

Міністерство охорони здоров'я України  
Івано-Франківський національний медичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

КОЛЯДЖИН ТАРАС ІВАНОВИЧ

УДК 615.014.2+582.794.1

ДИСЕРТАЦІЯ  
ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АСТРАНЦІЇ ВЕЛИКОЇ  
(*ASTRANTIA MAJOR L.*)

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

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

\_\_\_\_\_ Т. І. Коляджин

Науковий керівник: Грицик Андрій Романович, доктор фармацевтичних наук,  
професор

Івано-Франківськ – 2020

## АНОТАЦІЯ

*Коляджин Т. І.* Фармакогностичне дослідження астранції великої (*Astrantia major* L.). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» (226 – Фармація, промислова фармація). – Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України, Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

За останні роки суттєво збільшилась кількість досліджень, пов'язаних з вивченням лікарської рослинної сировини і дослідженням фармакологічних властивостей рослин. У рослинній сировині містяться різноманітні за хімічним складом речовини, як загальні, так і специфічні, для рослин.

Лікувальну дію рослинних препаратів забезпечує комплекс біологічно активних речовин, який впливає на всі ланки патогенетичного механізму захворювання. Активні компоненти рослин за своєю природою більш споріднені організму людини, ніж синтетичні, мають високу біодоступність, при раціонально підібраному складі мінімальні побічні ефекти. Вони містяться в рослинах у легкозасвоюваних для людського організму комплексах і біологічно доступних концентраціях, а тому мають високу фізіологічну активність.

Рослини є одним із джерел одержання лікарських препаратів, тому збільшується необхідність раціонального використання ресурсів рослинного світу. Пошук вітчизняних перспективних рослинних джерел з достатньою сировинною базою, розробка та створення на їх основі лікарських засобів є першочерговим завданням сучасної фармацевтичної науки України. Підвищений попит на лікарські засоби природного походження веде до пошуку нових рослин з певним спектром фармакологічної дії, а також до оптимізації використання і поглибленого вивчення сировини, що традиційно використовується в народній та офіциналній медицині. Одним із шляхів

вирішення цієї багатогранної проблеми є системне використання рослинної сировини. Однією з перспективних рослин є астранція велика родини Селерові, яка використовується у народній та офіційній медицині як кровозупинний, сечогінний та потогінний засіб, для зняття набряків різного походження, при жовтяниці у новонароджених, ревматичних болях у суглобах.

Дисертаційна робота присвячена ресурсо-біологічним дослідженням астранції великої, виділенню комплексів біологічно активних речовин з трави та дослідженню їх фармакологічної активності.

У траві астранції великої визначено кількісний вміст: суми поліфенолів (від 3,47 % до 7,65 %); суми флавоноїдів (від 3,67 % до 5,36 %); окиснюваних фенолів (від 4,18 % до 6,92 %); аскорбінової кислоти (від 0,154 % до 0,173 %); вільних органічних кислот (від 1,09 % до 2,91 %); суми гідроксикоричних кислот (від 1,6 % до 6,41 %) в залежності від виду сировини, місця зростання і фази вегетації.

Вперше методом високоефективної рідинної хроматографії ідентифіковано та кількісно визначено гідроксикоричні кислоти астранції великої трави. Домінуючими гідроксикоричними кислотами трави астранції великої є хлорогенова (1,02 %), розмаринова (0,24 %), кавова (0,11 %) та ферулова кислоти (0,055 %).

Кількісно визначено вміст фракцій полісахаридів в астранції великої трави. Вміст водорозчинних полісахаридів становить 2,71 %, пектинових речовин – 1,59 %, геміцелюлози А – 3,31 %, геміцелюлози Б – 5,31 %.

Вперше ідентифіковано та визначено вміст амінокислот. Аналіз результатів свідчить, що астранції великої трава вміщує 17 амінокислот, вміст яких становить 31,23 мг/100 г. Серед виявлених амінокислот 7 незамінних: треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін і лізин. Домінуючими амінокислотами для астранції великої трави є аспарагінова кислота (13,08 мг/100 г), гліцин (12,75 мг/100 г), аргінін (10,25 мг/100 г), аланін (9,15 мг/100 г), серин (7,95 мг/100 г). Загальна сума незамінних та замінних амінокислот у астранції великої траві становить 102,94 мг/100 г.

Вперше розділено на компоненти та кількісно визначено флавоноїди методом високоефективної рідинної хроматографії. Ідентифіковано та встановлено кількісний вміст гіперозиду (0,0045 %), рутину (0,18 %), лютеоліну (0,006 %), кверцетину (0,12 %), апігеніну (0,066 %) та ізокверцитрину (0,026 %).

Вперше визначено параметри екстракції БАР з трави астранції великої. Екстракти є нетоксичними та проявляють антимікробну, протизапальну, кровозупинну та ранозагоювальну активність. Розроблено проєкт МКЯ «Астранції трави екстракт сухий».

Вперше ідентифіковано і визначено концентрацію метаболітів танінів. Трава астранції великої вміщує: галову кислоту (0,035 %), галокатехін (0,668 %), епігалокатехін (1,553 %), катехін (0,614 %), епікатехін (0,315 %), епікатехіну галат (0,035 %), катехіну галат (0,072 %) та елагову кислоту (0,024 %).

Вперше в досліджуваному об'єкті було встановлено наявність 6 мікроелементів (Fe, Zn, Mn, Cu, Pb, Cd) та 3 макроелементів (K, Ca, Mg), визначено їх кількісний вміст. У траві астранції великої кількісний вміст мікро- та макроелементів становить: Ca (580 мг/100 г), Mg (187 мг/100 г), K (1670 мг/100 г), Cu (1,93 мг/100 г), Mn (4,07 мг/100 г) Zn (1,25 мг/100 г), Fe (2,44 мг/100 г).

Методом хромато-мас-спектрометрії визначено якісний склад та кількісний вміст летких сполук. Серед летких сполук трави астранції великої ідентифіковано 50 компонентів, основними терпеноїдами є: вербенол, 1,2-диметил-1,4-циклогексادیєн, тимол, каріофілен, *транс- $\alpha$ -бергамотен*,  *$\beta$ -фарнезен*, гермакрен *D*,  *$\alpha$ -фарнезен*, біциклогермакрен, спатуленол, каріофілену оксид, ісоледен, каларен, гексагідрофарнезилацетон.

Вперше встановлено, що трава астранції великої вміщує такі жирні кислоти: пальмітолеїнову, пальмітинову, лінолеву, 6,9,12-октадекатриєнову, рицинову, стеаринову, бегенову, лігноцеринову.

Встановлено макро- та мікроскопічні ознаки цільної та подрібненої сировини, числові показники доброякісності сировини та термін придатності,

який становив 3 роки. За результатами фітохімічного та морфолого-анатомічного досліджень розроблено проєкт МКЯ «Астранції трава»

Встановлено місця зростання астранції великої на Прикарпатті та досліджено сировинні запаси рослини. Встановлено середню урожайність трави астранції великої (130 - 350 г/м<sup>2</sup> повітряно-сухої сировини) та обсяг можливих щорічних заготівель (506,68 кг), що є недостатніми для промислової заготівлі ЛРС. Оскільки заготівля дикорослої сировини може призводити до скорочення природних запасів сировини, актуальним є культивування астранції великої. В природних умовах астранція велика розмножується вегетативним способом і насінням, в культурі – вегетативно (поділом кореневища) та насіннево.

При насінневому способі вирощування використовували стратифіковане насіння, яке висівали в контейнери, що забезпечує збільшення схожості, зменшення травмування кореневої системи під час пересаджування розсади у відкритий ґрунт. Оптимальні строки висаджування у відкритий ґрунт – рано навесні. Висаджували саджанці за схемою 40 × 50 см. Під час садіння кореневу шийку заглиблювали нижче поверхні ґрунту на 5 – 6 см, кожен саджанець поливали і загортали шаром ґрунту 3 – 5 см. За сприятливих погодних умов спостерігали цвітіння, яке триває 15 днів. Насіння, яке при цьому зав'язувалося, не дозрівало. При вегетативному розмноженні через рік саджанці перетворюються на повноцінні кущі, а через три роки молоді рослини зацвітають. Проведені дослідження свідчать, що можливе розмноження рослини як насінням, так і розсадою.

Фенологічні дослідження розвитку астранції великої на дослідних ділянках Івано-Франківського національного медичного університету вказують, що рослина має монокарпічний цикл розвитку. За характером ритмів розвитку її відносять до рослин, що розвивається неодноразово створюючи ілюзію довготривалого генеративного розвитку. Індивідуальні особливості онтогенезу екземплярів астранції великої залежать від агрометеорологічних показників.

Рослинні препарати мають низку переваг перед хіміотерапевтичними препаратами. До складу лікарських рослин входять природні речовини, необхідні організму для нормальної життєдіяльності: вітаміни, вуглеводи, макро- та мікроелементи, ферменти, гормони тощо. Значні ресурси, доступність сировини, можливість культивування роблять рослинну сировину перспективним об'єктом дослідження з метою розробки нових лікарських засобів рослинного походження.

*Ключові слова:* астранції великої трава, біологічно активні речовини, хромато-мас-спектрометрія, МКЯ, високоефективна рідинна хроматографія, кровозупинна дія.

## ANNOTATION

*Koliadzyn T. I.* Pharmacognostic research of *Astrantia major* L. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for obtaining the Candidate of Pharmaceutical Science degree (PhD) in specialty 15.00.02 «Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy» (226 – Pharmacy, industrial pharmacy). – Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, 2020. Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, 2020.

The number of researches related to the study of medicinal plant material and pharmacological properties of plants has significantly increased recently. The plant raw material has various chemical substances, both general and specific, for plants.

The complex of biologically active substances, which affects the whole pathogenetic mechanism of disease, provides the therapeutic action of herbal remedies. The active components of plants by their nature are more related to the human organism than synthetic ones; they have high bioavailability and minimal side effects with a rationally selected composition. They are found in plants, complexes which are easily digestible for the human body and biologically available concentrations, and therefore they have high physiological activity.

Plants are one of the sources for obtaining medicines, due to which the need for rational use of plant resources is increasing. The search for domestic advanced plant sources with a sufficient raw material base, the development and creation of medicines on their basis is a priority task of modern pharmaceutical science in Ukraine. The increased demand for medicines of natural origin leads to the search for new plants with a certain spectrum of pharmacological action, as well as to the optimization of using and to the in-depth study of raw materials, which is traditionally used in folk and official medicine. The systematic use of plant material is one of the solutions to this multifaceted problem. *Astrantia major* L. of Celery family is one of the promising plants, which is used in folk and official medicine as a haemostatic, diuretic and diaphoretic agent, for removing edemas of various origins, with jaundice in new-borns, and rheumatic joint pains.

The dissertation is devoted to the resource and biological research of *Astrantia major* L., the selection of BAS complexes from the herb and the study of their pharmacological activity.

The quantitative content is determined in *Astrantia major* L. herb: the sum of polyphenols (from 3.47 % to 7.65 %); the sum of flavonoids (from 3.67 % to 5.36 %); oxidized polyphenols (from 4,18 % to 6,92 %); ascorbic acid (from 0,154 % to 0,173 %); free organic acids (from 1.09 % to 2.91 %); the sum of hydroxycinnamic acids (from 1.60 % to 6.41 %), depending on the type of raw material, the place of growth and the phase of vegetation.

For the first time, hydroxycinnamic acids of *Astrantia major* L. herb are identified and quantified by the method of high performance liquid chromatography. Chlorogenic (1.02 %), rosemary (0.24 %), coffee (0.11 %) and ferulic acids (0.055 %) are dominant hydroxycinnamic acids of *Astrantia major* L. herb.

The content of the polysaccharide fractions in *Astrantia major* L. herb is quantified. The content of water-soluble polysaccharides is 2.71 %, pectic substances – 1.59 %, hemicellulose A – 3.31 %, hemicellulose B – 5.31 %.

For the first time, the amino acid content is identified and determined. Analysis of the results shows that *Astrantia major* L. herb contains 17 amino acids, the content

of which is 31.23 mg/100 g. Seven amino acids are irreplaceable among the detected ones: threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine and lysine. The dominant amino acids for *Astrantia major* L. herb are aspartic acid (13.0 mg/100 g), glycine (12.75 mg/100 g), arginine (10.25 mg/ 100 g), alanine (9.15 mg/100 g), serine (7.95 mg/100 g). The total amount of irreplaceable and substitute amino acids in *Astrantia major* L. herb is 102.94 mg/ 100 g.

For the first time, flavonoids are separated into the components and quantified by the method of high performance liquid chromatography. The quantitative content of hyperoside (0.0045 %), rutin (0.18 %), luteolin (0.006 %), quercetin (0.12 %), apigenin (0.066 %) and isoquercetin (0.026 %) is identified and determined.

For the first time, the parameters of BAS extraction from *Astrantia major* L. herb are determined. Extracts are non-toxic and show antimicrobial, anti-inflammatory, haemostatic and wound healing activities. The MQC project “Extract Dry of *Astrantia* Herb” is developed.

The concentration of tannins is identified and determined for the first time. *Astrantia major* L. herb contains: gallic acid (0.035 %), gallocatechin (0.668 %), epigallocatechin (1.553 %), catechin (0.614 %), epicatechin (0.315 %), epicatechin gallate (0.035%), catechin gallate (0.077 %), and ellagic acid (0.024 %).

For the first time, the presence of 6 microelements (Fe, Zn, Mn, Cu, Pb, Cd) and 3 macrocells (K, Ca, Mg) are determined and quantified in the investigated object. *Astrantia major* L. herb contains the following micro- and macroelements: Ca (580 mg/100 g), Mg (187 mg/100 g), K (1670 mg/100 g), Cu (1.93 mg/100 g), Mn (4.07 mg/100 g) Zn (1.25 mg/100 g), Fe (2.44 mg/100 g).

The qualitative composition and quantitative content of volatile compounds are determined by chromatography-mass spectrometry. Fifty components are identified among the volatile compounds of *Astrantia major* L. herb, the main terpenoids are the following: verbenol, 1,2-dimethyl-1,4-cyclohexadiene, thymol, cariofilen, trans- $\alpha$ -bergamotene,  $\beta$ -farnesene, germacrene D,  $\alpha$ -farnesene, bicyclogermacrene, spathulenol, caryophyllene oxide, isolden, calaren, hexahydrofarnesil acetone.



For the first time it is discovered that *Astrantia major* L. herb contains the following fatty acids: palmitoleic, palmitic, linoleic, 6,9,12-octadecatrienoic, ricinoleic, stearic, behenic, lignoceric.

The macro- and microscopic signs of whole and crushed raw materials, numerical indices of good quality raw material and useful time, which was 3 years old, are determined. According to the results of phytochemical and morphological and anatomical studies, the MQC project “*Astrantia* herb” is developed.

Places of growth of *Astrantia major* L. in Precarpathian region are established and stocks of the plant raw material are studied. The average yield of *Astrantia major* L. herb (130 - 350 g/m<sup>2</sup> of air-dry raw materials) and the amount of possible annual raw materials harvesting (506.68 kg) are determined. These numbers are insufficient for industrial harvesting of the medicinal plant raw material. Since the harvesting of wild raw materials can lead to a reduction in natural reserves of raw materials, it is important to cultivate *Astrantia major* L. This plant is propagated vegetatively and by seeds under natural conditions, and vegetatively (by dividing the rhizome) and by seeds – in culture.

For the seed method of cultivation stratified seeds were used. The seeds were sown in containers, which increases germination and reduces injury to the root system when transplanting seedlings in the open ground. Early spring is the optimal time for planting in open ground. Seedlings were planted according to the 40 × 50 cm scheme. During planting the root collar was deepened into the soil by 5 - 6 cm, each seedling was watered and wrapped with a layer of soil of 3 - 5 cm. Under favorable weather conditions flowering lasted 15 days but the seeds did not ripen. At vegetative propagation seedlings ripened into bushes in a year, and in three years young plants blossom. Conducted studies show that the plant can be propagated by seeds and seedlings.

Phenological studies of the development of the *Astrantia major* L. in the research areas of Ivano-Frankivsk National Medical University indicate that the plant has a monocarpic cycle of development. By the nature of the rhythms of its development *Astrantia major* L. is attributed to plants that develop

disproportionately, creating the illusion of long-term generative development. Individual features of the ontogenesis of *Astrantia major* L. specimens depend on the agrometeorological indicators.

Herbal preparations have a number of advantages over chemotherapeutic ones. The composition of medicinal plants includes the natural substances that are necessary for the body to function normally such as vitamins, carbohydrates, macro- and microelements, enzymes, hormones, etc. Due to the significant resources, availability of raw materials, the possibility of cultivation the plant material becomes a promising research object for the development of new medicinal products of plant origin.

*Key words:* *Astrantia major* L. herb, biologically active substances (BAS), chromatography-mass spectrometry, methods of quality control (MQC), high-performance liquid chromatography, haemostatic effect.

*Список публікацій здобувача:*

1. Грицик А. Р., Коляджин Т. І. Виявлення заростей та ідентифікація астранції великої на Прикарпатті. *Український вісник психоневрології*. 2012. Т. 20 № 2 (додаток). С. 66 – 67. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини дослідження, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).

2. Ідентифікація видів родів *Sanicula* L. і *Astrantia* родини Аріасеае / Грицик Л. М., Грицик А. Р., Коляджин Т. І., Легінь Н. І. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, вип. 2 (75) додаток. С. 76 – 78. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення статті до друку).

3. Дослідження антибактеріальної активності екстрактів видів роду Буквиця, Сосна, Астранція та котячої м'яти справжньої / Грицик А. Р., Сас І. А., Мандзій Т. П., Коляджин Т. І., Стасів Т. Г. *Український вісник психоневрології*. 2014. Т. 22, вип. 2 (79), додаток. С. 119 – 122. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження

антибактеріальної активності астранції великої, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).

4. Дослідження елементного складу видів роду Підлісник та Астранція / Лєгін Н. І., Коляджин Т. І., Грицик Л. М., Грицик А. Р. *Медична та клінічна хімія*. 2018. № 2. С. 112 – 116. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання експерименту з дослідження елементного складу астранції великої, оформлення статті до друку).

5. Коляджин Т. І. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту летких сполук трави астранції великої (*Astrantia major* L.). *Фармаком*. 2018. № 3. С. 42 – 45.

6. Cultivation of Apiaceae L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyn T. I., Grytsyk A. R. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality*. – Nitra : Slovak University of agriculture, 2015. P. 216 – 218. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини дослідження, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).

7. Study of amino acid composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / Grytsyk L. M., Grytsyk A. R., Sas I. A., Legin N. I., Kolyadjin T. I. *The Pharma Innovation Journal*. 2016. № 5 (7). P. 46 – 48. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження амінокислотного складу трави астранції великої, оформлення статті до друку).

8. Патент на корисну модель 130764 Україна, МПК (2018.01), А61К 36/00, А61Р 7/04 (2006.01). Спосіб одержання екстракту трави астранції великої з кровозупинною дією. А.Р. Грицик А.Р., Т.І. Коляджин. № u 2018 06485; заявл. 11.06.18; опубл. 26.12.2018, Бюл. № 24. (Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, оформлення патенту).

9. Грицик А. Р., Коляджин Т. І. Інтродукція астранції великої в умовах Прикарпаття. *Вода і здоров'я людини*: мат. міжнар. міждисциплінарної наук.-практ. конф. 19 – 20 квіт. 2013 р. Ужгород, 2013. С. 246 – 249. (Особистий

внесок – виконання експериментальної частини дослідження, узагальнення отриманих даних, оформлення тез до друку).

10. Коляджин Т. І. Використання астранції великої в народній медицині. *Інновації в медицині*: тези 82-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. участю, 18 – 19 квіт. 2013 р. Івано-Франківськ, 2013. С. 224.

11. Грицик А. Р., Коляджин Т. І. Одержання сухих екстрактів з трави астранції великої. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження рослин*: мат. I Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 20 – 21 берез. 2014 р. Харків, 2014. С. 73. (Особистий внесок – збір матеріалу, виконання експериментальної частини, оформлення тез до друку).

12. Коляджин Т. І. Морфологічне дослідження астранції великої. *Інновації в медицині* : тези 83-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених із міжнар. участю, 27 – 28 берез. 2014 р. Івано-Франківськ, 2014. С. 194.

13. Грицик А. Р., Сас І. А., Коляджин Т. І. Дослідження гострої токсичності екстрактів видів роду Буквиця та Астранція. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : мат. IV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 16 – 17 жовт. 2014 р. Харків, 2014. С. 90 – 91. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження гострої токсичності екстрактів астранції великої, оформлення тез до друку).

14. Коляджин Т. І. Визначення вмісту дубильних речовин в траві астранції великої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : мат. I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 7 – 8 листоп. 2014 р. Харків, 2014. С. 97.

15. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / Мельник М. В., Грицик А. Р., Нейко О. В., Сас І. А., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. *Сучасні аспекти збереження здоров'я людини* : мат. VIII Міжнар. міждисциплінарної наук.-практ. конф., 17 – 18 квіт. 2015 р. Ужгород, 2015. С. 228 – 231. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання

експериментальної частини з дослідження агротехніки вирощування астранції великої, оформлення тез до друку).

16. Коляджин Т. І. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот в сировині *Astrantia major* L. *Інновації в медицині* : тези 84-ої наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю, 12 – 13 берез. 2015 р. Івано-Франківськ, 2015. С. 169.

17. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації : [монографія] / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. Івано-Франківськ, 2017. 100 с. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення методичних рекомендацій до друку).

## .ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	17
ВСТУП.....	18
РОЗДІЛ 1 АСТРАНЦІЯ ВЕЛИКА – ПЕРСПЕКТИВНА ЛІКАРСЬКА РОСЛИНА (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	25
1.1 Рід Астранція в системі родини Селерові .....	25
1.2 Хімічний склад.....	41
1.3 Фармакологічні властивості та застосування в медицині та народному господарстві.....	45
РОЗДІЛ 2 ОБ’ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	48
2.1 Вибір загальної методології досліджень.....	48
2.2 Об’єкти дослідження.....	50
2.3 Реактиви і розчинники.....	51
2.4 Методи аналізу.....	52
РОЗДІЛ 3 ВИВЧЕННЯ СКЛАДУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТРАВИ АСТРАНЦІЇ ВЕЛИКОЇ.....	76
3.1 Дослідження якісного складу біологічно активних речовин	76
3.1.1 Хроматографічний аналіз біологічно активних речовин	77
3.2 Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ.....	82
3.3 Дослідження полісахаридних фракцій астранції великої.....	88
3.4 Встановлення амінокислотного складу.....	91
3.5 Встановлення елементного складу.....	94
3.6 Визначення фітостеролів трави астранції великої.....	96
3.7 Визначення летких сполук трави астранції великої.....	97
3.8 Встановлення жирнокислотного складу.....	100
3.9 Кількісне визначення вмісту біологічно активних речовин у досліджуваній сировині.....	101
3.9.1 Сума поліфенолів.....	102
3.9.2 Флавоноїди.....	102

3.9.3 Гідроксикоричні кислоти.....	103
3.9.4 Органічні кислоти та аскорбінова кислота.....	105
3.9.5 Філохінон.....	106
3.9.6 Окиснювані поліфеноли.....	107
3.10 Дослідження вмісту груп біологічно активних речовин в залежності від органогенезу рослини.....	108
ВИСНОВКИ .....	110
<b>РОЗДІЛ 4 ВИДІЛЕННЯ КОМПЛЕКСІВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН АСТАНЦІЇ ВЕЛИКОЇ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ.....</b>	<b>112</b>
4.1 Розробка параметрів екстракції біологічно активних речовин з сировини астранції великої.....	112
4.2 Одержання сумарних екстрактів астранції великої та їх характеристика.....	119
4.3 Дослідження фармакологічної активності екстрактів астранції великої.....	121
4.3.1 Вивчення гострої токсичності екстрактів.....	122
4.3.2 Дослідження протизапальної дії екстрактів.....	123
4.3.3 Дослідження антимікробних властивостей екстрактів..	124
4.3.4 Дослідження кровозупинних та ранозагоювальних властивостей екстрактів.....	125
4.4 Розробка методів контролю якості екстракту астранції великої .....	128
ВИСНОВКИ.....	135
<b>РОЗДІЛ 5 РЕСУРСО-БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА РОЗРОБКА ПРОЄКТУ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ НА ТРАВУ АСТРАНЦІЇ ВЕЛИКОЇ</b>	<b>137</b>
5.1 Морфолого-анатомічне дослідження трави астранції великої та встановлення основних діагностичних ознак	137
5.2 Числові показники доброякісності рослинної сировини .....	140

5.3 Інструкція із заготівлі та сушіння трави астранції.....	147
5.4 Дослідження сировинних запасів астранції великої на території Прикарпатського регіону.....	149
5.5 Культивування астранції великої в умовах Прикарпаття.....	153
5.5.1. Метеорологічна характеристика умов зростання астранції великої.....	154
5.5.2. Характеристика ґрунтового покриву дослідних ділянок	156
5.5.3. Фенологічні спостереження за розвитком астранції великої.....	157
ВИСНОВКИ.....	160
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	162
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	165
ДОДАТКИ.....	182



## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

А.	– <i>Astrantia</i> ;
А.в.	– Астранція велика;
ААС	– атомно-абсорбційна спектроскопія
АВВ	– екстракт астранції великої (екстрагент – вода очищена);
АВС	– екстракт астранції великої (екстрагент – спирт етиловий 70 %);
БАР	– біологічно активні речовини;
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія;
ВРПС	– водорозчинні полісахариди;
ВСА	– вісмут-сульфіт агар;
ГХ-МС	– газова хроматографія з мас-спектрометрією;
Гц А	– геміцелюлоза А;
Гц Б	– геміцелюлоза Б;
ДФУ	– Державна фармакопея України;
ЖСА	– жовточно-сольовий агар;
ЛРС	– лікарська рослинна сировина;
МКЯ	– методи контролю якості;
МПА	– м'ясо-пептонний агар;
н. р. м.	– над рівнем моря;
ПР	– пектинові речовини;
ПХ	– паперова хроматографія;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія;
УФ	– ультрафіолетова спектроскопія;
х. ч.	– хімічно чистий;
ч. д. а	– чистий для аналізу.

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** На сьогоднішній день розвиток медицини і фармації характеризується тенденцією до більш інтенсивного використання лікарських речовин рослинного походження. Гострою є проблема розширення сировинної бази лікарських рослин, які проявляють антимікробну, протизапальну, кровозупинну та ранозагоювальну активність.

Перспективним та цінним джерелом біологічно активних речовин є види роду Астранція родини Селерові (*Ariaceae*). На території України зустрічається лише один вид – астранція велика (*Astrantia major* L.), траву якої використовують в народній медицині як кровозупинний, сечогінний та потогінний засоби, для зняття набряків різного походження, при жовтяниці у новонароджених, ревматичних болях у суглобах. БАР астранції великої представлені фенолкарбоновими та гідроксикоричними кислотами, полісахаридами, флавоноїдами, сапонінами, терпеноїдами, дубильними речовинами, органічними кислотами та ефірною олією. Лікарські препарати на основі трави астранції великої на вітчизняному фармацевтичному ринку відсутні.

Наявність у рослині значної кількості різних груп біологічно активних речовин, які проявляють різноманітну фармакологічну активність, не вивчений склад окремих груп діючих речовин і відсутність методик їх аналізу, вказують на перспективність фармакогностичного дослідження астранції великої з метою встановлення можливості створення лікарських засобів із протизапальною, кровозупинною та ранозагоювальною активністю.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармації ІФНМУ «Дослідження деяких дикорослих і культивованих лікарських рослин західного регіону України та розробка лікарських засобів на їх основі» (номер державної реєстрації 0110U006205) та «Дослідження

культивованих і дикорослих лікарських рослин Західного регіону України та розробка технологій їх застосування з лікувальною метою» (номер державної реєстрації 0118U003809).

**Мета і завдання дослідження.** Метою роботи було фармакогностичне дослідження астранції великої, розробка методик стандартизації трави астранції великої, проведення фармакологічного скринінгу для обґрунтування можливості використання у медицині.

Для досягнення поставленої мети вирішувались такі завдання:

- проведення аналізу даних літератури щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу і застосування астранції великої у медицині;
- дослідження хімічного складу надземних органів астранції великої;
- виділення комплексів БАР, які містяться у надземних органах астранції великої, та ідентифікація компонентів;
- розробка та обґрунтування технологічних параметрів одержання екстрактів з трави астранції великої, проведення їх стандартизації та фармакологічного скринінгу;
- встановлення основних морфолого-анатомічних діагностичних ознак трави астранції великої;
- вивчення природних запасів та встановлення можливості інтродукції астранції великої;
- встановлення терміну придатності сировини на основі моніторингу показників якості сировини;
- розробка проєктів методів контролю якості сировини та субстанції, інструкції із заготівлі та сушіння сировини астранції великої.

*Об'єкт дослідження:* ідентифікація біологічно активних речовин з досліджуваних об'єктів, кількісне визначення вмісту біологічно активних речовин, стандартизація сировини та субстанцій, інтродукція досліджуваного об'єкта в умовах Прикарпаття.

*Предмет дослідження:* листки, квітки, трава, стебла астранції великої, сухі екстракти (екстрагенти – вода очищена та 70 % етанол), індивідуальні

біологічно активні речовини, умови зростання рослини.

**Методи дослідження.** В експериментальному дослідженні використано наступні методи: морфолого-анатомічні – опис та ідентифікація астранції великої; ресурсознавчі – виявлення масивів заростей астранції великої, встановлення біологічного та експлуатаційного запасів рослинної сировини, можливого об'єму її щорічної заготівлі; фізичні та фізико-хімічні – ТШХ, ПХ, ВЕРХ, ААС, ГХ-МС та абсорбційна спектрофотометрія в УФ- та видимій областях; хімічні – ідентифікація і визначення кількісного вмісту БАР; фармакологічні, мікробіологічні та токсикологічні – дослідження гострої токсичності, антибактеріальної, кровозупинної, ранозагоювальної та протизапальної активності екстрактів; статистичні – математична обробка отриманих експериментальних даних.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше було проведено фітохімічні, фармакологічні та ресурсознавчі дослідження астранції великої. Вивчено вміст БАР в листках, квітках, траві, стеблах астранції великої. Опрацьовано оптимальні умови одержання екстрактів, методики аналізу якісного та кількісного вмісту діючих речовин.

Вперше в результаті фітохімічного дослідження трави астранції великої встановлено наявність основних груп БАР. Визначено кількісний вміст окиснюваних фенолів, суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, гідроксикоричних та органічних кислот, в тому числі кислоти аскорбінової.

Вперше методом ВЕРХ у траві астранції великої ідентифіковано та визначено кількісний вміст 17 індивідуальних сполук фенольної природи, у тому числі 8 метаболітів танінів, 5 флавоноїдів та 4 гідроксикоричних кислот. Домінуючим компонентом танінів трави астранції великої є епігалокатехін, флавоноїдів – рутин, гідроксикоричних кислот – хлорогенова кислота.

Вперше кількісно визначено вміст фракцій полісахаридів в траві астранції великої. Вміст ВРПС становить  $2,71 \pm 0,12$  %, ПР –  $1,59 \pm 0,21$  %, ГцА –  $3,31 \pm 0,18$  %, ГцБ –  $5,31 \pm 0,11$  %. До складу ВРПС входить глюкоза, арабіноза, рамноза; до складу ПР – глюкоза, фруктоза, арабіноза, галактуринова кислота;

до складу ГцА – глюкоза, фруктоза, арабіноза, рамноза, галактуринова кислота;  
до складу ГцБ – глюкоза, арабіноза, ксилоза, фруктоза.

Вперше методом ГХ-МС встановлено склад жирних кислот у траві астранції великої. Ідентифіковано 8 сполук, загальний вміст яких становить 8303,12 мг/кг. Серед ідентифікованих сполук у траві астранції великої виявлено 4 насичені жирні кислоти: пальмітинову, стеаринову, бегенову, лігноцеринову; 4 ненасичені жирні кислоти: пальмітолеїнову, лінолеву, ліноленову, олеїнову.

Вперше ідентифіковано та встановлено вміст 19 компонентів летких сполук та 3 фітостеролів в траві астранції великої методом ГХ-МС.

Вперше досліджено амінокислотний та елементний склад трави астранції великої. Встановлено, що домінуючими амінокислотами є аспарагінова кислота та гліцин.

Вперше визначено параметри екстракції БАР з трави астранції великої та одержано екстракти (екстрагенти – вода очищена та 70 % етанол). Екстракти є нетоксичними та проявляють антимікробну, протизапальну, кровозупинну та ранозагоювальну активність.

Новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель № 130764 «Спосіб одержання екстракту трави астранції великої із кровозупинною дією» від 11.06.2018 р.

Вперше вивчено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки трави астранції, які використані для ідентифікації та стандартизації лікарської рослинної сировини. На основі проведених фенологічних та агротехнічних досліджень встановлено можливість інтродукції та акліматизації астранції великої в умовах Прикарпаття.

**Практичне значення отриманих результатів.** В результаті проведеного фармакогностичного дослідження розроблено проекти методів контролю якості на траву та екстракт астранції великої, інструкції із заготівлі та сушіння трави астранції великої.

Доведено можливість створення лікарських засобів протизапальної, кровозупинної та ранозагоювальної дії на основі БАР з трави астранції великої.

За результатами роботи видано монографію «Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації». Матеріали наукових досліджень впроваджено у навчальний процес кафедр хімії природних сполук та фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармацевтичної хімії Вінницького національного медичного університету; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; кафедри фармації Буковинського державного медичного університету; кафедри хімії та фармакогнозії Київського медичного університету; кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів НМАПО ім. П. Л. Шупика; кафедри фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ імені Данила Галицького; кафедри фармації ННПО Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки Дніпропетровської медичної академії МОЗ України; кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків Запорізького державного медичного університету; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету (акти впровадження від 07.02.18, 16.02.18, 19.02.18, 20.02.18, 22.02.18, 23.02.18, 26.02.18, 26.02.18, 27.02.18, 05.03.18, 20.03.18 р. відповідно) та практичну роботу випробувального центру державного підприємства «Івано-Франківськстандартметрологія», ТОВ «Фітолік» (акти впровадження від 14.03.18, 16.03.18 р. відповідно).

**Особистий внесок здобувача.** Наукові дослідження за темою дисертаційної роботи проводились у співавторстві з науковим керівником – д. фарм. н., проф. Грициком А. Р.

Основна частина роботи виконана автором особисто. Здобувачем самостійно здійснено аналіз наукових першоджерел щодо складу БАР, фармакологічної активності астранції великої; встановлено видову тотожність астранції великої; проведено виявлення, ідентифікацію та визначення вмісту БАР у траві астранції великої; встановлено основні параметри одержання

екстрактів із трави астранції великої; досліджено якісний склад та вміст основних груп БАР в одержаних екстрактах; визначено фармакологічну активність та токсичність одержаних субстанцій; встановлено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки трави астранції великої; розроблено проекти МКЯ на сировину та сухий екстракт із трави астранції великої; розроблено інструкції із заготівлі та сушіння трави астранції великої.

Результати експериментальних досліджень самостійно проаналізовано та систематизовано, оформлено у вигляді таблиць, рисунків, діаграм, актів впровадження, проектів МКЯ, фотознімків. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, особистий внесок здобувача полягав у виконанні фітохімічних, фармакологічних, ресурсознавчих досліджень, що відображено у списку публікацій.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на 82-ій, 83-ій та 84-ій науково-практичних конференціях студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2013, 2014, 2015); Міжнародній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Вода і здоров'я людини» (Ужгород, 2013); I міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2014); XI науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Слобожанські читання. Медичне та фармацевтичне право України: інновації, якість, безпека та перспективи розвитку» (Харків, 2014); I міжнародній науково-практичній internet-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2014); IV науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (Харків, 2014); II міжнародній науковій конференції «Агробіорізоманіття для покращення харчування, здоров'я та якості життя» (Nitra, 2015); VIII міжнародній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти збереження здоров'я людини» (Ужгород, 2015).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу Івано-Франківського національного медичного університету, Національного фармацевтичного університету та Запорізького державного медичного університету 12 грудня 2019 року.

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 17 наукових праць, у тому числі 7 статей (із них 5 – у фахових наукових виданнях України, 2 – у виданнях іноземних держав), 1 патент України на корисну модель, 8 тез доповідей, 1 монографія.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 215 сторінках (обсяг основного тексту 137 сторінок) і складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису об'єктів і методів дослідження та трьох розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертацію ілюстровано 29 рисунками та 49 таблицями. Список використаних джерел містить 156 найменувань, з яких 131 кирилицею та 25 латиною.



## РОЗДІЛ 1

АСТРАНЦІЯ ВЕЛИКА – ПЕРСПЕКТИВНА ЛІКАРСЬКА РОСЛИНА  
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

## 1.1 Рід Астранція в системі родини Селерові

На сьогодні серед більш ніж 440 родин квіткових рослин Селерові посідають шосте місце за кількістю таксонів і сьоме за кількістю видів (Neuwood, 1993). Родина Селерові (Зонтичні) – *Apiaceae (Umbelliferae)* налічує близько 474 родів та 3922–4050 видів, поширених по всій земній кулі, переважно в помірному кліматі Європи, Азії та Північної Америки. В Південній півкулі переважають представники підродина *Hydrocotyloideae*. Однак найбільше число видів зростає в помірно теплих і субтропічних областях Північної півкулі, а в тропічних країнах – головним чином у гірських районах [1].

До родини Селерові відносяться багато харчових, кормових, лікарських, ароматичних рослин, які використовують в різних країнах. Деякі види селерових мають велике значення у формуванні рослинного покриву, будучи домінантами трав'яних угруповань, особливо в гірських і посушливих країнах [1].

Родина Селерові здавна вважається одним із «міцних горішків» систематики квіткових рослин, поряд з тим однією з найраніше виявлених груп рослин (Constance, 1975) і стала предметом найпершої монографії серед всіх таксонів (Morison, 1672). На рівні видів розмежування Селерові нічим істотним не відрізняється від проблем з видами інших родин. Більш того, такі «обтяжливі обставини», як апоміксис або міжвидова гібридизація, рідкісні або зовсім невідомі. Види різних родів мають зовнішню схожість, тому потрібно враховувати морфологічні відмінності для з'ясування родової приналежності.

В основі нестабільності систематики та номенклатури Селерових лежать об'єктивні особливості структури біорізноманіття родини, що має іноді континуальний характер. Селерові визнаються молодого родиною з

віяловидним характером дивергенції. Тому класифікації, в основу яких спочатку були покладені різні ознаки, можуть кардинально відрізнятись, і така нестабільність простежується протягом розвитку систематики селерових. Різні угруповання таксонів, побудовані на аналізі ознак з групи найважливіших для *Apiaceae (Umbelliferae)* (такі, як системи Коха – Декандолля – Друде, з одного боку, і Калестані – Козо-Полянського, з іншого) неоднакові і в деяких частинах контрастні. Навіть зараз немає системи родини, яку з повним правом можна було б назвати природною. У другій половині XIX ст. за морфологічними ознаками системи Друде (Drude, 1897 – 1898) була змінена класифікація родини Селерові як найбільш обґрунтована [1].

Класифікація родини Селерові на сьогодні знаходиться в стані критичної ревізії і характеризується розбіжністю в багатьох деталях традиційної, заснованої на морфологічних даних, систематики і тих угруповань таксонів, які виявляє молекулярна філогенія. Ця проблема є центральною в сучасній систематиці багатьох родин і більш високих таксонів квіткових рослин, але у зонтичних вона особливо актуальна у зв'язку з явною недосконалістю, запропонованою (понад століття тому) системою С. G. Drude (1897 – 1898), В. М. Koso-Poljansky (1916- 1917) і М. Т. Cerceau-Larrival (1962). З усіх систематик класифікація Друде залишається найбільш детальною, обґрунтованою і універсальною, але вона містить в собі багато неприродних триб в підродинах *Hydrocotyloideae* і *Apioideae* [1].

Система К. Г. Друде неодноразово піддавалася частковій модернізації. Одна з таких модифікацій у 1993 р. була запропонована російськими вченими М. Г. Піміновим і М. В. Ліоновим. Відповідно до цієї системи Селерові розподіляються на 3 підродини і 9 триб підродини *Apioideae* (рис. 1.1).

Більшість Селерових – багаторічні трави з характерним суцвіттям – складними, рідко простими зонтиками або головчастими суцвіттями (які закінчують промені плейохазію), квітки двостатеві, рідше одностатеві, однодомні або (дуже рідко) дводомні. При основі зонтика звичайно є обгортка з

кількох або з багатьох цілих, надрізних або іноді пірчасто-розсічених листочків.

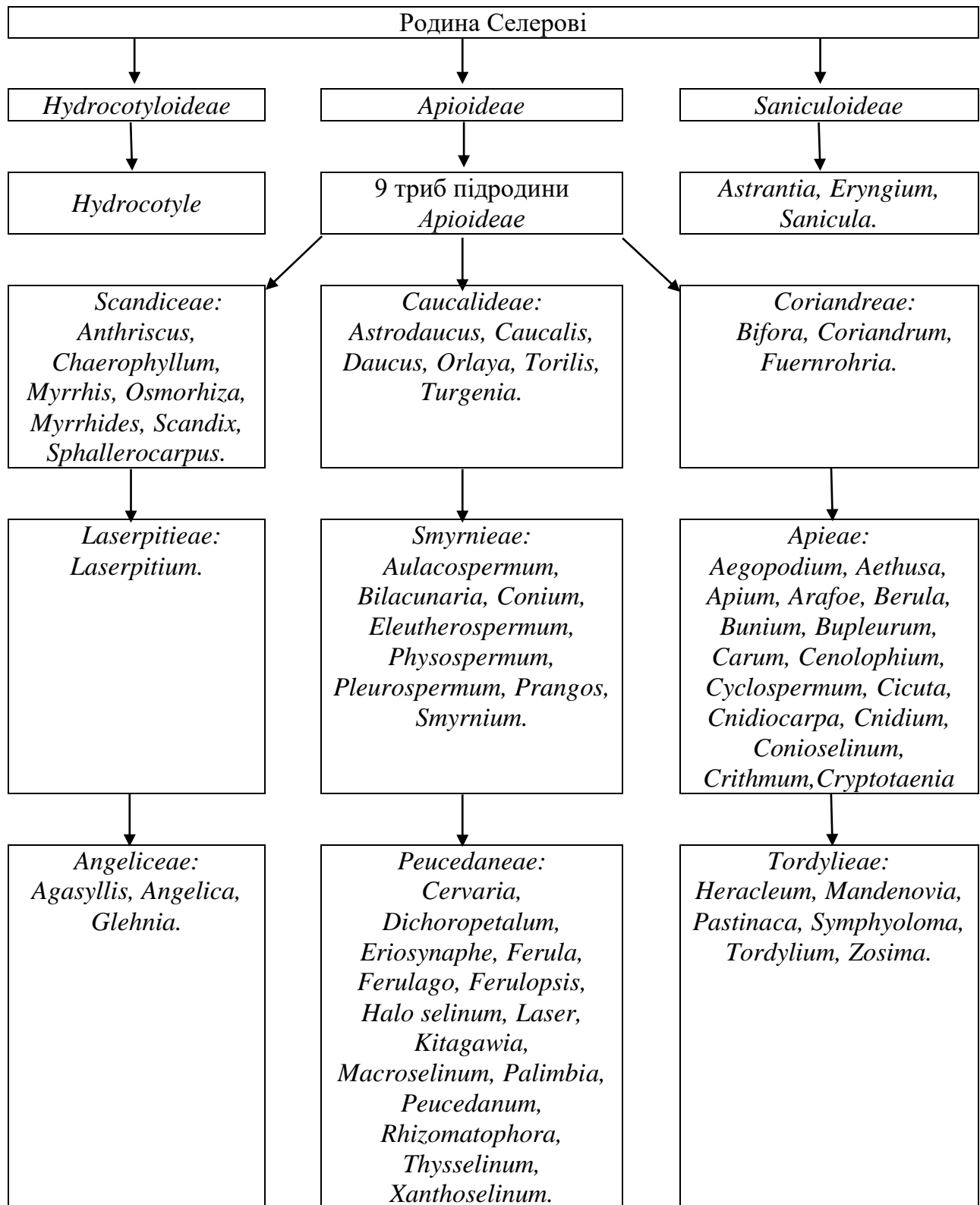


Рис. 1.1. Блок-схема класифікації родини *Apiaceae* за М. Г. Піміновим і М. В. Ліоновим

При основі зонтичків, що розміщені на променях складного зонтика, здебільшого є обгорточки з цілісних, рідко пірчасто-розсічених листочків; листочки обгорточок іноді зростаються між собою до середини або вище, утворюючи суцільне покривальце; часом обгорточки не розвинені або складені з небагатьох опадних листочків, іноді в суцвітті немає ні обгортки, ні обгорточок.

В головчастих суцвіттях, крім спільної обгорточки, розвинені ще приквітки, в пазухах яких сидять поодинокі квітки. Чашечка менш розвинена, звичайно складається з 5 зубців, іноді з 2 – 4; при плодах вони іноді збільшуються і твердіють; часто зубці зовсім нерозвинені, чашечка представлена вузькою країною; рідко зубці чашечки бувають листовидні. Пелюсток 5, вони всі однакові або крайові у зовнішніх квіток зонтика збільшені, білі, жовті і рожеві, рідше зеленуваті, іноді цілісні, частіше виїмчасті або 2-лопатеві, у виїмці із загнутою всередину часточкою. Тичинок 5, що чергуються з пелюстками, нитки їх спочатку загнуті всередину. Зав'язь нижня, 2-гнізда. Плодолистки в нижній частині зав'язі редуковані до черевного шва, що відокремлюється при шіюдах у вигляді стовпця (карпофору); верхня частина плодолистків перетворена в нектарники, що звичайно розвиваються у вигляді підстовпчика або стилоподію, який може бути плоским, подушковидним, конічним, чашовидним або (рідко) кільцевидним, іноді підстовпчик на ніжках; верхівка підстовпчика і стовпчики являють собою апокарпну частину плодолистків. Приймочка головчаста або притуплена, рідко загострена. Чотири насінні зачатки закладаються при основі підстовпчика, 2 з них не розвиваються, в кожному гнізді залишається по 1 висячому насінному зачатку з 1 покривом. Плід звичайно сухий і розпадається на 2 півплодики (мерикарпії), що після досягання висять на вилчасто-розгалуженому стовпці; іноді стовпець не розчленовується. Півплодики на внутрішньому (черевному) боці на місці стикування (спайка, комісура) плоскі, іноді увігнуті, на зовнішньому (спинному) боці – більш або менш опуклі. На спинці - 5 головних або первинних ребер, 2 з яких лежать на бічних краях півплодиків і називаються крайовими, а інші три –

спинними. В проміжках між ребрами є борозенки, що називаються жолобками. Іноді над жолобками розвиваються вторинні ребра, і тоді первинні – мало виявлені, іноді всі 9 ребер однаково розвинені. В середині півплодиків проходять секреторні каналці, які переважно містять ефірну олію. Поверхня і форма плода в залежності від пристосування до того чи іншого способу поширення може змінюватися. Первинні і вторинні ребра можуть бути перетворені в розширені цілісні або розсічені криловидні утвори, пристосовані для літання, або в гачкуваті чіпкі шипики і щетинки. У півплодиків також можуть бути округлі хрящуваті дрібні здуття і поперечні згортки або вирости. Насінина звичайно зростається з оплоднем, але іноді лежить вільно [2].

Морфологічні особливості листків рослин родини Селерові представлено на рис. 1.2.

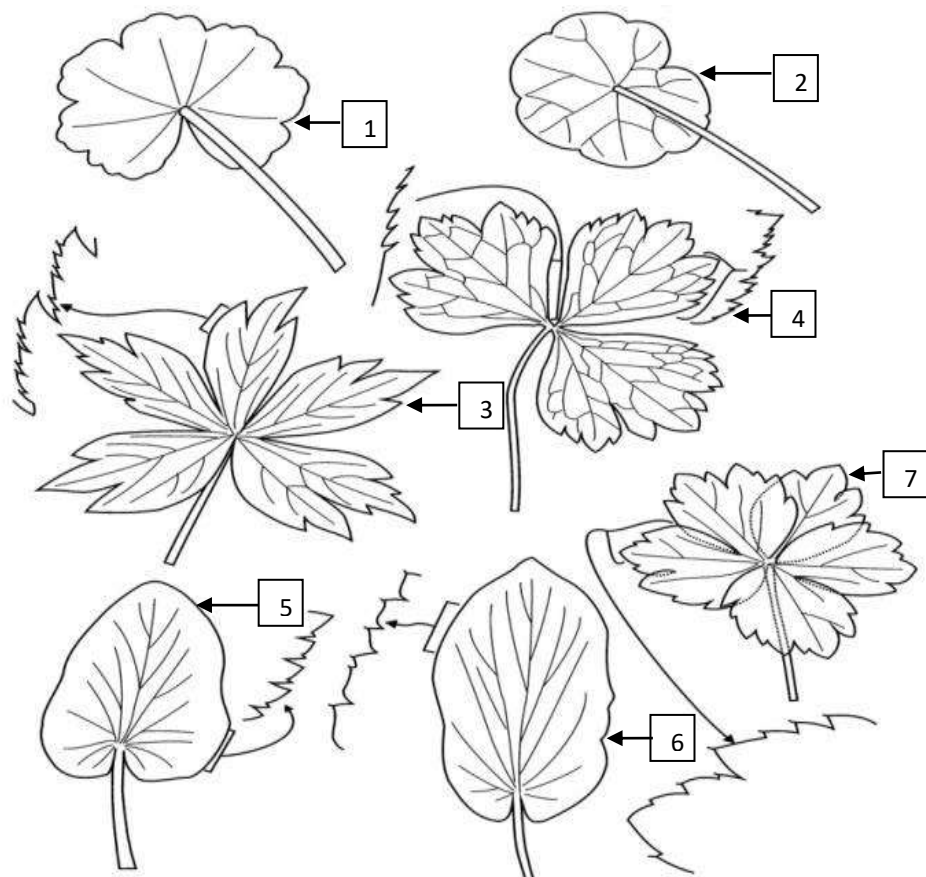


Рис. 1.2. Морфологічні особливості листків рослин родини Селерові: 1 – *Hydrocotyle ramijiora*; 2 – *Hydrocotyle vulgaris*; 3 – *Astrantia major*; 4 – *Sanicula rubriflora*; 5 – *Astrantia trifida*; 6 – *Eryngium giganteum*; 7 – *Eryngium planum* [1]

Листки звичайно чергові з циліндричними або рідко плоскими черешками, при основі розширеними в піхву; піхви бувають відкриті і закриті. Пластинка дуже розсічена, верхні листки розсічені і сидять на піхвах, рідко пластинка цілісна з паралельним жилкуванням або округла.

