Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

ДОЛЖИКОВА ОЛЕНА ВІКТОРІВНА

УДК 615.256:615.322:615.454.2:616-002:618.15-002

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ОПТИМІЗАЦІЇ ЛІКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНИХ ВАГІНІТІВ КОМБІНОВАНИМИ ВАГІНАЛЬНИМИ СУПОЗИТОРІЯМИ З РОСЛИННИМИ ОЛІЯМИ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора фармацевтичних наук

Харків – 2021

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

Науковий консультант: доктор біологічних наук, професор
МАЛОШТАН Людмила Миколаївна,
Національний фармацевтичний університет МОЗ України (м. Харків), професор кафедри біологічної хімії

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
МАРЧИШИН Світлана Михайлівна
Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,
завідувач кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою

доктор фармацевтичних наук, професор
СИРОВА Ганна Олегівна
Харківський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри медичної та біоорганічної хімії

доктор медичних наук, професор
заслужений діяч науки і техніки України
НІЖЕНКОВСЬКА Ірина Володимирівна
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України (м. Київ),
завідувач кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії

Захист відбудеться «02» квітня 2021 р. о 10^{00} 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 «25» лютого 2021 р.

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

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. На сьогодні приріст населення України за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я та Державної служби статистики посідає одне з останніх місць серед країн Європи та світу (S. Gerard et al., 2016; В.А. Маляр та співавт., 2016; Вл.В. Подольський, В.В. Подольський, 2017; Проект розпорядження Кабінету Міністрів України, 2017; B. Ahmadi, S. Salavati, 2019; Державна служба статистики України, 2020; В. Ланда, 2020). Негативний приріст населення в Україні зумовлений низькою народжуваністю, однією з причин якої є, насамперед, погіршення стану здоров'я населення, в тому числі репродуктивного здоров'я жінок фертильного віку (В.А. Маляр та співавт., 2016; Вл.В. Подольський, В.В. Подольський, 2017; О.М. Юзько, 2016; Cha Han et al., 2019). Перше місце у переліку причин погіршення репродуктивного здоров'я займають запальні захворювання жіночих статевих органів (ЗЗЖСО), з якими принаймні раз у житті стикається кожна жінка (О.В. Ромащенко та співавт., 2016). За даними джерел літератури загальне число пацієнток з ЗЗЖСО сягає 60,0 до 92,7 % усіх гінекологічних хворих, третина з яких потребує стаціонарного лікування (О.М. Юзько, 2016). Серйозною проблемою є і те, що ЗЗЖСО часто характеризуються латентним перебігом, який зумовлює труднощі своєчасної діагностики, призводить до хронізації процесу та формування анатомо-функціональних змін з боку органів малого таза (О.В. Ромащенко та співавт., 2016; E. Kaambo, C.W.J. Africa, 2017). Такі зміни спричиняють невиношування вагітності, безпліддя, синдром хронічного тазового болю тощо (А.А. Олина, Т.А. Метелева, 2016; E. Kaambo, C.W.J. Africa, 2017).

Етіологічними чинниками ЗЗЖСО є дисбаланс гормонів, порушення менструального циклу, вплив гормональної та бар'єрної контрацепції, хірургічні втручання, раннє статеве життя, спосіб життя, стреси і т. ін. (І.Б. Вовк, А.О. Калюта, 2007), та провідна роль належить саме мікробним факторам, що обумовлюють поділ ЗЗЖСО на специфічні та неспецифічні (H.L. Paladine, U.A. Desai, 2018). Найпоширенішою патологією серед ЗЗЖСО є вагініт (P. Nyirjesy et al., 2020), який, як правило, спричинений ускладненнями: бактеріальним вагінозом (БВ), кандидозом і трихомоніазом (Н.А. Жаркин, 2012; J. Sherrard et al., 2018). Серед вагінітів у 76–80 % випадків діагностують саме неспецифічні вагініти (НВ), (В.І. Пирогова та співавт., 2018), які виключають інфекції, що передаються статевим шляхом (K.A. Green et al., 2015).

Виходячи з вищевикладеного, НВ – це клінічний стан, який зустрічається у широкому віковому діапазоні (И.В. Берлев и соавт., 2015; А.М. Савичева и соавт., 2017), обтяжений інфекційно-запальним нетрансмісійним процесом у піхві та спричинений умовно-патогенною мікрофлорою (УПМ) (K.A. Green et al., 2015). Тобто НВ потребує комплексного терапевтичного підходу, але існуючі схеми лікування, особливо у випадках латентного та рецидивного перебігу є неефективними (О.В. Голяновський та співавт., 2017; Cha Han et al., 2019). Отже, підвищення ефективності терапії НВ залишається досить актуальною проблемою сучасної фармації та медицини.

Сучасні підходи до лікування НВ повинні враховувати клінічну картину перебігу захворювання, виявляти локальний вплив на вогнище інфекції (M. DiGiacomo et al., 2015; Современная диагностика и лечение вагинальных инфекций…, 2017; K. Perehudoff et al., 2018; F. Superti et al., 2020), а також мати мінімальний ризик виникнення побічних реакцій, простоту і зручність застосування. Обираючи лікарські засоби необхідно, окрім фармакологічної ефективності, враховувати економічну складову та спосіб застосування (F. Superti et al., 2020). Отже, перспективним для лікування НВ є створення топічних лікарських препаратів, які включають антибактеріальні, протигрибкові та протизапальні компоненти.

Представлені на ринку України препарати для лікування вагініту вітчизняного та іноземного виробництва є монокомпонентними з обмеженим спектром дії (Державний реєстр лікарських засобів України, 2020). Все більший інтерес викликає створення комплексних препаратів, що містять природні речовини (зокрема олії), які зменшують побічні прояви синтетичних складових та розширюють спектр дії засобу. Серед препаратів для місцевої терапії урогінекологічних захворювань найбільш широке застосування знайшли супозиторії (песарії), які мають ряд переваг: сприяють рівномірному розподілу діючої речовини по слизовій оболонці, дають можливість створення високої концентрації за умов мінімальної системної адсорбції, що дозволяє уникнути системних побічних ефектів (Т.А. Панкрушева и соавт., 2017).

Усе вищезазначене теоретично обґрунтовує доцільність та актуальність створення та фармакологічного вивчення вітчизняних комбінованих вагінальних супозиторіїв (песаріїв) з рослинними оліями, призначених для місцевого лікування НВ. Такими можуть виступати вагінальні супозиторії (песарії) «Меланізол» та «Клімедекс», технологія виготовлення яких розроблена у Національному фармацевтичному університеті (НФаУ) на кафедрі технології ліків проф. Ю. В. Левачковою та доц. В. М. Чушенко під керівництвом проф. Т. Г. Ярних. До складу «Меланізолу» входять ефірна олія (ЕО) чайного дерева та метронідазол (Пат. 96646 України на винахід, 2011). До складу «Клімедексу» входять кліндаміцину фосфат, метронідазол, флуконазол, дексаметазон натрію фосфат та олія обліпихова (Пат. 61038 України на корисну модель, 2011).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт НФаУ МОЗ України у рамках теми «Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовині лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (номер держреєстрації 0114U000956, 2014–2023 рр.).

Мета і завдання дослідження. *Мета* дослідження – теоретичне та експериментальне обґрунтування оптимізації лікування неспецифічних вагінітів комбінованими вагінальними супозиторіями (песаріями) «Меланізол» та «Клімедекс».

Для досягнення поставленої мети вирішувались такі *завдання*:

1. Вивчити антимікробні та фунгіцидні властивості комбінованих вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» на музейних та клінічних штамах.

2. Дослідити протизапальні властивості комбінованих песаріїв «Меланізол» та «Клімедекс» на моделях гострого внутрішньопіхвового запалення, викликаного різними флогогенами.

3. З'ясувати вплив комбінованих песаріїв «Меланізолу» та «Клімедексу» на моделі механічного пошкодження піхви за умов профілактичного введення.

4. Дослідити вплив комбінованого засобу «Меланізол» на моделях вагінітів, викликаних немікробним чинником («механічного» та «хімічного» вагініту).

5. З'ясувати лікувальний вплив вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» та «Клімедекс» на моделі вагініту, обтяженого *E. coli*.

6. Вивчити ефективність комбінованих песаріїв «Меланізолу» та «Клімедексу» на моделі «іритативного» вагініту у щурів за умов гострого та субхронічного перебігу.

7. У дослідах *in vivo* та *in vitro* визначити механізм імунної відповіді на введення «Меланізолу» та «Клімедексу».

8. Визначити параметри безпеки «Меланізолу» та «Клімедексу» у дослідах *iv vitro* на рівні клітинних показників.

9. Визначити параметри безпеки засобів «Меланізол» та «Клімедекс» в дослідах *in vivo*.

Об'єкт дослідження: оптимізація лікування НВ.

Предмет дослідження: фармакологічна активність, безпечність та механізм дії вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» та «Клімедекс», як засобів для лікування НВ.

Методи дослідження. Фармакологічні (моделювання внутрішньо-вагінального запалення, спровокованого карагеніном, зимозаном, моделювання вагінітів: «механічного», «хімічного», вагініту, обтяженого *E. coli*, гострого та субхронічного «іритативного» вагініту), фізико-хімічні (визначення температури та pH у піхві тварин); мікробіологічні; токсикологічні (вивчення субхронічної токсичності, сенсибілізації, місцевоподразнювальної дії, дослідження естрального циклу); біохімічні (визначення кількості загального білку, активності аланінамінотрансферази (АлАТ), концентрації Na^+, K^+, Ca^{2+}, Fe^{2+} у сироватці крові та піхвовому вмісті, кількості сечовини, холестерину, активності лужної фосфатази (ЛФ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ), кількості глікогену, визначення загальної залізо-зв'язувальної здатності (ЗЗЗЗ), ненасиченої залізо-зв'язувальної здатності (НЗЗЗ), рівня насичення трансферинів (НТ), концентрації С-реактивного білку (СРБ) у сироватці крові, вмісту реактантів, що взаємодіють з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП); активності каталази (КАТ) у крові та гомогенаті піхви, супероксиддисмутази (СОД) у крові; визначення вмісту відновленого глутатіону (G-SH) у гомогенаті піхви, кількості глюкози у піхвовому вмісті, кількості ДНК та РНК у тканині піхви); імуно-біохімічні (дослідження вмісту імуноглобулінів А (IgA), М (Ig M), G (Ig G), секреторного імуноглобуліну А (sIgA), ЦІК, естрадіолу, тестостерону у крові);

гістохімічні (постановка реакції з Шифф-йодною кислотою (ШИК-реакції); гематологічні (вивчення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ), кількості еритроцитів, гемоглобіну, лейкоцитів, показників лейкоцитарної формули); гістологічні (дослідження гістоструктури репродуктивних органів щурів та кролів), мікробіологічні (визначення розміру зон затримки росту, кількості колоній утворюючих одиниць (КУО); функціональні (визначення коефіцієнта маси (КМ) піхви, яєчників, печінки, серця, нирок, наднирників, селезінки, тимусу, легенів); інструментальні (визначення температури (t°C) у піхві); напівкількісні визначення (активної реакції pH піхвового вмісту за допомогою тест-смужок, аналіз сечі за допомогою тест-смужок); планіметричні (визначення загальної площі ураженої піхви (ЗПУП), кількості геморагій, рівня запалення); цитологічні (дослідження рухової здатності сперматозоїдів, фагоцитарної активності (ФА) поліморфноядерних лейкоцитів (ПЯЛ), постановка МТТ-тесту з використанням клітинної лінії HepG2, дослідження з використанням пухлинних клітинних ліній: СЗЗ-А, SiHa, HeLa, MCF-7); розрахункові (кількість трансферинів, індекс Кребса (ІКр), лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ), ядерний індекс Г.Д. Даштаянца (ЯІ), індекс зсуву лейкоцитів крові (ІЗЛК), лейкоцитарний індекс (ЛІ), індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів (ІСНМ), індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів (ІСЛМ); статистичні методи (розрахунок середньої та її стандартної похибки, довірчого інтервалу, міжгрупових відмінностей тощо).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено доцільність застосування комбінованих вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» та «Клімедекс» для лікування неспецифічних вагінітів різних за етіологією та тривалістю перебігу.

Встановлено, що поєднання олії чайного дерева з метронідазолом у складі «Меланізолу» дозволяє розширити спектр його активності по відношенню до мікроорганізмів музейних штамів аеробних (*S. aureus ATCC 25923, B. subtilis ATCC 6633),* анаеробних *(E. coli ATCC 25922)* та дріжджоподібних грибів *C. albicans ATCC 885/653*. А також пригнічувати ріст мікроорганізмів клінічних штамів аеробних (*S. aureus 576, 24, 421, P. aeruginosa 5*), анаеробних (*E. faecalis 17, E. coli 25, E. aerogenes 45*) та дріжджоподібних грибів *C. albicans 65* та *46.*

Уперше на розробленій нами моделі запалення піхви, викликаного різними флогогенами (карагенін та зимозан), вивчено протизапальну активність супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» в умовно-терапевтичній дозі 21 мг/кг у щурів, яка склала 44,92 % ($p<0,05$) для карагеніну та 20 % ($p<0,05$) для зимозану та доведено, що вони перевищують ($p<0,05$) «Гравагін» у дозі 30 мг/кг.

На моделях «механічного» та «хімічного» вагініту у щурів доведено ефективність песаріїв «Меланізол», яка підтверджена планіметричними, фізико-хімічними, загальноклінічними та біохімічними дослідженнями крові та піхвового вмісту. За здатністю відновлювати показники «Меланізол» був ефективніший ($p<0,05$) ніж «Гравагін».

Уперше за умов вагініту, обтяженого *E. coli*, у щурів-самиць встановлена ефективність комбінованих супозиторіїв (песаріїв) «Клімедекс» (33,31 мг/кг) та

«Меланізол» (21 мг/кг), що доведено виразним впливом на загальноклінічні (зниження кількості лейкоцитів у 1,7 рази та 1,6 рази, ШОЕ у 2,4 рази та 2,1 рази, відповідно; $p<0,05$ у всіх випадках) та біохімічні (зниження загального білку у піхвовому вмісті в 1,5 рази та 1,4 рази, відповідно; $p<0,05$ у обох випадках) показники. Встановлено, що протизапальна, антимікробна, мебраностабілізувальна активності досліджуваних песаріїв опосередковано пов'язані із відновленням зрушених концентрацій Na^+, K^+, Ca^{2+}, Fe^{2+} у піхвовому вмісті тварин. На даній експериментальній моделі вагініту визначено, що механізм дії «Меланізолу» та «Клімедексу» полягає в зниженні рівня УПМ за рахунок підвищення ЗЗЗЗ сироватки крові у 1,3 рази ($p<0,05$) та підвищення рівня трансферинів, які обмежують доступність Fe^{2+} мікроорганізмам.

