

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

ЦИВУНІН ВАДИМ ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 615.213:615.322:612-092.9

ПОШУК НОВИХ АНТИКОНВУЛЬСАНТІВ  
РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ  
(експериментальне дослідження)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакології Національного фармацевтичного університету МОЗ України, м. Харків.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор  
**ШТРИГОЛЬ Сергій Юрійович**,  
Національний фармацевтичний університет  
МОЗ України (м. Харків),  
завідувач кафедри фармакології

**Офіційні опоненти:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**МАРЧИШИН Світлана Михайлівна**,  
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний  
університет ім. І. Я. Горбачевського» МОЗ України,  
завідувач кафедри фармакогнозії з медичною  
ботанікою

доктор медичних наук, професор  
**ЯРОШ Олександр Кузьмич**,  
Інститут органічної хімії НАН України (м. Київ),  
старший науковий співробітник лабораторії медико-  
біологічних досліджень відділу хімії фосфоранів

Захист відбудеться «9» лютого 2017 року о 10.00 год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «30» грудня 2016 р.

Учений секретар спеціалізованої  
вченої ради, д. фарм. н., проф.

Т. С. Сахарова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Епілепсія та інші судомні розлади відносяться до числа найрозповсюдженіших захворювань ЦНС: у світі нараховують 40-50 млн хворих на епілепсію; в Європі – 3,2-6,5 млн; в Україні – близько 500 000 осіб (ВООЗ, 2015). Захворюваність складає від 10 до 220 осіб на 100 000 населення. Найвищий відсоток хворих спостерігається у дитячому віці; потім з 15 до 65 років захворюваність зберігається приблизно на однаковому рівні та знову збільшується в старших вікових групах (ІВЕ, 2016; ІЛАЕ, 2016).

Сучасні можливості терапії епілепсії із застосуванням існуючих протисудомних засобів не зменшують актуальності проблеми. Лікування епілепсії є переважно паліативним (И. А. Марценковский, 2006; Т. С. Мищенко, 2012). Існуючі методи терапії недостатньо ефективні та дозволяють досягти значного покращення, рідше – регресу клінічних проявів хвороби – не більш ніж у 50-70 % пацієнтів (М. Броди, 2005; И. А. Марценковский, 2006). У 25 % випадків захворювання є резистентним до фармакотерапії (ВООЗ, 2015).

Неефективність протиепілептичних засобів (ПЕЗ) зумовлена їх обмеженим впливом на окремі механізми розвитку пароксизмів. Це потребує корекції схем лікування, використання додаткових препаратів. Поліпрагмація збільшує ризик розвитку побічних ефектів антиконвульсантів (K. Zeng et al., 2010; P. Perucca et al., 2012), що негативно впливає на якість життя хворих.

Фітотерапія епілепсії та симптоматичних судом привертає увагу завдяки комплексному впливу на патогенез і потенційно сприятливим психотропним властивостям. Останні сприяють зменшенню епілептичних змін особистості (С. Чепурнов и соавт., 2012; М. Бэр, 2013). Проте на світовому фармацевтичному ринку відсутні ПЕЗ рослинного походження. Тому пошук та створення нових лікарських засобів цієї фармакотерапевтичної групи є актуальним завданням.

У НФаУ доц. Ю. С. Прокопенко та проф. В. А. Георгіянц отримано та стандартизовано 56 сухих екстрактів – водних, водно-спиртових та спиртових витяжок із надземної частини 25 видів рослин 9 родин. Вибір фітооб'єктів зумовлений їх очікуваним високим протисудомним потенціалом, що визначено за подібністю якісного та кількісного складу обраних витяжок та рослинних екстрактів із доведеною в експерименті антиконвульсивною дією (L. J. Quintans Junior et al., 2008; E. N. Vum et al., 2011; S. Kumar et al., 2012), зокрема, за вмістом окремих груп біологічно активних речовин та їх комбінацій.

Отже, актуальним є вивчення потенційних антиконвульсивних властивостей отриманих сухих екстрактів, спектру та механізмів протисудомної дії, супутніх сприятливих видів психотропної активності для окремих фітопрепаратів із найвиразнішою антиконвульсивною дією.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана за планом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (номер держреєстрації 0103U000478), «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації

0114U000956), в якій дисертант є співвиконавцем.

**Мета і задачі дослідження.** *Мета* роботи – експериментально обґрунтувати можливість застосування нових рослинних екстрактів як протисудомних засобів. Досягненню мети служило розв’язання таких *задач*:

1. Провести скринінг 56 сухих екстрактів із надземної частини 25 видів рослин 9 родин на протисудомну активність.
2. Встановити профіль антиконвульсивної дії перспективних екстрактів на моделях судом із різним патогенезом та ефективність на моделі хронічного епілептогенезу, визначити дозозалежність протисудомного ефекту для екстракту-лідера.
3. Оцінити роль біологічно активних речовин екстракту-лідера в реалізації протисудомної дії.
4. Вивчити вплив екстрактів-лідерів на м’язовий тонус і координацію рухів, їхні психотропні, церебропротекторні та антигіпоксичні властивості.
5. Дослідити фармакодинамічну взаємодію перспективних фітоекстрактів із антиконвульсивною активністю та відомих протисудомних препаратів, а також речовин загальнопригнічувального типу дії.
6. З’ясувати можливі механізми протисудомної дії лідера за впливом на вміст нейротрансмітерних амінокислот, фактора росту нервів та цитокінів у головному мозку.
7. Визначити параметри гострої токсичності перспективних фітоекстрактів.

*Об’єкт дослідження:* фармакотерапія судомного синдрому.

*Предмет дослідження:* протисудомні та супутні нейротропні властивості сухих екстрактів із рослин родин барбарисові, березові, глухокропикові, жимолостеві, маслинові, пасльонові, санталові, синюхові та фумарієві, механізми їхньої дії та визначення гострої токсичності.

**Методи дослідження:** фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, імуноферментні та статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено на базовій скринінговій моделі пентилентетразолових судом наявність антиконвульсивної дії у сухих екстрактів із окремих рослин родин барбарисові, березові, глухокропикові, жимолостеві, маслинові, пасльонові, санталові, синюхові та фумарієві, що верифіковано за зниженням летальності на 32-58 %. Визначено спектр протисудомної дії екстрактів-лідерів. Зокрема, сухий екстракт рутки Шлейхера (СЕРШ) чинить антиконвульсивну дію за пікротоксинових судом (знижуючи летальність на 33 %), стрихнінових та камфорних судом (зменшуючи тонічний компонент нападів на 44 % та 57 % відповідно), а також за умов електроіндукованих пароксизмів (скорочуючи тривалість конвульсій у 2,1 разу). Антиконвульсивні властивості сухих екстрактів базилику камфорного (СБК), собачої кропиви (СЕСК) та ліщини звичайної (СЕЛЗ) визначено за їх здатністю подовжувати латентний період тіосемикарбазидних судом у 1,3-1,9 разу та знижувати тонічний компонент камфорних судом на 43-71 %.

Доведено ефективність СЕРШ за умов хронічного епілептогенезу (пентилентетразоловий кіндлінг), що визначено за здатністю подовжувати період

появи перших судом на 4 доби, що є предиктором протиепілептичного потенціалу.

Отримано нові наукові дані щодо сприятливого спектру супутніх психотропних властивостей СЕРШ за доведеною анксиолітичною, антиамнестичною та церебропротекторною дією, відсутністю нейротоксичного впливу.

Доповнено наукові дані щодо механізмів нейротропної дії рослинних та синтетичних антиконвульсантів. Встановлено, що СЕРШ збільшує церебральний вміст ГАМК у 2,3 разу (натрію вальпроат у 3,4 разу), а також зменшує рівень глутамату на 8,3 % (натрію вальпроат на 34,6 %) та аспартату на 30,8 % (натрію вальпроат збільшує на 8,9 %). Крім того, у головному мозку СЕРШ знижує оверекспресію NGF у 3,7 разу (натрію вальпроат у 1,6 разу), IL-1 $\beta$  у 1,2 разу (натрію вальпроат у 1,1 разу) та TNF- $\alpha$  у 2,3 разу (натрію вальпроат у 1,5 разу), а також збільшує вміст IL-4 у 4 рази (натрію вальпроат у 1,4 разу).

Поглиблено уявлення про нешкідливість антиконвульсантів рослинного походження – встановлено низьку токсичність СЕРШ (V клас за Hodge та Sterner – практично нетоксичні речовини).

**Практичне значення одержаних результатів.** Обґрунтовано доцільність створення препаратів із протисудомною дією на основі рослинної сировини, перш за все СЕРШ, СЕБК, СЕСК та СЕЛЗ, що мають широкий спектр антиконвульсивної дії, високий ступінь нешкідливості та сприятливий профіль супутніх нейротропних властивостей. Доведено зв'язок між протисудомними властивостями екстрактів та їх хімічним складом, а саме наявністю флавоноїду рутину, із зростанням кількості якого зазначені властивості посилюються. Це може служити фітохімічним предиктором та обґрунтовує напрям пошуку перспективних фітоантиконвульсантів.

