Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров’я України

КОРАНГ ЛЮДМИЛА АНАТОЛІЇВНА

УДК: 615.24: 244. 633.273

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ, ПРОТИВИРАЗКОВИХ ТА ГЕПАТОЗАХИСНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТУ ЛЕПЕХИ ЗВИЧАЙНОЇ (Acorus calamus L.)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.
Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, м. Харків.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
ДЕРИМЕДВІДЬ Людмила Віталіївна,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України, професор кафедри
фармакології та фармакотерапії

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ПОДПЛЕТНЯ Олена Анатоліївна,
Дніпровський державний медичний
університет, завідувачка кафедри
загальної та клінічної фармації

доктор медичних наук, професор
ГОРЧАКОВА Надія Олександрівна,
Національний медичний університет
імені О. О. Богомольця МОЗ України,
професор кафедри фармакології

Захист відбудеться «12» травня 2021 р. о 12^{30} годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

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

Автореферат розісланий «9» квітня 2021 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д.фарм.н., професор К. Г. Щокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Згідно з інформацією фахівців ВООЗ, оприлюднених у матеріалах «Стратегія ВООЗ в області народної медицини 2014-2023», майже 80 % населення Землі використовує препарати рослинного походження (О. І. Волошин, Т. М. Бойчук та ін., 2015; О. И. Волошин, Т. П Гарник, 2017; S.L.Jamesetal, 2018; С.Мороз, 2019).

Для багатьох з фітопрепаратів є багатовіковий досвід використання їх в народній медицині. Значна кількість їх використовується в офіційній медицині (І.С. Чекман, 2003; И.Д. Кароматов, 2018; E. Salmerón-Manzano, 2020). Більшість з них мають широкий спектр фармакологічних властивостей та характеризуються високою безпекою при достатній ефективності (С. В. Гарна та ін., 2016; S.L. Jamesetal, 2018; M. Fitzgerald, 2020).

Однією з рослин, яка широко застосовується як в народній, так і в офіційній медицині та містить значну кількість біологічно активних речовин (БАР), є лепеха звичайна (*Acorus calamus L.*). У народній медицині вона використовується як седативний, болезаспокійливий, спазмолітичний, діуретичний та антимікробний засіб. Водні витяжки із кореневищ лепехи звичайної чинять протизапальну, відхаркувальну, жовчогінну, спазмолітичну, противиразкову, антибактеріальну і дезінфікувальну дію (И. Д. Кароматов, 2015; A. D. Khwairakpam, 2018).

Одним із компонентів БАР лепехи звичайної є α- і β-азарон, які окрім терапевтичної дії (спазмолітична, протимікробна та ін.) чинять токсичну дію, зокрема – генотоксичну, канцерогенну (викликають гепатокарціноми, пухлини тонкого кишківника) та мутагенну (A. T. Cartus, D. Schrenk, 2020; R. Loying et al., 2019; Frenzel C., Teschke R., 2019; A.M. Gur'ev, 2010). Це обумовлює обмеження застосування лепехи звичайної в Європі (вища добова концентрація − 0,1 мг / кг в їжі та напоях); а в США застосування олії і екстракту кореневища лепехи в їжі заборонено FDA (https://www.drugs.com/npp/calamus.html).

На жаль, неконтрольована заготівля сировини та зменшення природного ареалу Acorus calamus призвели до значного зменшення запасів лепехи звичайної (P. Zanoli et al., 1998). Враховуючи дані P. R. Venskutonis та A. Dagilyte (2003) щодо схожості кількісного, а також якісного складу БАР підземних і надземних частин лепехи звичайної, поглиблене дослідження листя лепехи звичайної з метою використання її у медицині та фармації є актуальним, перспективним та економічно доцільним.

Представлені на ринку України рослинні препарати вітчизняного та іноземного виробництва, які містять лепеху звичайну, мають у своєму складі кореневище лепехи (Державний реєстр лікарських засобів України, 2020). Препарати з листя лепехи звичайної як в Україні так і в інших країнах відсутні.

На кафедрі ботаніки Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Гонтової Т. М. були отримані спиртово-водний та деалкоголізований екстракт листя лепехи звичайної (*Acorus calamus* L.), які були досліджені в даній роботі. Важливою особливістю даних екстрактів є мінімальний вміст азарону або повна його відсутність.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт НФаУ МОЗ

України у рамках теми «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956, 2014–2023 рр.).

Мета і завдання дослідження. *Мета* роботи – експериментальне обґрунтування можливостей застосування екстрактів листя лепехи звичайної для фармакокорекції запальних захворювань органів шлунково-кишкового тракту (ШКТ).

Для досягнення цієї мети було необхідно вирішити такі *завдання*:

1. Дослідити токсикологічні властивості екстрактів листя лепехи звичайної в порівнянні з екстрактами кореневища лепехи в умовах *in vivo* та *in vitro*.

2. Дослідити мембраностабілізувальну та капілярозміцнювальну активність екстрактів листя лепехи звичайної на моделях судинно-тканинної проникності у щурів та методу спонтанного гемолізу.

3. Встановити наявність протизапальної активності екстрактів листя лепехи звичайної та визначити екстракт-лідер за антиексудативною дією.

4. Вивчити противиразкову дію екстрактів листя лепехи звичайної на моделі аспіринової виразки шлунка у мишей та визначити екстракт-лідер за гастропротекторної активністю.

5. Дослідити противиразкову дію деалкоголізованого екстракту листя лепехи звичайної звичайної (ДЕЛЛ) на моделі резерпін-обумовленого та спирто-преднізолонового ураження слизової оболонки шлунка (СОШ).

6. Встановити вплив ДЕЛЛ на функціональний стан і морфологічні показники печінки за умов парацетамол-індукованого та етанол-тетрахлорметанового гепатитів у щурів.

7. Дослідити вплив ДЕЛЛ на локомоторну, орієнтовно-дослідницьку активність, емоціональний стан інтактних тварин, а також вивчити тимолептичну дію за умов резерпін-індукованої депресії.

Об'єкт дослідження: фармакокорекція запальних захворювань органів ШКТ.

Предмет дослідження: фармакологічні та токсикологічні властивості екстрактів листя лепехи звичайної.

Методи дослідження. При виконанні дисертаційної роботи використовували комплексний підхід із залученням психофармакологічних тестів («відкритого поля», «стрижня, що обертається», «плавання з навантаженням», «підвішування за хвіст»); фармакологічних (моделі аспіринової, резерпінової та спирто-преднізолонової виразок шлунку; парацетамол-індукованого та етанол-тетрахлорметанового гепатиту; карагенінового та зимозанового набряків; спонтанного гемолізу за методом Jager F. S.; судинно-тканинної проникністі за методом Голікова П.П. та проби Мак-Клюра-Олдрича; моделі резерпінової депресії у щурів, тіопенталового наркозу у мишей); біохімічних (визначення вмісту ТБК-АП реактантів, 8-ізопростану, окисленого глутатіону (ОГ), відновленого глутатіону (ВГ), загального білка, загального холестеролу, тригліцеридів, прямого та непрямого білірубіну; аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), γ-глютамілтранспептидаза (γ-ГТТП); токсикологічних методів (визначення гострої токсичності), дослідження цитотоксичності методами *in vitro* (МТТ-тест, цитотоксичність на клітинній лінії гепатоцелюлярної карциноми людини HepG2); гістологічних (світлової мікроскопії) та методів математичної статистики.

Наукова новизна. Встановлено, що відповідно до класифікації токсичності речовин, екстракти листя лепехи звичайної при внутрішньошлунковому (в/ш) введенні відносяться до IV класу токсичності – малотоксичні речовини ($ЛД_{50}$≥5000 мг/кг).

На відміну від екстракту кореневища лепехи, екстракт листя лепехи не чинить цитотоксичного ефекту, що доведено в дослідженнях *in vitro* на клітинній лінії гепатоцелюлярної карциноми людини HepG2 та за допомогою МТТ-тесту.

Вперше експериментально обґрунтовано доцільність застосування рідкого спиртово-водного екстракту листя лепехи звичайної (РСВЕЛЛ) та деалкоголізованого екстракту листя лепехи звичайної (ДЕЛЛ) для фармакокорекції гепатитів, виразки шлунку.

На моделі карагенінового набряку встановлена антиексудативна дія екстрактів листя лепехи звичайної. Найбільшу антиексудативну активність чинить РСВЕЛЛ. Виявлено капілярозміцнювальну та мембраностабілізувальну активність екстрактів листя лепехи на моделях судинно-тканинної проникності та спонтанного гемолізу. За ступенем капілярозміцнювальної та мембраностабілізувальної активності ДЕЛЛ вірогідно перевищував ефект кверцетина і диклофенака натрію ($p<0,05$).

Вперше встановлена гастропротекторна активність екстрактів листя лепехи звичайної на аспіриновій, резерпіновій та спирто-преднізолоновій моделях ураження шлунка. Противиразкова активність ДЕЛЛ на моделі аспіринового ураження слизової оболонки шлунку (СОШ) склала 41,4 %, а РСВЕЛЛ – 27,3% і була аналогічна дії препарату порівняння кверцетину – 22,2%. Встановлено умовно-ефективну дозу ДЕЛЛ, яка дорівнює 1 мл/кг. На моделі резерпін-обумовленого ураження СОШ у мишей ефективність складала 68,5 %, а препарату порівняння кверцетину – 34,2 %. На моделі спирто-преднізолонової виразки шлунку у щурів, використання ДЕЛЛ за показниками – набряк, гіперемія, вздуття шлунку та кишківника, інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) та цитолізу статистично перевищував ефективність ранітидину ($p≤0,05$). Антиульцирогенна дія ДЕЛЛ підтверджена результатами гістологічних досліджень.

Вперше вивчено вплив ДЕЛЛ на перебіг гепатитів різного генезу. На моделях гепатиту, індукованого введенням парацетамолу та етанол-тетрахлорметанового ураження печінки, ДЕЛЛ зменшував вміст маркеру інтенсивності процесів ВРО – 8-ізопростану в печінці на 43% та на 55,3% збільшував рівень ВГ у порівнянні з КП ($p<0,05$). Рівень маркерів цитолізу на фоні ДЕЛЛ знизився в середньому на 46% ($p<0,05$). За ступенем покращення жовчоутворювальної та жовчовидільної функцій печінки ефективність ДЕЛЛ перевищувала дію препаратів порівняння силімарину та адеметіоніну на 15-22%. Гепатопротекторна дія ДЕЛЛ підтверджена гістологічними дослідженнями: зменшення ступеню дистрофії гепатоцитів (гідропічної, вуглеводної, жирової); альтерації клітин, відсутність порушень гемодинаміки гепатоцитів, нормалізація структури печінки. За антиокиснювальними та антицитолітичними властивостями ДЕЛЛ перевищував ефект силімарину (на 12%-18%), але дещо поступався адеметіоніну (10-15%).

