn супероксиддисмутази [181]. Недостатність мангану, що входить до молекули аргінази, яка каталізує розщеплення аргініну з утворенням сечовини, корелює зі зниженням кліренсу креатиніну [165]

Враховуючи вищенаведені дані щодо важливості мікроелементів для запобігання розвитку ниркових захворювань та при корекції станів нефротоксичності, у перспективних видах ЛРС нами встановлено кількісний вміст мікроелементів методом атомно-абсорбційної спектроскопії з електротермічною атомізацією (ААС/ЕА) після повної мікрохвильової мінералізації зразків за переведення їх в розчинну форму та визначенні концентрації в розчинах (метод стандартних добавок, ДФУ) з коригуванням непитомої абсорбції фону матриці по методу Зеємана в закритих аналітичних автоклавах [29, 120, 203] (розділ 2, п. 2.2.8).

Дані щодо кількісного вмісту деяких мікроелементів у надземних органах досліджуваних видів роду Астрагал, визначеного за допомогою

методу атомно-абсорбційної спектроскопії, представлено у табл. 4.4.

Аналіз зразків надземних органів культивованих видів роду Астрагал вказує, що вміст фізіологічно важливих мікроелементів перебував у межах: для мангану 16,2 - 56,8 мг/кг, цинку 10,1 - 14,2 мг/кг, купруму 3,7 - 4,5 мг/кг, селену 0,29 - 0,4 мг/кг. Слід зазначити, що вміст кобальту для усіх видів був однаковим і становив 0,08 мг/кг. Астрагал солодколистий характеризувався найвищим вмістом мангану та цинку, астрагал серпоплодий – селену. Вміст купруму виявлено найвищим у надземних частинах астрагалу серпоплодного і астрагалу козлятниковидного.

Встановлені кількості підтверджують [71] можливість застосування сировинних органів аналізованих видів у етіотропній та симптоматичній терапії, для регулювання порушень мікроелементного балансу в організмі людини при ниркових захворюваннях.

Таблиця 4.4

Кількісний вміст мікроелементів досліджуваних зразках надземних органів видів роду Астрагал

Вид, № зразка	Манган, мг/кг	Мідь, мг/кг	Селен, мг/кг	Свинець, мг/кг	Кадмій, мг/кг	Цинк, мг/кг	Кобальт, мг/кг
Астрагал серпоплодий, <i>A. falcatus</i> Lam., зразок 11	16,2	4,5	0,4	0,14	0,005	12,5	0,08
Астрагал козлятниковидний, <i>Astragalus galegiformis</i> L., зразок 8	29,6	4,5	0,29	0,18	0,01	10,1	0,08
Астрагал солодколистий, <i>Astragalus glycyphyllos</i> L., зразок 1	56,8	3,7	0,31	0,19	0,009	14,2	0,08

Літературні джерела подають дані дослідження вмісту 17 мікроелементів методом рентгенофлуоресцентного аналізу з використанням синхротронного випромінювання у різних фазах розвитку та морфологічних групах астрагалу солодколистого [69], заготовленого з дикорослої популяції в околицях Новосибірська, лісостепова зона Західного Сибіру (Російська Федерація). Варто зазначити, що вміст селену не визначався, проте у цій публікації цитуються три дослідження по вивченню мікроелементного складу трави АС, одне з яких проведене у Казахстані, а два інших у Російській Федерації: вміст мікроелементів значно варіював залежно від ґрунтово – кліматичних умов [69].

У літературних джерелах нами знайдено дані єдиного дослідження [112] мікроелементного складу (Cu, Zn, Mn, Fe, Mo, Co) у траві астрагалу козлятникоподібного, культивованого у Республіці Північна Осетія – Аланія; максимальне накопичення даних мікроелементів спостерігалось у фазі бутонізації (мг/кг): купруму $4,27 \pm 0,22$, цинку $146,3 \pm 3,65$, марганцю $35,08 \pm 2,05$, феруму $146,3 \pm 3,65$, молібдену $0,05 \pm 0,032$, кобальту $1,18 \pm 0,05$.

Наявні літературні дані щодо єдиного дослідження [71] вмісту мікроелементів у траві астрагалу серпоплодного, культивованого на ділянках Всесоюзного інституту лікарських рослин, м. Москва; досліджувані сировинні органи містили терапевтичні (згідно класифікації Анрі Пікара) концентрації Cu, Zn, Mn у добових дозах ЛРС (50 - 200 мкг); вміст мікроелементів встановлено методом атомно-сорбційної спектрофотометрії (мкг/г): Mn– 0.25, Cu– 0.20, Se– 5.63, Pb– 0.07, Zn– 0.20, Co– 0.13.

Вміст мікроелементів у надземних органах досліджуваних видів рослин, визначений нами методом атомно-абсорбційної спектроскопії, дозволяє рекомендувати рослинні субстанції на їх основі для подальших фармакологічних досліджень, зокрема як перспективних нефропротекторних засобів.

Визначений вміст селену свідчить про те, що досліджувані видине є гіперакумуляторами селену та, відповідно, можуть рекомендуватись для застосування у фармацевтичній промисловості як джерела нових видів ЛРС. За вмістом свинцю та кадмію аналізовані зразки рослинної сировини відповідають вимогам, що регламентуються директивами ВООЗ [253, 256]: не більше 10 мг/кг та 0,3 мг/кг відповідно.

4.7. Дослідження кореляції між вмістом суми флавоноїдів та окремих мікроелементів

Нами проведено визначення вмісту суми флавоноїдів у зразках рослинної сировини з України, Румунії та Білорусі, яка містить значні кількості даного класу сполук. Для аналізу обрано методику колориметричного визначення з розчином хлориду алюмінію [266], що дозволяє кількісно визначати флавоноїди у перерахунку на рутин при аналітичній довжині хвилі 510 нм (розділ 2, п. 2.2.9).

З метою встановлення подібності і відмінності, особливостей залежності між вмістом суми флавоноїдів та окремих мікроелементів, нами проаналізовано кількісний вміст есенціальних мікроелементів, а також сумарний вміст флавоноїдів у 65 зразках флавоноїдовмісних рослинних препаратів, що походили з України, Румунії та Білорусі.

У таблиці 4.5. наведено дані аналізу сировинних органів двох з 9 ботанічних видів, стандартизованих за вмістом флавоноїдів, які нами у подальшому було введено до складу розробленого збору гіпоазотемічної дії.

Результати проведених експериментальних досліджень показують, що аналізовані метали у зразках сировини кількісно містились в наступному порядку: Fe > Mn > Zn > Cu, як у вихідній сировині, так і отриманих настоях.

В аналізованих комерційних зразках листя і квіток глоду встановлені наступні діапазони значень сумарного вмісту мікроелементів: феруму –

90,43 – 206,88 мг/кг, цинку – 14,00 – 206,87 мг/кг, мангану – 21,06 – 35,04 мг/кг, міді – 2,41 – 4,27 мг/кг. Досліджені комерційні зразки трави споришу містили: феруму – 237,12 - 509,38 мг/кг, цинку – 10,31 – 28,94 мг/кг, мангану – 33,52 – 85,84 мг/кг, купруму – 2,04 – 6,05 мг/кг.

Таблиця 4.5

**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	Листя і квітки глоду	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	Трава споришу	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

ex – кількісний вміст мікроелемента, що екстрагується водою

Н.В. – не визначено (менше нижчої межі чутливості)

* – у перерахунку на суху речовину

Загальний вміст флавоноїдів, визначений в аналізованих зразках листя і квіток глоду і трави споришу, коливався у межах від 17,98 до 112,16 мг/г, від 24,15 до 43,02 мг/г, у перерахунку на рутин і суху речовину, відповідно.

Кілька суттєвих кореляцій, з використанням мультиваріантних статистичних методів – методу головних компонент (PCA, principal component analysis), кластерного аналізу – встановлено між аналітами,

особливо між вмістом екстрагованого у воду Fe з іншими металами, а також суми флавоноїдів і Fe, Zn та Mn.

Дисперсійний аналізом виявлено значні відмінності серед досліджуваних зразків через їх походження з різних країн, особливо між зразками з Білорусії та інших держав.

Спостерігались також відмінності у вмісті мікроелементів внаслідок приналежності до різних ботанічних видів, особливо вмісту Fe у *Polygoni aviculare herba*, у порівнянні з іншими ботанічними видами. Лише у випадку кількісного вмісту Zn, різниця серед різних видів рослин не була статистично значущою ($\alpha < 0,05$). Щодо інших металів та їх настоїв, ці відмінності були значними, як і для загального вмісту флавоноїдів.

Для верифікації, чи є різниця між середніми концентраціями Fe, Mn, Zn та Cu, і сумарним вмістом флавоноїдів статистично значущою, нами застосовано односторонній аналіз дисперсії (ANOVA). Цим статистичним методом виявлено, що лише для двох мікроелементів, а саме загального Cu та екстрагованого у воду Fe, відмінності між зразками, що походять з Білорусії, у порівнянні з аналітами з України та Румунії, були значущими ($\alpha < 0,05$). Це підтвердив post hoc Т'юкі тест (post hoc Tukey test), у якому розраховані значення p були значно нижчими, ніж довірчий інтервал 0,05.

Що стосується відмінностей між рівнем інших мікроелементів і загальним вмістом флавоноїдів, вони були незначними.

Враховуючи важливість мікроелементів у комплексній нефропротекторній дії рослинних засобів [155, 165, 181], нами проведено дослідження кількісного вмісту фізіологічно важливих мікроелементів методом полум'яно-атомної абсорбційної спектроскопії (розділ 2, пункт 2.2.9) у заготовлених флавоноїдвмісних видах ЛРС, до складу яких входять маркери нефропротекторної активності. Також здійснено визначення у даних зразках суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин [266]. Отримані дані щодо вмісту мікроелементів та флавоноїдів наведено у таблиці 4.6.

В аналізованих зразках трави астрагалу солодколистого, трави астрагалу серпоплодного, листя берези, трави споришу та листя і квіток глоду встановлені наступні 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.

Загальний вміст флавоноїдів, визначений в аналізованих зразках, коливався у межах від 7,3 до 32.6 мг/г, у перерахунку на рутин і суху речовину.

Таблиця 4.6

Вміст мікроелементів (мг/г) і суми флавоноїдів (мг/г)*у досліджуваних зразках ЛРС, середнє значення $\pm$ SD

№ зразка	Назва ЛРС	Ферум (Fe), мг/кг	Цинк (Zn), мг/кг	Манган (Mn), мг/кг	Купрум (Cu), мг/кг	Сума флавоноїдів
3	Трава астрагалу солодколистого	67.3 $\pm$ 2.1	29.2 $\pm$ 0.1	17.5 $\pm$ 0.1	8.6 $\pm$ 0.1	14,8 $\pm$ 0.4
4	Трава астрагалу солодколистого	65.2 $\pm$ 1.5	27.5 $\pm$ 0.2	10.2 $\pm$ 0.1	6.9 $\pm$ 0.1	15,3 $\pm$ 0.3
5	Трава астрагалу солодколистого	102.0 $\pm$ 1.5	50.1 $\pm$ 0.2	17.6 $\pm$ 0.2	13.6 $\pm$ 0.3	7,3 $\pm$ 0.3
10	Трава астрагалу серпоплодного	106.7 $\pm$ 1.8	20.7 $\pm$ 0.1	8.6 $\pm$ 0.1	2.7 $\pm$ 0.1	7,5 $\pm$ 0.4
14	Листя берези	54.2 $\pm$ 0.1	108.7 $\pm$ 0.1	52.8 $\pm$ 0.1	6.8 $\pm$ 0.1	20.2 $\pm$ 0.3
15	Листя берези	71.9 $\pm$ 0.1	125.0 $\pm$ 0.1	88.4 $\pm$ 0.2	5.8 $\pm$ 0.1	15.6 $\pm$ 0.6
16	Листя берези	73.5 $\pm$ 0.2	156.0 $\pm$ 0.1	65.0 $\pm$ 0.1	7.6 $\pm$ 0.1	26.1 $\pm$ 0.3
17	Трава споришу	122.4 $\pm$ 1.7	89.1 $\pm$ 0.4	176.8 $\pm$ 0.2	9.2 $\pm$ 0.1	10.5 $\pm$ 0.1
18	Трава споришу	69.9 $\pm$ 2.2	60.4 $\pm$ 0.2	49.8 $\pm$ 0.2	6.2 $\pm$ 0.1	9.2 $\pm$ 0.2
19	Листя і квітки глоду	267.4 $\pm$ 1.0	42.9 $\pm$ 0.6	20.3 $\pm$ 0.4	12.3 $\pm$ 0.2	32.6 $\pm$ 0.3
20	Листя і квітки глоду	238.8 $\pm$ 7.2	55.1 $\pm$ 0.2	20.4 $\pm$ 0.4	9.4 $\pm$ 0.1	28.6 $\pm$ 0.3
21	Листя і квітки глоду	99.0 $\pm$ 0.9	52.4 $\pm$ 0.2	17.4 $\pm$ 0.8	14.0 $\pm$ 0.2	18.0 $\pm$ 0.2

* – у перерахунку на суху речовину

4.8. Розробка методики кількісного визначення вмісту флавоноїдів у траві астрагалу солодколистого методом диференціальної спектрофотометрії

Для опрацювання проекту методів контролю якості на траву астрагалу солодколистого (розділ «Кількісне визначення»), нами розроблено та апробовано методику кількісного визначення суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин і кверцетин, на основі методологічного підходу, описаного у публікаціях Hudz *et al.* [167-169].

1,0 мл отриманих розчинів аналітичних маркерів змішували з 1,0 мл 2 % хлориду алюмінію гексагідрату в 50 % етанолі. Об'єм 2 % хлориду алюмінію гексагідрату в 50 % етанолі замінювали однаковим об'ємом 50 % етанолу в розчині порівняння для кожного з розчинів аналітичних маркерів. Розчини перемішували на електромішалці. Після витримування розчинів за кімнатної температури протягом 75–85 хв вимірювали поглинання реакційними сумішами за довжини хвилі максимуму поглинання – 425 нм для кверцетину дигідрату та 410 нм для рутину тригідрату (рис. 4.17). Середнє значення трьох вимірювань використовували для кожної концентрації активного маркера.

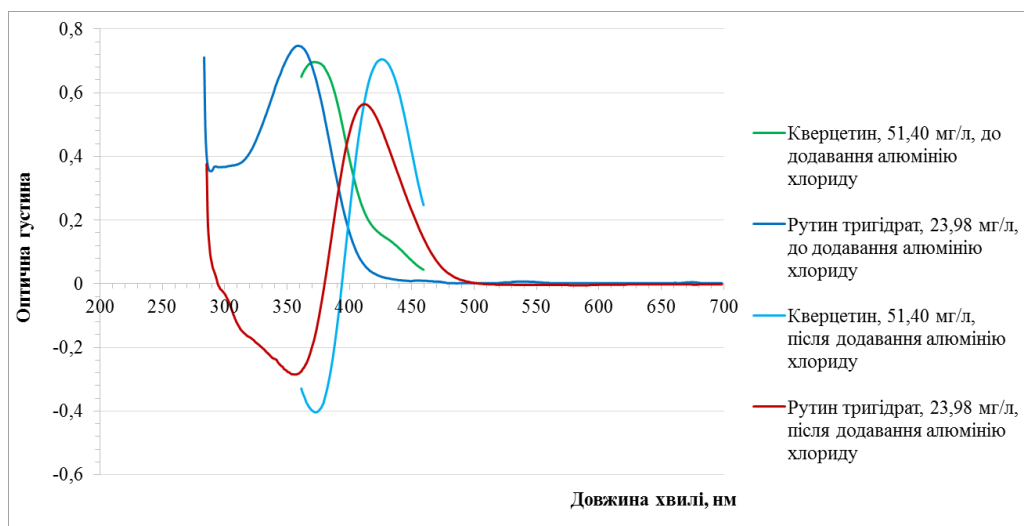


Рис. 4.17. Спектри поглинання стандартних зразків рутину і кверцетину до і після додавання алюмінію хлориду

Калібрувальні криві кверцетину дигідрату (рис. 4.18) й рутину тригідрату (рис. 4.19) будували у діапазоні концентрацій 5,9–29,5 мг/л і 20,12–100,6 мг/л, відповідно. Рівняння для калібрувальних кривих кверцетину дигідрату та рутину тригідрату, в мг/л, відповідно, є наступними: $Y_Q = 0,0276 \cdot X_1 + 0,0009$ і $Y_R = 0,0095 \cdot X_2 - 0,0199$.

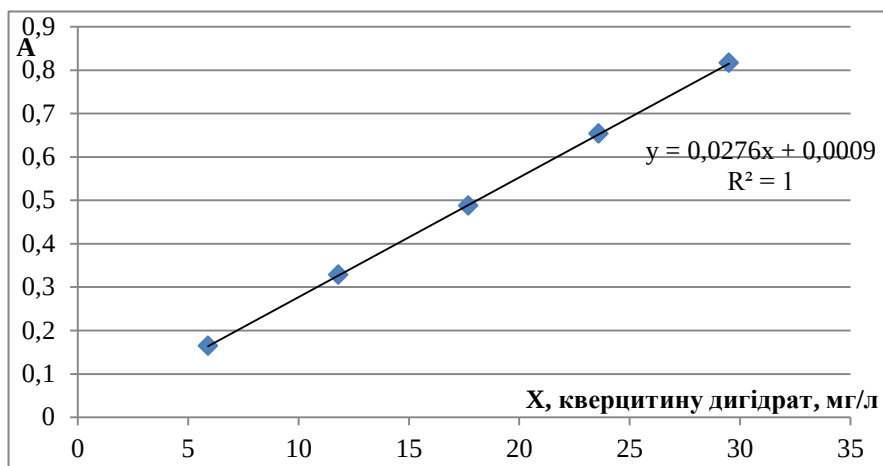


Рис. 4.18. Калібрувальна крива поглинання стандартного зразка кверцетину дигідрату

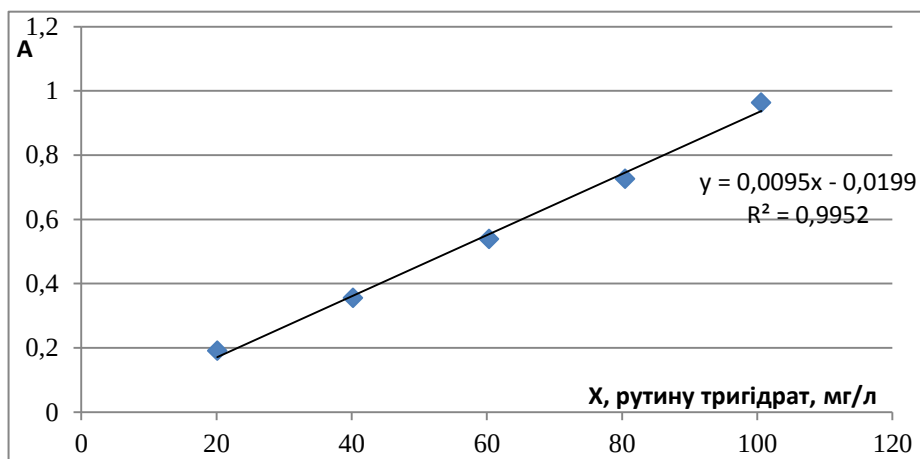


Рис. 4.19. Калібрувальна крива поглинання стандартного зразка рутину тригідрату

Подібним чином, 0,1 мл екстракту трави астрагалу солодколистого, отриманого з подрібненої сировини, яку настоюють упродовж доби в розчині етанолу та фільтрують, розбавляли 50% етанолом до 1,0 мл і змішували з 1,0 мл 2,0 % розчину хлориду алюмінію гексагідрату. Для розчину порівняння

об'єм 2% хлориду алюмінію гексагідрату в 50 % етанолі замінювали таким ж об'ємом 50 % етанолу.

Суміш перемішували на електромішалці та витримували її протягом 75-85 хв, у деяких випадках до 120 хв, за кімнатної температури. Збільшення часу реакції використовували для дослідження стабільності комплексів алюмінію хлориду з флавоноїдами астрагалу солодколистого.