Корінь нерідко вертикальний і м'ясисто-потовщений; іноді основа стебла шишковидна, здута; під землею є галузисте або косо висхідне кореневище.

Представники родини Селерові у всіх своїх частинах (корінь, стебло, листки і плоди) мають каналці, з яких локалізуються смолоподібні речовини або ефірна олія.

До роду Астранція належить десять видів, які розповсюджені в середній і південній Європі, Кавказі і Азії: 1) астранція найбільша (*A. maxima* Pall.), 2) астранція колхідська (*A. colchica* Alb.), 3) астранція понтійська (*A. pontica* Alb.), 4) астранція велика (*A. major* L.), 5) астранція трьохнадрізна (*A. trifida* Hoffm.), 6) астранція мала (*A. minor* L.), 7) астранція баварська (*A. bavarica* Schult.), 8) астранція корніольська (*A. corniolic* Wulfen.), 9) астранція Біберштейна (*A. biebersteinii* Fisch. & C. A. Mey), 10) астранція гірська (*A. montana* Clairv.) [2].

Серед усіх видів найбільш розповсюдженими на земній кулі є п'ять видів, які відносяться до секції *Macraster* і потребують подальшого вивчення [2].

Carolina I. Calviño, Stephen R. Downie (2007) наводять дані, що рід Астранція включає в себе дев'ять видів багаторічних рослин, які характеризуються розділеним базальним листям і кольоровими листочками обгортки. Рослини поширені в південному заході Азії, ареал зростання простягається на захід – на Балканський півострів, в Карпати, Альпи, Апеніни і Піренеї (Wörz, 1999) [3].

Розповсюдження найбільш поширених видів роду Астранція наведено в табл. 3.1.

### Поширення видів роду Астранція

Назва виду	Фітоценотичні умови зростання	Розповсюдження
А. понтійська – <i>A. pontica</i> Alb.	Росте на суб-альпійських луках та галявинах у верхній частині лісового поясу.	Грузія, Азербайджан, Вірменія, Іран та Російська Федерація.
А. найбільша – <i>A. maxima</i> Pall.	Росте на луках у верхній частині лісового поясу, на підальпійських та альпійських схилах.	Туреччина, Вірменія, Грузія та Велика Британія.
А. велика – <i>A. major</i> L.	Росте на галявинах в широколистяних, хвойношироколистяних лісах, вздовж берегів річок.	Велика Британія, Іспанія, Франція, Італія, Бельгія, Сербія, Австрія, Албанія, Болгарія, Швейцарія, Білорусія, країни Скандинавії та Україна.
А. трьох-надрізна – <i>A. trifida</i> Hoffm.	Росте на альпійських та субальпійських галявинах у лісовому поясі.	Грузія, Азербайджан, Вірменія, Російська Федерація.
А. колхідська – <i>A. colchica</i> Alb.	Росте на альпійських галявинах.	Грузія, Азербайджан, Вірменія, Російська Федерація.

Результати, наведені в табл. 1.1, свідчать, що види роду Астранція розповсюджені на території Туреччини, Вірменії, Грузії, Великої Британії, Іспанії, Франції, Італії, Бельгії, Хорватії, Сербії, Австрії, Албанії, Болгарії, Швейцарії, Білорусії, Азербайджану та Російської Федерації. На території України зустрічається лише один вид – астранція велика (*Astrantia major* L.) [8 - 9].

Представники роду *Astrantia* – це багаторічні малогіллясті трави заввишки 30 – 70 см. Стебла вгорі розгалужені й обліснені; нижні листки глибокопальчасто-роздільні з видовжено-оберненойцеподібними, часто дво-тринадрізаними пилчастими частками, які закінчуються щетинкою. Суцвіття – зонтики, 3 – 5 см у діаметрі, оточені білувато-рожевою обгорткою з великих видовжено-ланцетних, іноді короткозубчастих листків, які перевищують квітки. У зонтику внутрішні квітки двостатеві, зовнішні – чоловічі. Зубці чашечки шиловидні, довші за пелюстки, ланцетні, зігнуті; тичинкові нитки довгі, стовпчики тонкі, довгі з головчастою приймочкою.

Плоди продовгувато-циліндричні, злегка стиснуті, напівплодики напівкруглі, з черевця пласкі, основні ребра покриті лусочками. Міжреберні каналці прості, великі; ендосперм з внутрішньої сторони плаский, зі спини опуклий [2, 4].

Відмітними морфологічними ознаками видів роду Астранція є довжина стебла, будова листової пластинки та суцвіття (табл. 1.2) [4 - 6].

В 2016 році на вебсайті електронного видання *Wisconsin Master Gardener* опублікована стаття, в якій зазначається, що астранція велика належить до роду *Astrantia*. Росте на гірських луках, луках, лісових галявинах і вздовж струмків в Європі і Західній Азії.

Назва рослини давня, невідомого походження і значення. Ймовірно від «astron» – «зірка» і «antion» – «протилежні». Як всяку квітку незвичайного вигляду, астранцію оточують легенди. Одна з них оповідає, що квітка впала на узлісся й розбилася яскравою зіркою, з осколків якої вирости чарівні квіточки.



## Морфологічні ознаки рослин роду Астранція

Назва виду	Стебло	Листки	Квітки
1	2	3	4
Астранція найбільша – ( <i>A. maxima</i> Pall.)	Стебла 40-70 см заввишки, прості, інколи вверху з однією або двома гілками, зазвичай з одним розвинутим зонтиком.	Нижні стеблові листки розташовані на черешках і 3-4 рази більші за них. Пластинка їх трьох-роздільна, середня доля вузька, інколи майже ланцетна, довжиною 3-5 см, шириною від 1,5 до 2,5 см. Бокові більш широкі, нерівнобокі, більш крупні, по краю щетинисто-зубчасті, знизу з трьома жилками. Рідко нижні листки чотирьохроздільні. Середні і верхні стеблові листки сидячі або охоплюють стебло, трьохроздільні або трьох-лопатеві. Верхівкові два – три листка, двох-трьохлопатеві або роздільні.	Квітки численні, близько 1 см завдовжки, долі чашечки вузько-ланцетні, жорсткі з шиловидним загостренням. Квітки рожеві, зібрані в прості зонтики до 4,5 см в діаметрі, плівчасті, слабо-червонуваті, Цвітуть у серпні – вересні.
Астранція понтійська – ( <i>A. Pontica</i> Alb.)	Стебла 30-70 см заввишки, прості, тільки зверху мають одну або дві гілки, закінчуються 3-4 зонтиками, із яких найбільш розвинутий зонтик головного стебла.	Нижні стеблові листки завдовжки 5-20 см, пластинка з глибоко-серцевидною основою, трьохроздільна, середня доля обернено-яйцевидна, 2-5 см завдовжки, 1,5-3 см завширшки. Бокові долі нерівнобокі, глибоко надрізані, по краю неправильно надрізані і щетинисто-зубчасті, 2-5 см завдовжки і 1,5-5 см завширшки. Стеблові листки на коротких черешках.	Квіти численні, периферичні, рідше пильникові, завдовжки до 3 мм. Квітки звужені і загострені до верхівки, блідо-зелені, рідко червонуваті, 12-15 мм завдовжки і 2-4 мм завширшки.

1	2	3	4
Астранція велика – ( <i>A. major</i> L.)	Стебла висотою 50-70 см, поодинокі, прості або з 1-2 невеликими гілками, вверху 2-5-роздільні.	Нижні листки на довгих черешках, пластинка 3-5-7-надрізана з крупними долями, ланцетними, з великими надрізано-зубчастими або надрізними зубцями, які закінчуються щетинками. Стеблові листки дещо менші, сидячі.	Квітки численні, на тонких залозистих квітконіжках, пильникові або краєві. Зубці чашечки вузько-ланцетні, загострені або шиловидні, 1,5-3 мм завдовжки.
Астранція трьохнад-різна – ( <i>A. trifida</i> Hoffm.)	Стебла висотою 30-50 см, прості, тільки зверху з двома гілками, закінчуються невеликими зонтиками.	Черешки нижніх листків в 3-5 раз більші від 5-роздільної пластинки, рідко пластинка 3-роздільна з надрізними боковими долями. Долі довжиною 2-3 см і шириною 1,5-2 см, надрізано-зубчасті з зубцями, які закінчуються щетинками.	Квітки численні, зубці чашечки шиловидні довші за пелюстки.
Астранція колхідська – ( <i>A. colchica</i> Alb.)	Стебла 15-30 см заввишки, прості, тільки зверху дві невеликі гілки, які закінчуються зонтиками значно меншими від основного.	Черешки нижніх стеблових листків довжиною 10-30 см, пластинка 5-роздільна, долі яйцевидні, бокові нерівнобічні, по краю щетинчасто-зубчасті довжиною 1,5-2,5 см і шириною 0,7-1 см. Стеблових листків – 2 на коротких черешках.	Квітки пильникові, рідше ланцетні. Зубці чашечки шиловидні, жорсткі.

Стара назва рослини – «звездовка». Перша згадка про вирощування астранції в садовій культурі належить до 1537 року. Особливо люблять її англійці, вони виводять все нові й нові сорти цієї ніжної рослини.

Надземна частина астранції великої складається з розгалуженого і облісненого стебла довжиною до 70 см. Нижні листки глибокопальчасто-розділені з видовжено-обернено-яйцеподібними, часто дво-тринадрізними, пилчастими частками, які закінчуються щетиною; суцвіття – зонтики, 3,4 – 4,5 см у діаметрі; оточені білувато-рожевою обгорткою з великих видовжено-ланцетних, іноді короткозубчастих листків, які перевищують квітки; у зонтику внутрішні квітки двостатеві, зовнішні – чоловічі. Зубці чашечки шиловидні, довші за пелюстки, ланцетні, зігнуті; стовпчики тонкі, довгі з головчастою приймочкою. Плоди продовгувато-циліндричні, злегка стиснуті, напівплодики круглі; з черевця пласкі, основні великі; ендосперм з внутрішньої сторони плаский, зі спини опуклий.

Німецькими вченими описано суцвіття астранції великої – прості зонтики з численними білими або червоними приквітками, які формують квітку. Окремі суцвіття мають багато жіночих і чоловічих квіток. Плоди довжиною від 4 до 6 мм. Період цвітіння рослин проходить з травня по вересень [10].

*Astrantia major* L. – це центрально-європейський вид, поширений переважно в горах. На рівнині є рідкісним. В Україні досить численний у Карпатах, зрідка трапляється на Поділлі та Правобережному Поліссі у лісових масивах, на вологих узліссях, у заростях чагарників.

Популяції рослини в Карпатах численні, вид зростає масово, добре відновлюється. На межі ареалу в рівнинній Україні зростає розсіяно (поодинокі або групами). Охороняється у Карпатському біосферному заповіднику, Карпатському національному природному парку та заказниках загальнодержавного значення – Кошарнинському, Іванковецькому (Хмельницька обл.) і Весилівському (Тернопільська обл.). Вирощують в ботанічних садах [11].

Науковець інституту екології Карпат НАН України Копитко У. І. (2008) у своїй праці подає дані щодо індивідуальних і групових параметрів популяцій *Astrantia major* L., які ростуть у різних еколого-ценотичних умовах на різних висотах над рівнем моря та під впливом екзогенних чинників (випасу, косіння). Зроблено висновок, що оптимальні умови для росту популяцій *Astrantia major* L. сформовані на висотах 1100 – 1500 м н.р.м. Вказано, що індивідуальні та групові параметри популяцій можуть бути маркерами умов середовища [12].

Ayla Kaş (2008) вказує, що існують деякі морфологічні і анатомічні варіації роду Астранція, який представлений двома підвидами (*Maxima* і *Haradjianii*) в Туреччині. За результатами досліджень встановлено, що екологічні фактори впливають на морфологічні і анатомічні характеристики видів роду, в тому числі висота зростання рослини над рівнем моря, щоденні перепади температур, вологість, вплив вітру, випаровування і середнє зменшення температури [13].

Копитко У. І. (2010) дослідила основні показники динаміки популяцій *Astrantia major* L. у різних екологічних умовах, що дозволяє припускати залежність віку популяцій від умов зростання едифікатора. Стабільність основних показників популяцій та їх вікових спектрів свідчить про адаптивність популяцій до даних умов зростання [14].

Joan Vallès і співавт. (2014) методом цитометрії встановили, що деякі рослини Балканського півострова мають дуже велику область поширення, серед яких *Anthemis cotula* L., *Astrantia major* L. і *Lonicera implexa* Blüte [15].

Вчені Царик Й. В., Копитко У. І. (2008) розглянули метапопуляційну структуру *Astrantia major* L. на північному макросхилі головного Чорногірського хребта. Зроблено висновок, що завдяки метапопуляційній організації перспектива виживання виду в мінливих умовах середовища не викликає тривоги. Деякі часткові популяції можуть бути маркерами змін умов середовища [16].

Копитко У. І. (2009) дослідила популяційну організацію астранції, а саме стану 9-ти популяцій, які зростають у різних еколого-ценотичних умовах та на різних висотних градієнтах. Результати досліджень показали, що *Astrantia major* L. – це червонокнижний вид, поширений переважно в горах, цвіте від червня до серпня, росте у лісовому, альпійському, субальпійському поясах, на узліссях, біля потоків, багаторічник. В Україні проходить східна межа його ареалу. До складу консорцій *Astrantia major* L. входить 63 види безхребетних тварин, які належать до 17 родин [17].

Копитко У. І. (2009) дослідила розмірну поліваріантність особин популяцій астранції великої з різних висотних поясів. Дослідження показали, що вони в різних умовах різняться за висотою генеративного і розеткового пагонів, і ця відмінність зберігається протягом усього онтогенезу. Виявлено, що серед досліджуваних особин астранції великої найвищі ростуть на межі смерекового лісу в субальпійському поясі, а найнижчі – в альпійському поясі на висоті близько 1700 м н.р.м. Виявлено три варіанти онтогенезу астранції залежно від умов їх росту [18].

Парнікоза І. Ю., Гільчук П. В. (2002) вивчали стан ценопопуляцій рідкісних видів рослин Рахівського району Закарпатської області. *Astrantia major* L. — звичайний вид у лісовому поясі Карпат, становище гірських популяцій якого, на відміну від рівнинних, не викликає занепокоєння. Вид фіксувався постійно в складі післялісових лук невеликими ценопопуляціями (20 – 40 екземплярів). У селі Вільшанка *Astrantia major* представлена нормальними ценопопуляціями на екоотопі між луками і лісом. Ценоз з проєктивним покриттям рослини становить 70 % [20].

В результаті проведених досліджень вчений Воткальчук Е. А. (2015), встановив, що таксономічна різноманітність флори судинних рослин Вигорлат-Гутинського хребта представлено 1275 видами і підвидами рослин, які відносяться до 529 родів і 124 родин, що складає 63,8 % від флористичної різноманітності Українських Карпат. Аналізуючи флору Вигорлат-Гутинського вулканічного хребта (Українські Карпати), вперше виявлено

40 рідкісних реліктів: *Allium ursinum* L., *Asplenium adianthum nigrum* L., *Astrantia major* L. та ін. [21].

Ященко П. Т. (2012) відобразив екологічну специфіку регіону Сколівські Бескиди. З'ясовано роль природних процесів у ренатуралізації рослинного покриву модельних трансформованих ділянок, показано вагомесозологічне значення траси як оселища рідкісних видів рослин. На узбіччях траси ростуть астранція велика, плаун булавоподібний (*Lycopodium clavatum* L.), ценопопуляції яких є добре збереженими. Загрози зникнення вказаних видів за умови збереження сучасного екологічного режиму траси та відсутності порушень рослинності немає, їх наявність зумовлюється в основному лише біологічними особливостями розвитку зазначених видів [22].

Вченим Дідух Я. П. (2012) опрацьовано методи пошуку індикаторів і зміни їх ознак залежно від рівня організації живого. Астранція велика відноситься до гемікарбонатобів. Рослина росте на підзолистих, лучних, глеєвих ґрунтах в угрупованні з такими рослинами: вовчі ягоди звичайні (*Daphne mezereum*), молодильник озерний (*Isoetes lacustris*), звіробій сланкий (*Hypericum humifusum*), герань темна (*Geranium phaeum*), лунарія оживаюча (*Lunaria rediviva*), білозір болотний (*Parnassia palustris*) [23].

Куцела О. Я. (2009) наводить дані, що в колекції лікарських рослин Дендрологічного парку «Дружба» Прикарпатського національного університету імені В. Стефаника є такі рослини: астранція велика, арніка гірська, любка дволиста, зозулинець плямистий, родіола рожева, цибуля ведмежа та інші [24].

Серед рослин, охарактеризованих в статті Т. Л. Андрієнко та О. І. Прядко (2009), слід відмітити рідкісні центральноевропейські види, серед яких *Astrantia major* та ін. В межах Полісся цей вид разом з іншими характерний, насамперед, для Західного Полісся України [25].

Копитко У. І. (2009), досліджуючи структуру індивідуальних консорцій астранції великої, встановила функціональну організацію популяцій [17]. У консорті *Astrantia major* L. за видовим різноманіттям домінують представники

родини *Syrphidae* (мухи-дзюрчалки) – 17 видів. Окремі групи консортів становлять: антофіли – 52 %, фітофаги – 36 %, сапротрофи – 11 %, хижаки – 1 %. Зі збільшенням висоти над рівнем моря видове різноманіття консортів зменшується [26].

Вченими Сачок О. та Копитко У. (2011) встановлено, що до складу запилювачів *Astrantia major* входить 39 видів безхребетних тварин, які належать до 8 родин. За видовим різноманіттям домінують представники родини *Syrphidae* (мухи-дзюрчалки) [27].

У статті Боднар Л. М. (2013), висвітлено стратегію охорони рідкісних та зникаючих лікарських рослин флорофонду Закарпатської області. Встановлено, що астранція велика в Карпатах є звичайним видом полонин лісового поясу. Рослину щорічно викошують, випасання полонин забезпечує нормальне, повноцінне відновлення популяцій. Заборона викошування призвела б до заліснення полонин, а у такому випадку астранція зникла б з багатьох її оселищ. Сучасна заготівля астранції великої не завдає шкоди популяціям рослини, тому цей вид та йому подібні були виведені з Червоної книги України [28].

Іванюк А. С. (2006) провів наукові дослідження в районі Опілля (с. Гутисько Бережанського району Тернопільської області), де шляхом первинної інтродукції введено в культуру астранцію велику. В наступних наукових дослідженнях вчений пропонує проведення вторинної інтродукції деяких видів рідкісних рослин, що зростають на території Тернопільської області, а також вивчення їх біолого-екологічних особливостей і перспектив використання, в т.ч. астранції великої [29 - 30].

Чуйко Т. М., Павлюк Г. М., Рибак С. Б. (2004) навели основні результати інтродукції малопоширених в озелененні видів рослин, серед яких астранція велика. Весняне відростання астранції великої в. починається в III декаді березня – I декаді квітня. Цвітіння триває 40 – 45 днів з III декади червня до II декади липня. За характером феноритмотипів цей вид належить до весняно-літньоозеленої групи рослин, які вегетують повний вегетаційний період,

закінчуючи вегетацію при настанні перших осінніх заморозків. Доцільним є насінневе розмноження астранції великої. Насіння висівають під зиму, ґрунтова схожість при цьому становить 90 – 95 %. У культурі зростає десятки років на одному місці, дає рясний самосів, стійка до вимерзання, хвороб та шкідників. Ефективність проростання астранції великої збільшується внаслідок групового проростання з такими рослинами: крем'яником гарним (*Thelekia speciosa* L.), півниками сибірськими (*Iris sibirica* L.), гадючником звичайним (*Filipendula vulgaris* Moench.) [31].

Білоруські вчені Торчик С. П. та Тіток В. В. (2014) проводили фенологічні спостереження астранції великої. Ріст рослини в основному починається навесні у другій декаді квітня, початкова бутонізації – в третій декаді травня. Масове цвітіння триває близько півтора місяця – з третьої декади червня до першої декади серпня. Рослини, вирощені з насіння, зацвітають на третьому (рідше другому) році життя. Починаючи з третього року життя, рослина цвіте і плодоносить кожного року. Вегетація закінчується в жовтні, але при теплій затяжній осені спостерігається вторинне відростання листків, які протягом зими вимерзають. В умовах розсадника створює густий та стійкий самосів. До захворювань і шкідників вид стійкий [32].

*Astrantia major* в умовах культури може значно перевищувати стандартні показники і досягати висоти 50 – 70 см [33].

Професором Поповичем С. Ю. (2012) визначено декоративні, зокрема й рідкісні, фітоценози, які можуть слугувати модельними та ресурсними об'єктами для фітоценодизайну окультурених ландшафтів. Акцентом фітоценокомпозиції виступає *Taxus baccata* L.; протягом літа композицію урізноманітнюють білувато-рожеві квітки *Astrantia major* L. та голубі – *Campanula carpatica* L. Дану фітоценокомпозицію пропонується висаджувати на територіях садиб [34].

Аналіз літературних джерел свідчить, що астранція велика входить до колекції лікарських рослин світової флори. На сьогодні це центральноєвропейський вид, поширений переважно в горах. Враховуючи



досить велике розповсюдження на Прикарпатті перспективним є фармакогностичне дослідження астранції великої.

## 1.2 Хімічний склад

З літературних джерел відомо, що в сировині астранції великої міститься широкий спектр БАР, який представлений дубильними речовинами, флавоноїдами, органічними кислотами, сапонінами, полісахаридами, кумаринами та ефірною олією.

В результаті проведених фітохімічних досліджень К. Hiller виявив сапоніни (бісдесмоседин), флавоноїди (ізоорієнтин, ізовітексин, карлінозид, ізокарлінозид, шафтозид, астрагалін, ізоквертицин, кемпферетрин, нікотіфлорін, рутин, кверцетин, кемпферол), фітостероли ( $\beta$ -сітостерол-3-О-глюкозид), сесквітерпени ( $\beta$ -сінесал,  $\beta$ -сінесол,  $\beta$ -сінесилацетат) і цукри [10, 35 – 40].

Астранція велика містить сапонін  $\alpha$ -гедерин. Вміст  $\alpha$ -гедерину в сировині астранції великої складає 0,2 % [41, 42].

Астранція велика містить у всіх органах, як і види підродини *Saniculoideae*, значну кількість цукрів. У листках і квітках є невелика кількість глюкози і фруктози. З плодів астранції великої був виділений трисахарид умбеліферозид (О- $\alpha$ -D-галактопіранозил (1-2)-О- $\alpha$ -D-глюкопіранозил (1-2)- $\beta$ -D-фруктофуроза) [43].

Radulovic S., Mladenovic Marko Z., Dordevic Nevenka D. (2012), які досліджували ценопопуляції астранції на території Сербії та Польщі, вивчили склад ефірних олій плодів двох популяцій *Astrantia major* методом газової хроматографії та мас-спектрометрії. Ідентифіковано 76 компонентів, які складають 92,7 – 94,0 % ефірної олії. Дикоросла популяція із Сербії вміщувала зінгіберен (47,9 %),  $\beta$ -бісаболен (9,7 %) та  $\beta$ -сесквіфеландрен (7,9 %), а популяція із ботанічних садів Польщі була бідна на сесквітерпени, в основному вміщувала олеїнову кислоту (38,6 %), нонакозан (15,4 %) та лінолеву

кислоту (5,1 %). Екстракти плодів астранції великої, отримані за допомогою діетилового ефіру, вміщували диарилтетрагідрофуранолігнани [44].

Вченими Чернівецького національного університету ім. Ю. Федьковича проведені дослідження вмісту фторидів в системі "грунт–рослина", виявлені закономірності поглинання фторидів трав'янистими рослинами лукових біотопів Північної Буковини. За комплексом критеріїв визначені екологічні групи рослин з різним рівнем поглинання фторидів. *Astrantia major* L. відноситься до групи рослин, які характеризуються високою здатністю накопичувати фториди [19].

Узагальнену інформацію щодо хімічного складу надземних та підземних органів астранції великої наведено в табл. 1.3.

Таблиця 1.3

**Хімічний склад надземних та підземних органів астранції великої**

Сировина	Хімічний склад
1	2
Корені	Вуглеводи: сахароза (11,8 %). Органічні кислоти: ангелікова кислота (0,1 %), яблучна, лимонна, маленова, щавлева. Тритерпеноїди в гідролізаті: гіпсогенін, гедерагенін, олеанолова і гіпсогенінова кислоти. Тритерпенові сапоніни. Фенолкарбоніві кислоти та їх похідні: хлорогенова (0,34 %), розмаринова (0,7 %).
Надземна частина	Флавоноїди: кверцетин, кемпферол, кемпферітрін (3,7-дирамнозид кемпферолу, леспедін), нікотифлорин, астрагалін, рутин, ізокверцитрин, D-галактозид кверцетину.
Надземна частина	Флавоноїди: кверцетин, кемпферол, кемпферітрін (3,7-дирамнозид кемпферолу, леспедін), нікотифлорин, астрагалін, рутин, ізокверцитрин, D-галактозид кверцетину.

1	2
Листки	Вуглеводи: сахароза (7,8 %). Органічні кислоти: яблучна, ангелікова, щавлева, лимонна, малінова. Стероїди: 3-О-Д-глюкозид $\beta$ -ситостерину. Фенолкарбонові кислоти та їх похідні: розмаринова (0,4 %) та хлорогенова. Флавоноїди: кверцетин, кемпферол.
Квітки	Вуглеводи: сахароза (3,3 %). Органічні кислоти: ангелікова, яблучна, лимонна, гліколева, малінова, щавлева. Фенолкарбонові кислоти та їх похідні: розмаринова (1,06 %), хлорогенова (1,1 %). Флавоноїди: кемпферол, ізоорієнтин, кемпферітрин, нікотіфлорин, астрагалін, рутин, ізокверцитрин, кверцетин.
Плоди	Вуглеводи: сахароза (2,4 %), умбеліфероза (3,2 %). Органічні кислоти: яблучна, лимонна, малінова, щавлева. Ефірна олія (1,57 – 3,4 %), в її складі $\beta$ -сіненсол та $\beta$ -сінесолацетат. Фенолкарбонові кислоти та їх похідні: розмаринова (0,48 %), хлорогенова (0,65 %). Флавоноїди: 7-глюкозид кемпферолу, 7-глюкозид кверцетину.

Масленніков П. В. зі співавт. (2011) наводять експериментальні дані про вміст антиоксидантів фенольного типу, аскорбінової кислоти і каротиноїдів в 66 видах лікарських рослин з 31 родини. Результати дослідження виявили перспективні види рослин з максимальним вмістом БАР і антиоксидантною активністю, які можуть бути використані як основа для створення інноваційних функціональних харчових продуктів, що володіють антиоксидантною активністю. Отримані дані свідчать, що в сировині астранції великої вміст антиоксидантів фенольного типу становить 0,07 мг/г, аскорбінової кислоти – 157,6 мг/ %, каротиноїдів – 2,11 мг/г [45].

Масленніков П. В. і співавт. (2014) проводили експериментальні дослідження щодо визначення вмісту рутину, катехінів і лейкоантоціанів в лікарських рослинах (66 видів з 31 родини). Отримані дані свідчать, що в сировині астранції великої вміст рутину становить  $69,3 \pm 7,0$  мг/%, катехінів –  $202,9 \pm 19,6$  мг/%, лейкоантоціанів –  $615,6 \pm 60,8$  мг/% [46].

Структурні формули основних БАР *Astrantia major* L. наведено на рис 1.3.

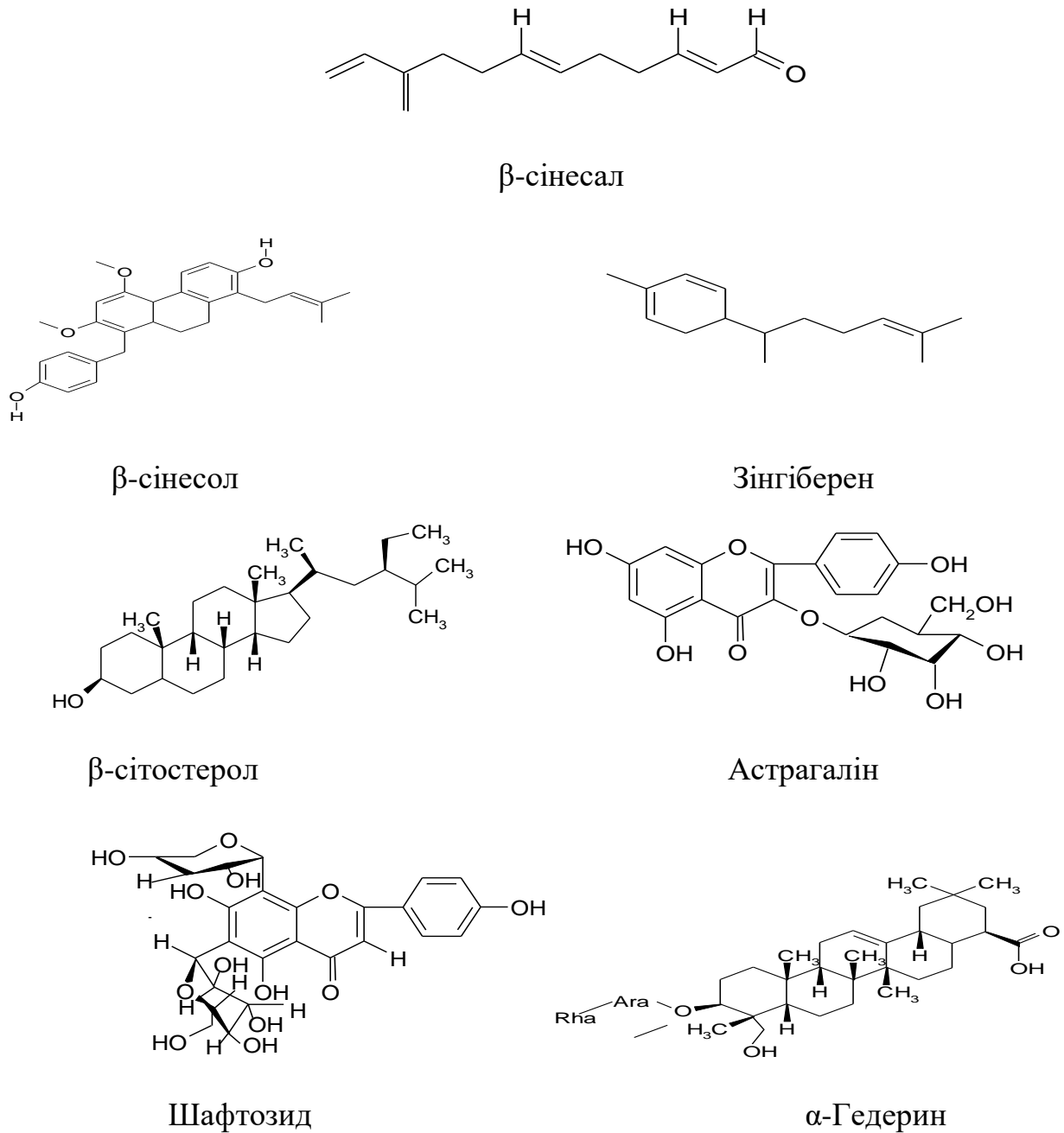


Рис. 1.3. Основні діючі речовини астранції великої

Аналіз наукових першоджерел показав, що хімічний склад астранції великої вивчено недостатньо, тому актуальним є проведення фітохімічних досліджень сировини астранції великої.

1.3 Фармакологічні властивості та застосування в медицині та народному господарстві

В Україні астранція велика є неофіційною рослиною. В народній медицині широко використовують настій астранції великої при гіпертонії, хронічній коронарній недостатності, при лікуванні хронічних і гострих гломерулонефритів. Особливо ефективним є застосування настою з астранції в початковій стадії цих захворювань при надмірній збудливості. Також застосовують водну витяжку астранції великої як кровозупинний, сечогінний та потогінний засоби, для зняття набряків різного походження, при жовтяниці у новонароджених, ревматичних болях у суглобах [47 - 48].

Селерові застосовують в парфюмерній промисловості і при виготовленні харчових та кондитерських виробів; деякі з них у своїх підземних частинах нагромаджують поживні речовини, тому їх культивують. Є серед зонтичних і отруйні рослини, наприклад, вех, болиголов [1 – 2].

Астранцію велику використовують при всіх видах кровотеч (в шлунково-кишковому тракті, поверхневі рани). Рослина володіє імуносупресивними властивостями [41].

Цей вид також відомий своїм ароматним і приємним на смак корінням, яке містить дубильні речовини і кумарини. Веб-сайт Martin Fankhauser надає інформацію, що корінь астранції великої може бути використаний для ароматизації парфумів [49].

Кореневище і траву на сьогодні використовують в народній медицині як засіб для лікування захворювань шлунка. Фітозасоби сприяють виділенню шлункового соку і таким чином стимулюють апетит [45]. Траву вживають свіжою, а коріння висушують і застосовують у вигляді порошку для регуляції

моторики кишечника. Відвар з сировини астранції великої проявляє жарознижуючу і протизапальну дію, його призначають при лихоманці, застуді, ревматичних болях [50].

Американські вчені наводять дані, що коріння астранції великої використовують як в'яжучий, відхаркувальний, заспокійливий засоби. Використовують для полоскання подразнень і виразок в порожнині рота і горла. Корені у вигляді порошку ефективні при лихоманці [51].

Martin Zabka, Roman Pavela, Tatana Sumikova (2012) наводять у своїй роботі дані, що з 49 протестованих метанольних екстрактів, майже всі рослинні екстракти впливали згубно на грибкову флору. Екстракти, отримані з сировини: *Astrantia major*, *Bupleurum falcatum*, *Grindelia hirsutula*, *Grindelia squarrosa*, *Grindelia stricta subsp. oregana*, *Grindelia stricta subsp. venulosa*, *Chenopodium bonushenicus*, *Levisticum officinale*, *Medicago falcate*, *Ononis arvensis*, *Origanum dictamnus*, *Origanum vulgare*, *Petasites hybridus*, *Salvia officinalis* показали ступінь інгібування вище ніж 50 % [52].

Вченими Бакун О. В., Купчанко В. Г., Бербець А. М. (2011) висвітлені клінічні симптоми гіпогалакції і запропоновані фітотерапевтичні суміші лікарських рослин і фітопрепаратів для лікування і профілактики захворювання. Наведено відомості про лактогенну дію астранції великої [53].

У фітотерапії висушену траву використовують у вигляді порошку для стимулювання апетиту. Астранція велика входить до складу сечогінних зборів [51].

Аналіз літературних джерел вказує на те, що астранцію велику широко використовують в медицині різних країн, оскільки її сировина виявляє різноманітні фармакологічні властивості. В Україні астранцію велику використовують тільки в народній медицині як кровозупинний, сечогінний та потогінний засоби, для зняття набряків різного походження, при жовтяниці у новонароджених, ревматичних болях у суглобах. Тому

перспективним є вивчення фармакологічних властивостей астранції великої для створення нових лікарських засобів.

Матеріали даного розділу висвітлено у публікації [8].

## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Вибір загальної методології досліджень

Спосіб життя людини в сучасних умовах відрізняється від способу життя більшості попередніх поколінь. Все більше людей прагнуть до здорового способу життя. «Модно» і «престижно» бути здоровим, витратити на своє здоров'я і час, і матеріальні кошти. На сьогоднішній день не втратило свою актуальність лікування рослинами, властивості яких залежать від наявності в них різноманітних за хімічною структурою і терапевтичною дією біологічно активних сполук. Препарати рослинного походження діють на організм людини значно м'якше, ніж синтетичні, характеризуються меншою токсичністю, незначним алергічним впливом.

Метою роботи було вивчення хімічного складу астранції великої, визначення кількісного вмісту груп біологічно активних речовин, розробка технології отримання біологічно активних субстанцій з сировини астранції великої, встановлення біологічної активності, діагностичних морфолого-анатомічних ознак досліджуваного виду, визначення перспектив застосування в медицині та створення на основі досліджень нових лікарських субстанцій різної спрямованості дії.

Для досягнення мети необхідно було провести дослідження хімічного складу астранції великої, вибрати найбільш перспективний об'єкт для подальшого вивчення, виділити з нього комплекси сполук в індивідуальному стані та встановити їх структуру, провести визначення груп БАР в сировині, розробити технології отримання біологічно активних субстанцій, стандартизувати сировину і субстанції.

Експериментальні дослідження доцільно починати з проведення попереднього вивчення хімічного складу підземних і надземних органів астранції, отримати екстракти, дослідити їх протизапальну, антимікробну і



гемостатичну активність, провести встановлення числових показників доброякісності сировини і базуючись на результатах досліджень встановити перспективність для подальшого вивчення.

Наступним етапом має бути дослідження якісного складу біологічно активних речовин. Такий підхід дозволяє вибрати оптимальні групи БАР для стандартизації об'єктів дослідження. Проведення кількісного визначення основних груп БАР дозволяє підтвердити правильність обраних критеріїв стандартизації сировини і встановити оптимальні терміни заготівлі сировини.

Для розробки технології отримання біологічно активних субстанцій доцільно починати роботу з визначення оптимальних параметрів технологічного процесу. В цьому одну з перших ролей відіграє вибір критеріїв оцінки цих параметрів (вміст екстрактивних речовин, суми флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин) та вибір оптимального екстрагента. Особливу увагу привертає комплексна і раціональна переробка сировини, для чого має бути розроблена єдина схема переробки трави.

Для стандартизації сировини необхідно провести дослідження морфолого-анатомічної будови сировини астранції великої. Для стандартизації отриманих біологічно активних субстанцій необхідно провести визначення числових показників отриманих субстанцій, які будуть використані при розробці проєктів АНД на сировину і одержані субстанції. Підтвердження перспективності створення нових біологічно активних субстанцій з сировини необхідно провести комплексом досліджень біологічних активностей.

Для вирішення поставлених завдань був розроблений план досліджень, який складався з таких етапів:

1. Дослідження хімічного складу та деяких числових показників сировини.
2. Виділення біологічно активних речовин в індивідуальному стані і встановлення їх структури.
3. Визначення кількісного вмісту основних груп біологічно активних речовин.

4. Визначення технологічних параметрів сировини та розробка технологій одержання біологічно активних субстанцій.

5. Встановлення морфолого-анатомічних ознак сировини, проведення стандартизації сировини та отриманих біологічно активних субстанцій і розробка проектів АНД на сировину й одержані субстанції.

6. Підтвердження перспективності розробок нових лікарських засобів на основі астранції великої комплексом досліджень біологічних активностей.

## 2.2 Об'єкти дослідження

Вивчення різних класів біологічно активних речовин в сировині астранції великої проводилось з метою комплексного використання рослинної сировини і створення на її основі нових лікарських препаратів. Сировину заготовляли в Івано-Франківській області в різні фази вегетації з враховуючи особливостей заготівлі та бережливе ставлення до флори.

Об'єктами для фітохімічних досліджень були 6 зразків сировини із 6 популяцій 5 районів Івано-Франківської області (табл. 2.1). Об'єктами морфолого-анатомічного дослідження були астранції великої трава, листя та квітки.

Об'єкти дослідження представлені в табл. 2.1.

*Таблиця 2.1*

### Об'єкти дослідження

Досліджувана частина Рослини	Місце і рік збору
1	2
Листки, трава, стебло	Івано-Франківська обл., Калуський район, с. Боднарів, 2013 р.
Листки, трава, суцвіття	Івано-Франківська обл., Надвірнянський район, с. Дора, 2013 – 2016 рр.
Листки, трава, суцвіття	Івано-Франківська обл., Тисменецький район, с. Марківці, 2012 – 2016 рр.

1	2
Листки, трава, суцвіття	Івано-Франківська обл., Надвірнянський район, окол. м. Ворохта, 2014 р.
Листки, трава, суцвіття	Івано-Франківська обл., окол. м. Івано-Франківськ, 2015 р.
Листки, трава, суцвіття	Івано-Франківська обл., Долинський район, с. Гошів, 2013 – 2016 рр.

### 2.3 Реактиви і розчинники

1. Для хроматографування застосовували папір марок Б, С, М паперової фабрики № 2 імені В. Володарського ЛПО "Бумага", папір марки Filtrak FN-1, FN-3, FN-7, FN-8, FN-14, а також пластинки „Silufol UV-254” і „Silufol UV-366” (Чехія).

Використовували метод висхідної і низхідної одновимірної і двовимірної хроматографії на папері та хроматографії в тонкому шарі сорбенту. Результати значення Rf на хроматограмах є середніми величинами 5 - 6 визначень.

2. Розчинники для приготування хроматографічних систем використовували кваліфікації ч.д.а. або х.ч.; співвідношення розчинників, які взяті в об'ємних одиницях, позначені цифрами.

3. На хроматограмах речовини виявляли за їх флуоресценцією в фільтрованому УФ-світлі до і після обробки різних реактивів:

- 1) 3 % розчином заліза (III) хлориду;
- 2) розчином діазотованого *n*-нітроаніліну;
- 3) розчином діазореактиву (діазотованої сульфанілової кислоти);
- 4) парою аміаку;
- 5) 10 % спиртовим розчином натрію гідроксиду;
- 6) реактивом Васьковського-Костецького;
- 7) реактивом Драгендорфа;

- 8) анілінфталатним реактивом (0,33 г аніліну та 1,66 г кислоти фталевої в 100 мл *n*-бутанолу, насиченого водою);
- 9) 1 % розчином ваніліну в концентрованій хлоридній кислоті;
- 10) 0,2 % розчином нінгідрину в етанолі;
- 11) 0,1 % розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу в 95 % етанолі;
- 12) розчином бромкрезолового зеленого (0,04 г індикатора в 100 мл 95 % етанолу; до розчину додавали 0,1 н розчин натрію гідроксиду до появи синього забарвлення);
- 13) розчином бромтимолового синього і метилового червоного (0,3 г бромтимолового синього і 0,1 г метилового червоного в 100 мл метанолу);
- 14) 10 % розчином сульфатної кислоти;
- 15) 1 % спиртовим розчином алюмінію хлориду;
- 16) 10 % розчином фосфорновольфрамової кислоти.

#### 2.4 Методи аналізу

*Виявлення БАР за допомогою реакцій ідентифікації.* Для ідентифікації різних груп БАР було проведено фітохімічне дослідження трави астранції великої. Рослину заготовляли у фазу масового цвітіння, висушували при кімнатній температурі та подрібнювали (розмір частинок 0,5 – 2,5 мм).

БАР екстрагували з трави астранції великої водою очищеною, 70 % і 95 % етиловим спиртом, та водою, підкисленою хлоридною кислотою. Отримані рослинні витяжки досліджували на наявність БАР за методиками, які описані в літературних джерелах [54 - 58].

Точну наважку подрібненої лікарської рослинної сировини (4,0 г) заливали 50 мл гарячої води і протягом 20 хв нагрівали на киплячому водяному нагрівнику. Отриману витяжку фільтрували через паперовий фільтр і проводили реакцій ідентифікації вільних цукрів, водорозчинних полісахаридів, аскорбінової кислоти, похідних простих фенолів, танінів, сапонінів, антраценпохідних, хромонів та амінокислот [59 - 62].

Виявлення *антраценпохідних* здійснювали за допомогою реакцій:

- Чірха - до 1 мл фільтрату додавали 2 краплі 5 % розчину натрію гідроксиду.

- Борнтрегера - готували лужну витяжку з ЛРС (10 % розчин гідроксиду натрію) при нагріванні. Після підкислення гідролізату аглікони екстрагували діетиловим ефіром та струшували.

Для виявлення *амінокислот* 2 мл досліджуваної витяжки змішували із 2 мл 0,1 % свіжоприготованого розчину нінгідрину. Суміш обережно нагрівали, охолоджували і через деякий час спостерігали зміну забарвлення. Результат реакції ідентифікації підтверджували хроматографічно [63].

Для ідентифікації *алкалоїдів* на предметне скло наносили 2 краплі досліджуваної витяжки, а поряд – 1-2 краплі реактивів Вагнера, Бушарда, Зонненштейна, Драгендорфа, 1 % розчин пікринової кислоти, Майєра, 10 % розчин таніну. Скляною паличкою на предметному склі об'єднували краплю витяжки з краплею реактиву. Спостерігали помутніння суміші і утворення осаду.

*Аскорбінову кислоту* ідентифікували за реакцією з розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію. Отриманай результат реакції підтверджували хроматографічно.

Для виявлення *вільних цукрів* проводили реакцію з мідно-тартратним реактивом (реактив Фелінга). До 1 мл витяжки додавали 1 мл мідно-тартратного реактиву та нагрівали на водяному нагрівнику.

Для виявлення *водорозчинних полісахаридів* до 5 мл фільтрату додавали 15 мл 95 % етанолу.

Для визначення *кумаринів* використовували реакцію з діазореактивом в лужному середовищі та реакцією лактонної проби:

- з діазореактивом в лужному середовищі: до 2 мл витяжки додавали 5 крапель 10 % розчину калію гідроксиду (спиртового), нагрівали протягом 5 хв, додавали 5 крапель свіжоприготованої діазотованої сульфанілової кислоти.

- Лактонна проба: до 3 мл фільтрату додавали 10 крапель 10 % спиртового розчину калію гідроксиду та нагрівали на киплячому водяному нагрівнику протягом 5 хв. Одержану суміш охолоджували, додавали 5 мл води очищеної. Отриманий розчин нейтралізували 10 % розчином хлористоводневої кислоти до кислої реакції (за лакмусом).

Виявлення *кардіостероїдів* проводили за допомогою таких реакцій: Лібермана-Бурхарда (на стероїдне ядро), Келлера-Кіліані (на дезоксицукри), Легаля та Бальє (на п'ятичленне ненасичене лактонне кільце).

Виявлення *танінів* проводили за допомогою реакцій ідентифікації:

- до 1 мл отриманої витяжки додавали краплями рівну кількість 10 % розчину хлористоводневої кислоти і свіжоприготованого 1 % розчину желатини;

- до 1 мл фільтрату додавали краплями 1 % розчин хініну гідрохлориду;

- до 1 мл фільтрату додавали 4 краплі розчину заліза (III) амонію сульфату.

Для виявлення *сапонінів* використовували реакції піноутворення, осадження та Фонтан-Кандела:

- - 3 мл витяжки протягом декількох секунд інтенсивно струшували та відзначали стійкість піни;

- - до 2 мл витяжки додавали кілька крапель 10 % розчину свинцю ацетату;

- - у дві однакові за кольором та діаметром пробірки вносили по 2 мл фільтрату і в першу додавали 2 мл 0,5 н хлоридну кислоту, а в другу – 2 мл 0,5 н розчину натрію гідроксиду. Обидві пробірки інтенсивно струшували протягом кількох секунд і визначали висоту піноутворення, після чого робили висновок про належність до тритерпенових або стероїдних сапонінів.

Ідентифікацію *флавоноїдів* проводили за допомогою реакцій із солями важких металів та ціанідинової реакції:

- до 1 мл витяжки додавали 5 крапель 5 % розчину заліза (III) хлориду;

- до 1 мл фільтрату додавали в однаковій кількості 2 % розчину натрію карбонату та 5 % розчину алюмінію хлориду;

- ціанідинова реакція: до 2 мл фільтрату додавали 0,5 мл хлористоводневої кислоти і 0,1 г порошку металічного магнію. Суміш нагрівали на киплячому водяному нагрівнику протягом 3 хвилин. Ціанідинова реакція за Бріантом дозволяє з'ясувати агліконову чи глікозидну природу флавоноїдів. До утвореного продукту ціанідинової реакції додавали рівну кількість води очищеної, 1 мл *n*-октанолу та струшували. Після розділення фаз глікозиди залишаються у воді, а аглікони переходять у органічну фазу.

*Хроматографічний аналіз БАР.* Для розділення *фенольних сполук* використовували метод двовимірної паперової хроматографії. 2,0 г сировини двічі екстрагували 96 % етанолом у співвідношенні 1:10 та двічі – 70 % етанолом у співвідношенні 1:10 на киплячому водяному нагрівнику при температурі кипіння екстрагенту протягом 30 хв. Отримані спиртові витяжки об'єднували, фільтрували, етанол відганяли, а водний залишок обробляли етилацетатом. Етилацетатні та водні фракції упарювали досуха, а сухий залишок розчиняли у невеликих кількостях 96 % і 70 % етанолу відповідно. Розчини краплями наносили на хроматографічний папір марки «Filtrak FN-1» та вивчали методом двовимірної хроматографії в системах розчинників: I-напрямок - 15 % оцтова кислота і II-напрямок - *n*-бутанол – оцтова кислота – вода очищена (4:1:2). Отримані хроматограми вивчали в УФ-світлі до та після їх обробки парами аміаку і 3 % спиртовим розчином алюмінію хлориду [64 - 66].