З’ясовано достовірний стимулювальний дозозалежний вплив ДЕЛЛ на локомоторну активність та орієнтовно-дослідницьку активність інтактних тварин, зростання фізичної витривалості мишей у тесті «плавання з навантаженням» в 1,2

разу та зменшення тривалості тіопенталового наркозу в 3,6 разу. За низкою показників ДЕЛЛ в дозах 1 мл/кг та 5 мл/кг перевищував ефект препарату Гінкого білоба.

На моделі резерпін-індукованої депресії у щурів показано, що ДЕЛЛ чинить дозозалежну тимолептичну дію, яка проявляється збільшенням латентного часу іммобільності (на 46%), зменшненням тривалісті іммобільності (на 50,5%), блефароптозу (на 30%) та гіпотермії (з 33,9±0,18°С у групі КП до 35,92±0,1°С). За тимолептичною дією ДЕЛЛ не поступається препарату порівняння – сухому екстракту звіробою та на 40% перевищує ефект адеметіоніну.

Наукова новизна досліджень підтверджена патентами-партнерами України на винахід (№ 122377, 2020 р.) та корисну модель (№ 118526, 2019 р.) «Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу на основі рослинної сировини з протизапальною дією».

Практичне значення отриманих результатів. Робота є експериментальним дослідженням, у якому встановлена протизапальна, мембраностабілізувальна, противиразкова, гепатопротекторна та нейротропна активність екстрактів листя лепехи звичайної, що обґрунтовує доцільність подальшого їх вивчення з метою розробки вітчизняних фітопрепаратів для профілактики і комплексного лікування запальних уражень органів ШКТ.

Рекомендовано використання ДЕЛЛ з метою удосконалення терапії захворювань гепатобіліарної системи (інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я України № 26, 2020 р.).

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (протокол № 9 від 15.02.2020 р.), кафедри фармакології Івано-Франківського національного медичного університету (протокол № 7 від 13.01.2020 р.), кафедри клінічної фармації ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 3 від 14. 05.2020 р.), кафедра фармації Буковинського державного медичного університету (протокол № 8 від 08.12.2020 р.),

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Автором особисто здійснено патентно-інформаційний пошук, здійснено аналіз даних літератури за темою дисертації, виконані експериментальні дослідження, проведені статистична обробка й аналіз одержаних результатів, оформлення їх у вигляді таблиць, графіків і діаграм, сформульовані висновки дисертації.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведено результати власних експериментальних досліджень, взято участь в аналізі та узагальненні одержаних даних, у написанні статей та патентів. Співавторами наукових праць є науковий керівник Деримедвідь Л. В., та науковці, спільно з якими проведено деякі дослідження – Гонтова Т. М., Цивунін В. В., Калько К. О., Горбач Т. В., Юдкевич Т. К., Яременко М. О., Вереітинова В. П., Лар'яновська Ю. Б., Бондарєв Є. В., Моєн Дабахнаб. Постановка мети та завдань, обговорення отриманих результатів проведено разом із науковим керівником. Визначення вмісту

8-ізопростану в печінці виконано на базі ХНМУ у співробітництві з к. біол. н., доц. каф. біохімії Т. В. Горбач.

Дослідження базової цитотоксичності екстракту кореневища лепехи звичайної та екстракту листя лепехи звичайної проводили на базі проблемної лабораторії морфофункціональних досліджень НФаУ під керівництвом проф. Л. М. Малоштан. Гістологічні дослідження проведено на базі Національного фармацевтичного університету МОЗ України (м. Харків) за консультативної допомоги к. біол. наук, ст. наукового співробітника ННТЦ МБД Ю. Б. Лар'яновської.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були викладені і обговорені на X науково-практичній конференції «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» (м. Харків, 21 травня 2018 р.); III міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 14–15 березня 2019 р.); V Всеукраїнської науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (м. Тернопіль, 30-31 травня 2019 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (м. Харків, 19–20 вересня 2019 р.); науково-практичній internet-конференції «Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації» (м. Харків, 22–23 жовтня 2019 р.); II науково-практичній конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 21 листопада 2019 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення та перспективи розвитку апітерапії в Україні» (м. Харків, 25 січня 2020 р.); IV міжнародній науково-практичній конференції «Ліки–людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 12–13 березня 2020 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових праць: 9 статей (із них 6 у наукових фахових виданнях, які рекомендовані МОН України; 2 у закордонних фахових виданнях (1 із них цитується наукометричною базою Scopus); 7 тез доповідей; 1 патент України на винахід, 1 патент України на корисну модель; 1 інформаційний лист.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 224 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», висновків, списку використаних джерел та 3 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 165 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 30 таблицями та 46 рисунками. Список використаних джерел містить 290 найменувань, з них 117 кирилицею та 173 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Об'єктами експериментальних досліджень стали 70 % спиртово-водні екстракти кореневища та листя лепехи звичайної, а також деалкоголізовані екстракти листя та кореневища лепехи звичайної, отримані на кафедрі ботаніки НФаУ під керівництвом професора

Гонтової Т. М. Технологія отримання екстрактів та їх склад описані в патентах-партнерах на винахід № 122377 від 26.10.2020 р. та на корисну модель № 133674 від 25.11.2019 р. «Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу на основі рослинної сировини з протизапальною дією» (М.С. Яременко, Т.М. Гонтова, 2019).

У рідкому спиртово-водному екстракті листя лепехи звичайної (РСВЕЛЛ) методом ВЕРХ знайдені гідроксикоричні кислоти: кавова та хлорогенова; флавоноїди: акацетин, апігенін-7-глюкозид, трифолін, рутин, робінін, ізоорієнтин та леткі фенольні сполуки – α- і β-азарони. Домінували: β-азарон (1188,3 мкг/мл), робінін (397,8 мкг/мл) та ізоорієнтин (164,4 мкг/мл). Кількісний вміст усіх ідентифікованих компонентів – 2077,5 мкг/мл. Сумарна антирадикальна активність, визначена ABST-методом та виражена у тролокс-еквіваленті антирадикальної ємності – на рівні 248,1 мкг/мл. Вміст азарону в перерахунку на α-азарон був на рівні 0,16 % (М.С. Яременко, Т.М. Гонтова, 2019).

Деалкоголізований екстракт листя лепехи звичайної (ДЕЛЛ) отримували шляхом упарювання РСВЕЛЛ на роторному упарювачі за наступних умов: температура 50 ˚С, швидкість обертання – 100 обертів/хв, та силі вакууму – 900 мБар. Методом ВЕРХ ідентифіковані фенольні сполуки: гідроксикоричні кислоти – кавова кислота (21,8 мкг/мл), *р*-кумарова кислота (70,4 мкг/мл) та флавоноїди: ізоорієнтин (142,9 мкг/мл), робінін (2677,9 мкг/мл), апігенін-7-глюкозид (65,6 мкг/мл), апігенін (9,98 мкг/мл) та акацетин (12,5 мкг/мл). Кількісний вміст усіх ідентифікованих компонентів – 3001,1 мкг/мл. Сумарна антирадикальна активність –697,72±1,41 мкг/г. Азарон виявлено не було (М.С. Яременко, Т.М. Гонтова, 2019).

На першому етапі наших було проведено порівняльне вивчення профілю безпеки досліджуваних екстрактів лепехи звичайної, а саме, виконано аналіз токсикологічних властивостей екстрактів листя та екстрактів кореневища лепехи звичайної в умовах *in vivo* та in *vitro*. Гостру токсичність екстрактів кореневища та листя лепехи звичайної досліджено за умов в/ш введення мишам і щурам у широкому діапазоні доз (О. В. Стефанов, 2001; Г.В.Пастушенко, 1995). Вивчення базової цитотоксичності екстракту кореневища лепехи звичайної та екстракту листя лепехи звичайної проводили в умовах *in vitro* на клітинах кісткового мозку щурів (N. M. Reddy et al., 1995) та гепатоцеллюлярної карциноми людини HepG2 (L. da S. Meirelles et al., 2003).

На другому етапі досліджено протизапальні та противиразкові ефекти РСВЕЛЛ та ДЕЛЛ.

Протизапальну активність РСВЕЛЛ і ДЕЛЛ вивчено на моделях карагенінового (0,1 мл 1 % р-н карагеніну («Fluka», Швейцарія) та зимозанового (0,1 мл 2 % розчину зимозану («Sigma-Aldrich», США) набряків лапи у щурів (О. В. Стефанов, 2001). Об’єм лап вимірювали в $см^3$ за допомогою цифрового плетизмометра Panlab (Іспанія) моделі LE 7500 версії V29/10/2014. Вплив РСВЕЛЛ та ДЕЛЛ на судинно-тканинну проникність шкіри щурів визначено за часом забарвлення папул, викликаних уведенням флогогенних агентів (П. П. Голіков, 1964) та за швидкістю розсмоктування папул без участі флогогенних агентів (проба Мак-Клюра-Олдрича). Мембраностабілізувальну дію РСВЕЛЛ та ДЕЛЛ досліджено на моделі спонтанного гемолізу (F.C.Jager, 1979). Як препарати порівняння використовували диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг (капс. 25 мг виробництва ТОВ

«Харківське фармацевтичне підприємство «Здоров'я народу» Україна); кверцетин у дозі 11 мг/кг (гран. 2 г виробництва НВЦ «БХФЗ», Україна).

Результати досліджень протизапальних, капілярозміцнювальних і мембраностабілізувальних властивостей РСВЕЛЛ та ДЕЛЛ показали, що доза 1 мл/кг є більш ефективною в порівняні з дозою 0,5 мл/кг для обох екстрактів. Тому в подальших дослідах РСВЕЛЛ та ДЕЛЛ застосовували в умовно-терапевтичній дозі 1 мл/кг.

Противиразкову активність РСВЕЛЛ та ДЕЛЛ вивчали на гострих моделях виразок шлунка у щурів відповідно до методичних рекомендацій (І.А.Зупанець, 1998; Л.В. Яковлева, 2001; Г.В. Оболенцева, 2001; Л.П. Брюзгінова, 2001).

