

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИТСУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології**

ПОГОДЖЕНО

Декан факультету захисту
рослин, біотехнологій та екології
_____ **Юлія КОЛОМІЄЦЬ**
«____» _____ 2026 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри
екобіотехнології та біорізноманіття
_____ **Олена КВАСКО**
«____» _____ 2026 р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Оптимізація умов екстрагування астрагалозиду IV з рослин роду
Astragalus»

Спеціальність: 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма « Біотехнології та біоінженерія»

Гарант освітньої програми

Кандидат біологічних наук, доцент

_____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

Керівники кваліфікаційної роботи

Кандидат біологічних наук, доцент

_____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

_____ **Олександр МАНЖУРА**
(підпис)

Виконала

_____ **Влада ШВЕЦЬ**
(підпис)

КИЇВ-2026

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології**

ЗАТВЕРДЖУЮ

**Завідувач кафедри екобіотехнології та
біорізноманіття**

Кандидат біологічних наук, доцент _____ Олена КВАСКО
«___» _____ 2026 р.

**З А В Д А Н Н Я
ДО ВИКОНАННЯ БАКАЛАВРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ
ЗДОБУВАЧУ**

Швець Владі Ігорівні

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології та біоінженерія»

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи: «Оптимізація умов екстрагування
астрагалозиду IV з рослин роду *Astragalus*»

затверджена наказом ректора НУБіП України від «30» жовтня 2025 р. № 2596 «С».

Термін подання завершеної роботи на кафедру «22» травня 2026 р.

Вихідні дані до роботи: рослинна сировина *Astragalus dasyanthus*, стандартний зразок астрагалозиду IV, етанол, метанол та дистильована вода для приготування екстрактів, силікагелеві пластинки.

Перелік питань, які потрібно розробити:

1. Отримати екстракти *Astragalus dasyanthus* за різних умов екстрагування.
2. Провести ТШХ аналіз та денсидометричне визначення астрагалозиду IV.
3. Оцінити вплив розчинника, температури та тривалості ультразвукової обробки на вихід астрагалозиду IV.
4. Визначити оптимальні умови екстрагування астрагалозиду IV.

Дата видачі завдання «31» жовтня 2025 р.

Завдання прийняв до виконання

Влада ШВЕЦЬ

(підпис)

**Керівники бакалаврської
кваліфікаційної роботи**

Олена КВАСКО

(підпис)

Олександр МАНЖУРА

(підпис)

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота на тему « Оптимізація умов екстрагування астрагалозиду IV з рослин роду *Astragalus*» в обсязі 49 сторінок комп'ютерного тексту формату А4, що включають вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження та результати досліджень, зокрема містить 2 рисунки, 5 таблиць, 42 використаних джерела.

Метою дослідження є оптимізація умов екстракції астрагалозиду IV з рослинної сировини *Astragalus dasyanthus* за допомогою ультразвукової екстракції.

Завдання дослідження:

- Проаналізувати літературні джерела щодо біологічних особливостей *Astragalus dasyanthus*, його фітохімічного складу та фармакологічної цінності астрагалозиду IV.

- Обґрунтувати вибір екстрагентів та умов ультразвукової екстракції та отримати серію екстрактів з використанням різних розчинників, температур та тривалості ультразвукової обробки.

- Ідентифікувати астрагалозид IV методом тонкошарової хроматографії.

- Виконати кількісне визначення астрагалозиду IV денситометричним аналізом.

- Провести порівняльний аналіз ефективності екстракції залежно від умов процесу та визначити оптимальні параметри.

Об'єктом дослідження є рослинна сировина *Astragalus dasyanthus*.

Предметом дослідження є процес екстракції астрагалозиду IV та вплив технологічних параметрів на її ефективність.

У роботі було використано наступні **методи досліджень**: фітохімічні та біотехнологічні, хроматографічні, денситометричні та статистичні.

Ключові слова: *Astragalus dasyanthus*, астрагалозид IV, тонкошарова хроматографія, денситометричний аналіз, ультразвукова екстракція, біологічно активні речовини.

ABSTRACT

The qualification thesis entitled «Optimization of extraction conditions for astragaloside IV plants of the *Astragalus* species» in the amount of 49 pages of computer text in A4 format, including an introduction, a literature review, materials and methods, and research results. The thesis contains 2 pictures, 5 tables, 42 used sources.

The aim of the study was to optimize the extraction conditions of astragaloside IV from the plant material of *Astragalus dasyanthus* using ultrasound-assisted extraction.

The objectives of the study were:

- to analyze literature sources concerning the biological characteristics of *Astragalus dasyanthus*, its phytochemical composition, and the pharmacological significance of astragaloside IV;
- to substantiate the selection of extractants and ultrasound extraction conditions and to obtain a series of extracts using different solvents, temperatures, and durations of ultrasound treatment;
- to identify astragaloside IV by thin-layer chromatography;
- to perform quantitative determination of astragaloside IV using densitometric analysis;
- to conduct a comparative analysis of extraction efficiency depending on process conditions and determine the optimal extraction parameters.

The object of the study was the plant raw material of *Astragalus dasyanthus*.

The subject of the study was the extraction process of astragaloside IV and the influence of technological parameters on its efficiency.

The following research methods were used in the work: phytochemical, biotechnological, chromatographic, densitometric, and statistical methods.

Keywords: *Astragalus dasyanthus*, astragaloside IV, thin-layer chromatography, densitometric analysis, ultrasound-assisted extraction, biologically active compounds.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	8
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	10
1.1 <i>Astragalus dasyanthus</i> як об'єкт досліджень	10
1.1.1 Систематичне положення, морфологічні особливості та поширення рослин.....	10
1.1.2 Фітохімічний склад <i>Astragalus dasyanthus</i>	12
1.2 Астрагалозид IV як маркерна біологічно-активна сполука.....	15
1.2.1 Хімічна структура та фізико-хімічні властивості.....	15
1.2.2 Особливості біосинтезу астрагалозиду IV	16
1.2.3 Локалізація астрагалозиду IV у рослинній сировині та особливості накопичення	17
1.2.4 Фармакологічна активність.....	18
1.3 Ультразвукова екстракція як метод інтенсифікації виділення астрагалозиду IV	19
1.3.1 Фізичні основи дії ультразвуку	19
1.3.2 Переваги ультразвукової екстракції.....	20
1.3.3 Технологічні параметри ультразвукової екстракції, що потребують оптимізації.....	20
1.4 Тонкошарова хроматографія як метод ідентифікації астрагалозиду IV ...	22
1.4.1 Теоретичні основи методу тонкошарової хроматографії	22
1.4.2 Переваги ТШХ при аналізі рослинної сировини	23
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	25
2.1 Приготування екстрактів.....	25

2.2 Хроматографічний аналіз екстрактів методом тонкошарової хроматографії	28
2.3 Денсидометричний аналіз	29
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	30
3.1 Загальна оцінка отриманих значень	30
3.2 Аналіз відтворюваності результатів та визначення оптимальних умов екстракції астрагалозиду IV	35
3.3 Вплив природи розчинника на екстракцію астрагалозиду IV.....	37
3.4 Вплив температурного режиму на ефективність екстракції	39
3.5 Вплив тривалості ультразвукової обробки на ефективність екстракції астрагалозиду IV	41
3.6 Порівняння отриманих даних з сучасними літературними даними	42
ВИСНОВКИ	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	45

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

APS – полісахариди астрагалу

AG-IV – астрагалозид IV

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

MeOH – метанол

EtOH – етанол

УЗЕ – ультразвукова екстракція

ВСТУП

У сучасних умовах зростає інтерес до використання біологічно активних речовин рослинного походження у фармацевтичній, медичній та біотехнологічній промисловості. Особлива увага привертає вторинні метаболіти лікарських рослин, серед яких важливе місце займають тритерпенові сапоніни, що характеризуються широким спектром фармакологічної дії. Представники роду *Astragalus* є перспективним джерелом таких сполук, зокрема астрагалозиду IV – одного з найбільш вивчених та біологічно активних компонентів.

Астрагалозид IV проявляє імуномодулюючу, кардіопротекторну, протизапальну та антиоксидантну активність, тому є цінним при створенні лікарських засобів та біологічно активних добавок. У зв'язку з цим актуальним є питання ефективного вилучення цієї сполуки з рослинної сировини, оскільки вихід цільових компонентів значною мірою залежить від умов екстракції.

Традиційні методи вилучення біологічно активних речовин часто є тривалими та менш ефективними, що стимулює пошук нових підходів до інтенсифікації процесу. Одним із перспективних методів є ультразвукова екстракція, яка забезпечує руйнування клітинних структур рослинної тканини та покращує масообмін, що сприяє збільшенню виходу цільових сполук та скороченню тривалості процесу.

Водночас ефективність ультразвукової екстракції залежить від низки технологічних параметрів, зокрема від типу розчинника, температури, тривалості обробки та співвідношення сировини та екстрагента. Оптимізація цих умов необхідна для досягнення максимального вилучення астрагалозиду IV та підвищення ефективності технологічного процесу.

Таким чином, дослідження, спрямовані на оптимізацію умов екстракції астрагалозиду IV з рослинної сировини *Astragalus dasyanthus*, є актуальними як з наукової, так і з практичної точки зору, оскільки сприяють підвищенню ефективності отримання біологічно активних екстрактів.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 *Astragalus dasyanthus* як об'єкт досліджень

1.1.1 Систематичне положення, морфологічні особливості та поширення рослин

Астрагал шерстистоквітковий (*Astragalus dasyanthus*) являє собою трав'янистий багаторічник, що належить до родини Fabaceae (бобових), роду *Astragalus* – одного з найбільших родів квіткових рослин. Зникаючий вид, занесений до Червоної книги України [1].