Для визначення сумарного вмісту флавоноїдів нами вибрано поглинання диференціальних спектрів екстрактів за довжини хвилі 400 нм, яку було встановлено як максимум поглинання для суміші алюмінію хлориду з екстрактами.

Для визначення сумарного вмісту флавоноїдів використовували необхідні розрахунки для перерахунку дигідрату кверцетину в кверцетин, тригідрату рутину в рутин і об'єму екстракту, взятого для аналізу. Визначали середнє значення трьох вимірювань, у мг еквівалентах кверцетину або рутину на 1 л, екстракту трави астрагалу солодколистого.

Як свідчать дані, 70 % етанол екстрагує найбільшу кількість флавоноїдів трави астрагалу солодколистого.

Наявність максимуму поглинання за довжини хвилі 400 нм і найбільшої екстракції 70 % етанолом певною мірою вказують на вміст флавонів та глікозидів флавонолів, які мають максимум поглинання за довжини хвилі від 385 до 395 нм і 410-412 нм, відповідно [167, 168].

Рутин і кверцетин мають максимум поглинання за довжини хвилі 412 нм і 427 нм; дані маркери були обрані як комерційно доступні стандартні зразки для проведення фітохімічних досліджень.

Вимірювали оптичну густину реакційних сумішей за довжини хвилі поглинання 400 нм.

Випробовування здійснювали для кожного екстракту трави астрагалу солодколистого (30 %, 50 % і 70 % етанолу) тричі.

Отримані результати визначення наведено у таблиці 4.7.

Таблиця 4.7.

**Вміст суми флавоноїдів у траві астрагалу солодколистого,
визначеної методом диференціальної спектрофотометрії**

Концентрація етанолу, %	Уміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин (екстракт $\pm$ SD екстракт $\pm$ RSD сировина $\pm$ RSD)	Уміст суми флавоноїдів у перерахунку на кверцетин (екстракт $\pm$ SD екстракт $\pm$ RSD сировина $\pm$ RSD)
30	495,03 мг/л $\pm$ 27,95 мг/л 495,03 мг/л $\pm$ 5,65 % 6,93 мг/г $\pm$ 5,65 %	159,00 мг/л $\pm$ 2,62 мг/л 159,00 мг/л $\pm$ 1,65 % 2,23 мг/г $\pm$ 1,65 %
50	567,56 мг/л $\pm$ 39,55 мг/л 567,56 мг/л $\pm$ 6,97 % 7,95 мг/г $\pm$ 6,97 %	183,28 мг/л $\pm$ 6,51 мг/л 159,00 мг/л $\pm$ 3,55 % 2,57 мг/г $\pm$ 3,55 %
70	589,80 мг/л $\pm$ 28,91 мг/л 589,80 мг/л $\pm$ 4,90 % 8,26 мг/г $\pm$ 4,90 %	190,72 мг/л $\pm$ 2,95 мг/л 190,72 мг/л $\pm$ 1,54 % 2,67 мг/г $\pm$ 1,54 %

SD – стандартне відхилення

RSD – відносне стандартне відхилення

Результати проведених дослідження з визначення кількісного вмісту флавоноїдів у траві астрагалу солодколистого, використовуючи метод диференціальної спектрофотометрії з хлоридом алюмінію при встановленому максимумі поглинання екстрактів 400 нм у 50% етанолі (м/м), нами враховано при розробці відповідного розділу проєкту МКЯ на зазначений вид сировини.

Висновки до розділу 4

1. 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.

2. 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 %), *n*-кумарової (0,13 %), ферулової (0,06 %) та розмаринової (0,015 %).
3. Уперше проведено ідентифікацію та визначення кількісного вмісту індивідуальних моносахаридів у надземних органах астрагалу солодколистого, використовуючи метод ГРХ-МС.
4. Визначено кількісний вміст найбільш важливих мікроелементів у фізіологічному і токсикологічному аспектах у надземних органах астрагалу солодколистого, астрагалу серпоплодного і астрагалу козлятникоподібного.
5. 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 серпоплодного, 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.
6. 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.

Результати досліджень розділу 4 наведено в публікаціях:

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*. 2018 Mar;182(1):169-177.
2. 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; 18(2): 241-247, DOI: <https://doi.org/10.3329/dujps.v18i2.44464>
 3. 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.
 4. 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.
 5. 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.
 6. Lysiuk R., Skibitska M., Stecko M.-P. GLC/MS – Determination of Monosaccharides Contents in Above-Ground Portions of *Astragalus glycyphyllos* L. *Медичнийфорум*. 2015;6(06):66–69.
 7. 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.
 8. 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.

9. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Лещишин М.М. Інтродукційне та фітохімічне вивчення астрагалу козлятничкоподібного. 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.

10. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Хтей Х.І. Вивчення фенольного складу трави астрагалу серпоплодного. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів. Матеріали VII наук.-пр.конф. з міжн.уч.; 2018 Вер 27-28; Тернопіль : Укрмедкнига; 2018, с. 27-28.

РОЗДІЛ 5

ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТІВ ВИДІВ РОДУ АСТРАГАЛ І ФІТОЧАЮ НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ (ГІПОАЗОТЕМІЧНОЇ) ДІЇ

Гіпоазотемічній складовій відводиться важлива роль у комплексній нефропротекторній активності, оскільки при порушеннях функції нирок, нефрони нездатні належно здійснювати фільтрацію, що веде до гіперазотемічних станів, внаслідок накопичення в організмі продуктів азотного обміну. Декомпенсоване прогресування захворювань нирок до термінальної стадії ХНН найбільш часто зумовлене діабетичною нефропатією, хронічним гломерулонефритом, гіпертензивною нефропатією, хронічним пієлонефритом [86].

Для фармакологічних досліджень, враховуючи отримані дані попереднього фітохімічного скринінгу, вибрано види родини *Fabaceae* та інші флавоноїдвмісні лікарські рослини України з достатньою сировинною базою.

Види роду *Astragalus* L. родини Бобові застосовують у етномедицині багатьох країн, зокрема як діуретичні і серцево-судинні засоби. *Astragalus membranaceus* (астрагал монгольський) – важлива лікарська рослина традиційної медицини, яка використовувалася протягом тисячоліть у Китаї та Східній Азії при захворюваннях нирок. Ін'єкційна форма *A. membranaceus* виявляє терапевтичний ефект у пацієнтів з діабетичною нефропатією (ДН), зокрема нефропротекторний вплив і поліпшення системного стану (рівень альбуміну в сироватці) [185]. Дані клінічних досліджень свідчать, що застосування відварів коренів цього офіційного за ДФУ виду знижує протеїнурію, покращує рівень загального альбуміну у плазмі крові хворих з нефротичним синдромом [267].

Завданням даного фрагменту дисертаційного дослідження стало вивчення впливу сумарних екстрактів надземної частини астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.), астрагалу козлятникоподібного

(*Astragalus galegiformis* L.), астрагалу серпоплодного (*Astragalus falcatus* Lam.), а також розробленого фітозасобу у формі збору «Нефропротектол» на показники функції нирок лабораторних тварин, використовуючи експериментальну модель гострої сулемової нефропатії.

5.1. Скринінгові дослідження гіпоазотемічної дії екстрактів видів роду Астрагал

З метою пошуку перспективних нефропротекторних засобів, замінників імпортової субстанції на основі леспедеци двоколірної (*Lespedeza bicolor* Turcz.), з використанням експериментальної моделі гострої нефропатії, індукованої введенням сулеми [25], дотримуючись міжнародних вимог гуманного поводження з лабораторними тваринами, нами досліджено *in vivo* вплив сумарних екстрактів надземних органів астрагалу солодколистого, астрагалу козлятникоподібного та астрагалу серпоплодного на показники функції нирок лабораторних тварин.

Експериментальне фармакологічне дослідження гіпоазотемічної активності і гострої токсичності аналізованих рослинних екстрактів проведено на 114 дорослих щурах-самцях, масою 180 - 240 г.

На етапі скринінгового вивчення нами проведено дослідження на 36 щурах, які були розподілені на 6 груп по 6 особин у кожній: інтактні тварини, групи модельної патології, референт-препарату, екстрактів астрагалу солодколистого, астрагалу серпоплодного і астрагалу козлятникоподібного.

Як референс - препарат обрано лікарський засіб Леспефлан, який застосовують як гіпоазотемічний і діуретичний засіб для симптоматичної терапії при хронічній нирковій недостатності. Гіпоазотемічну і сечогінну дію засобу його розробниками [25] вивчалось власне на моделі сулемової нефропатії: препарат виявив здатність знижувати рівень сечовини та креатиніну у крові та активувати їх виведення нирками, підвищувати діурез й клубочкову фільтрацію; механізм гіпоазотемічної дії референс-засобу

пов'язують з пригніченням активності печінкової аргінази, яка відіграє ключову роль у детоксикації продуктів обміну азоту - креатиніну і сечовини.

Скринінговими *invivo* дослідженнями гіпоазотемічної активності сумарних рослинних екстрактів (розділ 2, п. 2.2.10) встановлено здатність екстрактів досліджуваних флавоноїдвмісних видів роду *Astragalus*L. помітно знижувати у щурів рівень креатиніну і сечовини крові в умовах експериментальної нефропатії (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Зміни функціональних показників нирок щурів на моделі гострої ниркової недостатності *invivo* при скринінговому дослідженні рослинних екстрактів ($M \pm SD$, $n=36$)

Дослідна група	Креатинін крові, мкмоль/л	Гіпоазотемі чна активність за креатиніно м, %	Сечовина крові, ммоль/л	Гіпоазотемі чна активність за сечовиною, %
1 група (інтактні тварини)	38,43±2,40	X	3,40±0,16	X
2 група (модельна патологія)	651,12±116,17 p1=0,025	X	78,35±6,94 p1=0,025	X
3 група (МП+ референс- препарат)	548,97±111,03 p1=0,034 p2=0,327	15,69	22,90±17,38 p1=0,034 p2=0,014	70,77
4 група (МП+ екстракт астрагалу солодколистого)	274,13±250,48 p1=0,013 p2=0,020	57,9	20,31±21,64 p1=0,013 p2=0,003	82,1
5 група (МП+ екстракт астрагалу серпоплодного)	541,67±108,59 p1=0,025 p2=0,076	16,81	26,86±5,45 p1=0,025 p2=0,009	65,71
6 група (МП+ екстракт астрагалу козлятникоподібного)	433,80±163,42 p1=0,034 p2=0,086	33,38	30,34±2,05 p1=0,034 p2=0,014	62,3

МП – модельна патологія; P1 – рівень значущості відмінностей порівняно з групою 1 (інтакт); P2 - рівень значущості відмінностей порівняно з групою 2 (МП)

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.

Отримані дані проведених *in vivo* скринінгових фармакологічних досліджень ренальних механізмів дії свідчать про наявність вираженої гіпоазотемічної активності: у групах щурів, яким додатково до нефротоксину вводили комплекс біологічно активних речовин надземних органів *Astragalus glycyphyllos*, *A. galegiformis*, *A. falcatus* та препарат порівняння Леспефлан, концентрації креатиніну і сечовини крові були нижчими у порівнянні з групою модельної патології. Гіпоазотемічна активність за креатиніном досліджуваних екстрактів становила у діапазоні 16,81 – 57,9%, за сечовиною – 62,3 – 82,1 %. Результати представлені у таблиці 5.1.

Присутністю у сировинних органах досліджених нами представників роду Астрагал, наявних на території України, терапевтичних маркерів гіпоазотемічної активності, насамперед флавоноїдної структури, можна пояснити прояв зазначеної дії, яка була встановлена *in vivo* дослідженнями: робініну, гомоорієнтину, гіперозиду та деяких інших БАР у траві астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos*), робініну й ізоастрагалегозиду у надземних органах астрагалу козлятникоподібного (*A. galegiformis*), кемпферол-3-О- β -рутинозиду і робініну у надземній частині астрагалу серпоплодного (*A. falcatus*).

Наявність гіпоазотемічної дії екстрактів досліджуваних видів роду Астрагал, встановленої у скринінгових дослідженнях, вказало на доцільність подальшого вивчення механізмів нефропротекторної дії, з метою розробки рослинних засобів зазначеної активності.

5.2. Вивчення ренальних механізмів дії екстракту трави астрагалу солодколистого

Для поглибленого фармакологічного дослідження, за результатами скринінгового дослідження з використанням експериментальної моделі сулемової нефропатії, вибрано екстракт трави астрагалу солодколистого.

Варто зазначити, що відвар трави АС у народній вітчизняній і зарубіжній медицині рекомендується як сечогінний засіб при захворюваннях нирок та сечовивідних шляхів, при каменях нирок; водно-спиртові екстракти чинять антибактеріальну активність. Листя та насіння *A.glycyphyllos* використовуються на Кавказі при сечокам'яній хворобі, олігурії [9, 23, 48, 92].

На стадії вивчення ренальних 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, розподілених на 5 груп по 6 тварин у кожній, відповідно до доз аналізованого екстракту (100, 200, 300, 400, 500 мг/кг маси тіла).

На даному етапі дослідження для встановлення ренальних механізмів дії додатково проаналізовано вміст сечовини і креатиніну у сечі щурів з використанням моделі гострої сулемової нефропатії.

Проведено визначення гострої токсичності екстракту трави астрагалу солодколистого. Внутрішньошлункове введення досліджуваного екстракту у максимальній дозі (500 мг/кг маси; DL_{50}) 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[103].

В усіх групах досліджувані препарати вводили перорально щодня, починаючи за тиждень до відтворення патології [38]. Результат застосування даного підходу свідчить, що проходження однотижневого курсу прийому аналізованого екстракту трави астрагалу солодколистого до введення нефротоксину, у групах модельної патології, референс-препарату і трави АС 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 АС, порівняно з групою модельної патології. Результати наведено у таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Вміст сечовини і креатиніну у сечі та плазмі крові щурів на моделі гострої сулемової нефропатії при дослідженні екстракту трави астрагалу (M±SD, n=24)

Група тварин	Сечовина плазми крові, ммоль/л	Креатинін плазми крові мкмоль/л	Сечовина сечі, ммоль/л	Креатинін сечі, мкмоль/л
1 група (інтактні тварини)	7,43±2,06	44,40±9,09	87,50±5,74	12,48±2,36
2 група (модельна патологія)	10,20±2,15 p1= 0,142	84,76±10,84 p1= 0,014	67,48±4,25 p1= 0,014	6,64±1,02 p1= 0,014
3 група (МП+ референс-препарат)	7,82±1,40 p1= 0,462 p2=0,076	60,96±9,83 p1= 0,050 p2=0,016	76,58±7,66 p1= 0,027 p2=0,076	10,58±2,94 p1= 0,110 p2=0,009
4 група (МП+ екстракт астрагалу солодколистого)	8,52±0,38 p1= 0,199 p2=0,100	72,07±6,25 p1= 0,011 p2=0,100	72,25±6,15 p1= 0,011 p2=0,068	8,58±0,45 p1= 0,011 p2=0,008

МП – модельна патологія

P1 – рівень значущості відмінностей порівняно з групою 1 (інтакт)

P2 – рівень значущості відмінностей порівняно з групою 2 (МП)

Проведеним дослідженням встановлено наступні показники загального аналізу сечі білих щурів в умовах гострої експериментальної нефропатії, що є важливим для розуміння ренальних механізмів дії екстракту трави астрагалу солодколистого:

за показником прозорості сечі у всіх досліджуваних групах, яким вводився нефротоксин, вона відзначена як слабо-мутна; питома вага знижується від норми та групи інтактного контролю (1015 - 1020) до 900-950; кетонові тіла, глюкоза, білірубін і уробіліноген, як і у нормі, відсутні.

За значенням реакції (рН) сечі та вмістом білка досліджувані групи відрізняються: у групі модельної патології рН визначено у межах 9,5-10,0, інтактного контролю 7,0- 7,5, групах, яким додатково до нефротоксину, вводили екстракт трави астрагалу солодколистого 9,0-9,5, референс-препарат Леспефлан – 9,0-10,0; у інтактній групі білок відсутній, групі модельної патології концентрація білка у сечі сягає 10,0 г/л, а у групах екстракту трави астрагалу солодколистого і референс-препарату не перевищує 3,0 г/л.

Також виконано порівняльний гістологічний аналіз структурних змін ниркової тканини у тварин групи, якій додатково до нефротоксину вводили екстракт астрагалу солодколистого, з групою модельної патології.

Проведене патоморфологічне вивчення структури нирок щурів виявило в обох групах у різній мірі гострий екстракапілярний серозний нефрит, тубулонекроз проксимальних та дистальних канальців, а також вогнищеву проліферацію лімфоepітеліальних елементів.

У групі модельної патології наявні некротичні зміни нефротеліоцитів як проксимальних, так і дистальних канальців та десквамація клітин нефротелію у просвіт канальця (рис. 5.1).

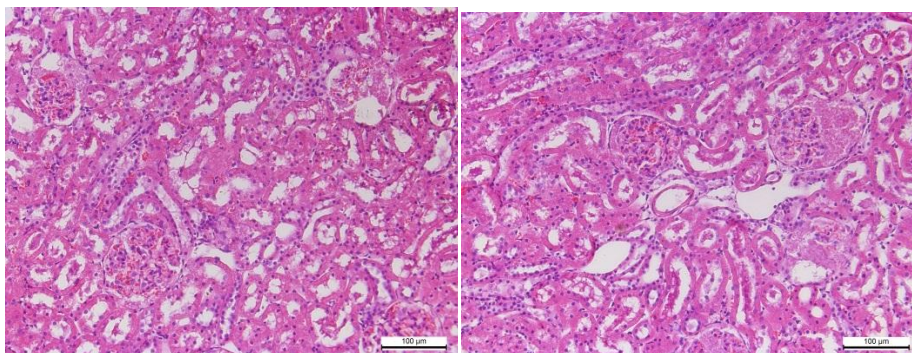


Рис. 5.1. Препарат нирки щура із гострою сулемовою нефропатією на 4 добу. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 36×100

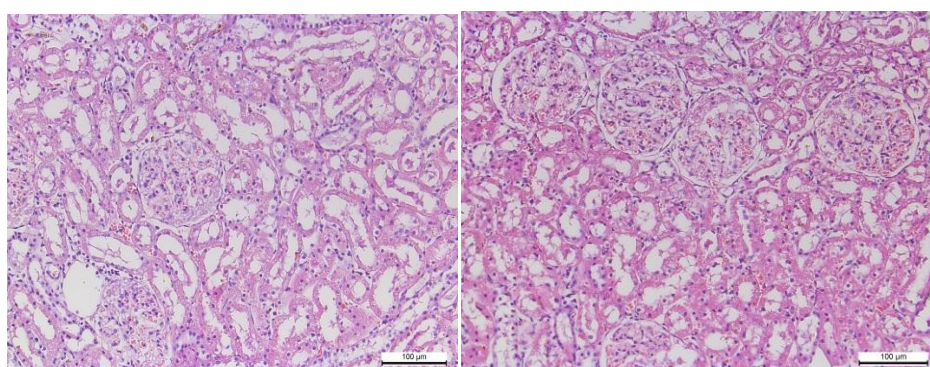


Рис. 5.2. Препарат нирки щура із гострою сулемовою нефропатією на 4 добу на фоні введення екстракту трави АС. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 36×100

У групі, якій на моделі сулемової нефропатії вводили екстракт трави астрагалу солодколистого, відзначено виражену клітинну проліферацію, серозний екстракапілярний гломерулонефрит та вакуольну дистрофію нефротеліоцитів. Морфологічна альтерація ниркової тканини менш виражена, ніж у контрольній групі (рис. 5.2), що свідчить про нефропротекторну активність екстракту трави астрагалу.

5.3. Дослідження нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності фіточаю «Нефропротектол»

На етапі вивчення гіпоазотемічної активності рослинного засобу у формі збору «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 фіточаю «Нефропротектол»).