Доведено перевагу по ефективності «Клімедексу» (33,31 мг/кг) у порівнянні з «Меланізолом» (21 мг/кг) на тлі гострого «іритативного» вагініту у щурів, яка статистично доказово підтверджена фізико-хімічними (зниження рівня pH у піхві на 1,13 та 0,63 од., відповідно; $p<0,05$ у обох випадках), гематологічними (зниження кількості лейкоцитів, ШОЕ) та біохімічними (зниження активності АлАТ у 1,9 рази та 1,7 рази; $p<0,05$ у обох випадках), ЛДГ у 2,0 рази та 1,7 рази; $p<0,05$ у обох випадках), кількості загального білку у 1,5 рази та 1,4 рази відповідно; $p<0,05$ у обох випадках) дослідженнями по відношенню до КП. Визначено позитивний вплив обох досліджуваних засобів на вміст індигенної мікрофлори шляхом підвищення грам-позитивних паличок, а також збільшення кількості глікогену у тканині піхви. Встановлена перевага ($p<0,05$) «Меланізолу» у порівнянні з «Клімедексом» на тлі субхронічного «іритативного» вагініту, що доведено гематологічними та біохімічними дослідженнями.

Уперше визначено, що «Клімедекс» та «Меланізол» чинять стимулювальний ефект на показники місцевого імунітету щурів (*in vitro* відзначено стимулювання фагоцитозу ПЯЛ, *in vivo* відмічено підвищення рівня sIgA у сироватці крові та піхвовому вмісті та зниження ЦІК у крові). Визначено, що досліджувані засоби проявляють мебранопротекторну дію із залученням антиоксидантно-прооксидантної системи (відзначено підвищення активності СОД у сироватці крові, КАТ у сироватці крові та тканині піхви, рівня G-SH у тканині піхви, а також зниження рівня ТБК-АП у тканині піхви та сироватці крові дослідних тварин).

Доведено у досліді *in vitro* на культурі клітин гепатоцелюлярної карциноми людини HepG2, що «Меланізол» виявив активніший цитотоксичний ефект у порівнянні з «Клімедексом», який пов'язаний з впливом олії чайного дерева (76 %, $p<0,05$ проти 25 %, $p<0,05$). У досліді *in vitro* встановлено, що «Меланізол» проявив цитотоксичний вплив (55 %, $p<0,05$) по відношенню до культури клітин SiHa. При вивченні профілів безпеки «Клімедексу» та «Меланізолу» *in vivo* доведено, що вони не чинять місцевоподразнювальної та алергізувальної дії. Доведена безпека «Меланізолу» за умов субхронічного внутрішньовагінального застосування в умовно-терапевтичній дозі щурам та кролям.

На основі вищевикладеного встановлено, що вагінальні супозиторії (песарії) «Меланізол» та «Клімедекс» є перспективними для лікування НВ.

Практичне значення отриманих результатів. Експериментально доведено та обґрунтовано доцільність застосування нових комплексних вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» та «Клімедекс» на основі синтетичних речовин та рослинних олій для лікування неспецифічних вагінітів. Результати виконання дисертації є фрагментом комплексу доклінічних досліджень вагінальних супозиторіїв (песаріїв) на основі метронідазолу та олії чайного дерева «Меланізол» з метою подальшого впровадження нового препарату в промислове виробництво та медичну практику у якості засобу для лікування неспецифічних вагінітів. Дисертант є співрозробником звіту з доклінічних досліджень супозиторіїв вагінальних (песаріїв) «Меланізол». Препарат «Меланізол» (супозиторії вагінальні) впроваджено у виробництво на АТ «Лекхім-Харків» (акт впровадження від 15.12.2016 р.).

За результатами дослідження отримано 2 інформаційні листи про нововведення МОЗ України: «Спосіб моделювання експериментального вагініту у щурів» від 16.02.2011 р. № 44-2011 в якому продемонстровано новий підхід до моделювання вагініту, та «Використання методики визначення трансферинів сироватки крові, як діагностичного критерію неспецифічного вагініту, обтяженого аеробною мікрофлорою» від 16.04.2014 р. № 147-2014, в якому продемонстровано новий підхід щодо дослідження наявності аеробної мікрофлори на моделі неспецифічного вагініту за допомогою визначення ЗЗЗЗ сироватки крові.

У методичних рекомендаціях «Неспецифічний вагініт: доклінічне вивчення терапевтичної ефективності комбінованих супозиторіїв із рослинними компонентами» (протокол НФаУ № 2 від 27.02.2020 р.) запропоновані нові методичні підходи до оптимізації доклінічних досліджень лікарських засобів для лікування неспецифічних вагінітів.

Результати дисертаційного дослідження впроваджені у науково-педагогічний процес кафедри фармації (протокол № 1 від 31.08.2020 р.) та кафедри фармакології (протокол № 1 від 28.08.2020 р.) Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; кафедри клінічної лабораторної діагностики Запорізького державного медичного університету (протокол № 1 від 27.08.2020 р.); кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (протокол № 22 від 31.08.2020 р.); кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровської медичної академії МОЗ України» (протокол № 2 від 23.09.2020 р.); кафедри експериментальної та клінічної фармакології з імунологією та алергологією Української медичної стоматологічної академії (протокол № 3 від 23.09.2020 р.); кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету (протокол № 6 від 19.11.2020 р.); у науковий процес відділення патології статевих залоз ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (акт впровадження від 02.11.2020 р.); лабораторія допоміжних репродуктивних технологій Медцентру «Клініка професора Феськова О.М. (ТОВ «Сана-Мед»)» (акт впровадження від 02.11.2020 р.).

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, самостійно здійснено аналіз даних літератури з досліджуваної проблеми, обґрунтовано актуальність проблеми. За допомоги наукового консультанта д. біол. н., проф. Л. М. Малоштан визначено напрями та обсяг експериментальних досліджень, сплановано етапи їх виконання, обговорено результати аналізу, опубліковано сумісні наукові праці. Автором самостійно виконано експериментальну частину, математичну та статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, їх систематизацію, сформульовано основні положення і висновки дисертаційної роботи, підготовлено матеріали до друку та впровадження. Написання усіх статей англійською мовою, що містять результати власних досліджень, здійснено особисто автором.

Виконання гістологічних та гістохімічних досліджень здійснювалось за консультативної допомоги ст. н. с., к. біол. н. Ю. Б. Лар'яновської на базі ЦНДЛ НФаУ, виконання мікробіологічних досліджень за консультативної допомоги ст. н. с. лабораторії мікроорганізмів та поживних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова, к. біол. н. Т. П. Осолодченко та зав. кафедрою мікробіології, вірусології та імунології НФаУ, проф., д. мед. н. Н. І. Філімонової, цитологічні дослідження за консультативної допомоги доц. каф. фізіології та анатомії людини НФаУ, к. мед. н. О. М. Шаталової, за що дисертант висловлює щиру подяку. Дисертація не містить матеріалів та висновків кандидатської дисертації К. О. Степанової («Експериментальне обґрунтування використання нових песаріїв «Клімедекс» при лікуванні вагінітів», Харків, 2012 р.). Співавторами статей є науковий консультант д. біол. н., проф. Л.М. Малоштан та фахівці, які брали участь у виконанні окремих досліджень: К.О. Степанова, А.В. Малоштан, Р.Ф. Єрьоменко, В.А. Малоштан, Г.О. Буравель, В.В. Козар, О.М. Литвинова, М.О. Остапець. Особистий внесок конкретизовано у списку опублікованих праць за темою дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 21–22 квітня 2010 р.); XXVIII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів» (Харків, 3 лютого 2011 р.); IV Національному з'їзді фармакологів України «Фармакологія та лікарська токсикологія» (Київ, 10–12 жовтня 2011 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 19–20 квітня 2012 р.); І Міжнародній науково-практичній конференції «Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань» (Харків, 11–12 квітня 2013 р.); Пятнадцатой международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные исследования, разработка и применение высоких технологий в промышленности и экономике» (Санкт-Петербург, 25–26 апреля 2013 р.); І Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин»

(Харків, 20–21 березня 2014 р.); Науково-практичній конференції з міжнародною участю та школою молодих вчених «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну» (Харків, 1–3 жовтня 2014 р.); 69-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2015» (Минск, 15–17 апреля 2015 р.); II International Scientific-Practical Conference of Students and Young Scientists «Science and Medicine: A Modern View of Youth», Dedicated to the 85th Anniversary of Asfendiyarov Kazakh National Medical University (Almaty, April 23–24, 2015); Четвертій науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті професора, д. мед. н. Вікторова Олексія Павловича «Безпека та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування» (Київ, 11–12 жовтня 2016 р.); VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції» (Харків, 5–7 жовтня 2016 р.); XI научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибн Сино с международным участием, посвящённой 25-летию государственной независимости Республики Таджикистан «Медицинская наука: достижения и перспективы» (Душанбе, 26 апреля 2016 р.); Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (Харків, 19–20 вересня 2019 р.); II Міжнародній науково-практичній конференції «Природнича наука й освіта: сучасний стан і перспективи розвитку» (Харків, 20–22 вересня 2019 р.).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 42 наукових роботи, у т.ч. 22 статті у наукових спеціалізованих виданнях, з них 17 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України (з них 1 – у наукометричних виданнях бази Web of Science, 1 – у наукометричних виданнях бази Scopus), 5 статей – в іноземних наукових періодичних виданнях (з них 1 – у наукометричних виданнях бази Scopus, 1 – в електронних наукометричних), 1 патент України на винахід,1 патент України на корисну модель, 2 інформаційних листи МОЗ України, 1 – методичні рекомендації, 15 тез доповідей на науково-практичних конференціях та з'їздах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 427 сторінках машинописного тексту, складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, 8 розділів, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 293 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 54 таблицями, 58 рисунками. Список використаних джерел містить 498 найменувань, з них 201 кирилицею та 297 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Для дослідження використано вагінальні супозиторії (песарії) «Меланізол», які містять метронідазол – 250 мг, олію чайного дерева – 100 мг, основу – ПЕО-1500:ПЕО-400 (9:1) (Патент 96646

України на винахід, 2011; Ю.В. Левачкова, 2013), в умовно-терапевтичній дозі 21 мг/кг (за антимікробною властивістю) та «Клімедекс», які містять кліндаміцину фосфат – 100 мг, дексаметазон натрію фосфат – 0,5 мг, метронідазол – 150 мг, флуконазол – 100 мг, олію обліпихову – 200 мг, основу – ПЕО-1500:ПЕО-400 (9:1) (Патент 61038 України на корисну модель, 2010; К.О. Степанова, 2012), в умовно-терапевтичній дозі 33,31 мг/кг (за протизапальною та антимікробною властивістю) для щурів.

Препаратами порівняння було обрано таблетки вагінальні «Мікожинакс» (Mekophar Chemical Pharmaceutical Joint-Stock Company, В'єтнам) у дозі 17,88 мг/кг; таблетки вагінальні «Неотризол» (Оптімус Дженерікс Лімітед/Optimus Generics Limited, Індія) у дозі 42,17 мг/кг; вагінальні супозиторії (песарії) «Гравагін» («Сперко Україна», Україна) у дозі 30 мг/кг; супозиторії з обліпиховою олією (СзОО) («Нижфарм», Росія) та («Монфарм», Україна) у дозі 17,64 мг/кг (Уланова В.А., 2009). Досліджувані засоби та препарати порівняння вводили вагінально 1 раз на добу. Препарати порівняння вводили в перерахунку за загальновживаними в експериментальній фармакології коефіцієнтами видової стійкості (Ю.Р. Рыболовлев и соавт., 1979, О.В. Стефанов, 2001). У досліді з використанням клітинних ліній – доксорубіцину гідрохлорид (“Dian Jiang, Chong Qing”, Китай). При дослідженні сперміцидної активності – супозиторії вагінальні «Еротекс» («Сперко Україна», Україна).

Експериментальні дослідження були проведені на базі Проблемної лабораторії морфофункціональних досліджень НФаУ (акредитована НААУ, атестат № 2Н502 від 27.12.2012 р. чинний до 26.12.2017 р. та атестат № 2Н1422 від 07.09.2017 р., чинний до 06.09.2022 р.) та Центральної науково-дослідної лабораторії (ЦНДЛ) НФаУ (атестована МОЗ України, посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р., чинне до 07.12.2019 р.). У роботі використано 642 лабораторних щурів-самиць і 2 щури-самці масою 200±20 г, 12 кролів-самиць масою 3,0±0,5 кг, 16 мурчаків масою 500±50 г, що утримувались відповідно до санітарно-гігієнічних норм (Guide for the care and use of laboratory animals, 2011) із дотриманням чинних національних та міжнародних вимог щодо дотримання принципів біоетики при роботі з лабораторними тваринами, що засвідчено висновками Комісії з питань біоетики НФаУ (протоколи № 3 від 19.03.2014 р. та № 2 від 4.11.2019 р.).

Тварин для дослідів відбирали з урахуванням фази естрального циклу. Піхвовий вміст отримували шляхом зрошування вагіни стерильним 0,9 %-им розчином NaCl або водою очищеною з наступним центрифугуванням. В отриманій надосадовій рідині вимірювали концентрацію речовин.

У дослідах були використані групи інтактного контролю (ІК) та контрольної патології (КП), групи Плацебо – тварини, яким застосовували супозиторну основу (ПЕО-1500:ПЕО-400 (9:1) замість досліджуваних засобів. Дизайн дослідження наведено на рис. 1.