Astragalus dasyanthus поширений у степових та напівпосушливих регіонах Східної та Південно-Східної Європи, зокрема в Україні, Молдові, Румунії, Болгарії [2]. Зустрічається в лісостепових і степових регіонах. Росте на схилах балок, річкових долин, на остепенілих лісових галявинах, серед степових кущів, курганів. Зустрічається розсіяно, популяцій не утворює. Не вимогливий до ґрунту та вологи, зазвичай росте на піщаних, кам'янистих або вапняних ґрунтах [3].



Рис. 1.1.1 Території поширення астрагалу шерстистоквіткового [4].

Астрагал шерстистоквітковий належить до життєвої форми кущиків, що утворюють багатоголовий стеблокорінь - каудекс . Зазвичай в кущі 3-5 лежачих, стоячих або висхідних стебел, що густо вкриті листям. Довжина стебел до 40 см. Стебла розгалужені, добре розвинені. Стебло заввишки 16-30 см, висхідне, гіллясте. Листочки по 16-18 пар, сидячі, продовгувато-овальні або продовгувато-ланцетоподібні, завдовжки 15-12 мм і шириною близько 6 мм. Прилистки ланцетоподібні, загострені. Квіти зібрані у кулясті густі суцвіття типу китиця, з 10–20 квітками. Приквітки вузько ланцетні, загострені, рівні або довші за чашечку, жовтувато волокнисті. Корінь товстий стрижневий, досягає довжини 1,2 м, соковитий без здерев'яніння, світло-коричневий, з поперечно зморшкуватою корою, в верхній частині багатоголавий. Усі частини рослини, навіть квіти, за винятком внутрішньої сторони вінчика, вкриті довгими жовтувато-білуватими або рудуватими волосками [5].



Рис. 1.1.2 Рослини *Astragalus dasyanthus* в природніх умовах зростання [6].

1.1.2 Фітохімічний склад *Astragalus dasyantus*

Фітохімічний профіль *Astragalus dasyantus* формується комплексом вторинних метаболітів, серед яких переважають сапоніни, флаваноїди та полісахариди. Також додатково виявляються фенольні кислоти, різні карбонові кислоти, жирні кислоти амінокислоти та алкалоїди.

Специфічний набір компонентів у рослинах астрагалу шерстистоквіткового включає як полярні сполуки, такі як флаваноїди, полісахариди та сапоніни, так і менш полярні сполуки - органічні та жирні кислоти.

Флаваноїди є однією з провідних груп біологічно активних речовин у представників роду *Astragalus*. За результатами сучасних фітохімічних досліджень, для видів даного роду характерна наявність флаваноїдів та їх глікозидів, зокрема кверцетину, кемпферолу, ізорамнетину та рутину.

Флаваноїди є поліфенольними сполуками, що виконують у рослині захисну функцію – беруть участь в окисно-відновних реакціях, виконуючи антиоксидантну функцію, а також поглинають ультрафіолетове світло, тим самим запобігаючи руйнуванню хлорофілу та регулюючи фотосинтетичні процеси [7].

Дослідження флавоноїдного складу рослин, проведені з використанням сучасних хроматографічних методів підтверджують наявність значних концентрацій флавоноїдів та їх глікозидних форм саме у надземній частині рослини – листках, стеблах та квітках. Саме ці органи виконують активну фотосинтетичну функцію та піддаються впливу ультрафіолетового випромінювання, що зумовлює інтенсивний синтез флавоноїдів як сполук із захисною функцією [8].

Фармакологічне значення флавоноїдів обумовлене насамперед їх антиоксидантними властивостями. Молекули кверцетину та кемпферолу здатні нейтралізувати активні форми кисню, інгібувати процеси перекисного окиснення ліпідів та стабілізувати клітинні мембрани. Завдяки цьому вони

відіграють важливу роль у профілактиці оксидативного стресу як одного з ключових механізмів розвитку серцево-судинних та запальних захворювань. Крім антиоксидантної активності, флавоноїди проявляють протизапальну активність. Вони здатні впливати на експресію протизапальних цитокінів, що пригнічують запальні процеси [9].

Окремої уваги заслуговує рутин - глікозид кверцетину, який характеризується кардіопротекторною дією та здатністю зменшувати проникність судинної стінки [10].

Разом з флаваноїдами важливим компонентом хімічного складу рослин роду *Astragalus* є полісахариди. Полісахариди являють собою природні біополімери, побудовані з глікозидних залишків, з'єднаних глікозидними зв'язками. До складу рослинних полісахаридів найчастіше входять глюкоза, галактоза, арабіноза, рамноза, малога та ксилоза. Більшість з них належать до гетерополісахаридів і характеризуються складною розгалуженою структурою, що зумовлює їх біологічну активність [11].

У рослині полісахариди виконують кілька важливих функцій, зокрема беруть участь у формуванні клітинних оболонок, забезпечуючи механічну міцність та стабільність клітин. Деякі з полісахаридів виконують роль запасних речовин, які використовуються рослиною в період активного росту або за стресових умов. Крім того, водорозчинні полісахариди здатні утримувати велику кількість води, що сприяє підтриманню осмотичного балансу клітин та підвищує стійкість рослин до несприятливих факторів середовища. Встановлено, що полісахариди можуть брати участь у захисних реакціях рослин, зокрема у взаємодії з мікроорганізмами та формуванні бар'єрних структур тканин [12].

Для представників роду *Astragalus* характерна наявність специфічних полісахаридів астрагалу (*Astragalus polysaccharides*, APS), які вважаються одними з основних біологічно активних компонентів цього роду. За даними досліджень, APS представлені складними гетерополісахаридами, що містять у своєму складі глюкозу, галактозу, арабінозу, рамнозу, ксилозу, манозу та похідні глюкуронової або галактуринової кислот. Молекулярна маса APS може значно

варіювати, що зумовлює різноманітність їх фізичних, хімічних та біологічних ефектів [13].

Однією з найбільш вивчених властивостей полісахаридів є імуномодуюча дія. Встановлено, що ці сполуки здатні активувати різні ланки імунної системи, зокрема макрофаги, природня клітини-кілери, Т- і В-лімфоцити. Внаслідок цього посилюється як клітинний так і гуморальний імунітет [14]. Крім того APS проявляють протизапальну та антиоксидантну активність. Вони здатні знижувати утворення активних форм кисню, пригнічувати розвиток запальних процесів та захищати клітини від оксидативного стресу. Окрім цього, APS мають гепатопротекторну, антидіабетичну, кардіопротекторну та нейропротекторну дію, можуть сприяти нормалізації обміну речовин, захищати тканини печінки та знижувати ризик розвитку метаболічних порушень [15]. Також полісахариди астрагалу можуть проявляти пребіотичні властивості, позитивно впливаючи на склад кишкової мікробіоти та сприяючи підтриманню бар'єрної функції кишківника [16].

Поряд із полісахаридами та флавоноїдами, важливими компонентами хімічного складу рослин роду *Astragalus* є тритерпенові сапоніни. Ці сполуки належать до групи вторинних метаболітів і характеризуються значною біологічною активністю. Сапоніни відіграють важливу роль у захисних механізмах рослин, а також визначають низку фармакологічних ефектів лікарської рослинної сировини, зокрема протизапальні, кардіопротекторні та імуномодуючі властивості.

Сапоніни – це безазотисті сполуки групи глікозидів з поверхнево-активними властивостями. До складу сапонінів входять моносахариди та гідрофобні аглікони. Ці сполуки широко поширені в рослинному світі, оскільки багато рослинних видів накопичують сапоніни як захисні вторинні метаболіти [17].

У представників роду *Astragalus* переважають тритерпенові сапоніни, зокрема циклоартанового типу, які часто виявляють у саме у коренях рослин. У

різних видів ідентифіковано понад 100 різних тритерпенових глікозидів, більшість з яких належить до групи астрагалозидів.

Астрагалозиди можна розділити на астрагалозиди I, II, III та IV. Найбільш дослідженим та найбільш біологічно активним представником цієї групи є астрагалозид IV (AG-IV). AG-IV це тетрациклічний тритерпеноїдний сапонін у формі ланолінового ефірного спирту. У сучасній фармакології саме ця сполука розглядається як один з основних маркерів лікарських видів астрагалу [18].

1.2 Астрагалозид IV як маркерна біологічно-активна сполука

1.2.1 Хімічна структура та фізико-хімічні властивості

Астрагалозид IV – це природний тритерпеновий сапонін, який хімічно є глікозильованим циклоартановим тритерпеном. Молекула складається з великого гідрофобного аглікону та приєднаних до нього цукрових залишків, що визначає її амфіфільну природу – поєднання гідрофобної та гідрофільної частин. Загальна молекулярна формула AG-IV - $C_{41}H_{68}O_{14}$ [19].

Основою молекули AG-IV є аглікон – гідрофобна частина молекули, представлена циклоартановим тритерпеновим скелетом. Цей скелет складається з кількох конденсованих кілець і містить характерний циклопропановий фрагмент, що є типовою структурною особливістю багатьох тритерпенів, синтезованих рослинами роду *Astragalus*.

Вуглеводні залишки приєднані до аглікону, утворюють глікозидну частину молекули. У випадку AG-IV це зазвичай залишки глюкози та ксилози, пов'язані з агліконом через глікозидні зв'язки в певних положеннях молекули. Саме присутність цих цукрових фрагментів перетворює тритерпеноїд на сапонін і суттєво змінює його фізико-хімічні властивості. Глікозидні ланцюги підвищують полярність молекули, покращують її взаємодію з водним середовищем і впливають на здатність сполуки взаємодіяти з біологічними мембранами.