На моделі гострої аспіринової (ацетилсаліцилова кислота 150 мг/кг в/ш двічі на добу через 4 год.) виразки шлунка у мишей (Г. В. Оболонцева и др., 1995; О. В. Стефанов, 2001) досліджувані екстракти та препарат порівняння (кверцетин, 11 мг/кг (гран. 2 г виробництва НВЦ «БХФЗ», Україна) вводили у лікувально-профілактичному режимі 1 раз на добу протягом 5 днів. Противиразкову активність оцінювали за макроскопією СОШ (ступінь ураження СОШ; % тварин з виразками; ВІ, бали; ПВА,%) та показниками ПОЛ (рівень ТБК-АП) та цитолізу (активність АсАТ) в сироватці крові. Враховуючи більш високі показники гастропротекторної, антиокиснювальної та антицитолітичної дії ДЕЛЛ у порівнянні з РСВЕЛЛ, для подальших досліджень був вибраний ДЕЛЛ.

На моделі гострої резерпінової виразки шлунка у мишей (15 мг/кг в 5 % розчині диметилсульфоксиду) противиразковий ефект ДЕЛЛ визначали за макроскопічною оцінкою СОШ. ДЕЛЛ та препарат порівняння кверцетин вводили у лікувально профілактичному режимі 1 раз на добу протягом 5 днів

На моделі спирто-преднізолонового ураження шлунка у щурів (одноразове в/ш введення комбінації 80 % р-ну етанолу в дозі 0,6 мл/100 г та преднізолону в дозі 2,0 мг/100 г) ефективність використання ДЕЛЛ визначали за впливом на загальноклінічні симптоми (здуття шлунка та кишківника; гіперемія; набряк; порушення складчастості СОШ; геморагії), стан системи ПОЛ-АОЗ (вміст ТБК-АП, ВГ та СДГ у гомогенатах шлунку) та даними гістологічних досліджень. ДЕЛЛ застосовували в/ш у профілактичному режимі 1 раз на добу протягом 3 днів. Як препарати порівняння використовували ранітидин (таб. 150 мг виробництва ТОВ «ФК «Здоров'я», Україна) в/ш у дозі 20 мг/кг.

Наступним етапом стало дослідження гепатопротекторних властивостей ДЕЛЛ на моделі парацетамолового гепатиту (в/ш парацетамол 750 мг/кг 1 раз на добу протягом 2 діб) (А. Н. Миронов, 2012) та за умов комплексного ураження печінки етанолом та тетрахлорметаном (40% спирт етиловий в/ш у дозі 1,3 мл/100 г; 50% олійний р-н тетрахлорметану п/ш у дозі 0,4 мл/100 г) (О. В. Стефанов, 2001). ДЕЛЛ вводили у дозі 1 мл/кг за 5 діб до введення парацетамолу та протягом 2 діб моделювання патології (за 1 год. до і через 2 год. після застосування парацетамолу).

За умов етанол-тетрахлорметанового гепатиту ДЕЛЛ та препарати порівняння вводили за 1 год до введення патогенних агентів та 2 год. Після (лікувально-профілактичний режим).

Гепатопротекторну активність ДЕЛЛ оцінювали за показниками системи ПОЛ-АОЗ – вмістом 8-ізопростану, який визначали імуноферментним методом за

допомогою наборів реагентів 8-Isoprostanr ELISA фірми IBC, Humburg. Вміст ВГ та ОГ у печінці визначали спектрофотометрично (В.С. Асатиани, 1969). Вплив на процеси цитолізу та холестазу оцінювали за активністю АлАТ, АсАТ, γ-ГТТП і ЛФ (набори реагентів фірми Філісіт-Діагностика, Дніпро) та вмістом загального та прямого білірубіну (за методом Ендрашика) і рівнем непрямого білірубіну. Стан ліпідного обміну оцінювали за змінами рівнів ХС, ТГ (набори реагентів фірми Філісіт-Діагностика, Дніпро) та загальних фосфоліпідів (набори реагентів фірми DAC-SpectroMED, Молдова).

Як препарати порівняння при вивченні гепатопротекторних властивостей ДЕЛЛ застосовували адеметіонін у дозі 105 мг/кг (Д.С. Суханов., Т.И. Виноградова, 2014) (таб. 500 мг «Гептрал», виробництва Abbott Lab., Швейцарія) та силімарин у дозі 100 мг/кг (А. Н. Миронов, 2012) (таб. 35 мг «Силібор», виробництва ТОВ «ФК «Здоров'я», Україна).

Вплив ДЕЛЛ на стан ЦНС досліджували на інтактних мишах-самцях при введенні в/ш в дозах 1 та 5 мл/кг одноразово за 60 хв. до проведення психофармакологічних тестів. Локомоторну активність, орієнтовно-дослідницьку діяльність та емоційну сферу вивчали за допомогою стандартного тесту «відкритого поля»; м'язовий тонус та координацію рухів досліджували за допомогою тесту «стрижня, що обертається» (А. Н. Миронов, 2012). З метою вивчення впливу ДЕЛЛ на фізичну витривалість тварин застосовували тест «плавання з навантаженням» (А. Н. Миронов, 2012). Іммобілізаційний тест Порсолта застосовували для дослідження антидепресивних властивостей ДЕЛЛ (А. Н. Миронов, 2012).

Вивчення тимолептичної дії ДЕЛЛ проводили на моделі резерпін-індукованої депресії у щурів (А. Н. Миронов, 2012; В. Н. Каркищенко и др., 2018) в дозах 1 та 5 мл/кг. Через 4 год після ін'єкції резерпіну визначали ректальну температуру щурів, ступінь блефароптозу за ранговою шкалою від 1 до 4 та проводили тест примусового плавання за методом Порсолта (R. D. Porsolt et al., 1992). Як препарати порівняння використовували адеметіонін у дозі 300 мг/кг (таб. 500 мг. «Гептрал» виробництва Abbott Lab., Швейцарія) (A.Benelli, M.Filaferro, 1999); сухий екстракт трави звіробою (*Hypericum perforatum* L.) в дозі 50 мг/кг (таб. 300 мг. «Нейроплант» виробництво Др. Вільмар Швабе ГмбХ і Ко. КГ, Німеччина), які вводили 1 раз на добу протягом 2 діб, останній раз – за 60 хв. до введення резерпіну.

Усі дослідження за виключенням цитотоксичності проводили на базі Навчально-наукового тренінгового центру медико-біологічних досліджень Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету (НФаУ). Дослідження базової цитотоксичності проводили у проблемній лабораторії морфофункціональних досліджень НФаУ; (атестат про акредитацію Національним Агенством з акредитації України № 2Н1422 від 07.07.2017 р. чинний до 06.09.2022) згідно SOP / T / 001.5

Під час експерименту тварини знаходилися у віварії тренінгового центру НФаУ при температурі повітря 20-22 °С, природного світлового режиму «день-ніч», в стандартних вентильованих клітках, на стандартному харчовому раціоні. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до вимог GLP, рекомендацій ДЕЦ МОЗ України, Національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Україна, 2001), Закону України №3447-IV від 21.02.2006 р. зі змінами

«Про захист тварин від жорсткого поводження», ухвалою першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2007) (О. В. Стефанова, 2001) та «Директивою Європейського союзу 2010/63/EU про захист тварин, які використовуються для наукових цілей» (Directive 2010/63/EU of the European Parliament). Дотримання біоетичних норм засвідчено висновками комісії з біоетики НФаУ (протокол №2 від 04.11. 2019 р.).

Гістологічні дослідження проведено за стандартними методиками. Перегляд мікропрепаратів проводили під світловим мікроскопом Granum, фотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Toup View.

Статистичну обробку проводили за допомогою програми Statistica 6,0 (StatSoft, Inc., США), визначали нормальність розподілу з використанням критерію W Шапіро-Вілка. При нормальному розподілу застосовували дисперсійний аналіз ANOVA, дані виражали як M±m. За відсутності нормального розподілу використовували непараметричний U-критерій Манна-Вітні, результати наводили як медіана (Me) та інтерквартильний розмах (25-75 процентилі) (В. Я. Гельман, 2001). Прийнятий рівень значущості $p<0,05$ (О. Ю. Реброва, 2006).

Результати та їх обговорення. В дослідах з вивчення гострої токсичності екстрактів на мишах та щурах обох статей було встановлено, що РСВЕЛЛ та ДЕЛЛ за класифікацією К. К. Сидорова можна віднести до IV класу токсичності – малотоксичні речовини.

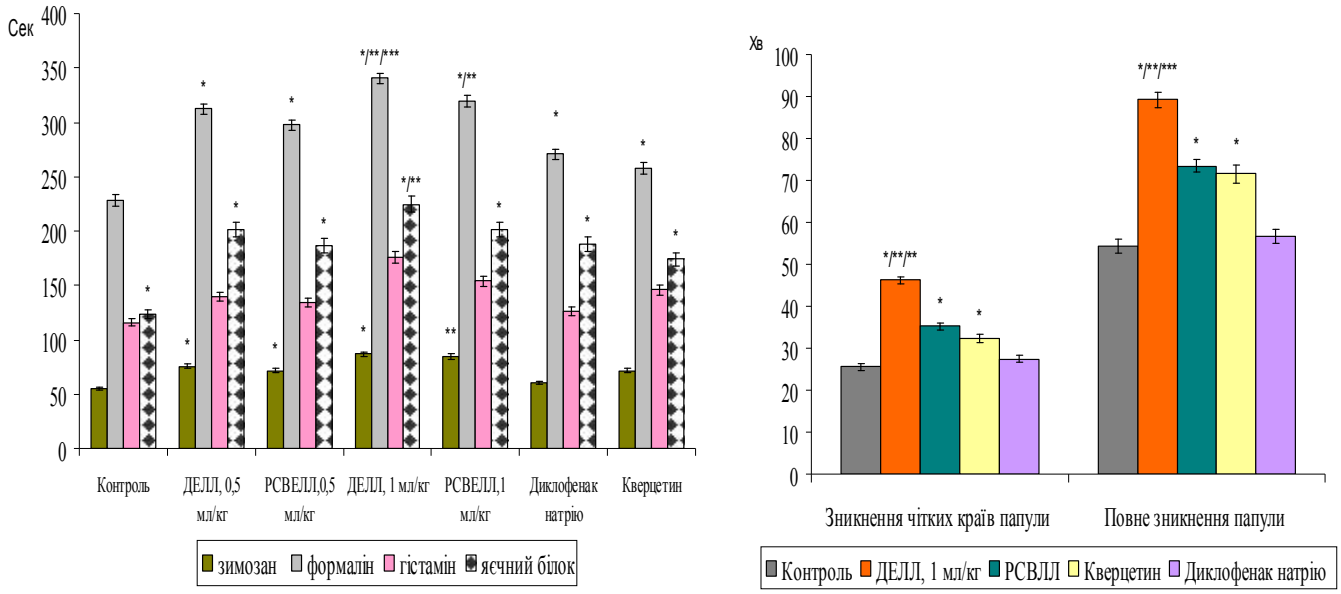
Екстракти кореневища лепехи (спиртово-водний та деалкоголізований) можна віднести до III класу токсичності *(*помірно небезпечні).