На даному етапі дослідження нами вивчено *in vivo* вплив на показники функції нирок лабораторних тварин сумарного екстракту (розділ 2, п. 2.2.10) розробленого фіточаю «Нефропротектол», до складу якого входять робінії звичайної квітки (40%), глоду листя і квітки (20%), берези листя (20%), споришу трава (20%). Компоненти фіточаю містять активні маркери гіпоазотемічної активності; інші аспекти обґрунтування складу зазначеного рослинного засобу наведено у розділі 6., п. 6.1.

Досліджено вміст сечовини і креатиніну у плазмі крові та сечі білих щурів з використанням моделі гострої сулемової нефропатії [25].

Вміст креатиніну сечі нами вивчено на даній моделі до і після введення нефротоксину (таблиця 5.3). 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 фіточай «Нефропротектол» і препарат порівняння.

Проведеним дослідженням 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 (таблиця 5.3).

Наведені дані проведеного *in vivo* скринінгового фармакологічного вивчення ренальних механізмів дії фіточаю «Нефропротектол» свідчать про його виражену гіпоазотемічну дію: у групах дослідних тварин, яким додатково до нефротоксину вводили сумарний екстракт розробленого фіточаю «Нефропротектол» та препарат порівняння Леспефлан (групи 3 і 4), концентрації креатиніну і сечовини крові були суттєво нижчими у порівнянні з групою модельної патології.

Таблиця 5.3

**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 (інтактні тварини)	7,43±2,06	44,40±9,09	87,50±5,74	12,48±2,36	X
2 група (модельна патологія)	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 фіточаю «Нефропротектол»)	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

МП – модельна патологія

P1 – рівень значущості відмінностей порівняно з групою 1 (інтакт)

P2 – рівень значущості відмінностей порівняно з групою 2 (МП)

Гіпоазотемічна активність розробленого фіточаю «Нефропротектол» була на рівні препарату порівняння і за креатиніном становила 79,89 %, за сечовиною плазми крові – 51,96 %.

Висновки до розділу 5

Здійснено фармакологічне вивчення екстрактів *Astragalus glycyphyllos*, *A. galegiformis*, *A. falcatus* та розробленого фіточаю «Нефропротектол», які у своєму складі містять активні маркери нефропротекторної (гіпоазотемічної) дії флавоноїдної структури, на вияв даної специфічної активності.

У результаті проведених фармакологічних досліджень ренальних механізмів активності встановлено, що на моделі гострої сулемової нефропатії у групах щурів, яким додатково до нефротоксину вводили комплекс біологічно активних речовин фіточаю «Нефропротектол» чи надземних органів досліджуваних видів роду Астрагал, концентрації основних маркерів функції нирок – креатиніну і сечовини крові – були нижчими у порівнянні з групою модельної патології, що свідчить про гіпоазотемічну дію даних рослинних субстанцій.

Порівняльним патоморфологічним вивченням структурних змін ниркової тканини щурів на моделі гострої нефропатії, спричиненої введенням розчину сулеми, встановлено нефропротекторну активність екстракту трави астрагалу солодколистого.

Проведені експериментальні фармакологічні дослідження *in vivo* засвідчують, що види роду Астрагал флори України є перспективним джерелом для пошуку, розробки і подальшого впровадження нових ЛЗРП нефропротекторної (гіпоазотемічної) дії, а розроблена добавка дієтична Фіточай «Нефропротектол» може бути рекомендованим для подальших доклінічних досліджень.

Результати досліджень розділу 5 наведено в публікаціях:

1. 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 Dec 21–22; Wloclawek, Republic of Poland: Izdevnieciba «Baltija Publishing»; 2018, p.112-115.

2. Лисюк Р. М., Нектегаєв 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; 2018Dec 21; Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Ukraine, Kyiv: MCNIP; 2018, p. 112-116.

3. Лисюк Р. М., Нектегаєв 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.

4. 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.

5. Лисюк Р.М., Нектегаєв 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.

РОЗДІЛ 6

РОЗРОБКА СКЛАДУ ЗАСОБУ ГІПОАЗОТЕМІЧНОЇ ДІЇ. СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТРАВИ АСТРАГАЛУ СОЛОДКОЛИСТОГО І ФІТОЧАЮ «НЕФРОПРОТЕКТОЛ»

6.1. Обґрунтування складу засобу гіпоазотемічної дії

При виборі компонентів комплексних рослинних засобів враховують насамперед дані щодо застосування у медицині та відповідних фармакологічних ефектів ЛРС, наявності у їх складі сполук з передбачуваною активністю [47,83, 95, 107].

При опрацюванні складу фітозасобів для лікування захворювань сечовидільної системи важливою умовою є аналіз даних щодо активності та особливостей застосування субстанцій, які входять до складу зареєстрованих препаратів, що призначаються пацієнтам нефрологічного та урологічного профілю. Детально вивчені у фармакологічному аспекті, зокрема щодомеханізмів нефропротекторної дії, рослинні засоби доцільно використовувати як базисні компоненти нових комбінованих ЛЗРП [72]. Наявність активних маркерів специфічної дії у складі таких засобів також є важливим аспектом при розробці складу збору гіпоазотемічної дії.

До рослин, що є основою ЛЗРП, серед інших ставляться наступні вимоги: одночасне забезпечення якомога більшої кількості необхідних фармакологічних ефектів та відсутність протипоказів [42]. Також проаналізовано дані щодо стандартизації видів ЛРС за вмістом флавоноїдів, згідно вимог актуального видання ДФУ [28].

При опрацюванні та розробці складу фітозасобу у формі збору використано й адаптовано дані [42], наведені у таблиці 6.1. Ліва графа таблиці містить експертну оцінку кількості окремих груп БАС за системою балів від 0 до 10, перелік рослин подано у центрі, праворуч – за такою ж бальною шкалою – кількісну оцінку різних видів фармакологічної активності,

що є складовими комплексної нефропротекторної дії, кожної рослини в розрахунку на настої та відвари. Найчастіше користуються такими видами ЛРС, які оцінені за певним фармакологічним ефектом на рівні від 7 до 10 балів.

Таблиця 6.1

**Основні БАР і фармакологічна активність лікарських рослин –
компонентів розробленого збору
(експертна оцінка Кобзар А.Я., Гриценко О.М., 2007)**

Біологічно активні сполуки			Лікарська рослинна сировина	Види фармакологічної активності (для водних витяжок)						
Флавоноїди	Ефірні олії	Таніни		Спазмолітична	Гіпотензивна	Протизапальна	Репаративна	Діуретична	Гіпоглікемічна	Р-Вітамінна
7	5	4	Береза, листя	3	3	7	5	7	3	4
10	2	4	Гірчак звичайний (спориш), трава	2	3	3	4	10	3	9
10	3	2	Глід, квітки	3	10	1	2	5	-	10

Враховуючи механізми комплексної нефропротекторної дії нами до уваги брались наступні види фармакологічної активності: діуретична, протизапальна, спазмолітична, гіпотензивна, репаративна, гіпоглікемічна, Р-вітамінна.

При виборі компонентів збору для лікування урологічних та

нефрологічних захворювань перевага надавалась рослинній сировині, яка забезпечує необхідну дію на рівні, оцінену експертами (к. фарм. н. Кобзар А.Я. та д.фарм. н. Гриценко О.М.) не нижче, ніж у 5 балів [42].

При опрацюванні складу збору, поставлено наступні завдання:

- при виборі компонентів рослинного збору враховувати наявність у складі ЛРС сполук-маркерів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності;
- підібрати компоненти, які мають протизапальну, діуретичну, спазмолітичну, гіпотензивну, гіпоглікемічну, Р-вітамінну і репаративну дію, що забезпечуватиме комплексний вплив на ланки патогенезу урологічних та нефрологічних захворювань;
- використати культивовані чи дикорослі види рослин флори України з достатньою сировинною базою;
- ввести у склад засобу офіцинальні види ЛРС, які стандартизують за вмістом флавоноїдів;
- врахувати можливі протипокази, технологічні (морфологічні групи ЛРС), хімічні та фармакологічні несумісності.

Трава гірчака пташиного (споришу), яка містить флавоноїди (авікулярин, кверцетин, кемпферол, лютеолін) [23], сполуки кремнієвої кислоти, фенолкарбонові та органічні кислоти, вітаміни, має сечогінну, кровоспинну, протимікробну, антитоксичну дію, сприяє розчиненню і виведенню сечових конкрементів (ремінералізуюча, або літолітична активність розчинних сполук кремнієвої кислоти). Останнім часом верифіковані додаткові цінні ефекти: протизапальний, антиоксидантний, гепатопротекторний [118]. Призначають траву гірчака пташиного при порушеннях водно-сольового обміну, нирково-кам'яній хворобі [42]. Пероральне вживання настою споришу показане при хронічних захворюваннях сечовивідних шляхів, ослабленні фільтраційної функції ниркових клубочків і наявності в сечі великої кількості мінеральних солей, особливо солей щавлевої кислоти, і при захворюваннях, пов'язаних з затримкою в організмі токсичних продуктів обміну [23].

Листя та квіти глоду – сечогінний, гіпотензивний (флавоноїди, тритерпени, ефірна олія, аміни) й спазмолітичний (флавоноїди, ефірна олія) засіб [42]. Дослідженням [123] встановлено нефропротекторну активність 70% спиртового екстракту глоду (*Crataegus oxyacantha*) на моделі експериментального ураження нирок щурів розчином 1% перекису водню; внутрішнє введення екстракту зумовлювало значне зниження концентрації сечової кислоти та креатиніну у досліджуваній групі тварин (300 мг/кг екстракту глоду з 1% H_2O_2 у питній воді), запобігаючи помітним патологічним ураженням. Листя та квіти глоду містять у своєму складі індивідуальні флавоноїди - маркери нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності: гіперозид [250] та ізоорієнтин [230].

Спосіб отримання тріозидів «Фларонін», які виявляють гіпоазотемічну дію, з квіток робінії звичайної було запропоновано Н.П. Максютіною для застосування при ниркових захворюваннях (СКХ, хронічний пієлонефрит, туберкульоз нирок, полікістоз, хронічний гломерулонефрит) [73].

Біологічно активні речовини листя берези чинять діуретичну, спазмолітичну, протизапальну і жовчогінну дію [72, 118]. Відвари та настої листя берези призначають як сечогінний і дезінфекційний засіб для сечових шляхів, при набряках серцевого походження, асцитах (початкова стадія), ревматизмі, артеріальних гіпертензіях, СКХ.

На відміну від бруньок берези, завдяки відсутності побічної дії, цей засіб використовують як при гострих, так і при хронічних захворюваннях нирок: збільшення діурезу забезпечується переважно наявністю флавоноїдів, особливо кемпферолу та його похідних, а також калію. Ці сполуки, а також слиз та інші полісахариди листя дещо нейтралізують подразнювальну дію ефірної олії (у листі її лише 0.05%) та тритерпенів [42]. Густий екстракт з листя берези бородавчастої (*Betula verrucosa*) на моделі ушкодження нирок, викликаного хроматом калію, чинить гіпоазотемічну дію, вірогідно зменшуючи концентрацію сечовини і креатиніну [113].

Слід відзначити, що ДФУ 2.0. [27] стандартизує спориш (*Polygoni avicularis herba*) саме за вмістом флавоноїдів (не менше 0.30 %), у перерахунку на гіперозид, а дана рослинна субстанція входить до складу багатьох ЛЗРП групи G04В Державного реєстру лікарських засобів України: НЕФРОФІТ (збір), ФІТОЛІТ (капсули, розчин оральний), ФІТОЛІТ ФОРТЕ Н Капсули, УРОХОЛУМ краплі, УРОНЕФРОН® (таблетки, гель, сироп, краплі), ФІТОЛІЗИН® паста.

Доцільно зазначити, що глоду листя та квітки (*Crataegi folium cum flore*) стандартизують, згідно ДФУ 2.0., за вмістом сумифлавоноїдів, у перерахунку на гіперозид: не менше 1.5 % (загальна монографія), не менше 1.3 % (національна монографія).

Варто зауважити, що берези листя (*Betulae folium*) у ДФУ 2.0. стандартизується саме за вмістом флавоноїдів (не менше 1.5 %), у перерахунку на гіперозид, а дана рослинна субстанція входить до складу багатьох комплексних ЛЗРП групи G04В: УРОНЕФРОН® (сироп, краплі, гель, таблетки), ФІТОЛІЗИН® паста, УРОХОЛУМ краплі.

Таким чином, у результаті проведеного вивчення даних щодо впливу рослинних субстанцій на органи сечовидільної системи та на основі критеріїв, наведених серед поставлених завдань опрацювання складу збору, нами розроблено новий комплексний рослинний засіб нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності - добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол», використовуючи офіційальні види ЛР з достатньою в Україні сировинною базою, наступного складу: робінії звичайної квітки (40%), глоду листя і квітки (20%), берези листя (20%), споришу трава (20%).

Спосіб застосування та дози: 1 столову ложку фіточаю заливають 500 мл окропу та кип'ятять 15 хв на водяній бані. Настояти 45 хвилин при кімнатній температурі, процідити (або 2 фільтр-пакети залити 500 мл окропу, настояти у закритому посуді 20-30 хв). Вживати по 1/2-2/3 склянки 2-3 рази протягом дня. Термін вживання: 2-3 тижні. У подальшому термін вживання узгоджувати з лікарем.

Рекомендації до споживання: може бути рекомендована як додаткове джерело біологічно активних речовин, які сприяють покращенню функціонування органів сечостатевої, травної та серцево-судиної систем, нормалізації обміну речовин. Має загальнозміцнювальні, кардіотонічні, літолітичні, гіпоазотемічні властивості. Перед початком прийому рекомендовано порадитися з лікарем.

Розроблений фітозасіб, завдяки багатому хімічному складу, наявності необхідних фармакологічних властивостей може бути рекомендований у комплексній терапії при:

- нефритах з підвищеною концентрацією сечовини, креатиніну і сечової кислоти в крові;
- хронічному нефриті середнього ступеня важкості;
- хронічній нирковій недостатності компенсованій або латентній (у комбінованій терапії);
- гіперазотемії, зумовленій ненирковою патологією (при недостатності кровообігу або надмірному споживанні білкових продуктів);
- хронічних гломерулонефритах, що супроводжуються гіперазотемією;
- сечокам'яній хворобі;
- гострих і хронічних захворювань в урології (цистит, уретрит, простатит) у комплексній терапії;
- як нефропротектор з метою профілактики порушень функції нирок при ін'єкційному введенні нестероїдних протизапальних лікарських засобів та антибіотиків.

Застереження при застосуванні: не рекомендується вживати особам з підвищеною індивідуальною чутливістю до компонентів, дітям до 12 років, вагітним жінкам та жінкам, які годують груддю. Не перевищувати зазначену рекомендовану кількість для щоденного споживання. Дієтичну добавку не слід використовувати як заміну повноцінного харчування.

Наявність гіпоазотемічної дії фіточаю «Нефропротектол» експериментально підтверджено в умовах *in vivo* на моделі гострої сулемової нефропатії (розділ 5, п.5.3).

Результати проведених фармакологічних досліджень ренальних механізмів дії свідчать, що у групах щурів, яким додатково до нефротоксину вводили екстракт розробленого фіточаю та препарат порівняння Леспефлан, концентрація креатиніну і сечовини у крові були нижчими у порівнянні з групою модельної патології (гіпоазотемічна активність).

Таким чином, обґрунтовано вибір компонентів збору гіпоазотемічної дії «Нефропротектол», з урахуванням: основних БАР і фармакологічної активності, згідно експертної оцінки Кобзар А.Я. та Гриценко О.М.; наявності активних маркерів у їх складі; особливостей стандартизації за вмістом флавоноїдів, згідно ДФУ (статус офіційної сировини); входження у склад ТОП-10 субстанцій ЛЗРП групи G04В Державного реєстру лікарських засобів України; достатньої ресурсної бази в Україні; результатів власних фармакологічних досліджень *in vivo* нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності розробленого фіточаю. Також нами розроблено рекомендації до застосування даного комплексного рослинного засобу гіпоазотемічної дії, до складу якого входять квітки робінії звичайної, листя і квітки глоду, листя берези і трава споришу.

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 вимогам законодавства України; фіточай є безпечним для здоров'я людини і може використовуватись за призначенням як дієтична добавка.

6.2. Розробка МКЯ на добавку дієтичну Фіточай «Нефропротектол»

Макроскопічні ознаки, органолептичні показники:

Суміш шматочків квіток, листя, стебел різноманітної форми.

Шматочки білого або блідо-рожевого, жовто-білого, від світло- до темно-зеленого, буро-зеленого, коричнювато-зеленого кольору з вкрапленнями темно-коричневого кольору.

Запах ароматний. Смак гіркувато-пряний з солодкуватим присмаком, злегка в'яжучий.

Макроскопічними ознаками збору є певні елементи, які характерні для робіни звичайної квіток, глоду листя і квіток, берези листя та споришу трави. Контроль якості здійснюється за описом, що характеризує усі компоненти фіточаю:

Квітки, що є сумішшю суцвіть-китиць, окремих квіток та їх частин; віночок білий або блідо-рожевий; чашечка, квітконіжка і вісь суцвіття опушені, зеленого або буро-зеленого забарвлення. Чашечка дзвоникувата, п'ятизубчата; віночок метеликового типу: прапорець округлий, злегка виїмчастий, майже дорівнює по довжині човнику і крилам, човник тупий, крила з невеликими вушками біля основи; тичинок 10. Запах ароматний, смак солодкуватий (робіни звичайної квітки).

Цілі або різані фрагменти квітучих пагонів – квіток, листя і стебел. Листки більш або менш глибоко розчленовані, зі слабо зубчастими або майже цільними краями, перисторозсічені, перистолопатові або перистонадрізані, зеленого до коричнювато-зеленого кольору, абаксіальна поверхня – сірувато-зелена із виступаючим, густим, сітчастим жилкуванням, листки голі або мають лише поодинокі волоски. Стебла темно-коричневі, здерев'янілі, 1-2.5 мм у діаметрі, із щитками квіток та черговими, черешковими листками, що мають невеликі, часто опадаючі прилистки. Квітки є сумішшю цілих щитковидних, рідше зонтиковидних суцвіть та їх численних білих дрібних фрагментів. Квітки мають коричнево-зелений,

трубчастий гіпантій; чашечку, що складається із 5 вільних згорнутих чашолистків; віночок із 5 вільних пелюсток, заокругленої або широко овальної форми, із коротким нігтиком від жовтаво-білого до коричнюватого кольору; тичинки численні. Смак квіток слабо гіркий, слизистий (глоду листя і квітки).

Листки, цілі або фрагментовані, дещо шкірясті, темно-зелені, світло-зеленувато-сірі, зубчасті, черешкові, із залозками і характерним густим сітчастим жилкуванням; жилки світло-коричневого або майже білого кольору; листкова пластинка трикутної, овальної або ромбічної форми. Запах слабкий, специфічний; смак гіркий, смолистий (берези листя).

Цілі або різані фрагменти листків, квіток, сірувато-зеленуватих стебел; стебла тонкі, розгалужені, із циліндричними або дещо кутастими та подовжньо борозенчастими міжвузлями, вкриті сидячими або короткочерешковими, зверху голими листками; прилистки формують розірваний сріблясто-білий піхвоподібний розтруб; дрібні пазушні квітки з 5 зеленувато-білими листочками оцвітини, з білою або рожевою верхівкою; плоди – тригранні горішки розміром від 2 мм до 4 мм, від коричневого до чорного кольору, звичайно плямисті або смугасті. Смак дещо в'язучий (споришу трава).

Кількісні показники якості збору:

Вмістсуми флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид – не менше 1.5 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Вихідний розчин. 0.200 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) поміщають у круглодонну колбу місткістю 100 мл, додають 1 мл розчину 5 г/л *гексаметилентетраміну Р*, 20 мл *ацетону Р* і 2 мл *кислоти хлористоводневої Р*, кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв і фільтрують крізь тампон із вати у колбу місткістю 100 мл. Тампон із вати додають до залишку у круглодонну колбу та екстрагують 2 порціями, по 20 мл кожна, *ацетону Р*, кожний раз проводячи кип'ятіння зі зворотним

холодильником протягом 10 хв, охолоджують до кімнатної температури. Фільтрують кожний екстракт крізь тампон із вати у колбу. Одержані охолоджені об'єднані ацетонові екстракти фільтрують крізь паперовий фільтр у мірну колбу, доводять об'єм розчину *ацетоном Р* до 100 мл, обполіскуючи колбу та паперовий фільтр.