Запропоновано спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу із протисудомною дією (патент України на винахід № 106117, 2014 р.), застосування сухого екстракту рутки Шлейхера як агента, що виявляє анксиолітичну дію (патент України на винахід № 110947, 2016 р.). Запропоновано лікувально-профілактичні засоби на основі сухого екстракту рутки Шлейхера із протисудомною дією (патент України на корисну модель № 79433, 2013 р.; інформаційний лист МОЗ України № 282–2013, 2013 р.) та анксиолітичною дією (патент України на корисну модель № 89372, 2014 р.). Запропоновано використання сухого екстракту листя ліщини звичайної для розробки лікарського засобу протисудомної дії (інформаційний лист МОЗ України № 45–2016, 2016 р.).

Сухий екстракт рутки Шлейхера планується до впровадження у промислове виробництво як протисудомний лікарський засіб на ТОВ «ДКП „Фармацевтична фабрика“», м. Житомир (акт впровадження від 06.09.2016 р.). Сухий екстракт базилику камфорного планується до впровадження у промислове виробництво як добавка дієтична у вигляді капсул «Нейроверт» для корекції розладів ЦНС на ТОВ «Дослідний Завод «ГНЦЛС» (акт впровадження від 21.06.2016 р.). Сухий екстракт ліщини звичайної планується до впровадження у промислове виробництво як добавка дієтична у вигляді капсул «Захист нервової системи» для корекції розладів ЦНС на ТОВ «Дослідний Завод «ГНЦЛС» (акт впровадження від 21.06.2016 р.).

Результати впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету (протокол

№ 4 від 28.10.2016 р.), фармакології Буковинського державного медичного університету (протокол № 1 від 26.08.2016 р.), фармакогнозії та технології ліків Одеського національного медичного університету (протокол № 5 від 24.05.2016 р.), фармації Таджицького національного університету (протокол № 1 від 29.08.2016 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертант особисто провів інформаційно-патентний пошук, проаналізував джерела літератури, разом із науковим керівником визначив мету й задачі, обрав методи дослідження. Самостійно виконав усі експерименти, математичну і статистичну обробку результатів, систематизував їх, підготував публікації до друку. Вміст нейротрансмітерних амінокислот, фактора росту нервів та цитокінів у головному мозку визначено на кафедрі біологічної хімії ХНМУ за консультативної допомоги канд. біол. наук, доц. Т. В. Горбач.

**Апробація результатів дисертації** відбулася на Всеросійській науковій конференції з міжнародною участю «Фармакологическая нейропротекция» (Санкт-Петербург, 2013 р.); X Міжнародному симпозиумі з хімії природних сполук (Ташкент–Бухара, 2013 р.); VII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань в світлі доказової медицини» (Вінниця, 2013 р.); VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії на шляхах доказової медицини» (Вінниця, 2015 р.); II Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2016 р.); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2016 р.).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 10 статей, серед яких 8 у фахових журналах, рекомендованих МОН України, 2 – у закордонних виданнях, 6 тез доповідей; отримано 2 патенти України на винахід та 2 патенти України на корисну модель; видано 2 інформаційні листи.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», п'яти розділів власних експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел літератури. Загальний обсяг роботи включає 183 сторінки друкованого тексту, 32 таблиці та 11 рисунків. Бібліографія містить 358 посилань на наукові праці, з яких 52 – кирилицею, 306 – латиницею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Досліджено 56 сухих екстрактів із надземної частини 25 видів рослин 9 родин: водні екстракти барбарису Тунберга (*Berberis thunbergii* DC., *Berberidaceae*), вейгели гібридної (*Weigela hybrida* Jaeg., *Caprifoliaceae*), рутки лікарської (*Fumaria officinalis* L., *Fumariaceae*), базилику камфорного (*Ocimum basilicum* L., *Lamiaceae*), гісопу лікарського (*Hyssopus officinalis* L., *Lamiaceae*), чабрецю плазкого (*Thymus serpyllum* L., *Lamiaceae*), чистецю однорічного (*Stachys annua* L., *Lamiaceae*), шавлії лікарської (*Salvia officinalis* L., *Lamiaceae*), бірючини звичайної (*Ligustrum vulgare* L., *Oleaceae*), жасміну лікарського (*Jasminum officinale* L., *Oleaceae*), форзиції європейської

(*Forsythia europaea* Geg. et Bald., *Oleaceae*), синюхи звичайної (*Polemonium caeruleum* L., *Polemoniaceae*), дурману звичайного (*Datura stramonium* L., *Solanaceae*), блекоти чорної (*Hyoscyamus niger* L., *Solanaceae*); водний та водно-спиртовий екстракти материнки звичайної (*Origanum vulgare* L., *Lamiaceae*), кропиви собачої (*Leonurus cardiaca* L., *Lamiaceae*), дерези звичайної (*Lycium barbarum* L., *Solanaceae*); водний, водно-спиртовий та спиртовий екстракти ліщини звичайної (*Corylus avellana* (L.) H. Karst, *Betulaceae*), рутки Шлейхера (*Fumaria schleicheri* Soy-Willem., *Fumariaceae*), базиліку зеленого (*Ocimum viridae* Willd., *Lamiaceae*), бузку звичайного (*Syringa vulgaris* L., *Oleaceae*), петунії гібридної (*Petunia hybrida* Vilm., *Solanaceae*), тютюну справжнього (*Nicotiana tabacum* L., *Solanaceae*), перцю однорічного (*Capsicum annuum* L., *Solanaceae*), а також омели білої (*Viscum album* L., *Santalaceae*), що паразитує на клені звичайному (*Acer platanoides* L., *Sapindaceae*), глоді криваво-червоному (*Crataegus sanguinea* Pall., *Rosaceae*), горобині звичайній (*Sorbus aucuparia* L., *Rosaceae*), липі серцелистій (*Tilia cordata* Mill., *Malvaceae*) та вербі білій (*Salix alba* L., *Salicaceae*). Екстракти та їх компоненти (флавоноїдна та алкалоїдна фракції, індивідуальний алкалоїд протопін, білково-полісахаридний комплекс із сухого екстракту рутки Шлейхера) отримано та стандартизовано на кафедрі якості, стандартизації та сертифікації ліків ІПКСФ НФаУ канд. фарм. наук, доц. Ю. С. Прокопенко та докт. фарм. наук, проф. В. А. Георгіянц відповідно до вимог ДФУ та Європейської Фармакопеї.

Дизайн дослідження наведено на рис. 1. Досліди виконано на 1262 білих мишах обох статей масою 18-30 г та 48 білих щурах-самцях масою 175-245 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ, що атестований МОЗ України (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р., чинне до 07.12.2019 р.) відповідно до санітарно-гігієнічних норм із дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що засвідчено висновком комісії НФаУ з біоетики (протокол № 2 від 17.02.2016 р.).

Сухі екстракти вводили мишам внутрішньошлунково (в/ш) в умовно терапевтичних дозах 50-150 мг/кг у вигляді водних розчинів або тонких суспензій у воді з розрахунку 0,1 мл на 10 г маси тіла, а при визначенні гострої токсичності – у дозах 1000, 2000 та 5000 мг/кг. Щурам екстракти вводили в/ш у дозі 100 мг/кг із розрахунку 0,5 мл на 100 г маси тіла. Усі тести виконували через 30 хв після останнього введення препаратів.

Препарати порівняння: натрію вальпроат («Депакін», сироп 57,64 мг / 1 мл, 150 мл у флаконі, Санофі-Авентіс, Франція) у дозах 150 та 300 мг/кг в/ш (А. В. Глущенко та співавт., 2010); карбамазепін («Фінлепсин», таблетки по 200 мг, TEVA, Ізраїль / Польща) у дозі 40 мг/кг в/ш (М. Alaraj et al., 1998); гліцин (субстанція, Sigma-Aldrich, США) у дозі 50 мг/кг в/ш (К. Г. Щокіна та співавт., 2010); діазепам («Реланіум», розчин 5 мг / 1 мл по 2 мл в ампулах, Polfa, Польща) у дозі 10 мг/кг в/ш (А. Kłodzińska et al., 2004); стандартизований екстракт листя гінкго дволопатевого («Білобіл форте», капсули по 80 мг, KRKA, Словенія) у дозі 100 мг/кг в/ш (С. С. Наумов и соавт., 2012).