Якісне виявлення *органічних кислот* проводили методом паперової хроматографії. Екстракцію БАР з сировини здійснювали сумішшю ацетону та діетилового ефіру в підкисленому середовищі. 1,0 г сировини екстрагували сумішшю ацетон-діетиловий етер (7:3) і 1 мл 20 % сульфатної кислоти на водяному нагрівнику зі зворотнім холодильником при температурі кипіння екстрагенту. Одержані витяжки фільтрували у вакуумі, упарювали, наносили на хроматографічний папір марки «Filtrak FN-1» та вивчали методом висхідної

хроматографії у системах розчинників: *n*-бутанол-мурашина кислота-вода очищена (75:15:10) та *n*-бутанол-оцтова кислота-вода очищена (4:1:5). Одержані результати порівнювали з достовірними зразками після обробки 0,05 % спиртовим розчином бромтимолового синього та 0,1 % спиртовим розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію [67, 68, 69].

Аналіз *амінокислот* проводили за допомогою висхідної хроматографії на папері. Водні витяжки досліджуваної сировини хроматографували в системах розчинників *n*-бутанол-оцтова кислота-вода очищена (4:1:2), *n*-бутанол-оцтова кислота-вода очищена (18:2:5) на папері марки «Filtrak FN-1». Зразками для порівняння служили розчини амінокислот у 0,1 н розчині хлористоводневої кислоти. Проявлення амінокислот здійснювали 0,1 % розчином нінгідрину в етанолі. Хроматограми підігрівали у сушильній шафі протягом декількох хвилин при температурі 80-100 °С [70 - 74].

*Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ.* Наважку сировини масою (0,5-1,00 ±0,01) г переносять у плоскодонну колбу об'ємом 100 см<sup>3</sup> і заливають 30 см<sup>3</sup> гарячої бідистильованої води. Колбу ставлять на магнітну мішалку з підігрівом та витримують 30 хв при температурі 80 °С. Охолоджують в термостаті до температури не вище 25 °С та переносять вміст у мірну колбу об'ємом 50 мл. Доводять об'єм до мітки бідистильованою водою. Ретельно перемішують, дають відстоятися 5 хв і надосадову рідину обережно зливають у приготовлену ємність. Відфільтровують крізь шприцевий мембранний фільтр на основі заміщеної целюлози діаметром пор 0,45 мкм у приготовлену ємність. Відбирають з фільтрату 1 мл в ємність для хроматографування.

Розділення суми фенольних сполук здійснювали методом ВЕРХ на високоефективному рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200 (США) з фотометричним діодно-матричним детектором UV-VisG1315, обладнаному проточним дегазатором G1322A, автосамплером (автоматичний інжектор) G1329A, термостатом колонок G1316A, в комплексі з персональним комп'ютером з програмним забезпеченням Agilent Chem Station. [75-78].



*Дослідження летких сполук методом ГХ - МС.* Якісний склад та вміст (мг/кг) летких сполук визначали хромато-мас-спектрометричним методом на хроматографі Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973. Хроматографічна колонка капілярна HP-5ms з внутрішнім діаметром 0,25 мм і довжиною 30 м. Швидкість газоносія (гелій) – 1,0 мл/хв. Температура нагрівача введення проби – 250 °С. Температура термостата програмована від 60 °С до 3200 °С зі швидкістю 7 град/хв.

ДВ – 5 довжиною 30 м і внутрішнім діаметром 0,25 мм. Газ-носій – гелій. Температура термостату 50 °С з програмуванням 4 хв до 320 °С. До наважки повітряно-сухого рослинного матеріалу (1000 мг) у колбі на 2 мл, додавали внутрішній стандарт (тридекан), з розрахунку 50 мкг на наважку, з подальшим розрахунком отриманої концентрації внутрішнього стандарту [79].

Для ідентифікації компонентів отримані спектри розглядали на основі загальних закономірностей фрагментації молекул органічних сполук під дією електронного удару, а також шляхом порівняння отриманих результатів з даними бібліотек мас-спектрів.

Кількісний вміст ( $X$ , мг/кг) визначали по відношенню до внутрішнього стандарту за формулою:

$$X = \frac{P_1 \times 50}{P_2 \times m}$$

де  $P_1$  – площа піка речовини, що вивчалася;

50 – маса внутрішнього стандарту, що вводився в зразок (мкг);

$P_2$  – площа піка стандарту;

$m$  – наважка сировини (г.)

*Визначення фітостеролів методом ВЕРХ.* Ідентифікація та кількісне визначення стероїдних сполук проводили методом газової хроматографії/мас-спектрометрії (ГХ/МС). 0,05 г подрібненої сировини вміщували у віалу об'ємом 20 мл, додаючи при цьому тридекан в якості внутрішнього стандарту

та 6 мл метиленхлориду в якості розчинника. Віали витримували протягом 3 год в ультразвуковому екстракторі або протягом доби при кімнатній температурі. Одержану витяжку переносили до віали об'ємом 2 мл та концентрували, продуваючи потоком особливо чистого нітрогену (швидкість потоку – 100 мл/хв.) до залишкового об'єму витяжки 10 мкл.

Експеримент проводили на хроматографі Agilent Technologies 6890 з масспектрометричним детектором 5973 з капілярною колонкою HP-5ms (діаметр 0,25 мм, довжина – 30 м). Швидкість газу-носія (гелію) становила 1,0 мл/хв., температура нагрівача вводу проби – 350 °С, температура термостату програмувалася від 150 °С до 300 °С зі швидкістю 7 град/хв. Компоненти ідентифікували з використанням бібліотеки мас-спектрів у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST.

Кількісний вміст стероїдів ( $X$ , мг/кг) визначали за методом внутрішніх стандартів за формулою:

$$X = \frac{P_1 \times 50}{P_2 \times m}$$

де  $P_1$  – площа піка речовини, що вивчалася;

50 – маса внутрішнього стандарту, що вводився в зразок (мкг);

$P_2$  – площа піка стандарту;

$m$  – наважкасировини (г).

Розділення суми *гідроксикоричних кислот* на індивідуальні компоненти здійснювали за допомогою методу обернено-фазної хроматографії. Використовували хроматографічну колонку Discovery C<sub>18</sub> розміром 250×4,6 мм на силікагелі з модифікованим октадецильними групами діаметром зерен 5 мкм. Як рухому фазу використовували 0,005 N ортофосфорну кислоту (елюент А) та ацетонітрил (елюент В). Використовували наступні параметри хроматографічного аналізу: швидкість подачі елюенту – 0,7 мл/хв, робочий тиск елюенту – 10000 - 12000 кПа; температура термостата колонки – 25 °С;

об'єм досліджуваної проби – 5 - 10 мкл, час хроматографування – 50 хв. Градієнтний режим елюювання становив: 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 % «В». Час сканування – 0,6 с; діапазон детектування – 190 - 400 нм; довжини хвиль – 320, 330 нм.

Розділення суми *флавоноїдів* на індивідуальні компоненти здійснювали за допомогою методу обернено-фазної хроматографії. Використовували хроматографічну колонку Discovery C<sub>18</sub> розміром 250×4,6 мм на силікагелі з модифікованим октадецильними групами діаметром зерен 5 мкм. Як рухомих фаз використовували 0,005 N ортофосфорну кислоту (елюент А) та ацетонітрил (елюент В). Використовували наступні параметри хроматографічного аналізу: максимальна швидкість подачі елюенту – 0,8 мл/хв, робочий тиск елюенту – 15600 кПа; температура термостата колонки – 25 °С; об'єм введеної проби – 5 - 10 мкл, час хроматографування – 60 хв. Використовували наступні параметри хроматографічного аналізу: 0 хв – 12 % «В», 30 хв – 25 % «В», 33 хв – 25 % «В», 38 хв – 30 % «В», 40 хв – 40 % «В», 41 хв – 80 % «В», 48 хв – 80 % «В», 49 хв – 12 % «В» і 60 хв – 12 % «В». Час сканування – 0,6 с; діапазон детектування – 190 - 400 нм; довжини хвиль – 255 нм, 340 нм.

Розділення *танінів* здійснювали методом обернено-фазної хроматографії, використовуючи хроматографічну колонку Discovery C<sub>18</sub> розміром 250×4,6 мм із сорбентом: силікагель, модифікований октадецильними групами, яка має діаметр зерен 5 мкм. Як рухомих фаз використовували: суміш трифлуороцтової кислоти (0,1 %), ацетонітрилу (5 %) та деіонізованої води (елюент А), та трифлуороцтову кислоту (0,1 %) в ацетонітрилі (елюент В). Параметри хроматографічного аналізу: максимальна швидкість подачі елюенту – 0,1 мл/хв, максимальний робочий тиск елюенту – 40 кПа; температура термостата колонки – 25 °С; об'єм введеної проби – 10 мкл, час хроматографування – 40 хв. Режим елюювання – градієнтний: 0 хв – 0 % «В», 8 хв – 12 % «В», 10 хв – 12 % «В», 15 хв – 25 % «В», 20 хв – 25 % «В», 25 хв – 75 % «В»; 28 хв – 75 % «В»,

29 хв – 0 % «В»; 40 хв – 0 % «В». Час сканування – 0,6 с; діапазон детектування – 190 - 400 нм; довжина хвилі – 280 нм [80 - 81].

*Дослідження жирнокислотного складу.* Вивчення жирнокислотного складу досліджуваної сировини проводили хромато-мас-спектрометричним методом на хроматографі Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973 з капілярною колонкою HP-5 ms (діаметр – 0,25 мм, довжина – 30 м) [82, 83].

Для отримання метилових естерів жирних кислот 0,05 г подрібненої сировини вміщували у віали об'ємом 2 мл, додаючи при цьому тридекан в якості внутрішнього стандарту та 2 мл 2 % розчину ацетилхлориду в метанолі. Віали витримували протягом 2 год за температури 37 °С. Метиліві естери жирних кислот екстрагували 500 мкл гексану. Компоненти ідентифікували з використанням бібліотеки мас-спектрів у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST.

Кількісний вміст компонентів ( $X$ , мг/кг) визначали відносно внутрішнього стандарту за формулою:

$$X = \frac{P_1 \times 50}{P_2 \times m}$$

де  $P_1$  – площа піка речовини, що вивчалася;

50 – маса внутрішнього стандарту, що вводився в зразок (мкг);

$P_2$  – площа піка стандарту;

$m$  – наважка сировини (г.)

*Дослідження амінокислотного складу.* Вивчення амінокислотного складу досліджуваної сировини проводили на амінокислотному аналізаторі ААА Т - 339 М «Mikrotechna–Praha». Усі процеси, включно з оцінкою результатів і складанням протоколу, здійснювали з допомогою комп'ютерної програми.

Дослідження проводились з використанням методики аналізу амінокислот у гідролізаті білка. В експерименті наважку подрібненої та

висушеної сировини масою 0,1 г підігрітої до температури 60 °С розчиняли у спирті та поміщали у ампулу для гідролізу об'ємом 50 мл. До вмісту ампули додавали рівну кількість концентрованої хлористоводневої кислоти і продували азотом для видалення повітря, після чого герметично закривали. Гідроліз проводили з використанням термостату при температурі 120 °С і протягом 24 годин. Пробу фільтрували, переносили у фарфорову чашку та упарювали у суміші азоту для видалення хлористоводневої кислоти та встановлення рН у межах 1,6 - 2,0. Пробу фільтрували, відбирали 0,5 мл рідини та доводили до 2 мл буферним розчином з величиною рН 2,2. Проба сировини, яка досліджувалась в амінокислотному аналізаторі становила 50 мкл [70 - 74].

*Виділення, дослідження кількісного вмісту та мономерного складу полісахаридів.* Кількісний вміст фракцій полісахаридів в об'єктах дослідження встановлювали гравіметричним методом. Сировину для виділення полісахаридів попередньо висушували при кімнатній температурі та подрібнювали до розміру фракції 0,5 - 2,5 мм. З метою видалення ліпофільних фракцій сировину (50,0 г) екстрагували хлороформом в апараті Сокслета. З повітряно-сухого шроту, що залишився після трикратної екстракції фенольних сполук 70 % етанолом у співвідношенні 1:10, виділяли фракції водорозчинних полісахаридів (ВПС), пектинові речовини (ПР) та геміцелюлозу А (Гц А) та Б (Гц Б) [84 - 86].

Трикратну екстракцію ВПС здійснювали водою очищеною протягом 1 год при постійному перемішуванні у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10. Отримані витяжки фільтрували, об'єднували та концентрували на роторному випарювачі до 1/5 від початкового об'єму. Полісахариди осаджували 96 % етанолом у трикратному об'ємі і залишали у темному прохолодному місці на 24 год. Отриманий аморфний осад центрифугували протягом 5 хв зі швидкістю 4000 об/хв, промивали 96 % етанолом, висушували і зважували.

З шроту, що залишився після вилучення ВПС, екстрагували ПР 0,15 % розчином кислоти хлористоводневої у співвідношенні 1:10 протягом 1 години.

Одержану суміш фільтрували, додавали трикратну кількість 96 % етанолу і залишали у темному прохолодному місці на 24 год. Утворений осад ПР центрифугували зі швидкістю 4000 об/хв протягом 5 хв, промивали 96 % етанолом, висушували і зважували.

Гц виділяли зі шроту, що залишився після послідовного осадження ВРПС і ПР. Екстрагували 7 % розчином NaOH при кімнатній температурі у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 на апараті для струшування протягом 12 годин. Витяжку фільтрували, нейтралізували концентрованою оцтовою кислотою і залишали у темному прохолодному на 24 години. Утворений осад Гц А центрифугували зі швидкістю 4000 об/хв протягом 5 хв висушували і зважували. До утвореної надосадової рідини доливали трикратну кількість 96 % етанолу і залишали на 24 години. Осад Гц Б центрифугували зі швидкістю 4000 об/хв протягом 5 хв, висушували і зважували [87].

Вміст ВРПС, ПР, Гц А і Гц Б обчислювали за формулою:

$$X = \frac{m_1 \times 100 \times 100}{m_2 \times (100 - W)}$$

де  $X$  – вміст фракції полісахаридів, %;

$m_1$  – маса осаду, г;

$m_2$  – маса сировини, г;

$W$  – втрат масі при висушуванні, %.

Методом тонкошарової та паперової хроматографії після попереднього кислотного гідролізу фракцій полісахаридів встановлювали мономерний склад [88].

0,1 г отриманих фракцій полісахаридів розчиняли у 2 мл води очищеної і гідролізували рівним об'ємом 20 % розчину кислоти сульфатної при нагріванні на водяному нагрівнику. Повний гідроліз проходив протягом 5 годин. Гідролізат нейтралізували насиченим розчином барію гідроксиду. Розчини

фільтрували, фільтрати упарювали до сухого залишку і розчиняли у 0,5 мл 70 % етанолу [84 - 86].

Для виявлення кислих моносахаридів розчини хроматографували в системі розчинників:

- № 1 - *n*-бутанол-95 % етанол-0,1 % хлористоводнева кислота (1:10:5) в тонкому шарі сорбенту на пластинках “Sorbfil”.

- № 2 - етилацетат-оцтова кислота-мурашина кислота-вода очищена (18:3:1:4) методом хроматографії на папері марки “Filtrak FN-1”. Хроматограми висушували на повітрі, обробляли розчином анілінфталевого реактиву та нагрівали у сушильній шафі при 100 - 105 °С.

Для виявлення нейтральних моносахаридів отримані розчини наносили на лінію старту в тонкому шарі сорбенту на пластинках “Sorbfil” та на папір марки “Filtrak FN-1” в порівнянні з вірогідними зразками нейтральних моносахаридів в системах розчинників:

- № 3 - *n*-бутанол-оцтова кислота-вода очищена (3:1:1)

- № 4 - ізопропіловий спирт-25 % розчин аміаку (7:3)

- № 5 - *n*-бутанол-95 % етанол-вода очищена-25 % розчин аміаку (40:10:49:1)

- № 6 - *n*-бутанол-оцтова кислота-вода очищена (4:1:5)

*Дослідження елементного складу.* Дослідження вмісту мікро- та макроелементів проводили методом атомно-абсорбційної спектрометрії (ДФУ 2.0, Т.1 – 2.2.23). Аналіз проводили на спектрофотометрі С-115 ПК з атомізацією хімічних елементів у повітряно-ацетиленовому полум’ї. Паралельно проводили контрольний дослід. Суть методу полягає у визначенні хімічного елементу у досліджуваному зразку сировини шляхом вимірювання абсорбції електромагнітного випромінювання атомною парою елемента. Встановлення елементного складу проводили при довжинах хвиль, які відповідають резонансним лініям абсорбцій конкретних елементів. Кількість поглиненого випромінювання, згідно закону Бугера-Ламберта, пропорційна концентрації елемента, що визначається [89].

Підготовку проб сировини здійснювали методами сухого та мокрого (для Cd і Pb) озолення. Мокре озолення досліджуваних зразків сировини проводили шляхом додавання до 0,1 г повітряно-сухої сировини 10 % розчину калію біхромату і 5 - 10 мл сульфатної кислоти, кип'ятили до прозорості розчину і висушували в сушильній шафі. Сухе озолення зразків сировини проводили у муфельній печі при температурі  $525 \pm 25$  °C протягом 3 год. Вміст елементів визначали з одержаної золи. Калібрувальні графіки в інтервалі вимірюваних концентрацій елементів будували за допомогою стандартних проб розчинів солей металів (ICORM–23–27) [90 - 93].

*Визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин. Окиснювані поліфеноли.* Кількісне визначення окиснюваних фенолів проводили методом перманганатометричного титрування (метод Левенталя, змінений А. Л. Курсановим) [94].

Кількісний вміст окиснюваних фенолів (X, %) в перерахунку на абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{(V - V_1) \times 0,004157 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 25 \times (100 - W)}$$

де 0,004157 – кількість окиснюваних фенолів, яка відповідає 1 мл розчину калію перманганату (0,02 моль/л) (в перерахунку на танін), г;

$V$  – об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), витраченого на титрування, мл;

$V_1$  – об'єм розчину калію перманганату (0,02 моль/л), витраченого на титрування в контрольному досліді, мл;

$m$  – маса сировини, г;

$W$  – втрата в масі при висушуванні, %.

*Сума поліфенолів.* Кількісне визначення суми поліфенолів проводили спектрофотометрично в перерахунку на пірогалол за фармакопейною методикою (ДФУ 1.2 – фармакопейна стаття «Деревію трава») [95 - 97].



Наважку подрібненої сировини масою 0,5 г поміщали у круглодонну колбу місткістю 250 мл, додавали 150 мл води очищеної, нагрівали протягом 30 хв на водяному нагрівнику, охолоджували під проточною водою та кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу ополіскували водою очищеною, промивні водипереносили у мірну колбу і доводили об'єм розчину водою очищеною до мітки. Отриману витяжку фільтрували, відкидаючи перші 50 мл фільтрату.

Випробувальний розчин. Отриманий фільтрат ( 5 мл ) доводили водою очищеною до об'єму 25 мл. До 2 мл отриманого розчину додавали 1 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву і 10 мл води очищеної, отриману суміш доводили до об'єму 25 мл розчином натрію карбонату (290 г/л). Оптичну густину розчину вимірювали через 30 хв при довжині хвилі 760 нм, використовуючи компенсаційний розчин воду очищену.

Розчин порівняння. Безпосередньо перед випробуванням 50,0 мг пірогалолу розчиняли у воді очищеній і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. 5 мл отриманого розчину доводили водою очищеною до об'єму 100 мл.

До 2 мл отриманого розчину додавали 1 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву і 10 мл води очищеної. Отриману суміш доводили розчином натрію карбонату до об'єму 25 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину при довжині хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційний розчин воду очищену [95 - 98].

Вміст суми поліфенолів ( $X$ , %), у перерахунку на пірогалол, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{62,5 \times A_1 \times m_2}{A_0 \times m_1}$$

де  $A_0$  – оптична густина розчину порівняння;

$A_1$  – оптична густина випробуваного розчину;

$m_1$  – маса наважки сировини, мг;

$m_2$  – маса наважки пірогалолу, мг.

*Таніни.* Точну наважку подрібненої сировини поміщали у круглодонну колбу місткістю 250 мл, додавали 150 мл води очищеної, нагрівали протягом 30 хв на водяному нагрівнику, а далі за фармакопейною методикою – спектрофотометрично в перерахунку на пірогалол (ДФУ 2.0, Т.1 – 2.8.14) [95].

Вміст танінів ( $X$ , %), у перерахунку на пірогалол, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{62,5 \times (A_1 - A_2) \times m_2}{A_0 \times m_1}$$

де  $A_0$  – оптична густина розчину порівняння;

$A_1$  – оптична густина випробувального розчину;

$A_2$  – оптична густина випробувального розчину після додавання ФЗС шкірного порошку;

$m_1$  – маса наважки сировини, мг;

$m_2$  – маса наважки пірогалолу, мг.

*Флавоноїди.* Визначення суми флавоноїдів проводили на основі реакції із 3 % розчином алюмінію хлориду методом диференціальної УФ-спектрофотометрії у перерахунку на гіперозид (ДФУ 2.0, Т.1 – 2.2.25) [95, 99 - 101].

Точну наважку (1,0 г) подрібненої сировини поміщали в конвертики з фільтрувального паперу і проводили очищення хлороформом в апараті Сокслета до знебарвлення розчинника. Конвертики з досліджуваною сировиною висушували на повітрі, поміщали в круглодонну колбу зі шліфом місткістю 100 мл і екстрагували 70 % етанолом у співвідношенні 1:30 на водяному нагрівнику зі зворотнім холодильником протягом 30 хв при температурі кипіння розчинника. Витяжку фільтрували і переміщали в мірну колбу на 100 мл. Сировину екстрагували ще 2 рази в аналогічних умовах.

Об'єднані витяжки доводили екстрагентом до мітки і перемішували (розчин А) [99 - 101].

Випробуваний розчин. У мірну колбу місткістю 25 мл вносили 1 мл розчину А, додавали 1 мл 3 % розчину алюмінію хлориду у 70 % етанолі та доводили об'єм розчину 70 % етанолом до мітки (розчин Б).

Компенсаційний розчин. У мірну колбу місткістю 25 мл вносили 1 мл розчину А і доводили об'єм розчину 70 % етанолом до мітки.

Оптичну густина одержаних розчинів вимірювали на спектрофотометрі Spereord M 40 через 30 хв після приготування при довжині хвилі 380 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Для перерахунку вмісту суми флавоноїдів на гіперозид нами використано питомий показник поглинання ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ) комплексу гіперозиду з алюмінію хлоридом при 380 нм, який складає 512 [102].

Вміст флавоноїдів ( $X$ , %) у перерахунку на гіперозид і абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 25 \times 100 \times 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times m \times V \times (100 - W)}$$

де  $A$  – оптична густина випробуваного розчину;

25 – об'єм розчину Б, мл;

100 – об'єм розчину А, мл;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$  – питомий показник поглинання комплексу гіперозиду з алюмінію хлоридом при 380 нм, який складає 512;

$m$  – маса наважки сировини, г;

$V$  – об'єм розчину А, взятий для приготування розчину Б, мл;

$W$  – втрата в масі при висушуванні, %.

*Гідроксикоричні кислоти.* Кількісне визначення гідроксикоричних кислот проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на хлоргонову кислоту [95, 103, 104].

Наважку подрібненої сировини масою 2,0 г поміщали в колбу місткістю 200 мл і додавали 70 мл води очищеної. Колбу приєднували до зворотного холодильника та нагрівали на водяному нагрівнику протягом 15 хв. Екстракцію сировини проводили ще двічі, охолоджували і фільтрували крізь паперові фільтри. Витяжки кількісно переносили в мірні колби ємністю 200 мл і доводили об'єм розчинів водою до мітки [103 - 104].

Випробувальний розчин. У мірну колбу місткістю 25 мл вносили 1 мл витяжки, доводили об'єм 20 % етанолом до мітки та перемішували.

Оптичну густина отриманих розчинів вимірювали на спектрофотометрі Spereord M 40 при довжині хвилі 325 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Розчин порівняння. В якості розчину порівняння використовували 20 % етанол.

Вміст суми гідроксикоричних кислот ( $X$ , %) у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 200 \times 25 \times 100}{E_{1\text{ см}}^{1\%} \times m \times 1 \times (100 - W)}$$

де  $A$ — оптична густина досліджуваного розчину;

$m$ — наважка сировини, г;

$E_{1\text{ см}}^{1\%}$  — питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, який дорівнює 531;

$W$  — втрата в масі при висушуванні, %.

Кількісний вміст вітаміну  $K$  у досліджуваній сировині визначали спектрофотометричним методом. Пробу ЛРС подрібнювали до фракції, що проходять крізь сито № 10. Наважку сировини (0,5 г) поміщали в конічну колбу місткістю 100 мл та екстрагували тричі по 25 мл 70 % спиртом етиловим, нагріваючи на киплячому водяному нагрівнику 15 хв. Витяжки фільтрували та поміщали у колбу місткістю 100 мл так, щоб сировина не потрапила на фільтр, який промивали 10 мл 70 % спирту. У гарячий фільтрат додавали 4 мл розчину

свинцю ацетату 10 % і нагрівали на киплячому водяному нагрівнику 3 хв. Після коагуляції осаду суміш охолоджували та фільтрували у мірну колбу місткістю 100 мл, доводячи 70 % спиртом етиловим об'єм до мітки. 5 мл отриманого розчину переносили у мірну колбу місткістю 50 мл і доводили 70 % спиртом етиловим до мітки.

Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 260 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Паралельно вимірювали оптичну густину 1 % розчину вікасолу. Вміст вітаміну К ( $X$ , %) в перерахунку на вікасол розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \times 100 \times 50 \times 100}{420 \times m \times 5 \times (100 - W)}$$

де  $A$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$m$  – наважка ЛРС, в грамах;

420 – коефіцієнт питомого поглинання вікасолу в 70 % етиловому спирті;

$W$  – втрата в масі при висушуванні, у відсотках.

*Вільні органічні кислоти.* Визначення кількісного вмісту вільних органічних кислот здійснювали за фармакопейною методикою [94, 105, 106].

Сировину подрібнювали до розміру частинок, які проходять крізь сито з діаметром отворів 2,5 мм. Точну наважку сировини (5,0 г) поміщали у колбу об'ємом 250 мл та заливали 200 мл води очищеної. Протягом 2 год витяжку витримували на киплячому водяному нагрівнику; після цього охолоджували, фільтрували у мірну колбу об'ємом 250 мл, доводили її об'єм водою очищеною до мітки та перемішували. 10 мл отриманої витяжки поміщали у колбу об'ємом 500 мл, додавали 200 мл свіжоприготованої води очищеної, 1 мл 1 % спиртового розчину фенолфталеїну, 2 мл 0,1 % розчину метиленового синього та титрували розчином натрію гідроксиду (0,1 моль/л) до появи в піні бузково-червоного забарвлення [94, 105, 106].

Кількісний вміст вільних органічних кислот ( $X$ , %) в перерахунку на яблучну кислоту в абсолютно сухій сировині обчислювали за формулою:

$$X = \frac{V \times 0,0067 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 10 \times (100 - W)}$$

де  $0,0067$  – кількість яблучної кислоти, яка відповідає 1 мл розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), г;

$V$  – об'єм розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), витраченого на титрування, мл;

$m$  – маса сировини, г;

$W$  – втрата в масі при висушуванні, %.

*Аскорбінова кислота.* Кількісний вміст аскорбінової кислоти визначали за фармакопейною методикою [94, 95, 107, 108].

Наважку сировини масою 20,0 г поміщали у фарфорову ступку, додавали 5 г скляного порошку та розтирали до однорідної маси, поступово додаючи 300 мл води очищеної. Суміш настоювали протягом 10 хв, після чого фільтрували. В конічну колбу об'ємом 100 мл вносили 1 мл фільтрату, додавали 1 мл 2 % розчину кислоти хлористоводневої і 13 мл води очищеної, перемішували, титрували розчином натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту (0,001 моль/л) до появи рожевого забарвлення, яке не зникало протягом 30-60 с [94, 95, 107, 108].

Кількісний вміст аскорбінової кислоти ( $X$ , %) в перерахунку на абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{V \times 0,000088 \times 300 \times 100 \times 100}{m \times 1 \times (100 - W)}$$

де  $0,000088$  – кількість аскорбінової кислоти, яка відповідає 1 мл розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту (0,001 моль/л), г;

$V$  – об'єм розчину натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту (0,001 моль/л), витраченого на титрування, мл;

$m$  – маса сировини, г;

$W$  – втрата в масі при висушуванні, %.

*Дослідження гострої токсичності екстрактів.* Вивчення гострої токсичності досліджуваних екстрактів було проведено на білих нелінійних статевозрілих мишах-самцях масою 18 - 22 г, які були вирощені у віварії ІФНМУ та стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками.

Для визначення гострої токсичності використовували методику доклінічного вивчення нешкідливості лікарських засобів О.В. Стефанова [109].

Дослідження проведено в скороченому об'ємі, лише на одному виді тварин. Тварини були розділені на 3 груп по 6 тварин у кожній. Досліджувані екстракти вводили внутрішньошлунково. Тваринам першої та другої груп вводили водний та водно-спиртовий екстракти трави астранції великої, а тваринам третьої (контрольної) групи вводили розчинник (воду очищену). За тваринами спостерігали протягом 14 діб. На 15-ий день дослідження тварин виводили з експерименту методом цервікальної дислокації шийних хребців під ефірним наркозом.

Ступінь токсичності екстрактів оцінювали спостерігаючи за загальним станом тварин експериментальних груп, їх апетитом, динамікою зміни маси тіла, станом шерсті, зміною кольору шкіри та слизових оболонок, інтенсивністю та характером рухів, диханням, наявністю судом, летальністю.

Клас токсичності екстрактів визначали за загальноприйнятою класифікацією [109].

*Дослідження антиексудативної активності екстрактів.* Вивчення протизапальної активності досліджуваних екстрактів проводили на основі антиексудативної моделі запального набряку лап білих щурів [109].

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 180 – 250 г, які були розділені на 5 груп по 6 тварин у кожній. Запальний набряк

викликали за допомогою ін'єкції в асептичних умовах 0,1 мл 1 % розчину карагеніну під апоневроз підшви задньої лапи щура. Наявність запальної реакції констатували за зміною об'єму кінцівки онкометричним методом. Досліджувані екстракти вводили тваринам внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг за 1 год до та одразу після введення розчину карагеніну.

В якості референс-препаратів використовували диклофенак натрію – синтетичний нестероїдний протизапальний засіб в дозі ED<sub>50</sub> (8 мг/кг) та кверцетин – препарат рослинного походження з доведеною протизапальною активністю в умовно-ефективній дозі 5 мг/кг [109 - 110].

Вимірювання об'єму лапи щура здійснювали на початку дослідження, а також через 1 год, 3 год та 5 год після введення флогогенного агенту.

Ефективність впливу досліджуваних екстрактів оцінювали за їх здатністю пригнічувати розвиток набряку лап щурів в динаміці порівняно з тваринами контрольної групи та дією референс-препаратів.

Показник пригнічення запальної реакції обчислювали за формулою:

$$AA = \frac{\Delta V_k - \Delta V_d}{\Delta V_k} \times 100$$

де AA – антиексудативна активність, %;

$\Delta V_k$  – приріст об'єму набряклої лапи в контролі;

$\Delta V_d$  – приріст об'єму набряклої лапи в досліді.

*Дослідження бактеріостатичної активності екстрактів.* Для проведення дослідження бактеріостатичної активності екстрактів астранції великої використовували метод дифузії активної речовини в агар із застосуванням паперових дисків. Нанесення розчинів екстрактів та препаратів порівняння на паперові диски здійснювалось за методикою Чорномірдіка А. Б. [111 - 112].

Паперові диски насичували досліджуваними екстрактами в концентрації 5 мг. Поживним середовищем слугували 5 % кров'яний агар та добові бульйони



культур в суспензії щільністю 1 млрд. мікробних тіл на основі 1 % цукрового бульйону.

Посів здійснювали шляхом рівномірного нанесення 1 мл бактеріальної суспензії на поверхню 5 % кров'яного агару. Посіви інкубували при температурі 37 °С протягом 24 - 72 год в залежності від особливостей досліджуваної культури. Ступінь впливу досліджуваних екстрактів на мікроорганізми здійснювали шляхом вимірювання діаметру затримки росту мікроорганізмів навколо паперових дисків. В якості досліджуваних культур використовували грампозитивні (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*), грамнегативні (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) мікроорганізми та неспороносні бактерії (*Proteus vulgaris*) [111 - 112].

Для порівняння бактеріостатичної активності досліджуваних екстрактів використовували паперові диски, насичені антибіотиками: ампіциліном – 30 мкг/диск, олеандоміцином – 30 мкг/диск.

*Дослідження кровозупинних властивостей екстрактів.* Вивчення кровозупинної та ранозагоювальної дії екстрактів трави астранції великої було проведено на мурчаках, які були вирощені у віварії ІФНМУ та стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками. Тварин утримували на стандартному раціоні харчування у віварії за температури 22-23 °С з вільним доступом до їжі та води, режим утримання - "день-ніч". Всі тварини знаходилися у пластикових клітках з підстилкою, тварин кожної статі утримували окремо. До початку кожного з дослідів тварин переносили до лабораторного приміщення, де вони перебували на карантинному терміні впродовж 14 діб за аналогічних умов утримання.

Дослідження кровозупинної дії водних та водно-спиртових екстрактів трави астранції визначали за часом тривалості кровотечі (за методом Дюка).

Лінійну різану рану у мурчаків моделювали шляхом розрізу за допомогою скальпеля усіх шарів попередньо депільованої шкіри та м'язового шару на боковій поверхні живота. Стандартна різана рана мала розміри 2,5×0,3 см. Тварин поділили на 4 групи (по 6 тварин у кожній). Групи

характеризували наступним чином: 1 група - інтактний контроль; 2 група - тварини, яким відразу після моделювання різаної рани на ранову поверхню накладали марлеву серветку, складену у четверо, просочену перцю водяного екстрактом, 3 – 4 групи тварин, яким відразу після моделювання різаної рани на ранову поверхню накладали марлеву серветку, складену учетверо, просочену водним та водно-спиртовим екстрактом трави астранції великої відповідно. Визначення часу тривалості кровотечі проводили за умов спонтанної зупинки кровотечі відразу після пошкодження судин.

*Дослідження ранозагоювальних властивостей екстрактів.* У дослідах використовувались клінічно здорові мурчаки віком 3-5 місяців, масою тіла 250 – 400 г. Усі втручання проводили під місцевою анестезією з дотриманням вимог “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та для наукових цілей” (Страсбург, 1985) і ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

У досліді моделювали різану асептичну рану. Для цього тваринам під місцевою анестезією на депільованій ділянці шкіри стегна скальпелем робили надріз довжиною 25 мм та глибиною 5 мм. Було сформовано 4 групи мурчаків по 6 тварин у кожній: 1 група – контрольна, тваринам цієї групи не наносили жодного препарату, 2, 3 і 4 – дослідні зі змодельованими ранами, на які наносили препарати рослинного походження: водний екстракт астранції великої; водно-спиртовий екстракт астранції великої; рослинний препарат “Рекутан” відповідно. Упродовж 10 діб проводили планіметрію ран, оцінювали стан запальної реакції та визначали швидкість їх загоювання.

*Дослідження морфолого-анатомічних ознак.* Для дослідження використовували повітряно-суху та свіжозібрану і фіксовану у суміші гліцерин-спирт-вода (1:1:1) рослинну сировину. Вивчення ознак морфологічної будови сировини проводили за фармакопейними методами (ДФУ 2.0, Т.1 – 2.8.23) [89, 113].

Сировину розглядали неозброєним оком та за допомогою лупи ( $\times 10$ ) при денному освітленні. Анатомічні ознаки органів астранції великої вивчали на відпрепарованій епідермі та препаратах з поверхні під мікроскопами ЛОМО Р-1 (Росія) та REICHERTL.4 (Австрія) (окуляр –  $\times 7$ ,  $\times 10$ ,  $\times 15$ , об'єктиви –  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ). Отримані дані фіксували за допомогою фотографій, зроблених фотокамерою Canon A 720 IS.

*Дослідження запасів астранції великої* Ресурсознавчі дослідження включали виявлення місць зростання астранції великої та вивченню обсягу можливої щорічної заготівлі сировини. Опрацьовувались прийоми заготівлі, первинної обробки і сушіння трави астранції великої [114 - 115].

*Визначення числових показників доброякісності сировини.* Відбір проб ЛРС для проведення товарознавчого аналізу, визначення втрати в масі при висушуванні ЛРС, зольності та вмісту сторонніх домішок проводили за фармакопейними методиками (ДФУ 2.0, Т.1 – 2.8.20, 2.2.32, 2.8.1, 2.8.2) [89, 94].

*Обробка результатів дослідження за допомогою статистичних методів.* Для статистичної перевірки гіпотези про вірогідність розбіжностей між показниками різних груп користувались  $t$  – критерієм Стьюдента. Статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики, обчислюючи середню арифметичну величину, середню похибку арифметичної величини та достовірність різниць результатів (ДФУ 2.0, Т.1 – 5.3, 5.3.N1). Кількість повторень дослідів ( $n$ ) становить 3, 6, 9 [89, 116, 117].

РОЗДІЛ 3  
ВИВЧЕННЯ СКЛАДУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН  
АСТРАНЦІЇ ВЕЛИКОЇ

3.1 Дослідження якісного складу біологічно активних речовин

Виявлення груп БАР первинного (полісахариди, вільні цукри, амінокислоти, органічні кислоти) та вторинного (флавоноїди, кумарини, прості феноли, поліфеноли – таніни, сапоніни, кардіостероїди, алкалоїди) метаболізму проводили за допомогою реакцій ідентифікації [118, 119].

Результати реакцій виявлення БАР у траві астранції великої представлено у табл. 3.1.

*Таблиця 3.1*

**Результати ідентифікації БАР в траві астранції великої**

Група БАР	Реакція ідентифікації	Аналітичний ефект
1	2	3
Антраценпохідні	Реакція Чірха, Борнтрегера	Відсутній
Амінокислоти	0,1 % свіжоприготовлений розчин нінгідрину	Фіолетове забарвлення розчину
Алкалоїди	Кислота пікринова 1 %	Жовтий осад
	Розчин таніну 10 %	Утворюється помутніння
	Реактив Майєра	Утворюється помутніння
	Реактив Драгендорфа	Червоний осад
	Реактив Вагнера	Відсутній
	Реактив Зонненштейна	Відсутній
Аскорбінова кислота	Розчин натрію 2,6-дихлорфеноліндофеноляту	Червоно-коричнєве забарвлення
Вільні цукри	Мідно-тарtratний реактив	Червоно-коричневий осад
Водорозчинні полісахариди	96 % етанол	Пластинчасті згустки, що випадають осад
Кумарини	Лактонна проба	Помутніння розчину
Кумарини	Сульфанилова кислота діазотована	Коричнево-червоне забарвлення розчину

1	2	3
Кардіостероїди	Реакція Бальє, Келлера-Кіліані, Лібермана-Бурхарда	Не виявлено
Таніни	Розчин феруму (III) амонію сульфат	Чорно-зелене забарвлення розчину
	1 % розчин желатини і 10 % розчин кислоти хлористоводневої	Аморфний осад, який при надлишку желатину зникає
Сапоніни	Реакція Фонтан-Кандела	Висота піни в обох пробірках однакова
	Реакція піноутворення	Піноутворення
	Реакція з ацетатом свинцю	Утворення осаду
Флавоноїди	Ціанідінова проба	Рожеве забарвлення розчину
	2 % розчин натрію карбонату і 5 % розчин алюмінію хлориду	Жовте забарвлення розчину
	Ціанідінова реакція за Бріантом.	Більш інтенсивне забарвлення водної фази

Наведені результати (табл. 3.1) свідчать, що трава астранції великої містить такі речовини: флавоноїди, сапоніни, кумарини, таніни, а також кислоту аскорбінову, вільні цукри, водорозчинні полісахариди, алкалоїди та амінокислоти.

У результаті проведення реакцій ідентифікації БАР у траві астранції великої не виявлено антраценпохідних та кардіоглікозидів.

3.1.1 Хроматографічний аналіз БАР. Враховуючи результати виявлення груп БАР у траві астранції великої, доцільним є дослідження фенольних сполук рослини. Для ідентифікації фенольних сполук використали метод паперової хроматографії. Для цього 2,0 г сировини двічі екстрагували 96 % етанолом (1:10) та двічі – 70 % етанолом (1:10) на киплячому водяному нагрівнику зі зворотнім холодильником протягом 30 хв при температурі кипіння екстрагенту. Отримані спиртові екстракти об'єднували, фільтрували,

етанол відганяли, а водний залишок обробляли етилацетатом. Етилацетатні та водні фракції упарювали досуха, сухий залишок розчиняли у невеликій кількості 96 % і 70 % етанолу відповідно, наносили на хроматографічний папір марки «Filtrak FN-1» та вивчали методом одно- і двовимірної хроматографії в системах розчинників 15 % оцтова кислота і *n*-бутанол-оцтова кислота-вода очищена (4:1:2). Висушені хроматограми вивчали в УФ-світлі до та після їх обробки парами аміаку і 3 % спиртовим розчином алюмінію хлориду [64 - 66].

Характеристику виявлених фенольних сполук на хроматограмах наведено на рис. 3.1 - 3.2 та в табл. 3.2 - 3.3.

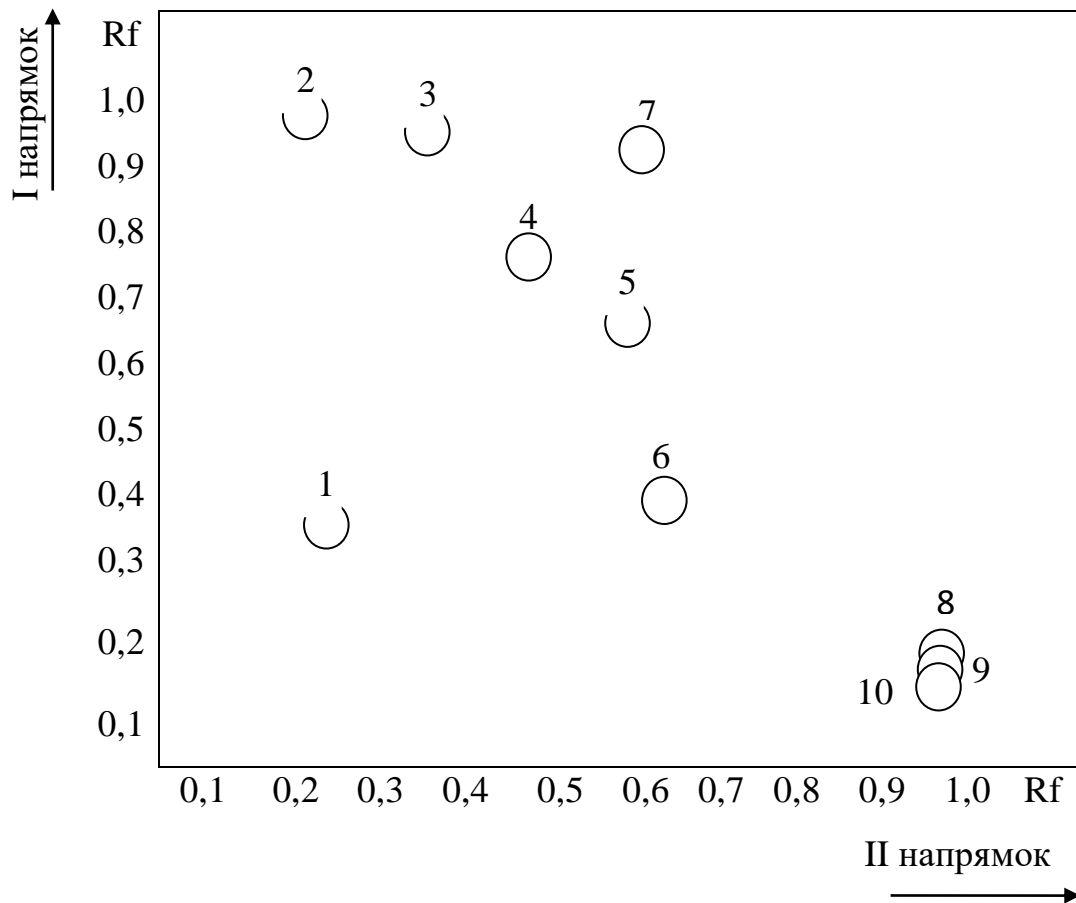


Рис. 3.1. Схема двовимірної хроматограми водної фракції фенольних сполук трави астранції великої. Система: 15 % кислота оцтова – I напрямком і *n*-бутанол-кислота оцтова-вода очищена (4:1:2)- II напрямком

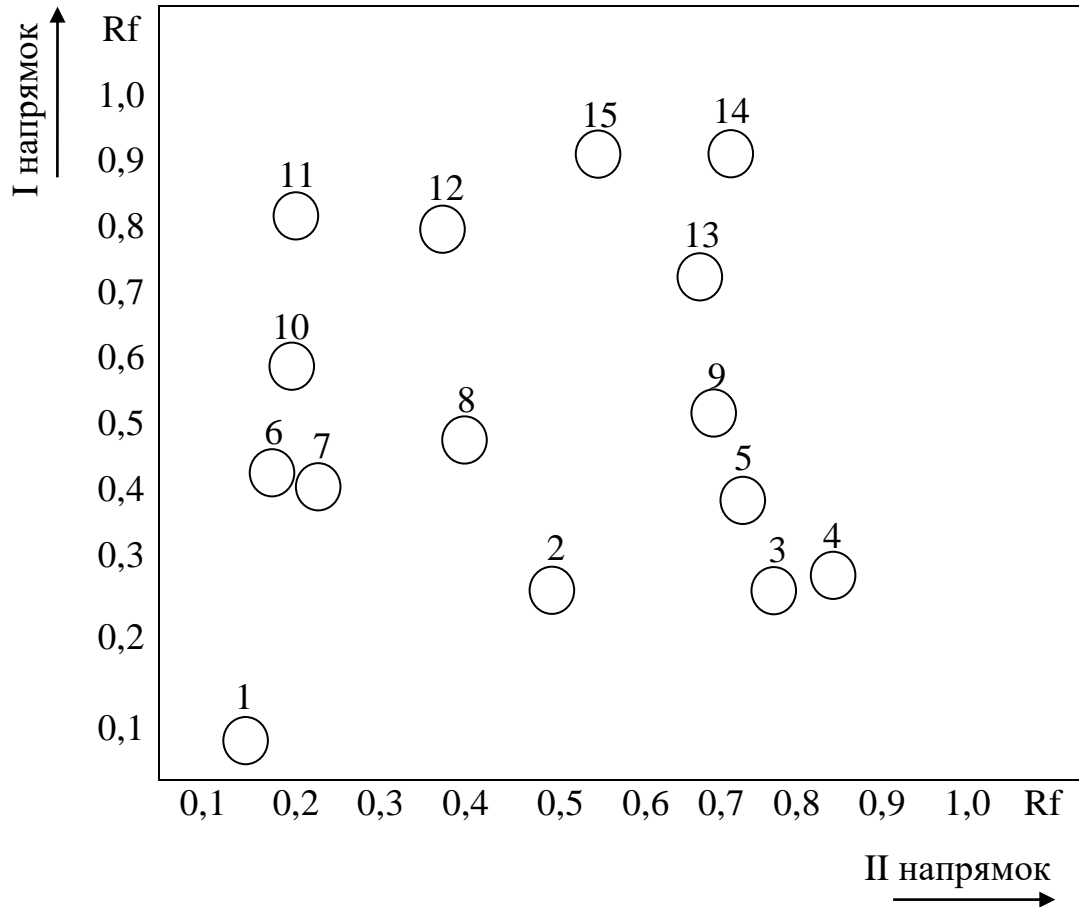


Рис. 3.2. Схема двовимірної хроматограми етилацетатної фракції фенольних сполук трави астранції великої. Система: I напрямок – 15 % кислота оцтова і II напрямок - *n*-бутанол-кислота оцтова-вода очищена (4:1:2)

Таблиця 3.2

**Хроматографічна характеристика фенольних сполук водної фракції астранції великої трави**

№ плями	Rf		Забарвлення плями у видимому світлі	Флуоресценція в УФ-світлі	Флуоресценція в УФ-світлі після обробки парами аміаку	Забарвлення плями у видимому світлі після обробки $AlCl_3$	Флуоресценція в УФ-світлі після обробки $AlCl_3$
	I напрямок 15% оцтовій кислоті	II напрямок БОВ (4:1:2)					
1	2	3	4	5	6	7	8
1	0,36	0,25	-	-	-	Коричнева	Темна

Продовж. табл. 3.2

1	2	3	4	5	6	7	8
2	0,97	0,24	-	Жовта	Жовта	Жовта	Жовта
3	0,95	0,37	-	Жовта	Жовта	Жовта	Жовтв
4	0,76	0,48	-	-	Жовта	Жовта	Жовта
5	0,67	0,59	-	-	-	Коричнева	Темна
6	0,42	0,62	-	-	-	Коричнева	Темна
7	0,97	0,63	-	Блакитна	Блакитна	Блакитна	Блакитна
8	0,16	0,96	-	Жовта	Жовта	Жовта	Жовта
9	0,11	0,97	-	Жовта	Жовта	Жовта	Жовта
10	0,06	0,97	-	Жовта	Жовта	Жовта	Жовта

Таблиця 3.3

**Хроматографічна характеристика фенольних сполук етилацетатної фракції астранції великої трави**

№ плями	Rf		Забарвлення плями у видимому світлі	Флуоресценція в УФ-світлі	Флуоресценція в УФ-світлі після обробки парами аміаку	Забарвлення плями у видимому світлі після обробки AlCl <sub>3</sub>	Флуоресценція в УФ-світлі після обробки AlCl <sub>3</sub>
	I напрямок 15% оцтової кислоти	II напрямок БОВ (4:1:2)					
1	2	3	4	5	6	7	8
1	0,08	0,14	-	-	-	-	Темна
2	0,26	0,5	Жовта	Жовта	Жовта	Жовта	Жовта
3	0,28	0,77	-	-	-	Жовта	Жовта
4	0,29	0,84	-	-	-	Жовта	Жовта
5	0,39	0,75	-	-	-	-	Темна
6	0,42	0,19	Жовта	Жовта	Жовта	Жовта	Жовта
7	0,39	0,23	Жовта	Жовта	Жовта	Жовта	Жовта



Продовж. табл. 3.3

1	2	3	4	5	6	7	8
8	0,5	0,4	-	-	-	-	Темна
9	0,53	0,7	-	-	-	-	Темна
10	0,58	0,21	-	-	-	-	Темна
11	0,81	0,19	-	-	-	-	Жовта
12	0,8	0,38	-	-	-	-	Жовта
13	0,72	0,72	-	-	-	-	Темна
14	0,92	0,71	-	Блакитна	Блакитна	Блакитна	Блакитна
15	0,92	0,59	-	Блакитна	Блакитна	Блакитна	Блакитна

На основі флуоресценції після обробки хроматограм хромогенними реактивами в УФ-світлі у астранції великої трави встановлено від 10 до 25 індивідуальних речовин, які за рухливістю віднесено до флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та метаболітів танінів.