Характеристика моделей та досліджувані показники. Загальноклінічні та біохімічні дослідження проводили за допомогою автоматичного гематологічного

аналізатора ABX PENTA 60 C+ (HORIBA ABX, Франція), фотоелектрокалориметра КФК-3 („ЗОМЗ”, Росія), аналізатора біохімічного

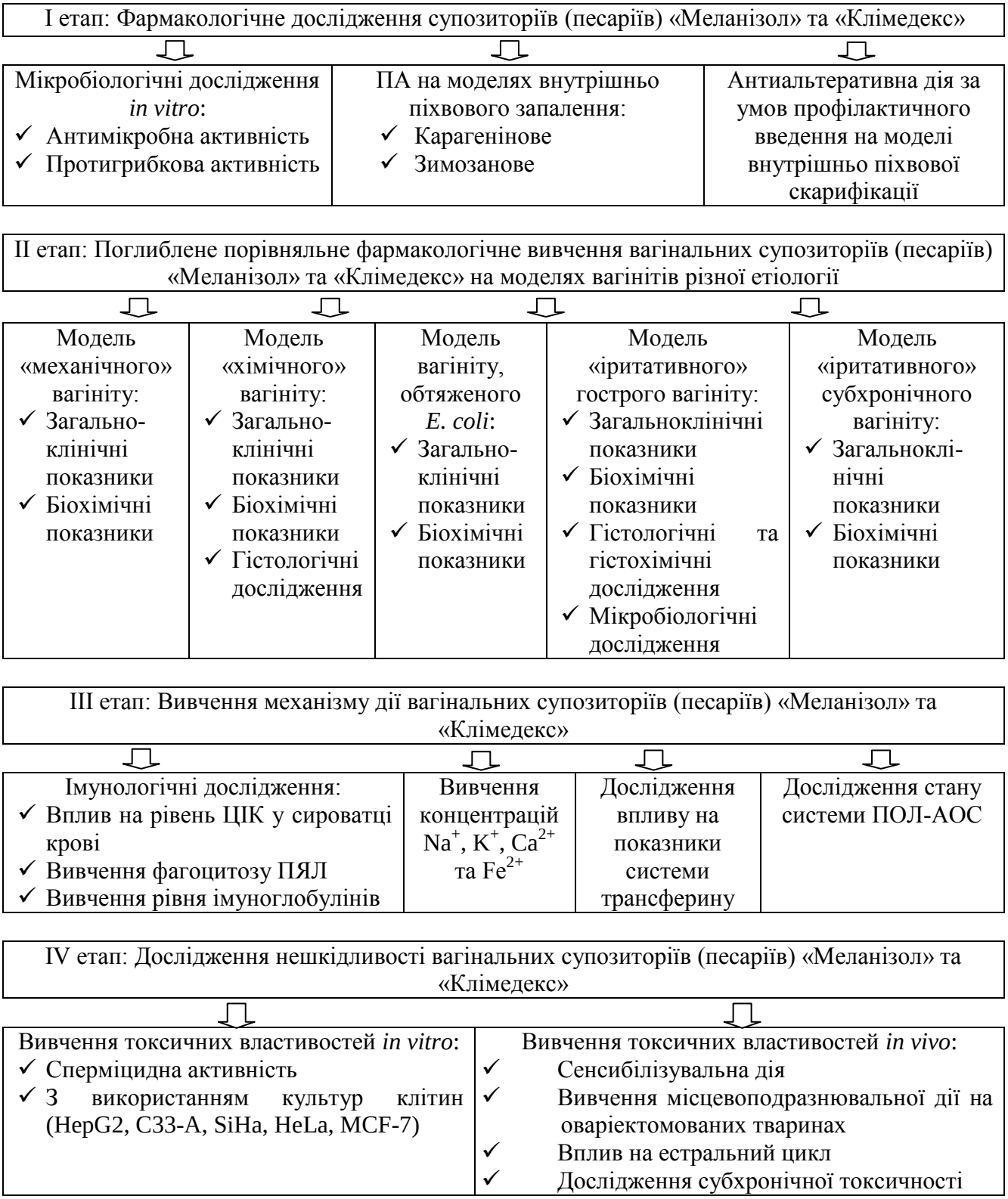

Рис. 1 Основні етапи та методи фармакологічних досліджень

напівавтоматичного PRIMA PHOTOMETER BPC BioSED srl (PRIMA Biosed, Італія) та спектрофотометра «Specol 1500» ("Analytik Jena AG", Німеччина), за допомогою фотометра ПАЖ-3 (Вінницький завод газоаналізаторів ВО

«Термінал», Україна), цитологічні дослідження проведені за допомогою мікроскопа Мікмед-2 (ВАТ „ЛОМО”, Росія), імуноферментні дослідження та дослідження з використанням клітинних ліній проводили за допомогою аналізатора StatFax-303 plus (USA), напівкількісні дослідження проводили за допомогою індикаторних тест-смужок «pH-тест» (ТОВ «НОРМА», Україна, тест-смужок «ФАН® NONAPHAN® SG» («Erba Lachema s.r.o.», Чехія), зважування проводили за допомогою ваг лабораторних та електронних Adventurer 1530 („Ohaus”, Швейцарія), температуру у піхві вимірювали за допомогою електротермометра ("Microlife", Швейцарія).

Загальноклінічні показники крові (кількість гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів, показники лейкоцитарної формули, ШОЕ) оцінювали за загальновідомими методами (В.С. Камышников, 2009).

Визначення біохімічних показників. Дослідження проводили у сироватці крові та у піхвовому вмісті за допомогою відповідних тест-наборів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна, тест-наборів фірми «Реагент», Україна. Вміст загального білку визначали біуретовим методом, сечовину – за кольоровою реакцією з диацетилмонооксимом, активність АлАТ та АсАТ – за методом Райтмана-Френкеля, кількість глюкози у піхвовому вмісті – глюкозодегідрогеназним методом, активність ЛДГ крові – за реакцією каталітичного утворення лактату з пірувату, ЛФ – за реакцією з п-нітрофенілфосфатом, рівень холестерину (В.С. Камышников, 2009). Концентрації Na^+ визначали колориметричним методом, K^+ – турбідиметричним методом, Ca^{2+} – за реакцією з о-крезолфталеїном (тест-набори ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна), Fe^{2+} – за рахунок звільнення з залізо-зв'язуючих пептидів сироватки крові і відновлення завдяки дії гуанідину і гідроксіламіну (тест-набір АО «Диакон-ДС», РФ), у сироватці крові – ЗЗЗЗ, НЗЗЗ, НТ (тест-набір АО «Диакон-ДС», РФ) (В.С. Камышников, 2009), СРБ – експрес-методом (Патент 38911 UA, 2009). Показники системи ПОЛ-АОС визначали у сироватці крові та гомогенаті піхви: вміст ТБК-АП – спектрофотометричним методом за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, G-SH, активність СОД, КАТ – за методами (А.В. Арутюнян и соавт., 2000; A. A. Vlasov et al., 2016; Лотоцька О. В., 2016). У сироватці крові визначали рівень ЦІК (середньомолекулярні (11S-19S, 3,5 % ПЕГ) і низькомолекулярні (<11S, 7% ПЕГ) методом селективної преципітації комплексів антиген-антитіло (Ю.В. Скибо и соавт., 2013). У сечі визначали концентрацію Na^+ і K^+ методом фотометрії полум’я (В.С. Камышников, 2009).

У тканині піхви проводили вивчення рівня нуклеїнових кислот (ДНК та РНК) спектрофотометричним методом реакцією з хлорною кислотою (А.С. Спирин, 1958; H.A.Wiig et al., 2013), глікогену – після додавання розчину антрону (Н.П. Мешковой, 1979).

Імуноферментні дослідження. Рівні статевих гормонів естрадіолу і тестостерону досліджували в плазмі крові за допомогою тест-наборів для імуноферментного аналізу «Гранум», Україна; концентрації імуноглобулінів IgA, IgM, IgG в сироватці крові та піхвовому вмісті проводили за допомогою тест-системи для визначення імуноглобулінів A, M, G (фірма «Гранум», Україна);

рівень сироваткового та вагінального секреторного імуноглобуліну А (sIgA) – за допомогою реагента «Secretory IgA EIA» (фірма «ХЕМА» Co, Ltd, Russia).

Гістологічні дослідження органів тварин проводили загальновідомими методами світлової мікроскопії з використанням забарвлення гематоксиліном-еозином, гістохімічні – з використанням забарвлення ШИК (J. G. Jung et al., 2011; A.-A. Mohammadpour, 2012). Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Granum (Гранум, Україна), мікрофотографування здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310 (Гранум, Україна). Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Toup View.

Основним критерієм при виборі методів була максимальна інформативність та відповідність поставленим завданням.

Протимікробну активність супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» за Наказом МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р. з використанням штамів мікроорганізмів з колекції Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова: тест-штами *S. aureus ATCC 26923, E. coli ATCC 25922, B. subtilis ATCC 6633, C. albicans ATCC 885653* та клінічні штами *S. aureus 576, 24* та *421, E. faecalis 17, E. coli 25, E. aerogenes 45, P. aeruginosa 5, P. vulgaris 89, C. albicans 65* та *46.* Оцінку протимікробної активності проводили за визначенням діаметру зони затримки росту.

Антиексудативні властивості «Меланізолу» (21 мг/кг) вивчали у порівнянні з препаратами «Гравагін» (30 мг/кг) та СзОО (17,64 мг/кг) на розробленій нами моделі місцевого запалення піхви (Патент 99553 України на винахід, 2011) щурів-самиць (з використанням карагеніну та зимозану (О.В. Стефанов, 2001). Вплив супозиторіїв «Клімедекс» (33,31 мг/кг) на перебіг запалення піхви щурів-самиць, викликаного зимозаном (Патент 62115 України на корисну модель, 2011) проводили, у порівнянні з «Мікожинакс» (17,88 мг/кг). Засоби вводили за годину до флогогену. Результати оцінювали за зміною температури у піхві, протизапальну активність (ПА) виражали у відсотках. На моделі, викликаної карагеніном, на 24-ту годину у крові визначали кількість лейкоцитів, СРБ та ШОЕ.

Антиальтеративну активність «Меланізолу» (21 мг/кг) та «Клімедексу» (33,31 мг/кг) вивчали в порівнянні з «Мікожинаксом» (17,88 мг/кг), «Гравагіном» (30 мг/кг) та СзОО (17,64 мг/кг) за умов профілактичного введення (5 діб) на тлі одноразової внутрішьопіхвової скарифікації (С.М. Дроговоз и соавт., 2003) у щурів-самиць. Показник ЗПУП виражали у відсотках.

Дослідження впливу «Меланізолу» та «Клімедексу» на перебіг вагінітів проводили на моделях вагінітів різної етіології.

На моделі *«механічного» вагініту* (С.М. Дроговоз и соавт., 2003) вивчали лікувальну дію «Меланізолу» (21 мг/кг) у порівнянні з «Гравагіном» (30 мг/кг) та СзОО (17,64 мг/кг). Лікування проводили 6 діб. Критеріями оцінки перебігу вагініту були: загальний стан тварин, динаміка маси тіла, показник pH та t° C у піхві. На 11-у добу експерименту оцінювали зміни СОП (набряк, гіперемію, крововиливи в балах та відсоток ЗПУП), МК піхви та яєчників, у крові оцінювали кількість гемоглобіну, лейкоцитів та еритроцитів, показники лейкоцитарної

формули, ШОЕ, у сироватці крові – кількість загального білку, G-SH та ТБК, активність АлАТ; у піхвовому вмісті – кількість загального білку, глюкози та активність АлАТ, у гомогенаті піхви – кількість G-SH та ТБК-АП, ДНК та РНК.

Вплив «Меланізолу» (21 мг/кг) на перебіг *«хімічного» вагініту* вивчали за допомогою розробленої нами моделі (Патент 62115 України на корисну модель, 2011) у порівнянні з препаратами «Гравагін» (30 мг/кг) та СзОО (17,64 мг/кг). Лікуваня проводили 7 діб. Критеріями оцінки перебігу вагініту були: загальний стан тварин; динаміка маси тіла; pH та t° C у піхві. В кінці досліду у тварин оцінювали зміни СОП (набряк, гіперемію, крововиливи в балах та ЗПУП у відсотках), КМ піхви та яєчників; у крові досліджували кількість лейкоцитів, показники лейкоцитарної формули, ШОЕ, у сироватці крові – кількість загального білка, G-SH, ТБК-АП, активність АлАТ; у піхвовому вмісті – кількість загального білка, глюкози та активність АлАТ; у гомогенаті піхви – кількість G-SH та ТБК-АП. Проводили гістологічну оцінку тканин піхви.

Дослідження впливу «Меланізолу» (21 мг/кг) та «Клімедексу» (33,31 мг/кг) на моделі *вагініту, обтяженого E. coli* (О.В. Должикова, Л.М. Малоштан, 2020) за допомогою культури *E. coli ATCC 25922* в концентрації 9×10^8 КУО/мл проводили у порівнянні з «Гравагін» (30 мг/кг), «Мікожинакс» (17,88 мг/кг) та Плацебо. Критеріями оцінки перебігу вагініту були: загальний стан тварин, динаміка маси тіла, pH піхвового вмісту, кількість лейкоцитів та ШОЕ у крові. У сироватці крові і піхвовому вмісті вимірювали концентрації Na^+, K^+, Ca^{2+}, Fe^{2+} та кількість загального білку; додатково у сироватці крові визначали ЗЗЗЗ, НЗЗЗ, НТ і розраховували кількість трансферинів.

Вплив «Меланізолу» (21 мг/кг) та «Клімедексу» (33,31 мг/кг) у порівнянні з «Гравагіном» (30 мг/кг), «Мікожинаксом» (17,88 мг/кг), СзОО (17,64 мг/кг) та Плацебо проводили на моделі *«іритативного» вагініту* (Патент 95741 України на винахід, 2011) гострого і субхронічного перебігу, які викликали за допомоги суміші іритантів: скипидару (АТ «Янтар», Україна) з диметилсульфоксидом (ДМСО, «Arterium», АТ «Галичфарм», Україна) у щурів-самиць. Гострий вагініт лікували протягом 7 діб. Показники оцінювали в динаміці на 1-шу, 5-ту та 8-му доби досліду. Критеріями оцінки перебігу патології були: у піхві – pH, t° C; у крові – кількість лейкоцитів, ШОЕ, показники лейкоцитарної формули, додатково розраховували інтегральні гематологічні індекси (ІКр, ЛІІ, ЯІ, ІЗЛК, ЛІ, ІСНМ, ІСЛМ) (Т.В. Кобец и соавт., 2009). Катаболічні зміни білкового обміну оцінювали у сироватці за кількістю загального білка та сечовини, СРБ, активності ЛФ; процеси цитолізу – за активністю АлАТ, АсАТ, ЛДГ; у піхвовому вмісті вимірювали кількість загального білку, активність АлАТ та ЛДГ. Дослідження складу мікробіому піхви проводили відповідно до Наказу № 535, 1985, показники виражали в lg КУО/г. Проводили гістологічні та гістохімічні дослідження з метою оцінки накопичення глікогену за допомогою ШИК-реакції. У тканині піхви щурів-самиць визначали кількість глікогену.