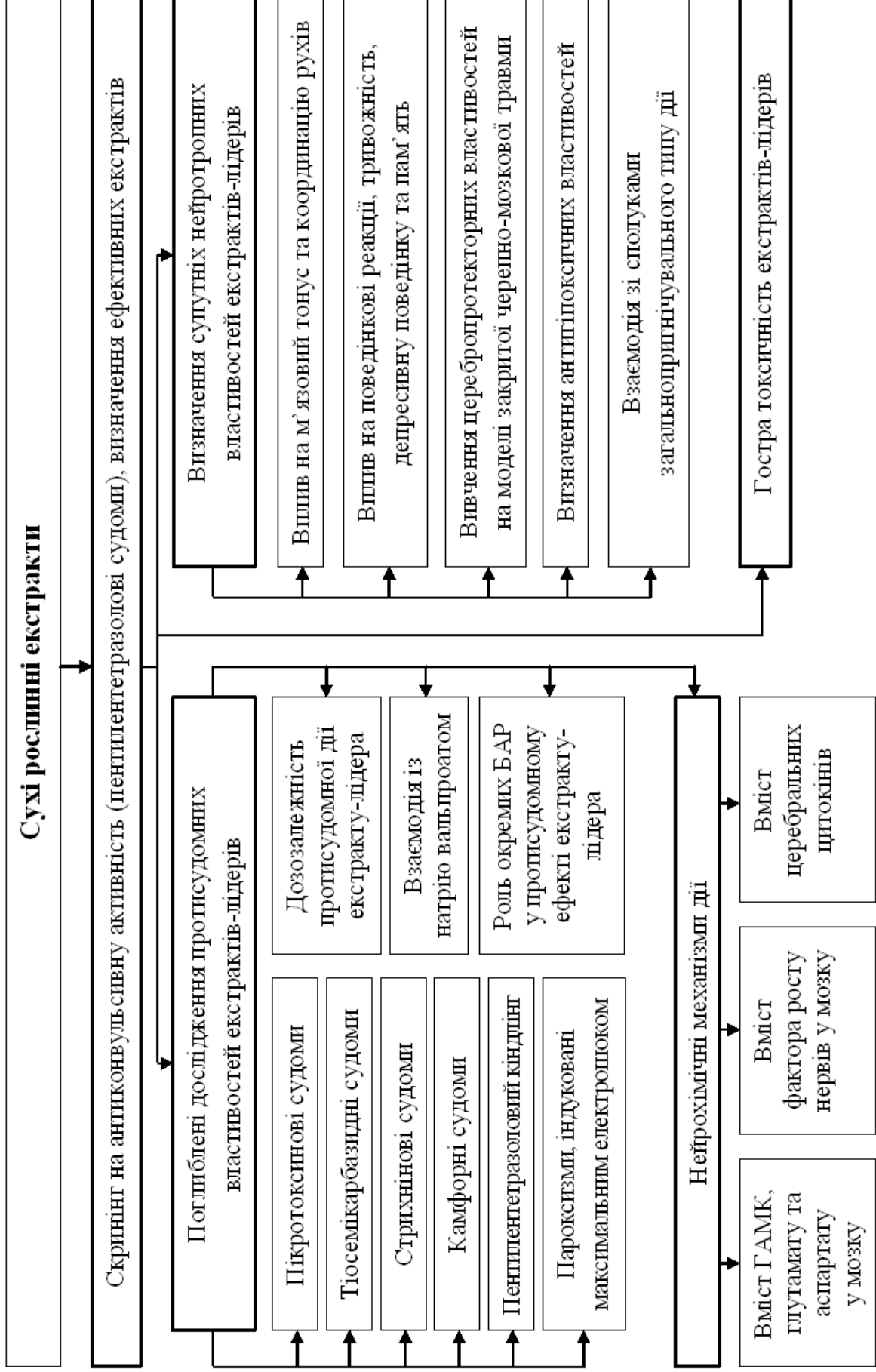


Рис. 1. Загальний дизайн дослідження



Модель гострих пентилентетразолових судом (М. Я. Головенко та співавт., 2003) використано для скринінгу 56 екстрактів із метою визначення перспективних засобів для подальших досліджень, оцінки дозозалежності протисудомного ефекту екстракту-лідера, ролі його біологічно активних речовин у реалізації антиконвульсивної дії, а також взаємодію перспективних фітоекстрактів із вальпроатом натрію. Для лідерів скринінгу визначено спектр антиконвульсивної активності на моделях пікротоксинових, тіосемікарбазидних, стрихнінових та камфорних судом (М. Я. Головенко та співавт., 2003; А. Н. Миронов и соавт., 2012).

Використовували такі конвульсанти: пентилентетразол (Sigma, США) – водний розчин, 80 мг/кг підшкірно (п/ш); пікротоксин (Sigma, США) – водний розчин, 2,5 мг/кг п/ш; тіосемікарбазид (Sigma, США) – водний розчин, 25 мг/кг внутрішньоочеревинно (в/о); стрихнін (стрихніну нітрат, Sigma, США) – водний розчин, 1,2 мг/кг п/ш; камфору (Sigma, США) – олійний розчин, 1000 мг/кг в/о (М. Я. Головенко та співавт., 2003).

Протиепілептичну активність фітоекстрактів-лідерів досліджували поглиблено на моделі пентилентетразолового кіндлінгу (М. Я. Головенко та співавт., 2003; А. Н. Миронов и соавт., 2012). Екстракти вводили в/ш у дозі 100 мг/кг протягом 27 діб щоденно за 30 хв до введення конвульсанта. Пентилентетразол у підпороговій дозі 30 мг/кг вводили в/о. У тесті максимального електрошоку (МЕШ) вивчали вплив на первинно-генералізовані судоми (М. Я. Головенко та співавт., 2003). Досліджували вплив флавоноїдної фракції (0,05 та 0,5 мг/кг), алкалоїдної фракції (0,02 та 0,2 мг/кг), індивідуального алкалоїду протопіну (0,005 та 0,05 мг/кг) та білково-полісахаридного комплексу – БПСК (1,8 та 18 мг/кг) порівнянно із сухим екстрактом рутки Шлейхера в ефективній антиконвульсивній дозі (100 мг/кг) на пентилентетразолові судоми (М. Я. Головенко та співавт., 2003).

Вплив екстрактів-лідерів на м'язовий тонус та координацію рухів визначали за тестом стрижня, що обертається (В. В. Гацура, 1974); на поведінкові реакції – у тесті відкритого поля (А. Н. Миронов и соавт., 2012); на тривожність – за тестом піднесеного хрестоподібного лабіринту (А. Н. Миронов и соавт., 2012); на депресивність – в умовах іммобілізаційного тесту (R. D. Porsolt et al., 1992); на пам'ять інтактних тварин і на моделі антероградної амнезії – за тестом умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) (Я. Буреш и соавт., 1991); церебропротекторну дію – на моделі закритої середньотяжкої черепно-мозкової травми (ЧМТ) (В. Н. Ельський и соавт., 2008); антигіпоксичні властивості – на моделі нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (НГГГ) (А. Н. Миронов и соавт., 2012). Взаємодію екстрактів з депримуєчими речовинами оцінювали за модуляцією дії етанолу (12,5 % розчин, 5,5 г/кг в/о) та натрію тіопенталу (70 мг/кг в/о) (Р. У. Хабриев, 2005).

У гомогенатах головного мозку щурів із ЧМТ вимірювали вміст дієних кон'югатів (ДК) (Н. Г. Щербань и соавт., 2004), ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (И. Д. Стальная и соавт., 1977), продуктів окисної модифікації білків (ОМБ) (R. L. Levine et al., 1994), відновленого глутатіону (ВГ) (Н. Г. Щербань и соавт., 2004), активність супероксиддисмутази (СОД) (Т. В. Сирота, 1999) та каталази (КАТ) (М. А. Королук, 1988). Уміст загального білка визначали за методом Лоурі

(В. С. Камышников, 2009). Фотометричні виміри здійснювали за допомогою спектрофотометра СФ-26 та колориметра-нефелометра КФК-2МП. Уміст фактора росту нервів (NGF) (RayBiotech, Inc., США) та цитокінів IL-1 $\beta$  («Вектор-Бест», РФ), TNF- $\alpha$  та IL-4 («Цитокины», РФ) у гомогенатах головного мозку мишей визначали імуноферментним методом (G. Weskamp et al., 1987) на імуноферментному аналізаторі Stat Fax® 303 Plus (США). Глутамат, аспартат і ГАМК у гомогенатах головного мозку мишей (Г. Н. Зайцева и соавт., 1958) визначали на аналізаторі біохімічному напівавтоматичному Stat Fax® (США) на кафедрі біологічної хімії ХНМУ за консультативної допомоги канд. біол. наук, доц. Т. В. Горбач.

Гостру токсичність екстрактів досліджували згідно з методичними рекомендаціями (О. В. Стефанов, 2001) на мишах і щурах. Визначали клас токсичності екстрактів за класифікацією (Н. С. Hodge et al., 1947).