В дослідах in vitro за допомогою МТТ-тесту на клітинах кісткового мозку щурів та на культуру клітин HepG2 встановлена відсутність цитотоксичної дії екстрактів листя лепехи звичайної та наявність цитотоксичної дії при використанні екстрактів кореневища лепехи (руйнування клітинних мембран, порушенням функцій мітохондрій тощо). У зв'язку з вищевикладеним, екстракти кореневища лепехи звичайної були виключені із подальших досліджень.

На моделі судинної проникності, спричиненою введенням різних флогогенів (формалін, зимозан, гістамін та нерозведений яєчний білок) та судинно-тканинної проникності шкіри щурів без участі флогогених агентів (проба Мак-Клюра-Олдрича) було досліджено капілярозміцнювальну дію ДЕЛЛ та РСВЕЛЛ (рис. 1 А та рис. 1 Б). Встановлено, що за ступенем зменшення судинно-тканинної проникності ефективність досліджуваних сполук змінювалась таким чином: ДЕЛЛ, 1 мл/кг; > РСВЕЛЛ, 1 мл/кг > ДЕЛЛ, 0,5 мл/кг > РСВЕЛЛ, 0,5 мл/кг > кверцетин, 11 мг/кг > диклофенак натрію, 8 мг/кг. Аналогічна тенденція зберігалась при дії екстрактів і в пробі Мак-Клюра-Олдрича.

Ймовірно, за рахунок високого вмісту в екстрактах листя лепехи звичайної флавоноїдів, гідроксикоричних кислот (насамперед, ферулової, кавової та р-кумаринової кислот) та ін. сполук з доведеної антиокисною активністю, зменшується інтенсивність процесів ВРО та цитолізу, що сприяло нормалізації проникності судин (А.Н. Миронов, 2012).

А Б



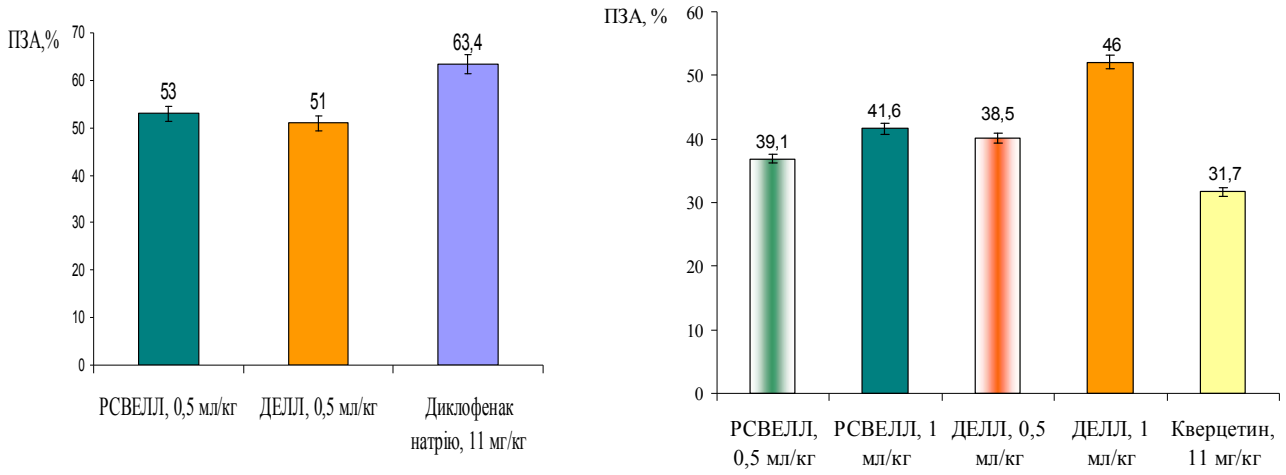
А Б

Рис. 1 Вплив екстрактів лепехи звичайної на судинну (А) та судинно-тканину (Б) проникність у щурів

Примітки: * – достовірно відносно КП, $p<0,05$; ** – достовірно відносно кверцетину, $p<0,05$; *** – достовірно відносно диклофенаку натрію, $p<0,05$.

За мембраностабілізувальним ефектом на моделі спонтанного гемолізу за активність екстрактів листя лепехи на 15% перевищувала ефект кверцетина.

На моделі карагенінового набряку у щурів за ступенем пригнічення ексудативних процесів, РСВЕЛЛ (53%) та ДЕЛЛ (51%) дещо поступалися диклофенаку натрію (63,4%).



А Б

Рис. 2 Антиексудативна активність (%) екстрактів лепехи звичайної при карагеніновому (А) і зимозановому (Б) набряку у щурів

При зимозановому набряку(рис. 2), у патогенезі якого провідна роль належить лейотриєнам, активність ДЕЛЛ в дозі 1 мл/кг була на 9,1% вища ніж РСВЕЛЛ та достовірно вище, ніж у кверцетину (на 19,4%) та диклофенаку натрію (33,6%).

На наш погляд, антиексудативна дія досліджуваних екстрактів обумовлена складом та синергетичним впливом БАР, т.я. більшість ідентифікованих БАР листя лепехи, насамперед – поліфеноли, є сильними антиоксидантами (Д. Ю. Корулькин, 2007; Филиппенко Т. А., 2012; A. Abdelhalim et al., 2015), які можуть перешкоджати ВРО-обумовленій деструкції мембран та змешшувати утворенню прозапальних простагландінів (Д.И. Писарев, 2012; О. Г. Хурцилава, 2012).

Наступним етапом досліджень стало вивчення противиразкової дії екстрактів листя лепехи звичайної на моделях аспірин- і резерпін-індукованої виразки шлунка у мишей та за умов спирто-преднізолонової виразки шлунка у щурів.

На моделі виразки шлунка у щурів, викликаної ацетилсаліциловою кислотою, встановлено, що введення РСВЕЛЛ та ДЕЛЛ у профілактично-лікувальному режимі сприяло статистично достовірному ($p<0,05$) зниженню інтенсивності оксидативного стресу та цитодеструкції порівняно з КП, що підтверджується зниженням вмісту ТБК-АП в СОШ в 1,4 разу та 1,7 разу, відповідно та активності АсАТ в 1,2 разу та 1,5 разу, відповідно. Це сприяло зменшенню ступеню ураження СОШ та ВІ на 29,1% та 38%, відповідно. Противиразкова активність РСВЕЛЛ склала 27,3 %, ДЕЛЛ – 41,4% (рис. 3).

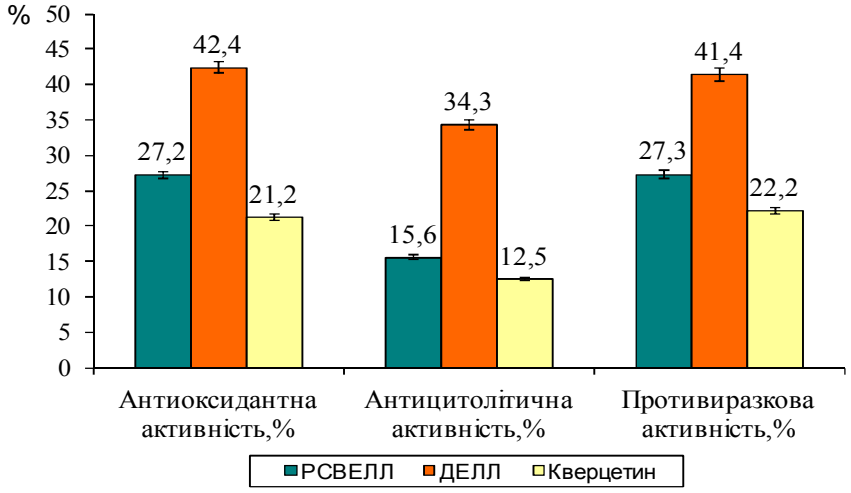


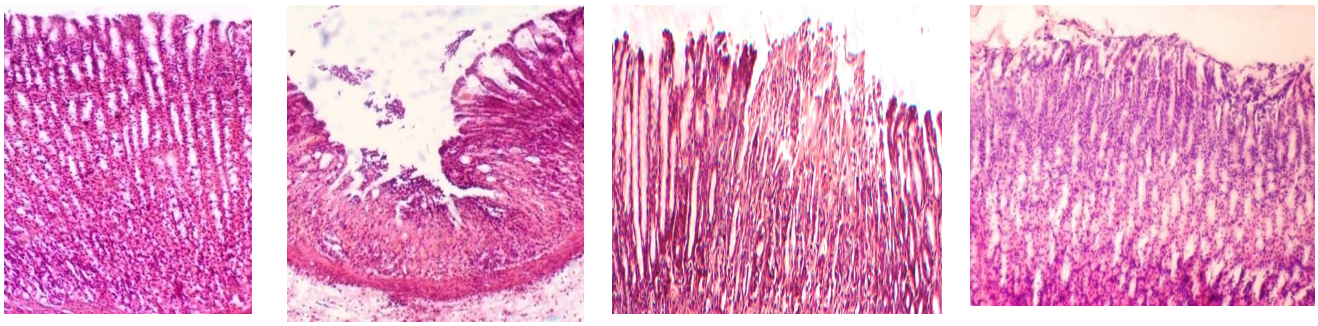
Рис. 3 Противиразкова, антиоксидантна та антицитолітична активність (%) екстрактів листя лепехи звичайної за умов аспірин-індукованої виразки шлунка у мишей

Отримані результати дозволяють припустити, що механізм противиразкової дії екстрактів листя лепехи звичайної обумовлений їх антиоксидантними властивостями. З огляду на більш високі показники гастропротекторної, антиокиснювальної та антицитолітичної дії ДЕЛЛ порівняно з РСВЕЛЛ для подальших досліджень був обраний більш перспективний об’єкт − ДЕЛЛ. Ймовірно, більш низька гастропротекторна та антицитолітична дія РСВЕЛЛ обумовлена відмінностями у складі БАР екстрактів і вмістом етанолу.