*Виявлення органічних кислот хроматографічним методом.* Органічні кислоти відіграють важливу роль в обміні речовин рослин. Вони є проміжними продуктами оксидації вуглеводів, жирів, амінокислот і білків, а також використовуються в синтезі амінокислот, алкалоїдів і стероїдів. Органічні кислоти мають широкий спектр біологічної дії на організм людини. Вони сприяють зменшенню процесів нітрузування та зниженню хімічного канцерогенезу [67].

Для виявлення вільних та зв'язаних органічних кислот проводили екстракцію сумішшю ацетону та діетилового ефіру в підкисленому середовищі згідно пункту 2.4 (С. 55). Результати хроматографічного аналізу органічних кислот трави астранції великої наведені в табл. 3.4.

У результаті хроматографічного аналізу органічних кислот трави астранції великої в порівнянні з достовірними зразками після обробки реактивами вперше ідентифікували аскорбінову, щавелеву та лимонну кислоти.

**Хроматографічне дослідження органічних кислот  
астранції великої трави**

№ речовини	Назва кислоти	Величини Rf в системах розчинників		Забарвлення плям реактивом	
		1*	2*	Бромфеноловий синій	Дихлорфеноліндо фенолят натрію
1	Аскорбінова	0,32	0,37	Ясно-жовте (на синьому фоні)	Рожеве (на блакитному фоні)
2	Щавелева	0,54	0,4	Аналогічне	Аналогічне
3	Лимонна	0,88	0,7	Аналогічне	Аналогічне

Примітка. \* – система розчинників: 1 – *n*-бутанол-мурашина кислота-вода очищена (75:15:10); 2 – *n*-бутанол-оцтова кислота-вода очищена (4:1:5)

### 3.2 Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ

Лікарські препарати на основі фенольних сполук широко використовують як протимікробні, протизапальні, кровоспинні, сечогінні та гіпотензивні засоби. Більшість фенольних сполук рослинного походження малотоксичні та не проявляють побічних ефектів [120].

Для ідентифікації та кількісного визначення фенольних сполук трави астранції великої використовували метод високоефективної рідинної хроматографії.

Хроматографічне розділення гідроксикоричних кислот та апігеніну проводили на обернено-фазовій колонці C<sub>18</sub> з подальшою реєстрацією хроматограм за допомогою діодно-матричного УФ-детектора при довжині хвилі 320 нм та 330 нм, що дало можливість провести ідентифікацію не тільки за часом утримування, але й за характером спектру аналізованого компоненту.

Хроматограму гідроксикоричних кислот та апігеніну у траві астрації великої наведено на рис. 3.3 - 3.4. Результати досліджень в табл. 3.5.

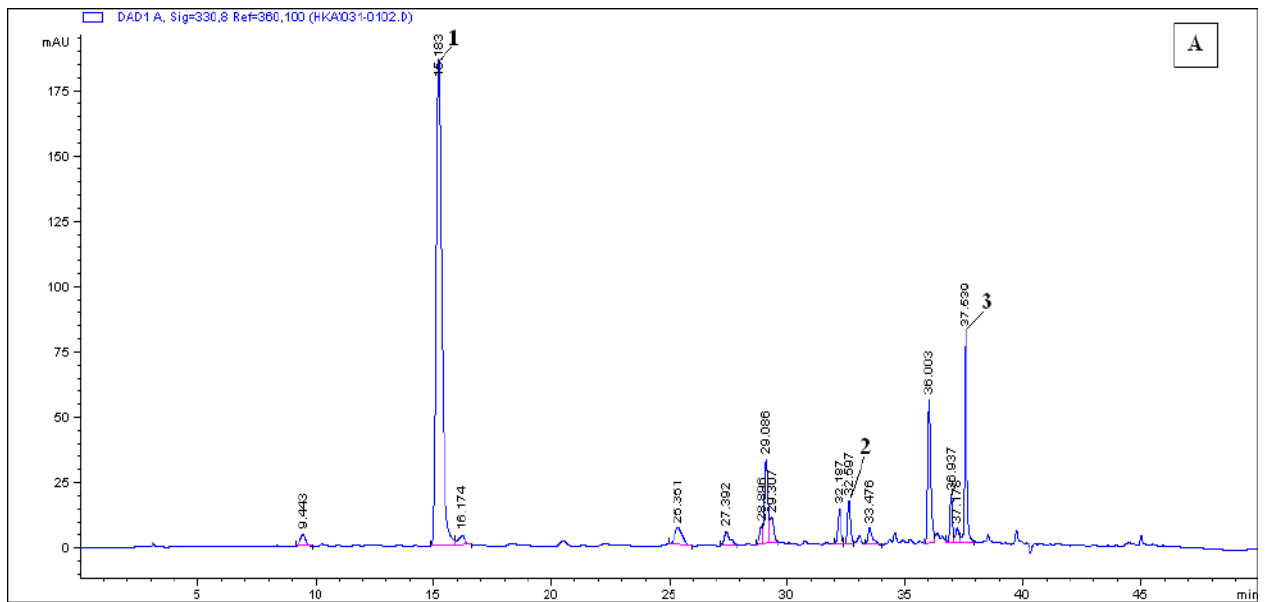


Рис. 3.3. Хроматограма гідроксикоричних кислот та апігеніну астрації великої трави при довжині хвилі 330 нм (1 – хлорогенова кислота, 2 – апігенін, 3 – розмаринова кислота)

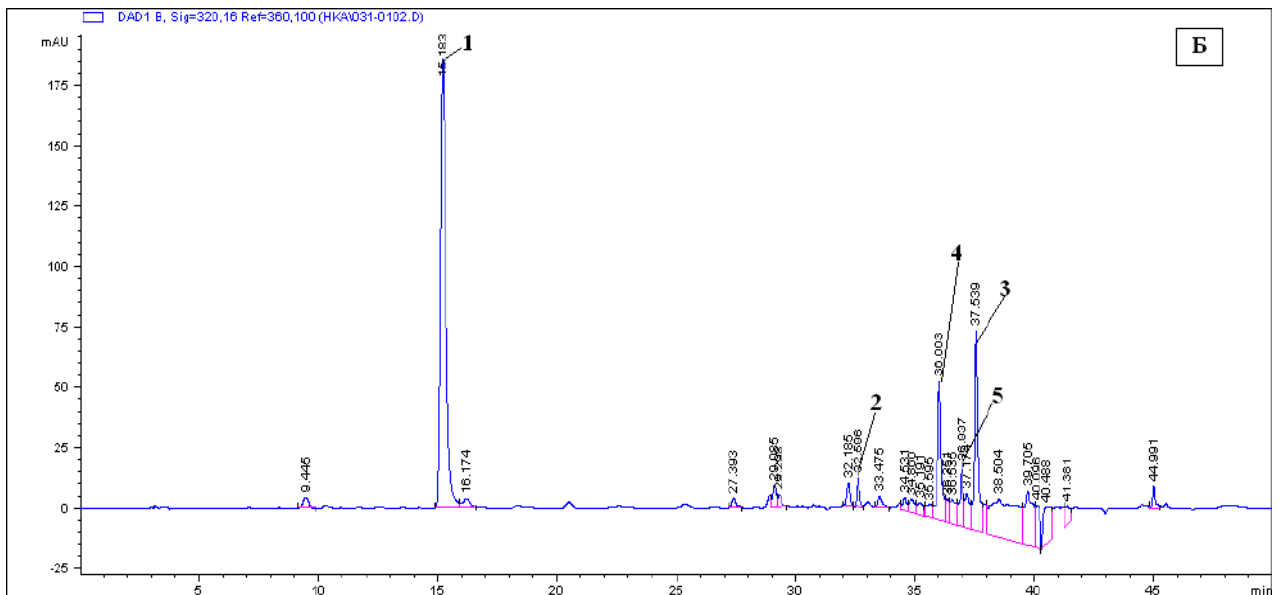


Рис. 3.4. Хроматограма гідроксикоричних кислот астрації великої трави при довжині хвилі 320 нм (1 – хлорогенова кислота, 2 – апігенін, 3 – розмаринова кислота, 4 – кофейна кислота, 5 – ферулова кислота)

## Гідроксикоричні кислоти та апігенін у астранції великої трави

Сполука	Час утримання, хв	Концентрація, мг/кг	Площа піку
Хлорогенова кислота	15,18	429,2	3089,96
Апігенін	32,59	27,96	411,08
Розмаринова кислота	37,53	104,34	619,47
Кофейна кислота	36,00	47,42	650,55
Ферулова кислота	36,93	23,25	281,23

Одержані результати вказують на те (табл. 3.5), що у траві астранції великої домінують хлорогенова кислота (1,02 %) та розмаринова кислота (0,24 %). Вміст кофейної кислоти становить 0,11 %, найменший вміст – ферулової кислоти (0,055 %). Вміст апігеніну у досліджуваній сировині складає 0,066 %.

Визначення флавоноїдів методом ВЕРХ полягає у розділенні компонентів проби та кількісному визначенні сполук. Хроматографічне розділення флавоноїдів проводили на обернено-фазовій колонці  $C_{18}$  з подальшою реєстрацією хроматограм за допомогою діодно-матричного УФ-детектора. Як рухому фазу використовували 0,005 N ортофосфору кислоту (елюент А) та ацетонітрил (елюент В) [77].

Хроматограму флавоноїдів у траві астранції великої наведено на рис. 3.5. Результати хроматографічного вивчення флавоноїдів у траві астранції великої представлено в табл. 3.6.

Результати досліджень (табл. 3.6) свідчать, що у траві астранції великої ідентифіковано та встановлено кількісний вміст гіперозиду (0,0045 %), рутину (0,18 %), лютеоліну (0,006 %), кверцетину (0,12 %), апігеніну (0,066 %) та ізокверцитрин (0,026 %).

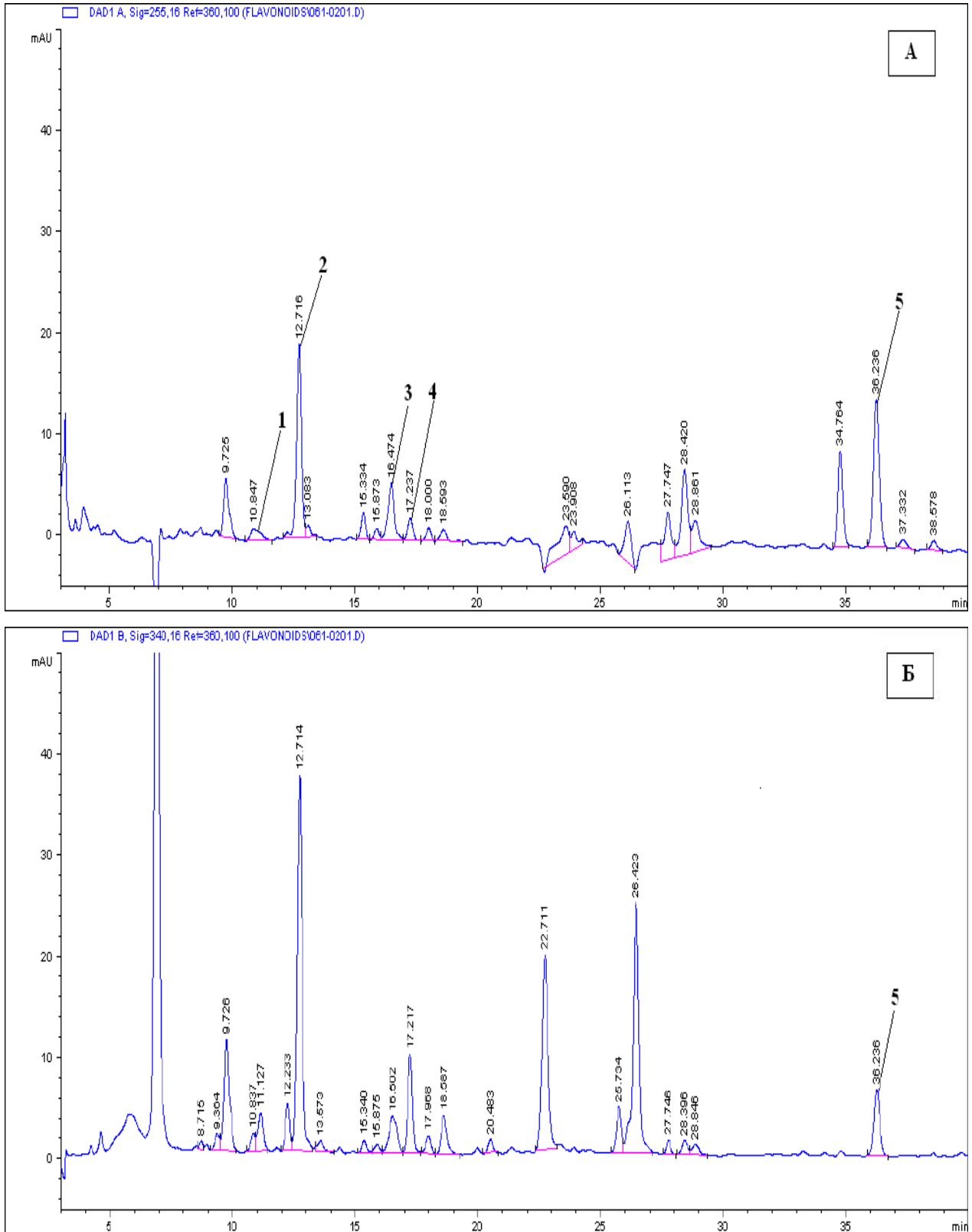


Рис. 3.5. Схема хроматограми флавоноїдів у астрагції великої трави: А – довжина хвилі 255 нм, Б – довжина хвилі 340 нм (1 – гіперозид, 2 – рутин, 3 – ізокверцитрин, 4 – лутеолін, 5 – кверцетин)

**Вміст флавоноїдів у астранції великої трави**

Сполука	Час утримання, Хв.	Концентрація, мг/кг	Площа піку
Гіперозид	10,84	3,84	40,50
Рутин	12,70	151,28	428,73
Ізокверцитрин	16,47	22,43	112,76
Лютеолін	17,22	5,54	37,52
Кверцетин	36,15	108,01	489,01

Хроматографічне визначення метаболітів танінів ґрунтується на реєстрації результатів на обернено-фазовій колонці  $C_{18}$  за допомогою діодно-матричного УФ-детектора методом оберненофазної хроматографії, використовуючи хроматографічну колонку Discovery  $C_{18}$  розміром  $250 \times 4,6$  мм із сорбентом: силікагель, модифікованим октадецильними групами, яка має діаметр зерен 5 мкм.

Метаболіти танінів реєстрували при різних довжинах хвиль, що дало можливість ідентифікувати їх не тільки за часом утримування, але й за характером спектра аналізованого компоненту.

Масову концентрацію метаболітів танінів розраховували за градуовальною характеристикою (залежність площі хроматографічного піка за довжини хвилі 280 нм від масової концентрації танінів у розчині підготовленої проби). Градуовальну характеристику будували від меншої концентрації до більшої. Масову частку кожного виявленого метаболіту танінів обчислювали з урахуванням маси наважки сировини та кінцевого об'єму проби [78].

Визначення вмісту метаболітів танінів проводили при довжині хвиль 280 та 255 нм (рис. 3.6, табл. 3.7).

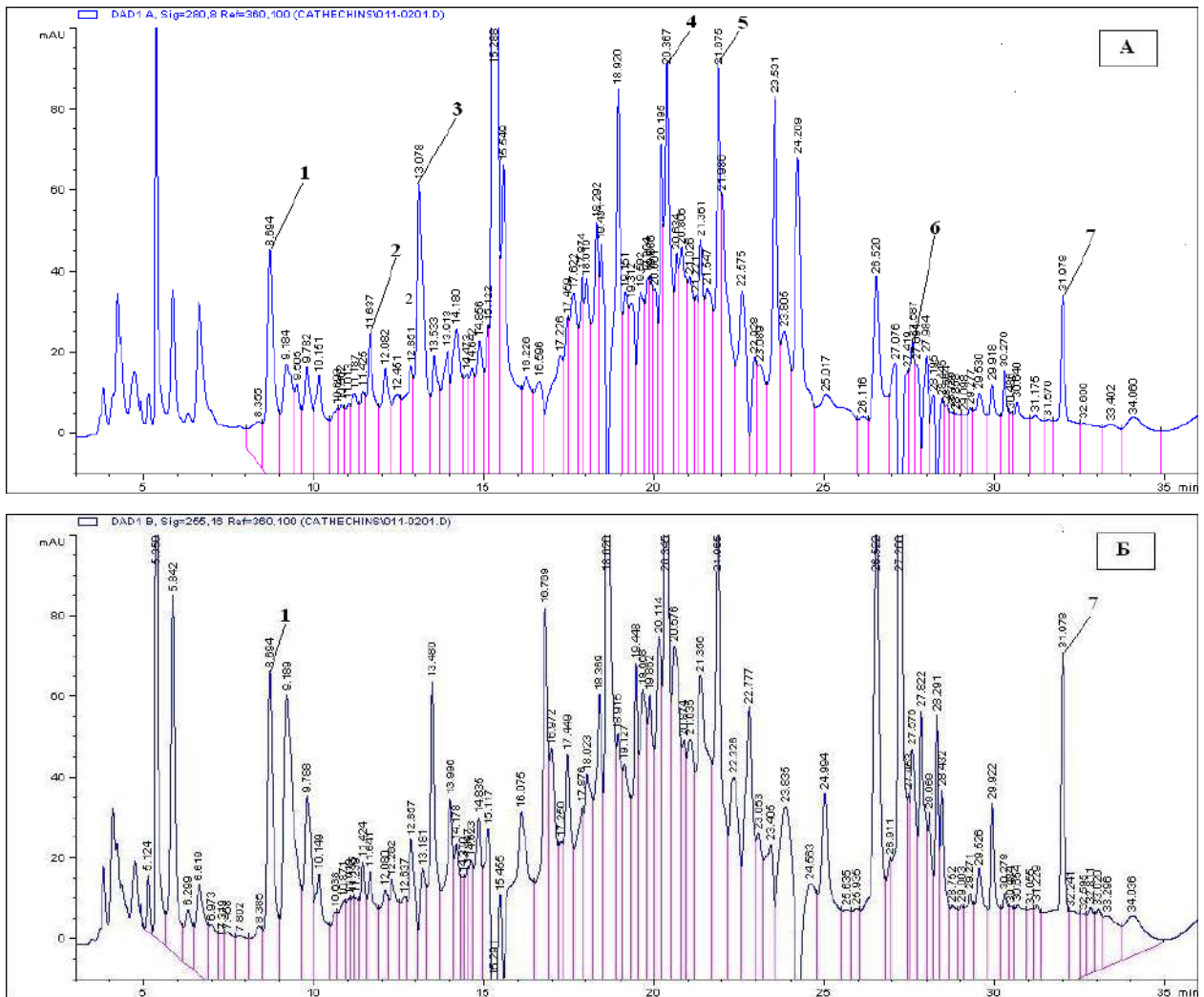


Рис. 3.6. Схема хроматограми метаболітів танінів трави астранції великої: А – довжина хвилі 280 нм, Б – довжина хвилі 255 нм (1 – галова кислота, 2 – галокатехін, 3 – епігалокатехін, 4 – катехін, 5 – епікатехін, 6 – епікатехіну галат, 7 – катехіну галат)

Таблиця 3.7

### Вміст метаболіти танінів у астранції великої трави

Сполука	Час утримання, хв	Концентрація, мг/кг	Площа піку
1	2	3	4
Галова кислота	8,694	56,53	1034,38

Продовж. табл. 3.7

1	2	3	4
Галокатехін	11,637	1085,54	774,75
Епігалокатехін	13,078	1635,87	608,33
Катехін	20,36	324,41	1191,14
Епікатехін	21,87	469,15	1676,29
Епікатехіну галат	27,58	40,84	427,68
Катехіну галат	31,97	117,19	1592,63
Елагова кислота	9,189	38,96	2339,17

Отримані дані (табл. 3.7) свідчать, що трава астранції великої вміщує такі метаболіти танінів: галову кислоту (0,035 %), галокатехін (0,668 %), епігалокатехін (1,553 %), катехін (0,614 %), епікатехін (0,315 %), епікатехіну галат (0,035 %), катехіну галат (0,072 %) та елагову кислоту (0,024%).

### 3.3 Дослідження полісахаридних фракцій астранції великої

Виявлення полісахаридів проводили реакцією осадження, використовуючи 96 % етанол *P* та реактив Фелінга після проведення їх кислотного гідролізу.

Визначення вмісту виділених фракцій полісахаридів здійснювали гравіметричним методом згідно пункту 2.4 (С. 61). Сировину для виділення полісахаридів попередньо висушували при кімнатній температурі, подрібнювали. Екстрагували 70 % етанолом з повітряно-сухого шроту для вилучення фенольних сполук. В результаті проведених досліджень із трави астранції великої були виділені ВРПС, ПР, Гц А, Гц Б.

Схема одержання фракцій полісахаридів з трави астранції великої наведена на рис. 3.7.



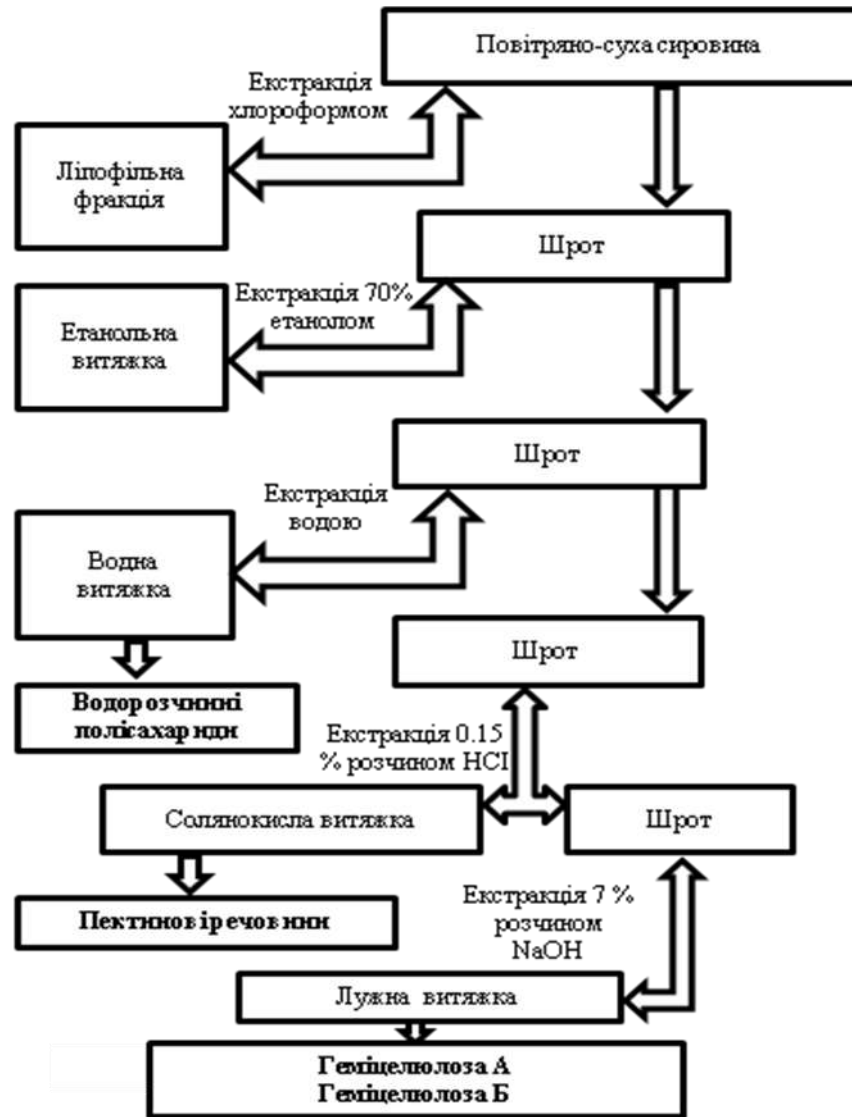


Рис. 3.7. Схема одержання фракцій полісахаридів з астранції великої трави

Результати визначення кількісного вмісту фракцій полісахаридів в траві астранції в великої наведені в табл. 3.8.

Таблиця 3.8

**Кількісний вміст полісахаридів у астранції великої трави.**

Кількісний вміст окремих фракцій, %			
$x \Delta \pm x, n = 3$			
ВРПС	ПР	Гц А	Гц Б
2,71 ± 0,12	1,59 ± 0,21	3,31 ± 0,18	5,31 ± 0,11

Отримані результати (табл. 3.8) вказують на те, що вміст ВПРС у траві астранції великої становить 2,71 %, пектинових речовин – 1,59 %, геміцелюлози А – 3,31 %, геміцелюлози Б – 5,31 %.

Вивчення моносахаридного складу полісахаридних комплексів проводили методом паперової та тонкошарової хроматографії після попереднього кислотного гідролізу фракцій згідно пункту 2.4 (С. 62). Результати досліджень моносахаридного складу полісахаридних комплексів у траві астранції великої наведено в табл. 3.9.

Таблиця 3.9

### Мономерний склад фракцій полісахаридів у астранції великої траві

Фракції полісахаридів	Систем Розчинників	Мономерний склад фракцій полісахаридів						
		Глюкоза	Арабіноза	Ксилоза	Рамноза	Фруктоза	Глюкуронова Кислота	Галактуоронова кислота
1	2	3	4	5	6	7	8	9
ВПРС	1	-	+	-	+	-	-	-
ПР		+	-	-	-	+	-	-
Гц А		-	-	-	-	-	-	+
Гц Б		-	-	-	-	+	-	+
ВПРС	2	+	-	-	-	-	-	-
ПР		+	-	-	-	+	-	+
Гц А		+	-	-	-	+	-	-
Гц Б		+	-	-	-	-	-	-
ВПРС	3	-	-	-	+	-	-	-
ПР		-	-	-	-	-	-	-
Гц А		-	-	-	-	+	-	-
Гц Б		-	+	+	-	-	-	-
ВПРС	4	-	-	-	-	-	-	-

Продовж. табл. 3.9

1	2	3	4	5	6	7	8	9
ПР	4	+	+	-	-	-	-	-
Гц А		-	+	-	+	-	-	-
Гц Б		-	+	+	-	-	-	-
ВПРС	5	+	-	-	-	-	-	-
ПР		+	-	-	-	-	-	-
Гц А		-	-	-	-	-	-	-
Гц Б		-	+	+	-	-	-	-
ВПРС	6	+	-	-	-	-	-	-
ПР		+	-	-	-	-	-	-
Гц А		-	-	-	-	-	-	-
Гц Б		+	-	-	-	-	-	-

Примітка.\* - склад систем розчинників наведено в розд. 2

На основі проведених досліджень (табл. 3.9) в траві астранції великої у фракціях ВПРС і ПР методом паперової і тонкошарової хроматографії ідентифіковані такі моносахариди як глюкоза, арабіноза, ксилоза, рамноза та фруктоза. До складу ВПРС входить глюкоза, арабіноза, рамноза; до складу ПР – глюкоза, фруктоза, арабіноза, галактуронова кислота; до складу Гц А – глюкоза, фруктоза, арабіноза, рамноза, галактуронова кислота; до складу Гц Б – глюкоза, арабіноза, ксилоза, фруктоза.

### 3.4 Встановлення амінокислотного складу

Самостійно організм може синтезувати 12 амінокислот, а інші 8 (треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, триптофан, фенілаланін, лізин) в організмі людини не синтезуються і тому отримали назву незамінні (есенціальні). Забезпечення організму людини цими амінокислотами відбувається за рахунок надходження їх із продуктами харчування, також у вигляді харчових добавок та лікарських препаратів. В організмі людини

амінокислоти відіграють важливе значення, оскільки кожна з них виконує свої особливі функції [122 - 123].

Потреба людини у білках задовільняється на 10 – 30 % тваринними білками, а на 70 – 90 % – рослинними. Тому актуальним питанням є пошук та вивчення рослин, які містять достатню кількість амінокислот.

Якісний склад амінокислот в досліджуваних об'єктах визначали за допомогою висхідної паперової хроматографії в системах розчинників *n*-бутанол-оцтова кислота-вода (4:1:2), *n*-бутанол-оцтова кислота-вода (18:2:5) на папері марки "Filtrak FN-1".

Хроматографічне дослідження вільних амінокислот у траві астранції великої проводили згідно пункту 2.4 (С. 56).

Схема хроматограм амінокислот астранції великої наведена на рис. 3.8 та рис. 3.9.

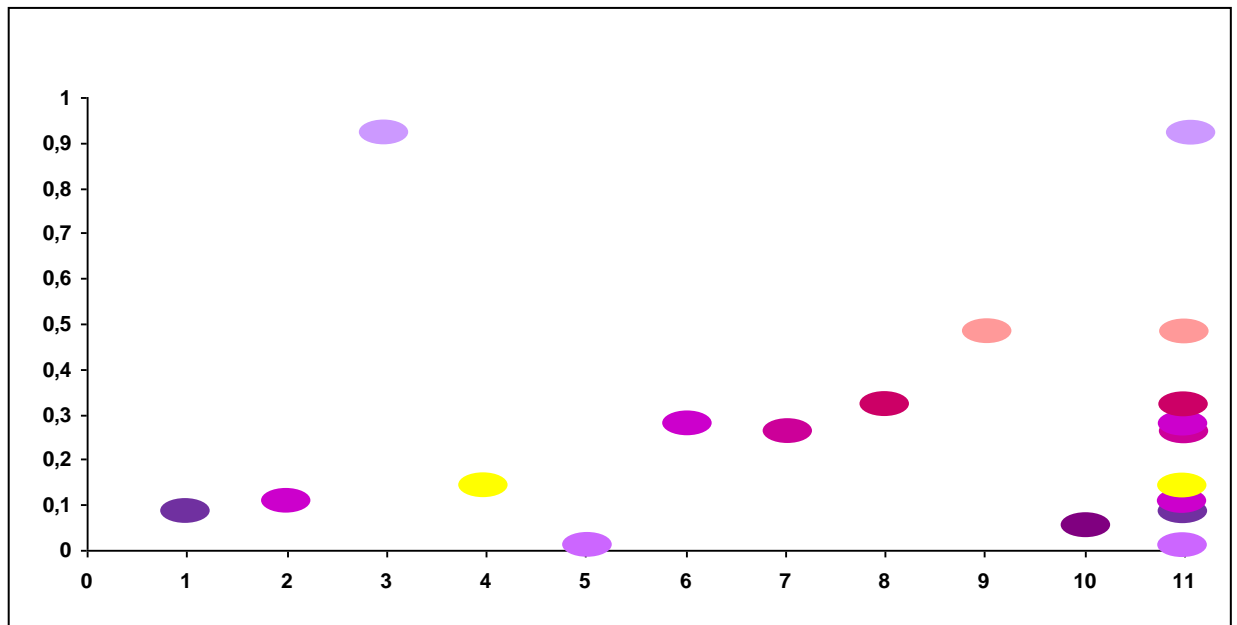


Рис. 3.8. Схема одновимірної хроматограми амінокислот астранції великої трави. Система розчинників *n*-бутанол-оцтова кислота-вода очищена (4:1:2): 1 – аланін, 2 – треонін, 3 – фенілаланін, 4 – пролін, 5 – цистеїн, 6 – валін, 7 – серин, 8 – метіонін, 9 – аспаргінова кислота, 10 – глютамінова кислота; 11 – водна витяжка астранції великої.

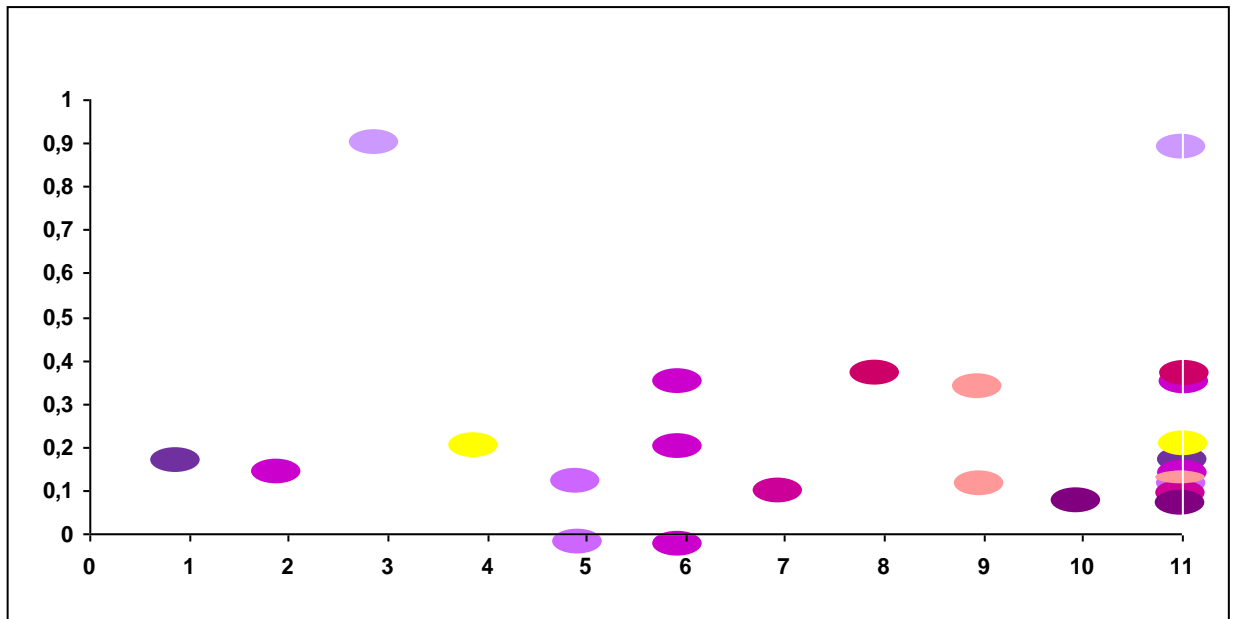


Рис. 3.9. Схема одновимірної хроматограми амінокислот астранції великої трави. Система розчинників *n*-бутанол-оцтова кислота-вода очищена (18:2:5): 1 – аланін, 2 – треонін, 3 – фенілаланін, 4 – пролін, 5 – цистеїн, 6 – валін, 7 – серин, 8 – метіонін, 9 – аспаргінова кислота, 10 – глютамінова кислота; 11 – водна витяжка астранції великої.

Дослідження якісного та кількісного вмісту амінокислот у сировині здійснювали за допомогою амінокислотного аналізатора ААА Т-339 М (Чехія).

Результати дослідження якісного складу та кількісного вмісту суми зв'язаних та вільних амінокислот у досліджуваній сировині представлено на рис. 3.10 та 3.11.

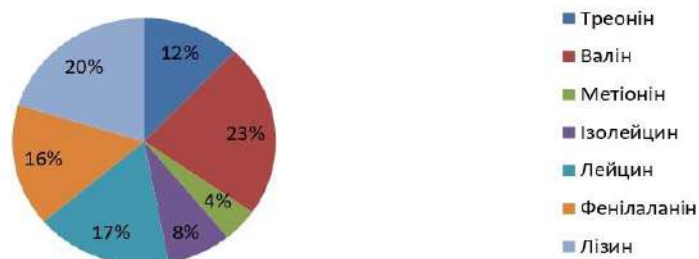


Рис. 3.10. Діаграма кількісного вмісту (мг/100 г) незамінних амінокислот у астранції великої трави

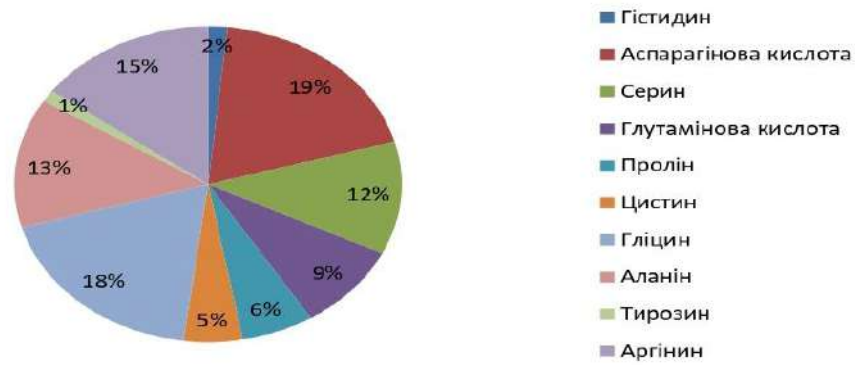


Рис. 3.11. Діаграма кількісного вмісту (мг/100 г) заміennих амінокислот у астранції великої трави

Аналіз результатів (рис. 3.10 - 3.11) свідчить, що трава астранції великої вміщує 17 амінокислот. Серед виявлених амінокислот 7 незамінних: треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін і лізин; 3 умовно незамінних: тирозин, гістидин, аргінін; 7 заміennих: гліцин, аланін, серин, аспарагінова та глутамінова кислоти, пролін, цистин. Домінуючими амінокислотами для трави астранції великої є аспарагінова кислота (13,08 мг/100 г), гліцин (12,75 мг/100 г), аргінін (10,25 мг/100 г), аланін (9,15 мг/100 г), серин (7,95 мг/100 г). Загальна сума амінокислот у траві астранції великої становить 102,94 мг/100 г [124, 125].

### 3.5 Встановлення елементного складу

Важливим джерелом мінеральних речовин є лікарські рослини, в яких макро- та мікроелементи нагромаджуються у вигляді комплексів у найсприятливішому співвідношенні основних компонентів, у найбільш доступній і засвоюваній формі для організму людини.

Відомостей про елементний склад *Astrantia major* L. за даними доступних джерел наукової літератури не виявлено. Враховуючи важливість мінералів для нормального функціонування організму людей і тварин, встановлення якісного складу та кількісного вмісту макро- та мікроелементів в сировині *Astrantia major* є актуальним.

Визначення якісного складу та кількісного вмісту макро- та мікроелементів проводили згідно пункту 2.4 (С. 63).

Принцип методу базується на явищі поглинання світла вільними атомами хімічних елементів. Поглинаючи світло, атоми переходять з одного стаціонарного стану з енергією  $E_1$  в інше, з енергією  $E_2$ . Для кожного хімічного елемента існують визначені енергетичні стани і довжини хвиль, при яких спостерігається атомне поглинання. У атомно-абсорбційній спектрофотометрії використовують резонансні переходи атомів з незбудженого у збуджений стан на певній довжині хвилі поглинання. У якості атомізатора використовують полум'я або електричну дугу.

В досліджуваних об'єктах було встановлено наявність 6 мікроелементів (Fe, Zn, Mn, Cu, Pb, Cd) та 3 макроелементів (K, Ca, Mg), визначено їх кількісний вміст. Результати визначення макро- та мікроелементного складу досліджуваних об'єктів наведено на рис. 3.12 - 3.13.

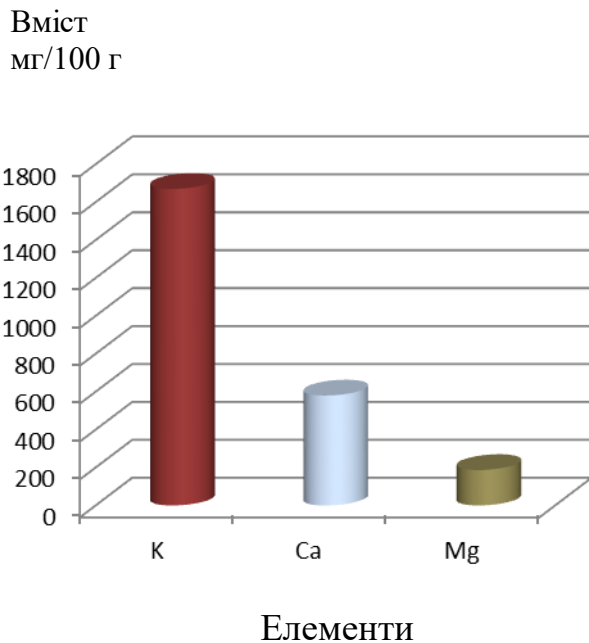


Рис. 3.12. Діаграма кількісного вмісту (мг/100 г) макроелементів у астрагції великої трави

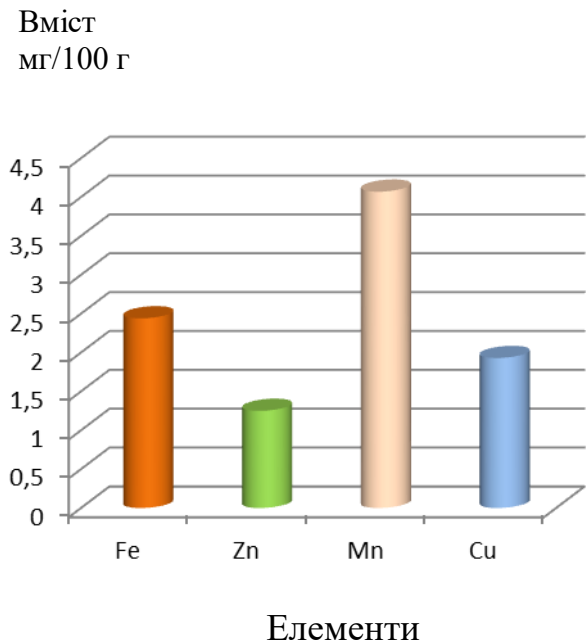


Рис. 3.13. Діаграма кількісного вмісту (мг/100 г) мікроелементів у астрагції великої трави

Результати досліджень (рис. 3.12 - 3.13) свідчать, що у траві астранції великої кількісний вміст мікро- та макроелементів становить: Ca (580 мг/100 г), Mg (187 мг/100 г), K (1670 мг/100 г), Cu (1,93 мг/100 г), Mn (4,07 мг/100 г), Zn (1,25 мг/100 г), Fe (2,44 мг/100 г) [126].

Серед макроелементів трава астранції великої характеризується найвищим вмістом K (1670 мг/100 г), а серед мікроелементів – Mn(4,07 мг/100 г) (рис. 3.12 - 3.13).

Вміст Cd та Pb знаходяться в межах допустимих концентрацій згідно з вимогами Державної фармакопеї України (ДФУ 2) для препаратів рослинного походження.

### 3.6 Визначення фітостеролів трави астранції великої.

Ідентифікацію та кількісне визначення стероїдних сполук проводили методом газової хроматографії/мас-спектрометрії (ГХ/МС) згідно з пунктом 2.4 (С. 57).

Компоненти ідентифікували з використанням бібліотеки маспектрів у поєднанні із програмами для ідентифікації AMDIS та NIST. Кількісний вміст стероїдів визначали за методом внутрішнього стандарту.

Результати дослідження якісного та кількісного вмісту фітостеролів у досліджуваній сировині представлено в табл. 3.10. та на рис. 3.14.

*Таблиця 3.10*

#### **Вміст фітостеролів у астранції великої трави**

Сполуки	Час утримання, хв	Концентрація, мг/кг	Площа Піку
Кампестерол	21,76	18,76	0.54
γ-Ситостерол	22,56	437,17	7.85
Стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол	22,71	Сліди	1.09



Отримані дані (табл. 3.10) свідчать, що трава астранції великої вміщує значну кількість  $\gamma$ -ситостеролу (437,17 мг/кг), невелику кількість кампестеролу (18,76 мг/кг) і сліди стигмаста-5,24(28)-дієн-3-олу.

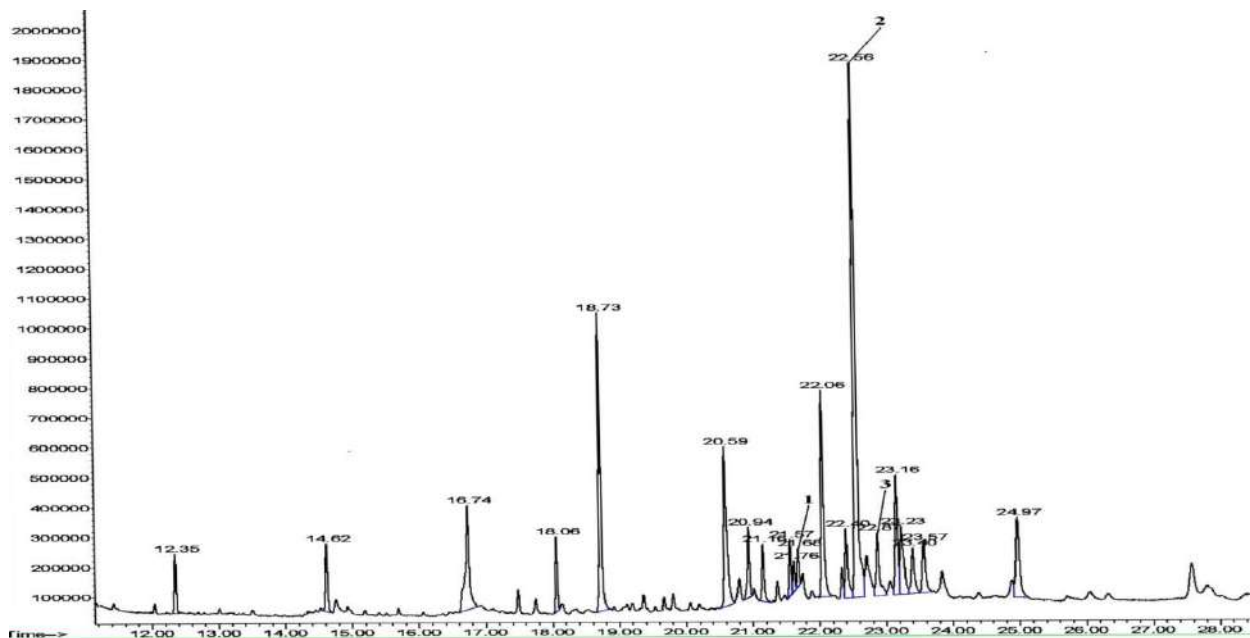


Рис. 3.14. Хроматограма фітостеролів астранції великої трави: 1 - кампестерол, 2 –  $\gamma$ -ситостерол, 3 – стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол

### 3.7 Визначення летких сполук трави астранції великої.

Якісний склад та вміст (мг/кг) летких сполук визначали хромато-мас-спектрометричним методом згідно з пунктом 2.4 (С. 56).

Для ідентифікації компонентів отримані спектри розглядали на основі загальних закономірностей фрагментації молекул органічних сполук під дією електронного удару, а також шляхом порівняння отриманих результатів з даними бібліотек мас-спектрів NIST 05 и WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів більш 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST. Результати досліджень летких сполук представлені на рис. 3.15 та в табл. 3.11.