Результати обробляли з використанням пакету програм STATISTICA 8.0, розраховуючи середнє значення, стандартну похибку середнього, довірчий інтервал (р). Достовірність відмінностей між групами порівняння оцінювали за критеріями Стьюдента (t) та Манна-Уїтні (U) у відповідності до характеру розподілу. При обліку результатів в альтернативній формі використовували кутове перетворення Фішера (ф). Закономірності зв'язку між окремими показниками аналізували за коефіцієнтом кореляції Спірмена (р). Кореляцію між якісними характеристиками (наявність або відсутність певної речовини у складі екстракту та антиконвульсивної активності) оцінювали за тетракоричним показником зв'язку ( $r_a$ ) (С. Гланц, 1998).

**Результати та їх обговорення.** *Скринінг сухих екстрактів із рослин родин барбарисові, березові, глухокропивові, жимолостеві, маслинові, пасльонові, санталові, синюхові та фумарієві на протисудомну активність.* На моделі пентилентетразолових судом за інтегральним показником ефективності – зниженням летальності (на 32-58 % відносно контролю) – виразні протисудомні властивості виявляють водні екстракти ліщини звичайної (ЛЗ), рутки Шлейхера (РШ), базиліку камфорного (БК), водно-спиртовий та спиртовий екстракти бузку звичайного, базиліку зеленого, водний та водно-спиртовий екстракти собачої кропиви (СК), тютюну та омели, що паразитує на клені, та спиртовий екстракт омели, що паразитує на вербі. Окрім зниження летальності, антиконвульсивні властивості фітоекстрактів верифіковано за достовірним подовженням латентного періоду нападів (водні екстракти ЛЗ, РШ та БК, спиртовий екстракт бузку звичайного, водно-спиртовий екстракт СК); зменшенням кількості клоніко-тонічних судом на 1 мишу (водні екстракти РШ, БК та омели, що паразитує на клені, спиртовий екстракт базиліку зеленого, водний та водно-спиртовий екстракти СК), тяжкості нападів (водні екстракти ЛЗ, РШ та БК, спиртовий екстракт базиліку зеленого, водний і водно-спиртовий екстракти СК та омели, що паразитує на клені) та тривалості судомного періоду (водні екстракти РШ, омели, що паразитує на клені, і БК, водний та водно-спиртовий екстракти СК). Додатково окремі фітоекстракти достовірно зменшують відсоток мишей із судомами (виключно за рахунок клонічного компоненту – водний екстракт СК, виключно за рахунок тонічного компоненту судом – водні екстракти ЛЗ та РШ; водний же екстракт БК та водно-спиртовий екстракт СК пригнічують розвиток як клонічних, так і тонічних

нападів). Загалом за результатами первинного скринінгу визначено 14 екстрактів із виразними протисудомними властивостями, 10 фітоекстрактів верифіковано як проконвульсанти, решта (32 екстракти) не чинять виразного впливу на експериментальний судомний синдром. Серед 14 фітоекстрактів-антиконвульсантів на особливу увагу заслуговують водні екстракти ЛЗ, РШ, БК, водний та водно-спиртовий екстракти КС, протисудомний ефект яких був найвиразнішим за вірогідним позитивним впливом на більшість показників експериментальних судом.

*Поглиблене дослідження антиконвульсивної активності екстрактів-лідерів на моделях судом із різним патогенезом.* Спектр протисудомної дії визначено для лідерів скринінгу: сухих екстрактів рутки Шлейхера (СЕРШ) водного, базилику камфорного (СЕБК) водного, ліщини звичайної (СЕЛЗ) водного та сухих екстрактів собачої кропиви водного (СЕСКв) та водно-спиртового (СЕСКвс). Результати узагальнено в табл. 1.

Таблиця 1

### Спектр протисудомної дії перспективних фітоекстрактів

Експериментальна модель	СЕРШ	СЕБК	СЕСКв	СЕСКвс	СЕЛЗ
Пентилентетразолові судоми	++	++	++	++	++
Пікротоксинові судоми	++	–	–	–	–
Тіосемікарбазидні судоми	+	+	+	+	–
Стрихнінові судоми	+	+	–	–	–
Камфорні судоми	+	+	+	++	++
Максимальний електрошок	+	+	н/в	н/в	н/в
Пентилентетразоловий кіндлінг	++	+	н/в	н/в	н/в

Примітка. «++» – виразна дія (значуще зниження летальності та/або низки ключових показників тяжкості судом); «+» – помірна дія (зменшення 1-3 показників тяжкості судом без вірогідного зниження летальності); «–» – відсутність ефекту; н/в – не вивчали

На моделі пікротоксинових судом виразні антиконвульсивні властивості верифіковано лише для СЕРШ, який достовірно відносно контролю знижує летальність та збільшує латентний період перших нападів, зменшує кількість клоніко-тонічних пароксизмів (переважно за рахунок тонічної фази) і тривалість судомного періоду. Інші екстракти виразного ефекту не чинять. Висока активність СЕРШ за умов пікротоксинових судом свідчить про його ГАМК<sub>A</sub>-ергічні властивості (М. Я. Головенко та співавт., 2003; I. Akdogan et al., 2011).

На тіосемікарбазидній моделі СЕСКв, СЕСКвс та СЕБК чинять помірний ефект, достовірно подовжуючи латентний період судом порівняно з контролем. Крім того, СЕСКвс достовірно, а СЕСКв та СЕБК тенденційно зменшують кількість клоніко-тонічних судом. СЕРШ подовжує латентний період нападів, зменшує

кількість клоніко-тонічних судом та тривалість судомного періоду, однак за рахунок високої дисперсії показників ці зміни не є статистично значущими. СЕРШ не виявляє антагонізму з конвульсантом. Ефективність на цій моделі доводить наявність у екстрактів БК та СК антиглутаматних властивостей (A. Pitkänen et al., 2011).

На стрихніновій моделі СЕРШ вірогідно відносно контролю зменшує тонічний компонент судом і тяжкість нападів, що свідчить про помірні гліцинергічні властивості (М. Я. Головенко та співавт., 2003; A. Pitkänen et al., 2011). СЕБК на рівні гліцину достовірно пригнічує тонічну фазу стрихнінових судом. СЕСКв, СЕСКвс та СЕЛЗ суттєво не впливають на конвульсивний ефект стрихніну.

На моделі камфорних судом усі екстракти достовірно відносно контролю пригнічують тонічну фазу судом. Крім того, СЕСКвс зменшує кількість клоніко-тонічних судом і летальність ( $p < 0,05$ ). СЕБК у 2,4 разу подовжує час життя тварин до загибелі ( $p < 0,05$ ). Антиконвульсивну дію СЕЛЗ верифіковано за вірогідним подовженням латентного періоду та зменшенням кількості нападів (переважно за рахунок пригнічення тонічної фази). Ефективність на цій моделі пояснюється впливом фітоекстрактів на обмін церебральних моноамінів (С. Grbić et al., 2008).

Для поглибленого дослідження екстрактів-лідерів за протисудомною дією – СЕРШ та СЕБК – обрано модель пентилентетразолового кіндлінгу (рис. 2).

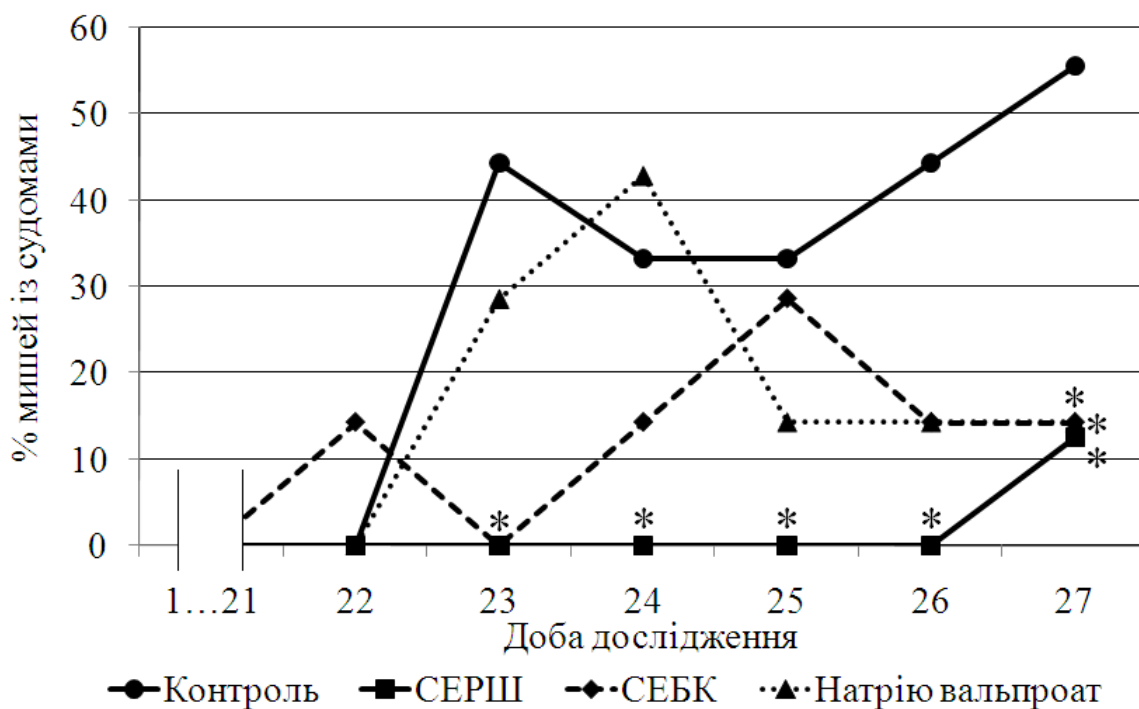


Рис. 2. Динаміка протисудомної активності фітоекстрактів та натрію вальпроату на моделі пентилентетразолового кіндлінгу