Застосування ДЕЛЛ у лікувально-профілактичному режимі за умов резерпінового ураження шлунка в мишей зменшило ступінь ураження СОШ на 52 % ($p<0,05$) у порівнянні з КП. Противиразкова активність ДЕЛЛ на цій моделі склала 58,5 %, активність препарату порівняння кверцетину – 34,2%.

Антиокиснювальна дія ДЕЛЛ встановлена й при спирто-преднізолоноій виразці шлунку у щурів. При використанні ДЕЛЛ спостерігалось вірогідне зменшення рівню ТБК-АП в гомогенаті СОШ в 2,2 разу (майже до рівня інтактних тварин), зростання вмісту ВГ в 1,9 разу, та покращенням енергозабезпечення клітин, про що свідчить збільшення вмісту СДГ в 1,3 разу.

Гістологічні дослідження показали, що застосування ДЕЛЛ сприяло обмеженню глибини уражень залозистих трубок, зменшувало виразність гемокапілярних розладів, ознак набряку строми, стабілізувало процеси мукоїдного синтезу, покращувало функціональний стан парієнтальних і головних клітин (рис. 4).



1 2 3 4

Рис. 4 Дослідження впливу ДЕЛЛ на гістоструктуру шлунка щурів в умовах моделювання спирто-преднізолонової виразки

Примітки: 1 – інтактні тварини; нормальний стан покровно-ямкового епітелію, залозистих клітин залозистих трубок (гематоксилін-еозин, х100); 2 – контрольна патологія, гостра виразка (гематоксилін-еозин, х100); 3 – ДЕЛЛ; повнокровність капілярів, збереженість залозистих трубок під дефектом (гематоксилін-еозин, х200); 4 – ранітидин, поверхнева ерозія (гематоксилін-еозин, х100).

Гастропротекторна активність ДЕЛЛ при даній експериментальній патології, обумовлена наявністю у складі екстракту оксикоричних кислот і флаваноїдів, які стимулюють фактори захисту СОШ, і, насамперед системи антиоксидантного компартменту, а також спроможністю флавоноїдів проникати крізь ліпідний шар біомембран (Д. Ю. Корулькин, 2007; В. Ф. Корсун, 2008; M. Fitzgerald, 2020).

На наступному етапі нами було вивчено гепатопротекторні властивості ДЕЛЛ за умов парацетамолового та етанол-тетрахлорметанового ураження печінки у щурів. Експериментально доведено та підтверджено даними гістологічних досліджень, що використання ДЕЛЛ за умов парацетамол-індукованого гепатиту пригнічувало процеси ПОЛ, спричинених введенням даного ксенобіотику (рис. 5).

Так, під впливом ДЕЛЛ в гомогенаті тканини печінки спостерігалося зменшення вмісту маркеру ВРО 8-ізопростану (в 1,8 разу), ОГ (в 1,3 разу) та підвищення рівня ВГ (в 1,5 разу) відносно тварин КП ($p<0,05$).

Зменшення інтенсивності процесів ВРО сприяло зниженню активності цитолізу – активність трансміназ (АлАТ і АсАТ) та γ-ГТТП була в 1,8 разу, 1,85 разу та 1,25 разу відповідно нижчою ($p<0,05$) за таку у тварин КП (рис. 5).

Використання ДЕЛЛ сприяло зменшенню інтенсивності холестатичних процесів – зниження активності ЛФ в 1,2 разу, вмісту прямого та непрямого білірубіну в 2,8 разу та в 2,1 разу ($p<0,05$), відповідно порівняно з групою КП, що свідчить про наявність у ДЕЛЛ антихолестатичної дії. Також застосування ДЕЛЛ сприяло покращенню ліпідного обміну (рис. 5).

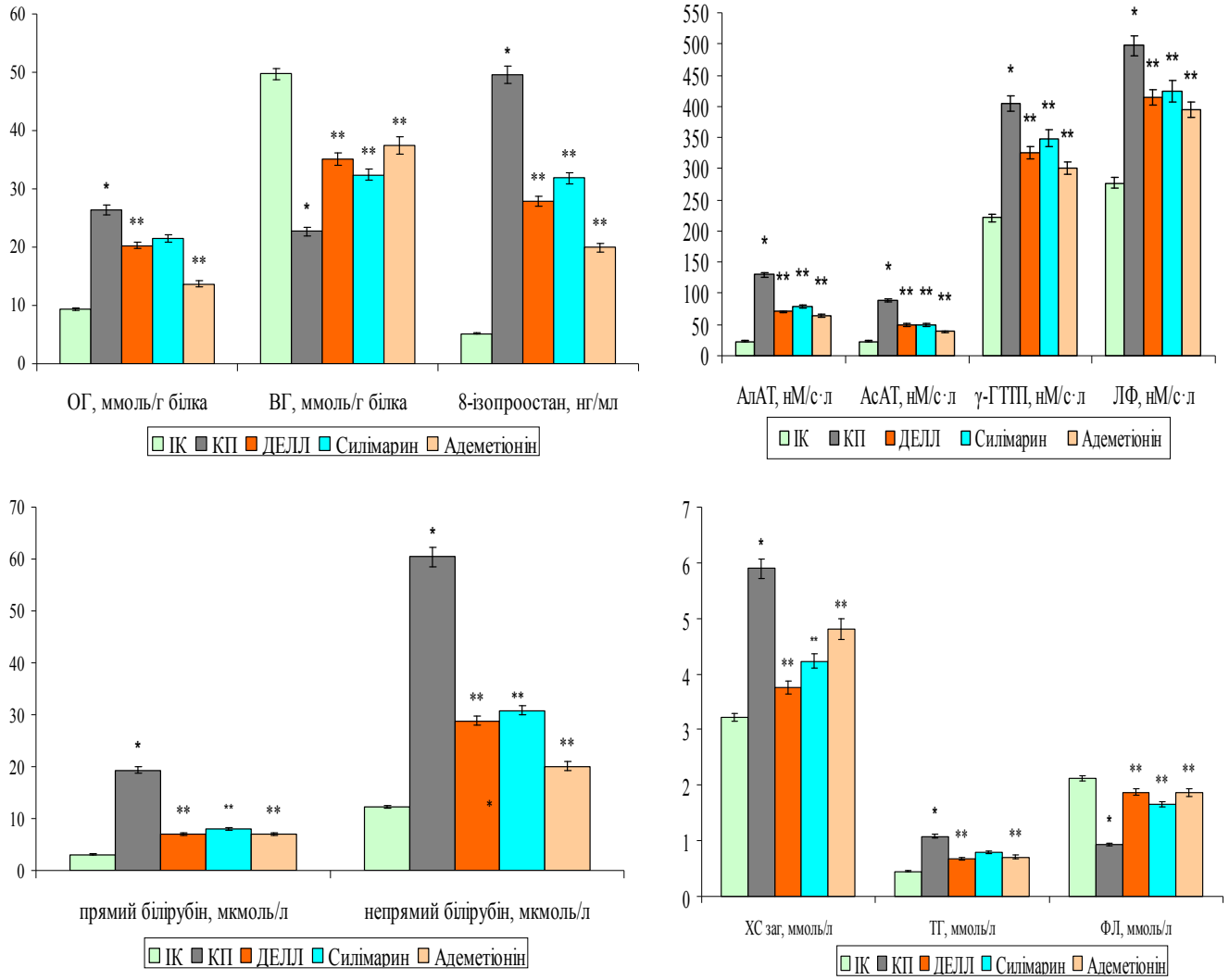


Рис. 5 Показники гепатопротекторної активності ДЕЛЛ за умов парацетамол-індукованого гепатиту

Примітки: * – достовірно відносно ІК, $p<0,05$; ** – достовірно КП, $p<0,05$.

За даними гістологічних досліджень, при парацетамоловому гепатиті у щурі застосування ДЕЛЛ знижувало виразність запальної реакції у гепатоцитах та альтерації клітин, зменшувало ступінь гідропічної, вуглеводної, жирової дистрофії гепатоцитів, сприяло нормалізації структури органу (рис. 6).