20.0 мл одержаного розчину помішають у ділильну лійку, додають 20 мл *води Р* і екстрагують суміш із 15 мл, а потім із 3 порціями, по 10 мл кожна, *етилацетату Р*. Одержані етилацетатні витяги об'єднують у ділильній лійці, промивають 2 порціями, по 50 мл кожна, *води Р*. Фільтрують над 10 г *натрію сульфату безводного Р* у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять об'єм розчину *етилацетатом Р* до 50.0 мл.

Випробовуваний розчин. До 10.0 мл вихідного розчину додають 1 мл *реактиву алюмінію хлориду Р* та доводять розчином 5 % (об/об) *кислоти оцтової льодяної Р* у *метанолі Р* до об'єму 25.0 мл.

Компенсаційний розчин. 10.0 мл вихідного розчину доводять розчином 5 % (об/об) *кислоти оцтової льодяної Р* у *метанолі Р* до об'єму 25.0 мл.

Вимірюють оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину через 30 хв у порівнянні із компенсаційним розчином за довжини хвилі 425 нм.

Вміст флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A \times 1.25}{m}$$

m

де:

A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 425 нм,

m – маса наважки випробовуваної сировини, у грамах.

Використовують питомий показник поглинання гіперозиду, що дорівнює 500.

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 амбарними шкідниками – не допускається.

Таким чином, нами розроблено проєкт МКЯ на добавку дієтичну Фіточай«Нефропротектол» за макроскопічними ознаками, органолептичними та кількісними показниками якості (вмістсуми флавоноїдів; втрата в масі при висушуванні; зола загальна; масова частка органічних і мінеральних домішок; масова частка шматочків, що не проходять крізь сита з отворами відповідних розмірів для *фіточаїв у пачках* і *фільтр-пакетах*; відсутність отруйних рослин та зараженості комірниковими шкідниками).

Результати експериментальних досліджень даного фіточаю використано при розробці технічних умов України ТУ У 10.8-00481181-013:2019 (змiна №1) "Дієтичні добавки "Фіточаї" (Додатки В та Г) спільно з ПрАТ "Ліктрави" (м. Житомир).

6.3. Стандартизація сировини трави астрагалу солодколистого за розділами «Ідентифікація А,В»

Результати проведеного нами аналізу [56] морфолого-анатомічної структури надземних органів астрагалу солодколистого та встановлення їх основних діагностичних ознак стали основою для розробки критеріїв

стандартизації у проєкті МКЯ (за розділами «Ідентифікація А,В») на новий вид ЛРС – «Астрагалу солодколистого траву».

АСТРАГАЛУ СОЛОДКОЛИСТОГО ТРАВА

Herba Astragali glycyphylli

WILD LICORICE HERB

Цілі або фрагментовані висушені надземні частини *Astragalus glycyphyllos* L., зібрані у період від початку цвітіння до плодоношення.

Вміст: не менше 0,65 % флавоноїдів, у перерахунку на рутин ($C_{27}H_{30}O_{16}$; *М. м.* 610.52) і суху сировину.

ВЛАСТИВОСТІ

Сировина має солодкуватий смак. Запах характерний.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Стебло зелене, опушене білуватими волосками або майже голе, борозенчасте. Листки чергові, черешкові, непарноперисті, із ланцетоподібними, загостреними, вільними, жовто-зеленими прозорими прилистками, 15 - 20 мм завдовжки; листочки видовжено-яйцеподібні або еліптичні, на верхівці притуплені, зрідка притиснуті, 1,8 - 6 см завдовжки; верхня поверхня зелена, гола, нижня – білувата, опушена. Суцвіття – видовжена густа китиця із численних зеленувато-жовтих квіток, 11 - 15 мм завдовжки; квітка має дзвоникувату чашечку з нерівними шилоподібними зубцями, голу або інколи опушену та метеликоподібний віночок. Плід – нерозкривний біб, 3 - 4 см завдовжки, 4 - 5 мм завширшки, дещо

серпоподібнозігнутий, зближений з іншими бобами, які сходяться між собою верхівками; поверхня плоду гола, інколи з поодинокими волосками.

В. Сировину подрібнюють на порошок (355) (2.9.12). Порошок зелено-жовтуватого кольору. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *хлоральгідрату розчин Р*. У порошку виявляються такі діагностичні структури: фрагменти дуже тонкої, дорзивентральної, амфістоматичної листкової пластинки; фрагменти адаксіальної епідерми пластинки, що складається із тонкостінних багатокутних клітин із слабозвивистими стінками, які вкриті зморшкуватою кутикулою; фрагменти абаксіальної епідерми пластинки, які є більш звивистостінними, ніж клітини адаксіальної епідерми, з прямостінними, а над жилкою і по краю листочків видовженими епідермальними клітинами, з трихомами, рівномірно розподіленими по всій листковій пластинці, проте зустрічаються частіше вздовж жилок і по краю; продиховий комплекс аномоцитного типу (2.8.3), продихи округлі; фрагменти простих волосків, притиснутих до поверхні листка, з 1 - 2 коротких базальних клітин і 1 великої, з бородавчастою кутикулою, видовженої термінальної повітровмісної клітини, яка прикріплюється до ніжки заокругленим краєм, інший край є загостреним, з нечіткою розеткою навколо волоска, сформованою епідермальними клітинами; дрібні кристали кальцію оксалату овальної форми, які розміщені у мезофілі поодинокі або групами; фрагменти епідерми пелюстки з видовжених прямокутних тонкостінних клітин із сильнозвивистими стінками і зморшкуватою кутикулою; фрагменти епідерми чашолистка з округлими, тонкостінними та слабо звивистими клітинами, особливо по краях зубчиків чашечки, і тонкостінними простими волосками, ідентичними за структурою до волосків мезофілу; округлі пилкові зерна із хвилястою екзиною.

6.4. Стандартизація сировини трави астрагалу солодколистого за розділами «Ідентифікація С» і «Кількісне визначення»

На основі результатів проведених досліджень методом ТШХ і диференціальної спектрофотометрії щодо хімічного складу надземних органів астрагалу солодколистого (розділ 2.2.3 та розділ 4.8), нами розроблено критерії стандартизації у проєкті МКЯ (за розділами «Ідентифікація С» і кількісне визначення) на новий вид ЛРС – «Астрагалу солодколистого траву».

С. Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

Випробовуваний розчин. 2,0 г здрібненої на порошок сировини (355)(2.9.12) змішують із 10 мл метанолу Р, нагрівають на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 10 хв, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 5,0 мг рутину Р, 5,0 мг гіперозиду Р, 2,5 мг апігеніну Р, розчиняють у 20 мл метанолу Р.

Пластинка. ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: мурашина кислота безводна Р – вода Р – етилацетат Р (10:10:80).

Об'єм проби, що наноситься: 10 мкл випробовуваного розчину, 20 мкл розчину порівняння; смугами, завдовжки 10 мм.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 15 см від лінії старту.

Висушування: при температурі 100 °С.

Виявлення: пластинку обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р у метанолі Р, потім розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р; сушать на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися жовтаво-коричневі флуоресціюючі зони: у нижній частині – рутин, середній – гіперозид, верхній – апігенін. На хроматограмі випробовуваного розчину

мають виявлятися: коричнево-жовтаві флуоресціюючі зони на рівні зон рутину, гіперозиду та апігеніну хроматограми розчину порівняння; декілька жовто-зелених плям вище лінії старту, у верхній частині дві блакитні флуоресціюючі зони – нижче, менш інтенсивна зона, і одна вище зони апігеніну. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші зони.

ВИПРОБОВУВАННЯ

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Вихідний розчин. 2.500 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) поміщають у круглодонну колбу місткістю 100 мл і додають 50 мл 70 % етанолу.

Екстрагують протягом доби. Одержаний екстракт фільтрують крізь паперовий фільтр у мірну колбу.

Випробовуваний розчин. До 0.1 мл екстракту додають 1 мл реактиву 2 % алюмінію хлориду гексагідрату у 50 % етанолі *P* та доводять розчином 50% етанолу *P* до об'єму 2,0 мл.

Розчин порівняння. 50 мкл розчину рутину тригідрату (1000 мг/л) доводять розчином 50 % етанолу *P* до об'єму 1,0 мл та додають 1 мл реактиву 2 % алюмінію хлориду гексагідрату у 50 % етанолі *P*.

Компенсаційний розчин для екстракту. 0.1 мл екстракту доводять розчином 50 % етанолу *P* до об'єму 2,0 мл.

Компенсаційний розчин для розчину порівняння. 50 мкл розчину рутину тригідрату (1000 мг/л) доводять розчином 50 % етанолу *P* до об'єму 2,0 мл.

Вимірюють оптичну густина (2.2.25) випробовуваного розчину через 75-85хв порівняно з компенсаційним розчином за довжини хвилі 400 нм.

Сумарний вміст флавоноїдів, у мг/г сировини, обчислюють згідно з формулою:

$$\frac{D \times m_2 \times V_e \times 0,917}{D_0 \times m_1 \times V_r}$$

де:

D – оптична густина випробовуваного розчину задовжини хвилі 400 нм;

D_0 – оптична густина розчину порівняння задовжини хвилі 400 нм;

m_1 – маса наважки сировини, використана для приготування
випробовуваного розчину, у грамах;

m_2 – маса наважки рутину тригідрату, мг;

V_e – об'єм отриманого екстракту, мл;

V_r – об'єм 50% етанолу, у якому розчинено рутину тригідрату, мл;

0,917 – коефіцієнт перерахунку рутину тригідрату в рутин в описаних умовах визначення.

6.5. Концептуальна модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю

За результатами експериментальних досліджень нами вперше теоретично обґрунтовано і експериментально підтверджено розроблену «Концептуальну модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю», яка складається з низки послідовних етапів.

Концептуальна модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю

1. Формування «Переліку лікарських засобів офіційної та народної медицини з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю» (Державний реєстр лікарських засобів, Компендіум, ДФУ, енциклопедичні довідники, наукові монографії)
2. Опрацювання хімічного складу «Переліку...», визначення їх діючих речовин

3. Визначення речовин-маркерів гіпоазотемічної активності, у т.ч. за даними експериментальних досліджень
4. Класифікація речовин – маркерів за хімічними ознаками.
5. Пошук активних маркерів у ЛР і ЛРС за літературними даними, фітохімічними дослідженнями (тонкошарова хроматографія)
6. Вибір найбільш перспективних рослинних джерел речовин – маркерів (забезпеченість рослинної бази, можливість вирощування та ін.)
7. Поглиблене фітохімічного дослідження перспективних видів ЛРС (якісний та кількісний вміст)
8. Отримання біологічно активних субстанцій із перспективних видів ЛРС, вивчення їх хімічного складу (екстракти)
9. Визначення гострої токсичності і специфічної фармакологічної активності (насамперед гіпоазотемічної дії) субстанцій з використанням референс-препаратів
10. Стандартизація нових видів ЛРС і розроблених субстанцій, розробка проєктів МКЯ
11. Ресурсна характеристика нових видів ЛРС як джерел нових субстанцій, інтродукційні дослідження
12. Обґрунтування кореляційних зв'язків структура БАР – гіпоазотемічна активність

Висновки до розділу 6

1. Обґрунтовано склад та опрацьовано параметри стандартизації рослинного засобу у формі збору гіпоазотемічної дії, наявність якої експериментально підтверджено в умовах *invivа* на моделі гострої нефропатії. До складу розробленої дієтичної добавки Фіточай «Нефропротектол» входять флавоноїдовмісні види ЛРС – квіти робінії звичайної, листя та квітки глоду, листя берези і трава споришу.

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

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.

Результати експериментальних досліджень добавки «Нефропротектол» були використані при розробці технічних умов України ТУ У 10.8-00481181-013:2019 (змiна №1) "Дієтичні добавки "Фіточай" спільно з ПрАТ "Ліктрави" (м. Житомир).

3. За результатами експериментальних досліджень надземних органів *Astragalus glycyphyllos* L., опрацьовано критерії стандартизації сировини і розроблено проєкт МКЯ "Астрагалу солодколистого трава" за макро- і мікроскопічними характеристиками, органолептичними властивостями, числовими показниками якості та кількісним вмістом флавоноїдів.

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

Результати досліджень розділу 6 наведено в публікаціях:

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*. 2018 Mar;182(1):169-177.

2. Лысюк Р.М., Гудзь Н.И., Дармограй Р.Е., Езерская О.И. Растительные субстанции для лечения урологических и нефрологических заболеваний. *Рецепт*. 2016;19(2):235-239.

3. Лисюк Р. М., Ковальська Н. П. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2019; 1:49–57. DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.1.9883>

4. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Нектегаєв 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.

ЗАГАЛЬНІ 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 обґрунтовано 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 серпоплодного, 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, епікатехінгалату – 0,2, а також вміст гідроксикоричних кислот: хлорогенової (0,03 %), кавової (0,01 %), *n*-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 серпоплодного 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 серпоплодного, 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 серпоплодного 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 та експериментально підтверджено «Концептуальну модель пошуку і розробки нових рослинних засобів з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Алания М.Д. Фитохимическое исследование некоторых представителей рода *Astragalus L.*, произрастающих в Грузии. [автореферат ... к.фарм.н.]. Харьков. 1974. 21 с.
2. Алания М.Д. Флавоноиды и циклоартаны астрагалов, произрастающих в Грузии. [автореферат ... д.фарм.н.]. Харьков. 1990. 40 с.
3. Алания М.Д., Григолава. Б.Л. Содержание робинина в культивируемом растении *Astragalus falcatus* Lam. Изв. АН ГССР. Сер. Биология. 1980. т.6 (2):138-140.
4. Алания М.Д., Иосебидзе Н.И., Кемертелидзе Е.П. Динамика содержания робинина в *Astragalus falcatus* Lam. Раст. ресурсы. 1976;12 (2) : 242-243.
5. Алания М.Д., Комиссаренко Н.Ф., Е.П. Кемертелидзе, Колесников Д. Г., Соколова В.Е., Васильченко Е.А. Патент 484875 СССР.МПК А61К 27/14. Способ получения робинина; заявители и патентообладатели: Харьковский НИХФИ, Ин-т фармакохимии АН Грузинской ССР - № 2009290/28-13; заявл. 25.03.74; опубл. 25.09.1975
6. Алания М.Д., Комиссаренко Н.Ф., Кемертелидзе Э.П. Флавоноиды из *Astragalus falcatus*. Сообщ. АН ГССР. 1972;68(2): 357-360.
7. Алания М.Д., Шалашвили К.Г., Кавтарадзе Н.Ш., Сагареишвили Т. Г., Сутиашвили М.Г. Загоскина Н.В., отв.ред. Фенольные соединения некоторых растений флоры Грузии: структура, физико-химические свойства, биологическая активность. *Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы докладов VIII Международного симпозиума*. Москва, 2-5 октября 2012 г. М. : ИФР РАН; РУДН, 2012. С.11-15.
8. Белодубовская Г.А., Блинова К.Ф., Забинкова Н.Н. и др. Яковлев Г. П., Блинова К.Ф., редакторы. Энциклопедический словарь лекарственных

растений и продуктов животного происхождения : Учеб. Пособие. СПб.: Специальная литература, 1999. 407 с.

9. Белоус В.Н. Виды рода *Astragalus* L. и их роль в растительном покрове Предкавказья. [автореферат ... к.биол.н., спец. 03.00.05 «Ботаника»]. Ставрополь. 2005. 20 с.

10. Борисенко О.І., Кисличенко В.С., Васильченко Є.О. Береза бородавчаста: фармакотерапевтичні властивості, медичне застосування, власні дослідження впливу настоек на функції нирок. *Фармаком.* 2002.(3): 78-84.

11. Бродович Т.М., Бродович М.М. Деревья и кустарники запада УССР. Атлас. Львов: Вища школа, изд-во при Львов.ун-те, 1979. 251 с.

12. Васильченко Е. А. Деякі дані про механізми гіпоазотемічної дії ряду рослин Тез. доп. І конф.Укр. фармакол. тов-ва.Тернопіль, 1966. С. 36-37.

13. Васильченко Е.А., Соколова Е.В. Изучение влияния робинина на диуретическую функцию почек и парциальные процессы мочеобразования Сб.: *Современные проблемы фармакологии.* Материалы III съезда фармакологов СССР. К., 1971. С. 50.

14. Гапоненко В.П., Левашова О.Л. Флавоноиды как активный ингредиент препаратов гипоазотемического и диуретического действия. Материалы научно-практической конференции «Урология, андрология, нефрология-2014» 28-30 мая 2014 г. Харьков, 2014. С. 149.

15. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1990. 333 с.

16. Глызин В.И., Баньковский А.И., Журба О.В., Шевченко В.И. Флавоноиды *Lespedeza bicolor*. *Химия природ.соедин.* 1970;4:473 – 474.

17. Головкин Б., Руденская Р., Трофимова И., Шретер А. Биологически активные вещества растительного происхождения. В 3-х томах. Том II. Л–Я. М.:Наука, 2001. 764 с.

18. Горошко О. М. Лікувальні властивості Ліпофлавону і корвітину при експериментальній гострій нирковій недостатності [автореферат ... к.фарм.н. спец. 14.03.05 «Фармакологія»]. Чернівці. 2009. 20 с.
19. Горошко О. М., Гарас М.Н. Вплив антиоксидантних властивостей корвітину на перебіг гострої експериментальної нирковій недостатності. *Бук.мед.вісник*. 2007; 11(3):119-122.
20. Горошко О. М., Заморський І.І. Антиоксидантні властивості препарату «Ліпофлакон» при експериментальній гострій нирковій недостатності. *Медицина хімія*. 2008;10(3):83-87.
21. Горошко О. М., Заморський І.І., Геруш О.В. Нефропротекторні властивості препаратів кверцетину (корвітин та ліпофлакон) на моделі гентаміцинової нефропатії. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2009. Т. 8, 3(29): 19-22.
22. Грицик А. Р. Фармакогностичне дослідження рослин родин тирличеві і гречкові як перспективних джерел лікувальних і профілактичних засобів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра фармац. наук. К., 2008. 46 с.
23. Гродзінський А.М., редактор. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник К.: Видавництво «Українська Енциклопедія» ім. М. П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп», 1992. 544 с.
24. Гуляев В.Г., Денисенко П.П., Глызин В.И. К механизму действия био-флавоноида Леспефлана и антигипоксанта ТБ-4 на азотистый обмен у живот-ных с острой почечной недостаточностью. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1992. Т.55,(4):20-22.
25. Гуляев В.Г., Иванов Ю.И., Гуляева С.Ф. Гипоазотемическое и диуретическое действие леспефлана при острой почечной недостаточности. *Урология и нефрология*. 1993.(4):32-34.
26. Демешко О. В. Вивчення біологічно активних речовин листя *Robiniapseudoacacia* та отримання субстанцій на їх основі. [автореферат ...

к.фарм.н. спец. 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія»]. Х.: Національний фармацевтичний ун-т. 2007. 20 с.

27. Державна Фармакопея України : в 3 т. 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.

28. Державна Фармакопея України. 2-е вид. Доповнення 3. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 416 с.

29. Державна Фармакопея України: в 3 т. 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

30. Державний реєстр лікарських засобів України: Офіційний сайт. [Інтернет].[цитовано 2021 Січ 01]. Доступно: <http://www.drlz.kiev.ua>

31. Дідух Я. П., редактор. Червона книга України. Рослинний світ. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 900 с.

32. Доброчаева Д. Н., Котов М. Т., Прокудин Ю. Н и др. Определитель высших растений Украины Киев. Наук. думка, 1987. 548 с.