Примітка. \* – статистично значущі відмінності з контролем ( $p < 0,05$ )

СЕРШ достовірно відносно контролю подовжує основний показник хронічного епілептогенезу – латентний період дебюту судом – до 27 доби проти 23 доби в контролі ( $p < 0,01$ ). СЕРШ також знижує кількість мишей із нападами з 23 по 27 добу включно ( $p < 0,05$ ), а СЕБК достовірно зменшує її лише на 23 та 27 добу. СЕРШ також зменшує загальну кількість днів із судомами відносно контролю ( $p < 0,01$ ). Ані СЕБК, ані натрію вальпроат на цей показник не впливають.

У тесті МЕШ екстракти чинять помірні антиконвульсивні властивості: СЕРШ та СЕБК достовірно порівняно з контролем знижують час виходу тварин із бічного положення. СЕРШ вірогідно знижує тривалість судом. За виразністю ефекту в тесті МЕШ екстракти не поступаються натрію вальпроату, проте не досягають рівня карбамазепіну. Це дозволяє припустити вплив екстрактів на потенціалзалежні натрієві канали та передачу імпульсу нервовим волокном (S. Kumar et al., 2012).

Визначено дозозалежність ефекту безумовного лідера – СЕРШ – на пентилентетразоловій моделі. Найефективнішою є доза 100 мг/кг. У дозі 150 мг/кг СЕРШ виявляє слабшу дію, а в дозі 50 мг/кг майже не впливає на судом.

Різні компоненти СЕРШ (флавоноїдна та алкалоїдна фракції, протопін, БПСК) дозозалежно впливають на окремі показники судом (табл. 2).

Таблиця 2

**Вплив сухого екстракту рутки Шлейхера та його біологічно активних речовин на перебіг судом, викликаних пентилентетразолом, у мишей (M±m)**

Група тварин, препарати	Доза БАР, мг/кг	Латентний період, хв	Кількість клоніко-тонічних судом на 1 мишу	Тяжкість судом, бали	Тривалість судомного періоду, хв	Летальність, %
Контроль (PTZ)	–	2,63±0,73	4,80±0,84	5,80±0,20	11,51±3,41	90
Флавоноїдна фракція + PTZ	0,05	4,30±1,43	2,60±0,45*	4,80±0,49	7,99±2,08	60
	0,5	4,93±1,63	3,50±0,68	5,63±0,38	10,60±2,39	88
Алкалоїдна фракція + PTZ	0,02	2,89±0,29	3,50±0,27	5,50±0,38	11,89±1,58	75
	0,2	3,38±0,44	2,38±0,42*	6,00±0,00	9,56±3,00	100
Протопін + PTZ	0,005	4,43±0,85*	2,38±0,38*	5,25±0,49	11,15±1,67	75
	0,05	3,64±0,60	2,86±0,40	5,14±0,46	8,63±1,85	57
БПСК + PTZ	1,8	2,87±0,55	2,38±0,38*	5,25±0,37	6,05±1,60	75
	18	3,69±0,87	2,70±0,37*	4,00±0,45*	7,61±1,31	40*
СЕРШ + PTZ	100	19,39±8,97*	1,13±0,30*	3,38±0,89*	3,83±1,91*	38*

Примітка. \* – статистично значущі відмінності з контролем (p<0,05); PTZ – пентилентетразол; БПСК – білково-полісахаридний комплекс

Так, кількість нападів достовірно відносно контролю зменшують флавоноїдна фракція в дозі, еквівалентній вмісту суми флавоноїдів у СЕРШ (0,05 мг/кг), алкалоїдна фракція у десятикратно збільшеній дозі (0,2 мг/кг), ізохіноліновий алкалоїд протопін у низькій дозі (0,005 мг/кг) та БПСК в обох дозах (1,8 та 18 мг/кг). Протопін (0,005 мг/кг) подовжує латентний період судом. Тонічний компонент конвульсій достовірно редукують флавоноїдна фракція та протопін у низькій дозі, а також БПСК у більшій дозі. БПСК у дозі 18 мг/кг також знижує летальність у групі більше ніж у 2 рази. На тривалість судомного періоду та на час життя тварин до загибелі досліджувані БАР не впливають. Однак за антиконвульсивним ефектом усі БАР в обох дозах значно поступаються СЕРШ. Сумарний фітоекстракт виявляє найвиразніші протисудомні властивості за достовірним подовженням латентного

періоду та зменшенням кількості нападів (за рахунок пригнічення клонічного і тонічного компонентів), тяжкості конвульсій, тривалості судомного періоду. Крім того, СЕРШ статистично значуще знижує летальність (на 52 % відносно контролю).

Для СЕРШ та СЕБК визначено фармакодинамічну взаємодію із найуживанішим антиконвульсантом – натрію вальпроатом. Найвиразніші протисудомні властивості встановлено для комбінації СЕРШ + вальпроат, яка спричиняє достовірне подовження латентного періоду нападів та часу життя тварин, а також зменшення кількості та тяжкості судом, відсотка тварин із тонічними конвульсіями відносно контролю. Крім того, комбінація СЕРШ + вальпроат статистично значуще знижує летальність тварин (29 % відносно 78 % в контролі,  $p < 0,05$ ), що взагалі свідчить про синергізм протисудомної дії препаратів.

*Вивчення спектру нейротропних властивостей перспективних екстрактів із протисудомною дією.* У тесті стрижня, що обертається, СЕРШ та СЕБК не чинять міорелаксантаї дії та не порушують координацію рухів. У тесті відкритого поля екстракти вірогідно не впливають на локомоторну та орієнтовно-дослідницьку активність, а також емоційний стан тварин. СЕРШ та СЕБК не чинять вірогідного впливу на тривалість нерухомого зависання тварин за умов іммобілізаційного тесту, що свідчить про відсутність у них антидепресивних або, навпаки, депресогенних властивостей (R. D. Porsolt et al., 1992).

СЕРШ чинить анксиолітичну дію на рівні діазепаму, що її визначено за зменшенням перебування мишей у темних рукавах піднесеного хрестоподібного лабіринту у 12,6 разу відносно контролю ( $p < 0,05$ ), а також тенденцією до подовження латентного періоду входу тварин до темної камери.

На пам'ять інтактних мишей СЕРШ та СЕБК у тесті УРПУ не впливають, за скополамінової амнезії СЕРШ (але не СЕБК) має антиамнестичні властивості.

Виразні церебропротекторні властивості СЕРШ та СЕБК верифіковано на моделі ЧМТ за редукцією неврологічного дефіциту та когнітивних порушень, а також за змінами стану прооксидантно-антиоксидантного балансу головного мозку щурів. Екстракти знижують вміст ДК, пропорційно активують СОД і КАТ, збільшують рівень ВГ відносно контрольної патології. Крім того, СЕРШ та СЕБК нормалізують вміст продуктів ОМБ у головному мозку. За умов НГГГ СЕРШ та СЕБК, як і білобіл, виразної антигіпоксичної дії не чинять.

СЕРШ та СЕБК зменшують латентний період бічного положення мишей за умов етанолового сну відносно контролю у 2,5 та 4,3 разу відповідно (однак лише СЕБК – достовірно). Проте СЕБК майже не впливає на наркозний ефект натрію тіопенталу, тимчасом як СЕРШ статистично вірогідно подовжує наркоз у 3,6 разу.

*Визначення нейрохімічних механізмів дії сухого екстракту рутки Шлейхера.* СЕРШ, як і натрію вальпроат, чинить виразний вплив на баланс церебральних трансмітерних амінокислот (табл. 3).