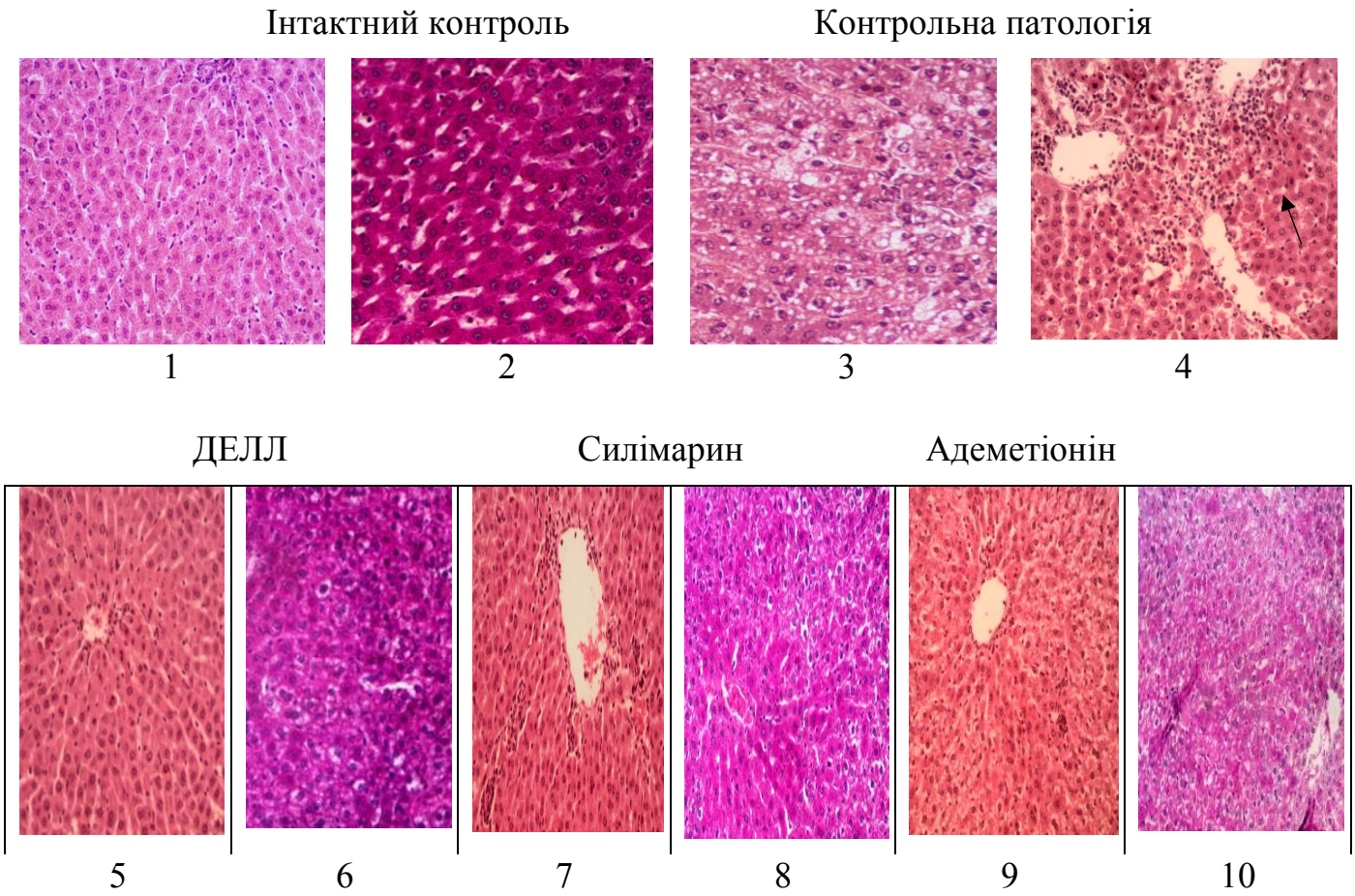


Рис. 6 Гістологічні зміни печінки тварин з парацетамоловим гепатитом: 1, 2 – інтактні тварини: 1 – нормальний стан печінкових балок і гепатоцитів, синусоїдальних гемокапілярів (гематоксилін-еозин, х250); 2 – рівномірний розподіл гранул глікогену у цитоплазмі гепатоцитів (ШІК-реакція-гематоксилін, х250); 2, 3 – контрольна патологія: 2 – вакуольна дистрофія гепатоцитів, порушення балкового рисунку, гіпертрофія клітин, альтерація деяких гепатоцитів (гематоксилін-еозин, х400); 3 – запальна мезенхіально-клітинна реакція (гематоксилін, х200 стрілка;); 4, 5 – ДЕЛЛ: 5 – нормалізація балкового рисунку, стану гепатоцитів, синусоїдальних капілярів (гематоксилін-еозин, х200), 6 – зональне відновлення вмісту глікогену (б – ШІК-реакція-гематоксилін, х200); 7, 8 – силімарин: 7 – запальна мезенхіально-клітинна реакція (гематоксилін-еозин, х200), 8 – відсутність глікогену (ШІК-реакція-гематоксилін, х250); 9, 10 – адеметіонін: 9 – великогніздова вакуольна дистрофія гепатоцитів (гематоксилін-еозин, х 250), 10 – зниження виразності ШІК-реакції вогнищево (ШІК-реакція, х200).

За умов етанол-тетрахлорметанового гепатиту ДЕЛЛ також проявляв гепатопротекторну активність. При використанні ДЕЛЛ порівняно з КП зменшились проявів холестазу (зниження активності ЛФ та γ-ГТТП в 1,5 та 1,35 разу ($p<0,05$) покращилась жовчоутворювальна (зростання вмісту ЖК та холестеролу жовчі в 1,86 та 1,6 разу відповідно ($p<0,05$), жовчовидільна (зростання ШСЖ в 1,9 разу ($p<0,05$) та детоксикаційна функції печінки – зменшення рівня прямого та непрямого білірубіну 2,1 разу та 1,83 разу ($p<0,05$). На нашу думку, дана дія зумовлена

наявністю в складі екстракту оксикоричних кислот та інших БАР, що мають дану активність. За антихолестатитічною дією ДЕЛЛ не поступався препаратам порівняння.

Вочевидь вищевказаний ефект обумовлений антиоксидантними та антицитолітичними властивостями ДЕЛЛ. Так, рівень 8-ізопростану порівняно з КП зменшився в 1,5 разу, активність АлАЛ зменшилася в 1,4 разу (рис. 7). Слід зазначити, що за зменшенням активності АлАТ, ДЕЛЛ та адеметионін достовірно перевищували ефект силімарину.

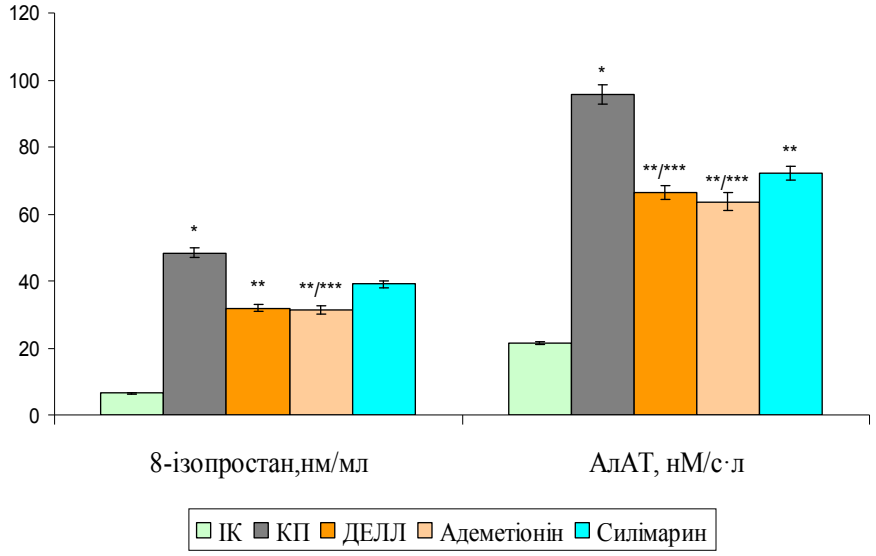


Рис. 7 Вплив екстракту ДЕЛЛ на вміст 8-ізопростану в печінці та активність АлАТ в сироватці при етанол-тетрахлорметановому гепатиті у щурів

Примітки: * – достовірно відносно КП, $p<0,05$; ** – достовірно відносно кверцетину, $p<0,05$; *** – достовірно відносно силімарину, $p<0,05$.

Таким чином результати дослідження свідчать про наявність у ДЕЛЛ антиоксидантної, антицитолітичної та антихолестатитічної дії при етанол-тетрахлорметановому та парацетамоловому ураженні печінки.

У багатьох пацієнтів з захворюваннями органів ШКТ зазвичай зустрічаються астено-невротичні та астено-депресивні розлади (C. Coupland et al., 2018; H. Allabadi et al., 2019; V. Oveissi et al., 2019; Л. А. Степанищева, 2014). Саме тому одним з етапів нашого дослідження стало вивчення впливу ДЕЛЛ на функціональний стан ЦНС.

Встановлено достовірний стимулювальний дозозалежний вплив ДЕЛЛ на локомоторну активність та орієнтовно-дослідницьку діяльність піддослідних тварин, зростання фізичної витривалості мишей у тесті «плавання з навантаженням» в 1,2 разу та зменшення тривалості тіопенталового наркозу в 3,6 разу ($p<0,05$) порівняно з ІК. Загальний час іммобільності у порівнянні з ІК зменшився в 1,4 разу, тривалість одного зависання зменшилась в 1,5 разу, латентний період першого зависання збільшився в 1,6 разу ($p<0,05$), що свідчить про наявність у ДЕЛЛ антидепресивної дії.

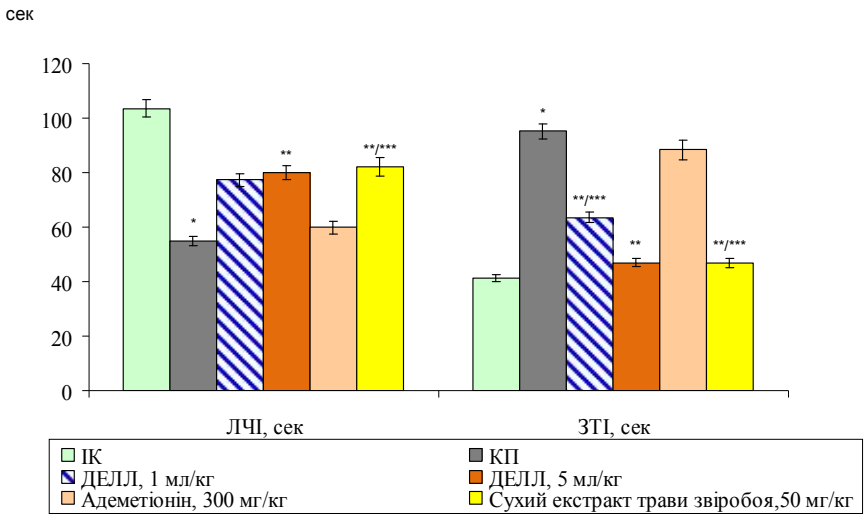


Рис. 8 Вплив ДЕЛЛ на показники іммобільності в тесті «примусового плавання» за методом Порсолта за умов резерпін-індукованої депресії у щурів

Примітки: * – достовірно відносно КП, $p<0,05$; ** – достовірно відносно КП, $p<0,05$; *** – достовірно відносно адеметіоніну, $p<0,05$.

За зменшення тривалості тіопенталового наркозу та показники м'язового тонусу та координації рухів у тесті «стрижня, що обертається» ДЕЛЛ вірогідно перевищував ефект препарату Гінкого білоба.

На моделі резерпін-індукованої депресії у щурів показано, що ДЕЛЛ чинить дозозалежну тимолептичну дію, яка проявляється (рис. 8) збільшенням латентного часу іммобільності (на 46%), зменшенням тривалості іммобільності (на 50,5%), блефароптозу (на 30%) та гіпотермії (з 33,9±0,18°С в групі КП до 35,92±0,1°С). За даним видом активності ДЕЛЛ не поступається препарату порівняння – сухому екстракту звіробою і на 20% перевершує дію адеметіоніну.

За низкою показників нейротропна дія ДЕЛЛ у дозі 5 мл/кг була на 15%-25% більш виразна, ніж ДЕЛЛ у дозі 1 мл/кг.