Структурна організація AG-IV включає велику кількість стереоцентрів – атомів вуглецю, для яких можливі різні просторові конфігурації. Просторове розташування атомів у молекулі важливе для її біологічної активності, оскільки навіть незначні зміни можуть суттєво впливати на взаємодію молекули з ферментами або рецепторами. Така структурна організація: поєднання гідрофобного тритерпенового ядра та гідрофільних вуглеводних залишків надає молекулі амфіфільних властивостей. Це означає, що AG-IV здатний взаємодіяти як з ліпідними структурами клітинних мембран, так і з водним середовищем клітини [20].

1.2.2 Особливості біосинтезу астрагалозиду IV

Біосинтез AG-IV у рослин роду *Astragalus* відбувається за участі загального метаболічного шляху утворення тритерпенових сполук. Початковими попередниками цього процесу є ізопренові одиниці - ізопентенілпірофосфат та диметилалілпірофосфат, які утворюються в рослинних клітинах в результаті функціонування мевалонатного шляху біосинтезу ізопреноїдів. Згодом ці молекули конденсуються з утворенням фарнезилпірофосфату, з якого утворюється лінійний тритерпеновий попередник - сквален.

Наступним кроком є ферментативне окислення сквалену до 2,3-оксидосквалену, після чого відбувається циклізація цієї молекули за участю ферментів класу оксидоскваленциклази. В результаті цієї реакції утворюється циклоартановий тритерпеновий скелет.

Після формування циклоартанового скелета відбувається ряд подальших ферментативних модифікацій молекули. До них належать реакції гідроксилювання, окислення та відновлення, які призводять до утворення аглікону циклоастрогенольного типу.

На завершальних етапах біосинтезу відбувається приєднання вуглеводних залишків до аглікону. Цей процес називається глікозилюванням і відбувається за

участю ферментів глікозилтрансфераз, які переносять моносахаридні залишки (зокрема глюкозу або ксилозу) з активованих донорів на гідроксильні групи тритерпенового ядра [21].

1.2.3 Локалізація астрагалозиду IV у рослинній сировині та особливості накопичення

Локалізація та рівень накопичення в рослині AG-IV залежать від виду рослини, органу, фази розвитку та умов навколишнього середовища.

Найбільше накопичення AG-IV зазвичай спостерігається в коренях рослин, що пояснює використання кореневої сировини як основної лікарської частини багатьох видів астрагалів. Зокрема, дослідження хімічного складу рослин *Astragalus membranaceus* показало, що вміст AG-IV у різних органах розподілений нерівномірно: найвища концентрація характерна для коренів, тоді як у квітках, стеблах і листках вона значно нижча.

Такий розподіл пояснюється особливостями синтезу та транспорту вторинних метаболітів у рослинах. Згідно з результатами досліджень молекулярної експресії, гени, що беруть участь у біосинтезі тритерпенових сапонінів, мають вищий рівень у надземних органах, зокрема у листках та стеблах. Водночас самі сапоніни можуть накопичуватися переважно в коренях, що відбувається внаслідок транспорту синтезованих метаболітів до підземних органів рослини. Такий механізм характерний для багатьох вторинних метаболітів рослин, які після синтезу переміщуються до органів запасання або до тих частин рослини, де вони забезпечують захисні функції [22].

AG-IV відіграє переважно захисну роль у рослинах. Ці сполуки можуть брати участь у формуванні хімічного бар'єру проти патогенних мікроорганізмів, грибів та рослинних організмів. Завдяки своїм поверхнево-активним властивостям сапоніни здатні взаємодіяти з клітинними мембранами мікроорганізмів. Крім того, вони можуть брати участь у реакціях рослин на абіотичні стресові фактори, наприклад засолення ґрунту [23].

На накопичення AG-IV у рослинній сировині також впливають біологічні та екологічні фактори. Серед біологічних факторів важливе значення мають вік рослини та фаза її розвитку. Зазвичай максимальний вміст тритерпенових сапонінів спостерігається у старіших рослинах, після того як протягом життєвого циклу відбувається процес накопичення вторинних метаболітів. Крім того, на вміст AG-IV можуть впливати умови вирощування рослин, включаючи тип субстрату, кліматичні умови, освітлення та водний режим. Встановлено, що стресові фактори, зокрема посуха, перепади температури або засоленість, цілком здатні стимулювати синтез вторинних метаболітів [24].

1.2.4 Фармакологічна активність

Однією з найважливіших фармакологічних властивостей AG-IV є його здатність модулювати функції імунної системи. Дослідження показали, що ця сполука стимулює проліферацію Т- та В-лімфоцитів, посилює активність макрофагів та регулює вироблення цитокінів, які беруть участь у запальних та імунних реакціях організму [25].

Численні експериментальні дослідження продемонстрували виражену кардіопротекторну активність AG-IV. Було показано, що ця сполука здатна зменшувати пошкодження міокарда під час ішемії, знижувати ризик інфаркту та покращувати функціональний стан серцевого м'яза. Антиоксидантна активність AG-IV є одним з ключових механізмів його фармакологічної дії. Було виявлено, що ця сполука здатна нейтралізувати активні форми кисню, зменшувати перекисне окислення ліпідів та підвищувати активність антиоксидантних ферментів [26].

AG-IV також проявляє значну нейропротекторну активність. В експериментальних моделях нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Паркінсона та хвороба Альцгеймера, AG-IV покращував функціональний стан нервової системи, зменшував запалення в мозку та збільшував виживання нейронів [27].

1.3 Ультразвукова екстракція як метод інтенсифікації виділення астрагалозиду IV

1.3.1 Фізичні основи дії ультразвуку

У сучасних дослідженнях біологічно активних речовин рослинного походження значна увага приділяється розробці ефективних методів їх виділення з рослинної сировини. Одним із перспективних підходів до інтенсифікації процесу екстракції є використання ультразвукових технологій.

Ультразвукова екстракція базується на використанні ультразвукових хвиль частотою понад 20 кГц, які поширюються в рідкому середовищі та викликають низку фізичних ефектів, що інтенсифікують процес екстракції біологічно активних речовин. Одним з основних механізмів дії ультразвуку є явище акустичної кавітації. Воно полягає в утворенні, зростанні та подальшому руйнуванні мікроскопічних газових бульбашок у рідині. У момент їх руйнування виникають локальні області високого тиску та температури, а також ударні хвилі. В результаті цих процесів відбувається механічне пошкодження клітинних стінок рослинної тканини, що сприяє вивільненню внутрішньоклітинних компонентів та полегшує їх перехід у розчинник.

Під впливом ультразвукових коливань також відбувається інтенсивне перемішування екстракційного середовища, що збільшує площу контакту між рослинною сировиною та розчинником. В результаті дифузія біологічно активних речовин у рідку фазу значно прискорюється. Крім того, ультразвук підвищує проникність клітинних мембран та сприяє проникненню розчинника в клітини рослинної тканини, що сприяє більш повному вилученню вторинних метаболітів [28].

1.3.2 Переваги ультразвукової екстракції

Традиційні методи екстракції біологічно активних речовин з рослинної сировини, такі як мацерація, перколяція та екстракція нагріванням (рефлюксна екстракція), широко використовуються у фармацевтичній та біотехнологічній практиці. Однак ці методи мають низку обмежень, зокрема значну тривалість процесу, високу витрату розчинника та можливість деградації термолабільних біологічно активних речовин під час тривалого нагрівання.

Однією з головних переваг ультразвукової екстракції є значне скорочення тривалості процесу. У той час як традиційна мацерація може тривати кілька годин або навіть днів, використання ультразвуку дозволяє отримати порівнянний або вищий вихід цільових сполук за значно коротший час. Це пов'язано з інтенсифікацією процесів масообміну між рослинною сировиною та екстрагентом.

Ще однією важливою перевагою є зменшення витрати розчинника. Завдяки ефективнішому руйнуванню рослинної матриці та кращому проникненню розчинника в клітини рослинної тканини, ультразвукова екстракція дозволяє використовувати менші об'єми екстрагенту, досягаючи при цьому високого ступеня вилучення біологічно активних речовин [29].

Крім того, застосування ультразвуку сприяє підвищенню виходу цільових компонентів, зокрема вторинних метаболітів рослин. Ультразвукова екстракція дозволяє більш ефективно руйнувати клітинну структуру та сприяє вивільненню метаболітів [30].

1.3.3 Технологічні параметри ультразвукової екстракції, що потребують оптимізації

Ефективність ультразвукової екстракції біологічно активних речовин з рослинної сировини значною мірою залежить від технологічних параметрів процесу. Оптимізація цих параметрів є важливою умовою для досягнення

максимального виходу цільових компонентів та підвищення ефективності екстракції.

Одним із ключових факторів, що визначають ефективність екстракції біологічно активних речовин з рослинних матеріалів, є полярність екстрагенту. Для екстракції сапонінів, зокрема AG-IV, часто використовуються водно-етанольні розчини, оскільки вони забезпечують оптимальну розчинність цих глікозидних сполук. Дослідження показують, що використання водно-етанольних сумішей часто забезпечує вищий вихід сапонінів порівняно із застосуванням чистих розчинників. Це пояснюється тим, що вода сприяє набухання клітинної стінки рослинної тканини, полегшуючи проникнення розчинника в клітини, тоді як етанол ефективно розчиняє органічні компоненти рослинної матриці [31].