Встановлено, що СЕРШ збільшує церебральний рівень гальмівного медіатору ГАМК у 2,3 разу,  $p < 0,001$  (натрію вальпроат у 3,4 разу) та зменшує вміст збуджувальних амінокислот глутамату на 8,3 %,  $p < 0,01$  (натрію вальпроат на 34,6 %) та аспартату на 30,8 %,  $p < 0,001$  (натрію вальпроат збільшує на 8,9 %), що, імовірно, є одним із механізмів протисудомної дії.

**Вплив сухого екстракту рутки Шлейхера та натрію вальпроату на вміст нейротрансмітерних амінокислот у головному мозку мишей (M±m)**

Група тварин, умови досліду	Вміст, мкмоль/г тканини		
	ГАМК	глутамат	аспаратат
Контроль (інтактні тварини)	2,08±0,06	9,62±0,20	5,30±0,12
СЕРШ, 100 мг/кг	4,84±0,20*** ###	8,82±0,15** ###	3,67±0,19*** ###
Натрію вальпроат, 300 мг/кг	7,13±0,21***	6,29±0,40***	5,82±0,17*

Примітка. Статистично значущі відмінності з контролем: \* – p<0,05, \*\* – p<0,01, \*\*\* – p<0,001; з показником на тлі натрію вальпроату: ### – p<0,001

Механізм нейротропної (зокрема, антиконвульсивної) дії СЕРШ пов'язаний також із впливом на рівень NGF та вміст церебральних цитокінів. СЕРШ, як і препарат порівняння натрію вальпроат, достовірно знижує пентилентетразол-асоційовану оверекспресію NGF у головному мозку мишей, причому екстракт значно виразніше – у 3,7 (p<0,001) разу відносно контрольної патології (табл. 4). СЕРШ та натрію вальпроат достовірно зменшують вміст прозапальних ІЛ-1β та TNF-α, однак показники на тлі введення СЕРШ є найближчими до аналогічних показників групи інтактного контролю. На рівень протизапального ІЛ-4 пентилентетразол чинить незначний, однак статистично достовірний вплив, збільшуючи його вміст у головному мозку на 15 % (p<0,05). СЕРШ підвищує рівень ІЛ-4 у 4 рази (p<0,001) відносно групи тварин контрольної патології та в 4,7 разу (p<0,001) відносно інтактних тварин.

**Вплив сухого екстракту рутки Шлейхера та натрію вальпроату на вміст фактора росту нервів, про- та протизапальних цитокінів у головному мозку мишей із пентилентетразоловими судомами (M±m)**

Група тварин, умови досліду	Інтактний контроль	Пентилентетразолові судоми		
		Контрольна патологія	СЕРШ, 100 мг/кг	Натрію вальпроат, 300 мг/кг
NGF, пкг/мг	4,82±0,07	9,58±0,11###	2,62±0,09*** ### ^^	6,02±0,07*** ###
ІЛ-1β, пкг/мг	1,23±0,03	1,79±0,02###	1,49±0,03*** ### ^^	1,59±0,03*** ###
TNF-α, пкг/мг	0,35±0,01	1,02±0,01###	0,44±0,01*** ### ^^	0,69±0,02*** ###
ІЛ-4, пкг/мг	0,065±0,004	0,075±0,003#	0,303±0,005*** ### ^	0,104±0,002*** ###

Примітка. Статистично значущі відмінності з інтактним контролем: # – p<0,05, ### – p<0,001; з контрольною патологією: \*\*\* – p<0,001; з показником на тлі натрію вальпроату: ^^ – p<0,001

Аналіз якісного та кількісного складу витяжок показує, що всі без винятку 14 фітоекстрактів із антиконвульсивною дією містять рутин, а серед проконвульсантів він наявний лише у 2 екстрактах із 10. Відмічено статистично значуще (p<0,05)

переважання вмісту рутину в екстрактах із протисудомними властивостями –  $194,1 \pm 39,4$  мг/кг ( $82,3$ – $658,4$  мг/кг) порівняно з таким в проконвульсантах –  $40,1 \pm 36,3$  мг/кг ( $3,8$  та  $76,4$  мг/кг). Наявність цього флавоноїду в складі витяжок із високою вірогідністю обумовлює антиконвульсивні властивості фітоекстрактів, що встановлено за тетрахоричним показником асоціації  $r_a = 0,84$  ( $p < 0,0001$ ).

## ВИСНОВКИ

Актуальність та соціальна значущість епілепсії визначається її широкою розповсюдженістю та складністю лікування, тяжкими психічними розладами, що виникають майже у чверті хворих. Використання фітопрепаратів у лікуванні епілепсії та симптоматичних судом перспективне за рахунок комплексного впливу на патогенез захворювання та сприятливих психотропних властивостей.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної наукової задачі, яке полягає в експериментальному обґрунтуванні доцільності використання фітопрепаратів у терапії епілепсії та симптоматичних судомних станів. Розширено знання про фармакологічні ефекти препаратів окремих представників родин барбарисові, березові, глухокропивові, жимолостеві, маслинові, пасльонові, санталові, синюхові та фумарієві. Визначено зв'язок між протисудомною дією фітопрепаратів та особливостями їх хімічного складу. Встановлено перспективні рослинні субстанції для подальшого дослідження з метою створення на їх основі оригінальних протисудомних препаратів.

1. За результатами скринінгу 56 сухих екстрактів із надземної частини 25 видів рослин 9 родин на базовій моделі пентилентетразолових судом визначено 14 таких, що мають виразні антиконвульсивні властивості, 10 екстрактів-проконвульсантів та 32 витяжки, що не впливають на судомний синдром. За позитивним впливом на більшість показників експериментальних пароксизмів водні екстракти рутки Шлейхера, базилику камфорного, ліщини звичайної, водний та водно-спиртовий екстракти собачої кропиви обрано для поглиблених досліджень.

2. Кожен із досліджуваних екстрактів має власний спектр протисудомної дії. Окрім антагонізму з пентилентетразолом, сухий екстракт базилику камфорного помірно ефективний на моделях максимального електрошоку, пікротоксинових, тіосемікарбазидних та камфорних судом. Сухі екстракти собачої кропиви впливають на тіосемікарбазидні та камфорні судоми. Виразний антагонізм з камфорою виявляє сухий екстракт ліщини звичайної. Сухий екстракт рутки Шлейхера чинить потужний антиконвульсивний ефект на моделях пікротоксинових та електростимульованих судом, помірний – на моделях пароксизмів, індукованих стрихніном та камфорою, запобігає розвитку спонтанних судом за умов пентилентетразолового кіндлінгу, достовірно подовжуючи латентний період перших нападів – до 27 діб проти 23 у контролі ( $p < 0,01$ ). Лідер (сухий екстракт рутки Шлейхера) найвиразнішу протисудомну дію чинить у дозі 100 мг/кг.

3. Виразні протисудомні властивості сухого екстракту рутки Шлейхера обумовлені синергізмом його компонентів. Окремі сполуки (алкалоїд протопін) та фракції (флавоноїдна, алкалоїдна, білково-полісахаридний комплекс) чинять лише



помірний антиконвульсивний ефект, не досягаючи рівня сумарної витяжки. Одним із агентів, здатних знижувати летальність (більш ніж у 2 рази відносно контролю,  $p < 0,05$ ), є білково-полісахаридний комплекс у високій (18 мг/кг) дозі.

4. Сухі екстракти рутки Шлейхера та базилику камфорного не чинять негативного впливу на м'язовий тонус та координацію рухів, а також на поведінкові реакції, тривожність, депресивну поведінку та пам'ять інтактних мишей. У той же час сухий екстракт рутки Шлейхера виявляє виразні анксиолітичні та антиамнестичні властивості. Як і сухий екстракт базилику камфорного, він вірогідно покращує перебіг експериментальної черепно-мозкової травми. Антигіпоксичні властивості досліджуваних екстрактів не виявляють.

5. Сухий екстракт рутки Шлейхера значно посилює протисудомний ефект натрію вальпроату у субтерапевтичній дозі, знижуючи летальність на 49 % ( $p < 0,05$ ), тимчасом як сухий екстракт базилику камфорного не потенціює слабку антиконвульсивну дію низької дози натрію вальпроату.

6. Сухий екстракт рутки Шлейхера посилює депримуєчий вплив на ЦНС натрію тіопенталу – подовжує тривалість сну у 3,6 разу ( $p < 0,05$ ), а сухий екстракт базилику камфорного потенціює загальнопригнічувальний ефект етанолу – зменшує латентний період бічного положення у 4,3 разу ( $p < 0,05$ ).