На моделі «субхронічного» вагініту тривалістю 30 діб досліджували вплив песаріїв «Меланізол» (21 мг/кг) та «Клімедекс» (33,31 мг/кг) у порівнянні з препаратами «Гравагін» (30 мг/кг), «Мікожинакс» (17,88 мг/кг), СзОО

(17,64 мг/кг) та Плацебо. Моделювання проводили введенням у піхву іританту щурам-самицям кожні 5 діб (6 разів: 1 раз повну дозу, 2-6 рази – половинну дозу). Критеріями ефективності лікування (в динаміці) були: загальна кількість лейкоцитів, ШОЕ, кількість СРБ та ФА ПЯЛ (О.В. Стефанов, 2001).

Вплив «Меланізолу» (21 мг/кг) та «Клімедексу» (33,31 мг/кг) на імунологічні показники вивчали за допомогою визначення кількості ЦІК (середньомолекулярних (11S-19S, 3,5 % ПЕГ) і низькомолекулярних (<11S, 7% ПЕГ) в сироватці крові та рівнів IgA, IgM, IgG, sIgA в сироватці крові і піхвовому вмісті. Антиоксидантні властивості супозиторіїв оцінювали за показниками: кількості ТБК-АП, активності КАТ та СОД у сироватці крові, активності КАТ та кількості ТБК-АП і G-SH у тканині піхви.

Дослідження *in vitro* впливу «Меланізолу» та «Клімедексу» у порівнянні з препаратами «Гравагін», «Мікожинакс» та «Неотризол» *на ФА ПЯЛ* щодо дріжджів проводили з використанням загальновідомого методу (О.В. Стефанов, 2001) за попередньої інкубації з гепаринізованою кров'ю тварини з нормальним імунним статусом. ФА ПЯЛ оцінювали за показниками: ФІ – відсоток фагоцитуючих нейтрофілів на 100 ПЯЛ; ФЧ – середня кількість клітин дріжджів, поглинених одним нейтрофілом. Дозу досліджуваних засобів перераховували на циркулюючий об'єм крові тварини, розчиняли в ДМСО, у якості інтактного контролю використовували ДМСО у еквівалентній концентрації.

Сперміцидну активність «Меланізолу» та «Клімедексу» *in vitro* вивчали за допомогою мікроскопічного аналізу у порівнянні з препаратом «Еротекс» в камері Горяєва у суміші суспензії сперматозоїдів статевозрілих щурів (В.А. Кушнарев и соавт., 2016) та засобу (1:1) через 30 та 60 с та виражали у відсотках.

Дослідження впливу складових «Меланізолу» та «Клімедексу»: олії чайного дерева, метронідазолу, дексаметазону, кліндаміцину та флуконазолу на клітини *гепатоцелюлярної карциноми людини (HepG2) у МТТ-тесті* проводили (Е.В. Митрошина и соавт., 2015) на культурі клітин, отриманої з Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Оцінку проводили в стандартних планшетах для імунологічного аналізу (SPL, Корея) за оптичною густиною та виражали у відсотках. Дослідження впливу складових «Меланізолу» олії чайного дерева, метронідазолу та їхньої суміші проводили (О.С. Рыжакова, 2008) з використанням клітинних ліній С33-А (клітини пухлини шийки матки, HPV-незалежної), SiHa (клітини цервікальної карциноми,1-2 копії HPV16-залежної), HeLa (клітини пухлини шийки матки, 10-50 копій HPV18-залежної), MCF-7 (клітини аденокарциноми протоків молочної залози), отриманих з Всеросійської колекції клітинних культур Інституту цитології РАН (Санкт-Петербург, Росія) у порівнянні з доксирубіцину гідрохлоридом у концентрації 10^{-3}/мл. Цитотоксичність оцінювали за допомогою аналізу з кристалічним фіолетовим та виражали у відсотках.

Вивчення впливу «Меланізолу» *на естральний цикл щурів* проводили методом вагінальних мазків за співвідношенням їхніх елементів (О.В. Стефанов,

2001) щоденно протягом двох циклів (Я.М. Кабак, 1968). Засіб вводили протягом 5 діб.

Вивчення алергізувальної дії «Меланізолу» (7 мг/кг), «Клімедексу» (11,1 мг/кг) та Плацебо проводили (Б.И. Любимов и соавт., 1988) за реакцією гіперчутливості сповільненого типу у мурчаків в суміші з повним ад'ювантом Фрейнда (ПАФ, «Sigma», США). Тварин імунізували 5 діб вагінально. На 21-у добу тваринам вагінально вводили дозволяючу дозу препарату («Меланізол» – 7 мг/кг; «Клімедекс» – 11,1 мг/кг; Плацебо). Реєстрували масу тварин, кількість лейкоцитів, обраховували складові лейкоцитарної формули.

Дослідження місцевоподразнювальної дії «Меланізолу» (21 мг/кг) та Плацебо проводили 10 діб на оваріектомованих щурах-самицях (О.В. Стефанов, 2001). Тканину піхви досліджували гістологічним методом.

Субхронічну токсичність «Меланізолу» вивчали на щурах-самицях та кролях-самицях (21 мг/кг та 19,56 мг/кг відповідно) протягом 30 діб за умов вагінального введення 1 раз на добу (О.В. Стефанов, 2001). У щурів визначали масу тіла, проводили дослідження показників клінічного аналізу крові, визначали у сироватці крові кількість креатиніну, глюкози, загального білку, сечовини, холестерину, а також активність ЛФ, АлАТ. Сечу щурів досліджували за допомогою тест-смужок «ФАН® NONAPHAN® SG», а також визначали в ній концентрацію Na^+ та K^+. У щурів розраховували КМ органів. У кролів досліджували: масу тіла, КМ яєчників, рівень естрадіолу і тестостерону в плазмі крові. Органи і тканини репродуктивної системи всіх тварин (яєчники і піхва) підлягали гістоморфологічному дослідженню.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою пакету «MS Excel», програми «Statistica 6.0» із розрахунком середнього показника, його стандартної похибки з використанням параметричних та непараметричних критеріїв. Використовували параметричний критерій Ньюмана-Кейлса для множинних порівнянь і непараметричний критерій Манна-Уітні. Розрахунок статичної значущості при номінальних змінних проводили, використовуючи точний метод Фішера. Відмінності показників вважали статистично значущими при $p<0,05$ (Л.А. Атраментова, О.М. Утевская, 2008).

Результати та їх обговорення. *Експериментальне обґрунтування застосування вагінальних супозиторіїв «Меланізол» та «Клімедекс».* Встановлено, що «Меланізол» проявляє активність по відношенню до досліджуваних музейних штамів, затримуючи їхній ріст. Він виявляє протигрибкову дію по відношенню до *C. albicans ATCC 885/653* (зона затримки росту: 21,33±0,33 мм) та антимікробну активність по відношенню до представників як анаеробної *E. coli ATCC 25922* (20,00±0,58 мм), так і до аеробної *S. aureus ATCC 25923, B. subtilis ATCC 6633* (23,67±0,33 мм та 20,67±0,33 мм відповідно) мікрофлори. Протягом експерименту «Меланізол» виразніше ($p<0,05$) пригнічував ріст досліджуваних мікроорганізмів по відношенню до «Гравагіну» (затримував ріст *S. aureus ATCC 25923* (18,33±0,33 мм), *B. subtilis ATCC 6633* (17,33±0,33 мм), *E. coli ATCC 25922* (13,00±0,58 мм) та не впливав на ріст *C. albicans ATCC 885/653*).

Враховуючи стійкість клінічних штамів до антибіотиків (B. Felden et al., 2018; A. Bassegoda et al., 2018), проводили вивчення впливу «Меланізолу» на клінічні ізоляти мікроорганізмів, які є потенційними збудниками НВ. Отримані дані свідчать, що «Меланізол» виявив антибактеріальну активність по відношенню до клінічних штамів *S. aureus 576, 24, 421* (затримка росту на 18,33±0,33 мм, 17,33±0,33 мм та 18,00±0,00 мм відповідно), *E. faecalis 17* (15,33±0,33 мм), *E. coli 25* (14,00±0,00 мм) та *C. albicans 65* та *46* (16,33±0,33 мм та 16,00±0,00 мм відповідно) та за антибактеріальною активністю був ефективнішим за «Гравагін». Антимікробну активність «Меланізолу» можна пояснити присутністю у їхньому складі метронідазолу, який впливає на анаеробну мікрофлору шляхом блокування реплікації ДНК, РНК та синтезу білків мікробних клітин (О.В. Голяновський и соавт., 2017) та олії чайного дерева, яка містить близько ста терпіненів та їх спиртів, з яких терпінен-4-ол, α-пінен, ліналоол і α-терпінеол – компоненти з антимікробною та фунгіцидною активністю (A. Raman et al., 1995).

На моделі карагенінового запалення піхви «Меланізол» (21 мг/кг) проявив найвираженішу ПА на 3 годину після введення флогогену (44,92 %, $p<0,05$) не поступаючись СзОО (17,64 мг/кг), ПА яких склала 43,22 % ($p<0,05$) та перевершуючи «Гравагін» (30 мг/кг) – 15,25 % ($p<0,05$) (рис. 2).

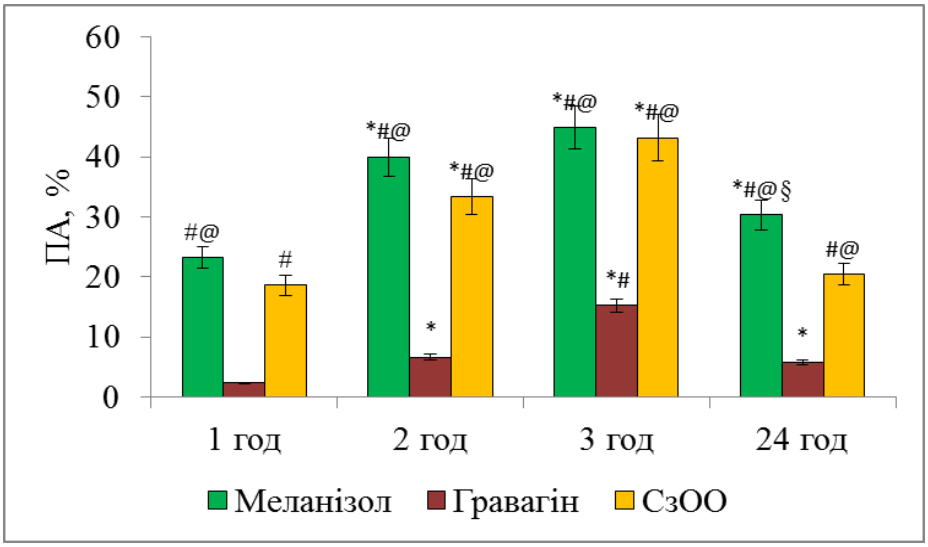

Рис. 2 Вплив «Меланізолу» на перебіг карагенінового запалення піхви у щурів-самиць (M±m, n=6)

Примітки:

1. відмінності вірогідні відносно: * – 1-ї год ($p<0,05$); # – КП ($p<0,05$); @ – тварин, що отримували «Гравагін» ($p<0,05$); § – тварин, що отримували СзОО ($p<0,05$);

2. n – кількість тварин у групі.

Таким чином, можна стверджувати, що протизапальний механізм дії «Меланізолу» пов’язаний із впливом на циклооксигеназний комплекс метаболізму арахідонової кислоти, а саме на простагландинову ланку запалення

(О.В. Стефанов, 2001), що співпадає з даними літератури щодо здатності олії чайного дерева пригнічувати синтез простагландину E_2 (P.H. Hart et al., 2000).

На моделі гострого зимозанового внутрішньопіхвового запалення «Клімедекс» та «Меланізол» проявили протизапальний ефект щодо впливу на лейкотрієнову ланку запалення (35,38 % та 20,0 %, $p<0,05$ в обох випадках відповідно) через 30 хвилин від початку експерименту. «Меланізол» за протизапальною активністю перевершив СзОО (15,38 %, $p<0,05$) та «Гравагін» (3 %, $p<0,05$). «Клімедекс» пригнічував запалення виразніше за СзОО, «Гравагін» та «Мікожинакс» (24,62 %, $p<0,05$). Його ефект можна пояснити присутністю у складі дексаметазону, який впливає на ліпооксигеназний шлях розвитку запалення (L.-S.Ge et al., 2011.; G.A. Czapski et al., 2016).

Вивчення впливу «Меланізолу» (21 мг/кг) та «Клімедексу» (33,31 мг/кг) у профілактичному режимі на альтеративну фазу запалення за умов механічного пошкодження тканин піхви проводили з урахуванням того, що травмування (пологи і аборти, діагностичне вишкрібання матки та ін.) призводить до порушення захисних механізмів СОП, проникнення інфекції та викликає розвиток запального процесу (G. Donders et al., 2011.; В.І. Пирогова та співавт., 2018). Максимальний ефект на даній моделі проявив «Клімедекс», знижуючи ЗПУП у 7,4 рази ($p<0,05$), та показав вищу ефективність зменшувати прояви пошкодження СОП у порівнянні до референс-препаратів. Засіб «Меланізол» знижував ЗПУП у 2,2 рази ($p<0,05$), ефективніше за «Гравагін» (30 мг/кг). На наш погляд, такий результат можна пояснити наявністю у складі «Клімедексу» дексаметазону, як речовини з виразним протизапальним впливом, олії обліпихової, як речовини з репаративною та протизапальною дією, а також протимікробних компонентів, які гальмують розвиток УПМ. Вплив «Меланізолу» на процес альтерації за умов профілактичного введення, ймовірно, можна пояснити наявністю метронідазолу, як компонента з протимікробною дією та олії чайного дерева, яка володіє протимікробними та протизапальними властивостями.

Таким чином, отримані результати довели доцільність поглибленого вивчення «Клімедексу» та «Меланізолу» з рослинними оліями як засобів з протизапальною, антимікробною та репаративною дією з метою обґрунтування їх застосування для оптимізації лікування НВ.