Температура також є важливим параметром ультразвукової екстракції, оскільки вона впливає на розчинність біологічно активних речовин та швидкість масопереносу між рослинною сировиною та розчинником. Підвищення температури, як правило, сприяє збільшенню розчинності цільових компонентів та прискорює дифузію речовин у рідку фазу. Крім того, підвищення температури знижує в'язкість розчинника, що сприяє його проникненню в рослинні тканини. Однак надмірне підвищення температури може призвести до часткового руйнування термолабільних біологічно активних сполук. Тому під час проведення ультразвукової екстракції важливо підтримувати оптимальні температурні умови, що забезпечують високий вихід цільових компонентів без їх деградації [32].

Тривалість ультразвукової обробки є ще одним важливим фактором, що впливає на ефективність екстракції. Зі збільшенням часу ультразвукового впливу клітинна структура рослинної тканини інтенсивніше руйнується, що сприяє вивільненню внутрішньоклітинних компонентів у розчинник. Крім того, збільшення тривалості екстракції сприяє більш повному переходу біологічно активних речовин у рідку фазу. Однак надмірна тривалість ультразвукової обробки може призвести до небажаних змін у структурі деяких біологічно

активних сполук або до зниження ефективності процесу через насичення розчинника екстрагованими компонентами.

Співвідношення рослинної сировини до розчинника є одним з важливих параметрів, що визначають ефективність екстракції. Збільшення об'єму екстрагенту сприяє збільшенню градієнта концентрації між рослинною тканиною та рідкою фазою, що стимулює процес дифузії біологічно активних речовин у розчинник. Однак надмірне збільшення кількості розчинника може бути економічно недоцільним та ускладнювати наступні етапи концентрування та очищення екстракту [33].

1.4 Тонкошарова хроматографія як метод ідентифікації астрагалозиду IV

1.4.1 Теоретичні основи методу тонкошарової хроматографії

Тонкошарова хроматографія (ТШХ) – один із широко використовуваних методів аналітичної хімії для розділення, ідентифікації та попереднього аналізу біологічно активних речовин, зокрема компонентів рослинної сировини. Метод базується на різній здатності сполук розподілятися між двома фазами – нерухомою (стаціонарною) та рухомою (мобільною), що забезпечує їх розділення залежно від фізико-хімічних властивостей.

Нерухома фаза в ТШХ найчастіше являє собою шар адсорбенту (наприклад, силікагелю), нанесеного на пластину, тоді як рухома фаза – суміш органічних розчинників. Коли зразок наноситься на стартову лінію, а рухома фаза згодом переміщується вздовж пластини, компоненти суміші мігрують з різною швидкістю залежно від їхньої полярності, молекулярної маси та здатності взаємодіяти зі нерухомою фазою.

Основними механізмами, що визначають розділення речовин у ТШХ є адсорбція, розподіл між фазами та іонний обмін. Речовини, які мають вищу спорідненість до нерухомої фази, рухаються повільніше, тоді як менш полярні компоненти рухаються швидше разом з рухомою фазою [34].

Кількісною характеристикою в ТШХ є значення коефіцієнта утримування (R_f), який виникає як відношення відстані, пройденої речовиною, до відстані, пройденої фронтом розчинника. Це значення є специфічним для конкретної сполуки за заданих умов аналізу та може бути використане для її ідентифікації шляхом порівняння зі стандартами.

Візуалізація компонентів після хроматографії створюється за допомогою ультрафіолетового випромінювання або спеціальних проявників (реактивів), що утворюють кольорові плями після нанесення на пластинку. Це дозволяє швидко виявити наявність певних біологічно активних сполук у складі рослинних екстрактів [35].

1.4.2 Переваги ТШХ при аналізі рослинної сировини

Тонкошарова хроматографія широко використовується для аналізу рослинних матеріалів та екстрактів завдяки своїй простоті, доступності та високій інформативності. Однією з ключових переваг методу є можливість одночасного аналізу кількох зразків на одній пластині, що значно підвищує ефективність лабораторних досліджень.

На відміну від складніших методів, таких як високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), ТШХ не вимагає дорогого обладнання або складної підготовки зразків. Це робить метод особливо зручним для рутинного аналізу та попереднього скринінгу біологічно активних речовин у рослинних екстрактах.

Важливою перевагою ТШХ також є швидкість отримання результатів. Аналіз може бути виконаний протягом короткого часу, що дозволяє швидко оцінити склад рослинних матеріалів або ефективність екстракції. Крім того, результати можна оцінити візуально без використання складних детекторів [36].

Крім того, ТШХ може бути поєднана з біологічними методами детекції, що дозволяє не тільки розділяти компоненти, але й оцінювати їхню біологічну активність безпосередньо на хроматографічній пластинці. Це особливо важливо

для дослідження рослинних екстрактів, що містять складні суміші біологічно активних речовин [36].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Приготування екстрактів

Для проведення досліджень використовували висушену та подрібнену лабораторним ножовим млином рослинну сировину *Astragalus dasyanthus*. Подрібнення проводилося для збільшення площі контакту між сировиною та екстрагентом, що сприяє більш ефективному вилученню біологічно активних речовин.

Зразки сировини вагою 1 г зважували на аналітичних вагах та переносили у центрифужні пробірки об'ємом 15 мл. Для кожної умови екстракції готували окрему пробірку та відповідно її маркували.

Як екстрагенти в дослідженні були обрані водно-спиртові розчини метанолу та етанолу різної концентрації, зокрема 80% метанол, 70% етанол та 40% етанол. Використання різних концентрацій етанолу дозволяє простежити зміну екстракційної здатності розчинника при зміні складу органічної та водної фаз.

Для приготування 80% розчину метанолу використовували високочистий метанол 100%, який розводили дистильованою водою. Для отримання 100 мл 80% метанолу відміряли 80 мл метанолу та додали 20 мл дистильованої води. 70% розчин етанолу також готували розведенням 96% етанолу дистильованою водою. Для отримання 100 мл 70% етанолу відміряли 72,9 мл 96% етанолу та додали 27,1 мл дистильованої води.

Вимірювання компонентів проводили за допомогою мірних скляних циліндрів відповідного об'єму. Приготування водно-спиртових сумішей проводили в окремих лабораторних стаканах, після чого розчинники ретельно перемішували до отримання однорідної системи та використовували безпосередньо для екстракції.

Екстракцію проводили у співвідношенні сировина:екстрагент 1:10, додаючи до кожної пробірки по 10 мл відповідного розчинника. Після додавання

екстрагенту пробірки інтенсивно перемішували на вортексі до повного зволоження сировини та утворення однорідної суспензії.

Подальшу обробку проводили в ультразвуковій ванні з автоматичним підтриманням температури. Для кожного типу розчинника було сформовано серію різних параметрів ультразвукової екстракції. Екстракцію проводили за температур 25, 40 та 60 °C, що дозволило оцінити вплив температури на ефективність екстракції біологічно активних речовин. Підвищення температури, як правило, сприяє збільшенню швидкості дифузії та розчинності компонентів, але може супроводжуватися частковою деградацією чутливих сполук, тому дослідження проводилися в кількох температурних режимах. Також варіювали тривалість ультразвукової обробки, яка становила 0,5 та 1 годину.

Таким чином, для кожного типу розчинника було розроблено шість варіантів умов екстракції. Для систематизації умов екстрагування всі варіанти були зведені в таблицю 2.1.

Після ультразвукової обробки пробірки залишали при кімнатній температурі на кілька хвилин для осідання грубих частинок рослинної сировини, після чого зразки центрифугували при 10 000 об/хв протягом 7 хвилин, що забезпечило ефективне розділення твердої та рідкої фаз. В результаті центрифугування утворювався щільний осад, який містив неекстраговані залишки рослинної тканини, тоді як супернатант являв собою прозорий екстракт, придатний для подальшого аналізу.

Надосад обережно відділяли за допомогою автоматичного піпет-дозатора, уникаючи порушення осаду та переносили його в чисті, марковані пробірки.

Для запобігання деградації біологічно активних сполук отримані екстракти зберігали при зниженій температурі до використання. Для тривалого зберігання зразки поміщали в морозильну камеру за температури -20 °C, що дозволяє уповільнити процеси окислення компонентів екстракту та зберегти їх стабільність до подальших аналітичних досліджень.

Таблиця 2.1

Параметри екстракції зразків *A. dasyanthus* для ТШХ-аналізу

Позначення	Розчинник	Концентрація	Температура (°C)	Час УЗЕ (год)
13	MeOH	80%	25	0,5
14	MeOH	80%	25	1,0
15	MeOH	80%	40	0,5
16	MeOH	80%	40	1,0
17	MeOH	80%	60	0,5
18	MeOH	80%	60	1,0
19	EtOH	70%	25	0,5
20	EtOH	70%	25	1,0
21	EtOH	70%	40	0,5
22	EtOH	70%	40	1,0
23	EtOH	70%	60	0,5
24	EtOH	70%	60	1,0
31	EtOH	40%	25	0,5
32	EtOH	40%	25	1,0
33	EtOH	40%	40	0,5
34	EtOH	40%	40	1,0
35	EtOH	40%	60	0,5
36	EtOH	40%	60	1,0

2.2 Хроматографічний аналіз екстрактів методом тонкошарової хроматографії

Аналіз отриманих екстрактів проводили методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) з використанням пластин з силікагелевим сорбентом для ідентифікації та оцінки вмісту астрагалозиду IV у досліджуваних зразках.

Перед аналізом хроматографічні пластини були попередньо підготовлені. Пластини було нарізано на розміри 15 см на 6,8 см за допомогою скальпеля, після чого на поверхню пластини олівцем наносили лінію старту на відстані 0,8 см від нижнього краю та лінію фінішу на відстані 0,3 см від верхнього краю. Також відмічали позиції нанесення проб з кроком 0,7 см. Це дозволило отримати відтворювані хроматограми з однаковою довжиною пробігу рухомої фази.