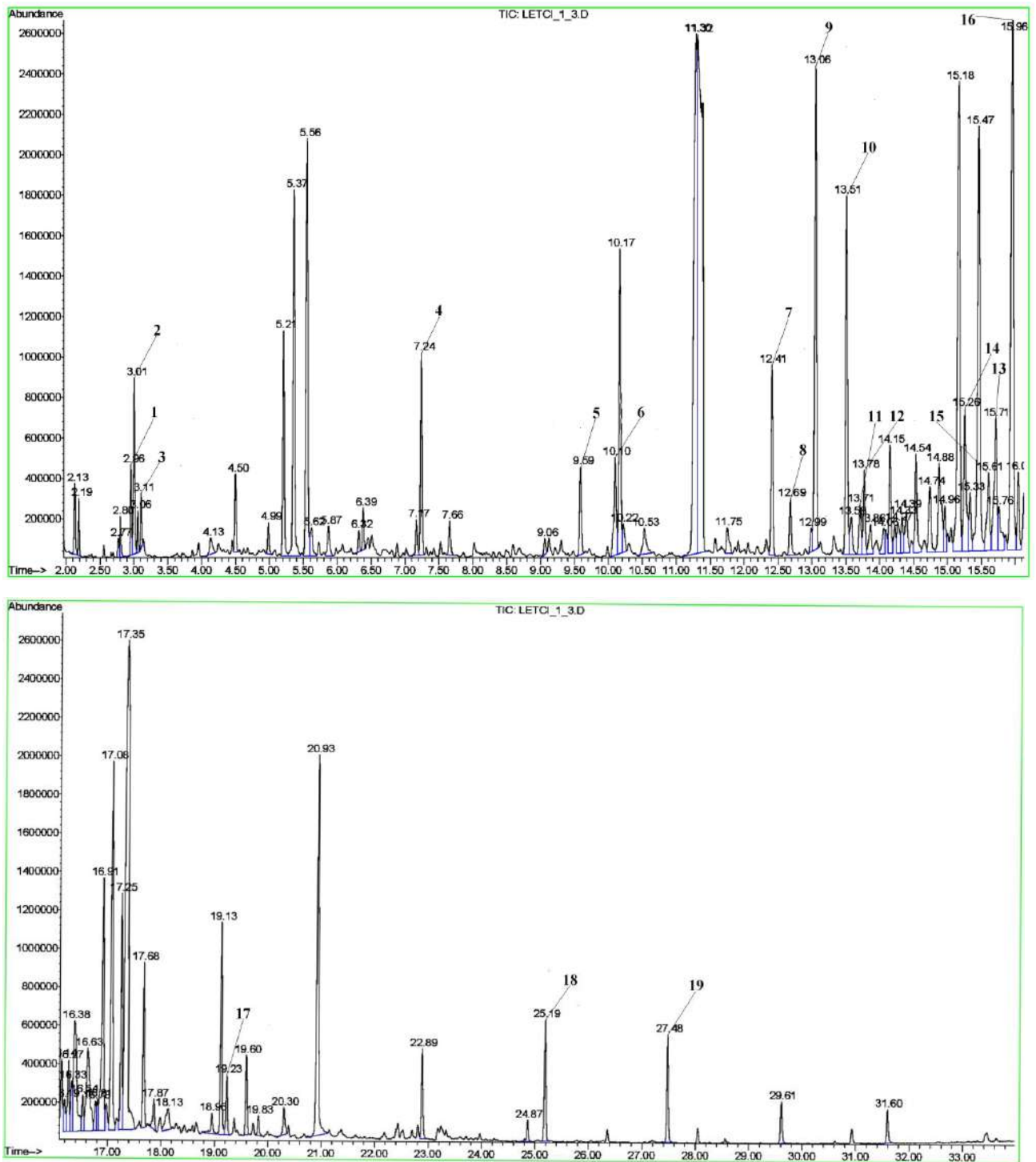


Рис. 3.15. Схема хроматограми летких сполук астрагції великої трави: 1 – 3-гептанон, 2 – 2-гептанон, 3 – 2-гептанол, 4 – вербенол, 5 - 1,2-диметил-1,4-циклогексадієн, 6 – тимол, 7 – каріофілен, 8 – *транс- $\alpha$* - бергамотен, 9 –  $\beta$ - фарнезен, 10 – гермакрен *D*, 11 -  $\alpha$ - фарнезен, 12 – біциклогермакрен, 13 – спатуленол, 14 – каріофілену оксид, 15 – ісоледен, 16 – каларен., 17 – гексагідрофарнезилацетон, 18 – гептадекан, 19 – нонадекан.

Таблиця 3.11

## Ідентифіковані леткі сполуки астранції великої трави

Номер піку	Назва речовини	Час утримання, хв	Концентрація, мг/кг	Площа піка
1	3-Гептанон	2,96	7,74	0,4
2	2-Гептанон	3,01	18,35	0,93
3	2-Гептанол	3,11	4,57	0,42
4	Вербенол	7,24	27,70	1,36
5	1,2-Диметил-1,4-циклогексادیєн	9,59	13,03	0,61
6	Тимол	10,10	19,79	0,96
7	Каріофілен	12,41	29,38	1,44
8.	<i>Транс-<math>\alpha</math>- бергамотен</i>	12,69	9,06	0,49
9	$\beta$ -Фарнезен	13,06	82,24	4,15
10	Гермакрен D	13,51	60,39	2,55
11	$\alpha$ -Фарнезен	13,71	9,51	0,46
12	Біциклогермакрен	13,78	13,27	0,65
13	Спатуленол	15,71	32,64	1,91
14	Каріофілену оксид	15,26	30,44	1,39
15	Ісоледен	15,61	17,87	0,75
16	Каларен	15,96	121,08	5,75
17	Гексагідро-фарнезилацетон	19,23	10,71	0,52
18	Гептадекан	25,19	20,53	1,00
19	Нонадекан	27,48	18,90	0,93
Всього			547,19	

У летких сполуках трави астранції великої (табл. 3.11.) виявлено 50 компонентів, з яких 19 з вірогідністю співпадіння з даними бібліотеки мас-спектрів 90 % і вище: 3-гептанон, 2-гептанон, 2-гептанол, вербенол,

1,2-диметил-1,4-циклогексидієн, тимол, каріофілен, *транс- $\alpha$* - бергамотен,  $\beta$ -фарнезен, гермакрен *D*,  $\alpha$ -фарнезен, біциклогермакрен, спатуленол, каріофілену оксид, ісоледен, каларен, гексагідрофарнезилацетон, гептадекан, нонадекан [127].

### 3.8 Встановлення жирнокислотного складу

Дослідження проводили на хроматографі Agilent Technologies 6890 з маспектрометричним детектором 5973 з капілярною колонкою HP-5ms (діаметр 0,25 мм, довжина – 30 м). Компоненти ідентифікували з використанням бібліотеки маспектрів у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST.

Результати досліджень представлено на рис. 3.16. та в табл. 3.12.

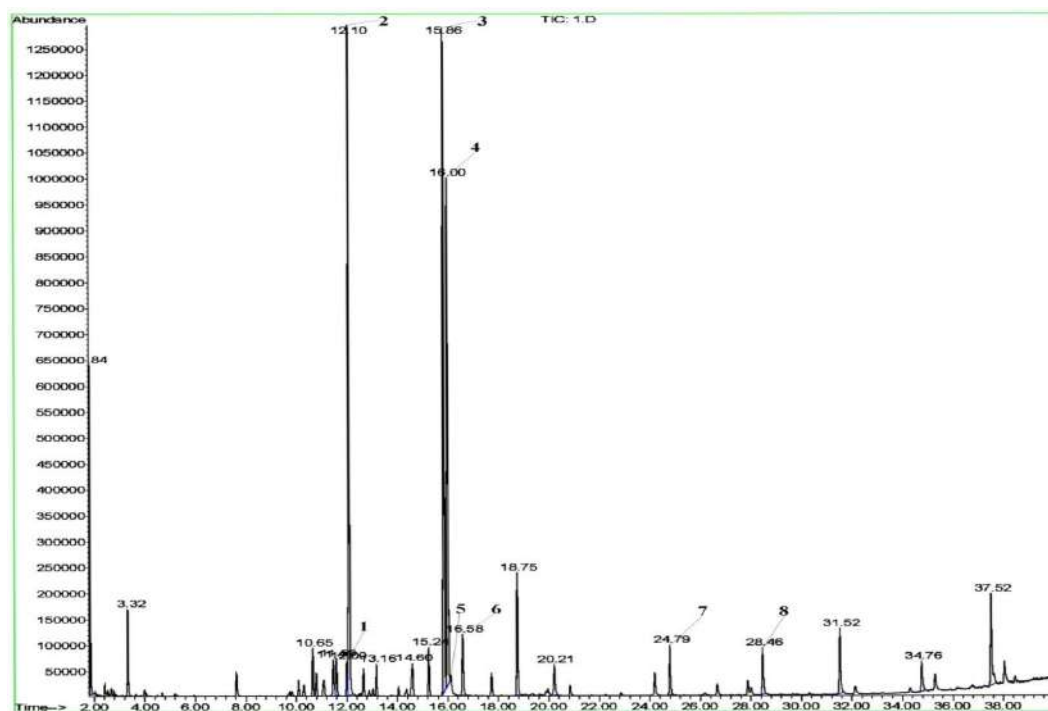


Рис. 3.16. Схема хроматограми метилових естерів жирних кислот астранції великої трави: 1 –пальмітолеїнова, 2 – пальмітинова, 3 – лінолева, 4 – 6,9,12-октадекатриєнова, 5 – рицинова, 6 – стеаринова, 7 – бегенова, 8 – лігноцеринова.

Таблиця 3.12

**Вміст жирних кислот в астранції великої трави**

Кислота	Час утримання, хв	Концентрація, мг/кг	Площа піку
Пальмітолеїнова	12,00	141,62	0,79
Пальмітинова	12,10	3597,20	20,67
Лінолева	15,86	3737,30	21,79
Ліноленова	16,00	229,58	17,97
Олеїнова	16,12	Сліди	0,73
Стеаринова	16,58	27,88	1,93
Бегенова	24,79	279,03	1,63
Лігноцеринова	28,47	290,51	1,74
Разом		8303,12	

Отримані дані (табл. 3.12) свідчать, що трава астранції великої містить 0,83 % жирних кислот. Серед них домінують пальмітинова (43,32 % від суми жирних кислот), ліноленова (45,01 % від суми жирних кислот). Вміст ненасичених кислот складає 4108,5 мг/кг, а вміст насичених кислот складає 4194,6 мг/кг.

3.9 Кількісне визначення вмісту біологічно активних речовин у досліджуваній сировині

Характерною особливістю представників рослинного світу є їх здатність до синтезу та накопичення біологічно активних речовин. Вони поєднують у собі низьку токсичність з високою фармакологічною активністю, тому широко використовуються в медичній практиці як засоби для лікування різноманітних захворювань. Важливим етапом стандартизації лікарської рослинної сировини є встановлення якісних і кількісних характеристик БАР [75, 128, 129].

3.9.1 Сума поліфенолів. Важливою групою сполук вторинного синтезу є поліфеноли, які мають високий антиоксидантний і протизапальний потенціал завдяки наявності вільних гідроксильних груп у молекулах [130].

Для кількісної оцінки суми поліфенолів трави астранції великої використовували спектрофотометричний метод в перерахунку на пірогалол [131]. Результати дослідження наведено в табл. 3.13.

Таблиця 3.13

**Кількісний вміст суми поліфенолів в сировині астранції великої**

Вид сировини	Трава	Листки	Стебла	Квітки
Вміст суми поліфенолів, %	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, n = 9$			
	7,65 ± 0,2	7,25 ± 0,14	3,47 ± 0,11	4,88 ± 0,14

Результати проведених досліджень (табл. 3.13) показали, що максимальний вміст суми поліфенолів знаходиться в траві астранції великої і становить 7,65 %.

Метрологічна характеристика методу кількісного визначення суми поліфенолів в траві астранції великої наведена в табл. 3.14.

Таблиця 3.14

**Метрологічна характеристика методу кількісного вмісту суми поліфенолів в траві астранції великої**

F	S <sup>2</sup>	S	P	t(P,f)	Кількісний вміст	E, %
9	0,048470797	0,0734	0,95	2,78	7,65 ± 0,2	2,66

3.9.2 Визначення вмісту флавоноїдів. Флавоноїди виявляють високу біологічну активність завдяки наявності у молекулі активних фенольних гідроксильних та карбонільних груп, які у ході різних біохімічних модифікацій

беруть участь у ряді фізіологічних процесів та виявляють широкий спектр фармакологічної активності [132].

Для кількісного визначення суми флавоноїдів використовували спектрофотометричний метод з розрахунком кількісного вмісту в перерахунку на гіперозид [133]. Результати дослідження наведено в табл. 3.15.

Таблиця 3.15

### Кількісний вміст флавоноїдів в сировині астранції великої

Вид сировини	Трава	Листки	Стебла	Квітки
Вміст флавоноїдів, %	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, n = 9$			
	5,36 ± 0,20	5,09 ± 0,17	3,67 ± 0,10	4,31 ± 0,10

За результатами дослідження (табл. 3.15) встановлено, що кількісний вміст флавоноїдів у сировині астранції великої коливався від 3,67 % до 5,36 %. Максимальну кількість флавоноїдів вміщує трава астранції великої 5,36 %.

Метрологічна характеристика методу кількісного визначення флавоноїдів в траві астранції великої наведена в табл. 3.16.

Таблиця 3.16

### Метрологічна характеристика методу кількісного вмісту флавоноїдів в траві астранції великої

F	S <sup>2</sup>	S	P	t(P,f)	Кількісний вміст	E, %
9	0,048139778	0,0731	0,95	2,78	5,36 ± 0,20	3,7907

3.9.3 Гідроксикоричні кислоти. Кислоти гідроксикоричні – речовини фенольної будови, що широко розповсюджені в рослинному світі. Гідроксикоричні кислоти, за даними літератури, проявляють різні види

фармакологічної активності: антиоксидантну, антирадикальну, протівірусну, імуностимулювальну, гіпоазотемічну, антибластомну, антибактеріальну, протизапальну [134].

Для кількісного визначення гідроксикоричних кислот використовували спектрофотометричний метод з розрахунком кількісного вмісту в перерахунку на хлорогенову кислоту [135]. Результати дослідження наведено в табл. 3.17.

Таблиця 3.17

**Кількісний вміст гідроксикоричних кислот в сировині  
астранції великої**

Вид сировини	Трава	Листки	Стебла	Квітки
Вміст	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, n = 9$			
гідроксикоричних кислот, %	5,51 ± 0,10	6,41 ± 0,12	1,60 ± 0,07	4,51 ± 0,10

Проведені дослідження свідчать (табл. 3.17) про значне накопичення гідроксикоричних кислот в досліджуваній сировині: трава - 5,51 %, листки - 6,41 %, стебла – 1,6 % та квіти – 4,51 %. Найбільшу кількість гідроксикоричних кислот вміщують листки астранції великої.

Метрологічна характеристика методу кількісного визначення гідроксикоричних кислот в траві астранції великої наведена в табл. 3.18.

Таблиця 3.18

**Метрологічна характеристика методу кількісного вмісту  
гідроксикоричних кислот в траві астранції великої**

F	S <sup>2</sup>	S	P	t(P,f)	Кількісний вміст	E, %
9	0,013721111	0,039	0,95	2,78	5,51 ± 0,10	1,9697



3.9.4 Визначення вмісту органічних кислот та аскорбінової кислоти. Значне поширення органічних кислот у рослинах визначає їх роль. Даний клас БАР може значно впливати на процеси життєдіяльності рослин, зокрема брати участь у процесах метаболізму завдяки близькому метаболічному зв'язку із жирами, вуглеводами та білками. Органічні кислоти також є одними із елементів фотосинтезу та можуть бути прекурсорами для подальшого синтезу інших БАР [136].

Визначення вмісту вільних органічних кислот проводили за фармакопейною методикою [94]. Результати дослідження наведено в табл. 3.19.

Таблиця 3.19

**Кількісний вміст органічних кислот та аскорбінової кислоти в сировині астранції великої**

Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 9	Вид сировини			
	Трава	Листки	Стебла	Квіти
Сума органічних кислот	2,84 ± 0,03	2,91 ± 0,1	1,09 ± 0,07	2,68 ± 0,08
Аскорбінова кислота	0,159 ± 0,006	0,154 ± 0,006	0,173 ± 0,0005	0,154 ± 0,006

В результаті проведених досліджень (табл. 3.19) встановлено, що загальна кількість органічних кислот в сировині астранції великої знаходиться в межах 1,09 – 2,91 %. Максимальний вміст органічних кислот знаходиться в листках (2,91 %), а аскорбінової кислоти у траві (0,159 %) астранції великої.

Метрологічна характеристика методу кількісного визначення суми органічних кислот та аскорбінової кислоти в траві астранції великої наведена в табл. 3.20 - 3.21.

Таблиця 3.20

**Метрологічна характеристика кількісного вмісту суми органічних кислот у траві астранції великої**

F	S <sup>2</sup>	S	P	t(P,f)	Кількісний вміст	E, %
9	0,001469444	0,0128	0,95	2,78	2,84 ± 0,03	1,24

Таблиця 3.21

**Метрологічна характеристика кількісного вмісту аскорбінової кислоти у траві астранції великої**

F	S <sup>2</sup>	S	P	t(P,f)	Кількісний вміст	E, %
9	0,000048500	0,0023	0,95	2,78	0,159 ± 0,006	4,05

3.9.5 Філохінон (вітамін К<sub>1</sub>). Визначення кількісного вмісту вітаміну К<sub>1</sub> проводили спектрофотометричним методом в перерахунку на вікасол. Об'єктами дослідження були трава, листки, стебло та квітки астранції великої.

Результати визначення кількісного вмісту вітаміну К в сировині астранції великої наведені в табл. 3.22.

Таблиця 3.22

**Кількісний вміст вітаміну К<sub>1</sub> у сировині астранції великої**

Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 9	Вид сировини			
	Трава	Листки	Стебла	Квітки
Вітамін К	0,23 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,24 ± 0,01

Метрологічна характеристика результатів кількісного визначення вмісту вітаміну К у траві астранції великої наведена в табл. 3.23.

Таблиця 3.23

**Метрологічна характеристика кількісного вмісту  
вітаміну К в траві астранції великої**

F	S <sup>2</sup>	S	P	t(P,f)	Кількісний вміст	E, %
9	0,000125	0,0037	0,95	2,78	0,23 ± 0,01	4,0545

Отримані дані (табл. 3.22) вказують, що вміст вітаміну К<sub>1</sub> у сировині астранції великої становить від 0,22 % до 0,26 %. Зокрема, найнижчим вмістом вітаміну К<sub>1</sub> характеризується стебло астранції великої (0,22 %), а найвищим - листки астранції великої (0,26 %).

3.9.6 Окиснювані поліфеноли. Застосування окиснюваних поліфенолів є дуже перспективним, адже вони мають здатність зупиняти кровотечу [137]. Для кількісної оцінки окиснюваних поліфенолів сировини астранції великої використовували перманганатометричний метод. Результати досліджень наведено в табл. 3.24.

Таблиця 3.24

**Кількісний вміст окиснюваних поліфенолів в сировині  
астранції великої**

Вид сировини	Трава	Листки	Стебла	Квітки
Вміст окиснюваних поліфенолів, %	$\bar{x} \pm \Delta x, n = 9$			
	6,92 ± 0,27	6,73 ± 0,11	4,18 ± 0,2	5,03 ± 0,18

За результатами дослідження (табл. 3.24) встановлено, що максимальну кількість окиснюваних поліфенолів вміщує трава астранції великої 6,92 %.

Метрологічна характеристика результатів кількісного визначення окиснюваних поліфенолів в траві астранції великої наведена в табл. 3.25.

*Таблиця 3.25*

**Метрологічна характеристика методу кількісного вмісту окиснюваних поліфенолів в траві астранції великої**

F	S <sup>2</sup>	S	P	t(P,f)	Кількісний вміст	E, %
9	0,086286111	0,097	0,95	2,78	6,92 ± 0,27	3,92

3.10 Дослідження вмісту груп біологічно активних речовин в залежності від органогенезу рослини.

Ріст, розвиток і формування рослини є важливими показниками, які характеризують біологічні особливості і ступінь адаптації рослин до абіотичних чинників довкілля. Дані показники визначають методом багаторічного вивчення проходження рослиною фенологічних фаз розвитку впродовж вегетаційного періоду, терміни яких характеризують їх ритмічність відповідно до кліматичних умов району поширення рослини. На підставі візуальних спостережень розробляються науково – практичні рекомендації з розмноження та вирощування рослин. Тому доцільно визначити залежність накопичення БАР в різні фази органогенезу рослини.

Кількісне визначення біологічно активних речовин проводили в траві астранції великої. Було кількісно визначено та вивчено залежність накопичення біологічно активних речовин в різні фази органогенезу рослини.

Результати кількісного визначення БАР трави астранції великої в різні фази вегетації наведені в табл. 3.26.

## Накопичення БАР у астранції великої траві в залежності від органогенезу рослини

Фази вегетації	Вміст БАР, %, $\bar{x} \pm \Delta x$ , n = 9					
	Сума окиснюваних поліфенолів	Гідроксикоричні Кислоти	Флавоноїди	Аскорбінова кислота	Сума органічних кислоти	Вітамін К
Початок відростання	3,20 ± 0,17	2,00 ± 0,18	1,73 ± 0,20	0,02 ± 0,01	0,27 ± 0,03	0,07 ± 0,09
Масове відростання	5,10 ± 0,09	4,00 ± 0,17	2,11 ± 0,09	0,04 ± 0,01	0,81 ± 0,02	0,13 ± 0,09
Бутонізація	5,97 ± 0,14	4,10 ± 0,14	3,12 ± 0,12	0,09 ± 0,02	1,22 ± 0,03	0,16 ± 0,09
Початок цвітіння	6,40 ± 0,07	5,00 ± 0,10	4,34 ± 0,08	0,10 ± 0,01	2,27 ± 0,03	0,18 ± 0,09
Масове цвітіння	7,65 ± 0,21	6,12 ± 0,11	5,12 ± 0,21	0,15 ± 0,01	2,84 ± 0,03	0,23 ± 0,01
Плодоношення	6,75 ± 0,20	5,88 ± 0,14	4,01 ± 0,14	0,12 ± 0,01	2,12 ± 0,03	0,13 ± 0,01
Відмирання надземної частини	1,68 ± 0,17	1,91 ± 0,12	1,12 ± 0,11	0,03 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,05 ± 0,01

Отримані результати досліджень (табл. 3.26), вказують, що вміст різних груп БАР у траві астранції великої суттєво відрізняється в залежності від фази вегетації рослини. Найбільший вміст БАР накопичується у сировині, заготовленій у фазу масового цвітіння, а найменший - у фазу відмирання надземної частини. Отримані результати досліджень вказують на доцільність заготівлі трави астранції великої у фазу масового цвітіння.

## ВИСНОВКИ

1. В результаті фітохімічного аналізу сировини астранції великої встановлено наявність метаболітів танінів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, вітаміну К<sub>1</sub>, амінокислот, аскорбінової кислоти, органічних кислот, мікро- та макроелементів.

2. В результаті проведеного хроматографічного аналізу за допомогою амінокислотного аналізатора в траві астранції великої визначено 17 амінокислот, вміст суми вільних і зв'язаних амінокислот становить 31,23 мг/100 г. Серед виявлених амінокислот 7 незамінних: треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін і лізин. Домінуючими амінокислотами для трави астранції великої є аспарагінова кислота (13,08 мг/100 г), гліцин (12,75 мг/100 г), аргінін (10,25 мг/100 г), аланін (9,15 мг/100 г), серин (7,95 мг/100 г). Загальна сума амінокислот у траві астранції великої становить 102,94 мг/100 г.

3. Встановлено вміст груп БАР в сировині астранції великої. Хроматографічно ідентифіковано та встановлено кількісний вміст флавоноїдів: гіперозиду (0,0045 %), рутину (0,18 %), лютеоліну (0,006 %), кверцетину (0,12 %), апігеніну (0,066 %) та ізокверцетрину (0,026 %); гідроксикоричних кислот: хлорогенової (1,02 %), розмаринової (0,24 %), кофейної (0,11 %) та ферулової кислот (0,055 %); визначено компоненти дубильних речовин: галова кислота (0,035 %), галокатехін (0,668 %), епігалокатехін (1,553 %), катехін

(0,614 %), епікатехін (0,315 %), епікатехіну галат (0,035 %), катехіну галат (0,072 %) та елагова кислота (0,024 %).

4. Досліджено вміст мікро- та макроелементів, який становить: Ca (580 мг/100 г), Mg (187 мг/100 г), K (1670 мг/100 г), Cu (1,93 мг/100 г), Mn (4,07 мг/100 г) Zn (1,25 мг/100 г), Fe (2,44 мг/100 г). Серед макроелементів трава а. великої характеризується найвищим вмістом K (1670 мг/100 г), а серед мікроелементів – Mn (4,07 мг/100 г).

5. З трави астранції великої одержано фракції полісахаридів: ВРПС 2,71 %, пектинові речовини – 1,59 %, геміцелюлоза А – 3,31 %, геміцелюлози Б – 5,31 %, в яких виявлено глюкозу, фруктозу, ксилозу, рамнозу, арабінозу та галактуронову кислоту. У траві астранції великої найбільше міститься Гц Б – 5,31 %, дещо менше Гц А – 3,31 %, потім ВРПС – 2,71 % і найменше ПР 1,59 %.

6. Вперше методом ГХ-МС ідентифіковано та кількісно визначено вміст стероїдних сполук. Трава астранції великої вміщує значну кількість  $\gamma$ -сітостеролу (437,17 мг/кг), невелику кількість кампестеролу (18,76 мг/кг) і сліди стигмаста-5,24(28)-дієн-3-олу.

7. Вперше в траві астранції великої виявлено 50 летких сполук, з яких 19 ідентифіковано. Встановлено, що домінуючими є сесквітерпеноїди каларен (121,08 мг/кг) та  $\beta$ -фарнезен (82,24 мг/кг).

8. Кількісно визначено вміст біологічно активних речовин у траві астранції великої та встановлено, що найвищий вміст діючих речовин в досліджуваній сировині спостерігається у фазі масового цвітіння рослини.

Матеріали даного розділу висвітлено у публікаціях [125 – 127].

## РОЗДІЛ 4

### ВИДІЛЕННЯ КОМПЛЕКСІВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН АСТРАНЦІЇ ВЕЛИКОЇ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

4.1 Розробка параметрів екстракції біологічно активних речовин з сировини астранції великої

Екстрагування біологічно активних сполук із рослинної сировини є важливим технологічним процесом, підвищення ефективності якого впливає на техніко-економічні показники виробництва фітопрепаратів. Збільшити кількість цільових речовин внаслідок екстрагування, а також покращити їх якість можна вдосконаленням самого процесу. Виділення комплексів БАР з ЛРС залежить від багатьох чинників, найважливішими з яких є ступінь подрібнення сировини, екстрагент, співвідношення сировина-екстрагент, метод екстрагування, час екстракції, температура екстракції та кратність екстракції [138].

Процес екстрагування ЛРС має складний фізико-хімічний характер, пов'язаний з поверхневими явищами через взаємодію молекул екстрагента з молекулами клітинних структур ЛРС. Існують і сорбційні явища, оскільки у висушеній сировині більшість речовин перебувають у сорбованому стані на поверхні й у товщі оболонки, і це значно впливає на процес екстракції. Тривалість процесу екстрагування ЛРС пояснюється клітинною будовою тканин органічної сировини, фізіологічний стан якої є різноманітним; клітинна оболонка рослин є щільною волокноподібною перегородкою, утвореною міцелярними нитками целюлози; у клітинній оболонці є мікропори (0,1 – 0,2 мкм), що утворюють міжклітинні ходи, оболонка клітин також має ультрамікропори і часто покрита речовинами, що їх зменшують або взагалі закорковують (протопектин, лігнін, воски тощо). Крім того, ефективність екстракції залежить від технологічних властивостей сировини, зокрема



вологості, насипної густини та насипного об'єму до та після усадки, коефіцієнту набухання та поглинання, подрібненості сировини тощо [139].

При встановленні оптимальних параметрів одержання екстрактів використовували реакції ідентифікації та хроматографію, а також визначення кількісного вмісту окиснюваних поліфенолів та екстрактивних речовин [140].

Ступінь подрібнення – одна з найважливіших технологічних властивостей, що впливає як на густину, коефіцієнти поглинання і набухання ЛРС, так і на швидкість дифузії та повноту вилучення екстрактивних речовин [141].

Висушену траву астранції великої подрібнювали на млинку типу “Ексцельсіор” і просіювали крізь сита з діаметром отворів 7; 5,5; 4,5; 3; 2,5; 1; 0,5; 0,2 мм.

Точну наважку сировини (1,0 г) кожної фракції поміщали в круглодонну колбу ємкістю 100 мл, додавали воду очищену у співвідношенні сировини до екстрагенту 1:50 і нагрівали на водяному нагрівнику при температурі 50 °С зі зворотнім холодильником протягом 30 хв при періодичному перемішуванні. Витяжку охолоджували, фільтрували, при необхідності доводили водою до початкового об'єму.

Результати дослідження впливу ступеня подрібнення трави астранції великої на повноту екстракції БАР наведені в табл. 4.1.

*Таблиця 4.1*

**Залежність повноти екстракції БАР від ступеня подрібнення трави астранції великої**

Ступінь подрібнення сировини, мм	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 9	
	Окиснювані поліфеноли	Екстрактивні речовини
1	2	3
7,0	3,19 ± 0,17	17,02 ± 0,12
5,5	4,49 ± 0,21	17,35 ± 0,14

Продовж. табл. 4.1

1	2	3
4,5	4,75 ± 0,14	17,48 ± 0,12
3,0	4,89 ± 0,11	17,86 ± 0,18
2,5	5,52 ± 0,11	18,27 ± 0,17
1,0	6,01 ± 0,12	18,34 ± 0,15
0,5	5,81 ± 0,10	17,99 ± 0,11
0,2	3,96 ± 0,12	9,57 ± 0,18

Дані табл. 4.1 свідчать, що оптимальним ступенем подрібнення для трави астранції великої є 0,5 – 2,5 мм.

На сьогодні відомо багато екстрагентів, з яких найбільш популярні вода очищена та водні розчини спирту етилового різної концентрації. В загальному можна відмітити, що жоден із екстрагентів, які на сьогодні використовують у фармацевтичній технології, не задовольняє за всіма параметрами одночасно. Тому в кожному випадку екстрагент підбирають індивідуально, враховуючи хімічний склад сировини, поставлену мету (вилучення відповідної групи БАР), економічну доцільність і безпеку [142].

Результати кількісного вмісту екстрактивних речовин та окиснюваних поліфенолів у витяжках при виборі екстрагенту наведені у табл. 4.2.

Таблиця 4.2

**Вплив природи екстрагенту на повноту екстракції БАР із сировини астранції великої**

Екстрагент	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 9	
	Окиснювані поліфеноли	Екстрактивні речовини
1	2	3
Вода очищена	5,96 ± 0,18	18,19 ± 0,21

Продовж. табл. 4.2

1	3	3
40 % етанол	5,74 ± 0,10	19,42 ± 0,18
70 % етанол	5,82 ± 0,11	19,07 ± 0,12
90 % етанол	4,90 ± 0,12	12,25 ± 0,10
96 % етанол	4,82 ± 0,17	10,23 ± 0,10

Під час вибору екстрагента враховували хімічний склад сировини астранції великої, який представлений речовинами фенольної природи. В якості екстрагентів використовували воду очищену та водно-спиртові суміші з вмістом етанолу 40 %, 70 %, 90 % та 96 %.

Результати досліджень (табл. 4.2) вказують, що найкращими екстрагентами, якими досягається найбільший вихід БАР з трави астранції великої є вода очищена та 70 % етиловий спирт. Співвідношення між рослинною сировиною і екстрагентом суттєво впливає на інтенсивність екстракції речовин. Так, із збільшенням співвідношення збільшується кількість екстрактивних та фенольних речовин за однаковий період часу екстракції. Для встановлення оптимального співвідношення між сировиною і екстрагентами нами були використані такі співвідношення 1:5; 1:10; 1:15; 1:20; 1:50.

Результати вибору оптимального співвідношення між рослинною сировиною і екстрагентами наведені в табл. 4.3.

Таблиця 4.3

#### Оптимальне співвідношення між травою астранції великої і екстрагентом

Співвідношення сировина-екстрагент	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 9	
	Окиснювані поліфеноли	Екстрактивні речовини
Вода очищена		
1	2	3
1:5	3,16 ± 0,12	7,84 ± 0,08

Продовж. табл. 4.3

1	2	3
1:10	3,92 ± 0,14	13,22 ± 0,12
1:15	4,79 ± 0,11	16,17 ± 0,18
1:25	5,29 ± 0,08	16,99 ± 0,12
1:50	5,96 ± 0,11	18,19 ± 0,14
70 % етиловий спирт		
1:5	3,43 ± 0,07	6,11 ± 0,11
1:10	4,43 ± 0,08	16,82 ± 0,12
1:15	5,24 ± 0,14	17,15 ± 0,14
1:25	5,56 ± 0,07	17,22 ± 0,08
1:50	5,82 ± 0,11	19,07 ± 0,10

В результаті проведених досліджень (табл. 4.3) встановлено, що оптимальним співвідношенням між сировиною і екстрагентами для трави є 1:15 при використанні в якості екстрагента води очищеної і 1:10 при використанні 70 % етанолу.

Характерною особливістю процесів екстрагування із рослинної сировини є значна тривалість процесу. Причиною цього є клітинна будова тканин органічної сировини, саме наявність клітинної стінки, фізіологічний стан якої може бути різноманітним. Серед факторів, які здатні впливати на швидкість внутрішньодифузійних процесів, а саме за таким механізмом відбуваються більшість процесів екстрагування із рослинної сировини, час екстракції є чи не найвагомим [143].

Для встановлення оптимального часу екстракції БАР сировину екстрагували водою і 70 % етанолом у співвідношенні сировина-екстрагент 1:15 та 1:10 відповідно протягом 15 хв, 30 хв, 45 хв 90 хв на водяному нагрівнику.

Результати залежності вмісту БАР в одержаних витяжках від часу екстракції наведено в табл. 4.4.

Таблиця 4.4

**Вплив часу екстракції на вихід БАР  
із трави астранції великої**

Час одноразової екстракції	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 9	
	Окиснювані поліфеноли	Екстрактивні речовини
Вода очищена		
15 хв	4,31 ± 0,10	12,85 ± 0,12
30 хв	4,79 ± 0,08	16,18 ± 0,12
45 хв	4,70 ± 0,18	16,22 ± 0,09
90 хв	4,83 ± 0,07	16,29 ± 0,11
70 % етиловий спирт		
15 хв	3,99 ± 0,09	16,40 ± 0,08
30 хв	4,43 ± 0,08	16,82 ± 0,18
45 хв	4,46 ± 0,13	16,96 ± 0,20
90 хв	4,44 ± 0,09	17,02 ± 0,18

Дослідження часу екстракції (табл. 4.4) показало, що повнота виділення БАР з сировини досягається під час екстракції протягом 30 хв.

Для встановлення кратності екстракцій сировини астранції великої сировину екстрагували водою і 70 % етанолом у співвідношенні сировина-екстрагент 1:15 та 1:10 відповідно протягом 30 хв та визначали вміст біологічно активних та екстрактивних речовин у витяжках отриманих після одно-, дво-, три- та чотирьократної екстракції. Результати вибору оптимальної кількості екстракцій наведено в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

**Вплив кратності екстракцій на вихід біологічно активних речовин з трави астранції великої**

Кратність екстракції	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 9	
	Окиснювані поліфеноли	Екстрактивні речовини
Вода очищена		
I	4,79 ± 0,18	16,17 ± 0,14
II	1,38 ± 0,12	3,78 ± 0,11
III	0,58 ± 0,11	2,14 ± 0,08
IV	0,24 ± 0,12	1,17 ± 0,06
70% етиловий спирт		
I	4,43 ± 0,11	16,82 ± 0,08
II	1,23 ± 0,12	5,12 ± 0,12
III	0,62 ± 0,17	1,71 ± 0,10
IV	0,38 ± 0,08	1,03 ± 0,10

Узагальнені результати проведених досліджень (табл. 4.5) свідчать, що повнота виділення БАР досягається при трьохкратній екстракції.

Результати проведених досліджень з встановлення оптимальних умов одержання екстрактів з трави астранції великої наведено в табл. 4.6.

Таблиця 4.6

**Оптимальні умови екстракції БАР з трави астранції великої**

Ступінь подрібнення, мм	Екстрагент	Співвідношення між сировиною і екстрагентом	Час одноразової екстракції, хв	Кратність екстракцій
0,5 – 2,5	Вода очищена	1:15	30	3
	70 % етанол	1:10	30	3

Враховуючи технологічні фактори, які впливають на процес екстрагування з рослинної сировини, нами розроблено умови одержання суми БАР з трави астранції великої. При розробці умов екстракції БАР враховували ступінь подрібнення сировини, вид екстрагенту, співвідношення сировина - екстрагент, час і кратність екстракції. Встановлено, що оптимальними параметрами екстракції є (табл. 4.6): екстрагент – 70 % етанол, вода очищена, час екстракції – 30 хв, співвідношення сировина-екстрагент - 1:10 - 1:15. Повнота виділення БАР досягається при трьохкратній екстракції.

#### 4.2 Одержання екстрактів астранції великої та їх характеристика

Значні ресурси, доступність сировини, можливість культивування роблять рослинну сировину перспективним об'єктом дослідження з метою розробки нових лікарських засобів рослинного походження. Рослинні препарати представлені БАР, виділеними із рослин, очищеними комплексами природних сполук (у вигляді субстанцій) та великою групою комплексних препаратів із рослин (настої, відвари, збори, настойки, екстракти та ін.), а також самою рослинною сировиною [144].

Відповідно до встановлених параметрів екстракції БАР нами виготовлено водний (АВВ) і водно-спиртовий (АВС) екстракти з трави астранції великої.

Вихідною сировиною для одержання сухих екстрактів була подрібнена трава астранції великої (розмір частинок 0,5 – 2,5 мм). Рослину заготовляли у фазу масового цвітіння в 2012 році на околицях с. Марківці Тисменецького району Івано-Франківської області.

Для одержання водного екстракту з трави астранції великої 50,0 г подрібненої рослинної сировини екстрагували 750 мл води очищеної в колбі зі зворотнім холодильником на водяному нагрівнику при температурі 50 °С протягом 30 хв. Екстракт фільтрували, а залишок сировини екстрагували в аналогічних умовах ще 2 рази. Витяжки фільтрували і об'єднували.

Під час розробки способу екстракції суми БАР як оптимальний екстрагент для трави, крім води очищеної, вибрано 70 % спирт. Для одержання водно-спиртового екстракту з трави астранції великої 50,0 г подрібненої сировини екстрагували 500 мл 70 % спирту в колбі зі зворотніми холодильниками на водяному нагрівнику при температурі 50 °С протягом 30 хв. Екстракти фільтрували, а залишки сировини екстрагували в аналогічних умовах ще 2 рази. Витяжки об'єднували, спирт відганяли під вакуумом у роторному випарювачі.

Відповідно до встановлених параметрів нами виготовлено водні і водно-спиртові екстракти, які поміщали в стерильні флакони по 400 мл і висушували ліофільно в сублімаційному апараті типу КС-30. Спочатку екстракти заморожували при температурі не вище -40 °С протягом 30 хв. Флакони з замороженими водними і водно-спиртовими екстрактами ставили в холодильник і при температурі не вище -30 °С зберігали протягом 12 годин. Після цього витяжки завантажували до сублімаційного апарату. Для одержання екстрактів загальна тривалість висушування тривала 28 - 32 годин.

Одержані екстракти - це пухкі порошки жовто-зеленого кольору, гіркою смаку, з характерним запахом. Вихід екстрактів трави астранції великої становить 22,96 – 24,16 %. В отриманих екстрактах визначили втрату в масі при висушуванні, вміст суми окиснюваних поліфенолів та флавоноїдів. Характеристика і вихід екстрактів наведено в табл. 4.7.

Таблиця 4.7

#### Характеристика і вихід екстрактів з трави астранції великої

Екстрагент	Колір і консистенція	Вихід екстракту, %	Втрата в масі при висушуванні, %	Сума окиснюваних поліфенолів, %	Флавоноїди, %
70 % етанол	Жовто-зелений порошок	24,16 ± 0,47	2,80 ± 0,10	16,91 ± 0,09	8,02 ± 0,07
Вода очищена	Жовтий порошок	22,96 ± 0,23	4,15 ± 0,08	16,42 ± 0,13	7,88 ± 0,08



З метою застосування одержаних ліофільних екстрактів з трави астранції великої, як біологічно активної субстанції для розробки нових лікарських препаратів з фармакологічною активністю та розробки проєкту методів контролю якості, було проведено стандартизацію та експериментальне мікробіологічне дослідження субстанцій.

#### 4.3 Дослідження фармакологічної активності екстрактів астранції великої

На сьогоднішній день вивчення фармакологічних властивостей лікарських рослин є актуальним. Метою наших досліджень було проведення фармакологічного скринінгу сухих екстрактів з трави астранції великої. З урахуванням хімічного складу нами було вивчено антимікробну, протизапальну, кровозупинну та ранозагоювальну дію.

Вивчення гострої токсичності екстрактів астранції великої проведено при консультаційній допомозі завідувача кафедри біологічної та медичної хімії ІФНМУ ім. академіка Г.О. Бабенка професора Ерстенюк Г.М.

Дослідження проводили на білих нелінійних мишах і щурах, яких утримували в умовах віварію ІФНМУ. Тварини були стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками і знаходились згідно з вимогами санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні та з дотриманням принципів гуманного відношення до лабораторних тварин.

Утримання тварин та маніпуляції з ними проводили у відповідно до основних положень біоетики та біоетичної експертизи, в інтересах захисту людини і всього біологічного різноманіття світу. Вони узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, Франція, 1985). Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС(1986), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим Національним конгресом України з біоетики (2001) [145, 146].

Весь практичний матеріал опрацьований методом варіаційної статистики з вирахуванням середнього арифметичного і його стандартної похибки. Достовірність порівнюваних величин оцінювали за критерієм Стьюдента [147].

4.3.1 Вивчення гострої токсичності екстрактів. Вивчення гострої токсичності екстрактів є першим етапом, метою якого є одержання інформації щодо безпечності сухих екстрактів з трави астранції великої для здоров'я в умовах короткотривалої дії.

Для визначення гострої токсичності використовували методику доклінічного вивчення нешкідливості лікарських засобів Стефанова О. В. [109].

Вивчення гострої токсичності досліджуваних екстрактів проводили на білих нелінійних мишах обох статей за умов внутрішньошлункового введення. Згідно з методичними рекомендаціями ДФЦ України, лімітуючим показником при визначенні гострої токсичності є максимальна доза IV класу токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення [109].

Для екстрактів трави астранції великої за  $LD_{50}$  умовно прийняті максимально введені дози, оскільки вони не викликали загибелі тварин. Результати дослідження гострої токсичності рослинних екстрактів наведено в табл. 4.8.

*Таблиця 4.8*

**Результати дослідження гострої токсичності екстрактів астранції великої**

Екстракт	Доза, мг/кг	Співвідношення кількості загиблих тварин і загальної кількості тварин у групі
АВВ (екстрагент – вода очищена)	6000	0/6
АВС (екстрагент – 70 % етанол)	6000	0/6

Дані, наведені в табл. 4.8 свідчать, що внутрішньошлункове введення водного та водно-спиртового екстрактів астранції великої у дозі 6000 мг/кг не призводить до загибелі тварин. Змін в поведінці тварин не відмічалось. Це

вказує на відсутність токсичної дії екстрактів в даній дозі і дає можливість віднести їх до V класу токсичності речовин з  $LD_{50} > 5000$  мг/кг (практично нетоксичні).

4.3.2 Дослідження протизапальної дії екстрактів. Вивчення протизапальної і антиексудативної активності екстрактів було проведено на безпородних щурах, які були вирощені у віварії ІФНМУ та стандартизовані за фізіологічними і біохімічними показниками.

Дослідження антиексудативної активності водного та водно-спиртового екстрактів трави астранції проводили на моделі запального набряку лап білих щурів згідно з пунктом 2.4 (С. 71) [109].

Вимірювання об'єму лапи щура здійснювали на початку досліду, а також через 1 год, 3 год та 5 год після введення флогогенного агенту. Ефективність впливу досліджуваних екстрактів оцінювали за їх здатністю пригнічувати розвиток набряку лап щурів в динаміці порівняно з тваринами контрольної групи та дією референс-препаратів. Приріст об'єму лапи щура та антиексудативна активність екстрактів астранції великої наведені у табл. 4.9 і рис. 4.1.

Таблиця 4.9

**Приріст об'єму лапки щура в залежності від введеної речовини**

Група тварин	Доза мг/кг	Приріст об'єму лапки щура, у.о.: $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n=6		
		1 год	3 год	5 год
Контрольна патологія	-	78,58± 0,628	105,8 ± 0,918	119,05 ± 1,014
АВВ	100	75,72 ± 0,177*	87,85 ± 0,177*	97,43 ± 0,241*
АВС	100	72,60 ± 0,241*	87,78 ± 0,338*	96,28 ± 0,338
Диклофенак натрію	8	63,5 ± 1,078	69,9 ± 1,062	73,0 ± 1,256*
Кверцетин	5	72,98±0,209*	96,9 ± 1,143*	103,3 ± 1,143*

Примітка. 1. \* - відхилення показника достовірне по відношенню до даних контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ); 2. n – кількість тварин у групі

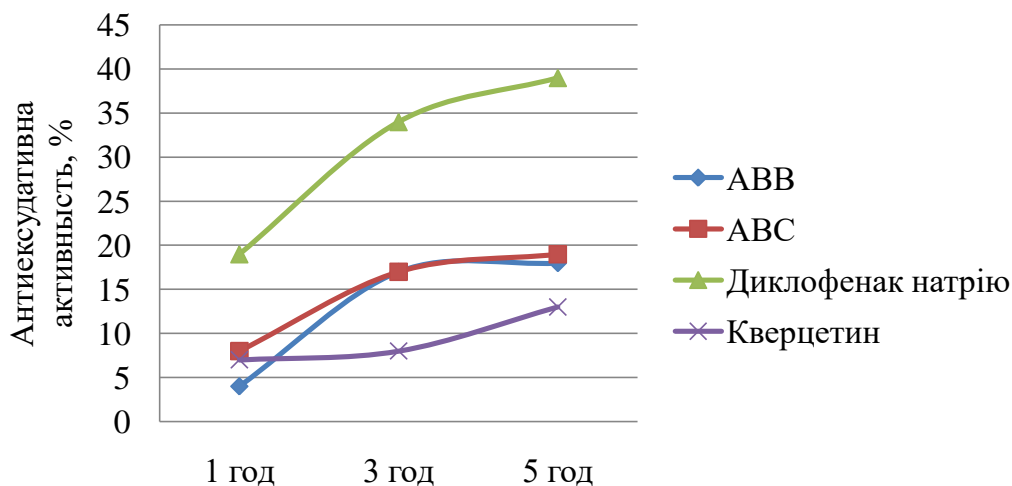


Рис. 4.1. Антиексудативна активність екстрактів трави астранції великої

Отримані результати вказують на те, що екстракти астранції великої проявляють антиексудативну активність, впливають на ексудативну фазу запалення, та не поступаються за своєю активністю референс-препарату рослинного походження кверцетину. Через 1, 3 та 5 год після початку експерименту найвищу антиексудативну активність проявляв екстракт трави астранції великої АВС.

4.3.3 Дослідження антимікробних властивостей екстрактів. Для проведення дослідження бактеріостатичної активності екстрактів використовували метод дифузії активної речовини в агар із застосуванням паперових дисків. Нанесення активної речовини на паперові диски здійснювалось за методикою Чорномірдіка А.Б. Концентрація активної речовини на дисках складала 5 мг.

Для порівняння бактеріостатичної активності досліджуваних препаратів використовували паперові диски з антибіотиками: ампіцилін – 30 мкг/диск, олеандоміцин – 30 мкг/диск [148 – 149].

Результати проведених досліджень бактеріостатичної активності екстрактів представлені у табл. 4.10.

Таблиця 4.10

**Бактеріостатична активність досліджуваних екстрактів**

Об'єкт дослідження	Зона затримки росту мікроорганізмів, мм				
	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
ABC	0	0	7	0	7
ABV	0	9	7	0	14
Ампіцилін	14	10	0	25	8
Олеандоміцин	5	5	0	25	22

В результаті проведених досліджень встановлено, що всі досліджувані екстракти мають здатність затримувати ріст мікроорганізмів. Краща здатність затримувати ріст паличкоподібної та кокоподібної мікрофлори у водного екстракту астранції великої. Незначну активність виявив лише екстракт ABV по відношенню до *Staphylococcus epidermidis*. Досліджувані екстракти не проявляють активність щодо бактерій *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*.

4.3.4 Дослідження кровозупинних та ранозагоювальних властивостей екстрактів. Вивчення кровозупинної та ранозагоювальної дії екстрактів трави астранції великої було проведено на мурчаках, які були вирощені у віварії ІФНМУ.

Дослідження кровозупинної дії водного та водно-спиртового екстрактів трави астранції визначали за часом тривалості кровотечі (за методом Дюка) [150].

Лінійну різану рану у мурчаків моделювали шляхом розрізу за допомогою скальпеля усіх шарів попередньо депільованої шкіри та м'язового

шару на боковій поверхні живота. Визначення часу тривалості кровотечі проводили за умов спонтанної зупинки кровотечі відразу після пошкодження судин. Результати дослідження тривалості кровотечі ( $M \pm m$ , с) у мурчаків з різаної рани за місцевого застосування екстрактів астранції великої та перцю водяного екстракту наведені у табл. 4.11.