Фармакологічне вивчення вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» на моделях неспецифічного вагініту неінфекційної етіології. Дані літератури свідчать, що у ролі етіологічних факторів НВ можуть виступати місцеві пошкоджуючі чинники (хімічні, фізичні), що призводять до порушення цілісності бар'єрів СОП, активують запалення і збільшують чутливість до інфекції (F. De Seta et al., 2019; S. La Vignera et al., 2019; F. Superti et al., 2020). Враховуючи вищевикладене, доцільно було вивчити лікувальний вплив вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» на перебіг вагінітів, спричинених неінфекційними факторами.

На моделі «механічного» вагініту спостерігали підвищення температури у піхві на 1,4°С ($p<0,05$)та зсув показника pH піхвового вмісту в бік залуження на 2 од ($p<0,05$), що свідчить про активацію УПМ (Е.Ф. Кира и соавт., 2008).

«Меланізол» на тлі «механічного» вагініту чинив лікувальний ефект: покращував СОП, знижуючи ЗПУП у 2,9 рази (p<0,05), знижував t°C з 38,87°C до 37,64°C (p<0,05) та pH на 1,5 од (p<0,05), у піхвовому вмісті відновлював рівень глюкози, що свідчить про зниження активності УПМ (D. Nasioudis et al., 2015), достовірно знижував кількість загального білка (рис. 3а) та АлАТ (рис. 3б), покращував показники ПОЛ-АОС – підвищував G-SH (p<0,05), знижував ТБК-АП у 1,6 рази (p<0,05); у крові знижував кількість лейкоцитів у 1,4 рази (p<0,05), відсоток нейтрофілів у 1,2 рази (p<0,05) та ШОЕ у 1,5 рази (p<0,05), знижував кількість загального білка та активність АлАТ у піхвовому вмісті, що свідчить про зменшення проявів запалення та цитолітичних процесів (рис. 3), підвищував вміст G-SH у 1,2 рази (p<0,05), знижував рівень ТБК-АП у 1,4 рази (p<0,05). За ефективністю чинити лікувальний вплив на тлі «механічного» вагініту «Меланізол» достовірно перевершував «Гравагін» (30 мг/кг) та не поступався СзОО (17,64 мг/кг).

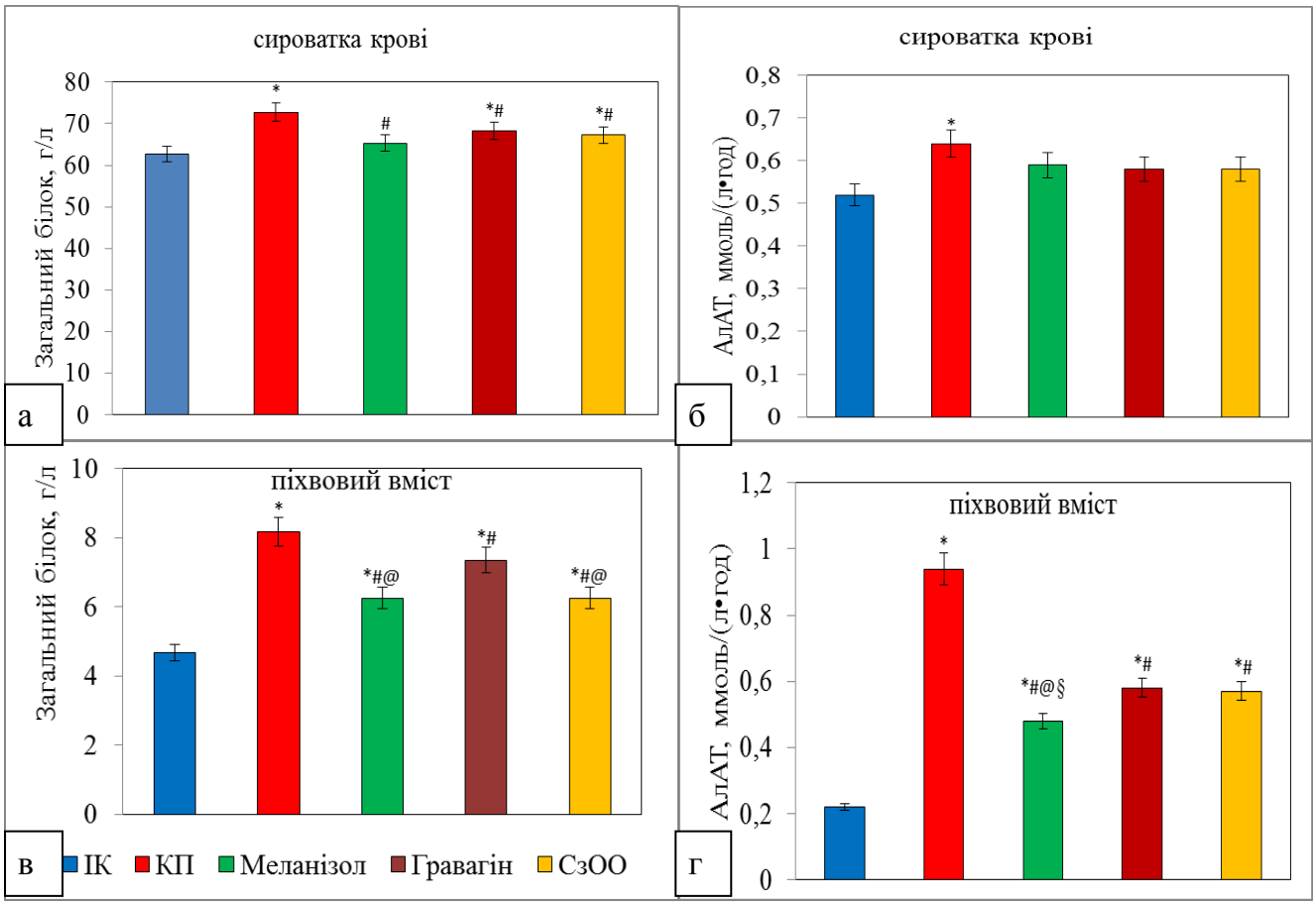

Рис. 3 Вплив «Меланізолу» на біохімічні показники сироватки крові (а, б) та піхвового вмісту (в, г) у щурів-самиць на моделі «механічного» вагініту на 11-ту добу досліду (M±m, n=7)

Примітки:

1. відмінності вірогідні відносно: * – ІК (p<0,05); # – КП (p<0,05); @ – тварин, що отримували «Гравагін» (p<0,05); § – тварин, що отримували СзОО (p<0,05);

2. n – кількість тварин у групі.

Таким чином, отримані результати обумовлюють доцільність використання «Меланізолу», який проявив протизапальний, мембранопротекторний та антиоксидантний ефекти за умов механічного пошкодження піхви.

На моделі «хімічного» вагініту спостерігали достовірні зміни клінічних показників крові, біохімічних (табл. 1) показників сироватки крові та піхвового вмісту та фізико-хімічних показників у піхві. Підвищувалася t°C на 1,14°C ($p<0,05$) та pH на 0,5 од. ($p<0,05$), що свідчить про пригнічення розмноження УПМ за рахунок бактерицидної дії арґентуму (Патент 62115 України на корисну модель, 2011).

Таблиця 1

Вплив «Меланізолу» на біохімічні показники крові та піхвового вмісту у щурів-самиць на моделі «хімічного» вагініту (M±m, n=10)

Показник	ІК	КП	Меланізол	Гравагін	СзОО
Сироватка крові					
Загальний білок, г/л	64,65±1,05	71,10±0,42*	65,82±0,99#	67,45±0,69#	65,21±1,19#
АлАТ, ммоль/(л•год)	0,50±0,02	0,62±0,02*	0,53±0,03#	0,55±0,03	0,54±0,02#
Піхвовий вміст					
Загальний білок, г/л	4,36±0,21	6,31±0,31*	5,25±0,22#	5,60±0,14*#	5,14±0,21#
АлАТ, ммоль/(л•год)	0,21±0,01	0,35±0,02*	0,25±0,01**	0,29±0,02*#	0,27±0,02*#
Глюкоза, ммоль/л	2,29±0,16	1,14±0,13*	1,77±0,15**@	1,21±0,12*#	1,74±0,11*#@

Примітки:

1. відмінності вірогідні відносно: * – ІК ($p<0,05$), # – КП ($p<0,05$), @ – тварин, що отримували «Гравагін» ($p<0,05$);
2. n – кількість тварин у групі.

Застосування «Меланізолу» (21 мг/кг) у щурів-самиць викликало покращення стану СОП, зменшення у піхві t на 0,9°C ($p<0,05$) та pH на 0,35 од. ($p<0,05$), по відношенню до тварин групи КП та нормалізація показників клінічного аналізу крові. У сироватці крові та піхвовому вмісті, спостерігали зниження рівня загального білку, як маркеру запалення, що свідчить про зменшення його проявів (А.А. Майборода и соавт., 2006.; С.С. Челідзе та співавт., 2007) та активності АлАТ (див. табл. 1). Також «Меланізол» підвищував рівень глюкози (див. табл. 1) у піхвовому вмісті, нормалізуючи гомеостаз у піхві та достовірно перевершуючи «Гравагін», відновлював зрушені показники системи ПОЛ-АОС у тканині піхви ТБК-АП у 2,3 рази ($p<0,05$) і G-SH у 1,2 рази ($p<0,05$) по відношенню до групи тварин КП, зменшуючи інтенсивність проявів ПОЛ. «Меланізол» у щурів-самиць на моделі «хімічного» вагініту проявив кращий лікувальний ефект за «Гравагін» та не поступився СзОО.

Гістологічні дослідження корелюють з клінічними та біохімічними показниками крові і демонструють, що у тварин, яким уводили «Меланізол» реєстрували менші за розміром (лише у 10%) по відношенню КП ділянки пошкодження СОП.

Отже, «Меланізол» чинив позитивний вплив на перебіг «механічного» та «хімічного» вагінітів у щурів, зменшуючи ознаки гострого запалення та пошкодження, що можна пояснити наявністю олії чайного дерева, яка, за даними літератури чинить протизапальний ефект (А.М. Политун и соавт., 2010) та проявив антимікробні властивості за рахунок метронідазолу і олії чайного дерева.

Дослідження лікувальних властивостей супозиторіїв вагінальних (песаріїв) «Меланізол» та «Клімедекс» на моделі вагініту, обтяженого E. coli. На піку вагініту у крові щурів-самиць підвищувалися: pH у 1,5 рази ($p<0,05$), кількість лейкоцитів та показник ШОЕ – у 2,0 рази ($p<0,05$) та 2,8 рази ($p<0,05$) відповідно щодо групи ІК. Збільшення рівня загального білку у 4,0 рази ($p<0,05$) у піхвовому вмісті було виразнішим ніж у сироватці крові.

При лікуванні «Меланізолом» (21 мг/кг) та «Клімедексом» (33,31 мг/кг) спостерігали достовірне ($p<0,05$) зниження pH до рівня ІК, а також кількості лейкоцитів та ШОЕ (для групи «Меланізол» в 1,6 рази ($p<0,05$) та 2,1 рази ($p<0,05$) та для групи «Клімедекс» в 1,7 рази ($p<0,05$) та 2,4 рази ($p<0,05$) відповідно) відносно групи КП. Також на тлі фармакологічної корекції у тварин груп «Меланізол» і «Клімедекс» спостерігали достовірне зниження рівня загального білка (табл. 2) у сироватці крові та у піхвовому вмісті.

Таблиця 2

Вплив «Меланізолу» та «Клімедексу» на рівень загального білку у сироватці крові та піхвовому вмісті щурів-самиць на моделі вагініту, обтяженого *E. coli* (M±m, n=8)

Група	Загальний блок, г/л	
	Сироватка крові	Піхвовий вміст
ІК	63,70±1,07	4,30±0,26
КП	73,36±0,90*	8,56±0,57*
Меланізол	66,31±1,10#†	6,03±0,19*#†
Клімедекс	64,27±1,40#†	5,67±0,29*#†
Плацебо	70,17±1,02*	7,09±0,39*
Гравагін	68,17±1,09*	6,78±0,44*#
Мікожинакс	66,09±1,20#†	5,81±0,24*#†

Примітки:

1. відмінності вірогідні відносно: * – ІК ($p<0,05$); # – КП ($p<0,05$); † – тварин, що отримували Плацебо ($p<0,05$);

2. n – кількість тварин у групі.

З метою встановлення механізму дії досліджували рівень маркерів Fe^{2+} та трансферинів, які є клінічним показником мікст-інфекції (S. Létoffé et al., 2009;

B. C. Chu et al., 2010; Ю.И. Ярец, 2015) та показниками росту і виживання бактерій (S. Létoffé et al., 2009), що підтверджують отримані дані у щурів-самиць з КП: концентрація Fe^{2+}, ЗЗЗЗ (табл. 3) та рівень трансферинів крові знизились ($p<0,05$) порівняно з групою тварин ІК.

Таблиця 3

Вплив «Клімедексу» та «Меланізолу» на рівень Fe^{2+} та ЗЗЗЗ сироватки крові щурів-самиць на тлі вагініту, обтяженого *E. coli* (M±m, n=8)

Умови досліду	ЗЗЗЗ, мкмоль/л	Fe^{2+} в сироватці крові, мкмоль/л	НЗЗЗ, мкмоль/л	Насичення трансферину, %
ІК	103,68±2,05	49,78±1,47	53,89±2,65	48,18±1,86
КП + *E.coli*	88,02±2,93*	38,68±1,99*	49,34±1,72*	43,84±1,34*
Меланізол	99,04±2,51#	48,89±1,25#†	50,15±2,72	49,57±1,72#
Клімедекс	99,27±2,58#	50,22±1,85#†	49,04±3,54	50,92±2,49#
Плацебо	88,98±3,54*	40,96±1,58*	47,94±4,42	46,74±2,91
Гравагін	96,39±3,33	46,91±2,54	49,49±2,92	48,68±2,21
Мікожинакс	100,59±3,02#	49,93±0,60#†	50,66±3,19	49,96±1,67#

Примітки:

1. відмінності вірогідні відносно: * – ІК ($p<0,05$); # – КП+*E. coli* ($p<0,05$); † – тварин, що отримували Плацебо ($p<0,05$);

2. n – кількість тварин у групі.