Для видалення адсорбованої вологи з сорбенту пластини нагрівали на нагрівальному столику при температурі 100 °C протягом 15 хвилин. Перед нанесенням зразків температуру знижували приблизно до 50 °C, що дозволило уникнути випаровування розчинників під час нанесення та забезпечило акуратність нанесення зразків.

Нанесення зразків здійснювали за допомогою автоматичного піпет-дозатора. На попередньо підготовану пластину наносили 20 доріжок, включаючи досліджувані екстракти та стандарт. Об'єм нанесення екстрактів становив 5 мкл, кожен зразок наносили у трьох повторностях для забезпечення відтворюваності результатів. Стандарт астрагалозиду IV наносили двічі – в об'ємах 2 мкл та 3 мкл, розміщуючи його на початку та в кінці пластини, що дозволило контролювати та зону ідентифікації.

Як рухому фазу використовували систему розчинників хлороформ:оцтова кислота:метанол:вода у співвідношенні 16:1:9:1, яку готували безпосередньо перед аналізом. Хроматографічну камеру попередньо насичували парами елюентів протягом 30 хвилин, що забезпечувало стабільність умов хроматографії. Весь етап підготовки пластини та нанесення зразків проводився паралельно з процесом насичення камери.

Після нанесення зразків пластину обережно поміщали в хроматографічну камеру за допомогою пінцета таким чином, щоб рівень рухомої фази був нижче стартової лінії. Хроматографію проводили до досягнення фронтом розчинника фінішної лінії, після чого пластину виймали з камери та сушили у витяжній шафі.

Первинна візуалізація проводилася шляхом дослідження пластини в ультрафіолетовій камері з подальшою фотофіксацією отриманих хроматограм. Для специфічного виявлення AG-IV пластини обробляли 20% розчином сірчаної кислоти, потім нагрівали на нагрівальному столику при температурі 100 °C протягом 1 хвилини до появи характерних бурштинових плям. Після проявлення пластини повторно аналізували як в ультрафіолетовому світлі, так і при денному світлі.

2.3 Денситометричний аналіз

Після хроматографії та виявлення зон астрагалозиду IV, хроматограми були сфотографовані під УФ-світлом та денним світлом. Подальшу кількісну оцінку проводили за допомогою денситометричного аналізу на основі цифрових зображень хроматограм.

Для кожної пластини положення зони астрагалозиду IV визначалося за значенням коефіцієнта рухливості (R_f) порівняно з стандартом. Кількісне визначення проводили шляхом обробки отриманих зображень хроматограм із визначенням інтенсивності та площі відповідних плям. Як калібрувальний зразок використовували стандарт AG-IV, нанесеного на пластину в двох об'ємах (2 та 3 мкл). Отримані значення інтенсивності плям стандарту використали для розрахунку концентрацій AG-IV у досліджуваних зразках. Кожен екстракт був проаналізований у трьох повторностях відповідно, після чого було визначено середнє значення концентрацій AG-IV.

Денситометричний аналіз проводили окремо для етанольних та метанольних екстрактів, що дозволило оцінити вплив типу розчинника.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Загальна оцінка отриманих значень

Отримані дані в результаті дослідження дозволили провести кількісну оцінку вмісту астрагалозиду IV у екстрактах. Денсидометричний аналіз дозволив визначити концентрацію цільової сполуки та порівняти ефективність обраних параметрів екстрагування. Отримані результати характеризуються достатньою відтворюваністю, про що свідчить близькі значення концентрацій у повторностях, а також схожі значення коефіцієнта рухливості зі стандартом AG-IV. Це дозволяє вважати проведений аналіз придатним для подальшого порівняльного дослідження.

Узагальнені результати денсидометричного аналізу у метанольних та етанольних екстрактах наведено у таблицях 3.1 - 3.3.

Таблиця 3.1

Результати денсидометричного визначення концентрації астрагалозиду IV у метанольних екстрактах

Зразок та умови екстракції	Rf	Концентрація	
		Фактичне значення концентрації AG-IV (мг/мл)	Середнє значення концентрації в екстракті (мг/мл)
MeOH 80% 25°C+ УЗ 0,5 год	0,85	0,120	0,134
MeOH 80% 25°C+ УЗ 0,5 год	0,84	0,140	
MeOH 80% 25°C+ УЗ 0,5 год	0,84	0,143	

Продовження таблиці 3.1

Зразок та умови екстракції	Rf	Концентрація	
		Фактичне значення концентрації AG-IV (мг/мл)	Середнє значення концентрації в екстракті (мг/мл)
MeOH 80% 25°C+ УЗ 1 год	0,83	0,190	0,213
MeOH 80% 25°C+ УЗ 1 год	0,83	0,202	
MeOH 80% 25°C+ УЗ 1 год	0,83	0,246	
MeOH 80% 40°C+ УЗ 0,5 год	0,83	0,205	0,229
MeOH 80% 40°C+ УЗ 0,5 год	0,83	0,206	
MeOH 80% 40°C+ УЗ 0,5 год	0,82	0,276	
MeOH 80% 40°C+ УЗ 1 год	0,82	0,276	0,277
MeOH 80% 40°C+ УЗ 1 год	0,82	0,264	
MeOH 80% 40°C+ УЗ 1 год	0,82	0,291	
MeOH 80% 60°C+ УЗ 0,5 год	0,82	0,307	0,311
MeOH 80% 60°C+ УЗ 0,5 год	0,82	0,311	
MeOH 80% 60°C+ УЗ 0,5 год	0,81	0,315	
MeOH 80% 60°C+ УЗ 1 год	0,82	0,252	0,272
MeOH 80% 60°C+ УЗ 1 год	0,83	0,312	
MeOH 80% 60°C+ УЗ 1 год	0,84	0,251	

Таблиця 3.2

**Результати денсидометричного визначення концентрації
астрагалозиду IV у 70% етанольних екстрактах**

Зразок та умови екстракції	Rf	Концентрація	
		Фактичне значення концентрації AG-IV (мг/мл)	Середнє значення концентрації в екстракті (мг/мл)
EtOH 70% 25°C +УЗ 0,5 год	0,7	0,27	0,29
EtOH 70% 25°C +УЗ 0,5 год	0,7	0,29	
EtOH 70% 25°C +УЗ 0,5 год	0,69	0,32	
EtOH 70% 25°C +УЗ 1 год	0,69	0,24	0,18
EtOH 70% 25°C +УЗ 1 год	0,68	0,16	
EtOH 70% 25°C +УЗ 1 год	0,68	0,15	
EtOH 70% 40°C +УЗ 0,5 год	0,68	0,12	0,15
EtOH 70% 40°C +УЗ 0,5 год	0,68	0,15	
EtOH 70% 40°C +УЗ 0,5 год	0,68	0,17	
EtOH 70% 40°C +УЗ 1 год	0,68	0,11	0,12
EtOH 70% 40°C +УЗ 1 год	0,68	0,13	
EtOH 70% 40°C +УЗ 1 год	0,68	0,16	
EtOH 70% 60°C +УЗ 0,5 год	0,67	0,11	0,10
EtOH 70% 60°C +УЗ 0,5 год	0,67	0,11	

Продовження таблиці 3.2

Зразок та умови екстракції	Rf	Концентрація	
		Фактичне значення концентрації AG-IV (мг/мл)	Середнє значення концентрації в екстракті (мг/мл)
EtOH 70% 60°C +УЗ 0,5 год	0,67	0,09	
EtOH 70% 60°C +УЗ 1 год	0,67	0,06	0,06
EtOH 70% 60°C +УЗ 1 год	0,68	0,05	
EtOH 70% 60°C +УЗ 1 год	0,69	0,04	

Таблиця 3.3

**Результати денсидометричного визначення концентрації
астрагалозиду IV у 40% етанольних екстрактах**

Зразок та умови екстракції	Rf	Концентрація	
		Фактичне значення концентрації AG-IV (мг/мл)	Середнє значення концентрації в екстракті (мг/мл)
EtOH 40% 25°C +УЗ 0,5 год	0,72	0,38	0,34
EtOH 40% 25°C +УЗ 0,5 год	0,73	0,27	
EtOH 40% 25°C +УЗ 0,5 год	0,72	0,39	

Продовження таблиці 3.3

Зразок та умови екстракції	Rf	Концентрація	
		Фактичне значення концентрації AG-IV (мг/мл)	Середнє значення концентрації в екстракті (мг/мл)
EtOH 40% 25°C +УЗ 1 год	0,72	0,55	0,56
EtOH 40% 25°C +УЗ 1 год	0,73	0,53	
EtOH 40% 25°C +УЗ 1 год	0,72	0,59	
EtOH 40% 40°C +УЗ 0,5 год	0,71	0,53	0,55
EtOH 40% 40°C +УЗ 0,5 год	0,71	0,55	
EtOH 40% 40°C +УЗ 0,5 год	0,72	0,58	
EtOH 40% 40°C +УЗ 1 год	0,72	0,6	0,57
EtOH 40% 40°C +УЗ 1 год	0,72	0,47	
EtOH 40% 40°C +УЗ 1 год	0,71	0,63	
EtOH 40% 60°C +УЗ 0,5 год	0,72	0,71	0,69
EtOH 40% 60°C +УЗ 0,5 год	0,72	0,69	
EtOH 40% 60°C +УЗ 0,5 год	0,73	0,68	
EtOH 40% 60°C +УЗ 1 год	0,73	0,65	0,55
EtOH 40% 60°C +УЗ 1 год	0,72	0,66	
EtOH 40% 60°C +УЗ 1 год	0,72	0,35	

Було встановлено, що всі досліджувані фактори впливають на ефективність екстракції астрагалозиду IV, проте цей ефект різний для різних систем екстрагентів. Найбільш виражені відмінності спостерігалися між метанольними та етанольними екстрактами, що свідчить про значну роль полярності розчинника в процесі екстракції сапонінів.