Таблиця 4.11

**Кровозупинна дія екстрактів трави астранції за часом тривалості кровотечі**

Група тварин, n=6	Контроль	Перцю водяного екстракт	Екстракт астранції великої АВВ	Екстракт астранції великої АВС
Час тривалості кровотечі, с	224,67 ± 4,35	172,67 ± 0,96	129,17 ± 0,241*	126,83 ± 4,99*
Зменшення часу кровотечі	-	23,15 %	42,51 %	43,54 %

Отримані результати свідчать (табл. 4.11), що при місцевому застосуванні екстрактів астранції (накладання серветки, просоченої досліджуваними екстрактами, безпосередньо на ранову поверхню відразу після нанесення рани) час кровотечі суттєво зменшувався у порівнянні з контрольною групою тварин. Найбільш суттєве зниження кровотечі викликало застосування екстракту АВВ (42,51 %) та екстракту АВС (43,54 %) астранції великої, меншу кровозупинну активність викликав екстракт перцю водяного (23,15 %). Отже, можна зробити висновок про те, що при нанесенні екстрактів астранції великої на рану зупинка кровотечі відбувалась практично на рівні і у 1,8 рази швидше, ніж при нанесенні екстракту перцю водяного. Результати дослідження вказують на наявність місцевої гемостатичної дії у субстанціях астранції великої.

Дослідження ранозагоювальної активності екстрактів трави астранції великої проводили на клінічно здорових мурчаках віком 3-5 місяців. У досліді моделювали різану асептичну рану. Упродовж 16 діб проводили планіметрію

ран, оцінювали стан запальної реакції та визначали швидкість їх загоювання. Результати досліджень наведено в табл. 4.12 і на рис. 4.2.

Таблиця 4.12

**Динаміка перебігу раневого процесу при застосуванні препаратів  
рослиного походження**

Дослідні групи тварин	Площа загоєння рани від загальної площі раневої поверхні, %							
	Доба							
	2	4	6	8	10	12	14	16
I група – контроль	3,4	8,25	30,90	51,80	68,91	79,35	95,72	100
II група – АВВ	4,73	13,93	38,87	70,55	96,41	100	100	100
III група – АВС	4,03	10,75	37,44	69,63	96,14	100	100	100
IV група – Рекутан	4,42	11,12	37,61	69,77	96,27	100	100	100

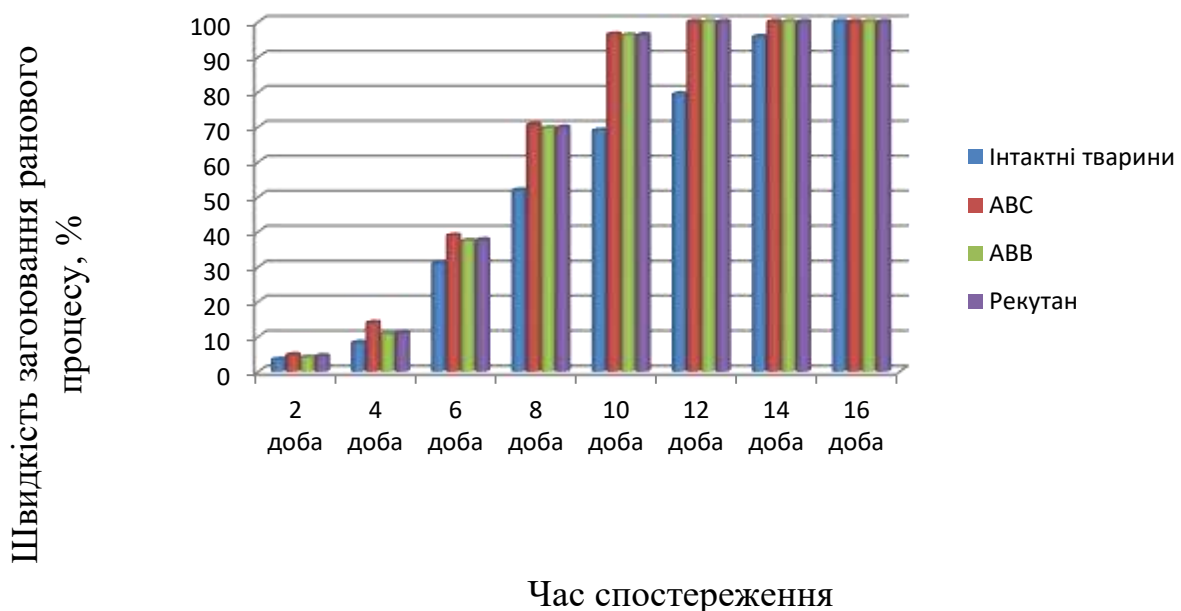


Рис. 4.2. Ранозагоювальна активність екстрактів астранції великої

Результати досліджень свідчать, що при застосуванні водного та водно-спиртового екстрактів астранції великої спостерігається прискорення загоєння

рани на 8 і 10 добу відповідно. Повне загоєння рани спостерігається на 14 добу. Екстракти астранції великої, як засоби для лікування ран в експерименті проявляють ранозагоювальну динаміку і подібну дію з референтс – препарату «Рекутан», а екстракт АВВ з 2-ї до 8-ї доби навіть кращу, ніж «Рекутан». Отже, з всього вище описаного ми можемо зробити висновок, що усі препарати, які ми досліджували, є ефективними при лікуванні ран і володіють ранозагоювальною дією.

#### 4.4 Розробка методів контролю якості екстракту астранції великої

Стандартизацію екстракту трави астранції великої проводили за вимогами ДФУ: опис, ідентифікація, залишкові кількості органічних розчинників, втрата в масі при висушуванні, загальна зола, важкі метали, мікробіологічна чистота та кількісне визначення діючих речовин.

*Опис.* Порошок жовто-зеленого кольору, гіркого смаку, з характерним запахом.

*Розчинність.* Помірно розчинний у воді, легко розчинний в 70 % етанолі, розчинний у хлороформі, нерозчинний у етилацетаті та ефірі

*Ідентифікація.* Визначення основних груп БАР проводили методом тонкошарової хроматографії на пластинках.

Розчин А. До 10 мл розчину 10 г/л дифенілборату аміноетанолу *P* у метанолі *P* додають 8 мл розчину 50 г/л макроголу 4000 *P* в 96 % спирті і перемішують.

Випробовуваний розчин. 1,0 г субстанції поміщають у конічну колбу місткістю 50 мл, додають 7,4 мл води, перемішують, додають 12,6 мл 96 % спирту, збовтують протягом 30 хв і фільтрують через паперовий фільтр.

Розчин порівняння. 0,005 г хлорогенової кислоти («Fluka», кат. № 25700 або аналогічної якості) 0,010 г кофейної кислоти («Aldrich», кат. № 60020 або аналогічної якості) поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, розчиняють у



метанолі *P*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують.

На лінію старту хроматографічної пластинки окремо смугами довжиною 10 мм наносять 40 мкл випробовуваного розчину і 10 мкл розчину порівняння.

Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, потім поміщають у камеру із сумішшю розчинників вода-етилацетат *P*-кислота оцтова льодяна *P*-кислота мурашина безводна *P* (27:100:11:11) і хроматографують методом вертикального елюювання. Коли фронт розчинників пройде 15 см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі протягом 10 хв. Пластинку зрошують розчином А, витримують при температурі 50 °С протягом 5 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

На хроматограмі випробовуваного розчину при перегляді пластинки від лінії старту в напрямку до верху має виявлятися:

- зона блакитного кольору на рівні зони такого ж кольору на хроматограмі розчину порівняння (хлорогенова кислота);
- зона блакитного кольору, що розташована нижче зони такого ж кольору на хроматограмі розчину порівняння.

На хроматограмі випробовуваного розчину допускається наявність зон іншого кольору.

2. В До 0,400 г субстанції додають 20 мл води *P*, нагрівають до кипіння, періодично збовтуючи, охолоджують і фільтрують через паперовий фільтр.

До 5,0 мл одержаного фільтрату додають 1,0 мл розчину заліза хлориду *P1*, з'являється зелено-коричнє забарвлення (фенольні сполуки).

3. Залишкові кількості органічних розчинників (спирт *P*). Визначення проводять методом газової хроматографії (ДФУ, 2.2.28).

Випробовуваний розчин. 0,200 г субстанції поміщають у флакон місткістю 20 мл, оснащений гумовою прокладкою, покритою політетрафторетиленом та металевим обтискним ковпачком, додають 10 мл води бідистильованої та закупорюють. Готують не менше 5 зразків.

Розчин порівняння (а). 63,4 мкл спирту *P* («Fluka», кат. № 34935 або аналогічної якості) поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють в 60 мл води бідистильованої з температурою не вище +10 °С, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують.

Розчин порівняння (b). 2,0 мл розчину порівняння (а) поміщають у флакон місткістю 20 мл, оснащений гумовою прокладкою, покритою політетрафторетиленом та металевим обтискним ковпачком, додають 8 мл води бідистильованої та закупорюють. Готують не менше 5 зразків.

Розчини використовують свіжоприготованими.

Флакони з випробовуваними розчинами і розчинами порівняння (b) поміщають у парофазну приставку, де витримують при температурі 95 °С протягом 20 хв при струшуванні.

Відбір газової фази (по 1 мл) і введення її у випаровувач здійснюється автоматично.

Хроматографування проводять на газовому хроматографі з полуменево-іонізаційним детектором, з програмуванням температури, без поділу потоку газу-носія, за таких умов:

- колонка капілярна із плавленого кварцу розміром 30 м x 0,53 мм, покрита 1,5 мкм шаром нерухомої фази 5% фенілметилсилоксану або аналогічна, для якої виконуються умови придатності хроматографічної системи;

- температура колонки 40 °С протягом 3 хв, підвищення температури до 100 °С зі швидкістю 10°C/хв, потім – підвищення температури до 200 °С зі швидкістю 25°C/хв та витримка при температурі 200 °С протягом 7 хв;

- температура випарника 150 °С;

- температура детектора 250 °С;

- газ-носії гелій для хроматографії *P*;

- лінійна швидкість газу-носія 1,8 мл/хв.

Хроматографують газову фазу розчинів порівняння (b). Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:

- ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піками метанолу  $P$  або спирту, має бути не менше 5000 теоретичних тарілок;

- відносне стандартне відхилення, розраховане для площ піків метанолу  $P$  або спирту  $P$ , має бути не більше і 5 %.

Хроматографують газову фазу випробовуваних розчинів. Вміст спирту ( $X_1$ ), у субстанції, у відсотках, розраховують за формулою:

$$x_1 = \frac{S \cdot V_0 \cdot \rho \cdot 2 \cdot 100}{S_0 \cdot m \cdot 100} - \frac{S \cdot V_0 \cdot \rho \cdot 2}{S_0 \cdot m}$$

де:  $S$  – середнє значення площ піків спирту  $P$ , розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  – середнє значення площ піків спирту  $P$ , розраховане з хроматограм розчину порівняння (b);

$V_0$  – об'єм спирту  $P$ , взятий для приготування розчину порівняння (a), в мілілітрах;

$\rho$  – густина спирту  $P$ , в грамах на мілілітр;

$m$  – маса наважки субстанції, в грамах.

Вміст  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (спирту  $P$ ) в субстанції має бути не більше 0,5 %.

Субстанція має відповідати вимогам ДФУ, 5.4.

*Втрату в масі при висушуванні* визначали за методикою ДФУ.

Втрата в масі при висушуванні – не більше 5 %.

*Загальна зола.* Вміст загальної золи – не більше 10 %.

*Важкі метали.* Отримувані екстракти витримували випробування на важкі метали, вміст яких не перевищував 0,01 %.

*Мікробіологічна чистота.* Випробування на мікробіологічну чистоту включає кількісне визначення життєздатних бактерій та грибів, а також виявлення певних видів мікроорганізмів, наявність яких не допускається в нестерильних лікарських засобах.

Вивчення мікробіологічної чистоти проводили відповідно до вимог ДФУ, 5.1.4 N, 2.6.13 N. Категорія 3 В.

Підготовка зразка. 10 г субстанції поміщали в мірну ємність, доводили об'єм до 50 мл фосфатним буферним розчином з натрію хлоридом та пептоном рН 7,0, гомогенізували, доводили об'єм до 100 мл фосфатним буферним розчином з натрію хлоридом та пептоном рН 7,0 і струшували до отримання однорідної суспензії.

Визначення загальної кількості бактерій. По 1 мл зразка вносили у пробірки, що містять 4 мл розплавленого живильного середовища МПА, охолодженого до 45 °С, швидко перемішували вміст пробірок і переносили на чашки Петрі з 15 – 20 мл середовища МПА. Інкубацію проводили при 37 °С, облік результатів через 24 год.

Визначення загальної кількості грибів. По 1 мл зразка вносили у пробірки, що містять 4 мл розплавленого живильного середовища Сабуро, охолодженого до 45 °С, швидко перемішували вміст пробірок і переносили на чашки Петрі з 15 – 20 мл середовища Сабуро. Інкубацію проводили при 37 °С, облік результатів проводили через 24 – 72 год.

Виявлення *E. coli*. 10 мл кожного зразка вносили в 100 мл рідкого живильного середовища Кода, інкубували при 37°С 24 год. З наступним висівом на тверде живильне середовище Ендо та інкубацією при 37 °С 24 год.

Виявлення бактерій *Salmonella*. 10 г субстанції вносили в 100 мл рідкого живильного подвійного Селенітового середовища інкубували при температурі від 35 до 37 °С від 18 до 24 год, 1 мл нагромаджу вальної культури вносили на тверде живильне середовище ВСА і інкубували 18 – 24 год. При температурі від 35 до 37 °С.

Кількісна оцінка ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій. 10 г субстанції вносили в стерильну ємність і доводили об'єм до 200 мл живильним середовищем Кода, гомогенізували та інкубували при температурі від 35 до 37 °С від 18 до 24 год. Після закінчення інкубації ємність з живильним середовищем Кода струшували і переносили гомогенізатором кожен зразок і їх

розведення, що містять відповідно 0,1 г, 0,01 г, 0,001 г субстанції у відповідні об'єми живильного середовища Ендо за наступною схемою: по 2 мл гомогенізату вносили в чотири стерильні ємкості, що містять по 20 мл живильного середовища Ендо. Останню з ємкостей використовували для приготування наступного розведення. По 2 мл гомогенізату А вносили в чотири стерильні ємкості, що містять по 20 мл живильного середовища Ендо. Остання з ємкостей, що містить гомогенізат використовували для приготування наступного розведення – гомогенізат. По 2 мл гомогенізату вносили в чотири стерильні ємкості, що містять по 20 мл живильного середовища Ендо. Інкубацію проводили при температурі 37 °С через 24 год.

Виявлення *Pseudomonas aeruginosa*. 1 мл зразка вносили на чашки Петрі з 15 – 20 мл середовища МПА. Інкубацію проводили при 37 °С, облік результатів проводили через 24 год.

Виявлення *Staphylococcus aureus* по 1 мл зразка вносили на чашки Петрі з 15 – 20 мл середовища ЖСА. Інкубацію проводили при 37 °С, облік результатів проводили через 24 – 48 год. Результати вивчення мікробіологічної чистоти екстрактів наведені в табл. 4.13.

Таблиця 4.13

**Результати мікробіологічної чистоти екстрактів з трави астрації  
великої**

Умовне позначення	Середовище МПА	Середовище Ендо	Середовище ЖСА	Середовище ВСА	Середовище Сабуро
АВС	Нема росту	Нема росту	Нема росту	Нема росту	Нема росту
АВВ	Нема росту	Нема росту	Нема росту	Нема росту	Нема росту

Примітка. Нема росту – в 1 г рослинних екстрактах знаходиться менше 10 бактерій

Результати проведених досліджень (табл. 4.13) свідчать, що представлені для дослідження екстракти відповідають вимогам ДФУ щодо мікробіологічної чистоти для нестерильних лікарських засобів.

*Кількісне визначення.* Визначення суми поліфенолів проводять спектрофотокolorиметричним методом в перерахунку на піроголол.

Показники якості сухого екстракту трави астранції великої наведено в табл. 4.14.

Таблиця 4.14

### Показники якості екстракту АВС трави астранції великої

Досліджувані параметри	Нормування	Серія				
		001	002	003	004	005
1	2	3				
Опис	гігроскопічний порошок жовто-зеленого кольору, з характерним запахом	Відповідає				
Розчинність	помірно розчинний у воді, легко розчинний в 70 % етанолі, розчинний у хлороформі, нерозчинний у етилацетаті та етері	Відповідає				
Ідентифікація діючих речовин	<i>метод ТШХ, розчин порівняння: 0,005 г хлорогенової кислоти, 0,010 г кофейної кислоти у метанолі P, пластинка із шаром силікагелю P, рухома фаза: вода - етилацетат P - кислота оцтова льодяна P - кислота мурашина безводна P (27:100:11:11)</i>	Реакція позитивна				

Продовж. табл. 4.14

1	2	3				
Втрата в масі при висушуванні, %	не більше 5 %	4,15	4,15	4,16	4,17	4,12
Загальна зола, %	не більше 1 %	0,90	0,91	0,91	0,89	0,91
Важкі метали, %	не більше 0,002 %	Відповідає				
Мікробіологічна чистота	в 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	Відповідає				
Сума поліфенолів, %	Спектрофото-метрично, не менше 16 %	16,91 ± 0,16	16,42 ± 0,14	16,78 ± 0,11	16,58 ± 0,10	16,72 ± 0,16

В результаті проведених технологічних та фітохімічних досліджень одержано сухі екстракти трави астранції великої та встановлено показники їх доброякісності. Одержані екстракти можуть бути застосовані як субстанції з протизапальною, кровозупинною і ранозагоювальною активністю.

## ВИСНОВКИ

1. Розроблено оптимальні умови одержання компонентів БАР з трави астранції великої. При розробці умов екстракції БАР враховували ступінь подрібнення сировини, вид екстрагенту, співвідношення сировина - екстрагент, час і кратність екстракції. Встановлено, що оптимальними параметрами екстракції є: екстрагент – 70 % етанол, вода очищена, час екстракції – 30 хв,

співвідношення сировина-екстрагент - 1:10-1:15. Повнота виділення БАР досягається при трьохкратній екстракції.

2. Одержано екстракти з трави астранції великої - це пухкі порошки жовтого або жовто-зеленого кольору гіркою смаку з характерним запахом. Вихід екстрактів трави астранції великої становить 22,96 – 24,16 %. В отриманих екстрактах визначили втрату в масі при висушуванні (2,80 – 4,15 %), вміст суми окиснюваних поліфенолів становив (16,42 - 16,91 %), флавоноїдів (7,88 - 8,02 %).

3. Одержано сухі екстракти з трави астранції великої та досліджено показники їх доброякісності. Встановлено відсутність токсичної дії екстрактів і віднесено їх до V класу токсичності речовин з  $LD_{50} > 5000$  мг/кг (практично нетоксичні).

4. Встановлено, що одержані екстракти (екстрагенти – вода очищена або 70 % етанол) трави астранції великої проявляють протизапальну, антимікробну, ранозагоювальну та кровозупинну активність.

5. Спосіб одержання екстракту трави астранції великої із кровозупинною дією захищено патентом України на корисну модель № 130764 «Спосіб одержання екстракту трави астранції великої із кровозупинною дією» від 11.06.2018 р.

Матеріали даного розділу висвітлено у публікації [148].



РОЗДІЛ 5  
РЕСУРСО-БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА РОЗРОБКА  
ПРОЄКТУ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ НА СИРОВИНУ  
АСТРАНЦІЇ ВЕЛИКОЇ

5.1 Морфолого-анатомічне дослідження сировини астранції великої та встановлення основних діагностичних ознак.

Для ідентифікації лікарської рослинної сировини астранції великої нами проведено вивчення морфологічної та анатомічної будови її надземних органів.

Об'єктом дослідження була трава астранції великої, заготовлена у 2012 р. в околицях с. Марківці Тисменицького району та с. Дора Надвірнянського району Івано-Франківської області (рис. 5.1).

Для дослідження використовували повітряно-суху та свіжозібрану і фіксовану у суміші гліцерин-спирт-вода (1:1:1) рослинну сировину. Вивчення ознак морфологічної будови сировини проводили за вимогами ДФУ [34].

Сировину розглядали неозброєним оком та за допомогою лупи ( $\times 10$ ) при денному освітленні. Визначення анатомічних ознак органів астранції великої вивчали на поперечних зрізах, відпрепарованій епідермі та препаратах з поверхні під мікроскопом ЛОМО Р-1 (Росія) та REICHERTL.4 (Австрія) (окуляр –  $\times 7, \times 10, \times 15$ , об'єктиви –  $\times 10, \times 20, \times 40$ ). Зрізи робили і досліджували за загальноприйнятими методиками, отримані дані фіксували за допомогою схематичних рисунків та мікрофотознімків, зроблених фотокамерою Samsung ST 65.

*Зовнішні ознаки.* Цільна сировина (рис. 5.2). Цілі або різані, висушені, квітучі надземні частини рослини. Шматки стебел зелені, тонкі, циліндричні, до 3 мм у діаметрі. Листки глибоко-пальчасто-розділені, від 2 до 7 см завдовжки, видовжено-обернено-яйцеподібної форми; наявні дво-, тринадрізані, пилчасті частки, які закінчуються щетиною. Верхня частина листка темно-зелена, нижня – блідо-зелена. Суцвіття – зонтики, до 5 см у діаметрі; оточені білувато-

рожевою обгорткою з великих видовжено-ланцетних, іноді короткозубчастих листків, які перевищують квіти; у зонтику внутрішні квіти двостатеві, зовнішні – чоловічі. Зубці чашечки шиловидні, довші за пелюстки, ланцетні, зігнуті; стовпчики тонкі, довгі, з головчастою приймочкою. Смак гіркий. Запах специфічний [151].



Рис. 5.1. Астранція велика в природних умовах зростання



Рис. 5.2. Лікарська рослинна сировина астранції великої

*Анатомічна будова.* Для встановлення тотожності сировини нами вивчено анатомічні ознаки листка астранції великої (рис. 5.3).

Клітини верхньої епідерми листка зі слабохвилястими і рівномірно потовщеними оболонками. Клітини нижньої епідерми листка зі звивистими оболонками, між якими знаходиться багато продихів. Продиховий апарат анізоцитного типу; продихи зустрічаються на абаксіальній стороні листка, на якій розташовані друзи кальцію оксалату ланцюгом вздовж великих жилок.

*Черешок* (рис. 5.4). Черешок на поперечному зрізі має округлу форму з невеликими виступами, вираженість яких збільшується з віком органу, а також у напрямку від базальної до верхівкової частини черешка. Зовні черешок вкритий одним шаром прозенхімної форми епідермальних клітин.

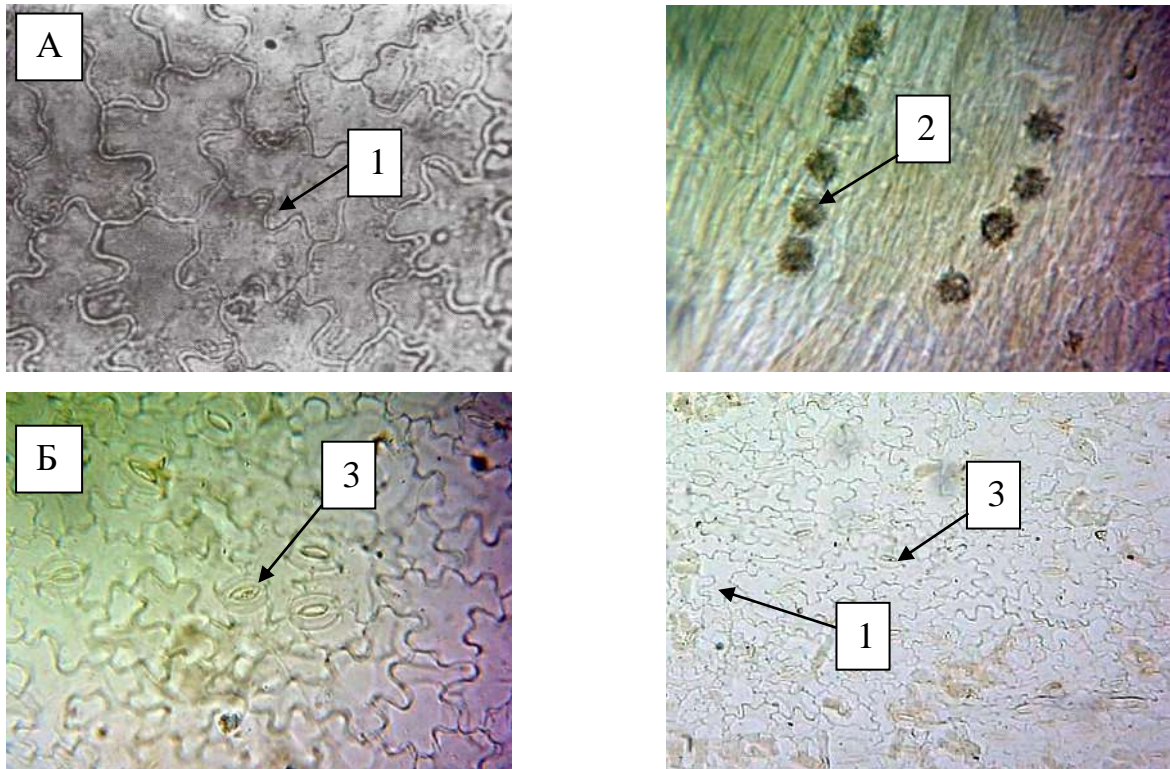


Рис. 5.3. Анатомічні ознаки листка астрагції великої: А – верхній епідерміс; Б – нижній епідерміс; 1 – клітини епідерми, 2 – групи друз кальцію оксалату, 3 – продиховий апарат

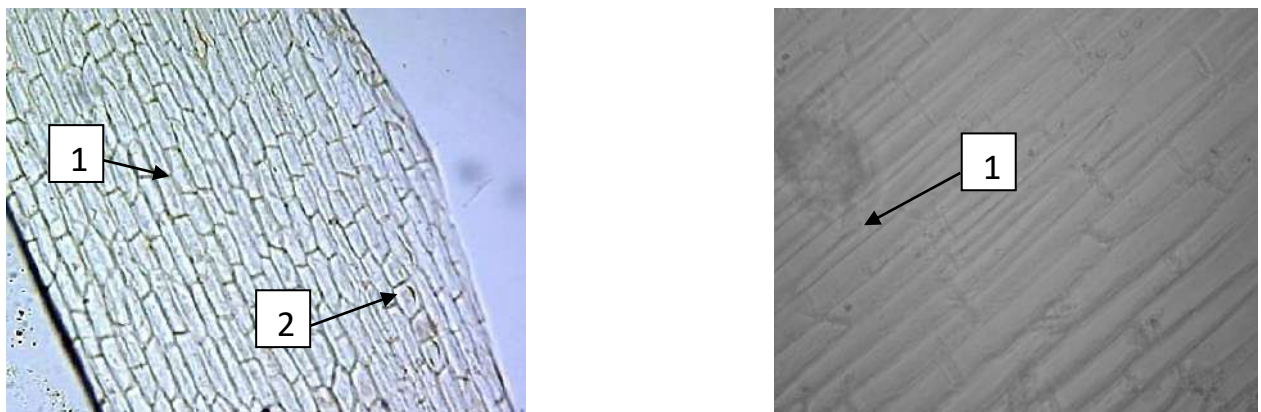


Рис. 5.4. Анатомічні ознаки черешка листка астрагції великої: 1 – епідерма, 2 – продиховий комплекс

Базисні клітини епідерми з поверхні черешка прямокутні, дещо поперечно витягнуті, мозаїчно укладені з вервичкопотовщеними оболонками

(рис. 5.4). Місцями клітини епідерми вкриті складчастою кутикулою. Продихи дрібні, оточені трьома побічними клітинами, одна з яких менша за інші (анізоцитний тип продихового апарату).

У науковій праці Anthony R. Magee і співавт. (2010) досліджено поперечні зрізи плодів родини *Apiaceae*, зокрема *Astrantia major* (рис. 5.5).

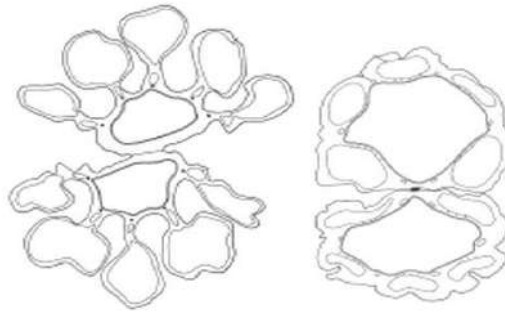


Рис. 5.5. Поперечні зрізи плодів *Astrantia major* [82]

Проведено морфолого-анатомічні дослідження трави астранції великої і встановлено діагностичні анатомічні ознаки, які використані для ідентифікації сировини: характерні звивисті клітини верхньої та нижньої епідерми листка, анізоцитний тип продихового апарату. Перспективою та практичним значення є використання встановлених анатомічних діагностичних ознак астранції великої при розробці проєкту методів контролю якості на лікарську рослинну сировину.

## 5.2 Числові показники доброякісності рослинної сировини

Під час розробки МКЯ на траву астранції великої нами визначені числові показники доброякісності сировини, а також досліджені їх зміни в процесі зберігання сировини, що дозволило встановити термін придатності сировини.

Зразки сировини трави астранції великої заготовляли в різних місцях зростання під час цвітіння. Ножами, серпами або секаторами зрізали верхівки стебел з листками і квітами та бутонами довжиною до 25 см. Заготівлю проводили при сухій погоді.

Зібрану сировину висушували на горищах під металевим дахом, на відкритому повітрі або в добре провітрюваних приміщеннях. Штучне сушіння проводили при температурі не вище +25 – 30 °С, контролюючи хід сушіння. Сушіння припиняли, коли стебла при згинанні ламалися. Вихід повітряно-сухої сировини складає 10 % від маси свіжозібраної.

Проведений товарознавчий аналіз трави астранції великої показав, що вміст суми поліфенолів в досліджуваних зразках знаходиться в межах 7,2 – 8,0 %, втрата в масі при висушування – 6,8 – 7,7 %, зола загальна – 5,51 – 7,8 %, сторонніх домішок – 0,5 – 0,7 %, мінеральних домішок – 0,2 – 0,4 %.

Дані товарознавчого аналізу трави астранції великої наведені в табл. 5.1.

*Таблиця 5.1*

**Результати товарознавчого аналізу зразків трави астранції великої**

№ серії сировини	Вміст суми поліфенолів, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 3	Втрата в масі при висушуванні, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 3	Зола загальна, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 3	Сторонні домішки, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 3	Мінеральні домішки, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 3
001	7,61 ± 0,07	6,96 ± 0,12	6,15 ± 0,12	0,6 ± 0,010	0,3 ± 0,010
002	7,24 ± 0,10	7,71 ± 0,09	7,78 ± 0,07	0,5 ± 0,014	0,2 ± 0,014
003	7,39 ± 0,10	7,05 ± 0,10	7,22 ± 0,10	0,7 ± 0,010	0,3 ± 0,010
004	7,93 ± 0,08	6,88 ± 0,12	5,51 ± 0,10	0,5 ± 0,005	0,4 ± 0,005
005	7,37 ± 0,10	6,92 ± 0,12	5,55 ± 0,10	0,5 ± 0,010	0,3 ± 0,014

Результати досліджень, наведені в табл. 5.1 свідчать, що втрата в масі при висушуванні, кількісний вміст суми поліфенолів в сировині не залежить від місця зростання рослини. Аналіз показників якості трави астранції великої наведені в табл. 5.2.

Таблиця 5.2

## Аналіз показників якості «Трава астранції великої» в процесі зберігання

№ серії	Опис трави астранції великої	Ідентичність	Кількісний вміст суми поліфенолів, %	Втрата в масі при висушуванні, %	Термін придатності, міс.	Висновки про зберігання
1	2	3	4	5	6	7
001	Цільна сировина. Цілі або різані, висушені, квітучі надземні частини рослини. Шматки стебелзелені, тонкі, циліндричні, до 3 мм у діаметрі. Листки глибоко-пальчасто-розділені, від 2 до 7 см завдовжки, видовжено-обернено-яйцеподібної форми; наявні дво-, тринадрізані, пилчасті частки, які закінчуються щетиною. Верхня частина листка темно-зелена, нижня – блідо-зелена. Суцвіття – зонтики, до 5 см у діаметрі; оточені білувато-рожевою обгорткою з великих видовжено-ланцетних, іноді	Відповідає вимогам проєкту МКЯ	не менше 7 %	не більше 10 %	36	придатна

Продовж. табл. 5.2

1	2	3	4	5	6	7
	<p>короткозубчастих листків, які перевищують квіти; у зонтику внутрішні квіти двостатеві, зовнішні – чоловічі. Зубці чашечки шиловидні, довші за пелюстки, ланцетні, зігнуті; стовпчики тонкі, довгі, з головчастою приймочкою. Смак гіркий. Запах специфічний.</p> <p>Подрібнена сировина. Подрібнена неоднорідна маса, кусочки листків, стебла та квіток різної форми зеленого кольору. Запах специфічний. Смак гіркий.</p> <p>Мікроскопія. Клітини верхньої епідерми зі слабохвилястими і рівномірно потовщеними оболонками. Клітини нижньої епідерми зі звивистими оболонками, між якими знаходиться багато продихів. Продиховий апарат анізоцитного типу, продихи зустрічаються на нижній стороні листка; друзи</p>					

Продовж. табл. 5.2

1	2	3	4	5	6	7
	<p>кальцію оксалату розташовані ланцюгом вздовж великих жилок.</p> <p>Базисні клітини епідерми з поверхні черешка прямостінні, дещо поперечновитягнуті, мозаїчно укладені з вервичкопотовщеними оболонками. Місцями клітини епідерми вкриті складчастою кутикулою. Продихи дрібні, оточені трьома побічними клітинами, одна з яких менша за інші (анізоцитний тип продихового апарату).</p>					
002	<p>Відповідає</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p>	<p>Відповідає</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p>	<p><math>7,61 \pm 0,07</math></p> <p><math>7,58 \pm 0,12</math></p> <p><math>7,46 \pm 0,24</math></p> <p><math>7,38 \pm 0,09</math></p> <p><math>7,35 \pm 0,18</math></p> <p><math>7,24 \pm 0,22</math></p> <p><math>7,16 \pm 0,14</math></p>	<p><math>7,22 \pm 0,30</math></p> <p><math>7,16 \pm 0,18</math></p> <p><math>7,07 \pm 0,20</math></p> <p><math>6,93 \pm 0,16</math></p> <p><math>6,90 \pm 0,20</math></p> <p><math>6,85 \pm 0,10</math></p> <p><math>6,80 \pm 0,10</math></p>	<p>–</p> <p>6</p> <p>12</p> <p>18</p> <p>24</p> <p>30</p> <p>36</p>	<p>Придатна</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p> <p>--</p>



Продовж. табл. 5.2

1	2	3	4	5	6	7
003	Відповідає	Відповідає	$7,76 \pm 0,07$	$7,68 \pm 0,22$	–	Придатна
	--	--	$7,59 \pm 0,18$	$7,56 \pm 0,20$	6	--
	--	--	$7,35 \pm 0,09$	$7,49 \pm 0,10$	12	--
	--	--	$7,32 \pm 0,14$	$7,40 \pm 0,20$	18	--
	--	--	$7,31 \pm 0,18$	$6,93 \pm 0,27$	24	--
	--	--	$7,18 \pm 0,10$	$6,84 \pm 0,18$	30	--
	--	--	$7,15 \pm 0,06$	$6,77 \pm 0,22$	36	--
004	Відповідає	Відповідає	$7,67 \pm 0,04$	$7,49 \pm 0,27$	–	Придатна
	--	--	$7,59 \pm 0,10$	$7,33 \pm 0,09$	6	--
	--	--	$7,46 \pm 0,08$	$7,28 \pm 0,10$	12	--
	--	--	$7,45 \pm 0,16$	$7,21 \pm 0,10$	18	--
	--	--	$7,45 \pm 0,20$	$7,14 \pm 0,12$	24	--
	--	--	$7,38 \pm 0,18$	$7,08 \pm 0,10$	30	--
	--	--	$7,31 \pm 0,20$	$7,01 \pm 0,17$	36	--

Продовж. табл. 5.2

1	2	3	4	5	6	7
005	Відповідає	Відповідає	$7,59 \pm 0,09$	$7,68 \pm 0,18$	–	Придатна
	--	--	$7,59 \pm 0,10$	$7,52 \pm 0,20$	6	--
	--	--	$7,44 \pm 0,10$	$7,38 \pm 0,18$	12	--
	--	--	$7,38 \pm 0,22$	$7,24 \pm 0,20$	18	--
	--	--	$7,24 \pm 0,18$	$7,16 \pm 0,14$	24	--
	--	--	$7,16 \pm 0,09$	$6,92 \pm 0,20$	30	--
	--	--	$7,14 \pm 0,09$	$6,88 \pm 0,17$	36	--

Отримані результати свідчать, що протягом трьох років числові показники якості та кількісний вміст суми поліфенолів у траві астранції великої суттєво не змінюються. Це дозволяє нам встановити термін придатності для трави астранції великої становить до трьох років. Числові показники доброякісності сировини внесено до проекту МКЯ «Астранції трава».

### 5.3 Інструкція із заготівлі та сушіння трави астранції

Астранція велика (*Astrantia major* L.) – багаторічна трав'яниста рослина родини Зонтичні (*Apiaceae*). Надземна частина астранції великої складається з розгалуженого і облісненого стебла довжиною до 70 см. Нижні листки глибокопальчасто-розділені з видовжено-обернено-яйцеподібними, часто дво-тринадрізними, пилчастими частками, які закінчуються щетиною; суцвіття – зонтики, 3,4 – 4,5 см у діаметрі; оточені білувато-рожевою обгорткою з великих видовжено-ланцетних, іноді короткозубчастих листків, які перевищують квіти; у зонтику внутрішні квіти двостатеві, зовнішні – чоловічі. Зубці чашечки шиловидні, довші за пелюстки, ланцетні, зігнуті; стовпчики тонкі, довгі з головчастою приймочкою. Плоди подовгувато-циліндричні, злегка стиснуті, напівплодики круглі; з черевця плоскі, основні великі; ендосперм з внутрішньої сторони плоский, зі спини опуклий.

*Astrantia major* L. (*Apiaceae*) – це центрально-європейський вид, поширений переважно в горах. На рівнині є рідкісним. В Україні досить численний у Карпатах, зрідка трапляється на Поділлі та Правобережному Поліссі у лісових масивах, на вологих узліссях, у заростях чагарників. Утворює досить численні популяції. Популяції рослини на Прикарпатті численні, вид зростає масово, добре відновлюється.

Сировиною астранції великої є трава (*Herba Astrantiae*), яку заготовляють під час цвітіння. При заготівлі серпами або секаторами зрізають квітучі верхівки стебел довжиною до 10 см. Заготівлю проводять при сухій погоді, після того як зійде роса.

Заготівлю сировини можна проводити протягом 15-20 днів. Зібрану сировину сортують, видаляючи поживкле листя, складають в мішки і негайно відправляють на висушування, тому що сировина в мішках зігрівається і при висушуванні темніє.

Морфологічні ознаки астранції великої представлені в табл. 5.3.

Таблиця 5.3

### Морфологічні ознаки астранції великої

Діагностичні ознаки	Стебло	Листки	Квіти, суцвіття
Астранція велика	Розгалужене, до 70 см заввишки	Глибокопальчасто-розділені з видовженообернено-яйцеподібними частками	Суцвіття – зонтики 3,4 – 4,5 см у діаметрі; оточені білувато-рожевою об-горткою з великих видовжено ланцетних, іноді коротко зубчастих листків, які перевищують квіти; у зонтику внутрішні квіти двостатеві, зовнішні – чоловічі.

Сушать сировину в затінку на повітрі або в приміщенні, яке добре провітрюється, розкладаючи тонким шаром на піддон. Штучне сушіння

проводять при температурі не вище 25-30°C. Сушіння припиняють, коли стебла при згинанні ламаються. Під час сушіння траву рекомендується часто перевертати, щоб не допустити розмноження пліснявого грибка, оскільки в цьому випадку вона стане непридатною для застосування. Вихід повітряно-сухої сировини 25 %.

Згідно з проєктом МКЯ «Астранції трава», сировина складається з верхніх частин стебел з листками, квітами, суцвіттями, розміром до 2,5 см. Запах специфічний. Смак гіркий.

Числові показники: сума поліфенолів в перерахунку на пірогалол не менше 7 %, втрата в масі при висушуванні не більше 10 %, золи загальної не більше 10,0 %, сторонніх домішок не більше 1 % та мінеральних домішок не більше 1 %.

Готову сировину пакують в мішки по 15 кг або в тюки по 40 кг. Зберігають на стелажах в сухому, прохолодному, затемненому, добре провітрюваному приміщенні при температурі не вище + 25 °C і вологості 80%. Термін придатності сировини 3 роки.

#### 5.4 Дослідження сировинних запасів астранції великої на території Прикарпатського регіону

Для забезпечення сировиною запропонованого фармакологічного засобу нами визначено запаси надземних органів астранції великої на території Прикарпатського регіону в 2012 - 2016 рр. Для опису місця знаходження заростей використано дані геоботанічних досліджень, лісових господарств, географічні карти, прилад GARMIN GPS 12. В процесі роботи використовували методичні матеріали І. Л. Крилової, А. І. Шретера (1971) щодо вивчення запасів дикорослих лікарських рослин [152].

Характеристику встановлених місць зростання астранції великої наведено в табл. 5.4.

**Місця зростання астранції великої на території Івано-Франківської області**

Місце і рік збору	Площа, га	Еколого-фітоценотичне угруповання
Івано-Франківська обл., Калуський район, с. Боднарів	0,4	Геліофіт, мезотроф і мезофіт, зростає переважно на відкритих ділянках в передгірному поясі.
Івано-Франківська обл., Надвірнянський район, с. Дора	1,5	Геліофіт, мезотроф і мезофіт, зростає на гірських схилах і луках в субальпійському поясі.
Івано-Франківська обл., Тисменецький район, с. Марківці	1,2	Геліофіт, мезотроф і мезофіт, зростає переважно на відкритих ділянках в лісовому поясі.
Івано-Франківська обл., Надвірнянський район, окол. м. Ворохта	1,2	Геліофіт, мезотроф і мезофіт, зростає на гірських схилах і луках в субальпійському поясі.
Івано-Франківська обл., окол. м. Івано-Франківськ	0,4	Геліофіт, мезотроф і мезофіт, зростає переважно на відкритих ділянках в лісовому поясі.
Івано-Франківська обл., Долинський район, с. Гошів	0,6	Геліофіт, мезотроф і мезофіт, зростає переважно на відкритих ділянках в лісовому поясі.

Розповсюдження досліджуваних популяцій астранції великої на території Івано-Франківської області наведено на рис. 5.6.



Рис. 5.6. Карта-схема розповсюдження астрагції великої на території Івано-Франківської області

Для визначення запасів сировини астрагції великої використовували метод облікових ділянок, який застосовують для визначення урожайності сировини великих трав'янистих рослин [153].

Для визначення запасів астрагції великої визначали дві величини – площу зарості та її урожайність. Площу зарості визначали, прирівнюючи її границі до певної геометричної фігури, встановлювали параметри для розрахунку площі цієї фігури. Надземну частину рослини зрізали ножем або серпом. Сировину зважували в стані природної вологості. Для проведення перерахунку на повітряно-суху сировину використовували визначений експериментально коефіцієнт усушки (для трави – 0,25). Загальну кількість сировини, яка може бути зібрана від особин різноговікового періоду рослини на даній території визначали як біологічний запас. Експлуатаційний запас

визначали як добуток середньої урожайності на площу зарості. Обсяг можливих щорічних заготівель надземної частини становить 1/5 експлуатаційного запасу сировини [154- 155].

Запаси надземних органів астранції великої на досліджуваних заростях наведені в табл. 5.5.

Таблиця 5.5

**Запаси астранції великої трави на досліджуваних заростях**

Місце знаходження зарості, площа	Урожайність, г/м <sup>2</sup>	Біологічний запас, кг	Експлуатаційний запас, кг	Обсяг можливої щорічної заготівлі, кг
Івано-Франківська обл., Калуський район, с. Боднарів, 0,4 га	193 ± 5,7	772	164,05	27,34
Івано-Франківська обл., Надвірнянський район, с. Дора, 1,5 га	269 ± 7,23	4035	857,5	142,9
Івано-Франківська обл., Тисменецький район, с. Марківці, 1,2 га	350 ± 5,63	4200	892,5	148,75
Івано-Франківська обл., Надвірнянський район, окол. м. Ворохта, 1,2 га	130 ± 6,48	1560	331,5	55,25
Івано-Франківська обл., окол. м. Івано-Франківськ, 0,4 га	208 ± 4,9	2912	618,75	103,12
Івано-Франківська обл., Долинський район, с. Гошів, 0,6 га	138 ± 8,49	828	175,95	29,32

Результати ресурсознавчих досліджень, наведені в табл. 5.5 вказують, щов різних місцях зростання у Івано-Франківської області середня урожайність надземної частини астранції великої становить 130 - 350 г/м<sup>2</sup>.

Обсяг можливих щорічних заготівель астранції великої на встановлених заростях становить 506,68 кг. Отже, враховуючи розповсюдження астранції



великої на території Івано-Франківської області, можна зробити висновок, що запаси сировини є недостатні для промислової заготівлі. Таким чином, результати проведених досліджень вказують, що досліджувану рослину потрібно культивувати в ґрунтово-кліматичних умовах Прикарпаття.

### 5.5 Культивування астранції великої в умовах Прикарпаття

*Насіневий спосіб розмноження.* Астранція розмножується насінням або самосівом. Насіння астранції висівають в ґрунт відразу після збору, під зиму, або навесні. Зібране восени насіння астранції великої поміщають на 2-3 місяці в овочевий ящик холодильника для стратифікації, а на весні висівають на розсаду. Висівають насіння в ґрунт під прозоре покриття при температурі 20-23 °С до появи сходів.

Коли насіння почне проростати, покриття прибирають, а сходи переставляють якомога ближче до світла. Через тиждень-другий підрослі сіянці проріджують. Доглядають за розсадою астранції, як і за будь-якою іншою: поливають у міру висихання верхнього шару субстрату, злегка розпушують ґрунт у контейнері, стежать за тим, щоб у кімнаті під час провітрювання не виникали протяги.

У стадії розвитку першої пари справжніх листочків розсаду астранції пікірують по окремих горщиках із такою ж ґрунтосумішшю, в яку проводився посів насіння. За десять днів до висадки сіянців проводять загартовування: щодня на певний час виносять на відкритий балкон або терасу, поступово збільшуючи тривалість цієї процедури.

Астранцію велику висаджують у відкритий ґрунт в кінці травня або на початку червня. Астранція прекрасно почувається як на відкритих сонячних ділянках, так і в тіні дерев. Ґрунт астранції потрібен пухкий, родючий, але особливих вимог щодо складу ґрунту вона не має.

Висаджують сіянці на відстані 30-40 см один від одного. Глибина ямки має бути такою, щоб рослина помістилася в ній на тому ж рівні, на якому вона росла. Закінчується посадка астранції великої ущільненням ґрунту навколо кущиків і рясним поливанням сіянців. Зацвіте астранція з насіння через три роки.

На одному місці без пересадки астранція може рости до 10 років, але краще через 5-7 років кущ розсадити. Іноді, в особливо дощові сезони, астранція потребує підв'язування до опори.

*Вегетативне розмноження астранції великої.* Астранцію велику краще розмножувати поділом кореневища. На початку весни, до появи листя, або восени, коли вегетаційний період рослини наблизиться до кінця, розділювали кореневе гніздо на кілька частин і розсаджували ці частини на відстані 40-50 см одна від одної, додавши в посадкову яму перегній. Через місяць на ділянці астранції почнуть з'являтися паростки, через рік вони перетворяться на повноцінні кущі, а через три роки молоді рослини зацвітуть [156].

5.5.1 Метеорологічна характеристика умов зростання астранції великої. Клімат району досліджень відноситься до помірно континентального типу. Зима відносно тепла, з частими відлигами. Середня температура найхолоднішого місяця (січня) становить мінус 5-6°C, абсолютний мінімум температури – мінус 32-36°C. Майже щороку мінімальна температура буває мінус 21-26°C. Середня температура лютого наближається до середньої січневої.

Починаючи з березня, температура підвищується спочатку на 4-5°C, а влітку – на 1-2°C за місяць, найтеплішим є липень, середня його температура становить 18-19°C. Абсолютний максимум температури спостерігається в липні й сягає 35-38°C. За багаторічними даними, перехід середньої добової температури через 0°C, навесні на території області припадає на кінець першої – початок другої декади березня.

Восени стійкий перехід температури через  $0^{\circ}\text{C}$  від плюсових до мінусових температур спостерігається в кінці листопада. Отже, період з середніми плюсовими температурами триває в середньому 240-260 днів.

Середньомісячна температура в найхолоднішого місяця опускається до  $5^{\circ}\text{C}$ . На території західного Прикарпаття мінімальна температура ґрунту на глибині залягання вузла кушіння озимих культур і кореневої шийки багаторічних трав дорівнює переважно  $5-7^{\circ}\text{C}$  морозу. Повторюваність температури ґрунту, за якої можливе пошкодження посівів, становить 5-21 %, тобто 1-2 рази на десятиріччя. Відлиги та льодова кірка є типовими явищами.

Початок безморозного періоду в повітрі настає в останній п'ятиденці квітня, а кінець – у першій п'ятиденці жовтня. Але в окремі роки останні весняні заморозки в повітрі спостерігаються в травні, а перші осінні – у вересні. Проте ймовірність заморозків у травні та вересні невелика. Середня тривалість безморозного періоду становить 150-170 днів.