7. Встановлено, що за профілактичного введення інтактним мишам сухий екстракт рутки Шлейхера збільшує вміст головного гальмівного медіатора ГАМК (у 2,3 разу,  $p < 0,001$ ) та зменшує рівень збуджувальних амінокислот глутамату (на 8,3 %,  $p < 0,01$ ) та аспартату (на 30,8 %,  $p < 0,001$ ) в ЦНС. За лікувально-профілактичного введення на моделі пентилентетразолових судом сухий екстракт рутки Шлейхера знижує оверекспресію фактора росту нервів (у 3,7 разу,  $p < 0,001$ ), прозапальних цитокінів IL-1 $\beta$  (в 1,2 разу,  $p < 0,001$ ) та TNF- $\alpha$  (в 2,3 разу,  $p < 0,001$ ), а також збільшує церебральний вміст протизапального IL-4 (у 4 рази,  $p < 0,001$ ), що, вочевидь, є механізмами протисудомної дії.

8. Результати дослідження гострої токсичності сухого екстракту рутки Шлейхера дозволяють віднести його до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини ( $LD_{50} > 5000$  мг/кг).

9. Комплекс отриманих результатів дає підставу вважати доцільним подальшу розробку оригінальних вітчизняних протисудомних фітопрепаратів, що містять сухий екстракт рутки Шлейхера як найперспективніший антиконвульсивний агент, а також сухі екстракти базилику камфорного, собачої кропиви та ліщини звичайної.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Скринінгове дослідження протисудомної активності сухих екстрактів із 8 видів рослин родин Solanaceae, Papaveraceae, Lamiaceae та Polemoniaceae / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Ю. С. Прокопенко, В. А. Георгіянц // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16, № 4. – С. 47–50. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).
2. Цивунін В. В. Нейропротекторные свойства сухих экстрактов дымянки Шлейхера и базилика камфорного / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь,

- Ю. С. Прокопенко // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* – 2013. – Т. 11, № 3. – С. 66–71. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).
3. Цивунін В. В. Дослідження психотропних властивостей потенційних рослинних антиконвульсантів / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Б. А. Загинайченко // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2014. – № 2 (38). – С. 30–35. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).
  4. Експериментальне визначення спектра протисудомної дії перспективних антиконвульсантів рослинного походження / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Ю. С. Прокопенко, Е. Л. Торянік // *Український біофармацевтичний журнал.* – 2014. – № 3 (32). – С. 45–49. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).
  5. Tsyvunin V. V. Antiepileptic potential of *Fumaria schleicheri* and *Ocimum basilicum* dry extracts / V. V. Tsyvunin, S. Yu. Shtrygol' // *Вісник фармації.* – 2015. – № 1 (81). – С. 64–68. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).
  6. Цивунін В. В. Вплив потенційного антиконвульсанту – сухого екстракту рутки Шлейхера – на вміст нейротрансмітерних амінокислот у головному мозку мишей / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Т. В. Горбач // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2015. – № 2 (43). – С. 43–48. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).
  7. Цивунін В. В. Перспективні антиконвульсанти – сухі екстракти рутки Шлейхера та базиліку камфорного: гостра токсичність та взаємодія із пригнічувальними нейротропними речовинами / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь // *Фітотерапія. Часопис.* – 2015. – № 4. – С. 28–31. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).
  8. A comparative phytochemical and pharmacological analysis of the extracts from leaves of the Ukrainian flora shrubs / N. A. Blyznyuk, Yu. S. Prokopenko, V. A. Georgiyants, V. V. Tsyvunin // *Вісник фармації.* – 2016. – № 1 (85). – С. 29–32. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, участь у підготовці статті*).
  9. Influence of dry herbal extracts on pentylenetetrazole-induced seizures in mice: screening results and relationship “chemical composition – pharmacological effect” / V. Tsyvunin, S. Shtrygol', Y. Prokopenko, V. Georgiyants, N. Blyznyuk // *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* – 2016. – № 1 (1). – P. 18–28. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, участь у підготовці статті*).
  10. In Vivo Anticonvulsant Activity of Extracts and Protopine from *Fumaria schleicheri* Herb / Yuliya Prokopenko, Vadim Tsyvunin, Sergey Shtrygol', Victoriya Georgiyants // *Scientia Pharmaceutica.* – 2016. – Vol. 84. – P. 547–554. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, участь у підготовці статті*).
  11. Патент № 79433 на корисну модель, МПК А61Р 25/08 (2006.01), А61К 36/50 (2006.01), А61К 135/00 (2006.01). Лікувально-профілактичний засіб із протисудомною дією / В. В. Цивунін, Ю. С. Прокопенко, С. Ю. Штриголь, В. А. Георгіянц. – № u 2012 11071; заявл. 24.09.12; опубл. 25.04.13. – Бюл. № 8. –

- 3 с. (*Особистий внесок: участь в експерименті, участь в аналізі даних, оформленні патенту*).
12. Патент № 89372 на корисну модель, МПК А61Р 25/22 (2006.01), А61К 35/50 (2006.01), А61К 135/00 (2006.01). Лікувально-профілактичний засіб з анксиолітичною дією на основі рослинної сировини / В. В. Цивунін, Ю. С. Прокопенко, С. Ю. Штриголь, В. А. Георгіянц. – № u 2013 04354; заявл. 08.04.13; опубл. 25.04.14. – Бюл. № 8. – 6 с. (*Особистий внесок: участь в експерименті, участь в аналізі даних, оформленні патенту*).
  13. Патент № 106117 на винахід, МПК А61К 36/50 (2006.01), А61Р 25/08 (2006.01). Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу із протисудомною дією / В. В. Цивунін, Ю. С. Прокопенко, С. Ю. Штриголь, В. А. Георгіянц. – № а 2012 11072; заявл. 24.09.12; опубл. 25.07.14. – Бюл. №14. – 3 с. (*Особистий внесок: участь в експерименті, участь в аналізі даних, оформленні патенту*).
  14. Патент № 110947 на винахід, МПК А61Р 25/22 (2006.01), А61К 36/50 (2006.01), А61К 135/00 (2006.01). Застосування лікувально-профілактичного засобу у формі сухого екстракту рутки Шлейхера як агента, що проявляє анксиолітичну дію / В. В. Цивунін, Ю. С. Прокопенко, С. Ю. Штриголь, В. А. Георгіянц. – № а 2013 04353; заявл. 08.04.13; опубл. 10.03.16. – Бюл. № 5. – 5 с. (*Особистий внесок: участь в експерименті, участь в аналізі даних, оформленні патенту*).
  15. Цивунин В. В. Поиск новых антиконвульсантов растительного происхождения с широким спектром нейропротекторных свойств / В. В. Цивунин, С. Ю. Штриголь, Ю. С. Прокопенко // Фармакологическая нейропротекция: материалы Всероссийской научной конференции с международным участием, г. Санкт-Петербург, 18-21 сентября 2013 г. – Санкт-Петербург, 2013. – С. 150.
  16. Research of the anticonvulsant activity of members of Betulaceae, Lamiaceae, Fumariaceae, and Oleaceae families / Yu. S. Prokopenko, N. A. Blyznyuk, V. A. Georgiyants, V. V. Tsyvunin // X<sup>th</sup> International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds: Abstracts, Tashkent-Bukhara, Republic of Uzbekistan, November 21-23, 2013. – Tashkent-Bukhara, 2013. – P. 275.
  17. Цивунін В. В. Фітопрепарати як потенційні коректори судомних станів / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Ю. С. Прокопенко // Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань в світлі доказової медицини: матеріали VII Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Вінниця, 25-26 листопада 2013 р. – Вінниця, 2013. – С. 122–123.
  18. Цивунін В. В. Розробка нових антиконвульсантів рослинного походження / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь // Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії на шляхах доказової медицини: матеріали VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Вінниця, 9-10 листопада 2015 р. – Вінниця, 2015. – С. 250–253.
  19. Цивунін В. В. Вплив сухих рослинних екстрактів на експериментальний судомний синдром у мишей (скринінгове дослідження) / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь // Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: матеріали II Міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків, 21-23 березня 2016 р. – Харків, 2016. – С. 258–259.

20. Цивунін В. В. Експериментальне обґрунтування доцільності комбінації сухого екстракту рутки Шлейхера з вальпроатом натрію / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, М. В. Міщенко // Хімія природних сполук: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р. – Тернопіль, 2016. – С. 107.
21. Штриголь С. Ю. Використання сухого екстракту рутки Шлейхера для розробки лікарського засобу протисудомної дії / С. Ю. Штриголь, В. В. Цивунін, Ю. С. Прокопенко // Інформ. лист № 282–2013. – Укрмедпатентінформ МОЗ України. – К., 2014. – 4 с.
22. Інноваційні перспективи використання сухого екстракту листа ліщини звичайної для розробки лікарського засобу протисудомної дії / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Ю. С. Прокопенко, В. А. Георгіянц, Н. А. Близнюк // Інформ. лист № 45–2016. – Укрмедпатентінформ МОЗ України. – К., 2016. – 4 с.