Таким чином, проведені дослідження дозволяють не лише підтвердити наявність астрагалозиду IV у рослинній сировині *Astragalus dasyanthus*, але й отримати низку даних про його вміст для різних умов екстракції, що є основою для аналізу та визначення оптимальних процесів.

3.2 Аналіз відтворюваності результатів та визначення оптимальних умов екстракції астрагалозиду IV

Для більш об'єктивної оцінки отриманих результатів після денситометричного визначення було проведено статистичну обробку даних. Розрахунки середніх значень концентрації астрагалозиду IV та довірчих інтервалів виконували у програмі Microsoft Excel. Для кожного варіанту екстракції визначали середнє значення концентрації AG-IV, а також значення відхилення, яке характеризує варіабельність результатів між паралельними визначеннями.

Узагальнені дані для подальшого аналізу із зазначенням умов екстракції, середнього значення та довірчого інтервалу представлені у таблиці 3.4.

Найменші значення довірчого інтервалу спостерігалися переважно для метанольних екстрактів, зокрема при використанні 80% метанолу за температури 60°C, де концентрація AG-IV становила $0,30 \pm 0,01$ мг/мл. Для деяких етанольних екстрактів, особливо екстрактів з використанням 40% етанолу, спостерігалися вищі значення довірчих інтервалів. Наприклад, за температури 25°C та тривалості ультразвукової обробки 1 година концентрація AG-IV становила $0,59 \pm 0,08$ мг/мл, а за 40°C та 1 година - $0,60 \pm 0,10$ мг/мл.

Таблиця 3.4

Середні значення AG-IV у досліджуваних екстрактах із зазначенням довірчих інтервалів

Екстрагент	Температура, ° С	Тривалість УЗЕ, год	Концентрація AG- IV
EtOH 70%	25	0,5	$0,29 \pm 0,02$
EtOH 70%	25	1	$0,18 \pm 0,04$
EtOH 70%	40	0,5	$0,15 \pm 0,02$
EtOH 70%	40	1	$0,13 \pm 0,02$
EtOH 70%	60	0,5	$0,1 \pm 0,01$
EtOH 70%	60	1	$0,5 \pm 0,01$
MeOH 80%	25	0,5	$0,13 \pm 0,01$
MeOH 80%	25	1	$0,22 \pm 0,02$
MeOH 80%	40	0,5	$0,22 \pm 0,03$
MeOH 80%	40	1	$0,27 \pm 0,01$
MeOH 80%	60	0,5	$0,3 \pm 0,01$
MeOH 80%	60	1	$0,27 \pm 0,03$
EtOH 40%	25	0,5	$0,35 \pm 0,06$
EtOH 40%	25	1	$0,59 \pm 0,08$
EtOH 40%	40	0,5	$0,62 \pm 0,08$
EtOH 40%	40	1	$0,6 \pm 0,1$
EtOH 40%	60	0,5	$0,69 \pm 0,01$
EtOH 40%	60	1	$0,77 \pm 0,02$

Водночас, саме екстракти, отримані з використанням 40% етанолу, показали найвищі значення концентрації AG-IV серед усіх досліджених систем. Максимальний вміст сполуки був зафіксований при екстракції 40% етанолом за температури 60°C та тривалості ультразвукової обробки 1 годину і становив $0,77 \pm 0,02$ мг/мл. Водночас, виключно мале значення довірчого інтервалу свідчить про добру відтворюваність результату та визначення стабільності.

Отримані дані дозволяють зробити висновок, що саме поєднання 40% етанолу, температури 60°C та тривалості ультразвукової обробки 1 рік є найбільш ефективним для екстракції AG-IV з рослинної сировини *Astragalus dasyanthus* за умов дослідження. Висока ефективність цієї системи, ймовірно, зумовлена комплексним впливом кількох факторів.

Водночас, результати дослідження показують, що ефективність екстракції додатково визначається не окремим параметром, а комбінацією умов процесу. Зміна лише одного фактора не завжди призводила до пропорційного збільшення концентрації AG-IV, що свідчить про складний характер взаємодії між природними екстрагентами, температурою та тривалістю ультразвукової обробки.

3.3 Вплив природи розчинника на екстракцію астрагалозиду IV

Одним із визначальних факторів ефективності екстракції біологічно активних сполук з рослинної сировини є природа екстрагенту, зокрема його полярність та здатність взаємодіяти з компонентами рослинної сировини. У дослідженні для екстракції AG-IV використовувалися водно-спиртові розчини різного складу - 80% метанол, 70% етанол та 40% етанол.

Аналіз отриманих результатів показав, що найвищі значення концентрації AG-IV спостерігалися при використанні 40% етанолу як екстрагенту. У ряді досліджуваних умов ці значення значно перевищували відповідні показники для 70% етанолу та були рівними або вищими за результати, отримані для

метанольних екстрактів. Це свідчить про те, що саме водно-спиртова система зі збільшеним вмістом води є найефективнішою для екстракції AG-IV з рослинної сировини *Astragalus dasyanthus*.

Перевагу 40% етанолу можна пояснити особливостями взаємодії екстрагенту з рослинною тканиною. Високий вміст води в розчиннику сприяє набухання клітинних стінок, що полегшує проникнення екстрагенту у внутрішні структури клітини та збільшує доступність біологічно активних сполук. Водночас, присутність етанолу забезпечує достатню розчинність тритерпенових сапонінів, до яких належить астрагалозид IV, що створює оптимальні умови для їх екстракції.

Метанольні екстракти, отримані з використанням 80% метанолу, також характеризувалися високим вмістом AG-IV і загалом дещо поступалися 40% етанолу за ефективністю екстракції. Це підтверджує високу екстракційну здатність метанолу, що пов'язано з його високою полярністю та здатністю розчиняти як полярні, так і помірно полярні компоненти.

Однак використання 70% етанолу було менш ефективним для екстракції AG-IV порівняно з іншими дослідженими екстрагентами. Ймовірно, це пов'язано з тим, що цей склад розчинника не забезпечує оптимального балансу між процесами набухання рослинної тканини та розчинення цільової сполуки, що зрештою призводить до зниження виходу AG-IV.

У дослідженні для спорідненого виду, *Astragalus membranaceus*, було показано, що водно-етанольна ультразвукова екстракція є ефективним підходом для екстракції біологічно активних речовин, а саме флавоноїдів та сапонінів з надземної частини рослини. Автори оптимізували процес і виявили, що результат залежить від концентрації етанолу, температури, часу екстракції. Оптимальними умовами для їхньої моделі експерименту було використання 75% етанолу в якості розчинника та ультразвукова екстракція при температурі 58 °C та тривалістю 35 хв. Це підтверджує, що параметри екстракції для сировини роду *Astragalus* необхідно адаптувати до конкретної сировини та цільової сполуки [38].

Також важливими для аналізу результатів є дослідження 50% етанольного екстракту коренів *Astragalus mongholicus*, де наявність астрагалозидів III та IV була підтверджена за допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [39]. Це свідчить про те, що ефективними для виявлення та екстракції астрагалозидів можуть бути не лише спиртові системи високої концентрації, але й екстрагенти зі значною часткою водної фази.

Таким чином, результати дослідження свідчать про те, що ефективність екстракції астрагалозиду IV визначається не лише полярністю розчинника, але й співвідношенням водної та органічної фаз, що впливає на структуру рослинної матриці та інтенсивність масообміну. Було виявлено, що за умов цього дослідження найоптимальнішим екстрагентом є 40% етанол, тоді як метанол забезпечує порівнянний, хоча й дещо нижчий, рівень екстракції цільової сполуки.

3.4 Вплив температурного режиму на ефективність екстракції

Температура є одним із ключових факторів, що визначають ефективність процесу екстракції біологічно активних речовин з рослинної сировини. У цьому дослідженні екстракцію проводили за трьох температурних режимів - 25, 40 та 60°C, що дозволило оцінити вплив цього параметра на вихід астрагалозиду IV за різних умов.

Аналіз отриманих результатів показав, що вплив температури на ефективність екстракції є залежить від природи використаного розчинника. Для метанольних екстрактів загалом спостерігалася тенденція до збільшення концентрації AG-IV зі збільшенням температури. Найвищі значення вмісту сполуки були зафіксовані при температурі 60°C, що свідчить про позитивний вплив підвищення температури на процес екстракції. Це може бути пов'язано зі збільшенням розчинності цільових компонентів та інтенсифікацією процесів дифузії в системі.

Водночас, для етанольних екстрактів спостерігалася інша закономірність. У випадку 70% етанолу підвищення температури не призвело до збільшення концентрації AG-IV, а в деяких випадках навіть супроводжувалося її зниженням. Це може свідчити про те, що при такому складі розчинника підвищення температури не є визначальним фактором інтенсифікації екстракції або може сприяти частковим втратам цільової сполуки.

Для 40% етанолу вплив температури також не був однозначним. Незважаючи на те, що цей розчинник загалом забезпечував найвищі значення концентрації AG-IV, зміна температури не завжди призводила до пропорційного збільшення ефективності екстракції. У деяких випадках максимальні значення досягалися вже за нижчих температур, тоді як подальше підвищення температури не давало значного збільшення або супроводжувалося незначними коливаннями показників.