Гомеостаз хімічних елементів тісно пов'язаний з фізіологічними процесами в організмі, а також з розвитком патологічних змін та регуляцією транссудації через СОП (М.П. Западнюк та співавт., 1983). На тлі вагініту, обтяженого *E. coli,* у піхвовому вмісті щурів-самиць спостерігали зменшення концентрації Ca^{2+} у 1,4 рази ($p<0,05$); підвищення концентрацій K^{+} у 1,3 рази ($p<0,05$) та Na^{+} у 1,2 рази ($p<0,05$) відносно групи тварин ІК. На тлі КП концентрація Fe^{2+} знижувалася на 22 % ($p<0,05$) у сироватці крові щурів-самиць та на 29 % ($p<0,05$) – у піхвовому вмісті у порівнянні з показниками тварин ІК.

«Клімедекс» на тлі патології збільшив концентрацію Fe^{2+} (на 30 %, $p<0,05$), ЗЗЗЗ (на 13 %, $p<0,05$) та рівень трансферинів (на 11 %, $p<0,05$) в сироватці крові щурів по відношенню до тварин групи КП+*E. coli*, та не поступився за активністю препарату порівняння «Мікожинакс». «Меланізол» збільшив концентрацію Fe^{2+}, ЗЗЗЗ та рівень трансферинів в сироватці крові по відношенню до тварин КП+*E. coli* (на 26 %, на 13 % та на 13 %, $p<0,05$ для всіх випадків відповідно), і також не поступився «Мікожинаксу». Встановлено, що «Меланізол» та «Клімедекс» на тлі патології у піхвовому вмісті збільшили концентрацію Ca^{2+} в 1,3 рази ($p<0,05$) та 1,4 рази ($p<0,05$), відповідно, що, на наш погляд, відображає антибактеріальний ефект по відношенню до УПМ та вплив на хемотаксис ПЯЛ за умов інфекційного вагініту (J. Yano et al., 2010; C. Chin-Chi et al., 2016; Е.В. Попова-Петросян, 2016). Обидва засоби відновлювали ($p<0,05$) концентрації K^{+} та Na^{+} у піхвовому вмісті щурів-самиць, що, на наш погляд, свідчить про нормалізацію процесу

транссудації, водно-електролітного балансу та зменшення набряку піхви (И.И. Баранов, 2010). Підвищення ($p<0,05$) концентрації Fe^{2+} у піхвовому вмісті щурів-самиць під впливом «Меланізолу» та «Клімедексу» (на 28 % та 39 %, $p<0,05$ у обох випадках відповідно) у порівнянні з групою КП також підтверджує їх антибактеріальний вплив на УПМ (S. Létoffé et al., 2009).

Отже, за результатами загально-клінічних та біохімічних досліджень «Меланізол» і «Клімедекс» проявили лікувальні властивості на моделі інфекційного вагініту, обтяженого *E. coli*. Визначений механізм дії засобів на даній моделі пов'язаний з впливом на транспортну функцію Fe^{2+} та рівень трансферинів, що обумовлює зниження рівня УПМ та антиоксидантні властивості, а також відновленням балансу Ca^{2+}, K^{+} і Na^{+}, що пояснює зменшення проявів запалення та відновлення структури клітинних мембран СОП.

Дослідження супозиторіїв «Меланізол» та «Клімедекс» на моделі гострого та субхронічного вагініту, викликаного сумішшю ДМСО та скипидару («іритативного» вагініту) у щурів. Відомо, що неінфекційне запалення піхви протягом декількох діб в кінцевому випадку набуває рис бактеріального, за рахунок приєднання флори з сусідніх органів, переважно з кишечнику (А.А. Хрянин и соавт., 2015), що підсилює прояви запалення. Також НВ часто характеризуються латентним перебігом та призводять до хронізації процесу (О.В. Ромащенко та співавт., 2016; E. Kaambo et al., 2017). Тому доцільним було вивчити вплив «Меланізолу» та «Клімедексу» на моделі гострого та субхронічного «іритативного» вагінітів.

Встановлено, що на тлі гострого «іритативного» вагініту у щурів-самиць спостерігали зміни, які характерні для перебігу НВ у людини (M.A. Farage et al., 2008; B.L. Hainer et al., 2011). Відзначали підвищення у піхві тварин температури на 1,7°С ($p<0,05$) та pH на 1,07 од. ($p<0,05$); у крові – підвищення ШОЕ, кількості лейкоцитів та зсув лейкоцитарної формули вліво, а також зміну показників лейкоцитарних індексів; у сироватці крові – підвищення кількості загального білку, СРБ та активності АлАТ; у піхвовому вмісті реєстрували підвищення показника загального білку, активності АлАТ та ЛДГ. Також на тлі КП реєстрували зниження кількості грам-позитивних паличок і підвищення грам-негативної мікрофлори, грам-позитивних коків та дріжджоподібних грибів. Гістохімічні дослідження (рис. 4) показали лише мозаїчну наявність глікогену у тканині піхви щурів групи КП.

Кількісні дослідження глікогену демонструють зменшення його рівня у тканині піхви в 1,4 рази ($p<0,05$) на 5-ту добу досліду у тварин КП.

Також у піхві тварин спостерігали макроскопічні та гістологічні зміни СОП (рис. 5). У піхві щурів-самиць відзначали посилення процесів цитолізу (збільшення активності АлАТ у 3,5 рази та ЛДГ у 2,5 рази, $p<0,05$ у обох випадках), запалення (збільшення загального білку у 1,8 рази, $p<0,05$) та активацію УПМ.

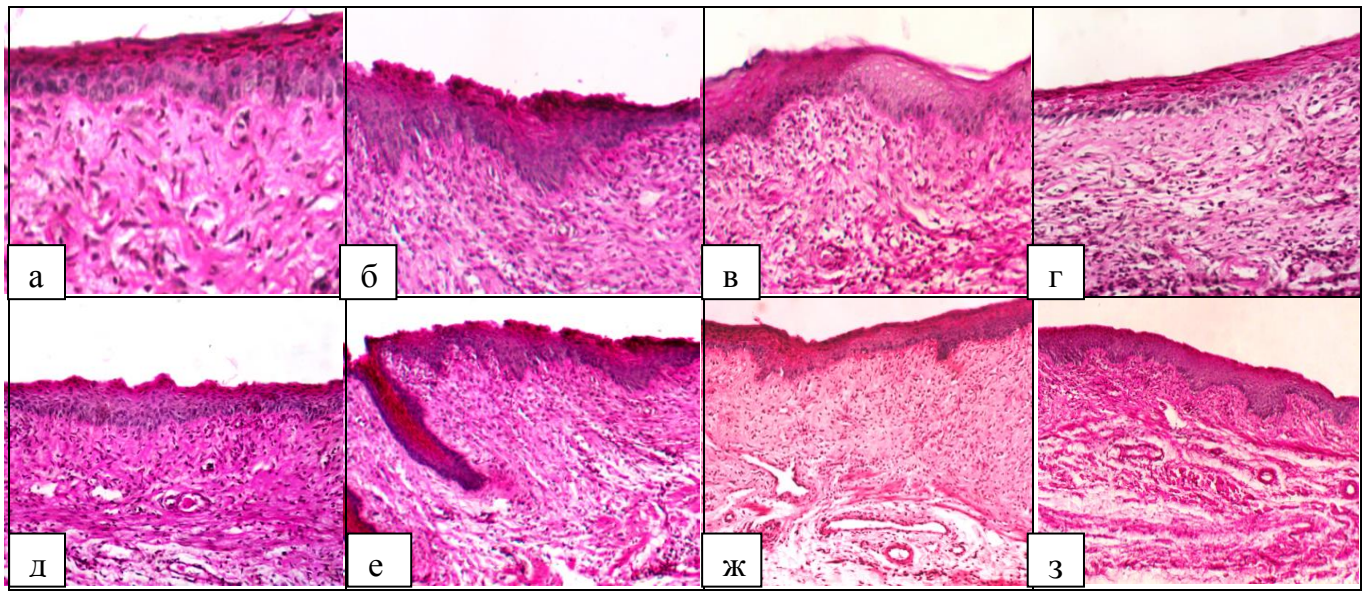

Рис. 4 Накопичення глікогену у СОП піхви щурів-самиць під впливом «Меланізолу» та «Клімедексу» на 5 добу на тлі «іритативного» вагініту. ШИК-реакція

Примітка. Накопичення глікогену: а – ІК – типове, х250; б – КП – типове, х200; в – КП – мозаїчне, х200; г – «Меланізол» – типове, х200; д – «Клімедекс» – типове, х200; е – «Мікожинакс» – типове, х100; ж – «Гравагін» – типове, х100; з – СзОО – типове, х100.

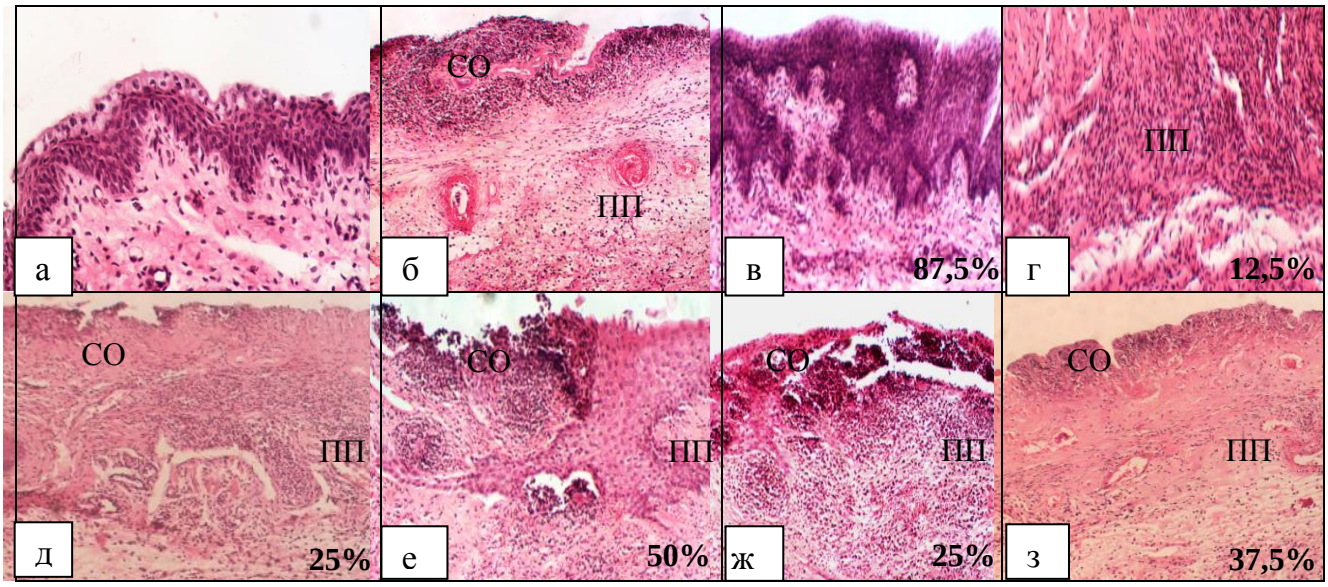

Рис. 5 Вплив «Меланізолу» та «Клімедексу» на гістологічні зміни піхви щурів-самиць на 5 добу на тлі «іритативного» вагініту. Гематоксилін-еозин

Примітки:

1. а – ІК, х200; б, в – КП, х100; г – «Клімедекс», х200; д – «Меланізол», х100; е – «Гравагін», х100; ж – «Мікожинакс», х100; з – СзОО, х100;

2. ПП – підслизовий прошарок; СО – слизова оболонка.

Вплив «Меланізолу» та «Клімедексу» на перебіг вагініту в щурів-самиць проявився відновленням: у піхві температури вже на 5-у дослідження (на 0,7°С та 0,9°С, $p<0,05$ у обох випадках відповідно) та активної реакцію pH (на 0,43 та 0,57

од., p<0,05 у обох випадках відповідно); у крові зниження ШОЕ, кількості лейкоцитів, відновлення відсоткового складу лейкоцитарної формули. Дослідження лейкоцитарних індексів показало, що «Клімедекс» знижував ІКр у 1,3 рази (p<0,05) вже на 5-ту добу досліду, що характеризує активацію специфічного імунітету та участь у підтримці загальної реактивності організму. На 8-у добу «Меланізол» і «Клімедекс» відновлювали зрушені лейкоцитарні індекси до показників тварин групи ІК, що свідчить про активізацію захисних властивостей організму (активацію клітинного імунітету) протягом лікування.

Лікувальний ефект «Меланізолу» та «Клімедексу» по відношенню до КП підтверджений біохімічними показниками: у сироватці крові спостерігали зниження активності АлАТ та кількості загального білку і СРБ; у піхвовому вмісті: знижувалися кількість загального білку у 1,4 рази (p<0,05) та 1,5 рази (p<0,05), активність АлАТ у 1,7 рази (p<0,05) та 1,9 рази (p<0,05), ЛДГ у 1,7 рази (p<0,05) та 2,0 рази (p<0,05) відповідно. Це свідчить про відновлення пошкодженого епітелію. Більш виразний (p<0,05) відновлюючий вплив чинив «Клімедекс» у порівнянні з «Меланізолом». Такий ефект «Клімедексу» обумовлений вмістом антибактерільних, антимікотичної речовин та глюкокортикостероїду, який зменшує проникність стінок судин, а, отже, і набряк, та пригнічує активність лімфоцитів та утворення ними прозапальних факторів (C.P. Coyne et al., 2016; P. Zhang et al., 2020). Відмічена залежність між зміною мікрофлори, кількості глікогену та здатністю епітелію до його накопичення, що свідчить про позитивний вплив досліджуваних засобів на мікробіоту піхви, тому що глікоген відіграє суттєву роль у нормалізації мікрофлори. «Меланізол» та «Клімедекс» відновлювали кількість грам-позитивних паличок і знижували кількість УПМ та дріжджоподібних грибів, збільшували кількість глікогену. «Клімедекс» сприяв більш активному накопиченню глікогену у тканині піхви.