Сума активних температур з 1 липня до переходу середньодобової температури повітря восени нижче плюс  $10^{\circ}\text{C}$  становить  $1500-1600^{\circ}\text{C}$ . Період з температурами вище  $10^{\circ}\text{C}$  на Прикарпатті починається в кінці квітня і триває майже до середини першої декади жовтня. Середньодобова температура вище  $15^{\circ}\text{C}$  настає в кінці травня і утримується до початку вересня, а тривалість цього періоду становить 90-100 днів.

Середня багаторічна сума температур становить  $2200-2500^{\circ}\text{C}$ , а середня тривалість вегетаційного періоду – 200-210, безморозного – 160-170 днів.

За даними Івано-Франківської метеостанції кількість опадів за рік 570-800 мм. У холодний період року (листопад – березень) опадів випадає лише 25-30 % річної суми, що становить близько 140 мм. Починаючи з квітня, місячна кількість опадів істотно зростає. У теплий період року (квітень – жовтень) їх випадає 450-500 мм. Максимум опадів припадає на літній період, червень, липень – 90-100 мм. В районі досліджень буває від 90 до 115 днів на рік з опадами 1 мм за добу. За вегетаційний період (квітень – жовтень) кількість днів з такими опадами становила: у першій половині (квітень – липень) – від 35

до 50, у другій (серпень – жовтень) – 20-25 днів. Кількість днів з опадами 5 мм за добу становить відповідно 15-20 і 10-15 днів. Максимальна інтенсивність злив припадає на літні місяці, особливо на липень. Найбільші добові суми опадів коливаються від 70 до 110 мм.

Значної шкоди завдає град, який часто супроводжується сильними зливами та грозою. Середня кількість днів з градом становить 1-2, максимум 4-6 на рік.

Сталий сніговий покрив у середньому буває в 8 роках із 10. Він утворюється в кінці грудня, а на початку березня або навіть в кінці лютого тане. Взимку часто бувають відлиги, під час яких сніг розтає. Висота снігового покриву переважно становить 11-20 см. Найбільшою вона є в другій половині зими. В окремі роки в лютому висота снігового покриву сягає 50 см. Кількість днів зі сталим сніговим покривом становить 60-80 днів.

**5.5.2 Характеристика ґрунтового покриву дослідних ділянок.** Ґрунтовий покрив дослідних ділянок представлений дерново-підзолистими поверхнево оглеєними ґрунтами.

Структура в орному шарі грудкувато-пилувата, тому ці ґрунти дуже запливають після дощів, утворюючи міцну кірку. Водно-повітряний режим у них незадовільний, оскільки періодично надмірно звожуються, в результаті слабого стоку поверхневих вод та наявності дуже ущільненого ілювіального горизонту. Надмірне поверхневе оглеєння збагачує верхні горизонти ґрунтів шкідливими для рослин сполуками: закисними формами Fe, Al, Mn.

За агрохімічними даними в орному шарі вони містять близько 1,5-2,2 % гумусу. З глибиною відсоток його різко зменшується. Реакція ґрунту сильнокисла та кисла (рН сольової витяжки 4,4-4,8), гідролітична кислотність — 5,8-6,0 мг-екв. на 100г ґрунту. Кількість увібраного Ca в ґрунтах цієї групи становить 6,3 мг-екв., Mg 2,5 мг-екв. на 100г ґрунту, що вказує на низьку їх насиченість основами. У зв'язку з низьким вмістом гумусу ці ґрунти бідні на азот, а кисла реакція пригнічує процеси нітрифікації. Тому нагромадження рухомих сполук азоту проходить повільно. Вміст рухомих сполук фосфору тут

становить 4,7-6,5 мг і калію 4,3-6,3 мг на 100г ґрунту. В цілому ґрунти бідні на поживні речовини.

Отже, ці ґрунти є бідними на органічні й мінеральні поживні речовини і реагують на внесення мінеральних добрив, особливо азотні і фосфорні. Для усунення надмірної кислотності й поліпшення фізичних властивостей вони потребують вапнування.

5.5.3 Фенологічні спостереження за розвитком астранції великої. Фенологічні спостереження за розвитком астранції великої проводили за методикою Держкомісії із сортовипробування сільськогосподарських культур на дослідних ділянках лікарських рослин ІФНМУ. Генеративний період розвитку астранції великої включає процеси формування суцвіть і поступового якісного перетворення їх структурних елементів (бутонів, квіток, зав'язі, плодів).

Для астранції великої характерний тривалий розтягнутий генеративний розвиток. Весняне відростання (рис. 5.7) астранції великої починається, коли ґрунт прогріється до температури + 5 °С.



Рис 5.7. Астранція велика на дослідних ділянках. Фаза початок відростання.

У астранції великої розвиток простих зонтиків у межах складного та квіток у простому зонтику проходить доцентрово, в акропетальній послідовності. Це стосується процесів розкриття зародкового суцвіття,

пожовтіння бутонів, розпускання квіток, цвітіння, утворення зав'язі тощо. У результаті неодночасності настання основних фаз у межах складного зонтика можуть зустрічатись жовті бутони та квітки, квітки та зав'язь, перекриття окремих фаз становить 2 - 4 дні. Ступінь цвітіння зонтика рідко досягає 100 % (рис. 5.8). Протягом наступних 5-6 днів відбувається почергове пожовтіння бутонів, яке частково співпадає з фазою цвітіння. Цвітіння починається на 13-14-й день після появи суцвіття і триває 6-8 днів, формування зав'язі спостерігається відповідно на 16-18-й день і триває 14-16 днів. Формування плодів починається через місяць після появи суцвіття.

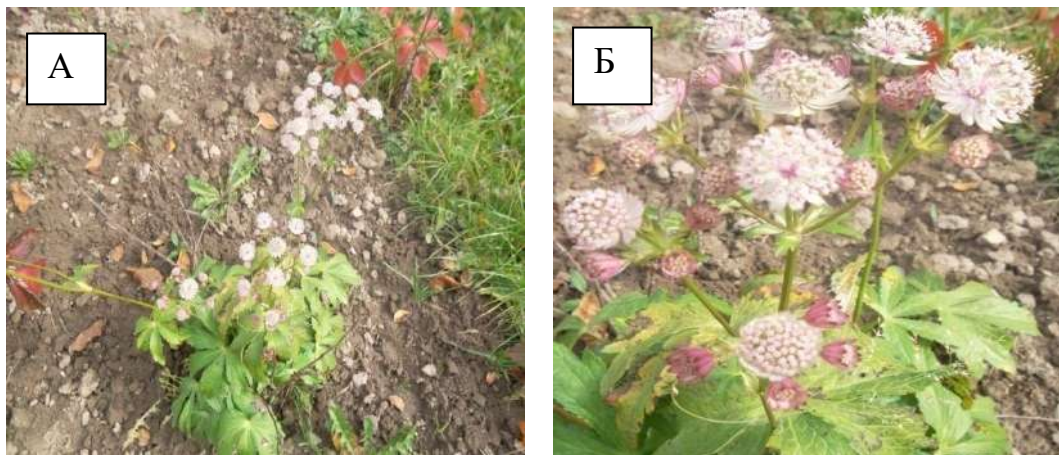


Рис 5.8. Астранція велика на дослідних ділянках. Фаза цвітіння: А – початок цвітіння, Б – масове цвітіння

Розвиток центрального зонтика астранції великої проходить більш рівномірно та дружно порівняно із зонтиками бічних пагонів, на яких одночасно можна спостерігати жовті бутони, квітки, зав'язь, а перекриття фаз досягає 5 днів. Неодночасність розвитку зонтика особливо помітна у фазі бутонізації, цвітіння, утворення зав'язі, які є порівняно нетривалими та візуально істотно відрізняються між собою.

Тривалість фази цвітіння в межах рослини тісно корелює зі ступенем її галузіння. Так, тривалість цвітіння центрального зонтика становить 6-8 днів.

Цвітіння зонтиків першого порядку подовжує загальну тривалість фази в межах рослини до 16-17 днів, другого порядку – до 24-26 днів, четвертого порядку (за наявності) – до 43 днів.

При переході до плодоутворення та досягання ця відмінність частково нівелюється за рахунок значної тривалості фази та формування якісних, зовнішньо менш виражених ознак у процесі набуття плодами стиглості. Настання фаз генеративного розвитку в астранції великої проходить у базипетальній послідовності. Спочатку з верхівкової (термінальної) бруньки, яка оточена піхвою верхнього листка, що розгортається на центральному стеблі, з'являється зародкове суцвіття. Інтервал між появою суцвіть на центральному стеблі та бічних пагонах першого порядку становить одну декаду, ще через декаду суцвіття з'являються на бічних пагонах другого порядку. Відставання зберігається і в подальшому, під час цвітіння, формування зав'язі, плодів тощо, зумовлюючи черговість настання та значне подовження основних фаз розвитку в межах рослини. З другої-третьої декади липня (від початку формування плодів) на астранції великій одночасно можна побачити всі стадії розвитку генеративних органів: зародки майбутніх суцвіть, розкриті зелені та квітучі зонтики, зонтики з плодами різного ступеня стиглості. Астранція велика розвивається неодноразово, що створює ілюзію довготривалого генеративного розвитку. Індивідуальні особливості онтогенезу можуть корегуватися агрометеорологічними умовами року.

В онтогенезі астранції великої генеративний віковий період, який включає фази бутонізації, цвітіння, плодоутворення, починається на 60-62-й день після появи повних сходів і триває 70-76 днів. Початок бутонізації астранції великої зафіксований у другій декаді червня, повна фаза – у третій декаді червня. Початок цвітіння спостерігається в третій декаді червня (2016 р.) – першій декаді липня (2017 р.), повне цвітіння – у першій (2016 р.) – другій (2017 р.) декадах липня. Початок формування плодів зафіксований у другій (2016 р.) – третій (2017 р.) декадах липня, стиглість – у третій декаді серпня (2016 р.) – першій декаді вересня (2017 р.).

За результатами фенологічних спостережень встановлено оптимальні терміни заготівлі рослинної сировини астранції великої. Проведені фенологічні дослідження розвитку астранції великої на дослідних ділянках та встановлено, що астранція має монокарпічний цикл розвитку.

## ВИСНОВКИ

1. Проведено морфолого-анатомічні дослідження трави астранції великої і встановлено діагностичні анатомічні ознаки, які використані для ідентифікації та при розробці проєкту методів контролю якості на лікарської рослинної сировини: характерні звивисті клітини верхньої та нижньої епідерми листка, анізоцитний тип продихового апарату.

2. Встановлено ареал поширення та еколого-фітоценотичні умови зростання астранції великої на території Івано-Франківської області. Результати ресурсознавчих досліджень вказують, що в різних місцях зростання у Івано-Франківській області середня урожайність надземної частини астранції великої становить становить 130 - 350 г/м<sup>2</sup>. Обсяг можливих щорічних заготівель астранції великої на встановлених заростях становить 506,68 кг.

3. Проведено фенологічні дослідження за розвитком астранції великої. Встановлено, що рослина має монокарпічний цикл розвитку. За характером ритмів розвитку її відносять до рослин, що розвиваються неодноразово створюючи ілюзію довготривалого генеративного розвитку. Індивідуальні особливості онтогенезу екземплярів астранції великої залежать від агрометеорологічних показників.

4. Вивчено насіннєвий спосіб вирощування астранції великої з висіванням стратифікованого насіння в контейнери, що забезпечує збільшення схожості, зменшення травмування кореневої системи під час пересаджування розсади у відкритий ґрунт. Встановлено, що астранція велика розмножується вегетативним способом (поділом кореневища).



5. Проведений товарознавчий аналіз трави астранції великої показав, що вміст суми поліфенолів знаходився в межах 7,24 – 7,93 %, втрата в масі при висушуванні – 6,88 – 7,71 %, загальна зола 5,51 – 6,15 %, сторонні домішки – 0,5 – 0,7 %, мінеральні домішки 0,2 – 0,4 %.

6. Опрацьовано прийоми заготівлі, первинної обробки та сушіння трави астранції великої, які включені до проєкту інструкції із заготівлі та сушіння трави астранції великої.

7. За результатами фенологічних спостережень встановлено оптимальні терміни заготівлі рослинної сировини астранції великої. Проведені фенологічні дослідження розвитку астранції великої на дослідних ділянках та встановлено, що астранція має монокарпічний цикл розвитку.

Матеріали даного розділу висвітлено у публікаціях [149, 156].

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

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

1. В траві, листках та стеблах астранції великої встановлено наявність фенольних сполук: гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, танінів; терпеноїдів: тритерпенових сапонінів; алкалоїдів; карбонових кислот: аскорбінової, щавлевої, лимонної; вільних моноцукрів, ВРПС; амінокислот.

2. За допомогою ПХ, ТШХ, ГХ-МС, ВЕРХ в траві астранції великої ідентифіковано 69 речовин, які представлені вуглеводами, амінокислотами, органічними кислотами, флавоноїдами, танінами, леткими сполуками, фітостеролами, макро- та мікроелементами. Вперше виявлено терпени та терпеноїди: вербенол, тимол, каріофілен, *транс- $\alpha$ -бергамотен*,  *$\beta$ -фарнезен*, гермакрен *D*,  *$\alpha$ -фарнезен*, біциклогермакрен, спатуленол, каріофілену оксид, ісоледен, каларен, гексагідрофарнезилацетон; гідроксикоричні кислоти: кофейна та ферулова; флавоноїди: апігенін, лютеолін, гіперозид; метаболіти танінів: галова кислота, галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, епікатехіну галат, катехіну галат, елагова кислота; жирні кислоти: пальмітинова, стеаринова, бегенова, лігноцеринова, пальмітолеїнова, ліноленова; стероїдні сполуки:  $\gamma$ -ситостерол, кампестерол, стигмаста-5,24(28)-дієн-3-ол.

3. У траві астранції великої методом ВЕРХ ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 17 речовин фенольної природи: домінуючою гідроксикоричною кислотою є хлорогенова (1,02 %), серед флавоноїдів – рутин (0,18 %), катехінів – епігалокатехін (1,55 %). Методом ГХ-МС встановлено

жирнокислотний склад та ідентифіковано 8 сполук загальним вмістом 8303,14 мг/кг, в тому числі 4 насичені жирні кислоти і 4 ненасичені жирні кислоти. У траві астранції великої ідентифіковано 17 амінокислот: в тому числі 7 незамінних: треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін і лізин; 3 умовно незамінних: тирозин, гістидин, аргінін; 7 замінних: гліцин, аланін, серин, аспарагінова та глютамінова кислоти, пролін, цистин. Домінуючими амінокислотами є аспарагінова кислота (13,08 мг/100 г), гліцин (12,75 мг/100 г), аргінін (10,25 мг/100 г), аланін (9,15 мг/100 г), серин (7,95 мг/100 г). Загальна сума амінокислот у траві астранції великої становить 102,94 мг/100 г. Виділено та визначено кількісний вміст ВРПС, ПР, ГцА та ГцБ; встановлено їх моносахаридний склад, який представлено глюкозою, арабінозою, ксилозою, рамнозою, фруктозою та галактуроновою кислотами. Встановлено макро- і мікроелементний склад досліджуваної сировини та визначено кількісний вміст К, Са, Mg, Cu, Fe, Zn, Mn.

4. Хромато-мас-спектрометричним методом ідентифіковано 19 летких сполук. Встановлено, що вони представлені в основному сесквітерпеноїдами. Домінуючими є каларен (121,08 мг/кг) та  $\beta$ -фарнезен (82,24 мг/кг). Ідентифіковано та кількісно визначено стероїдні сполуки:  $\gamma$ -ситостерол (437,17 мг/кг), кампестерол (18,76 мг/кг) і сліди стигмаста-5,24(28)-дієн-3-олу.

5. Визначено кількісний вміст суми поліфенолів (від 3,47 % до 7,65 %); суми флавоноїдів (від 3,67 % до 5,36 %); окиснюваних поліфенолів (від 4,18 % до 6,92 %); аскорбінової кислоти (від 0,154 % до 0,173 %); вільних органічних кислот (від 1,09 % до 2,91 %); суми гідроксикоричних кислот (від 1,60 % до 6,41 %) та вітаміну К (від 0,22 % до 0,26 %) залежно від виду сировини.

6. Встановлено оптимальні параметри отримання сухих екстрактів з трави астранції великої: ступінь подрібнення сировини – від 0,5 до 2,5 мм; екстрагент – вода очищена або 70 % етанол; співвідношення сировина-екстрагент – 1:15 (для води очищеної) та 1:10 (для 70 % етанолу); час екстракції – 30 хв, кратність екстракції – 3.

7. Одержано екстракти (екстрагенти – вода очищена та 70 % етанол) трави астранції великої, які є нетоксичними, проявляють протизапальну, антимікробну, ранозагоювальну та кровозупинну активність.

8. Визначено макро- та мікроскопічні ознаки цільної та подрібненої сировини, числові показники доброякісності, їх зміни в процесі зберігання та встановлено термін придатності (до 3 років).

9. Встановлено місця зростання астранції великої на Прикарпатті. Здійснено вивчення виявлених фітоценозів та встановлено запаси сировини. Проведено фенологічні спостереження за розвитком астранції великої на дослідних ділянках та встановлено можливості її інтродукції.

10. За результатами фітохімічного та морфолого-анатомічного досліджень розроблено проекти МКЯ «Астранції трава», «Астранції трави екстракт сухий», «Інструкції із заготівлі та сушіння трави астранції».

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Пименов М. Г., Остроумова Т. А. Зонтичные (*Umbelliferae*) России: М. : Товарищество научных изданий КМК, 2012. 477 с.
2. Флора УРСР / М. В. Клокова, О. Д. Вісюліна – К.: в-во Академії наук УРСР, 1955. Т. VII. С. 460 - 477.
3. Carolina I. Calviño Stephen R. Downie. Circumscription and phylogeny of Apiaceae subfamily Saniculoideae based on chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2007. №1. P. 2 - 17.
4. Флора СССР: В 30-ти т. [Под ред. акад. В. Л. Комарова]. – М. : Изд-во АН СССР, 1936. Т. XVI. С. 36 – 66.
5. Визначник рослин України. К. : Урожай, 1986. 878 с.
6. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За ред. акад. АН УРСР А. М. Гродзинського. К. : Українська енциклопедія ім. М.П. Бажана, 1990. С. 344 – 345.
7. Доброчаева Д. Н., Котов М. И., Прокудин Ю. Н. и др. Определитель высших растений Украины. К. : Фитосоциоцентр, 1999. 2 изд. стереот. С. 225 – 228.
8. Грицик А. Р., Коляджин Т. І. Виявлення заростей та ідентифікація астранції великої на Прикарпатті. *Український вісник психоневрології*. 2012. Т. 20, Вип. 2. С. 67 – 68.
9. Грицик А. Р. Дослідження особливостей зростання лікарських рослин в Українських Карпатах *Запорожский медицинский журнал*. 2008. Т.1. № 2 (47). С. 137 – 139.
10. K. Hiller Große Sterndolde und Sanikel. Zwei Режим доступу: <https://www.deutsche-apotheker-zeitung.de/daz-az/2001/daz-35-2001/uid-1354>
11. Вивчення червонокнижних видів рослин з метою їх збереження на прикладі астранція велика (*astrantia major* L.) : матеріали наукової конференції 10 – 13 верес. смт. Шацьк. 2009. С. 52 - 55.

12. Копитко У. І. Структура популяцій *Astrantia major* L. в Чорногорі (Українські Карпати). *Вісник Львів. УН-ТУ*. 2008. № 46. С. 83 - 88.
13. Ayla Kaya. The genus *Astrantia* L. in Turkey: morphology and anatomy. *Acta Bot. Croat.* 2003. № 62 (2). P. 89 – 102.
14. Копитко У. І. Основні популяційні показники *Astrantia major* L. у різних екологічних умовах. *Вісник Львів. УН-ТУ*. 2010. № 54. С. 172 - 176.
15. Contribution to plant genome size knowledge first assessments in five genera and 30 species angiosperms from western Balkans. Joan Vallès, Neđad Bašić , Faruk Bogunić, Mickael Bourge [and etc]. *Botanica Serbica*. 2011. № 38 (38). P. 25 - 33.
16. Копитко У. І., Царик Й. В. Метапопуляційна організація *Astrantia major* L. на Північному макросхилі Чорногори (Українські Карпати). *Екологія та ноосферологія*. 2008. Т. 19. № 1–2. С. 53 - 58.
17. Копитко У. І. Консорти *Astrantia major* L. в Чорногорі (Українські Карпати). *Вісник Львів. УН-ТУ*. 2009. № 51. С. 89 - 92.
18. Копитко У. І. Онтогенез *Astrantia major* L. (Аріасеae). *Наукові основи збереження біотичної різноманітності: матеріали дев'ятої наукової конференції молодих учених*. 1-2 жовт. Львів. 2009. С. 72 - 73.
19. Костышин С. С., Сметанюк О. И., Перепелица О. О. Особенности накопления фторидов в растениях луговых биотопов Северной Буковины. *Сибирский экологический журнал*. 2011. №6. С. 843 - 849.
20. Парнікоза І. Ю., Гільчук П. В. Маршрутне дослідження ценопопуляцій рідкісних і зникаючих рослин Рахівського району Закарпатської області. *Заповідна справа в Україні*. 2002. Том 8. Випуск 1. С. 35-39.
21. Воткальчук Е. А. Созологический анализ флоры Вигорлат-Гутинского хребта (Украинские Карпаты). *Фиторазнообразие Восточной Европы*. 2015. №9 (1). С. 102 - 111.
22. Ященко П. Т., Надорожняк О. Я. Особливості фітомеліорації траси газопроводу в Сколівських Besкидах і ренатуралізації її рослинного покриву. *Пожижевська : матер. Міжн. наук. конф., присвяченої 50-річчю функціонування*

високогірного біологічного стаціонару. 23 – 27 верес. 2008 Львів, 2008. С. 460 – 462.

23. Дідух Я.П. Основи біоіндикації. К. *Наукова думка*. 2012. С. 159.

24. Куцела О. Я., Куцела Т. М. Лікарські рослини дендропарку Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника. *Вісник Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника*. Серія Біологія. Івано-Франківськ. 2009. Вип. XIV. 192 с.

25. Андрієнко Т. Л., Коніщук В. В., Прядко О. І. Рідкісні види судинних рослин Волинської області. *Заповідна справа в Україні*. 2009. Т. 15. С. 20 - 26.

26. Царик Й. В. Консорція і збереження біологічного різноманіття. *Праці НТШ*. 2001. Т. 7. С. 13 – 18.

27. Копитко У. І., Сачок О. Комахи – запилювачі видів *Astrantia major* L. (*Apiaceae*), *Arnica montana* L. (*Asteraceae*) та *Knautia dipsitifolium* Kreutzer (*Dipsacaceae*) в Чорногорі (Українські Карпати). *Вісник Львівського університету*. 2011. № 56. С. 171 – 176.

28. Боднар Л. М. Рідкісні та зникаючі види лікарських рослин Закарпатської області та стратегії їх охорони. *Фітотерапія*. Часопис. 2013. №3. С. 77 - 79.

29. Лукс Ю. Л. К вопросу о терминологии и методике искусственного переноса растений в природные экосистемы. *Ботан. журн*. 1981. Т. 66, № 7. С. 1051 – 1060.

30. Іванюк А. С. Історія інтродукції рідкісних червонокнижних рослин в Тернопільській області. *Питання біоіндикації та екології*. Запоріжжя: ЗНУ. 2008. Вип. 13. № 1. С. 3 - 9.

31. Чуйко Т. М., Рибак С. Б. Інтродукція деяких тіньовитривалих рослин природної флори західного регіону України для потреб озеленення. *Стан і тенденції розвитку лісівничої освіти, науки та лісового господарства в Україні*. 2004. № 14.6. С. 98 - 102.

32. Torchyk S. P., Titok V. V. Biological characteristics of *Astrantia major* L. in ex situ collections Conservation of Plant Diversity: *International Scientific Symposium*. Chisinau. Republic of Moldova. 2014. 134 p.
33. Торчик С. П., Титок В. В. Особенности развития и семенного размножения некоторых редких и исчезающих растений природной флоры Беларуси в условиях культуры. *Весті навіянальнай акадэміі навук Беларусі*. 2013. №3. С. 23 - 27.
34. Попович С. Ю. , Михайлович Н. В. Природні види рослин та їх угруповання як ресурси для фітоценодизайну окультурених ландшафтів національного природного парку "Сколівські бескиди". *Науковий вісник НЛТУ України*. 2012. Вип. 22.5. С. 47 - 54.
35. Structure of Bidesmosidic Saponins from *Astrantia major* L. / K. Hiller, M. Leska, E. Gruendemann, G. Dube, A. Karwatzki, P. Franke *Pharmazie*. 1990. № 45. P. 615.
36. Hiller K., Voitke H. D., Lehmann G. Saponins in *Astrantia major* L. 17. Information on components of various *Saniculoideae*. *Pharmazie*. 1973. №28. 391 p.
37. Zur Struktur des Saponine von *Astrantia major* L. / K. Hiller, C. Adler, G. Galetzka, P. Franke, E. Gruendemann, J. Hille *Pharmazie*. 1985. № 40. P. - 343.
38. Hiller K., Leska M., Rahn I. Große Sterndolde und Sanikel. *Sci. Pharm.* 1988. №56. 169 p.
39. Hiller K., Johnert W., Habisch D. *Pharmazie*. – 1984. - № 39. – P. 51.
40. Hiller K., Kothe N. Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. *Planta Med.* 1969. №17. 79 p.
41. Große Sterndolde (*Astrantia major*) im GIFTPFLANZEN. Режим доступу : [http://www.giftpflanzen.com/astrantia\\_major.html](http://www.giftpflanzen.com/astrantia_major.html)
42. Große Sterndolde. Режим доступу : <http://dictionnaire.sensagent.leparisien.fr/Gro%C3%9Fe%20Sterndolde/de-de>
43. Bos R., Tattje D. H. E., Zwaving J. H., Buurma H. Sesquiterpenes from essential oil of *Astrantia-major* *Phytochemistry*. Vol. 17. № 12. 1978. P. 2129 - 2130.



44. Chemotypification of *Astrantia major* L. (Apiaceae): Essential-Oil and Lignan Profiles of Fruits / S. Radulovic, Marko Z. Mladenovic, Nevenka D. Dordevic / *Chemistry & biodiversity*. 2012. Vol. 9. P. 1320 - 1337.

45. Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в лекарственных растениях Калининградской области / П. В. Масленников, Г. Н. Чупахина, Л. Н. Скрыпник, Е.Ю. Мальцева [та ін.]. *Химия растительного сырья*. 2012. №3. С. 127 - 133.

46. Экологический анализ активности накопления биофлавоноидов в лекарственных растениях / Масленников П. В., Чупахина Г. Н., Скрыпник Л. Н., Федуреав [и др.] / *Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта*. 2014. Вып. 7. С. 110—120.

47. Blooming Artichoke Herbarу Режим доступу :  
<https://bloomingartichoke.com/products/medicinal/page/3>

48. Астранція. р. астранція Режим доступу :  
<http://www.gc-progress.ru/encziklopediya-rastenij/rasteniya-na-bukvu-a-2/243-astranciya-p-astrantia.html>.

49. H. W. Felter J. U. Lloyd King's American Dispensatory 1898 - Режим доступу :<http://www.henriettes-herb.com/eclectic/kings/sanicula.html>

50. *Astrantia major* cultivar Режим доступу :  
[http://botanyphoto.botanicalgarden.ubc.ca/2010/11/astrantia\\_major\\_cultivar.ph](http://botanyphoto.botanicalgarden.ubc.ca/2010/11/astrantia_major_cultivar.ph)

51. Medicinal Herb Facts L-M-N Herbs Режим доступу :  
[http://www.herbnet.com/Herb%20Uses\\_LMN.htm](http://www.herbnet.com/Herb%20Uses_LMN.htm)

52. Zabka Martin, Pavela Roman, Sumikova Tatana. Medicinal and culinary herbs as environmentally safe inhibitors of dangerous toxinogenic plant and human fungal pathogens. *African Journal of Microbiology Research*. 2012. Vol. 6(35). P. 6468 - 6475.

53. Бакун О. В., Купчанко В. Г., Бербець А. М. Застосування фітопрепаратів при гіпогалакції. *Таврический медико-биологический вестник*. 2011. Т. 14 (№3). С. 245 - 247.

54. Химический анализ лекарственных растений / под ред. Гринкевич Н. И., Сафронович Л. Н. учебное пособие для фармац. вузов : Высшая школа. 1983. 176 с.
55. Ковальов В. М., Павлій О. І., Ісакова Т. І. Фармакогнозія з основами біохімії рослин. Х. : Прапор, 2000. 703 с.
56. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособие для студ. вузов / В. Н. Ковалев, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко и др.; под общ. ред. В. Н. Ковалева. Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. 512 с.
57. Хиля О. В. Практикум з хімії вуглеводів : Навчальний посібник для студентів хімічного та біологічного факультетів. К. : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2009. 40 с.
58. С. А. Куценко, О. А. Рубан Український журнал клінічної та лабораторної медицини • 2013. том 8. №2. С. 49 - 51
59. М. І. Шанайда Визначення якісного складу та кількісного вмісту вуглеводів у траві представників родини Lamiaceae Juss. Фармацевтичний часопис. 2015. № 4. С. 15 - 18
60. В. В. Євлаш, З. В. Железняк, С. М. Губський, О. Ф. Аксьонова Визначення вмісту аскорбінової кислоти методом гальваностатичної кулонометрії в водних розчинах гідролоїдів. Вісник НТУ «ХП». 2015. № 44 (1153). С. 79 - 85
61. Б. П. Романюк, В. М. Фролов, Я. А. Соцька Лікарські рослини і сировина, які містять кумарини та хромони. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології.* - 2012. - Вип. 4. - С. 47-54.
62. Ковтун-Водяницька С. М., Левон В. Ф Сумарний вміст фенольних сполук у надземній частині інтродуцентів роду *Isodon* (Schrad. ex Benth.) *Наукові записки.* Том 171. Біологія та екологія. С. 25 - 28
63. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособие для студ. вузов/ В. Н. Ковалев, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко и др.; под общ. ред. В. Н. Ковалева. Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. 512 с.

64. Експрес-методи дослідження безпечності та якості харчових продуктів: навч. посіб. В. В. Євлаш, С. О. Самойленко, Н. О. Отрошко, І. А. Буряк – Х. 2016. 334 с.

65. Хроматографічні методи: класифікація, принципи та практичне застосування / Т. А. Рижкова, Е. М. Бабич, С. В. Калініченко, Н. І. Скляр, О. В. Рябовол, Т. М. Плугатор, Т. В. Горбач, Т. І. Антушева, Т. М. Касьяненко. *Annals of Mechnikov Institute*. N 4. 2010. С. 26 - 34

66. Мороз П. І. Осипова Фенольні сполуки як чинник алелопатичної активності груші. *Вісник Львів. УН-ТУ. Серія біологічна*. 2004. Вип. 36. С. 249 - 253

67. Семенченко О. М., Цуркан О. О., Корабльова О. А. Дослідження вмісту органічних кислот у траві деяких видів шавлії за допомогою високоефективних інструментальних методів аналізу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. № 2 (33). 2013. С. 61 - 64

68. Бикова А.С. Ідентифікація органічних сполук: Навч.-методичний посібник. – Харків: ХДПУ, 2000 – 77 с.

69. Тернинко І. І., Кисличенко В. С., Журавель І. О. Вивчення вмісту органічних кислот та елементного складу трави *Calendula officinalis* (L.) *Український медичний альманах*. 2012. Том 15. № 2. С. 149 - 151

70. О. В. Демешко, В. М. Ковальов, С. В. Ковальов. Вивчення амінокислотного складу трави еспарцету піщаного. *Український біофармацевтичний журнал*. № 2 (37). 2015. С. 75 - 78

71. О. В. Бурцева. Дослідження амінокислотного складу трави та зерна вівса посівного. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. Том 4. №4. 2009. С. 50 - 52.

72. Амінокислотний склад рослинної сировини оману британського у вегетаційний період / О. К. Єренко, О. В. Мазулін, П. А. Логвін, Г. В. Мазулін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. №2 (9). С. 10 - 12

73. Кініченко А. О. Дослідження амінокислотного складу *Portulaca oleracea* L. та *Portulaca grandiflora* Hook. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 4. С. 5 - 7
74. Шевченко. Амінокислотний склад трави *Polygonum hydropiper* L. та *Polygonum persicaria* L. флори України / І. А. Лукіна, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська, Г. В. Мазулін, І. М. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2015. №1 (17). С. 56 - 59
75. Гарник М. С.. Дослідження фенольних сполук розхідника звичайного (*Glechoma hederacea* L.). *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 3. С. 14 - 18
76. Федченкова Ю. А., Гамуля О. В., Хворост О. П.. Дослідження фенольних сполук огірка посівного. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*. 2014. №2. С. 188 - 189
77. Марчишин С. М., Стойко Л. І. Визначення фенольних сполук у траві *Centaureum erythraea* Rafn. Методом ВЕРХ. *Фармацевтичний часопис*. 2014. №1. С. 15 - 17
78. Іващенко І. В. Хроматографічний аналіз фенольних сполук *Tanacetum Balsamita* L. (Asteraceae) за умов інтродукції в Житомирському Поліссі. *Физиология растений и генетика*. 2016. Т. 48. № 2. С. 179 - 183
79. Бородіна Н. В., Ковальов В. М., Стремоухов О. О.. Вивчення летких сполук осики. *Зб. наук. праць співробіт. НМАПО імені П.Л.Шупика*. 24 (5). 2015. С. 43 - 49
80. Экстракция танина, галловой кислоты и пирогаллола из водных сред водорастворимыми полимерами и их определение в концентратах методом тонкослойной хроматографии / П. Т. Суханов, А. Н. Ильин, Е. В. Чурилина, Г. В. Шаталов. *Аналитика и контроль*. 2015. Т. 19. № 3. С. 268 - 273
81. Мустафа Аль Хуссейн, Мартинов А. В. Синтез та фізико-хімічні властивості ацильованих танідів. *Annals of Mechnikov Institute*. N 2. 2013. С. 70 - 76

82. Зотікова О. А., Кисличенко В. С., Вельма В. В. Визначення жирнокислотного складу листя петрушки кучерявої, кореневої та листкової. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2011. Том 6. №4. С. 196 - 199
83. Журавель І. О. Вивчення жирнокислотного складу насіння *Phoenix dactylifera* L. *Український медичний альманах*, 2013, Том 16, № 1. С. 20 - 21
84. Дослідження полісахаридних комплексів рослин родини *Asteraceae* / С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, І. С. Дахим, Т. С. Бердей, Г. Р. Козир *Scientific Journal «ScienceRise»* №10. 4(15). 2015. С. 31 - 36
85. Дученко М. А. Дослідження полісахаридів листя гледичії колючої *Український біофармацевтичний журнал*. № 3. (32). 2014. С. 64 - 66
86. Суцук Н. А., Кисличенко В. С., Кузнєцова В. Ю. Дослідження полісахаридних комплексів та органічних кислот листя та пагонів смородини чорної. *Український медичний альманах*, 2011. Том 14. № 6. С. 188 - 190
87. Цуркан О. О., Ковальчук Т. В., Гергель О. В. Фітохімічне дослідження вуглеводних компонентів шовковиці білої та чорної. *Фітотерапія. Часопис*. № 4. 2010. С. 72 - 75
88. Кисличенко В. С., Ярошенко І. В., Кузнєцова В. Ю. Вивчення полісахаридного та елементного складу клубенів салепу *Вісник фармації*. 2008. № 1. С. 8 - 11.
89. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Х. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
90. Куценко С. А. Дослідження елементного складу лікарської рослинної сировини, що входить до складу збору ангіопротекторної дії. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2012. Том 7. №2. С. 27 - 29

91. Андріанов К. В., Федченкова Ю. А., Хворост О. П. Вивчення елементного складу м'яти перцевої (*Mentha piperita*). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2014. №3 (16). С. 49 - 51
92. Цуркан О. О., Голембіовська О. І., Колядич О. П. Мікро- та макроелементний склад надземних і підземних органів суховершків звичайних (*Prunella vulgaris* L.). *Запорожський медичинський журнал*. №4 (73). 2012. С. 132 - 134
93. Процька В. В., Журавель І. О. Аналіз мінерального складу сировини хости подорожникової та хости ланцетолистої. *Український біофармацевтичний журнал*. № 2 (43). 2016. С. 62 - 64
94. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа. МЗСССР, 11-е изд., доп. М. : Медицина, 1987. 336 с.
95. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Доповнення 2. Х. : Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. 620 с.
96. Аспір. І. В. Павлюк Стандартизація та шляхи застосування комплексу біологічно активних сполук, отриманих екстрагуванням шроту шишок хмелю. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2015. Вип. 25.10. С. 236 - 241
97. Глущенко А. В. Кількісне визначення суми поліфенолів в екстрактах кураю пагорбкового. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2014. Вип. 23 (4). С. 240 – 245.
98. Денисенко Т. О., Мех Ю. В., Вишнікін А. Б. Спектрофотометричне визначення аскорбінової кислоти з використанням 18-молібдодифосфату у інтенсивно забарвлених соках. *Вісник ОНУ. Хімія*. 2018. Том 23. вип. 1(65). С. 70 - 82
99. Глущенко А. В. Методика визначення кількісного вмісту флавоноїдів в екстрактах кураю пагорбкового *Ysalsola collina* L.Z. *Український біофармацевтичний журнал*. № 2. (31) 2014. С. 46 - 49

100. Попова Я. В., Мазулін О. В. Спектрофотометричне визначення вмісту флавоноїдів в траві *Cirsium vulgare* (savi) ten. та *Cirsium arvense* (L.) SCOP. *Молодий вчений* № 5 (20). Частина 4. 2015. С. 48 - 50
101. Лелека М. В., Вронська Л. В., Заліська О. М. Визначення суми флавоноїдів у настоянках квіток лілії білої. *Фармацевтичний часопис* 1. 2011. С. 15 - 17
102. Шестаков Т. С., Белоногова В. Д., Петриченко В. М. Спектрофотометрический метод определения содержания флавоноидов в траве *Veronica chamaedrys* (Scrophulariaceae). *Медицинский альманах*. 2016. № 1 (41). С. 127 – 130.
103. Койро О. О., Степанова С. І., Штриголь С. Ю. Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот у сировині яглиці звичайної. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. Том 4. №2. 2009. С. 52 - 55
104. Волошина А. А., Кисличенко В. С., Журавель І. О., Бурда Н. Є. Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині дивини звичайної. *Український медичний альманах*. 2012. Том 15. № 5. С. 39 - 40
105. Кількісне визначення органічних кислот в листі та квітках *Orchis militaris* L., *Orchis maculata* L., *Orchis provincialis* Balb., *Orchis sphaerica* M.B. / І. В. Ярошенко, І. О. Журавель, В. С. Кисличенко, Н. Є. Бурда. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. Том 4. №3. 2009. С. 70 - 72
106. Кількісне визначення органічних кислот у траві *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. / Н. Є. Бурда, І. О. Журавель, В. С. Кисличенко, В. Б. Демьохін. *Український біофармацевтичний журнал*. № 1(6). 2010. С. 59 - 61
107. Грицик Л. М., Тучак Н. І., Грицик А. Р. Ідентифікація та кількісне визначення органічних кислот у траві видів приворотня. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 3. С. 83 – 87.
108. Соколова Л. А. Визначення кількісного вмісту вітаміну С в сублімованих порошках кавуна, аронії та артишоку. *Український біофармацевтичний журнал*. № 2(25). 2013. С. 88 - 92

109. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / під ред. О. В. Стефанова. К. : Авіцена, 2001. 528 с.
110. Кононенко А. В., Дроговоз С. М., Щокіна К. Г. Дослідження антиексудативної активності екстракту листя горобини звичайної на моделях зимозанового та карагенінового набряків. *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. № 3 (20). С. 39 – 43.
111. Черномирдик А. Справочник по применению антибиотиков и других химиотерапевтических препаратов. М., 1977. С. 118 – 119.
112. Луценко Ю. О., Дармограй Р. Є., Капелюха А. К.. Антибактерійна активність *Hedera helix* L. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2011. випуск XXIV. №2. С. 97 - 98
113. Фурст Г.П. Методы анатомо-гистологического исследования растительных тканей. М.: Медицина, 1977. 155 с.
114. Зузук Б. М., Зузук Л. Б. Ресурсознавство лікарських рослин: підручник для студентів фармац. факультетів. Вінниця: НОВА КНИГА, 2009. 144 с.
115. Ресурсознавство лікарських рослин: посіб. для студ. спец. «Фармація» / В. С. Кисличенко, Л. В. Ленчик, О. М. Новосел та ін. Х.: НФаУ, 2015. 136 с.
116. Неробеев В. Д., Неробеев Д. В. Системные стандарты и доказательная база математической статистики в научных медицинских исследованиях. *Новости медицины и фармации в мире*. 2013. № 6 (450). С. 24 – 26.
117. Гойко О. В., Мохначов С. І. Аналіз сучасного програмного забезпечення для статистичного оброблення й аналізу біомедичних досліджень. *Медична інформатика та інженерія*. 2012. № 4. С. 49 – 52.
118. Цуркан О. О., Голембіовська О. І., Ковальчук Т. В. Дослідження складу органічних кислот надземних та підземних органів суховершків звичайних методом ВЕРХ. *Збірник наукових праць НМАПО імені П.Л. Шупика*. 2012. 21(4). С. 377 – 382.



119. Журавель І. О. Визначення якісного складу та кількісного вмісту цукрів та органічних кислот в сировині родини імбирні. *Укр.мед. альманах.* – 2012. Т. 15. С. 77 – 78.
120. Василенко Е. А. Исследование фенольных соединений будры плющевидной (*Glechoma hederacea* L.), выращенной в условиях Северного Кавказа. *Медицина. Фармация.* 2012. № 16 (135). вып. 19. С. 170 – 172.
121. Вивчення хімічного складу полісахаридного комплексу з листя смородини чорної / В. С. Кисличенко, В. М. Чушенко, О. В. Криворучко, О. Є. Карамова. *Актуальні проблеми фармації* : науково-практична конференція : тези доп. – Х., 1994. – С. 77 – 78.
122. Грицик А. Р., Мельник М. В. Дослідження амінокислотного складу та жирнокислотного складу трави рути садової *Фармацевтичний часопис.* 2014. № 4. С. 24 – 26.
123. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Грицик А. Р. Ідентифікація деяких біологічно активних речовин у надземних і підземних органах підлісника європейського *Sanicula europaea* L. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології: IV науково-практична конференція з міжнародною участю, 16 – 17 жовт. Х. : Вид-во НФаУ.* 2014. С. 88.
124. Грицик А. Р. Дослідження амінокислотного та жирнокислотного складу трави рути садової // А. Р. Грицик, М. В. Мельник // *Фармацевтичний часопис.* – 2014. – № 4. – С. 24 – 26.
125. Study of amino acid composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / Grytsky L. M., Grytsky A. R., Sas I. A. , Legin N. I., Kolyadjin T. I. *The Pharma Innovation Journal.* 2016. № 5 (7). P. 46–48.
126. Дослідження елементного складу видів роду Підлісник та Астранція / Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик Л. М., Грицик А. Р. *Медицина та клінічна хімія.* – 2018. № 2. С. 112 – 116.
127. Коляджин Т. І. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту летких сполук трави астранції великої (*Astrantia major* L.). *Фармаком.* 2018. № 3 – С. 42 – 45.

128. Гончаров Н. Ф., Михайлов И. В., Гончаров Н. Н. Гидроксикоричные кислоты цветков и листьев нефармакопейных видов рода Боярышник. *Фундаментал. исследования*. 2011. № 9, ч. 1. С. 146 – 148.

129. Влияние способа получения экстракционных препаратов из травы эхинацеи пурпурной на состав гидроксикоричных кислот [Электронный ресурс] / Ю. О. Денисенко, И. Н. Андреева, О. Н. Денисенко [и др.] // *Совр. пробл. науки и образования*. 2011. № 6. – Режим доступа: [www.science-education.ru/100](http://www.science-education.ru/100)

130. Влияние полифенольных соединений, выделенных из *Carthamus tinctorius* и *Calendula officinalis* L. на функциональную активность иммунокомпетентных клеток в условиях цитостатической иммуносупрессии / Н.В. Масная, Н.В. Исайкина, Е.Ю. Шерстобоев, Г.И. Калинкина. *Бюллетень сибирской медицины*. 2013. Т. 12. №3. С. 41 - 51.

131. Смалюх О. Г., Сур С. В. Стандартизація плодів моркви дикої за складом і вмістом флавоноидов. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. № 1(11). С. 88 - 93.

132. Чернов Ю. Н., Бузлама А. В., Дронова Ю. М. Полифенольные соединения: структура, свойства и прикладные аспекты применения. *Фарматека*. 2004. № 8. С. 43 - 48.

133. Дослідження флавоноїдів первоцвіту весняного (*Primula veris* L.) / С. М. Марчишин, Л. Г. Шостак, М. І. Луканюк [та ін.]. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2015. № 2,3. С. 104 - 106.

134. Kaczmarek Chanaj, Wojcinska M., Matlawska I. Phenolics in the *Tussilago farfara* leaves. *Herba polonica*. 59. № 1. 2013. P. 35 – 43.

135. С. М. Марчишин, Гусак Л. В., Бердей Т. С. Дослідження кислот гідроксикоричних трави чистецю зібольда. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18. № 3. С. 11 - 16.

136. Кисличенко О. А. Вивчення роганічних кислот у шлунковому зборі. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 4 С. 27 - 30.

137. Карпюк У. В., Кисличенко В. С. Дубильні речовини шкірки та ендосперму насіння гіркокаштану кінського. *Зб. наук. праць співробіт. НМАПО імені П.Л.Шупика*. 24 (5). 2015. С. 113 – 118.

138. Дем'яненко Д. В., Бреусова С. В., Дем'яненко В. Г. Вивчення технологічних властивостей суцвіть липи серцелистої. *Вісник фармації*. 2009. №3. С. 41 – 45.

139. Шалата В. Я., Сур С. В. Вивчення технологічних властивостей багатокомпонентної лікарської рослинної сировини. *Запорожский медицинский журнал*. 2012. №2 (71) С. 111 – 115.

140. Білонога Ю. Л., Білонога Д. М. Аналіз значень параметрів оптимізації на прикладі екстрагування органопрепаратів і препаратів рослинного походження. *Интегрированные технологии и энергосбережение*. – 2007. №2. С. 111 – 116.

141. Бондаренко А. С., Гладух Э. В., Котенко О. М. Дослідження технологічних параметрів лікарської рослинної сировини при створенні сиропу для лікування застудних захворювань. *Вісник фармації*. 2011. №3. С. 17 – 19.

142. Белей С. Я., Грошовий Т. А. Визначення оптимальних умов екстрагування та одержання сухого екстракту подорожника ланцетолистого. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 2. С. 22 - 25.

143. Дячок В. В. Дослідження швидкості процесу екстрагування із рослинної сировини. *Видавництво "Львівська політехніка"*. – 2007. - № 590. – С. 237 – 240.

144. Шостак Т. А., Калинюк Т. Г., Гудзб Н. І. Особливості фармацевтичної розробки рослинних препаратів. *Фітотерапія. Часопис*. 2014. №4. С. 77 – 82.

145. Саноцкий И. В., Сидоров К. К. Классификации токсичности и опасности химических соединений, применяемые в разных странах и международных организациях. *Медицина труда и промышленная экология*. 1993. №2. С. 3.

146. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.

147. Лапач С. М., Чубенко А. В., Бабыч П. М. Статистичні методи в медико – біологічних дослідженнях із застосуванням *Excel* К.: МОРІОН, 2000. 320 с.

148. Дослідження антибактеріальної активності екстрактів видів роду Буквиця, Сосна, Астранція та котячої м'яти справжньої / Грицик А. Р., Сас І. А., Мандзій Т. П., Коляджин Т. І., Стасів Т. Г. *Український вісник психоневрології*. 2014. Т. 22, вип. 2 (79), додаток. С. 119 – 122.

149. Черномирдик А.Б. Справочник по применению антибиотиков и других химиотерапевтических препаратов / А.Б. Черномирдик. – М., 1977. – С. 118-119.

150. Макаров В.А., Козинец Г.И., Арутамян Ю.С., Ащуров Г.Д. Исследование системы крови в клинической практике / Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макаров. — М. : Триада – Х, 1997. – 480 с.

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

152. Крылова И. Л., Шретер А. И. Методические указания по изучению запасов дикорастущих лекарственных растений. М. : Изд. ВИЛР, 1971. 254 с.

153. Мінарченко В. М. Серeda П. І. Ресурсознавство. Лікарські рослини. Фітосоціоцентр, 2004. 71 с.

154. Коренев Г. В., Подгорный П. И. Растениеводство с основами селекции и семеноводства М. Агропромиздат. 1990. 575 с

155. Ресурсознавство лікарських рослин: посіб. для студ. спец. «Фармація» / В. С. Кисличенко, Л. В. Ленчик, О. М. Новосел та ін. Х. : НФаУ, 2015. 136 с.

156. Cultivation of Apiaceae L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyn T. I., Grytsyk A. R. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality*. – Nitra: Slovak University of agriculture, 2015. P. 216 – 218.