У сучасних дослідженнях оптимізації екстракції AG-IV було показано, що підвищення температури може покращити вихід сполуки лише до певної межі, після якої можливе зниження через руйнування структури сапонінів. У дослідженні щодо екстракту з кореня (*Astragalus mongholicus*) вихід AG-IV збільшувався зі збільшенням температури екстракції до 40°C, після чого спостерігалось зменшення виходу цільової сполуки [40]. Тому отриманий в нашому експерименті результат, за якого температура 60°C була найкращою в системі 40% етанолу, можна пояснити тим, що ця температура все ще забезпечувала інтенсифікацію масообміну без помітної втрати стабільності цільової сполуки саме в цій системі розчинника.

Отримані результати свідчать про те, що підвищення температури не завжди є визначальним фактором у підвищенні ефективності екстракції AG-IV. З одного боку, підвищення температури сприяє інтенсифікації масообміну та збільшенню розчинності біологічно активних сполук. З іншого боку, надмірне підвищення температури може призвести до зміни структури рослинних метаболітів та зниження стабільності окремих компонентів екстракту.

3.5 Вплив тривалості ультразвукової обробки на ефективність екстракції астрагалозиду IV

Тривалість ультразвукової обробки є важливим параметром, що впливає на інтенсивність процесу екстракції біологічно активних речовин. У цьому дослідженні екстракцію проводили за двома часовими режимами – 0,5 та 1 годину, що дозволило оцінити вплив тривалості ультразвукового впливу на вихід AG-IV.

Аналіз отриманих результатів показав, що вплив тривалості ультразвукової обробки на ефективність екстракції не є однозначним і залежить як від температури, так і від природи використаного розчинника. У деяких випадках збільшення тривалості обробки до 1 години супроводжувалося збільшенням концентрації AG-IV, що свідчить про більш повне вилучення цільових компонентів з рослинної сировини. Водночас було виявлено, що збільшення часу ультразвукової обробки не завжди призводить до пропорційного збільшення ефективності екстракції. Для деяких варіантів умов, зокрема при використанні розчинів етанолу, максимальні значення концентрації AG-IV були досягнуті вже при тривалості обробки 0,5 години, тоді як подальше збільшення часу не забезпечувало суттєвого зростання або навіть супроводжувалося незначним зниженням показників.

Такий характер залежності можна пояснити тим, що на початкових етапах ультразвукової обробки відбувається інтенсивне руйнування клітинних структур рослинної тканини під дією явища кавітації, що сприяє швидкому вивільненню біологічно активних речовин. Однак після досягнення певного рівня насичення системи подальше збільшення тривалості процесу не дає суттєвого ефекту, оскільки більшість доступних сполук вже перейшли в розчин. Крім того, при тривалому ультразвуковому впливі можливе часткове руйнування окремих компонентів екстракту, що також може вплинути на кінцеві результати кількісного визначення.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що оптимальна тривалість ультразвукової екстракції AG-IV становить 0,5 – 1 годину, а подальше збільшення часу обробки не завжди доцільне. Встановлено, що ефективність екстракції визначається не лише тривалістю ультразвукового впливу, а й поєднанням інших факторів, зокрема температури та складу екстрагенту, що підкреслює необхідність комплексної оптимізації параметрів процесу.

3.6 Порівняння отриманих даних з сучасними літературними даними

Оскільки кількість досліджень про вилучення AG-IV для *Astragalus dasyanthus* є обмеженою, для порівняння отриманих результатів були використані роботи зі спорідненими видами, зокрема *Astragalus mongholicus* та *Astragalus membranaceus*.

У дослідженні «Astragaloside IV as a memory enhancer: an in silico study with in vivo analysis and postmortem ADME-Tox profiling in mice» автори отримали 50% етанольний екстракт методом ультразвукової екстракції. Сировину поєднували з 50% етанолом у співвідношенні сировини до розчинника 1:5 та піддавали обробці в ультразвуковій ванні протягом 15 хв, після чого екстракт випарювали при 45 °C та використовували для подальшого виділення астрагалозидів за допомогою препаративної ВЕРХ. В результаті було отримано ізольований астрагалозид IV з чистотою 93,5% [41]. Отримані нами результати узгоджуються з нашим дослідженням у плані вибору екстрагенту. У даному дослідженні було використано 50% етанол, а в нашому дослідженні найкращим екстрагентом виявився 40% етанол. Отже, обидва результати свідчать про те, що для вилучення астрагалозидів ефективними можуть бути не тільки спиртові системи високої концентрації, а і розчинники з високим вмістом води.

Проте, наші експериментальні умови відрізнялися від наведеного дослідження тривалістю ультразвукової обробки та співвідношенням сировини та екстрагенту. У вищезгаданій роботі ультразвукова екстракція проводилася

лише 15 хв у співвідношенні сировина:екстрагент 1:5, тоді як у нашій роботі найкращий результат було отримано при 1 годині ультразвукової обробки та співвідношенні твердої фази та розчинника 1:10. Ця різниця може бути зумовлена використанням різних видів рослинної сировини та ступенем її подрібнення, концентрацією екстрагенту. Також у представлений статті проводилось подальше фракціонування отриманого екстрагенту за допомогою препаративної ВЕРХ, тоді як у нашому дослідженні вміст AG-IV оцінювався безпосередньо в отриманих екстрактах. Тобто отримані значення не можна порівнювати безпосередньо, але спільною є тенденція щодо ефективності водно-етанольних систем.

Також важливим джерелом є стаття «Extraction and activity study of astragalus saponins by ultrasound combined with cold isostatic pressure technique». Дане дослідження присвячене вилученню сапонінів з *Astragalus membranaceus* методом ультразвукової екстракції у поєднанні з холодним ізостатичним тиском. У вищезгаданій статті, як і в нашому експерименті, максимальний вміст AG-IV було отримано за дії ультразвуку протягом 1 години. Спільним для обох робіт є висновок, що ультразвуковий вплив протягом достатнього часу сприяє руйнуванню клітинних структур, покращує проникнення екстрагенту та інтенсифікує масообмін. Водночас, у статті також було використано додатковий фізичний ефект – холодний ізостатичний тиск, тому їх значення не можна безпосередньо порівнювати з нашими концентраціями. Однак дане дослідження підтверджує ефективність ультразвукової обробки протягом 60 хвилин.

Також варто зазначити, що в сучасних дослідженнях з екстракції AG-IV часто використовують різні підходи до підготовки екстракту, а також різні методи подальшого аналізу. У нашому дослідженні було застосовано порівняно просту методику, тому отримані данні мають насамперед значення для порівняльної оцінки умов екстракції. Загалом, отримані результати не суперечать сучасним дослідженням, узгоджуються з методиками та результатами щодо виділення AG-IV, та доповнюють їх для менш дослідженого виду *Astragalus dathyanthus*.

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано наукові літературні джерела та встановлено, що астрагалозид IV є однією з основних біологічно активних сполук рослин роду *Astragalus*

2. Отримано серію екстрактів *Astragalus dathyanthus* за різних умов екстракції, таких як тип розчинника, температура та тривалість ультразвукової обробки.

3. Проведено ідентифікацію астрагалозиду IV методом тонкошарової хроматографії а також подальший денсидометричний аналіз хроматограм для кількісного визначення вмісту сполуки.

4. Найвищий вміст астрагалозиду IV було отримано при використанні 40% етанолу як екстрагенту за температури 60°C та тривалості ультразвукової обробки 1 година. За цих умов концентрація астрагалозиду IV становила $0,77 \pm 0,02$ мг/мл, що свідчить про найвищу ефективність цього режиму екстракції серед досліджуваних варіантів.

5. Експериментально доведено, що ефективність екстракції астрагалозиду IV залежить від сукупної дії усіх досліджуваних параметрів : типу розчинника, температури та часу ультразвукової обробки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ковальова А. Астрагал. Фармацевтична енциклопедія. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2899/astragal> (дата звернення: 27.02.2026).
2. Chyzh O. Geographical distribution and population status of astragalus dasyanthus pall. in the cherkasy region. NaUKMA research papers. biology and ecology. 2025. Т. 8. С. 90–97. (дата звернення: 27.02.2026).
3. Астрагал шерстистоквітковий. Червона книга України Рослини. URL: <https://redbook-flora.land.kiev.ua/438.php> (дата звернення: 27.02.2026).
4. Astragalus dasyanthus Pall. Plants of the World Online Kew Science. Plants of the World Online.
URL: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:477052-1#source-KBD> (дата звернення: 21.05.2026).
5. Astragalus dasyanthus. Red Data Book of Bulgaria. URL: <http://ecodb.bas.bg/rdb/en/vol1/Astdasya.html> (дата звернення: 27.02.2026).
6. Astragalus dasyanthus. FloraVeg.EU.
URL: <https://floraveg.eu/taxon/overview/Astragalus%20dasyanthus> (дата звернення: 21.05.2026).
7. Khvorost O., Zudova Ye., Budniak L., Slobodianiuk L., Kramar H., Palamarchuk O., Ocheretniuk A. Analysis of carboxylic acids of Astragalus dasyanthus Pall. herb. Pharmacia. 2023. Vol. 70, № 4. P. 1231-1238. (дата звернення: 04.03.2026).
8. Li X., Zhang Y., Wang L. Antioxidant activity and phytochemical profiling of Astragalus species. Molecules. 2021. Vol. 26, № 9. Article 2562. (дата звернення: 04.03.2026).
9. Mutha R. E., Tatiya A. U., Surana S. J. Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview. Future Journal of Pharmaceutical Sciences. 2021. Vol. 7. Article 25. (дата звернення: 04.03.2026).