33. Дорошенко О.Г., Марчишин С.М., Койро О.О. Ренальні ефекти та нефропротекторна активність оригінального фітозбору. *Хімія природних сполук*: матер. IV Всеукраїнської науково-практичної конф.з міжнародною участю (м. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.). Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 76-77.

34. Езерская О. И., Лисюк Р. Н., Гудзь Н. И. и др. Особенности фармацевтической разработки лекарственных средств на основе растительных субстанций. Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сборник научных трудов. Пятигорск: Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, 2015. Вып. 70.С. 109–112.

35. Єзерська О.І., Гудзь Н.І., Лисюк Р.М. Фіточаї, що застосовуються в урології, - лікарські засоби чи парафармацевтики. Товарознавчий аналіз

товарів обмеженого аптечного асортименту. Матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжн.уч.; 2016 Квіт 15; Х.: Вид-во НФаУ; 2016, с. 127-128.

36. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 р. № 3447-IV., зі змінами. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>[Інтернет].[цит. 2021 Січ 14].

37. Затула Е. І., Науменок Л. Г., Левашова І. Г., Жданова В.П. Патент 25318 Україна, А61 К 9/08. «Спосіб отримання розчину гіфларину для ін'єкцій»; заявник та патентовласник ДНЦЛЗ. № 97031193; заявл.18.03.97; опубл. 30.10.98.

38. Зупанець І.А., Шебеко С.К., Харченко Д.С. Дослідження гострої токсичності та середньоефективних доз кверцетину при парентеральному введенні в умовах розвитку ниркової недостатності у щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2009. 1(8):28-33.

39. Зупанець І.А., Шебеко С.К., Харченко Д.С. Дослідження ефективності корвітину при нирковій недостатності у щурів. Клінічна фармація в Україні: Матеріали VII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжн. участю, 15-16 листопада 2007 р. Х., 2007. С. 148-149.

40. Зупанець І.А., Шебеко С.К., Харченко Д.С. Експериментальне вивчення фармакологічних властивостей парентеральної форми кверцетину в умовах розвитку хронічної ниркової недостатності. *Вісник фармації*. 2009. 2(58): 75-78.

41. Кисличенко В.С. Фармакогностичне вивчення представників родини Агросові, Бруслинні, Ранникові і розробка на їх основі лікарських засобів: дис... д-ра. фармац. наук: 15.00.02 Національний фармацевтичний ун-т. Х., 1999. 28с.

42. Кобзар А.Я. Фармакогнозія в медицині: Навч. посібник К.: Медицина, 2007. 544 с.

43. Ковалева А.М., Гончаров Н.Ф., Сидора Н.В., Комиссаренко А.Н. Современные технологии поиска растительных источников биологически активных веществ на основе многомерного таксономического анализа.

Вопросы нумерической таксономии родов *Astragalus* L. и *Crataegus* L. М.: «ИРИС ГРУПП», 2011. 126 с.

44. Ковальова А.М. Флавоноїди рослин роду *Astragalus* L. флори країн СНД. *Вісник фармації*. 1998;1(17): 42 – 47.

45. Ковальова А.М., Комісаренко А.М. Розповсюдження робініну серед видів роду *Astragalus* L. *Вісник фармації*. 1999;2(20):167–169.

46. Козачок С. С. Дослідження фенольних сполук у зборі антиалергічному методом ВЕРХ. *Фармацевтичний часопис*. 2014.(1): 34-39.

47. Козачок С. С. Фармакогностичний аналіз збору лікарських рослин з антиалергічною активністю [автореферат ... к.фарм.н. спец. 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія»]. Львів. 2013. 20 с.

48. Комендар В.І. Лікарські рослини Карпат. Дикорослі та культурні. Третє видання, доповнене і перероблене. Козоріз О., редактор. Ужгород: Мистецька лінія, 2007. 504 с.

49. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. Новосибирск: Академическое изд-во "Гео", 2007. 232 с.

50. Кохан С.Т. Адаптогенные свойства растительных средств и их влияние на течение внебольничных пневмоний. [автореферат ... д.мед.н., спец. 14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология»]. Улан-Удэ. 2014.

51. Криворучко Е.В., Кисличенко В.С., Сальникова С.И. и др. Гипоазотемическая активность настойки и сухого экстракта из листьев смородины черной. *Вестн. пробл.совр.медицины*. 1996.(2.):116-119.

52. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). 2-е изд., перераб. и доп. Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. 1239 с.

53. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев "Морион". 2001; 408 с.

54. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є. Аналіз наявності рослинних гіпоазотемічних засобів на сучасному фармацевтичному ринку України. Хімія природних сполук. Матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф.; 2012 Жовт 30-31; Тернопіль; 2012, с. 125-126.

55. Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є., Конахович Р. Б. Аналіз фармакопейних видів лікарських рослин нефропротекторної дії. Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку. Збірник тез наукових робіт учасників міжн. наук.-практ. конф.; 2017 Січ 27-28; Львів: ГО «Львівська медична спільнота»; 2017, с. 65-68.

56. Лисюк Р. М., Ковальська Н. П. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2019; 1:49–57. DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.1.9883>

57. Лисюк Р. М., Нектегаєв 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.

58. Лисюк Р. М., Нектегаєв 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.

59. 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.

60. 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.

61. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є. Вивчення вітчизняних видів роду *Astragalus* з метою розширення номенклатури офіцинальних лікарських рослин. Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень. Матер. міжн. наук. конф.; 2014 Черв 4-5; Березоточа, Лубни; 2014, с. 163-165.

62. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є. Рослини роду *Lespedeza* як перспективні джерела сучасних лікарських засобів. *Фітотерапія. Часопис*. 2015;2:31-35.

63. 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.

64. 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.

65. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Нектегаєв 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.

66. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Хтей Х.І. Вивчення фенольного складу трави астрагалу серпоплодного. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів. Матеріали VII наук.-пр.конф. з міжн.уч.; 2018 Вер 27-28; Тернопіль : Укрмедкнига; 2018, с. 27-28.

67. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Михайловська В.В. Особливості впливу селену на органи сечовидільної системи. Матер. міжн.науково–практичної конф. з міжн. участю «Бабенківські читання», присв. пам'яті акад. Г.О. Бабенка; 2015 Жовт. 29-30; Івано-Франківськ; 2015, с. 68.

68. Лисюк Р.М., Нектегаєв 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.

69. Лобанова И. Е., Чанкина О.В. Элементарный состав *Astragalus glycyphyllos*. *Химия растительного сырья*. 2012; 2:93-99.

70. Лобанова И.Е. Фитохимическая характеристика *Astragalus glycyphyllos* (Fabaceae). *Растительный мир Азиатской России*. 2011;(1):87–90.

71. Ловкова М.Я., Рабинович А.М., Пономарева С.М. и др. Почему растения лечат. М.: Наука, 1990. 256 с.

72. Лысюк Р.М., Гудзь Н.И., Дармограй Р.Е., Езерская О.И. Растительные субстанции для лечения урологических и нефрологических заболеваний. *Рецепт*. 2016;19(2):235-239.

73. Максютин М.П. Патент 624633 СССР.МПК А61К 35/78. Способ получения триозидов, обладающих гипотензивным действием «Фларонин»; № 1134909/28-13; заявл.20.02.67; опубл. 09.08.1978

74. Марчишин С. М., Козачок С.С. Определение гидроксикоричных кислот в антиаллергическом сборе методом ВЭЖХ. Сетевое научное

издание: Медицина и образование в Сибири. [Интернет]. 2013;4 [цитовано 2021 Січ. 18] Доступно на: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1101

75. Марчишин С. М., Дорошенко О. Г., Козир Г. Р., Койро О. О., Чорна Н.С. Пат. № 109891 Україна. Збір лікарських рослин з діуретичною і нефропротекторною дією. заявл.31.03.2016; опубл.12.09.2016, Бюл. №17.

76. Мінарченко В.М. Лікарські судинні рослини України (медичне та ресурсне значення). Київ: Фітосоціоцентр, 2005.324 с.

77. Монатко К.В., Подплетня О.А., Циганков К.В. Вплив ліофільного порошку кавуна на морфофункціональні зміни нирок білих щурів в умовах експериментальної гострої ниркової недостатності. *Український медичний альманах*. 2012; 15(5,додаток): 248-251.

78. Назаренко М. Е. Эффективность стандартизованного экстракта *Ginkgo biloba* (билобила) при почечной недостаточности в эксперименте. [автореферат ... к.мед.н., спец. 14.00.25]. Курск. 2004.20 с.

79. Наказ Міністерства Охорони Здоров'я України N 610 від 21.06.2016 р. Про державну реєстрацію (перереєстрацію) лікарських засобів (медичних імунобіологічних препаратів) та внесення змін до реєстраційних матеріалів

80. Наказ Міністерства Охорони Здоров'я України N 758 від 07.09.2010: Про державну реєстрацію (перереєстрацію) лікарських засобів та внесення змін у реєстраційні матеріали.

81. Наказ МОЗ України № 593 від 12.12.2004 р. «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Нефрологія», додаток 1.6. «Протокол надання медичної допомоги хворим з хронічною нирковою недостатністю (ХНН)».

82. Наказ МОЗ України № 627 від 03.11.2008 р. «Про затвердження протоколу лікування дітей з інфекціями сечової системи і туболоінтерстиціальним нефритом».

83. Напраснікова Г. С., Владимірова І. М., Георгіянц В. А. Ред. кол. В. П. Черних (голова) та ін. Розробка складу нового лікувально-профілактичного засобу з антимікробною та протизапальною активністю. *Фармація України. Погляд у майбутнє : матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України*. Харків, 15-17 верес. 2010 р. : у 2 т. Харків: НФаУ, 2010. Т. 1. С. 313.
84. Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. ДСТУ 4138-2002. Київ. Держспоживстандарт України. 2003. 173 с.
85. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2015. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. Київ: МОЗ України, 2015. 315 с. Затверджено Наказом МОЗ України № 478 від 30.07.2015 р.
86. Національний реєстр хворих на хронічну хворобу нирок: 2012 рік. Н. І. Козлюк, С. С. Ніколаєнко, М. В. Кулизький (уклад.), гол. ред. М. О. Колесник; Державна установа „Інститут нефрології НАМН України”. К., 2013. 89 с.
87. Нещерет О. І. Фармакогностичне вивчення листя берези бородавчастої. [автореферат ... к.фарм.н. спец. 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія»]. Х.: Національний фармацевтичний ун-т. 2005. 19 с.
88. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. Методика количественного определения группового состава углеводного комплекса растительных объектов. *Химия растительного происхождения*. 2006.(4):29–33.
89. Пасечніков С.П., Попов В.О. Фітопрепарати в лікуванні урологічних і нефрологічних захворювань. *MedicalNature*. 2012;2(10):76 – 81.
90. Попова Н. В., Литвиненко В.И. Лекарственные растения мировой флоры. Харьков: СПДФО, 2008. 510 с.
91. Попова Н.В., Дихтярев С.И., Маслова Н.Ф. и др.. Лечение заболеваний почек фитохимическими препаратами *Фитотерапія. Часопис*. 2011;(4): 40-44.

92. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование: Семейства *Hydrangeaceae* - *Haloragaceae*. Л.: Наука, 1987. 326 с.
93. Рахметов Д. Б., О. П. Бондарчук, О. М. Вергун, В. В. Фіщенко. Біохімічна характеристика надземної фітомаси рослин роду *Astragalus* L. в Правобережному Лісостепу України. Scientific Journal «*ScienceRise: Biological Science*». 2018;3(12):48-52.
94. Резніков О.Г., Соловйов А.І., Добреля Н. В., Стефанов О. В. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: [методичні рекомендації]. К., 2006. 28 с.
95. Савельєва О. В. Цілеспрямований пошук рослинної сировини нейромедіаторної дії серед представників родин *Lamiaceae* та *Ranunculaceae*. [Дисертація... к.фарм.н. спец. 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія»]. Харків, 2018. 240 с.
96. Серєда Л.О., Куцик Г.В., Серєда О.В., Сіра Л.М. Стандартизація трави *Astragalus falcatus* Lam. Повідомлення 2. Вісник фармації. 2008. 1(53):12 – 15.
97. Сивак К.В. Фармакологическое изучение ряда растительных нефропротекторов. [автореферат ... к.биол.н., спец. 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология»]. СПб. 2007. 16 с.
98. Смалюх О. Г. , Нестер М. І., Сур С. В.. Стандартизація цмину піскового квітів за складом і вмістом флавоноїдів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013.(3): 95-9
99. Смалюх О.Г., Сур С.В. Стандартизація плодів моркви дикої за складом і вмістом флавоноїдів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. 1(11):88-93.
100. Смалюх ОГ, Процик ЛВ, Кравчук ЖМ. Фітохімічне дослідження рослинної сировини для розробки складу та специфікації лікарського засобу холелесан у капсулах. *Агроєкологічний журнал*. 2016; (2):138-144.

101. Соколова В.Е. О гипоазотемическом действии флавоноидов. *Фармакология и токсикология*. Киев, 1975;(10):62-66.
102. Соколова В.Е., Васильченко Е.А., Любарцева Л.А. Влияние препаратов из видов леспедецы на азотистый обмен у кроликов. *Раст. ресурсы*. 1975.Т. 11, (1):90-94.
103. Стефанов О.В., ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. К.: Авіцена, 2001. 528 с.
104. Товстуха Є. С. Новітня фітотерапія: монографія. 4-е вид., доп. і переробл. К. : Укр. акад. оригін. ідей, 2003. 479 с.
105. Товчига О.В. Дослідження сечогінної, нефропротекторної, гіпоурикемічної дії яглиці звичайної (*Aegoropodium podagraria* L.) як основа для створення лікарських засобів. [автореферат ... к.фарм.н., спец. 14.03.05 «Фармакологія»]. Х.: Національний фармацевтичний ун-т. 2009. 21 с.
106. Товчига О.В., Синиця В.О., Штриголь С.Ю. та ін.. Екстракт яглиці звичайної (*Aegoropodium podagraria* L.) зменшує нефротоксичність гентаміцину в щурів *Запорожский медицинский журнал*. 2008;1-2(47):59-63.
107. Упир Д.В., Мартинов А.В., Кисличенко В.С. Розробка збору для лікування інфекційних захворювань легень та туберкульозу. *Український медичний альманах*. 2012; 15(3):214-215.
108. Флора УРСР. Том VI. Ред. тома Д.К. Зеров. Київ: Видавництво Академії наук Української РСР, 1954. 610 с.
109. Харченко Д. С. Експериментальне обґрунтування застосування препарату “Корвітин” при нирковій недостатності. [автореферат ... к.фарм.н., спец. 14.03.05 «Фармакологія»]. Х.: Національний фармацевтичний ун-т. 2009. 20 с.
110. Харченко Д.С., Зупанець І.А., Шебеко С.К. Дослідження впливу кверцетину при парентеральному введенні на біохімічні показники щурів із нирковою недостатністю на тлі хронічного гломерулонефриту. *Фармаком*. 2009.(2):117-121.

111. Харченко Д.С., Зупанець І.А., Шебеко С.К., Отрішко І.А. Вплив кверцетину при парентеральному введенні на функціональні показники нирок щурів з нирковою недостатністю на тлі хронічного гломерулонефриту. *Клінічна фармація*. 2009а; 13(2):50-53.
112. Цугкиев Б.Г., Гагиева Л.Ч. Астрагал козлятниковидный в РСО-Алания *Земледелие*. 2008; 7:37.
113. Чорна Н.С. Фармакологічне обґрунтування застосування густого екстракту з листя берези бородавчастої (*Betula verrucosa Ehrh.*) для лікування діабетичної нефропатії. [автореферат ... к.фарм.н., спец. 14.03.05 «Фармакологія»]. Х.: Національний фармацевтичний ун-т. 2016. 20 с.
114. Шевченко И.В., Алмакаева Л.Г. Разработка и состав инъекционного препарата гипоазотемического действия. *Фармаком*. 2001;4:41-44.
115. Шевченко І. В. Розробка складу і стандартизація виробництва ін'єкційного лікарського засобу гіпоазотемічної дії на основі флавоноїдів. [автореферат ... к.фарм.н., спец. 15.00.03 «Стандартизація та організація виробництва лікарських засобів»]. Х.: Національний фармацевтичний ун-т. 2002. 19 с.
116. Штриголь С. Ю., Лісовий В. М., Зупанець І. А. та ін.. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень: метод. рекомендації. К., 2009. 47 с.
117. Штриголь С. Ю., Товчига О.В. Біологічно активні речовини та препарати рослинного походження з нефропротекторною активністю. *Фармаком*. 2010.(1):140-155.
118. Штрыголь С.Ю., Товчига О.В., Койро О.О., Степанова С.И. Лекарственные растения, почки и обмен мочевой кислоты. Х.: Титул, 2014. 424 с.
119. Яковлева Л.В., Чорна Н.С., Бабенко Д.М. Стан прооксидантно-антиоксидантної системи та функції нирок щурів під впливом густого

екстракту з листя берези бородавчастої на тлі отруєння тетрахлоретаном. *Буковинський медичний вісник*. 2012;16/3(63),p.1:249-252.

120. Янович Д.В., Заріцька Є.Г., Галабурда А.В. Визначення селену в індикаторних рослинах та кормах методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії з електро-термічною атомізацією. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин*. 2015;16(2):423–429.

121. Abdel-Daim M.M., Abdellatief S. A. Attenuating effects of caffeic acid phenethyl ester and betaine on abamectin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018 Jun;25(16):15909-15917. DOI: 10.1007/s11356-018-1786-8.

122. Ahmadvand H., Khalatbari A., Tamjidipoor A. Rosmarinic Acid Ameliorates Diabetic Nephropathy in Uninephrectomized Diabetic Rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*.2011, 14,(3):275-283

123. Al-Abdali Anwar I.O. Study effect of crude alcoholic extract of Hawthorn (*Crataegus Oxyacantha*) and crude polyphenolic compounds from black olive (*Olea Europae*) fruits on some physiological parameters of kidney of male rats treated with hydrogen peroxide. *Iraqi Journal of Cancer and Medical Genetics*.2014; 7: 113-120.

124. Alaniya M. D., Kavtaradze N. Sh., Skhirtladze A. V., Sutiashvili M. G. Flavonoid Oligosides from georgian *Astragalus falcatus*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2011. 47(3):377-381.

125. Alaniya M.D., Kavtaradze N.S., Bassarello C. et al. Flavonoid glycosides from *Astragalus galegiformis* leaves. *Chem Nat Compd*. 2006;42:681–685. <https://doi.org/10.1007/s10600-006-0251-y>

126. Al-Waili N, Al-Waili H, Al-Waili T, Salom K. Natural antioxidants in the treatment and prevention of diabetic nephropathy; a potential approach that warrants clinical trials. *Redox Rep*. 2017;22(3):99-118. DOI: 10.1080/13510002.2017.1297885.

127. Amalan V., Vijayakumar N., Ramakrishnan A. 2015.p-Coumaric acid regulates blood glucose and antioxidant levels in streptozotocin induced diabetic rats. In *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7 (7):831-839.
128. Andersen Q. M., Markham K. R. Flavonoids : chemistry, biochemistry, and applications. Boca Raton, London, New York: Taylor & Francis Group, 2006. 1197 p.
129. Anjaneyulu M., Tirkey N., Chopra K. Attenuation of cyclosporine-induced renal dysfunction by catechin: possible antioxidant mechanism. *Ren. Fail.* 2003. 25(5):691-707.
130. 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.
131. Avissar N, Ornt DB, Yagil Y et al. Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am J Physiol.*1994;266:C367–C375.
132. Azani N, Bruneau A, Wojciechowski MF, Zarre S. Molecular phylogenetics of annual *Astragalus (Fabaceae)* and its systematic implications. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2017; 184:347–365.
133. Barchuk OZ, Lysiuk RM, Denys AI, Zaliska OM, Smalyuh OG, Nester MI. Experimental study of goat's rue (*Galega Officinalis* L.) herb and its liquid extracts. *The Pharma Innovation Journal*. 2017;6(11):393-397.
134. Bisby F. Phytochemical Dictionary of the *Leguminosae*. - CRC Press, 1994 – 1180 p.
135. Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? *Food Chem Toxicol*. 2017 Dec.;110:240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
136. Bojňanský V., Fargašová Ag. Atlas of Seeds and Fruits of Central and East-European Flora.The Carpathian Mountains Region. Springer: 2007; 1046.
137. Bondarchuk O., Vergun O., Shymanska O., Fishchenko V., Rakhmetov D. Accumulation of ash and photosynthetic pigments in the raw

material of *Astragalus*. *Plant Introduction*. 2020; 87/88:76–86. DOI: <https://doi.org/10.46341/PI2020031>

138. Bratkov VM, Shkondrov AM, Zdraveva PK, Krasteva IN. Flavonoids from the Genus *Astragalus*: Phytochemistry and Biological Activity. *Pharmacogn Rev*. 2016 Jan-Jun;10(19):11-32. DOI: 10.4103/0973-7847.176550.