Гістологічними дослідженнями підтверджено розвиток гострого «іритативного» вагініту (див. рис. 5), (вогнищеві та деструктивно-запальні зміни у 87,5 %, p<0,05) самиць на 5 добу досліду. «Клімедекс» на 5 добу відновлював фізіологічний стан СОП у 87,5 % тварин ефективніше за усі референс-препарати. «Меланізол» відновлював фізіологічний стан СОП у 75%, p<0,05 тварин та не поступався за активністю препарату порівняння «Мікожінакс» (покращення відмічено у 75 %, p<0,05 тварин) та перевершував за активністю СзОО (покращення відмічено у 62,5 %, p<0,05 тварин) та «Гравагін» (покращення відмічено у 50%, p<0,05 тварин).

Таким чином, «Меланізол» та «Клімедекс» є ефективними для лікування гострого «іритативного» вагініту. Один з можливих механізмів їх дії полягає у відновленні кількості глікогену та співвідношення індигенної мікрофлори. При чому «Клімедекс» проявив більш виразний лікувальний ефект.

Результати впливу «Меланізолу» та «Клімедексу» в умовно-терапевтичних дозах на перебіг субхронічного «іритативного» вагініту показали, що «Меланізол» виразно покращив загальноклінічні показники крові (знизив ШОЕ, кількість лейкоцитів), знизив концентрацію СРБ та відновив ФА ПЯЛ (рис. 6), а

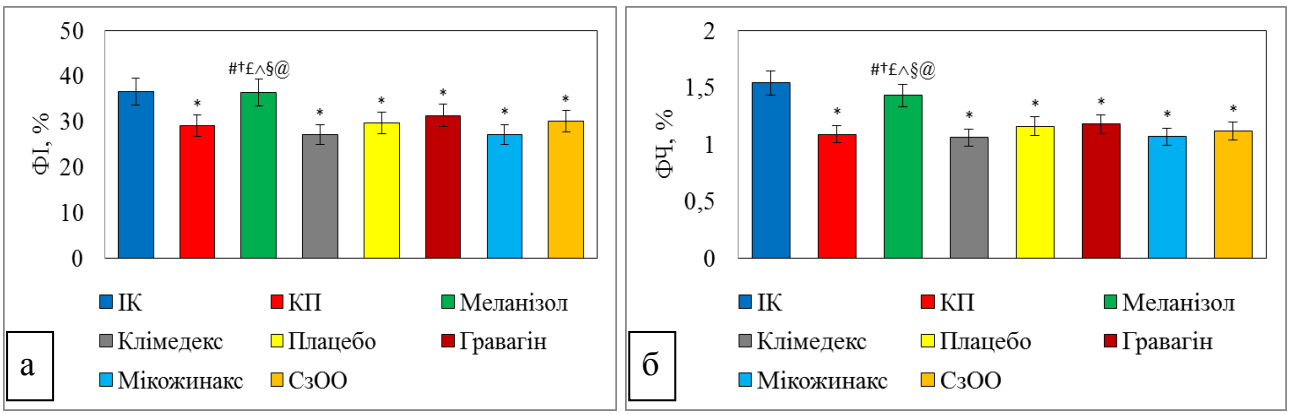

Рис. 6 Вплив «Меланізолу» та «Клімедексу» на показники ФА ПЯЛ: ФІ (а) та ФЧ (б) крові щурів-самиць із субхронічним «іритативним» вагінітом, 30 доба (M±m, n=8)

Примітки (тут та на рис. 7):

1. відмінності вірогідні відносно: * – ІК ($p<0,05$); # – КП ($p<0,05$); † – тварин, що отримували Плацебо ($p<0,05$); @ – тварин, що отримували «Гравагін» ($p<0,05$); ^ – тварин, що отримували «Мікожинакс» ($p<0,05$); £ – тварин, що отримували «Клімедекс» ($p<0,05$); § – тварин, що отримували СзОО ($p<0,05$);

2. n – кількість тварин у групі.

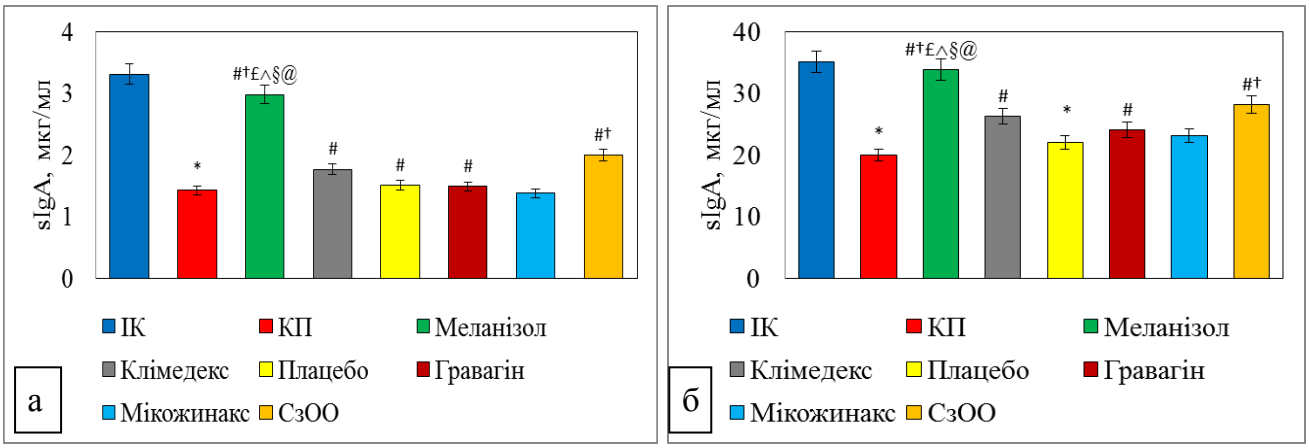

Рис. 7 Вплив «Меланізолу» та «Клімедексу» на концентрації sIg A в сироватці крові (а) та піхвовому вмісті (б) у щурів-самиць із субхронічним «іритативним» вагінітом, 30 доба (M±m, n=8)

також рівні зрушених сироваткового і вагінального sIg A (рис. 7), перевищуючи ($p<0,05$) всі препарати порівняння. Зниження рівня сироваткового та вагінального sIg A у групі тварин, яких лікували «Клімедексом» можна пояснити наявністю в їхньому складі дексаметазону, який при тривалому застосуванні здатний чинити імуносупресивний вплив.

Отже, «Меланізол» на тлі субхронічного «іритативного» вагініту виявив кращу ефективність ($p<0,05$) у порівнянні з «Клімедексом».

Таким чином, «Клімедекс» проявив більш виразний лікувальний ефект на моделі гострого «іритативного» вагініту, а «Меланізол» – на моделі субхронічного «іритативного» вагініту.

Вичення впливу супозиторіїв вагінальних (песаріїв) «Меланізол» та «Клімедекс» на показники імунної ланки захисту та стан системи ПОЛ-АОС. Антигени інфекційних агентів при вагінітах є причиною зміни імунних показників і виступають в якості можливого тригера підвищення ЦІК (Н.А. Андрекайте и соавт., 2011). На тлі лікування «іритативного» вагініту «Меланізол» та «Клімедекс» нормалізували рівні ЦІК средньомолекуляної та знижували низькомолекулярної ЦІК фракції (рис. 8) у 1,6 рази ($p<0,05$) та 1,4 рази ($p<0,05$) відповідно, не поступаючись препарату порівняння «Мікожинакс» та перевершуючи «Гравагін». Це свідчить про зниження рівня антигенів під впливом досліджуваних супозиторіїв, на наш погляд, через вплив на УПМ за рахунок антимікробних складових та пригнічення процесу запалення за рахунок активності рослинних олій (Н.А. Андрекайте и соавт., 2011).

Відомо, що нейтрофіли мігрують з кровотоку до тканин та переважають у піхві пацієнтів з інфекцією. Тому, *in vitro* було проведене дослідження ФА ПЯЛ

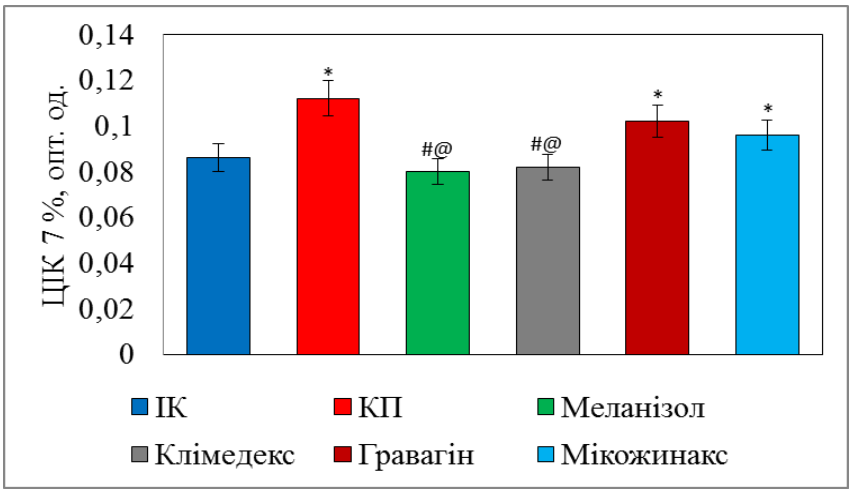

Рис. 8 Вплив «Клімедексу» та «Меланізолу» на рівень ЦІК в сироватці крові щурів-самиць на тлі експериментального вагініту (M±m, n=8)

Примітки:

1. відмінності вірогідні відносно: * – ІК ($p<0,05$); # – КП ($p<0,05$); @ – тварин, що отримували «Гравагін» ($p<0,05$);

2. n – кількість тварин у групі.

під впливом «Меланізолу» та «Клімедексу», які виявили активацію фагоцитозу (рис. 9).

Підвищився ФІ (див. рис. 9а), під впливом супозиторіїв «Клімедекс», а також відмічали тенденцію до підвищення цього показника під впливом супозиторіїв «Меланізол» (ФІ збільшився в 1,3 рази ($p<0,05$) та 1,2 рази ($p<0,05$) відповідно), ФЧ (див. рис. 9б) збільшилося на 33 % ($p<0,05$) та 30 % ($p<0,05$), відповідно. Підвищення показників ФА ПЯЛ під впливом «Клімедексу» *in vitro* можна пояснити наявністю в його складі кліндаміцину, який, за даними літератури, в експерименті *in vitro* активує фагоцитоз (S. Eick et al., 2000). Тенденцію до підвищення ФІ під впливом «Меланізола», найімовірніше можна пояснити наявністю олії чайного дерева, так як «Гравагін» (діюча речовина якого

метронідазол) проявив негативний вплив, що співпадає з даними літератури (L. Shakir et al., 2011).

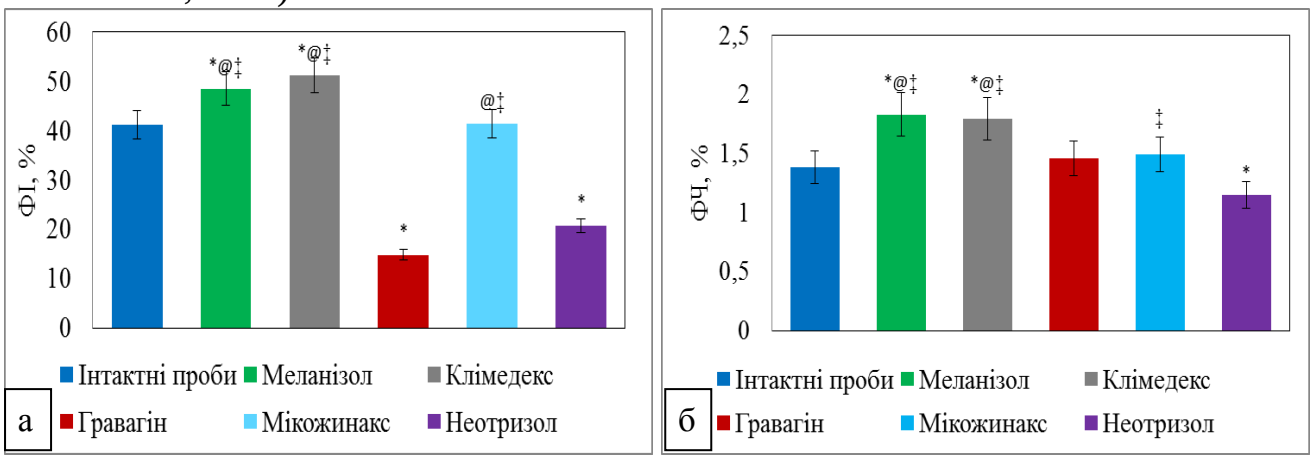

Рис. 9 Вплив засобів «Меланізол» і «Клімедекс» на показники ФА ПЯЛ: ФІ (а) та ФЧ (б) за умов *in vitro* (M±m, n=5)

Примітки:

1. відмінності вірогідні відносно: * – інтактних проб (p<0,05); @ – проб з «Гравагіном» (p<0,05); ‡ – проб з «Неотризолом» (p<0,05);

2. n – кількість проб.

Зниження рівня продукції Ig у сироватці крові та мукозальних секретах – відповідь на вплив інфекції, в тому числі СОП (F. Amjadi et al., 2014). «Іритативний» вагініт призводить до порушень рівня sIgA в сироватці крові та піхвовому вмісті на тлі експериментального вагініту. Зменшення концентрації вагінального sIg A у тварин КП вказує на зміни місцевого імунітету, які характерні для вагінітів (F. Amjadi et al., 2014, H. Turula et al., 2018).

Відмічено, що «Меланізол» та «Клімедекс» у щурів із вагінітом достовірно відновлювали рівень сироваткового та піхвового вмісті sIg A, що свідчить про їх позитивний вплив на стан гуморальної ланки імунітету вагіни.

Встановлено, що на тлі НВ відбувається активація ПЯЛ як першої лінії вродженого захисту та ефектора адаптивного імунітету. Дані літератури свідчать, що саме їхнє вивільнення активує запалення і окислювальний стрес у піхві, що призводить до продукції активних форм кисню (G.T. Nguyen et al., 2017), надмірне утворення яких активує процеси ПОЛ, сприяє пошкодженню широкого спектра клітинних компонентів (мембранних ліпідів, ферментів, ДНК і т.ін.) (H.Y. Guoet al., 2013) та призводить до загибелі клітин.