## Додаток А.1

**ПРОЕКТ****ЗАТВЕРДЖЕНО**

Наказ Міністерства охорони  
здоров'я України

№ \_\_\_ від \_\_\_\_\_

Реєстраційне посвідчення

№

Заявник, країна \_\_\_\_\_

Виробник, країна \_\_\_\_\_

**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

**Astrantiae herbae extractum siccum**

**Астранції трави екстракт сухий**

*Порошок (субстанція) в пакетах подвійних поліетиленових для  
виробництва нестерильних лікарських форм*

## Продовж. дод. А.1

Вміст суми поліфенолів (X, %), у перерахунку на пірогалол, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{62,5 \times A_1 \times m_2}{A_0 \times m_1}$$

де  $A_0$  – оптична густина розчину порівняння;

$A_1$  – оптична густина випробувального розчину;

$m_1$  – маса наважки сировини, мг;

$m_2$  – маса наважки пірогалолу, мг.

### ПАКУВАННЯ

В пакетах подвійних поліетиленових, вкладених в герметично закупорені контейнери.

### МАРКУВАННЯ

На етикетці українською або англійською мовою зазначають країну - виробник, фірму-виробник, назву субстанції, масу субстанції, умови зберігання, номер серії, термін придатності, штриховий код.

### ЗБЕРІГАННЯ

В сухому, захищеному від світла місці.

### ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

в.о. ректора Івано-Франківського  
національного медичного  
університету



професор Г. М. Ерстенюк

« 11 » 06 2018 р.

## Додаток А.2

**ПРОЕКТ****ЗАТВЕРДЖЕНО**Наказ Міністерства охорони  
здоров'я України

№ \_\_\_\_\_ від \_\_\_\_\_

Реєстраційне посвідчення

№ \_\_\_\_\_

Заявник, країна \_\_\_\_\_

Виробник, країна \_\_\_\_\_

**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ  
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ****Astrantiae herba****Астранції трава**

Трава, по 50 г у пакетах



## Продовж. дод. А.2

настою, умови відпустку («Відпускають без рецепта», «Зберігати в недоступному для дітей місці», «Радіологічний контроль гарантований»), реєстраційний номер, номер серії, термін придатності, штриховий код.

На етикетці групової тари українською мовою зазначають: «Україна», найменування підприємства-заготівельника, його адресу, телефон та товарний знак, назву препарату латинською і українською мовами, масу вмісту упаковки в грамах при максимально допустимій вологості, показання до застосування, спосіб застосування, дози, умови зберігання і термін придатності приготовленого настою, умови відпустку («Відпускають без рецепта», «Зберігати в недоступному для дітей місці», «Радіологічний контроль гарантований»), реєстраційний номер, номер серії, термін придатності, штриховий код.

На етикетці групової тари додатково зазначають кількість упаковок. Транспортне маркування відповідно до ГОСТ 14192-96.

**УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ**

У сухому захищеному від світла місці (при температурі 15-25 °С)

**ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ**

3 роки.

в.о. ректора Івано-Франківського  
національного медичного  
університету



професор Г. М. Ерстенюк  
« 11 » 06 2018 р.

## Додаток А.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

в.о. ректора ДВНЗ «Івано-Франківський  
національний медичний університет  
професор  Ф. М. Ерстенюк  
« 11 »  2018 р.



### ІНСТРУКЦІЯ ІЗ ЗАГОТІВЛІ ТА СУШІННЯ ТРАВИ АСТРАНЦІЇ

Астранція велика (*Astrantia major* L.) – багаторічна трав'яниста рослина родини Зонтичні (*Apiaceae*). Надземна частина астранції великої складається з розгалуженого і облісненого стебла довжиною до 70 см. Нижні листки глибокопальчасто-розділені з видовжено-обернено-яйцеподібними, часто дво-тринадрізними, пилчастими частками, які закінчуються щетиною; суцвіття – зонтики, 3,4 – 4,5 см у діаметрі; оточені білувато-рожевою обгорткою з великих видовжено-ланцетних, іноді короткозубчастих листків, які перевищують квіти; у зонтику внутрішні квіти двостатеві, зовнішні – чоловічі. Зубці чашечки шиловидні, довші за пелюстки, ланцетні, зігнуті; стовпчики тонкі, довгі з головчастою приймочкою. Плоди подовгувато-циліндричні, злегка стиснуті, напівплодики круглі; з черевця плоскі, основні великі; ендосперм з внутрішньої сторони плоский, зі спини опуклий.

*Astrantia major* L. (*Apiaceae*) – це центрально-європейський вид, поширений переважно в горах. На рівнині є рідкісним. В Україні досить численний у Карпатах, зрідка трапляється на Поділлі та Правобережному Поліссі у лісових масивах, на вологих узліссях, у заростях чагарників. Утворює досить численні популяції. Популяції рослини на Прикарпатті численні, вид зростає масово, добре відновлюється.

Морфологічні ознаки астранції великої представлені в табл. 1.

## Продовж. дод. А.3

цьому випадку вона стане непридатною для застосування. Вихід повітряно-сухої сировини 10 %.

Згідно МКЯ «Астранції трава», сировина складається з верхніх частин стебел з листками, квітами, суцвіттями, розміром до 2,5 см. Запах специфічний. Смак гіркий.

Числові показники: сума поліфенолів в перерахунку на пірогалол не менше 7 %, втрата в масі при висушуванні не більше 10 %, золи загальної не більше 10,0 %, сторонніх домішок не більше 1 % та мінеральних домішок не більше 1 %.

Готову сировину пакують в мішки по 15 кг або в тюки по 40 кг. Зберігають на стелажах в сухому, прохолодному, затемненому, добре провітрюваному приміщенні при температурі не вище + 25 °С і вологості 80%. Термін придатності сировини 3 роки.

Завідувач кафедри фармації  
Івано-Франківського національного  
медичного університету  
д.фарм.н., професор

А. Р. Грицик

Асистент кафедри фармації  
Івано-Франківського національного  
медичного університету

Т. І. Коляджин

## Додаток Б.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з наукової роботи  
 Івано-Франківського національного  
 медичного університету  
 проф. Вакалюк І.П.  
 « 23 » 2015 р.



## АКТ

про проведення дослідження  
 протизапальної і антиексудативної активності  
 екстрактів трави астранції великої

На кафедрі фармації Івано-Франківського національного медичного університету одержано екстракти астранції великої (виконавець – асистент кафедри фармації Коляджин Т. І., керівник – завідувач кафедри фармації, проф. Грицик А. Р.). Протизапальну і антиексудативну активність отриманих екстрактів досліджували при консультаційній допомозі завідувача кафедри біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка професора Ерстенюк Г. М.

Трава астранції великої проявляє різноманітні фармакологічні властивості обумовлені наявністю в лікарській сировині різних класів біологічно активних речовин, зокрема дубильних речовин, флавоноїдів, органічних кислот, сапонінів, полісахаридів, кумаринів та ефірних олій [1-3].

Галенові препарати астранції сприятливо впливають на виділення шлункового соку і таким чином стимулюють апетит [4]. Траву вживають свіжою, а коріння висушують і застосовують у вигляді порошку для регуляції моторики кишечника. Готують відвар (1:10), настоюють 10 хв і приймають по 1 ст. л. в 2-3 прийоми до появи послаблюючого ефекту. Менш концентровані витяжки з коренів мають жарознижуючу і протизапальну дію, їх призначають при лихоманці, застуді, ревматичних болях [5].

Рутин - представник флавоноїдів з Р-вітамінною активністю, який міститься в траві астранції великої, має широке застосування в медичній практиці. Він сприяє відновленню еластичності судинних стінок, знижує ламкість та проникність капілярів, тим самим знижуючи ризик внутрішніх крововиливів. Рутин перешкоджає розвитку атеросклерозу та утворенню артеріальних тромбів, виявляє антиоксидантну, спазмолітичну, антиканцерогенну, гепатопротекторну, противірусну, бактерицидну, антиалергічну, жовчогінну, протизапальну дію. Цей флавоноїд позитивно впливає на ендокринну систему, знижує артеріальний тиск, сприяє підвищенню імунітету. Рутин нетоксичний і не спричиняє побічної дії [6].

## Продовж. дод. Б.1

походження кверцетину. Через 1, 3 та 5 год після початку експерименту найвищу антиексудативну активність проявляв спиртовий екстракт трави астранції великої.

**Література:**

1. Гродзінський А.М. Лікарські рослини: [енциклопедичний довідник] / Відп. ред. А.М. Гродзінський. - К. : Голов. ред. УРЕ, 1990. – С. 71 - 72.
2. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hippuridaceae – Lobeliaceae. – СПб : Наука, 1991. – С. 15-17.
3. K. Hiller, M. Leska, I. Rahn / Große Sterndolde und Sanikel // Sci. Pharm. – 1988. - № 56. – P. 169.
4. Große Sterndolde - [Електронний ресурс] - <http://dictionnaire.sensagent.leparisien.fr/Gro%C3%9Fe%20Sterndolde/de-de>
5. Астранція. р. астранція - [Електронний ресурс] - <http://www.gc-progress.ru/encziklopediya-rastenij/rasteniya-na-bukvu-a-2/243-astranciya-p-astrantia.html>.
6. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музычкина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. — Новосибирск : Академическое изд-во «Гео», 2007. — 232 с.
7. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.
8. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 15.12.2009 р.
9. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: [методичні рекомендації] / О.Г. Резніков, А.І. Соловійов, Н.В. Добреля, О.В. Стефанов. – К., 2006. – 28 с.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [методичні рекомендації] / Під. ред. О.В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
11. Кононенко А.В. Дослідження антиексудативної активності екстракту листя горобини звичайної на моделях зимозанового та карагенінового набряків / А.В. Кононенко, С.М. Дроговоз, К.Г. Щокіна // Український біофармацевтичний журнал. – 2012. – № 3 (20). – С. 39 - 43.

Перший проректор ІФНМУ,  
завідувачка кафедри біологічної  
та медичної хімії  
імені академіка Г.О. Бабенка



д.біол.н., проф. Ерстенюк Г.М.

Завідувач кафедри фармації



д.фарм.н., проф. Грицик А.Р.

## Додаток Б.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Івано-Франківського національного  
медичного університету  
проф. Вакалюк І.П.  
«15» 12 2017 р.

## АКТ

про проведення дослідження  
кровозупинної та ранозагоювальної дії екстрактів трави астранції великої

На кафедрі фармації Івано-Франківського національного медичного університету одержано екстракти астранції великої (виконавець – асистент кафедри фармації Коляджин Т.І., керівник – завідувач кафедри фармації, проф. Грицик А.Р.). Кровозупинні та ранозагоювальні властивості отриманих екстрактів досліджували при консультаційній допомозі завідувача кафедри анатомії людини професора Попадинець О.Г. та доцента кафедри анатомії людини Іваночка В.М.

Трава астранції великої проявляє різноманітні фармакологічні властивості, обумовлені наявністю в лікарській сировині різних класів біологічно активних речовин, зокрема дубильних речовин, флавоноїдів, органічних кислот, сапонінів, полісахаридів, кумаринів та ефірних олій [1-3].

Галенові препарати астранції великої використовують при гіпертонії, хронічній коронарній недостатності, при лікуванні хронічних і гострих гломерулонефритів. Особливо ефективним є застосування настою з трави астранції на початкових стадіях цих захворювань, при збудливих станах нервової системи. Водну витяжку астранції великої застосовують як кровозупинний, сечогінний та потогінний засоби, для зняття набряків різного походження, при жовтяниці у новонароджених, ревматичних болях у суглобах [4].

Астранція велика містить у всіх органах значну кількість цукрів. У листках і квітках є невелика кількість глюкози і фруктози. З плодів астранції великої був ізольований трисахарид умбеліферозид (O- $\alpha$ -D-галактопіранозил (1-2) -O- $\alpha$ -D-глюкопіранозил (1 - 2) - $\beta$ -D-фруктофуроза) [5]. Рослинні полісахариди володіють широким спектром біологічної активності. Вони позитивно впливають на неспецифічну резистентність, стимулюють фізичну працездатність, рівень обміну речовин, активують процеси імунопоезу та гемопоезу, володіють вираженою протирадіаційною,

## Продовж. дод. Б.2

великої, як засоби для лікування ран в експерименті володіють схожою ранозагоювальною дією з референт – препаратом «Рекутан» і забезпечують загоєння рани в однакові терміни. Отже, з всього вище описаного ми можемо зробити висновок, що усі препарати які ми досліджували є ефективними при лікуванні ран і володіють ранозагоювальною дією.

**Література:**

1. Гродзінський А.М. Лікарські рослини: [енциклопедичний довідник] / Відп. ред. А.М. Гродзінський. - К. : Голов. ред. УРЕ, 1990. – С. 71 - 72.
2. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hippuridaceae – Lobeliaceae. – СПб : Наука, 1991. – С. 15-17.
3. K. Hiller, M. Leska, I. Rahn / Große Sterndolde und Sanikel // Sci. Pharm. – 1988. - № 56. – P. 169.
4. Blooming Artichoke Herbarry - [Електронний ресурс] - <https://bloomingartichoke.com/products/medicinal/page/3>
5. K. Hiller, N. Kothe / Über die saccharide in astrantia major L [Електронний ресурс] - <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0028-1099831>
6. Иванычева, Ю.Н. Исследование биологически активных полисахаридов, выделенных из лекарственного растения *Geranium pratense* L., применяемого при различных нарушениях обмена веществ / Ю.Н. Иванычева, Г.И. Чурилов // Материалы научной конференции Рязанского государственного 162 медицинского университета имени академика И.П. Павлова. - Рязань: РГМУ, 2005.- Ч.1.- С.20 – 22.
7. Сычев И.А. Механизм противовоспалительного действия полисахаридов донника желтого / И.А.Сычев // Рос. медико-биол. вестник им. акад. И.П.Павлова. — 2008. — № 2. — С. 95-101.
8. Макаров В.А., Козинец Г.И., Арутамян Ю.С., Ащуров Г.Д. Исследование системы крови в клинической практике / Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макаров. — М. : Триада – X, 1997. – 480 с.

Завідувачка кафедри  
анатомії людини

д.мед.н., проф. Попадинець О.Г.

Завідувач кафедри фармації

д.фарм.н., проф. Грицик А.Р.

Доцент кафедри  
анатомії людини

к.мед.н., доц. Іваночко В.М.

## Додаток Б.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з наукової роботи  
 Івано-Франківського  
 національного  
 медичного університету  
 проф. Вакалюк І.П.  
 « 12 » 2014 р.

## АКТ

про проведення дослідження гострої токсичності  
 екстрактів астранції великої

На кафедрі фармації Івано-Франківського національного медичного університету одержано екстракти астранції великої (виконавець – асистент кафедри фармації Коляджин Т. І., керівник – завідувач кафедри фармації, проф. Грицик А. Р.), гостру токсичність яких досліджували при консультаційній допомозі завідувача кафедри біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка професора Ерстенюк Г. М. та доцента кафедри клінічної анатомії та оперативної хірургії Федорака В. М.

Трава астранції великої проявляє різноманітні фармакологічні властивості обумовлені наявністю в лікарській сировині різних класів біологічно активних речовин, зокрема дубильних речовин, флавоноїдів, органічних кислот, сапонінів, полісахаридів, кумаринів та ефірних олій [1-3].

Галенові препарати астранції великої використовують при гіпертонії, хронічній коронарній недостатності, при лікуванні хронічних і гострих гломерулонефритів. Особливо ефективним є застосування настою з трави астранції на початкових стадіях цих захворювань, при збудливих станах нервової системи. Водну витяжку астранції великої застосовують як кровозупинний, сечогінний та потогінний засоби, для зняття набряків різного походження, при жовтяниці у новонароджених, ревматичних болях у суглобах [4].

Тритерпеновий сапонін олеанового типу  $\alpha$ -гедерин, що міститься в траві астранції великої, опосередковано впливає на регуляторні механізми симпатичної нервової системи. При стимуляції  $\beta_2$ -адренорецепторів катехоламінами (адреналіном) збільшується продукція сурфактанту, активізується мукоциліарний кліренс і, що важливо, розслаблюються гладкі м'язи бронхів. Доведено, що  $\alpha$ -гедерин перешкоджає зануренню та руйнуванню  $\beta_2$ -адренорецепторів. У



## Продовж. дод. Б.3

Отже, внутрішньошлункове введення водного та водно-спиртового екстрактів астранції великої у дозі 6000 мг/кг не призводить до загибелі тварин, а також змін в їх поведінці. Це вказує на відсутність токсичної дії екстрактів в даній дозі і дає можливість віднести їх до V класу токсичності речовин з  $LD_{50} > 5000$  мг/кг (практично нетоксичні) [9].

**Література:**

1. Гродзінський А.М. Лікарські рослини: [енциклопедичний довідник] / Відп. ред. А.М. Гродзінський. - К. : Голов. ред. УРЕ, 1990. - С. 71 - 72.
2. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hippuridaceae - Lobeliaceae. - СПб: Наука, 1991. - С. 15-17.
3. K. Hiller, M. Leska, I. Rahn / Große Sterndolde und Sanikel // Sci. Pharm. - 1988. - №56. - P. 169.
4. Blooming Artichoke Herbarly - [Електронний ресурс] - <https://bloomingartichoke.com/products/medicinal/page/3>
5. Große Sterndolde (Astrantia major) im GIFTPLANZEN - [Електронний ресурс] - [http://www.giftpflanzen.com/astrantia\\_major.html](http://www.giftpflanzen.com/astrantia_major.html)
6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. - Council of Europe, Strasbourg, 1986. - 53 p.
7. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 15.12.2009 р.
8. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: [методичні рекомендації] / О.Г. Резніков, А.І. Соловійов, Н.В. Добреля, О.В. Стефанов. - Київ, 2006. - 28 с.
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [методичні рекомендації] / Під ред. О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - 528 с.

Перший проректор ІФНМУ,  
завідувачка кафедри біологічної  
та медичної хімії  
імені академіка Р.О. Бабенка



*Г.М. Ерстенюк* д.біол.н., проф. Ерстенюк Г.М.

Доцент кафедри  
клінічної анатомії  
та оперативної хірургії

к.мед.н., доц. Федорак В.М

Зав. кафедри фармації

д.фарм.н., проф. Грицик А.Р.

## Додаток Б.4

„ЗАТВЕРДЖУЮ”  
 Командир військової частини А4520  
 підполковник МС *О.Ф. ЧАЙКА*  
 2014 р.

## Звіт

про дослідження бактеріостатичної активності екстрактів препаратів до окремих мікроорганізмів.

В бактеріологічній лабораторії лабораторного відділу військової частини А4520 в період з 19 по 26 травня 2014 року спеціалістами бактеріологічної лабораторії (завідувачем лабораторії - лікарем - бактеріологом бактеріологічної лабораторії лабораторного відділу працівником Збройних Сил України Осадчою Н.Г., спеціалістом - бактеріологом працівником ЗСУ Сребродольським О.Б.) було проведено дослідження 7 зразків препаратів, наданих завідувачем кафедри фармації Івано-Франківської державної медичної академії Грициком А.Р., на предмет вивчення їх антимікробної дії.

Для проведення цих досліджень використовувався метод дифузії активної речовини в агар із застосуванням паперових дисків.

Нанесення активної речовини на паперові диски здійснювалось за методикою А.Б. Черномирдіка ("Справочник по применению антибиотиков и других химиотерапевтических препаратов", Москва, 1977г., с. 118-119).

Концентрація активної речовини на дисках складала 5 мг.

В якості універсального поживного середовища використовували 5% кров'яний агар та добові бульйони культур на основі 1% цукрового бульйону, в суспензії щільністю 1 млрд. мікробних тіл.

1мл бактеріальної суспензії наносився на поверхню 5% кров'яного агару та рівномірно втирався в нього. Посіви інкубувалися при температурі 37<sup>0</sup> С на протязі 24 - 72 год в залежності від культуральних особливостей досліджуваної культури. Оцінку антимікробної активності здійснювали шляхом вимірювання лінійкою зони затримки росту мікроорганізмів (в мм) навколо досліджуваного препарату. В якості досліджуваних культур використовувались:

- Pseudomonas aeruginosa;
- Esherichia coli;
- Proteus vulgaris;
- Staphylococcus aureus;
- Staphylococcus epidermidis.

Представлені для дослідження зразки препаратів, які наведені в таблиці. Результати проведених досліджень представлені в таблиці 1.

## Продовж. дод. Б.4

- В результаті проведених досліджень можна зробити висновки:
1. Досліджені витяжки трав'яних форм препаратів мають здатність затримувати ріст мікроорганізмів.
  2. Краща здатність затримувати ріст паличкоподібної та кокоподібної мікрофлори у зразка буквиця перебільшена (спиртовий екстракт).
  3. Всі надані препарати виявили кращу бактеріостатичну дію проти паличкоподібної мікрофлори (*Esherichia coli*, *Proteus vulgaris*).
  4. Досліджувані препарати виявили найгіршу бактеріостатичну активність (крім спиртового розчину) щодо бактерій *Pseudomonas aeruginosa*.
  5. Водний екстракт Буквиця короткозуба виявлено найгіршу бактеріостатичну дію щодо бактерій *Proteus vulgaris*.

Таблиця 1  
Результати досліджень бактеріостатичної активності до окремих мікроорганізмів.

№ з/п	Назва препарату	Зона затримки росту мікроорганізмів, мм				
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Esherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
1	Буквиця перебільшена (спиртовий екстракт)	10 мм	8 мм	16 мм	0	12 мм
2	Буквиця перебільшена (водний екстракт)	9	0	7	0	10
3	Буквиця короткозуба (спиртовий екстракт)	6	14	12	7	15
4	Буквиця короткозуба (водний екстракт)	0	0	0	0	8
5	Астрація велика (спиртовий екстракт)	0	7	0	0	7
6	Астрація велика (водний екстракт)	0	14	9	0	7
7	Екстракт сосни звичайний	8	16	8	0	0

Завідувач лабораторії - лікар – бактеріолог  
бактеріологічної лабораторії лабораторного відділу  
військової частини А4520  
працівник Збройних Сил України

 Н.Г.ОСАДЧА

## Додаток В.1



"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Проректор з наукової роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова  
проф. д.мед.н. **Власенко О.В.**

02 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження астранції великої (*Astrantia major* L.).

**2. Заклад, що розробив, його поштова адреса:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

**3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** А. Р. Грицик, Т. І. Коляджин.

**4. Джерела інформації:**

1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.

2. Виявлення заростей та ідентифікація астранції великої на Прикарпатті / А.Р. Грицик, Т.І. Коляджин // Український вісник психоневрології. – 2012. – Том 20 № 2 (додаток). – С. 66 – 67.

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

4. Інтродукція астранції великої в умовах Прикарпаття / А.Р. Грицик, Т.І. Коляджин // Матеріали міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції [«Вода і здоров'я людини»] (Ужгород 19 – 20 квітня 2013 року). – Ужгород, 2013. – С. 246 – 249.

5. Дослідження антибактеріальної активності екстрактів видів роду Буквиця, Сосна, Астранція та котячої м'яти справжньої / А.Р. Грицик, І.А. Сас, Т.І. Коляджин // Український вісник психоневрології. – 2014. – Том 22 № 2 (79) (додаток). С. 119 – 122.

**5. Де впроваджено:** в навчальний процес для студентів 3-5 курсів фармацевтичного факультету та науково-дослідну роботу кафедри фармацевтичної хімії.

**6. Форма впровадження:** наукова робота та навчальний процес.

**7. Ефект від впровадження:** удосконалення знань студентів та науковців з питань фармакогностичної характеристики видів роду Підлісник і рослин роду Астранція, а також стандартизації їх сировини.

**8. Термін впровадження:** з 2017-2018 н.р.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармацевтичної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, протокол № 5 від «14» «02» 2018 р.

Зав. кафедри фармацевтичної хімії

доц. Ющенко Т.І.

Відповідальний за впровадження

доц. Зарічанська О.В.

## Додаток В.2

**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**

Проректор з наукової роботи  
ДЗ «ДМА МОЗ України»  
Професор В.Й.Мамчур



2018 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження астранції великої
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.
3. **Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** А. Р. Грицик, Т.І.Коляджин.
4. **Джерела інформації:**
  1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.
  2. Виявлення заростей та ідентифікація астранції великої на Прикарпатті / А.Р. Грицик, Т.І. Коляджин // Український вісник психоневрології. – 2012. – Том 20 № 2 (додаток). – С. 66 – 67.
  3. Ідентифікація видів родів *Sanicula* L. і *Astrantia* родини *Ariaceae* / А.Р. Грицик, Т.І. Коляджин, Н.І. Легінь // Український вісник психоневрології. – 2013. – Т. 21, вип. 2 (75), додаток. – С. 76 – 78.
  4. Інтродукція астранції великої в умовах Прикарпаття / А.Р. Грицик, Т.І. Коляджин // Матеріали міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції [«Вода і здоров'я людини»] (Ужгород 19 – 20 квітня 2013 року). – Ужгород, 2013. – С. 246 – 249.
  5. Дослідження антибактеріальної активності екстрактів видів роду Буквиця, Сосна, Астранція та котячої м'яти справжньої / А.Р. Грицик, І.А. Сас, Т.І. Коляджин // Український вісник психоневрології. – 2014. – Том 22 № 2 (79) (додаток). С. 119 – 122.

## Продовж. дод. В.2

5. **Впроваджено:** в науково-викладацьку роботу кафедри з курсу фітотерапія, фармакогнозія та фармацевтична ботаніка і науково-дослідницьку роботу кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки державного закладу «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

6. **Терміни впровадження:** 2016 - 2018 н. р.

7. **Результати впровадження:** результати досліджень з біохімічних та фармакогностичних характеристик рослини родини зонтичних астранції великої внесені в лекційний курс фітотерапії та фармакогнозії. Виявлення кровоспинної дії та гіпотензивних властивостей разом з сечогінною та потогінною активністю є перспективними для створення нових лікарських засобів.

професор кафедри медичної біології,  
фармакогнозії та ботаніки ДЗ «ДМА МОЗ України»  
Гарець В.І.

" 27 " лютого 2018 р.

## Додаток В.3

**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**  
 професор з наукової роботи  
 ДВНЗ «Івано-Франківський державний  
 медичний університет ІМО Івано-Франківськ»  
 проф. Гріцик Т.І.  
 “26” травня 2018 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження астранції великої (*Astrantia major* L.).
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.
3. **Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** А. Р. Грицик, Т. І. Коляджин
4. **Джерела інформації:**
  1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.
  2. Виявлення заростей та ідентифікація астранції великої на Прикарпатті / А.Р. Грицик, Т.І. Коляджин // Український вісник психоневрології. – 2012. – Том 20 № 2 (додаток). – С. 66 – 67.
  3. Ідентифікація видів родів *Sanicula* L. і *Astrantia* родини *Apiaceae* / А.Р. Грицик, Т.І. Коляджин, Н.І. Легінь // Український вісник психоневрології. – 2013. – Т. 21, вип. 2 (75), додаток. – С. 76 – 78.
  4. Інтродукція астранції великої в умовах Прикарпаття / А.Р. Грицик, Т.І. Коляджин // Матеріали міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції [«Вода і здоров'я людини»] (Ужгород 19 – 20 квітня 2013 року). – Ужгород, 2013. – С. 246 – 249.
  5. Дослідження антибактеріальної активності екстрактів видів роду Буквиця, Сосна, Астранція та котячої м'яти справжньої / А.Р. Грицик, І.А. Сас, Т.І. Коляджин // Український вісник психоневрології. – 2014. – Том 22 № 2 (79) (додаток). С. 119 – 122.
5. **Впроваджено:** у науково-навчальній процесі кафедри фармації ІМО ДВНЗ ІМО
6. **Терміни впровадження:** 01.2018 – 06.2018
7. **Результати впровадження:** поглибили знання професорів-асистентів з дослідження нових видів лікарських рослин

**Відповідальний за впровадження:**  
 Зав. кафедри фармації  
 ІМО ДВНЗ  
 проф. Охріва І.С.  
 “20” травня 2018 р.

\_\_\_\_\_

## Додаток В.4

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор  
ДВНЗ «Івано-Франківський національний  
медичний університет»

проф. Ерстенюк А.М.

2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.).

**2. Заклад, що розробив, його поштова адреса:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

**3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик

**4. Джерела інформації:**

1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.

2. Ідентифікація видів роду *Sanicula* L. і *Astrantia* L. родини *Apiaceae* L. / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик // Український вісник психоневрології. – 2013. – Том 21 № 2 (75) (додаток). С. 76 – 78.

3. Study of Amino Acid Composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadjin // The Pharma Innovation Journal. – 2016. – No. 5 (7). – P. 46 – 48.

4. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / Мельник М. В., Грицик А. Р., Нейко О. В., Сас І. А., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. // Матеріали VIII міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції [«Сучасні аспекти збереження здоров'я людини»] (Ужгород 17 – 18 квітня 2015 року). – Ужгород, 2015. – С. 228 – 231.

5. Cultivation of *Apiaceae* L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyn T. I., Grytsyk A. R. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. – Nitra: Slovak University of Agriculture, 2015. – Part 1. – P. 216 – 218.

**5. Впроваджено:** в наукову роботу та навчальний процес кафедри фармації ІФНМУ при вивченні тем: «Методи фармакогнозії. Макроскопічний аналіз листків, трав, квітів, коренів, кореневищ, кори, плодів». «Лікарські рослини та лікарська рослинна сировина, що містить флавоноїди».

**6. Терміни впровадження:** 2017 – 2018 н.р.

**7. Результати впровадження:** поглиблення знань студентів з питань розповсюдження, хімічного складу, фармакологічної дії та медичного застосування рослин родини Зонтичні, розробка проекту МКЯ.

Завідувач кафедри фармації

проф. А. Р. Грицик

Відповідальний за впровадження:

доцент кафедри фармації

к.фарм.н. Мельник М. В.

« 20 » березня 2018 р.



## Додаток В.5



Затверджую

Перший проректор  
 НМАПО імені П.Л. Шупика  
 чл.-кор. НАМН України,  
 професор Ю.П. Вдовиченко  
 « 02 » \_\_\_\_\_ 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.).
2. **Установа, автори:** Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2 Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик
3. **Джерело інформації –**
  1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.
  2. Study of Amino Acid Composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadjin // The Pharma Innovation Journal. – 2016. – No. 5 (7). – P. 46 – 48.
  3. Cultivation of Apiaceae L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyh T. I., Grytsyk A. R. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. – Nitra: Slovak University of Agriculture, 2015. – Part 1. – P. 216 – 218.
4. **Впроваджено:** у науковий та освітній процес кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів.
5. **Термін впровадження:** вересень 2017 року – лютий 2018 року
6. **Ефективність впровадження:** Результати наукових досліджень використані при формуванні інформаційного забезпечення науково-освітнього процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** немає.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри контролю якості і  
 стандартизації лікарських засобів  
 професор Ветютнева Н.О. Ветютнева

## Додаток В.6



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи  
Запорізького державного медичного  
університету, професор Туманський В. А.

” березня 2018 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea L.*) та астранції великої (*Astrantia major L.*).
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** Івано-Франківський національний медичний університет; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2, кафедра фармації.
3. **Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик.
4. **Джерела інформації:**
  1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea L.*) та астранції великої (*Astrantia major L.*) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.
  2. Ідентифікація видів роду *Sanicula L.* і *Astrantia L.* родини *Apiaceae L.* / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик // Український вісник психоневрології. – 2013. – Том 21 № 2 (75) (додаток). С. 76 – 78.
  3. Study of Amino Acid Composition of *Betonica L.*, *Sanicula L.*, and *Astrantia L.* Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadzhin // The Pharma Innovation Journal. – 2016. – N 5 (7). – P. 46 – 48.
  4. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / Мельник М. В., Грицик А. Р., Нейко О. В., Сас І. А., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. // Матеріали VIII міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції. – Ужгород, 2015. – С. 228 – 231.
  5. Cultivation of *Apiaceae L.* family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyn T. I., Grytsyk A. R. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. – Nitra: Slovak University of Agriculture, 2015. – Part 1. – P. 216 – 218.
5. **Впроваджено:** в науково – дослідну роботу кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків ФПО ЗДМУ.
6. **Терміни впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.
7. **Результати впровадження:** методики дослідження *Sanicula europaea L.*, *Astrantia major L.* прискорюють процес аналізу рослинної сировини.
8. **Зауваження:** надати отримані результати в відповідні проекти МКЯ.

**Відповідальний за впровадження:**

Зав. каф. фармакогнозії, фармацевтичної  
хімії та технології ліків ФПО, проф.  
« 5 » березня 2018 р.



Мазулін О. В.

## Додаток В.7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Вищого державного навчального  
закладу України «Буковинський  
державний медичний університет»

І.В. Геруш  
2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.).
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.
3. **Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик.
4. **Джерела інформації:**
  1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.
  2. Ідентифікація видів роду *Sanicula* L. і *Astrantia* L. родини *Apiaceae* L. / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик // Український вісник психоневрології. – 2013. – Том 21 № 2 (75) (додаток). С. 76 – 78.
  3. Study of Amino Acid Composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadjin // The Pharma Innovation Journal. – 2016. – No. 5 (7). – P. 46 – 48.
  4. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / Мельник М. В., Грицик А. Р., Нейко О. В., Сас І. А., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. // Матеріали VIII міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції [«Сучасні аспекти збереження здоров'я людини»] (Ужгород 17 – 18 квітня 2015 року). – Ужгород, 2015. – С. 228 – 231.
  5. Cultivation of *Apiaceae* L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyh T. I., Grytsyk A. R. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. – Nitra: Slovak University of Agriculture, 2015. – Part 1. – P. 216 – 218.
5. **Впроваджено:** у навчальний процес кафедри фармації Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»
6. **Терміни впровадження:** 2017 - 2018 н. р.
7. **Результати впровадження:** поглиблення знань студентів та провізорів-інтернів щодо розповсюдження, хімічного складу, морфолого-анатомічних особливостей будови та стандартизації сировини, фармакологічної дії та медичного застосування підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.).

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри фармації  
Вищого державного навчального  
закладу України «Буковинський державний  
медичний університет» (м. Чернівці)  
к.фарм.н., доцент



О.В. Геруш

## Додаток В.8



"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Директор ТОВ "Фітолук"

Ю. М. Богдан

Богдан Володимир

Ірославович

"16" березня 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.).

2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: Л. М. Грицик, Н. І. Лєгін, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик

4. Джерела інформації:

1. Грицик Л. М., Лєгін Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Лєгін Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.

2. Ідентифікація видів роду *Sanicula* L. і *Astrantia* L. родини *Apiaceae* L. / Л. М. Грицик, Н. І. Лєгін, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик // Український вісник психоневрології. – 2013. – Том 21 № 2 (75) (додаток). С. 76 – 78.

3. Study of Amino Acid Composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadjin // The Pharma Innovation Journal. – 2016. – No. 5 (7). – P. 46 – 48.

4. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / Мельник М. В., Грицик А. Р., Нейко О. В., Сас І. А., Лєгін Н. І., Коляджин Т. І. // Матеріали VIII міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції [«Сучасні аспекти збереження здоров'я людини»] (Ужгород 17 – 18 квітня 2015 року). – Ужгород, 2015. – С. 228 – 231.

5. Cultivation of *Apiaceae* L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyh T. I., Grytsyk A. R. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. – Nitra: Slovak University of Agriculture, 2015. – Part 1. – P. 216 – 218.

5. Впроваджено: ТОВ "Фітолук"

6. Терміни впровадження: 2018 – 2019 роки

7. Результати впровадження: розробка технічної документації та використання в складі фітогаїв

Відповідальний за впровадження:

заст. директора  
Богдан Володимир  
Ірославович

"16" березня 2018 р.

## Додаток В.9

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
 Проректор з наукової роботи ДВНЗ  
 «Тернопільський державний  
 медичний університет  
 імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»,  
 проф. Т.М. Кліш  
 « 19 » « 02 » 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.).
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.
3. **Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик.
4. **Джерела інформації:**
  1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.
  2. Ідентифікація видів роду *Sanicula* L. і *Astrantia* L. родини *Apiaceae* L. / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик // Український вісник психоневрології. – 2013. – Том 21, № 2 (75) (додаток). С. 76–78.
  3. Study of Amino Acid Composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadjin // The Pharma Innovation Journal. – 2016. – No. 5 (7). – P. 46 – 48.
  4. Cultivation of *Apiaceae* L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyn T. I., Grytsyk A. R. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. – Nitra: Slovak University of Agriculture, 2015. – P. 216–218.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, науково-дослідна робота, в лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови та хімічного складу лікарських рослин родини Зонтичні.
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії з  
 медичною ботанікою ДВНЗ  
 «Тернопільський державний медичний  
 університет імені І.Я. Горбачевського  
 МОЗ України»,  
 д. фарм. н., професор



С. М. Марчишин

## Додаток В.10



«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з наукової роботи Національного  
 фармацевтичного університету, професор  
 Т. В. Крутських  
 \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.).
2. **Установа, автор:** Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра фармації, ас. Легінь Н.І., ас. Коляджин Т.І., керівник проф. Грициу А.Р.
3. **Джерела інформації:**
  1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.
  2. Ідентифікація видів роду *Sanicula* L. і *Astrantia* L. родини *Apiaceae* L. / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик // Український вісник психоневрології. – 2013. – Том 21 № 2 (75) (додаток). С. 76 – 78.
  3. Study of Amino Acid Composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadjin // The Pharma Innovation Journal. – 2016. – No. 5 (7). – P. 46 – 48.
  4. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / Мельник М. В., Грицик А. Р., Нейко О. В., Сас І. А., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. // Матеріали VIII міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції [«Сучасні аспекти збереження здоров'я людини»] (Ужгород 17 – 18 квітня 2015 року). – Ужгород, 2015. – С. 228 – 231.
  5. Cultivation of *Apiaceae* L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyh T. I., Grytsyk A. R. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. – Nitra: Slovak University of Agriculture, 2015. – Part 1. – P. 216 – 218.
4. **Де впроваджено:** кафедра хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови та хімічного складу підлісника європейського та астранції великої.
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Зав. кафедри хімії природних сполук НФаУ,  
 д. фармац. н., професор

В.С. Кисличенко

Відповідальний за впровадження:  
 к. фармац. н., доцент кафедри хімії  
 природних сполук НФаУ,

О.М. Новосел

## Додаток В.11



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Перший проректор  
Київського медичного університету  
професор Серeda П.І.

«22» \_\_\_\_\_ 02 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.).

**2. Заклад, що розробив, його поштова адреса:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

**3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів:** Л.М. Грицик, Н.І. Легінь, Т.І. Коляджин, А.Р. Грицик

**4. Джерела інформації:**

1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.

2. Ідентифікація видів роду *Sanicula* L. і *Astrantia* L. родини *Apiaceae* L. / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик // Український вісник психоневрології. – 2013. – Том 21 № 2 (75) (додаток). С. 76 – 78.

3. Study of Amino Acid Composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadzhyn // The Pharma Innovation Journal. – 2016. – No. 5 (7). – P. 46 – 48.

4. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / Мельник М. В., Грицик А. Р., Нейко О. В., Сас І. А., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. // Матеріали VIII міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції [«Сучасні аспекти збереження здоров'я людини»] (Ужгород 17 – 18 квітня 2015 року). – Ужгород, 2015. – С. 228 – 231.

5. Cultivation of *Apiaceae* L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyn T. I., Grytsyk A. R. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. – Nitra: Slovak University of Agriculture, 2015. – Part 1. – P. 216 – 218.

**5. Впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету.

**6. Терміни впровадження:** з 01.09.17 по 01.02.18

**7. Результати впровадження:** поглиблення знань студентів з питань фармакологічної активності та перспективного використання лікарської рослинної сировини.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри  
фармацевтичної хімії та фармакогнозії КМУ  
д.фарм.н., професор

«22» \_\_\_\_\_ 02 2018 р.

О.Ю. Коновалова

## Додаток В.12



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор  
з науково-педагогічної роботи  
ЛНМУ ім. Данила Галицького  
член-кор. НАМН України  
проф. Гжегоцький М. Р.

« 28 » « 02 » 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Результати фармакогностичного дослідження підлісника європейського (*Sanicula europea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.).

**2. Заклад, що розробив, його поштова адреса:** ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

**3. Прізвища, імя, по-батькові авторів:** Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик.

**4. Джерела інформації:**

1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. - Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017.-100 с.

2. Доказова інформація: ідентифікація видів роду *Sanicula* L. і *Astrantia* L. родини *Apiaceae* L. / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик // Український вісник психоневрології. - 2013. - Том 21 № 2 (75) (додаток). С. 76 - 78.

3. Study of Amino Acid Composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytsyk, A. R. Grytsyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadjin // The Pharma Innovation Journal. - 2016. - No. 5 (7). - P. 47 - 49.

4. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквинці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / Мельник М. В., Грицик А. Р., Нейко О. В., Сас І. А., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. // Матеріали VIII міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції [«Сучасні аспекти збереження здоров'я людини»] (Ужгород 17 - 18 квітня 2015 року). - Ужгород, 2015. - С. 228 - 231.

5. Cultivation of *Apiaceae* L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyh T. I., Grytsyk A. R. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. - Nitra: Slovak University of Agriculture, 2015. - Part 1. - P.216-218.

**5. Де впроваджено:** навчальний процес (лекційний курс) та наукова робота викладачів кафедри фармакогнозії і ботаніки.

**6. Терміни впровадження:** 2017/2018 н.р.

**7. Результати впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови, хімічного складу, фармакологічної активності та перспектив використання в медицині підлісника європейського та астранції великої флори України.

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки  
канд. фарм. наук, доцент

Р. Є. Дармографі



## Додаток В.13

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Загальнодержавний вивірковий центр  
ДНУ «Івано-Франківський національний  
медичний університет»  
Л. М. Грицик Сивачів Т. І.  
“ 14 ” 03 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Фармакогностичне дослідження підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.).

2. Заклад, що розробив, його поштова адреса: ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»; 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

3. Прізвище, ім'я, по батькові авторів: Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик

4. Джерела інформації:

1. Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europaea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації. / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик А. Р. – Івано-Франківськ : Супрун В. П., 2017. – 100 с.

2. Ідентифікація видів роду *Sanicula* L. і *Astrantia* L. родини *Apiaceae* L. / Л. М. Грицик, Н. І. Легінь, Т. І. Коляджин, А. Р. Грицик // Український вісник психоневрології. – 2013. – Том 21 № 2 (75) (додаток). С. 76 – 78.

3. Study of Amino Acid Composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / L. M. Grytskyk, A. R. Grytskyk, I. A. Sas, N. I. Legin, T. I. Kolyadjin // The Pharma Innovation Journal. – 2016. – No. 5 (7). – P. 46 – 48.

4. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / Мельник М. В., Грицик А. Р., Нейко О. В., Сас І. А., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. // Матеріали VIII міжнародної міждисциплінарної науково-практичної конференції [«Сучасні аспекти збереження здоров'я людини»] (Ужгород 17 – 18 квітня 2015 року). – Ужгород, 2015. – С. 228 – 231.

5. Cultivation of *Apiaceae* L. family plants in Precarpathion region / Grytskyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyh T. I., Grytskyk A. R. // Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality. – Nitra: Slovak University of Agriculture, 2015. – Part 1. – P. 216 – 218.

5. Впроваджено: \_\_\_\_\_

6. Терміни впровадження: \_\_\_\_\_

7. Результати впровадження: \_\_\_\_\_

Відповідальний за впровадження:

Л. М. Грицик  
ДНУ «Івано-Франківський національний  
медичний університет»

“ 14 ” 03 2018 р.



Сивачів Т. І.

## Додаток Д

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Грицик А. Р., Коляджин Т. І. Виявлення заростей та ідентифікація астранції великої на Прикарпатті. *Український вісник психоневрології*. 2012. Т. 20 № 2 (додаток). С. 66 – 67. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини дослідження, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).
2. Ідентифікація видів родів *Sanicula* L. і *Astrantia* родини *Apiaceae* / Грицик Л. М., Грицик А. Р., Коляджин Т. І., Легінь Н. І. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, вип. 2 (75) додаток. С. 76 – 78. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення статті до друку).
3. Дослідження антибактеріальної активності екстрактів видів роду Буквиця, Сосна, Астранція та котячої м'яти справжньої / Грицик А. Р., Сас І. А., Мандзій Т. П., Коляджин Т. І., Стасів Т. Г. *Український вісник психоневрології*. 2014. Т. 22, вип. 2 (79), додаток. С. 119 – 122. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження антибактеріальної активності астранції великої, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).
4. Дослідження елементного складу видів роду Підлісник та Астранція / Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик Л. М., Грицик А. Р. *Медична та клінічна хімія*. 2018. № 2. С. 112 – 116. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання експерименту з дослідження елементного складу астранції великої, оформлення статті до друку).
5. Коляджин Т. І. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту летких сполук трави астранції великої (*Astrantia major* L.). *Фармаком*. 2018. № 3. С. 42 – 45.
6. Cultivation of *Apiaceae* L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyn T. I., Grytsyk A. R. *Agrobiodiversity for*

## Продовж. дод. Д

*improving nutrition, health and life quality*. – Nitra : Slovak University of agriculture, 2015. P. 216 – 218. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини дослідження, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).

7. Study of amino acid composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / Grytsyk L. M., Grytsyk A. R., Sas I. A., Legin N. I., Kolyadjin T. I. *The Pharma Innovation Journal*. 2016. № 5 (7). P. 46 – 48. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження амінокислотного складу трави астранції великої, оформлення статті до друку).

8. Патент на корисну модель 130764 Україна, МПК (2018.01), А61К 36/00, А61Р 7/04 (2006.01). Спосіб одержання екстракту трави астранції великої з кровозупинною дією. А.Р. Грицик А.Р., Т.І. Коляджин. № u 2018 06485; заявл. 11.06.18; опубл. 26.12.2018, Бюл. № 24. (Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, оформлення патенту).

9. Грицик А. Р., Коляджин Т. І. Інтродукція астранції великої в умовах Прикарпаття. *Вода і здоров'я людини*: мат. міжнар. міждисциплінарної наук.-практ. конф. 19 – 20 квіт. 2013 р. Ужгород, 2013. С. 246 – 249. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини дослідження, узагальнення отриманих даних, оформлення тез до друку).

10. Коляджин Т. І. Використання астранції великої в народній медицині. *Інновації в медицині*: тези 82-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. участю, 18 – 19 квіт. 2013 р. Івано-Франківськ, 2013. С. 224.

11. Грицик А. Р., Коляджин Т. І. Одержання сухих екстрактів з трави астранції великої. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження рослин* : мат. І Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 20 – 21 берез. 2014 р. Харків, 2014. С. 73. (Особистий внесок – збір матеріалу, виконання експериментальної частини, оформлення тез до друку).

## Продовж. дод. Д

12. Коляджин Т. І. Морфологічне дослідження астранції великої. *Інновації в медицині* : тези 83-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених із міжнар. участю, 27 – 28 берез. 2014 р. Івано-Франківськ, 2014. С. 194.

13. Грицик А. Р., Сас І. А., Коляджин Т. І. Дослідження гострої токсичності екстрактів видів роду Буквиця та Астранція. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : мат. IV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 16 – 17 жовт. 2014 р. Харків, 2014. С. 90 – 91. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження гострої токсичності екстрактів астранції великої, оформлення тез до друку).

14. Коляджин Т. І. Визначення вмісту дубильних речовин в траві астранції великої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : мат. I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 7 – 8 листоп. 2014 р. Харків, 2014. С. 97.

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

16. Коляджин Т. І. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот в сировині *Astrantia major* L. *Інновації в медицині* : тези 84-ої наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю, 12 – 13 берез. 2015 р. Івано-Франківськ, 2015. С. 169.

17. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europa* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації : [монографія] / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. Івано-Франківськ,

Продовж. дод. Д

2017. 100 с. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення методичних рекомендацій до друку).

## Додаток Е

## АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. 82-га науково-практична конференція студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 18–19 квітня 2013 р., форма участі – публікація тез).

2. ІХ Міжнародна науково-практична конференція «Фармацевтичне і медичне право України (фармацевтичне і медичне законодавство, судова фармація, доказова фармація)» (Харків, 16 листопада 2012 р., форма участі – публікація статті).

3. Міжнародна міждисциплінарна науково-практична конференція «Вода і здоров'я людини» (Ужгород, 19–20 квіт. 2013 р., форма участі – стендова доповідь).

4. Х науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів «Солобожанські читання. Медичне і фармацевтичне право України: інновації, якість, безпека і перспективи розвитку» (Харків, 15–16 листопада 2013 р., форма участі – публікація статті).

5. І Міжнародна науково-практична internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 20–21 березня 2014 р., форма участі – публікація тез).

6. 83-тя науково-практична конференція студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 27–28 березня 2014 р., форма участі – стендова доповідь).

7. ІV науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (Харків, 16–17 жовтня 2014 р., форма участі – публікація тез).

## Продовж. дод. Е

8. I Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 7–8 листопада 2014 р., форма участі – публікація тез).

9. XI науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів «Солобожанські читання. Медичне і фармацевтичне право України: інновації, якість, безпека і перспективи розвитку» (Харків, 13–14 листопада 2014 р., форма участі – публікація статті).

10. 84-та науково-практична конференція студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 12–13 березня 2015 р., форма участі – публікація тез).

11. VIII Міжнародна міждисциплінарна науково-практична конференція «Сучасні аспекти збереження здоров'я людини» (Ужгород, 17–18 квітня 2015 р., форма участі – публікація статті).

12. II Міжнародна наукова конференція «Агробіорізноманіття для покращання харчування, здоров'я та якості життя» (Нітра, 20–22 серпня 2015 р., форма участі – публікація статті).