139. Brown J.E., , Rice-Evans C.A. Luteolin-rich artichoke extract protects low density lipoprotein from oxidation in vitro. *Free Radic. Res*.1998; (29): 247–255.

140. Bunel, V. Antoine, M.-H. Nortier, J. Duez, P. Stevigny, C. Nephroprotective effects of ferulic acid, Z-ligustilide and E-ligustilide isolated from *Angelica sinensis* against cisplatin toxicity *in vitro*. *Toxicology in Vitro*. 2015; 29:458–467.

141. Burlando B., Verotta L., Cornara L., Bottini-Massa El. Herbal Principles in Cosmetics: Properties and Mechanisms of Action. Boca Raton, London, NewYork: CRC Press, 2010.460 p.

142. Butkute B., Dagilyt A., Benetis R., Padarauskas A., Cesevilien J., Olšauskait V., Leme Dien N. Mineral and Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of Herbal Material from Two Temperate *Astragalus* Species. *BioMed Research International*. 2018, Article ID 6318630, 11 p.<https://doi.org/10.1155/2018/6318630>

143. Butkutė, B., Lemežienė, N., Dagilytė, A., Cesevičienė, J., Benetis, R., Mikaliūnienė, J. and Rodovičius, H. Mineral Element and Total Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Seeds and Aerial Plant Parts of Perennial Legumes. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*. 2016; 47 suppl.1: 36-45. (10.1080/00103624.2016.123202)

144. Callans DJ, Wacker LS, Mitchell MC. Effects of ethanol feeding and withdrawal on plasma glutathione elimination in the rat. *Hepatology*. 1987;7(3):496-501.

145. Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thévenin M, Jaudon MC, et al. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Biol Med*. 1996;21:845–53.
146. Cervelle C.M.H. Treatment of hypoazotemic and atheromatous conditions using lespesapitoside and process for - United States Patent 3928585; Dec.23, 1975
147. Chander, V., Singh, D. and Chopra, K. 2003. Catechin, natural antioxidant protects against rhabdomyolysis- induced myoglobinuric acute renal failure. *Pharmacol. Res.* 5, 503-509.
148. Chen Y., Xie MY, Wang YX, et al. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography. *Phytochem Anal.* 2009. 20(6): 503-10.
149. Chinnappan SM, George A, Thaggikuppe P, Choudhary YK, Choudhary VK, Ramani Y, Dewangan R. Nephroprotective effect of herbal extract *Eurycoma longifolia* on paracetamol-induced nephrotoxicity in rats. *Evid-Based Complement Altern Med.* 2019; <https://doi.org/10.1155/2019/4916519>.
150. Chirumbolo S, Bjørklund G, Lysiuk R, Vella A, Lenchyk L, Upyr T. Targeting Cancer with Phytochemicals via Their Fine Tuning of the Cell Survival Signaling Pathways. *Int J Mol Sci.* 2018 Nov 12;19(11), 3568. DOI: 10.3390/ijms19113568.
151. Chopra K., Singh D., Chander V. Nephrotoxicity and its prevention by catechin in ferric nitrilotriacetate promoted oxidative stress in rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 2004. 23(3):137-143.
152. Czerepanov S.K. Vascular plants of Russia and adjacent states (the former USSR). Cambridge, Melbourne: Cambridge University Press, 1995. 516 p.
153. Davids R. The global epidemic of chronic kidney disease. *South African Journal of Clinical Nutrition.* 2007; 4(3):10-15. DOI: 10.1080/16070658.2005.11734039
154. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Official Journal of the European Union. 20.10.2010. L 276/33. Strasbourg, France: Council of Europe 47 p.

155. Ebadi M. S. Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. 2nd edn. Boca Raton, London, New York: CRC Press, 2007. 699 p.

156. Esmail ASA, Ali TT. A review of medicinal plants with nephroprotective effects. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 2019;08(01):114–122. DOI: <https://doi.org/10.30574/gscbps.2019.8.1.0108>.

157. European Pharmacopoeia. 8.0. - Strasbourg: Council of Europe, European Directorate for the Quality of Medicines, 2013. 3655 p.

158. Francescato H.D., Coimbra T.M., Costa R.S., Bianchi M.L. Protective effect of quercetin on the evolution of cisplatin-induced acute tubular necrosis. *Kidney Blood Press. Res.* 2004. 27(3):148-158.

159. Gaikwad K, Dagle P, Choughule P, Joshi Y. M., Kadam V. A Review on Some Nephroprotective Medicinal Plants. *Int J Pharm Sci Res* 2012; 3(7): 1000-1003.

160. Gałuszka, A., Krzciuk, K., Migaszewski, Z. M. A new two-step screening method for prospecting of trace element accumulating plants. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2015;12:3071–3078. DOI: 10.1007/s13762-014-0719-4,

161. Gorai D., Shyamal K. Jash SK., Roy R. Flavonoids From *Astragalus* Genus. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2016;7(7): 2732-2747.

162. Gruenwald J., Th. Brendler, Ch. Jaenicke (sc. eds.). PDR for Herbal Medicines. - Montvale, NJ: Medical Economics Company, 2000. – 858 p.

163. Guerrant G.O., Moss C.W. Determination of monosaccharides as aldononitrile, O-methyloxime, alditol, and cyclitol acetate derivatives by gas-chromatography. *Analytical Chemistry*. 1984. (56):633–638.

164. Gulluce M, Agar G, Baris O, Karadayi M, Orhan F, Sahin F. Mutagenic and antimutagenic effects of hexane extract of some *Astragalus* species

grown in the eastern Anatolia region of Turkey. *Phytother Res.* 2010 Jul;24(7):1014-8. DOI: 10.1002/ptr.3059.

165. Hosokawa S, Nishitani H. Role of manganese in chronic hemodialysis patients. *Int J Artif Organs.* 1987 Jan;10(1):14-6.

166. Hudz N., Korzeniowska K, Wieczorek PP, Schubertová Z, Brindza J, Ivanišová E. Approaches to the identification and assay of flavonoids in bee bread extracts by spectrophotometric method. In: *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality, 2017: Scientific Proceedings of the International Network AgroBioNet.* Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovakia. 2017.p.168–173.

167. Hudz N., Korytniuk O., Yezerska O., Motyka O., Turkina V., Korytniuk R., Wieczorek P. P. Evaluation of the total flavonoid content and antimicrobial activity of the tinctures of propolis of Ukrainian origin. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 2020a;77(6):897–907. DOI: 10.32383/appdr/131651

168. Hudz N., Makowicz E, Shanaida M, Białoń M, Jasicka-Misiak I, Yezerska O, Svydenko L, Wieczorek PP. Phytochemical Evaluation of Tinctures and Essential Oil Obtained from *Satureja montana* Herb. *Molecules.* 2020b Oct 16;25(20):4763. DOI:10.3390/molecules25204763.

169. Hudz N., Yezerska O., Grygorieva O., Felsociova S., Brindza J., Wieczorek P., Kacaniova M. Analytical procedure elaboration of total flavonoid content determination and antimicrobial activity of bee bread extracts. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 2019; 76(3):439-452 DOI: 10.32383/appdr/103745

170. Ibrahim Anwar D., Noman Albadani R. Evaluation of the Potential Nephroprotective and Antimicrobial Effect of *Camellia sinensis* Leaves versus *Hibiscus sabdariffa* (in vivo and in vitro Studies). *Adv. Pharmacol. Sci.* 2014; 2014:389834. doi: 10.1155/2014/389834.

171. Ivancheva S., Nikolova M., Tsvetkova R. Pharmacological activities and biologically active compounds of Bulgarian medicinal plants. *Phytochemistry: Advances in Research*. 2006. pp. 87-103.
172. Karahan I., Atessahin A., Yilmaz S. et al. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology*. 2005. 215(3):198-204.
173. Kemertelidze E. P. Biologically Active Compounds and Medical Preparations from Some Plants Growing in Georgia. *Chemistry for Sustainable Development*. 2008. (16):75–83.
174. Khan N., Sultana S. Abrogation of potassium bromate-induced renal oxidative stress and subsequent cell proliferation response by soy isoflavones in Wistar rats *Toxicology*. 2004;201(1-3):173-84.
175. Kim S.J. Um J.Y., Hong S.H et al. Anti-Inflammatory Activity of Hyperoside through the Suppression of Nuclear Factor-kappa B Activation in Mouse Peritoneal Macrophages. *Am. J. Chinese Med.* 2011;39:171-181.
176. Kim YH, Kim YW, Oh YJ, Back NI, Chung SA, Chung HG, Jeong TS, Choi MS, Lee KT. Protective effect of the ethanol extract of the roots of *Brassica rapa* on cisplatin-induced nephrotoxicity in LLC-PK1 cells and rats. *Biol Pharm Bull*. 2006 Dec;29(12):2436-41.
177. 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*. 2018 Mar;182(1):169-177.
178. Krasteva I., Nikolov S. Flavonoids from genus *Astragalus* L. *Pharmacia*. 2000;36: 20-25.
179. Krasteva, I., Shkondrov, A., Ionkova, I., Zdraveva P. Advances in phytochemistry, pharmacology and biotechnology of Bulgarian *Astragalus* species. *Phytochem Rev*. 2016;15(4): 567-590. DOI:10.1007/s11101-016-9462-4

180. Kumazawa T, Minatogawa T, Matsuba S, Sato S, Onodera J. An effective synthesis of isoorientin: the regioselective synthesis of a 6-C-glucosylflavone. *Carbohydr Res.* 2000;329(3):507-13.
181. Kuo K.-L., Tarng D.-C. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Adaptive Medicine.* 2010;2(2): 87–94.
182. Küpeli E, Aslan M, Gürbüz I, Yesilada E. Evaluation of in vivo biological activity profile of isoorientin. *Z Naturforsch C J Biosci.* 2004;59(11-12):787-90.
183. Kurkina A. V., Avdeeva E.V., Kurkin V.A. The Actual Aspects of Standardization of Some Pharmacopoeial Plants Containing Flavonoids in: *10th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds*, November 21-13, 2013, Tashkent-Bukhara. Abstracts, p. 205.
184. Lakshmi SM, Reddy TUK, KSS. A review on medicinal plants for nephroprotective activity. *Asian J Pharm Clin Res.* 2012;5(4):8-14.
185. Li MX, Wang WX, Xue J, Gu Y, Lin S. Meta-analysis of the clinical value of *Astragalusmembranaceus* in diabetic nephropathy. *J Ethnopharmacol* 2011;133:412-9. DOI: 10.1016/j.jep.2010.10.012.
186. Li PK, Chow KM, Van de Luijtgarden MW, Johnson DW, Jager KJ, Mehrotra R, et al. Changes in the worldwide epidemiology of peritoneal dialysis. *Nat Rev Nephrol.* 2017 Feb;13(2):90-103. doi: 10.1038/nrneph.2016.181.
187. Li X, Qu L, Dong Y, Han L, Liu E, Fang S, Zhang Y, Wang T. A review of recent research progress on the *Astragalus* genus. *Molecules.* 2014;19(11):18850-80. DOI: 10.3390/molecules191118850.
188. Lichun Dong, Xiaohua Zhou, Duanhua Li. Extraction of Hyperoside from *Hypericum perforatum* L. Using CTAB Reversed Micelles. *The Canadian Journal of Chemical Engineering.* Vol. 87. pp. 584 – 590.
189. Linard A., Delaveau P., Paris R.R., et al. Isocarlinoside, a di-C-glycosylflavone from *Lespedeza capitata*. *Phytochemistry.*1982;21(3): 797–799.
190. Liu Z.Y., Tao X.Y., Zhang, C.W. et al. Protective effects of hyperoside (quercetin-3-o-galactoside) to PC12 cells against cytotoxicity induced

by hydrogen peroxide and tert-butyl hydroperoxide. *Biomed. Pharmacother.* 2005;59:481-490.

191. Long M., Qiu D., Li F. et al. Flavonoid of *Drynaria fortunei* protects against acute renal failure. *Phytother. Res.* 2005;19:422–427.

192. Lu B., Wu X., Tie X., Zhang Y., Zhang Y. Toxicology and safety of anti-oxidant of bamboo leaves. Part 1: Acute and subchronic toxicity studies on anti-oxidant of bamboo leaves. *Food Chem. Toxicol.* 2005;43:783-792.

193. 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 Teleuță [et al.] org. com.; 2017 June 1-3; Chișinău, Republic of Moldova: S. n., Tipogr. “Pixel Print”; 2017, p.91.

194. Lysiuk R, Darmohray R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus*. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*; 2016;3:46-53. DOI:10.18052/www.scipress.com/IJPPE.3.46

195. Lysiuk R, Darmohray R. Plants of the genus *Astragalus* used for medicinal purposes. Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії.: зб. тез наук. робіт міжн. наук. – практ. конф. 2013 Лист 8 – 9; Одеса; 2013, с. 30–32.

196. 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.

197. 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.

198. 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.

199. 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; 18(2):241-247, DOI: <https://doi.org/10.3329/dujps.v18i2.44464>

200. Lysiuk R, Mansuetus Mboya J. Herbal drugs for the treatment of diabetic nephropathy: Current status and prospects for the application. *J Kidney Treat Diagn.* 2020;3(2):3-4

201. Lysiuk R, Mboya J. M., Darmohray R. Beneficial Nephroprotective Effects of Plant Materials for Treatment of Diabetic Nephropathy. Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали шостої Міжнародної науково–практичної конференції; 2017 Гру 26-27; Полтава–Лубни: Комунальне видавництво «Лубни»; 2018, p. 164-167.

202. 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.

203. 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.

204. Lysiuk R. Cynaroside: physico-chemical characteristics, plant sources, isolation, pharmacological effects. Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках. Зб. матер. міжн. наук. – практ. конф.; 2013 Груд 27-28; Київ; с. 90–94.

205. Lysiuk R. M., Darmohray R. Y., Mykhailovska V. V., Matthew Uche Eze. *Fabaceae* Plants as Valuable Sources of Microelements and Promising Nephroprotective Agents. XVI–е чтения В.В. Подвысоцкого: Бюллетень

материалов научной конференции; 2017 Мая 18-19; Одесса: УкрНИИ медицины транспорта; 2017, с.18-19.

206. 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.

207. 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.

208. Lysiuk R.M. Hypoazotemic effects of some *Fabaceae* plants. Роль та місце медицини у забезпеченні здоров'я людини у сучасному суспільстві: матер. міжн. наук. – практ. конф.; 2013 Груд. 12; Одеса; 2013, с. 14-16.

209. Lysiuk R.M., Darmohray R.Y. Isoorinenin – containing medicinal plants as promising sources of nephroprotective phytopharmaceuticals. Міжн. науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів»; 2015 Квіт 23; Х.: Вид-во НФаУ; 2015, с. 82.

210. Lysiuk R.M., Darmohray R.Y., Mykhailovska V.V. Plants, yielding robinin, as promising sources of nephroprotective herbal drugs. Матер. II міжн. наук.-практ. інтернет – конференції «Technological and Biopharmaceutical Aspects of Drugs Developing with Different Orientation of Action»; 2015 Лист. 12-13; Х.: Вид-во НФаУ; 2015, p. 12–13.

211. 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.

212. 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.
213. Lysiuk RM, Mboya JM. 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.
214. Lysiuk RM, Nektegaev IO, Antoniv OI, Bolesta MI, 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.
215. Mamatkhanova M. A., Khalilov R. M., Syrov V.N. et al. Technology for Cinaroside Production from the Aerial Part of *Ferula varia* and Evaluation of its Hypoazotemic Activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2009;43(3):38–40.
216. March RE, Miao XS, Metcalfe CD. A fragmentation study of a flavone triglycoside, kaempferol-3-O-robinoside-7-O-rhamnoside. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2004;18(9):931-4.
217. Mehta RL, Cerdá J, Burdmann EA, Tonelli M, García-García G, Jha V, et al. International Society of Nephrology's Oby25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology. *Lancet*. 2015 Jun 27;385(9987):2616-43. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60126-X.
218. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular Plants of Ukraine. A Nomenclatural Checklist. Kiev: National Academy of Sciences of Ukraine, M.G. Kholodny Institute of Botany, 1999. 346 p.
219. Naghizadeh B, Boroushaki MT, Vahdati Mashhadian N, Mansouri M T. Protective effects of crocin against cisplatin-induced acute renal failure and oxidative stress in rats. *Iran Biomed J*. 2008 Apr;12(2):93-100.
220. Negm S.H., El-Soadaa S.S. Effect of *Terminalia chebula* on cadmium induced nephrotoxicity and lipid profiles in rats. *Bioscience Research*, 2020; 17(2): 1535-1544

221. Nikolov S., Benbassat N. Triterpenoid saponins and sapogenins from genus *Astragalus* L. *Pharmacia*. 1997;44(3-4):34-48.
222. Nishioka, H., Fujii, H., Sun, B. Aruoma, O.I. Comparative efficacy of oligonol, catechin and (-)-epigallocatechin 3-O-gallate in modulating the potassium bromate-induced renal toxicity in rats. *Toxicology*. 2006;2-3:181-187.
223. Okokon J.E., Udobang J.A., Obot D.N., Agu E.C. Nephroprotective activity of husk extract of *Zea mays* against gentimicin-induced kidney injury in rats. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2019; 7(6): 156-160.
224. Omurtag G.S., Guranlioglu F.D., Sehirli O. et al. Protective effect of aqueous garlic extract against naphthalene- induced oxidative stress in mice. *J. Pharm. Pharmacol*. 2005;57(5):623-630.
225. Orhan I., Ozcelik B., Kartal M. et al. HPLC Quantification of Vitexine-2''- O-rhamnoside and Hyperoside in Three *Crataegus* Species and Their Antimicrobial and Antiviral Activities. *Chromatographia Supplement*. 2007;66:153-157.
226. Otto M. Chemometrics. Statistics and computer application in analytical chemistry. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 1999.
227. Piao X.L., Mi X.Y., Tian Y.Z. et al. Rapid identification and characterization of antioxidants from *Ligularia fischeri*. *Arch Pharm Res*. 2009;32(12):1689-94.
228. Pistelli L. Studies in Natural Products Chemistry. Vol. 27. Atta-Ur-Rahman (Ed.). Elsevier Science B.V.; 2002. Chapter, Secondary Metabolites of Genus *Astragalus*: Structure and Biological Activity; p. 443- 545.
229. Platikanov S., Nikolov S., Pavlova D., Evstatieva L., Popov S. Volatiles from Four *Astragalus* Species: Phenological Changes and their Chemotaxonomical Application. *Z. Naturforsch. C*. 2005;60(7-8):591-599. DOI: <https://doi.org/10.1515/znc-2005-7-814>
230. Prinz S., Ringl A., Huefner A., Pemp E., Kopp B. 4'''-Acetyl vitexin-2''-O-rhamnoside, isoorientin, orientin, and 8-methoxykaempferol-3-O-glucoside as markers for the differentiation of *Crataegus monogyna* and *Crataegus*

pentagyna from *Crataegus laevigata* (Rosaceae). *Chem Biodivers.* 2007; 4(12): 2920-2931.