Узагальнюючи результати проведених фармакологічних, токсикологічних та фізіологічних досліджень щодо ефективності застосування екстрактів листя лепехи звичайної, можна зробити висновок щодо перспектив їх подальшого поглибленого вивчення для створення нового вітчизняного протизапального, противиразкового, гепатопротекторного засобу для профілактики та комплексної терапії запальних захворювань шлунку та гепатобіліарної системи.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено вирішення актуальної наукової задачі, що визначається експериментально-теоретичним обґрунтуванням доцільності та ефективності застосування екстрактів листя лепехи звичайної (РСВЕЛЛ та ДЕЛЛ) для фармакокорекції запальних захворювань ШКТ, а саме, гепатитів і виразки шлунка, як протизапального, противиразкового, гепатопротекторного засобу. Розширено уявлення про фармакологічні та токсикологічні властивості екстрактів листя лепехи звичайної.

1. Встановлено, що РСВЕЛЛ та ДЕЛЛ за класифікацією К. К. Сидорова належить до IV класу токсичності – малотоксичні речовини, $ЛД_{50}$≥5000 мг/кг. При визначенні базової цитотоксичності екстракту листя лепехи звичайної *in vitro* на культурі клітин HepG2 та за допомогою ММТ-тесту на культурі клітин кісткового мозку доведено відсутність цитотоксичного ефекту при використанні ДЕЛЛ.
2. Екстракти листя лепехи чинять капілярозміцнювальну та мембраностабілізувальну дію, що підтверджено достовірним зменшенням судинної проникності в 1,2-1,4 разу. Мембраностабілізувальна активність екстрактів листя лепехи на моделі спонтанного гемолізу дорівнювала 31,3%–40,7%. За даним видом активності вони вірогідно перевищували препарати порівняння кверцетин та диклофенак натрію. Максимальна активність спостерігалась при використанні ДЕЛЛ у дозі 1 мл/кг, яку було обрано для подальших досліджень як умовно-терапевтичну.
3. На моделях карагенінового та зимозанового набряку лапи в щурів встановлена наявність дозозалежної антиексудативної дії екстрактів листя лепехи звичайної. За ступенем пригнічення ексудативних процесів при карагеніновому набряку у щурів РСВЕЛЛ (53%) та ДЕЛЛ (51%) дещо поступалися диклофенаку натрію (63,4%). При зимозановому набряку активність ДЕЛЛ в дозі 1 мл/кг була на 9,1% вища ніж РСВЕЛЛ та достовірно вище, ніж кверцетину та диклофенаку натрію.
4. На моделях виразки шлунка у мишей, спричиненої ацетилсаліциловою кислотою, резерпіном та моделі спирто-преднізолонової виразки шлунка в щурів доведено антиульцерогенну дію екстрактів листя лепехи. На моделі виразки шлунка в мишей, спричиненої ацетилсаліциловою кислотою, встановлено, що ДЕЛЛ за показниками антиокисної, антицитолітичної та противиразкової дії на 14,1%. перевищувала ефективність РСВЕЛЛ. Тому для подальших досліджень використовували ДЕЛЛ як сполуку - лідер за противиразковою дією. За умов резерпінової виразки у мишей активність ДЕЛЛ була на 24% більше ефекту кверцетину. На моделі спирто-преднізолонової виразки шлунка у щурів за показниками: набряк, гіперемія СОШ, зниження інтенсивності ліпопероксидації в СОШ (вміст ТБК-АП зменшився в 2,2 разу, збільшення рівня ВГ в 1,9 разу) ДЕЛЛ статистично значущо перевищував ефективність ранітидину. Нормалізація вмісту СДГ під впливом ДЕЛЛ свідчить про оптимізацію процесів енергозабезпечення. Механізм противиразкової активності ДЕЛЛ обумовлений впливом БАР, що входять до складу екстракту, на процеси ВРО, цитолізу, мітохондріального дихання. За здатністю відновлювати баланс прооксидантних/антиоксидантних процесів ДЕЛЛ вірогідно переважав препарати порівняння кверцетин та ранітидин.
6. Встановлено, шо ДЕЛЛ на моделі парацетамолового гепатиту у щурів за лікувально-профілактичного введення вірогідно зменшує інтенсивність окисного стресу (знижує рівень 8-ізопростану в печінці в 1,8 разу), поліпшує функціонування ендогенних антиоксидантів – у печінці вміст ВГ збільшився в 1,5 разу, а рівень ОГ зменшився в 1,3 разу в порівнянні з КП. Антицитолітичні властивості ДЕЛЛ підтверджено вірогідним зменшенням активності АсАТ, АлАТ та γ-ГТТП ($p<0,05$). За даними гістологічних досліджень ДЕЛЛ зменшує ступень гідропічної, вуглеводної та жирової дистрофії гепатоцитів, альтерації клітин,

сприяє нормалізації структури гепатоциті та знижує виразність запальної реакції. ДЕЛЛ за антиоксидантною, антицитолітичною та антихолестатичною дією не поступається препаратам порівняння. На тлі етанол-тетрахлорметанового гепатиту в щурів ДЕЛЛ за лікувально-профілактичного введення вірогідно зменшує інтенсивність ВРО, цитолізу, холестазу, покращує жовчосекреторну та жовчоутворювальну функцію печінки. За показниками нормалізації швидкості секреції жовчі, вмісту в жовчі жовчних кислот та холестерину, зменшенням процесів холестазу, антиокиснювальною активністю ДЕЛЛ не поступався силімарину та адеметіоніну.

6. ДЕЛЛ чинить дозозалежний стимулювальний вплив на локомоторну, орієнтовно-дослідницьку активність, а також емоціональний стан інтактних тварин; виявляє помірну актопротекторну дію. На моделі резерпін-індукованої депресії ДЕЛЛ збільшує латентний час іммобільності (на 46%), зменшує тривалість іммобільності (на 50,5 %), блефароптоз (на 30%) і достовірно зменшував ступінь гіпотермії з 33,9±0,18°С в групі КП до 35,92±0,1°С. За антидепресивною дією ДЕЛЛ не поступається препарату порівняння – сухому екстракту звіробою та вірогідно перевершує адеметіонін.
7. Доведений спектр фармакологічних властивостей екстрактів листя лепехи звичайної обґрунтовує доцільність проведення подальших доклінічних та клінічних досліджень з метою створення на їхній основі нових препаратів для лікування запальних захворювань ШКТ, неврологічних розладів та інших патологічних станів, спричинених оксидативним стресом.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІ

1. Коранг Л. А., Деримедвідь Л. В. Антиексудативні властивості рідкого спиртововодного екстракту листя аїру звичайного (*Acorus calamus* L.). *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. Т. 13, № 4. С. 263–269. (*Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статі до друку*).
2. Деримедвідь Л. В., Коранг Л. А. Антиокиснювальні й антицитолітичні властивості екстракту листя лепехи звичайної. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. Т. 13, № 6. С. 393–398. (*Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статі до друку*).
3. Derymedvid L. V., Korang L. A., Tsyvunin V. V. The experimental study of psychotropic and neurotropic properties of Acorus calamus leaves. *Клінічна фармація*. 2019. Т. 23, № 4. С. 10–16. (*Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статі до друку*).
4. Деримедвідь Л. В., Коранг Л. А., Калько К. О., Вереітинова В. П. Вплив екстракту листя лепехи звичайної (*Acorus calamus* L.) на показники холестазу та жовчовидільну функцію печінки за експериментального гепатиту. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14, № 2. С. 114–121. (*Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статі*).

5. Деримедвідь Л. В., Коранг Л. А., Лар'яновська Ю. Б., Горбач Т. В., Яременко М. С. Вплив екстракту листя лепехи звичайної на стан ліпідного обміну щурів з парацетамоловим гепатитом. *Фітотерапія. Часопис*. 2020. № 1. С. 62–65. (*Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статі*).
6. Derymedvid L., Korang L., Shakina L. Comparative cytotoxic analysis of extracts obtained from leaves and roots of sweet flag (*Acorus Calamus* L.) on rat bone marrowcells in vitro. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2020. № 1 (23). P.17–22. (*Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статі*).
7. Деримедведь Л. В., Коранг Л. А., Юдкевич Т. К. Тимолептические свойства деалкоголизированного экстракта листьев аира обыкновенного (*Acorus calamus* L.). *Norwegian Journal of Development of the International Science*. 2020. № 40. P. 44–49. (*Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статі до друку*).
8. Studies of cytotoxic activity of substances obtained from leaves and roots of Sweet Flag (*Acorus calamus* L.) on human hepatocellular carcinoma (HepG2) *in vitro* / L. V. Derymedvid, L. A. Korang, L. O. Shakina, K. O. Kalko, M. Yaremenko, Moeen F. Dabahned, Ol. Gerush, N. Bogdan, Y. V. Bondariev. *Pharmacologyonline*. 2020. Vol.3. P. 240–246. (*Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів, участь у написанні статі*).
9. Яременко М. С., Гонтова Т. М., Коранг Л. А., Деримедвідь Л. В. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу на основі рослинної сировини з протизапальною дією. Пат. На корисну модель № 118526 Україна. МПК (2006.01) А61К 36/882; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет № u 2019 01255; заявл. 07.02.2019; опубл. 10.07.2019, Бюл. № 13. 25 с. (*Особистий внесок – участь у проведені експериментальних фармакологічних досліджень, аналізі результатів, оформлення заявки).*
10. Яременко М. С., Гонтова Т. М., Коранг Л. А., Деримедвідь Л. В. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу на основі рослинної сировини з протизапальною дією. Пат. На винахід № 122377 Україна. МПК (2006.01) А61К 36/882; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет № u 2019 06407; заявл. 10.06.2019; опубл. 26.10.2020, Бюл. № 20. 5 с. (*Особистий внесок – участь у проведені експериментальних фармакологічних досліджень, аналізі результатів, оформлення заявки*).
11. Деримедвідь Л. В., Коранг Л. А. Дослідження противиразкової активності деалкоголізованого спиртово-водного екстракту лепехи звичайної (*Acorus calamus* L.). *Ліки–людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали IV міжнар. Наук.-практ. Конф., м. Харків, 12–13 берез. 2020 р.: у 2-х томах. Харків: НФаУ, 2020. Т. 1. С. 169–172. (*Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статі до друку*).