10. Panche A. N., Diwan A. D., Chandra S. R. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 2016. Vol. 5. (дата звернення: 06.03.2026).
11. Du Y., Wan H., Huang P., Yang J., He Y. A critical review of Astragalus polysaccharides: from therapeutic mechanisms to pharmaceuticals. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022. Vol. 147. Article 112654. (дата звернення: 06.03.2026).
12. Liang H., Tao S., Wang Y., Zhao J., Yan C., Wu Y., Liu N., Qin Y. Astragalus polysaccharide: implication for intestinal barrier, anti-inflammation, and animal production. *Frontiers in Nutrition*. 2024. Vol. 11. Article 1364739. (дата звернення: 06.03.2026).
13. Chen T., Xie L., Shen M., Yu Q., Chen Y., Xie J. Recent advances in Astragalus polysaccharides: structural characterization, bioactivities and gut microbiota modulation effects. *Trends in Food Science & Technology*. 2024. Vol. 153. Article 104707. (дата звернення: 06.03.2026).
14. Wang K., Zhou Y., Li M., Chen Z., Wu Z., Ji W., Wang J., Zhang Y. Structural elucidation and immunomodulatory activities in vitro of type I and II arabinogalactans from different origins of *Astragalus membranaceus*. *Carbohydrate Polymers*. 2024. Vol. 333. Article 121974. (дата звернення: 06.03.2026).
15. Shi Y., Ma P. Pharmacological effects of Astragalus polysaccharides in treating neurodegenerative diseases. *Frontiers in Pharmacology*. 2024. Vol. 15. Article 1449101. (дата звернення: 06.03.2026).
16. Yang J., Sun Y., Wang Q., Yu S., Li Y., Yao B., Yang X. Astragalus polysaccharides-induced gut microbiota play a predominant role in enhancing of intestinal barrier function of broiler chickens. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2024. Vol. 15. Article 101. (дата звернення: 06.03.2026).
17. Kanlayavattanakul M., Mersni D., Lourith N. Plant-derived saponins and their prospective for cosmetic and personal care products. *Botanical Studies*. 2024. Vol. 65. Article 32. (дата звернення: 04.03.2026).
18. Zhang J., Wu C., Gao L., Du G., Qin X. Astragaloside IV derived from *Astragalus membranaceus*: a research review on the pharmacological effects. *Advances in Pharmacology*. 2020. Vol. 87. P. 89-112. (дата звернення: 09.03.2026).

19. Chen C., Bu X., Deng L., Xia J., Wang X., Chen L., Li W., Huang J., Chen Q., Wang C. Astragaloside IV as a promising therapeutic agent for liver diseases: current landscape and future perspectives. *Frontiers in Pharmacology*. 2025. Vol. 16. Article 1574154. (дата звернення: 09.03.2026).
20. Chen K., Zhang M., Gao B., Hasan A., Li J., Bao Y., Fan J., Yu R., Yi Y., Ågren H., Wang Z., Liu H., Ye M., Qiao X. Characterization and protein engineering of glycosyltransferases for the biosynthesis of diverse hepatoprotective cycloartane-type saponins in *Astragalus membranaceus*. *Plant Biotechnology Journal*. 2023. Vol. 21, № 4. P. 698-710. (дата звернення: 09.03.2026).
21. Zhang M., Bao Y., Zhao C., Tian Y., Wang Z., Qiao X., Ye M. A four-step biosynthetic pathway involving C-3 oxidation-reduction reactions from cycloastragenol to astragaloside IV in *Astragalus membranaceus*. *The Plant Journal*. 2024. Vol. 120, № 2. P. 569-577. (дата звернення: 09.03.2026).
22. Kim Y. B., Thwe A. A., Li X., Tuan P. A., Lee S., Lee J. W., Arasu M. V., Al-Dhabi N. A., Park S. U. Accumulation of astragalosides and related gene expression in different organs of *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.). *Molecules*. 2014. Vol. 19, № 8. P. 10922–10935. (дата звернення: 09.03.2026).
23. Liu Y., Liu J., Wang Y., Abozeid A., Tang Z.-H. Simultaneous determination of six active metabolites in *Astragalus mongholicus* (Fisch.) Bge. under salt stress by ultra-pressure liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *SpringerPlus*. 2016. Vol. 5. Article 664. (дата звернення: 09.03.2026).
24. Wu H., Cui H., Tian Y., Wu J., Bai Z., Zhang X. Exogenous ethephon treatment on the biosynthesis and accumulation of astragaloside IV in *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao. *Botanical Studies*. 2024. Vol. 65. Article 16. (дата звернення: 09.03.2026).
25. Liang Y., Chen B., Liang D., Quan X., Gu R., Meng Z., Gan H., Wu Z., Sun Y., Liu S., Dou G. Pharmacological effects of astragaloside IV: a review. *Molecules*. 2023. Vol. 28, № 16. Article 6118. (дата звернення: 04.03.2026).

26. Zheng Q., Zhu J.-Z., Bao X.-Y., Zhu P.-C., Tong Q., Huang Y.-Y., Zhang Q.-H., Zhang K.-J., Zheng G.-Q., Wang Y. A preclinical systematic review and meta-analysis of astragaloside IV for myocardial ischemia/reperfusion injury. *Frontiers in Physiology*. 2018. Vol. 9. Article 795. (дата звернення: 09.03.2026).
27. Costa I. M., Lima F. O. V., Fernandes L. C. B., Norrara B., Neta F. I., Alves R. D., Cavalcanti J. R. L. P., Lucena E. E. S., Cavalcante J. S., Rego A. C. M., Filho I. A., Queiroz D. B., Freire M. A. M., Guzen F. P. Astragaloside IV supplementation promotes a neuroprotective effect in experimental models of neurological disorders: a systematic review. *Current Neuropharmacology*. 2019. Vol. 17, № 7. P. 648-665. (дата звернення: 09.03.2026).
28. Chemat F., Rombaut N., Sicaire A.-G., Meullemiestre A., Fabiano-Tixier A.-S., Abert-Vian M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications: a review. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2017. Vol. 34. P. 540-560. (дата звернення: 13.03.2026).
29. Lučić M., Onjia A. Ultrasound-assisted microextraction for food chemical contaminant analysis: a review. *Processes*. 2025. Vol. 13, № 11. Article 3677. (дата звернення: 13.03.2026).
30. Yusoff I. M., Taher Z. M., Rahmat Z., Chua L. S. A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. *Food Research International*. 2022. Vol. 157. Article 111268. (дата звернення: 13.03.2026).
31. Guo X., Qiao Q., Jin Y., Lei H., Guo K., Zhao Z., Li P., Liu A., Sun R. Optimization of ultrasound-assisted extraction of two saponins from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* leaves using response surface methodology. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2024. Vol. 8. Article 1424285. (дата звернення: 13.03.2026).
32. Carreira-Casais A., Otero P., Garcia-Perez P., Garcia-Oliveira P., Pereira A. G., Carpena M., Soria-Lopez A., Simal-Gandara J., Prieto M. A. Benefits and drawbacks of ultrasound-assisted extraction for the recovery of bioactive compounds from marine algae. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021. Vol. 18, № 17. Article 9153. (дата звернення: 13.03.2026).

33. Perera C. O., Alzahrani M. A. J. Ultrasound as a pre-treatment for extraction of bioactive compounds and food safety: a review. *LWT*. 2021. Vol. 142. Article 111114. (дата звернення: 13.03.2026).
34. Kowalska T., Sajewicz M. Thin-layer chromatography (TLC) in the screening of botanicals - its versatile potential and selected applications. *Molecules*. 2022. Vol. 27, № 19. Article 6607. (дата звернення: 17.03.2026).
35. Zych M., Pyka-Pająk A. TLC in the analysis of plant material. *Processes*. 2025. Vol. 13, № 11. Article 3497. (дата звернення: 17.03.2026).
36. Kagan I. A., Flythe M. D. Thin-layer chromatographic (TLC) separations and bioassays of plant extracts to identify antimicrobial compounds. *Journal of Visualized Experiments*. 2014. № 85. Article e51411. (дата звернення: 17.03.2026).
37. Zhang J., Liang Z., Zhang K., Tang X., Wang L., Gu X., Savelkoul H. F. J., Li J. Ultrasound-assisted extraction, characterization, and antioxidant activities of the polysaccharides from fermented *Astragalus membranaceus*. *Molecules*. 2025. Vol. 30, № 5. Article 1159. (дата звернення: 17.03.2026).
38. Cui L., Ma Z., Wang D., Niu Y. Ultrasound-assisted extraction, optimization, isolation, and antioxidant activity analysis of flavonoids from *Astragalus membranaceus* stems and leaves. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2022. Vol. 90. Article 106190. (дата звернення: 08.05.2026).
39. Stępnik K., Kukula-Koch W., Plazinski W., Gawel K., Gaweł-Bęben K., Khurelbat D., Boguszevska-Czubara A. Significance of astragaloside IV from the roots of *Astragalus mongholicus* as an acetylcholinesterase inhibitor: from the computational and biomimetic analyses to the in vitro and in vivo studies of safety. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, № 11. Article 9152. (дата звернення: 12.05.2026).
40. Xu L., Wei K., Jiang J., Zhang L. Extraction optimization of astragaloside IV by response surface methodology and evaluation of its stability during sterilization and storage. *Molecules*. 2021. Vol. 26, № 8. Article 2400. (дата звернення: 12.05.2026).

41. Stępnik K., Kukula-Koch W., Boguszevska-Czubara A., Gawel K. Astragaloside IV as a memory-enhancing agent: in silico studies with in vivo analysis and post mortem ADME-Tox profiling in mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. Vol. 25, № 7. Article 4021. (дата звернення: 21.05.2026).

42. Zhou T., Yao X., Lv P., Zhang Z., Zhen F., Qu B. Extraction and activity study of astragalus saponins by ultrasound combined with cold isostatic pressure technique. *Journal of Chromatography A*. 2025. Vol. 1761. Article 466410. (дата звернення: 21.05.2026).