231. Rios J. L., Waterman P. G. A Review of the Pharmacology and Toxicology of Astragalus. *Phytother. Res.* 1997;11:411–418.

232. Rump A.F. Schussler M., Acar D. et al. Functional and antiischemic effects of luteolin-7-glucoside in isolated rabbit hearts. *Gen. Pharmacol.* 1994;25:1137–1142.

233. Safar K.N., Osaloo S.K., Maassoumi A.A. Re-assessment of subspecific taxa in *Astragalus* section *Anthylloidei* (Fabaceae) based on molecular evidence. *Progress in Biological Sciences.* 2014.4(2): 219-234.

234. Sensitive Determination of Catechins in Tea by HPLC. Thermo scientific: DIONEX corporation, AN 275. 2011. 9 p. Available from: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Application-Notes/AN-275-LC-Catechins-Tea-LPN2799-EN.pdf> Accessed 17.01.2021

235. Sezik E, Aslan M, Yesilada E, Ito S. Hypoglycaemic activity of *Gentiana olivieri* and isolation of the active constituent through bioassay-directed fractionation techniques. *Life Sci.* 2005;76(11):1223-38.

236. Shkondrov A, Krasteva I, Bucar F, Kunert O, Kondeva-Burdina M, Ionkova I. A new tetracyclic saponin from *Astragalus glycyphyllos* L. and its neuroprotective and hMAO-B inhibiting activity. *Nat Prod Res.* 2018 Nov 23:1-7. DOI: 10.1080/14786419.2018.1491040

237. Shkondrov A., Krasteva I., Ionkova I., Popova P., Zarev Y., Mihaylova R., Konstantinov S. Production of saponins from in vitro cultures of *Astragalus glycyphyllos* and their antineoplastic activity, *Biotechnology & Biotechnological Equipment.* 2019;33(1):1413-1418, DOI: 10.1080/13102818.2019.1671222

238. Shostak L. G., Marchyshyn S. M., Kozachok S. S., Karbovska R. V. Investigation of phenolic compounds of *Primula veris* L. *Journal of Education, Health and Sport.* 2016;6(5):424-432. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.56701>

239. Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Biology & Medicine*. 1999;27,9/10:916–921.
240. Silan C., Uzun O., Comunoğlu N.U. et al. Gentamicin-induced nephrotoxicity in rats ameliorated and healing effects of resveratrol. *Biol. Pharm. Bull.* 2007;30(1):79-83.
241. Singh D., Kanwaljit Chopra. The effect of naringin, a bioflavonoid on ischemia-reperfusion induced renal injury in rats. *Pharmacological Research*. 2004;50 (2):187–193.
242. Singh D., Kaur R., Chander V., Chopra K. Antioxidants in the Prevention of Renal Disease. Mini-Review. *J Med Food*. 2006;9(4):443–450.
243. Smith A.M., Temple K. Selenium metabolism and renal disease. *Journal of Renal Nutrition* 1997; 7(2): 69-72
244. Suzuki, R, Okada, Y, Okuyama, T. The favorable effect of style of *Zea mays L.* on streptozotocin induced diabetic nephropathy. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2005;28:919–920.
245. Tusevski, O., Kostovska, A., Iloska, A., Trajkovska, L. Gadzovska, S.S. Phenolic production and antioxidant properties of some Macedonian medicinal plants. *Cent. Eur. J. Biol.* 2014;9:888-900. DOI:10.2478/s11535-014-0322-1
246. Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, et al. (Eds). *Flora Europaea*. Vol.2. *Rosaceae to Umbelliferae*. London, New York, New Rochelle, Melbourne, Sydney: Cambridge University Press, 1981.
247. U.S. National Plant Germplasm System. [Internet]. [cited 2021 Jan 14]. Available at: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomysearch>
248. Veitch NC, Grayer RJ. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. *Nat Prod Rep*. 2008;25(3):555-611. DOI: 10.1039/b718040n.
249. Wagner H., Elbl G. ACE-inhibitory procyanidins from *Lespedeza capitata*. *Planta Medica*. 1992;58:297-298.

250. Wagner H., S. Bladt, E. M. Zgainski, Plant Drug Analysis — a Thin Layer Chromatography Atlas. Berlin, Heidelberg, New York-Tokyo, Springer Verlag, 1984. 320 p.
251. Walter K.S., Gillett H.J., editors. 1997 IUCN Red List of Threatened Plants. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 1998. 862 p.
252. Wang A, Barber D, Pfeiffer CJ. Protective effects of selenium against mercury toxicity in cultured Atlantic spotted dolphin (*Stenella plagiodon*) renal cells. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2001 Nov;41(4):403-9.
253. WHO Guidelines for Assessing Quality of Herbal Medicines with Reference to Contaminants and Residues. 2007. World Health Organization, Geneva.
254. WHO Guidelines on Good Agricultural and Collection Practices (GACP) for Medicinal Plants. Geneva : World Health Organization, 2003. 72 p.
255. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. Vol. 1. Geneva: World Health Organization, 1999. 289 p.
256. WHO. Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials. 1998. World Health Organization, Geneva. 115 p.
257. Xiao Sun, Gui-bo Sun, Min Wang, et al. Protective Effects of Cynaroside Against H₂O₂-Induced Apoptosis in H9c2 Cardiomyoblasts. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2011(112):2019–2029.
258. Yang LP1, Shen JG, Xu WC, Li J, Jiang JQ. Secondary metabolites of the genus *Astragalus*: structure and biological-activity update. *Chem Biodivers*. 2013;10(6):1004-54. DOI: 10.1002/cbdv.201100444.
259. Yarnell E. Botanical Medicines Used for Kidney Disease in the United States. *Iranian Journal of Kidney Diseases*. 2012. (6):407 - 418.
260. Yarnell E., Abascal K., Rountree R. Clinical Botanical Medicine. 2nd edn. New Rochelle: Mary Ann Liebert, Inc.: 2003; 438.
261. Yokozawa T., Rhyu D.Y., Cho E.J. (-)-Epicatechin 3-O-gallate ameliorates the damages related to peroxynitrite production by mechanisms

distinct from those of other free radical inhibitors. *J. Pharm. Pharmacol.* 2004;56(2): 231-239.

262. Zachara BA. Selenium and selenium-dependent antioxidants in chronic kidney disease. *Adv Clin Chem.* 2015;68:131-51. DOI: 10.1016/bs.acc.2014.11.006.

263. Žemlička, L., Fodran, P., Lukeš, V. et al. Physicochemical and biological properties of luteolin-7-O- β -D-glucoside (cynaroside) isolated from *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. *Monatsh Chem* 145, 1307–1318 (2014) DOI:10.1007/s00706-014-1228-3

264. Zhang J, Xie X, Li C, Fu P. Systematic review of the renal protective effect of *Astragalus membranaceus* (root) on diabetic nephropathy in animal models. *J Ethnopharmacol.* 2009 Nov 12;126(2):189-96. DOI: 10.1016/j.jep.2009.08.046.

265. Zhang L, Mao W, Guo X, Wu Y, Li C, Lu Z, Su G, Li X, Liu Z, Guo R, Jie X, Wen Z, Liu X. *Ginkgo biloba* Extract for Patients with Early Diabetic Nephropathy: A Systematic Review. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:689142. DOI: 10.1155/2013/689142.

266. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 1999; 64: 555-559.

267. Zhong Y, Deng Y, Chen Y, Chuang PY, Cijiang He J. Therapeutic use of traditional Chinese herbal medications for chronic kidney diseases. *Kidney Int.* 2013;84(6):1108-18. DOI: 10.1038/ki.2013.276.

Додаток А

Список публікацій

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

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*. 2018 Mar;182(1):169-177.
2. Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? *Food Chem Toxicol*. 2017 Dec.;110:240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
3. Лисюк Р. М., Ковальська Н. П. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2019; 1:49–57. DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.1.9883>
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.
5. Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є. Рослини роду *Lespedeza* як перспективні джерела сучасних лікарських засобів. *Фітотерапія. Часопис*. 2015;2:31-35.
6. Лысюк Р.М., Гудзь Н.И., Дармограй Р.Е., Езерская О.И. Растительные субстанции для лечения урологических и нефрологических заболеваний. *Рецепт*. 2016;19(2):235-239.

7. 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.
8. 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; 18(2):241-247, DOI: <https://doi.org/10.3329/dujps.v18i2.44464>
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Lysiuk R, Mansuetus Mboya J. Herbal drugs for the treatment of diabetic nephropathy: Current status and prospects for the application. *J Kidney Treat Diagn*. 2020;3(2):3-4
13. 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.
14. Lysiuk R, Darmohray R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus*. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*; 2016;3:46-53. DOI:10.18052/www.scipress.com/IJPPE.3.46
15. 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.

- 16.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.
- 17.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.
- 18.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.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

- 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 Teleuță [et al.] org. com.; 2017 June 1-3; Chișinău, 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., Нектегаєв І.О., Антонів О.І., Болеста М.І., Лецишин 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. Єзерська О.І., Гудзь Н.І., Лисюк Р.М. Фіточаї, що застосовуються в урології, - лікарські засоби чи парафармацевтики. Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту. Матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжн.уч.; 2016 Квіт 15; Х.: Вид-во НФаУ; 2016, с. 127-128.

- 27.Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є. Аналіз наявності рослинних гіпоазотемічних засобів на сучасному фармацевтичному ринку України. Хімія природних сполук. Матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф.; 2012 Жовт 30-31; Тернопіль; 2012, с. 125-126.
- 28.Лисюк Р. М., Дармограй Р. Є., Конахович Р. Б. Аналіз фармакопейних видів лікарських рослин нефропротекторної дії. Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку. Збірник тез наукових робіт учасників міжн. наук.-практ.конф.; 2017 Січ 27-28; Львів: ГО «Львівська медична спільнота»; 2017, с. 65-68.
- 29.Лисюк Р. М., Нектегаєв 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.
- 30.Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Хтей Х.І. Вивчення фенольного складу трави астрагалу серпоплодного. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів. Матеріали VII наук.-пр.конф. з міжн.уч.; 2018 Вер 27-28; Тернопіль : Укрмедкнига; 2018, с. 27-28.
- 31.Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є. Вивчення вітчизняних видів роду *Astragalus* з метою розширення номенклатури офіційних лікарських рослин. Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень. Матер. міжн. наук. конф.; 2014 Черв 4-5; Березоточа, Лубни; 2014, с. 163-165.
- 32.Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Лещишин М.М. Інтродукційне та фітохімічне вивчення астрагалу козлятниковподібного. 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.
- 33.Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Нектегаєв 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.
- 34.Лисюк Р.М., Дармограй Р.Є., Михайловська В.В. Особливості впливу селену на органи сечовидільної системи. Матер. міжн.науково–практичної конф. з міжн. участю «Бабенківські читання», присв. пам'яті акад. Г.О. Бабенка; 2015 Жовт. 29-30; Івано-Франківськ; 2015, с. 68.
- 35.Lysiuk R. M., Darmohray R. Y., Mykhailovska V. V., Matthew Uche Eze. *Fabaceae* Plants as Valuable Sources of Microelements and Promising Nephroprotective Agents. XVI–е чтения В.В. Подвысоцкого: Бюллетень материалов научной конференции; 2017 Мая 18-19; Одесса: УкрНИИ медицины транспорта; 2017, с.18-19.
- 36.Lysiuk R.M. Hypoazotemic effects of some *Fabaceae* plants. Роль та місце медицини у забезпеченні здоров'я людини у сучасному суспільстві: матер. міжн. наук. – практ. конф.; 2013 Груд. 12; Одеса; 2013, с. 14-16.
- 37.Lysiuk R.M., Darmohray R.Y. Isoorinenin – containing medicinal plants as promising sources of nephroprotective phytopharmaceuticals. Міжн. науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів»; 2015 Квіт 23; Х.: Вид-во НФаУ; 2015, с. 82.
- 38.Lysiuk R.M., Darmohray R.Y., Mykhailovska V.V. Plants, yielding robinin, as promising sources of nephroprotective herbal drugs. Матер. II міжн. наук.-практ. інтернет – конференції «Technological and Biopharmaceutical Aspects of Drugs Developing with Different Orientation of Action»; 2015 Лист. 12-13; Х.: Вид-воНФаУ; 2015, р. 12–13.

39. Lysiuk R. M., Nektegaev I. O., Antoniv O. I., Bolesta M. I., Khteil 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.
40. Lysiuk R, Mboya J. M., Darmohray R. Beneficial Nephroprotective Effects of Plant Materials for Treatment of Diabetic Nephropathy. Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали шостої Міжнародної науково–практичної конференції; 2017 Гру 26-27; Полтава–Лубни: Комунальне видавництво «Лубни»; 2018, p. 164-167
41. Lysiuk R, Darmohray R. Plants of the genus *Astragalus* used for medicinal purposes. Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії.: зб. тез наук. робіт міжн. наук. – практ. конф. 2013 Лист 8 – 9; Одеса; 2013, с. 30–32.
42. Lysiuk R. Cynaroside: physico-chemical characteristics, plant sources, isolation, pharmacological effects. Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках. Зб. матер. міжн. наук. – практ. конф.; 2013 Груд 27-28; Київ; с. 90–94.
43. Лисюк Р.М., Нектегаєв 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.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертації викладені та обговорені на:

2nd International Conference and Workshop “Plant – the source of research material”; 2012 Oct. 18-20; Lublin;

3rd International Conference and Workshop “Plant – the source of research material”; 2013 Oct 16-18; Lublin;

The 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 December 21; Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Mlýnský náhon – Ukraine, Kyiv;

International scientific and practical conference «Prospects for the development of medicine in EU countries and Ukraine»; 2018 December 21–22; Wloclawek, Republic of Poland;

Наук.-пр.конф. з міжн.уч. та школою молодих вчених «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну» ; 2014 Жовт. 1-3; Харків;

III наук.-практ. internet-конф. з міжн.уч. «Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту»; 2016 Квіт 15; Харків;

III Всеукр. наук.-практ. конф. «Хімія природних сполук»; 2012 Жовт 30-31; Тернопіль;

Міжн. наук.-практ.конф. «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку»; 2017 Січ 27-28; Львів;

IV Всеукр. наук.-практ.конф.з міжн. уч. «Хімія природних сполук»; 2016 Квіт 21-22; Тернопіль;

VII наук.- пр.конф. з міжн.уч. «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»; 2018 Вер 27-28; Тернопіль;

Міжн. наук. конф. «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень»; 2014 Черв 4-5; Березоточа, Лубни;

- II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»; 2020 Бер 11; Харків;
- IV Міжнар. наук.-практ. internet-конф. «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин»; 2020 Лист. 26-27; Харків;
- Міжнар. наук.-практ. з міжн. участю «Бабенківські читання», присв. пам'яті акад. Г.О. Бабенка; 2015 Жовт. 29-30; Івано-Франківськ;
- Наук. конф. «XVI—е чтения В.В. Подвысоцкого»; 2017 Травня 18-19; Одеса;
- Міжн. наук. — практ. конф. «Роль та місце медицини у забезпеченні здоров'я людини у сучасному суспільстві»; 2013 Груд. 12; Одеса;
- Міжн. наук. — практ. конф. молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів»; 2015 Квіт 23; Харків;
- II міжн. наук.-практ. інтернет — конф. «Technological and Biopharmaceutical Aspects of Drugs Developing with Different Orientation of Action»; 2015 Лист. 12-13; Харків;
- IV Міжнар. наук.-практ. «Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій»; 2017 Гру 26-27; Полтава—Лубни;
- Міжн. наук. — практ. конф. «Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії»; 2013 Лист 8 — 9; Одеса;
- Міжн. наук. — практ. конф. «Сучасні тенденції у медичних та фармацевтичних науках»; 2013 Груд 27-28; Київ;
- Наук.-практ. конф. з міжн.уч., присв. 20-й річн. засн. Дня фармацевтичного працівника України «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку»; 2019 Вер. 19-20; Харків.

Додаток Б



Затверджую»
 Проректор з науково-педагогічної роботи
 Національного фармацевтичного університету
 проф. І.М. Владимирова
 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження перспективних видів роду Астрагал та флавоноїдів як маркерів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності.
2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра фармакогнозії і ботаніки, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; асистент Лисюк Р.М., доцент Дармограй Р.С.
3. **Джерела інформації:**
 1. Лисюк Р. М. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.) / Лисюк Р. М., Ковальська Н. П. // Фармацевтичний часопис. - 2019. - № 1. - С. 49 – 57.
 2. Lysiuk R. HPLC-UV Determination of Catechins and Gallic Acid in Aerial Parts of *Astragalus glycyphyllos* L. / Lysiuk R, Kozachok S. // Dhaka Univ. J. Pharm. Sci. 18(2): 241-247, 2019 (Dec).
 3. Chemical Composition of Selected Commercial Herbal Remedies in Relation to Geographical Origin and Inter-Species Diversity / Konieczynski P, Viapiana A, Lysiuk R, Wesolowski M. // Biol Trace Elem Res. - 2018 Mar. - Vol. 182, № 1. - P. 169-177.
 4. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? / Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. // Food Chem Toxicol. - 2017 Dec. - Vol. 110. - P. 240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
 5. Lysiuk R. Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals / Lysiuk R, Hudz N. // Int J Trends Food Nutr. 2017. 1: e102. P.1-5.
 6. Lysiuk R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus* / R. Lysiuk, R. Darmohray // International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine. - 2016. - Vol. 3. - P. 46-53.
 7. Растительные субстанции для лечения урологических и нефрологических заболеваний / Лысюк Р.М., Гудзь Н.И., Дармограй Р.Е., Езерская О.И. // Рецепт. - 2016. - № 19 (2). - С. 235-239.
4. **Де впроваджено:** Кафедра фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.
6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з морфолого-анатомічного та фітохімічного дослідження флавоноїдвмісних видів, роду Астрагал, що є джерелами хімічних та фармакологічних маркерів гіпоазотемічної дії, використовуються з метою поглиблення знань студентів та в науковій роботі співробітників кафедри.
7. **Термін впровадження:** 2019-2020 навч.рік.
 Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету (протокол № 4 від 5.11.2020 р.).
 Завідувач кафедри фармакогнозії
 Національного фармацевтичного Університету,
 проф.

Кошовий О.М.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи та інновацій
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольцяпроф. ЗЕМСКОВ С.В.
2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження перспективних видів роду Астрагал та флавоноїдів як маркерів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності.

2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра фармакогнозії і ботаніки, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; асистент Лисюк Р.М., доцент Дармограй Р.Є.

3. **Джерела інформації:**

1. Лисюк Р. М. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.) / Лисюк Р. М., Ковальська Н. П. // Фармацевтичний часопис. - 2019. - № 1. - С. 49 – 57.
2. Lysiuk R. HPLC-UV Determination of Catechins and Gallic Acid in Aerial Parts of *Astragalus glycyphyllos* L. / Lysiuk R, Kozachok S. // Dhaka Univ. J. Pharm. Sci. 18(2): 241-247, 2019 (Dec).
3. Chemical Composition of Selected Commercial Herbal Remedies in Relation to Geographical Origin and Inter-Species Diversity / Konieczynski P, Viapiana A, Lysiuk R, Wesolowski M. // Biol Trace Elem Res. - 2018 Mar. - Vol. 182, № 1. - P. 169-177.
4. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? / Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. // Food Chem Toxicol. - 2017 Dec. - Vol. 110. - P. 240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
5. Lysiuk R. Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals / Lysiuk R, Hudz N. // Int J Trends Food Nutr. 2017. 1: e102. P.1-5.
6. Lysiuk R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus* / R. Lysiuk, R. Darmohray // International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine. – 2016. - Vol. 3. – P. 46-53.
7. Растительные субстанции для лечения урологических и нефрологических заболеваний / Лысюк Р.М., Гудзь Н.И., Дармограй Р.Е., Езерская О.И. // Рецепт. – 2016. – № 19 (2). – С. 235-239.

4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

5. **Форма впровадження:** у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з морфолого-анатомічного та фітохімічного дослідження флавоноїдвмісних видів, що є джерелами хімічних і фармакологічних маркерів гіпоазотемічної дії, використовуються з метою поглиблення знань студентів та в наукових дослідженнях працівників кафедри.