12. Корган Л. А., Яременко М. С. Питання безпеки спиртового екстракту листя лепехи звичайної. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку:* матеріали X наук.-практ. Конф., м. Харків, 21 трав. 2018 р. Харків: Вид-во НФаУ, 2018. С. 44.
13. Коранг Л. М. Дослідження впливу спирто-водної настоянки листя лепехи звичайної на перебіг гістамінового набряку стопи у щурів. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали III міжнар. Наук.-практ. Конф., м. Харків, 14–15 берез. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 2. С. 152.
14. Коранг Л. А., Шакіна Л. О., Деримедвідь Л. В. Вивчення впливу екстракту листя лепехи звичайної на показники базової цитотоксичної активності. *Хімія природних сполук*: матеріали V всеукраїнської наук.-практ. Конф. З міжнародною участю, м. Тернопіль, 30–31 травня 2019 р. Тернопіль: ТДМУ, 2019. С. 87–88.
15. Коранг Л. А., Деримедвідь Л. В. Вплив водно-спиртового екстракту листя аїру звичайного на показники крові за умов карагенінового та гістамінового набряку у щурів. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: матеріали наук.-практ. Конф. З міжнар. Участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19–20 верес. 2019 р.: у 2 т. Харків : НФаУ, 2019. Т. 2. С. 255–256.
16. Коранг Л. А., Деримедвідь Л. В. Вплив спирто-водних екстрактів з листя лепехи звичайної (*Acorus calamus* L.) на показники окисного стресу за умов парацетамового гепатиту в щурів. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації* : матеріали наук.-практ. Internet-конф., м. Харків, 22–23 жовт. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 272.
17. Деримедвідь Л. В., Коранг Л. А., Цивунін В. В. Актопротекторні властивості деалкоголізованого спиртово-водного звичайної (*Acorus calamus*). *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : матеріали II наук.-практ. Конф. З міжнар. Участю, м. Харків, 21 листоп. 2019 р. Харків, 2019. С. 134.
18. Деримедвідь Л. В., Коранг Л. А. Дослідження жовчогінної активності екстракту листя лепехи звичайної за умов субхронічного гепатиту у щурів. *Сучасні досягнення та перспективи розвитку апітерапії в Україні*: матеріали Всеукр. Наук.-практ. Конф. З міжнар. Участю, м. Харків, 25 січ. 2020 р., Харків : Вид-во «Оригінал», 2020. С. 70.
19. Деримедвідь Л. В., Коранг Л. А. Удосконалення терапії захворювань гепатобіліарної системи шляхом застосування деалкоголізованого спиртово-водного екстракту листя лепехи звичайної (*Acorus calamus* L.): інформ. Лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 26–2020 Київ : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2020, 4 с. (*Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі даних, оформленні інформаційного листа*).

АНОТАЦІЯ

Коранг Л. А. Експериментальне дослідження протизапальних, гепатопротекторних та противиразкових властивостей екстракту листя лепехи звичайної (Acorus calamus L.) – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2021.

Дисертація присвячена експериментальному вивченню безпеки та встановленні фармакологічних властивостей екстрактів листя лепехи звичайної та обґрунтуванні доцільності їхнього використання при лікуванні запальних захворювань ШКТ.

Результати вивчення гострої токсичності досліджуваних екстрактів листя лепехи звичайної показали, що дані екстракти відносяться до IV класу токсичності: «відносно нетоксичної речовини» за класифікацією К.К. Сидорова. Встановлено, що екстракти листя лепехи звичайної виявляють протизапальну, капілярозміцнювальну, гастропротекторну, гепатопротекторну властивості та чинять помірну антидепресивну дію.

Серед досліджуваних екстрактів відібраний деалкоголізований екстракт листя лепехи звичайної як найактивніший за гастропротекторної та гепатопротекторною активністю – екстракт умовно названий «ДЕЛЛ».

Основним механізмом протективної дії ДЕЛЛ є антиоксидантний та мембраностабілізувальний

Комплекс отриманих результатів доклінічного дослідження обґрунтовує доцільність створення на основі екстрактів листя лепехи звичайної препаратів для лікування запальних захворювань ШКТ насамперед, гастритів, гепатитів, неврологічних розладів.

Ключові слова: екстракти листя лепехи звичайної, антиоксидантна, гепатопротекторна, гастропротекторна, протизапальна, капілярозміцнювальна, мембраностабілізувальна дія.

АННОТАЦИЯ

Коранг Л. А. Экспериментальное исследование противовоспалительных, гепатопротекторных и противоязвенных свойств экстракта листьев аира обыкновенного (Acorus calamus L.) – на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 «Фармакология». – Национальный фармацевтический университет, МЗ Украины, Харьков, 2021.

Диссертация посвящена экспериментальному изучению безопасности и установлении фармакологических свойств экстрактов листьев аира обыкновенного и обосновании целесообразности их использования при лечении воспалительных заболеваний ЖКТ.

Результаты изучения острой токсичности исследуемых экстрактов листьев аира обыкновенного показали, что данные экстракты относятся к IV классу токсичности «относительно нетоксичные вещества» по классификации К.К. Сидорова. Установлено, что экстракты листьев аира обыкновенного оказывают

противовоспалительное, капиляроукрепляющее, гастропротекторное, гепатопротекторное действие и показывают умеренный антидепрессивный эффект. Среди исследуемых экстрактов отобранно деалкоголизований экстракт листьев аира обыкновенного как наиболее активный по гастропротекторной и гепатопротекторной активности – экстракт условно названный «ДЕЛЛ». Основным механизмом протективного действия ДЕЛЛ является антиоксидантный и мембраностабилизирующий.

Комплекс полученных результатов доклинического исследования обосновывает целесообразность создания на основе экстрактов листьев аира обыкновенного препаратов для лечения воспалительных заболеваний гастритов, гепатитов, неврологических расстройств, в патогенезе которых важную роль играет оксидативный стресс.

Ключевые слова: экстракты листьев аира обыкновенного, антиоксидантное, гепатопротекторное, гастропротекторное, противовоспалительное, капилляроукрепляюшее, мембраностабилизирующее действие.

SUMMARY

Korang L. A. Experimental study of anti-inflammatory, hepatoprotective and antiulcer properties of the extracts of leaves of sweet flag (Acorus calamus l.). –The manuscript.

The thesis for a Candidate of Pharmaceutical Sciences Degree (PhD) in a specialty 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy, Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The objective of this dissertation is to study the safety of extracts of Sweet flag (Acorus calamus l.) leaves, to identify their pharmacological properties and to establish potential in the treatment of inflammatory diseases of gastrointestinal tract.

By studying the acute toxicity of the extracts Sweet Flag leaves, they are classified as class IV – Relatively non-toxic substances (according to the classification of K.K. Sidorov). During the study it was found that extracts of Sweet Flag leaves have anti-inflammatory, capillary strengthening, gastro-protective, hepatoprotective properties and a moderate antidepressant effect. Among all studied extracts dealcoholized extract of Sweet Flag leaves is selected as the most potent extract with gastro-protective and hepatoprotective properties – the extract is provisionally named «DELL».

In the model of carrageenan and histamine edema extracts of Sweet Flag leaves revealed anti-exudative properties. Alcohol-water extract of Sweet Flag leaves has the greatest anti-exudative activity (further referred as RSVELA). The capillary-strengthening activities of Sweet Flag leaves extracts on the models of vascular and tissue permeability are established as well. According to the degree of capillary-strengthening effect, DELL is the most effective ($p \leq 0.05$) comparing to the control group and groups treated with quercetin and sodium diclofenac. A conditionally therapeutic dose of DELL, equal to 1 ml/kg, is established.

In the models of aspirin, reserpine and ethanol-prednisolone induced gastric ulcers extracts of Sweet Flag leaves shows antiulcer activities. The antiulcer activity of DELL in the aspirin model (69.4%) is superior to RSVELA, and the activities of RSVELA correspond to the action of the comparison drug – quercetin (22.2%). In the reserpine

model of gastric ulcers in mice, the efficiency of DELL (68.5%) exceeds the activity of the comparison drug quercetin (34.2%). In the model of ethanol-prednisolone gastric ulcer DELL exceeds the comparison drug – ranitidine on a number of indicators, such as: reduction of the intensity of lipoperoxidation processes; improvement of the functioning of the antioxidant system; reduction of bloating, reduction of intestinal edema and reduction of hyperemia of the gastric mucosa. The gastroprotective effect of DELL is confirmed by histological studies.

In the models of paracetamol and carbon tetrachloride-ethanol hepatitis DELL shows hepatoprotective activities according to the criteria of normalization of prooxidant-antioxidant balance in the liver (decreasing the levels of 8-isoprostane by 1.8 times, increasing the levels of reduced glutathione by 1.5%, decreasing the levels of AST, ALT and γ-GTTP, decreasing manifestations of cholestasis (decreasing the level of alkaline phosphatase, ($p \leq 0.05$). Hepatoprotective effect of DELL is confirmed by histological studies.

DELL has a stimulating effect on locomotor, orientation and explorative activities. It improves physical activities and endurance as well. Also, DELL has a moderate analeptic effect on the emotional state of the animals, which may be due to barbiturates antagonism. In the model of reserpine-induced depression, DELL shows a thymoleptic effect, which is manifested by an increase in the latent time of immobility and a decrease in the duration of immobility, a decrease of hypothermia and blepharoptosis.

The main pharmacological properties of DELL are identified as antioxidant and membrane stabilizing activities.

The results of this preclinical research may contribute to the development of drugs on the basis of Sweet Flag leaves extracts for the treatment of inflammatory diseases of gastric and intestinal tract (gastritis, hepatitis, etc.) and for the treatment of neurological disorders induced by oxidative stress.

Key words: sweet flag leaf extracts, antioxidant, hepatoprotective, gastroprotective, anti-inflammatory, capillary strengthening action.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза;
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;
АОЗ – антиоксидантний захист;
БАР – біологічно активні речовини;
ВГ – відновний глутатіон;
ВІ – виразковий індекс;
ВРО – вільнорадикальне окиснення;
В/ш – внутрішньошлунково;
γ-ГТТП – γ-глутамілтрансфераза;
ДЕЛЛ – деалкоголізований екстракт листя лепехи звичайної;
ІК – інтактний контроль;
ОГ – окислений глутатіон;
ПВА – противиразкова активність;
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів;
ПГ – простаглагдини;
ПВШ – пептична виразка шлунка;
П/ш – підшкірно;
РСВЕЛЛ – рідкий спиртово – водний екстракт листя лепехи звичайної;
СДГ – сукцинатдегідрогеназа;
СОШ – слизова оболонка шлунка;

ЖК – жовчні кислоти;

КП – контрольна патологія;

ЛОГ– ліпооксигеназа;

ЛФ – лужна фосфатаза;

ЦНС – центральна нервова система;

ЦОГ – циклооксигеназа;

ШКТ – шлунково-кишкововий тракт.

ШСЖ – швидкість секреції жовчі.