### АНОТАЦІЯ

**Цивунін В. В. Пошук нових антиконвульсантів рослинного походження (експериментальне дослідження).** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2016.

Дисертацію присвячено експериментальному обґрунтуванню доцільності використання фітопрепаратів у терапії епілепсії та судомних станів.

За результатами скринінгу 56 сухих рослинних екстрактів на моделі пентилентетразолових судом визначено перспективні витяжки: сухі екстракти рутки Шлейхера (СЕРШ), базилику камфорного (СЕБК), ліщини звичайної водні та екстракти собачої кропиви водний і водно-спиртовий. При їх поглибленому дослідженні на моделях хемоіндукованих судом встановлено спектр антиконвульсивної дії. Для СЕРШ та СЕБК верифіковано захисний ефект за максимального електрошоку. Доведено ефективність СЕРШ на моделі пентилентетразолового кіндлінгу, що є предиктором високого протиепілептичного потенціалу. Встановлено сприятливий профіль психотропних властивостей (анксиолітичний, антиамнестичний, церебропротекторний ефекти) у СЕРШ. Показано, що протисудомні властивості СЕРШ реалізуються через зростання церебрального вмісту ГАМК за зниження рівня глутамату та аспартату, а також через цитокінову ланку та експресію фактора росту нервів. Визначено, що СЕРШ належить до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини. Результати обґрунтовують перспективність подальшої розробки нових протисудомних препаратів, зокрема, на основі сировини рутки Шлейхера.

*Ключові слова:* лікарські рослини, екстракти, судомні, протисудомні засоби, амінокислоти, цитокіни, фактор росту нервів.

### АННОТАЦИЯ

**Цивунин В. В. Поиск новых антиконвульсантов растительного происхождения (экспериментальное исследование).** – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2016.

Диссертация посвящена экспериментальному обоснованию целесообразности использования фитопрепаратов в терапии эпилепсии и судорожных состояний.

По результатам скрининга 56 сухих растительных экстрактов на модели пентилентетразоловых судорог определены перспективные извлечения: сухие экстракты дымянки Шлейхера (СЭДШ), базилика камфорного (СЭБК), лещины обыкновенной водные, а также экстракты пустырника водный и водно-спиртовой. При их углубленном исследовании на моделях хемоиндуцированных судорог установлен спектр антиконвульсивного действия. Для СЭДШ и СЭБК верифицирован защитный эффект при максимальном электрошоке. Доказана эффективность СЭДШ на модели пентилентетразолового киндлинга, что является предиктором высокого противосудорожного потенциала. Установлен благоприятный профиль психотропных свойств (анксиолитический, антиамнестический, церебропротекторный эффекты) у СЭДШ. Показано, что противосудорожные свойства СЭДШ реализуются через увеличение церебрального уровня ГАМК при снижении глутамата и аспартата, а также через цитокиновое звено и экспрессию фактора роста нервов. Определено, что СЭДШ относится к V классу токсичности – практически нетоксические вещества. Результаты обосновывают перспективность дальнейшей разработки новых противосудорожных препаратов, в частности, на основе сырья дымянки Шлейхера.

*Ключевые слова:* лекарственные растения, экстракты, судороги, противосудорожные средства, аминокислоты, цитокины, фактор роста нервов.

## SUMMARY

**Tsyvunin V. V. Search for new anticonvulsant medicines of herbal origin (experimental study).** – The manuscript.

The thesis for a Candidate of Pharmaceutical Sciences Degree by the speciality 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2016.

The dissertation is devoted to the experimental justification of the use of herbal medicines in the treatment of epilepsy and seizures.

According to the results of the screening of 56 dry herbal extracts on the model of pentylenetetrazole-induced seizures, 5 promising extracts have been identified: *Fumaria schleicheri* dry extract (FSDE), *Ocimum basilicum* dry extract (OBDE), *Corylus avellana* dry extract, as well as extracts of *Leonurus cardiaca*.

The range of anticonvulsant action for these extracts has been identified in the in-depth study on the models of chemoinduced seizures.

Dry extracts of *Leonurus cardiaca* have suppressive influence on tiosemicarbaside-induced and camphor-induced seizures. Distinct antagonism with camphor has been detected for *Corylus avellana* dry extract. OBDE has shown moderate effect on the models of seizures induced by pictotoxin, tiosemicarbaside and camphor. FSDE has a powerful anticonvulsant effect on the model of picrotoxin-induced seizures, moderate activity on the

models of seizures induced by strychnine and camphor.

For FSDE and OBDE their additional protective effect on convulsions induced by maximal electroshock has been verified.

High efficiency of FSDE has been proven on the model of pentylenetetrazole-induced kindling that is predictive of distinct anti-epileptic potential of the extract.

The expressed anticonvulsant effect of FSDE depends on the synergism of biologically active compounds (flavonoid, alkaloid, protein-polysaccharide fractions and individual alkaloid protopine), although some individual substances (mostly protopine and the protein-polysaccharide fraction) have shown moderate anti-seizure activity.

In the rotating rod test, FSDE and OBDE do not have a negative influence on muscle tone and coordination of movements. In the open field test, the extracts do not significantly affect on locomotor activity, exploratory activity and emotional reactions.

FSDE and OBDE do not have a significant influence on the depressive behavior in the tail suspension test. FSDE has anxiolytic effect which is identified in the elevated plus maze test.

FSDE and OBDE do not influence on memory of intact mice. FSDE (but not OBDE) has anti-amnesic properties on the scopolamine-induced amnesia in the conditional reaction of passive avoidance test.

Expressive cerebroprotective properties of FSDE and OBDE have been identified in the model of traumatic brain injury.

Both, FSDE and OBDE do not show antihypoxic properties on the conditions of the normobaric hypoxic hypoxia with hypercapnia.

FSDE significantly enhances the anticonvulsant effect of sodium valproate at a subtherapeutic dose reducing mortality in the experimental group, while OBDE does not potentiate the weak anticonvulsant properties of sodium valproate at a low dose.

FSDE enhances CNS depressive action of thiopental sodium, while OBDE potentiates central effects of ethanol.

Anticonvulsant properties of FSDE are mediated by affecting on the balance of neurotransmitter amino acids in brain. FSDE, as sodium valproate, increases the level of cerebral GABA while reduces the content of glutamate and aspartate. Correlation analysis proved a significant influence of FSDE on processes of the exchange of neurotransmitter amino acids in the CNS.

Furthermore FSDE normalizes pentylenetetrazole-induced changes in the brain content of nerve growth factor, inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in the CNS, at the same time increasing the level of anti-inflammatory IL-4.

A favorable safety profile has been determined for FSDE – it belongs to practically non-toxic substances (V class of toxicity, LD<sub>50</sub>>5000 mg/kg).

The detailed analysis of the relationship between phytochemical composition and influence of the extracts on the experimental seizures has shown that anticonvulsant peculiarities of extracts most probably depend on flavonoid rutin high content.

The results justify the prospects of further investigation of new anticonvulsant herbal medicines, in particular on the base of *Fumaria schleicheri*.

*Key words:* medicinal plants, extracts, seizures, anticonvulsants, amino acids, cytokines, nerve growth factor.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР	–	біологічно активні речовини;
БК	–	базилік камфорний;
БПСК	–	білково-полісахаридний комплекс;
в/о	–	внутрішньоочеревинно;
в/ш	–	внутрішньошлунково;
ВГ	–	відновлений глутатіон;
ГАМК	–	γ-аміномасляна кислота;
ДК	–	дієнові кон'югати;
КАТ	–	каталаза;
ЛЗ	–	ліщина звичайна;
МЕШ	–	максимальний електрошок;
НГГГ	–	нормобарична гіпоксична гіпоксія з гіперкапнією;
ОМБ	–	окисна модифікація білків;
п/ш	–	підшкірно;
ПЕЗ	–	протиепілептичні засоби;
РШ	–	рутка Шлейхера;
СЕБК	–	сухий екстракт базиліку камфорного;
СЕЛЗ	–	сухий екстракт ліщини звичайної;
СЕРШ	–	сухий екстракт рутки Шлейхера;
СЕСКв	–	сухий екстракт собачої кропиви (водний);
СЕСКвс	–	сухий екстракт собачої кропиви (водно-спиртовий);
СОД	–	супероксиддисмутаза;
СК	–	собача кропива;
ТБК-АП	–	активні продукти, що реагують з тіобарбітуровою кислотою;
ЦНС	–	центральна нервова система;
ЧМТ	–	черепно-мозкова травма;
УРПУ	–	умовна реакція пасивного уникнення;
IL-1β	–	інтерлейкін-1β;
IL-4	–	інтерлейкін-4;
LD <sub>50</sub>	–	середня летальна доза;
NGF	–	фактор росту нервів;
PTZ	–	пентилентетразол;
TNF-α	–	фактор некрозу пухлин-α.