7. **Термін впровадження:** 2019-2020 навчальний рік.

Завідувач
кафедри фармакогнозії та ботаніки
Національного медичного
університету імені О.О. Богомольця
доктор біол. наук, професор

В.М. Мінарченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
з наукової роботи

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати морфолого-анатомічного та фітохімічного вивчення перспективних флавоноїдвмісних субстанцій на основі видів роду Астрагал та інших рослинних джерел маркерів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності.

2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра фармакогнозії і ботаніки, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; здобувач – асистент Лисиук Р.М.

3. **Джерела інформації:**

1. Лисиук Р. М. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.) / Лисиук Р. М., Ковальська Н. П. // Фармацевтичний часопис. - 2019. - № 1. - С. 49 – 57.
2. Chemical Composition of Selected Commercial Herbal Remedies in Relation to Geographical Origin and Inter-Species Diversity / Konieczynski P, Viapiana A, Lysiuk R, Wesolowski M. // Biol Trace Elem Res. - 2018 Mar. - Vol. 182, № 1. - P. 169-177. DOI: 10.1007/s12011-017-1078-z.
3. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? / Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. // Food Chem Toxicol. - 2017 Dec. - Vol. 110. - P. 240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
4. Lysiuk R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus Astragalus / R. Lysiuk, R. Darmohray // International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine. - 2016. - Vol. 3. - P. 46-53. DOI:10.18052/www.scipress.com/IJPPE.3.46
5. Lysiuk R. Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals / Lysiuk R, Hudz N. // Int J Trends Food Nutr. 2017. 1: e102. P.1-5.
6. Lysiuk R. HPLC-UV Determination of Catechins and Gallic Acid in Aerial Parts of *Astragalus glycyphyllos* L. / Lysiuk R, Kozachok S. // Dhaka Univ. J. Pharm. Sci. 18(2): 241-247, 2019 (December). DOI: <https://doi.org/10.3329/dujps.v18i2.44464>

4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.

5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота та навчальний процес.

6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з морфолого-анатомічного та фітохімічного дослідження флавоноїдвмісних видів ЛРС, що є джерелами маркерів гіпоазотемічної дії, використано при формуванні інформаційного забезпечення з метою поглиблення знань студентів та науково-педагогічних працівників кафедри.

7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою. Протокол № 9 від 24 грудня 2021 р.

ВІДПОВІДАЛЬНИЙ ЗА ВПРОВАДЖЕННЯ:

Завідувач кафедри
фармакогнозії з медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
доктор фарм. наук, професор

С.М. Марчишин

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор
з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету
імені І.Я. Горбачевського



«_____» _____ проф.І.М.Кліш
» 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозицій для впровадження:** Результати фармакологічного і фітохімічного вивчення перспективних флавоноїдвмісних субстанцій на основі видів роду Астрагал та інших рослинних джерел маркерів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності.

2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра фармакогнозії і ботаніки, 79010, м. Львів, вул.. Пекарська, 69; здобувач – асистент Лисиук Р.М.

3. Джерела інформації:

1. Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? *Food Chem Toxicol.* 2017. Vol. 110. P. 240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
2. Lysiuk R., Darmohray R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus*. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine.* 2016. Vol. 3. P. 46-53. DOI:10.18052/www.scipress.com/IJPPE.3.46
3. Лисиук 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 науково-практичної конференції з міжнародною участю та школою молодих вчених (1-3 жовтня 2014 р.).* Х.: Титул, 2014. с. 73-75
4. Lysiuk R., Hudz N. Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals. *Int J Trends Food Nutr.* 2017. 1: e102. P.1-5.
5. 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. 18(2): 241-247. DOI: <https://doi.org/10.3329/dujps.v18i2.44464>
6. Lysiuk RM, IO Nektegaev, OI Antoniv, MI Bolesta, Khte 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» Wloclawek, Republic of Poland, December 21–22, 2018. Wloclawek: Izdevnieciba «Baltija Publishing», 2018. P. 112-115

7. Лисиук Р. М., Нектегаєв І.О., Антонів О.І., Болеста М.І., Лещишин М.М. *In vivo* вивчення ренальних ефектів екстракту трави астрагалу козлятникоподібного (*Astragalus galegiformis* L.). *Advances of science: Proceedings of articles the international scientific conference.* Czech Republic, Karlovy Vary – Ukraine, Kyiv, 21 December 2018. Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Ukraine, Kyiv: MCNIP, 2018. P. 112-116.

4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедри фармації ФПО Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.

5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота та навчальний процес.

6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з фармакологічного і фітохімічного дослідження флавоноїдвмісних видів ЛРС, що є джерелами маркерів гіпоазотемічної дії, використано при формуванні інформаційного забезпечення з метою поглиблення знань провізорів-інтернів, провізорів – курсантів та науково-педагогічних працівників кафедри.

7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навч.рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармації ФПО. Протокол № 2 від 12.01.2021 р.

Завідувач кафедри фармації ФПО
Тернопільського національного
медичного університету
імені І.Я. Горбачевського
доктор біол. наук, професор

Л.С. Фіра

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
та післядипломної освіти,
д.мед.н., проф. _____ С.І. Доан
«_____» _____ 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозицій для впровадження:** Результати дослідження перспективних видів роду Астрагал та флавоноїдів як маркерів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності.

2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра фармакогнозії і ботаніки, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; асистент Лисюк Р.М., доцент Дармограй Р.Є.

3. **Джерела інформації:**

1. Лисюк Р. М. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.) / Лисюк Р. М., Ковальська Н. П. // Фармацевтичний часопис. - 2019. - № 1. - С. 49 – 57.
2. Lysiuk R. HPLC-UV Determination of Catechins and Gallic Acid in Aerial Parts of *Astragalus glycyphyllos* L. / Lysiuk R, Kozachok S. // Dhaka Univ. J. Pharm. Sci. 18(2): 241-247, 2019 (Dec).
3. Chemical Composition of Selected Commercial Herbal Remedies in Relation to Geographical Origin and Inter-Species Diversity / Konieczynski P, Viapiana A, Lysiuk R, Wesolowski M. // Biol Trace Elem Res. - 2018 Mar. - Vol. 182, № 1. - P. 169-177.
4. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? / Björklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. // Food Chem Toxicol. - 2017 Dec. - Vol. 110. - P. 240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
5. Lysiuk R. Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals / Lysiuk R, Hudz N. // Int J Trends Food Nutr. 2017. 1: e102. P.1-5.
6. Lysiuk R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus* / R. Lysiuk, R. Darmohray // International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine. - 2016. - Vol. 3. - P. 46-53.
7. Растительные субстанции для лечения урологических и нефрологических заболеваний / Лысюк Р.М., Гудзь Н.И., Дармограй Р.Е., Езерская О.И. // Рецепт. - 2016. - № 19 (2). - С. 235-239.

4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії Київського медичного університету.

5. **Форма впровадження:** у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії.

6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з морфолого-анатомічного та фітохімічного дослідження флавоноїдвмісних видів, що є джерелами хімічних і фармакологічних маркерів гіпоазотемічної дії, використовуються з метою поглиблення знань студентів та в наукових дослідженнях працівників кафедри.

7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навч.рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії (Протокол № 6 від 12. 01. 2021 р.).

Завідувач
кафедри фармацевтичної
і біологічної хімії, фармакогнозії
ПВНЗ «Київський медичний університет»
доктор фарм. наук, професор



О.Ю. Коновалова



ЗАТВЕРДЖУЮ
В.о. проректора з науково-педагогічної (учбово-методичної) роботи, д.мед.н., професор
Шмакова І.П.
» 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження перспективних видів роду Астрагал та флавоноїдів як маркерів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності.

2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра фармакогнозії і ботаніки, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; асистент Лисиук Р.М., доцент Дармограй Р.Є.

3. **Джерела інформації:**

1. Лисиук Р. М. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.) / Лисиук Р. М., Ковальська Н. П. // Фармацевтичний часопис. - 2019. - № 1. - С. 49 – 57.
2. Lysiuk R. HPLC-UV Determination of Catechins and Gallic Acid in Aerial Parts of *Astragalus glycyphyllos* L. / Lysiuk R, Kozachok S. // Dhaka Univ. J. Pharm. Sci. 18(2): 241-247, 2019 (Dec).
3. Chemical Composition of Selected Commercial Herbal Remedies in Relation to Geographical Origin and Inter-Species Diversity / Konieczynski P, Viapiana A, Lysiuk R, Wesolowski M. // Biol Trace Elem Res. - 2018 Mar. - Vol. 182, № 1. - P. 169-177.
4. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? / Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. // Food Chem Toxicol. - 2017 Dec. - Vol. 110. - P. 240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
5. Lysiuk R. Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals / Lysiuk R, Hudz N. // Int J Trends Food Nutr. 2017. 1: e102. P.1-5.
6. Lysiuk R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus* / R. Lysiuk, R. Darmohray // International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine. - 2016. - Vol. 3. - P. 46-53.
7. Растительные субстанции для лечения урологических и нефрологических заболеваний / Лысюк Р.М., Гудзь Н.И., Дармограй Р.Е., Езерская О.И. // Рецепт. - 2016. - № 19 (2). - С. 235-239.

4. **Де впроваджено:** кафедра фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету.

5. **Форма впровадження:** у науково-дослідну роботу і навчальний процес кафедри фармакології та фармакогнозії.

6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з морфолого-анатомічного та фітохімічного дослідження флавоноїдвмісних видів, що є джерелами хімічних і фармакологічних маркерів гіпоазотемічної дії, використовуються з метою поглиблення знань студентів та в наукових дослідженнях працівників кафедри.

7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навч.рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та фармакогнозії (Протокол № __ від __ 2021 р.).

Завідувач
кафедри фармакології та фармакогнозії
Одеського національного
медичного університету
доктор мед. наук, професор

Підпис
Я.В. Рожковський
ЗАСВІДЧУЮ
Відний секретар Одеського
національного медичного університету



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи
Буковинського державного
медичного університету
проф. Олександр ІВАЩУК
« » « » 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати морфолого-анатомічного та фітохімічного вивчення перспективних флавоноїдвмісних субстанцій на основі видів роду Астрагал та інших рослинних джерел маркерів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності.

2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра фармакогнозії і ботаніки, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; здобувач – асистент Лисиук Р.М.

3. **Джерела інформації:**

1. Лисиук Р. М. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.) / Лисиук Р. М., Ковальська Н. П. // Фармацевтичний часопис. - 2019. - № 1. - С. 49 – 57.
2. Chemical Composition of Selected Commercial Herbal Remedies in Relation to Geographical Origin and Inter-Species Diversity / Konieczynski P, Viapiana A, Lysiuk R, Wesolowski M. // Biol Trace Elem Res. - 2018 Mar. - Vol. 182, № 1. - P. 169-177. DOI: 10.1007/s12011-017-1078-z.
3. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? / Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. // Food Chem Toxicol. - 2017 Dec. - Vol. 110. - P. 240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
4. Lysiuk R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus Astragalus / R. Lysiuk, R. Darmohray // International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine. - 2016. - Vol. 3. - P. 46-53. DOI:10.18052/www.scipress.com/IJPPE.3.46
5. Lysiuk R. Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals / Lysiuk R, Hudz N. // Int J Trends Food Nutr. 2017. 1: e102. P.1-5.
6. Lysiuk R. HPLC-UV Determination of Catechins and Gallic Acid in Aerial Parts of *Astragalus glycyphyllos* L. / Lysiuk R, Kozachok S. // Dhaka Univ. J. Pharm. Sci. 18(2): 241-247, 2019 (December). DOI: <https://doi.org/10.3329/dujps.v18i2.44464>

4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу та процес кафедри фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії Буковинського державного медичного університету.

5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота та навчальний процес.

6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з морфолого-анатомічного та фітохімічного дослідження флавоноїдвмісних видів ЛРС, що є джерелами маркерів гіпоазотемічної дії, використано при формуванні інформаційного забезпечення з метою поглиблення знань студентів та науково-педагогічних працівників кафедри.

7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навч.рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії.

Протокол № 9 від 24 грудня 2020 р.

Завідувач кафедри
фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії
Буковинського державного
медичного університету
доктор мед. наук, професор

Олександр ЗАХАРЧУК



Олександр І. Лисиук

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
з науково-педагогічної (навчальної) роботи
Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова
проф. Ю.Й. Гумінський
» грудня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження перспективних видів роду Астрагал та флавоноїдів як маркерів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності.

2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра фармакогнозії і ботаніки, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; асистент Лисиук Р.М., доцент Дармограй Р.Є.

3. **Джерела інформації:**

1. Лисиук Р. М. Морфолого-анатомічне дослідження трави астрагалу солодколистого (*Astragalus glycyphyllos* L.) / Лисиук Р. М., Ковальська Н. П. // Фармацевтичний часопис. - 2019. - № 1. - С. 49 – 57.
2. Lysiuk R. HPLC-UV Determination of Catechins and Gallic Acid in Aerial Parts of *Astragalus glycyphyllos* L. / Lysiuk R, Kozachok S. // Dhaka Univ. J. Pharm. Sci. 18(2): 241-247, 2019 (Dec).
3. Chemical Composition of Selected Commercial Herbal Remedies in Relation to Geographical Origin and Inter-Species Diversity / Konieczynski P, Viapiana A, Lysiuk R, Wesolowski M. // Biol Trace Elem Res. - 2018 Mar. - Vol. 182, № 1. - P. 169-177.
4. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? / Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. // Food Chem Toxicol. - 2017 Dec. - Vol. 110. - P. 240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
5. Lysiuk R. Differential Spectrophotometry: Application for Quantification of Flavonoids in Herbal Drugs and Nutraceuticals / Lysiuk R, Hudz N. // Int J Trends Food Nutr. 2017. 1: e102. P.1-5.
6. Lysiuk R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus* / R. Lysiuk, R. Darmohray // International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine. - 2016. - Vol. 3. - P. 46-53.
7. Растительные субстанции для лечения урологических и нефрологических заболеваний / Лысюк Р.М., Гудзь Н.И., Дармограй Р.Е., Езерская О.И. // Рецепт. - 2016. - № 19 (2). - С. 235-239.

4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.

5. **Форма впровадження:** у навчальний процес кафедри фармацевтичної хімії при вивченні дисципліни «Фармакогнозія» і науково-дослідну роботу.

6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з морфолого-анатомічного та фітохімічного дослідження флавоноїдвмісних видів, що є джерелами хімічних і фармакологічних маркерів гіпоазотемічної дії, використовуються з метою поглиблення знань студентів та в наукових дослідженнях працівників кафедри.

7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навч.рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармацевтичної хімії (Протокол № 5 від 17.12. 2020 р.).

Завідувач
кафедри фармацевтичної хімії
Вінницького національного
медичного університету
імені М.І. Пирогова
канд. хім. наук, доцент

(підпис)

Т.І. Ющенко



Підпис *Ющенко Т.І.*
Завіряю
власноруч відділу кадрів
Вінницького національного
медичного університету
ім. М. І. Пирогова
Т.І. Ющенко
» 20 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету
професор Інна ВЛАДИМИРОВА

» 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати фармакологічного вивчення перспективних флавоноїдвмісних субстанцій на основі видів роду Астрагал та інших рослинних джерел маркерів нефропротекторної (гіпоазотемічної) активності.

2. **Установа, автор:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра фармакогнозії і ботаніки, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; здобувач – асистент Лисюк Р.М.

3. **Джерела інформації:**

1. Bjørklund G, Dadar M, Chirumbolo S, Lysiuk R. Flavonoids as detoxifying and pro-survival agents: What's new? *Food Chem Toxicol.* 2017 Dec. Vol. 110. P. 240-250. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.039
2. Lysiuk R., Darmohray R. Pharmacology and Ethnomedicine of the Genus *Astragalus*. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine.* 2016. Vol. 3. P. 46-53. DOI:10.18052/www.scipress.com/IJPPE.3.46
3. Лисюк Р.М., Дармограй Р.С. Аналіз методів дослідження гіпоазотемічної активності рослинних засобів. Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну: тези доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю та школою молодих вчених (1-3 жовтня 2014 р.). Х.: Титул, 2014. с. 73-75
4. Lysiuk RM, IO Nektegaev, OI Antoniv, MI Bolesta, Khteil 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» Wloclawek, Republic of Poland, December 21–22, 2018. Wloclawek: Izdevnieciba «Baltija Publishing», 2018. P. 112-115
5. Лисюк Р. М., Нектегаєв І.О., Антонів О.І., Болеста М.І., Лешишин М.М. *In vivo* вивчення ренальних ефектів екстракту трави астрагалу козятникоподібного (*Astragalus galegiformis* L.). Advances of science: Proceedings of articles the international scientific conference. Czech Republic,

Karlovy Vary – Ukraine, Kyiv, 21 December 2018. Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Ukraine, Kyiv: MCNIP, 2018. P. 112-116.

4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету.

5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота та навчальний процес.

6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з фармакологічного дослідження флавоноїдвмісних видів ЛРС, що є джерелами маркерів гіпоазотемічної дії, використано при формуванні інформаційного забезпечення з метою поглиблення знань студентів та науково-педагогічних працівників кафедри.

7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навч. рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та фармакотерапії. Протокол № 10 від 14 січня 2021 р.

Завідувач
кафедри фармакології та фармакотерапії
Національного фармацевтичного університету
доктор мед. наук, професор

Сергій ШТРИГОЛЬ

Додаток В

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Генеральний директор ПрАТ "Ліктрави"



О.Б. Сологуб

2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати експериментальних досліджень дисертаційної роботи асистента кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького Лисюка Р.М. "Фармакогностичне дослідження видів лікарських рослин з нефропротекторною (гіпоазотемічною) активністю" були використані при обґрунтуванні складу і параметрів стандартизації дієтичної добавки Фіточай "Нефропротектол", а також розробці технічних умов України ТУ У 10.8-00481181-013:2019 (змiна №1) "Дієтичні добавки "Фіточай"".

Начальник служби якості та розвитку

ПрАТ "Ліктрави"

В.В. Нежувака

Додаток Г**ЗАТВЕРДЖЕНО****Наказ Міністерства охорони здоров'я України**

№ _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Заявник, країна: ПрАТ «Ліктрави»,
Україна

Виробник, країна: ПрАТ «Ліктрави»,
Україна

ПРОЕКТ**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ****NEPHROPROTECTOLUM****НЕФРОПРОТЕКТОЛ**

Відповідає Зміні № 1 до ТУ У 10.8-00481181-013:2019

"Дієтичні добавки "Фіточаї""

Генеральний директор ПрАТ "Ліктрави"



О.Б. Сологуб

Додаток Д

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Український центр наукової медичної інформації
та патентно-ліцензійної роботи
(Укрмедпатентінформ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СИСТЕМІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

Випуск з проблеми
«Фармація»
Підстава: Рішення ЕПК
«Фармація» МОЗ та НАМН України
Протокол № 109 від 10.03.2020р.

НАЧАЛЬНИКАМ РЕГІОНАЛЬНИХ
УПРАВЛІНЬ ДЕРЖАВНИХ СЛУЖБ
УКРАЇНИ З КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ, ЗАВІДУВАЧАМ
НАУКОВО-ДОСЛІДНИХ ЛАБОРАТОРІЙ
ВИЩИХ МЕДИЧНИХ
(ФАРМАЦЕВТИЧНОГО) ОСВІТНІХ
ЗАКЛАДІВ, КЕРІВНИКАМ НАУКОВО-
ДОСЛІДНИХ УСТАНОВ

МОРФОЛОГІЧНІ ТА АНАТОМІЧНІ ОЗНАКИ ТРАВИ АСТРАГАЛУ СОЛОДКОЛИСТОГО

УСТАНОВИ РОЗРОБНИКИ:

АВТОРИ:

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

ас. ЛИСЮК Р.М.
доц. ДАРМОГРАЙ Р.Є.

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ
МОЗ УКРАЇНИ