На тлі експериментального вагініту спостерігали кореляцію між активністю ПЯЛ та дисбалансом у системі ПОЛ-АОС (рис. 10) у гомогенаті тканини піхви щурів. Активність КАТ знизилася в 2,0 рази (p<0,05) та G-SH в 1,4 рази (p<0,05), а рівень ТБК-АП достовірно підвищився в 1,5 рази (p<0,05), що свідчить про виснаження АОС та активацію ПОЛ в тканинах піхви, яке супроводжується пригніченням кисень-залежних процесів. У сироватці крові також відзначені достовірні зміни показників системи ПОЛ-АОС, які характерні для процесу запалення (A.A. Vlasov et al., 2016): зниження активності КАТ в 1,3 рази (p<0,05), СОД в 1,7 рази (p<0,05) та збільшення рівня ТБК-АП в 2,3 рази (p<0,05).

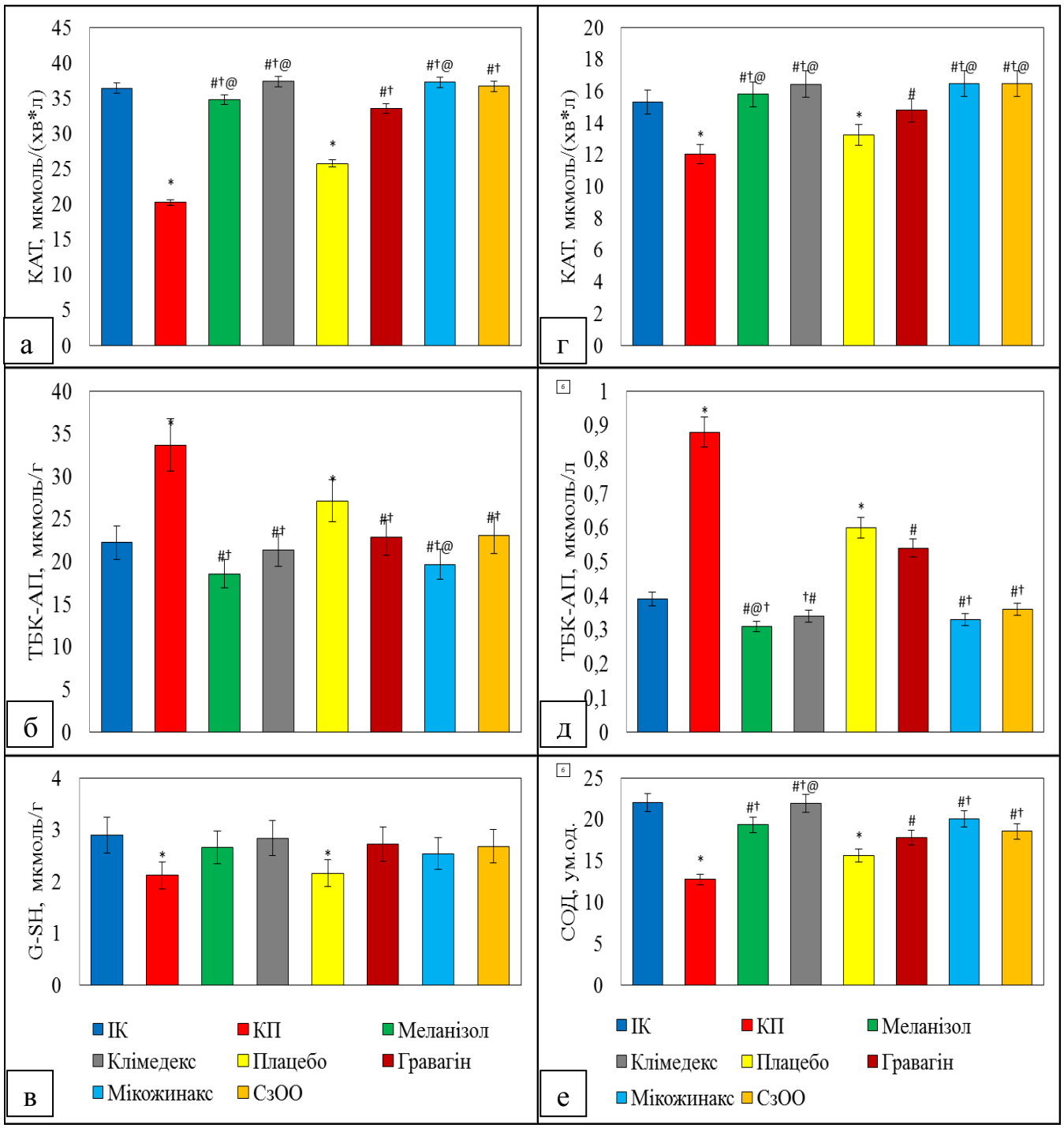

Рис. 10 Вплив «Меланізолу» та «Клімедексу» на показники системи ПОЛ-АОС у гомогенаті піхви (а-в) та у сироватці крові (г-е) щурів на тлі вагініту (M±m, n=6)

Примітки:

1. відмінності вірогідні відносно: * – ІК (p<0,05); # – КП (p<0,05); † – тварин, що отримували Плацебо (p<0,05); @ – тварин, що отримували «Гравагін» (p<0,05); ∧ – тварин, що отримували «Мікожинакс» (p<0,05); £ – тварин, що отримували «Клімедекс» (p<0,05); § – тварин, що отримували СзОО (p<0,05);

2. n – кількість тварин у групі.

«Клімедекс» та «Меланізол» відновлювали антиоксидантний захист тканини піхви і сироватки крові до рівня значень ІК та не поступалися референс-препаратам «Мікожинакс» та СзОО. За здатністю відновлювати знижену активність СОД «Клімедекс» перевершував (p<0,05) референс-препарат СзОО. За впливом на активність КАТ обидва засоби перевищували (p<0,05) песарії «Гравагін». Антиоксидантну активність «Клімедекса» та «Меланізола» можна пояснити, на наш погляд, також наявністю в їхньому складі рослинних олій – обліпихової та олії чайного дерева, які проявляють означену активність за рахунок фенольних сполук, монотерпенових спиртів, кетонів, альдегідів, вуглеводів та ін. (X. Zhanget al., 2018). Це також корелює з результатами підвищення рівня трансферинів, які, за даними літератури, чинять антиоксидантний ефект.

Також це свідчить про позитивний місцевий та системний вплив досліджуваних засобів, гальмування розвитку системних ускладнень при лікуванні НВ, і дозволяє стверджувати, що одним з механізмів дії «Клімедексу» та «Меланізолу» є антиоксидантний.

Дослідження нешкідливості вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» та «Клімедекс». З метою встановлення можливого негативного впливу супозиторіїв «Меланізол» та «Клімедекс» були досліджені деякі їхні показники у дослідах *in vitro* та *in vivo.*

Відомо, що препарати з антимікробною дією у високих концентраціях можуть чинити сперміцидний вплив (S.S. Kamaeva et al.,). Результати досліджень показали, що під впливом засобів «Меланізол» та «Клімедекс» через 60 сек сперміцидна активність складала 40 % та 37 %, відповідно. Такий ефект можна пояснити впливом антибіотиків, а також фізичними властивостями основи ПЕО, яка проявила сперміцидну активність – 18 %, найімовірніше, за рахунок осмотичних властивостей (Т.Г. Ярних та співавт., 2010.) та активної реакції pH в межах 5 од. (Ю.В. Левачкова та співавт., 2012), що, як правило, інактивує сперматозоїди (M. Hitit et al., 2020).

У МТТ-тесті з використанням клітин гепатоцелюлярної карценоми HepG2 під час дослідження впливу діючих речовин «Меланізолу» та «Клімедексу» поодиноко та при сумісному застосуванні для деяких речовин виявлено дозозалежний характер. Так олія чайного дерева в концентраціях 0,028-0,28 мкл/мл збільшувала кількість загиблих клітин від 33,46 до 81,04 % (p<0,05). Розчин метронідазолу в концентраціях 0,0018-0,072 % збільшував кількість загиблих клітин від 29,74 % (p<0,05) до 64,68 % (p<0,05). При сумісному застосуванні компонентів «Меланізолу» (олія чайного дерева та метронідазол) в еквівалентних концентраціях відмічено відсутність синергічного чи антагоністичного ефекту. Флуконазол та кліндоміцину фосфат у концентрації 0,28 мкг/мл за тих же умов викликали загибель клітин на рівні 10,5 та 10 %, відповідно. Дексаметазон протягом 48 годин не виявив токсичного або проліферативного впливу у кількості 0,08-0,004 мкг/мкл. При сумісному застосуванні складових «Клімедексу» в еквівалентних концентраціях з

додаванням обліпихової олії відмічено загибель 25 % клітин. Це, на наш погляд, можна пояснити протекторним впливом обліпихової олії на мембрану клітин.

Враховуючи той факт, що онкологічні захворювання жіночої репродуктивної системи набувають поширення (О.С. Рыжакова, 2008), доцільно було дослідити вплив «Меланізолу» на клітинні культури пухлин жіночих статевих органів HeLa (HPV-18-залежні), Siha (HPV-16-залежні), C33-A (не залежні від HPV), MCF-7. Встановлено, що олія чайного дерева в концентрації 0,14 мкг/мл виявила антипроліферативну активність проти культури клітин SiHa, яка склала 55 % ($p<0,05$), та поступалася за цією активністю доксорубіцину гідрохлориду. Клітини ліній HeLa, MCF-7 та C33-A виявилися більш стійкими до впливу олії чайного дерева. Метронідазол не чинив впливу на культури клітин SiHa, HeLa, MCF-7 та C33-A. При сумісному застосуванні олії чайного дерева та метронідазолу не відмічено синергічного ефекту.

За даними літератури, потенційна протипухлинна активність олії чайного дерева, зумовлена терпінен-4-олом, який здатний викликати каспаззалежну загибель апоптотичних клітин (M.E. Guicciardi et al., 2010). Отже, олія чайного дерева впливає на швидкопроліферуючі високочутливі клітини пухлин (S.J. Greay et al., 2010.; T. Luedde, 2011).

«Меланізол» у дозі 21 мг/кг не чинив місцевої подразнювальної дії на оваріектомованих білих нелінійних щурах-самицях та не впливав на естральний цикл у здорових щурів-самиць. У тесті гіперчутливості сповільненого типу на мурчаках «Меланізол» у дозі 7 мг/кг та «Клімедекс» у дозі 11,1 мг/кг не викликали сенсибілізації.

Повторне тривале вагінальне введення «Меланізолу» протягом 30 діб щурам-самицям у дозі 21 мг/кг та кролям-самицям у дозі 19,56 мг/кг довело їхню нешкідливість: не відмічено статистично достовірних відхилень фізіологічних показників здорових тварин, клінічних та біохімічних показників крові та складу сечі. Безпечність тривалого застосування «Меланізолу» підтверджена гістологічними дослідженнями.

Поєднання вищенаведених фармакологічних властивостей дозволяє вирішити одну з актуальних проблем сучасної медицини і фармації, а саме, забезпечити можливість застосування нових ефективних лікарських засобів у терапії НВ гострого і хронічного перебігу.

Результати поглибленого вивчення фармакологічних властивостей супозиторіїв (песаріїв) «Клімедекс» та «Меланізол» дозволяють вважати їх перспективними засобами для лікування НВ з таким механізмом дії, який дозволяє їм впливати на етіопатологічні фактори. За виразністю комплексної дії (антимікробної, протизапальної, антиоксидантної тощо) «Клімедекс» є активнішим при лікуванні гострих НВ, «Меланізол» – при лікувані субхронічних НВ.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової проблеми підвищення ефективності та безпеки лікування НВ за рахунок

створення нових вітчизняних місцевих ефективних лікарських засобів у вигляді комплексних вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» та «Клімедекс» на основі відомих існуючих активних синтетичних інгредієнтів та рослинних олій, які чинять протимікробну, протизапальну, ранозагоювальну, антиоксидантну та імуновідновлювальну дію та є перспективними для впровадження у клінічну практику з метою фармакотерапії НВ.

1. Встановлено, що додавання олії чайного дерева до метронідазолу у складі вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» розширює спектр їхнього впливу на аеробну мікрофлору та дріжджоподібні гриби. Доведена антимікробна активність «Меланізолу» по відношенню до музейних штамів бактерій, як аеробних (*S. aureus ATCC 25923, B. subtilis ATCC 6633),* так і анаеробних *(E. coli ATCC 25922),* а також до грибів – *C. albicans ATCC 885/653*. Аналіз впливу «Меланізолу» на клінічні штами мікроорганізмів довів їхній антитимікробний ефект по відношенню до *S. aureus, E. faecalis, E. coli* та *C. aibicans*. За антимікробною та протигрибковою активністю «Меланізол» переважав ($p < 0,05$) препарат порівняння «Гравагін».

2. На моделі запалення піхви, викликаного карагеніном, доведено протизапальний вплив «Меланізолу» (21 мг/кг) на простагландинову ланку (45 %, $p<0,05$), за яким «Меланізол» у 3,0 рази ($p<0,05$) перевершив ефективність «Гравагіну» (30 мг/кг) за рахунок додавання олії чайного дерева. На моделі запалення піхви, викликаного зимозаном, встановлено протизапальний вплив «Меланізолу» на лейкотрієнову ланку запалення (20 %, $p<0,05$), що був виразніший ($p<0,05$) за «Гравагін» та СзОО. Встановлено вплив «Клімедексу» (35 %, $p<0,05$) на лейкотрієнову ланку запалення, що був виразніший ($p<0,05$) за «Мікожинакс», СзОО та «Гравагін».

3. За умов профілактичного застосування «Клімедекс» (33,31 мг/кг) та «Меланізол» (21 мг/кг) виявили антиальтеративну активність, знижуючи ($p<0,05$) відсоток ураженої механічним подразником піхви (зменшення ЗПУП до 5 % ($p<0,05$) та 17 % ($p<0,05$) відповідно). «Клімедекс» виявив найвиразніший ($p<0,05$) антиальтеративний ефект, перевершуючи препарати «Гравагін», «Мікожинакс» та СзОО. «Меланізол» за здатністю знижувати ЗПУП виявився ефективнішим ($p<0,05$) за «Гравагін».

4. На моделях «механічного» та «хімічного» вагініту «Меланізол» у дозі 21 мг/кг покращував стан СОП, про що свідчило зниження ЗПУП у 2,9 рази ($p<0,05$), проявляв антимікробні властивості, знижуючи pH у піхві у 1,2 рази ($p<0,05$) та підвищуючи кількість глюкози у піхві у 2,0 рази ($p<0,05$), що сприяє розвитку індигенної мікрофлори; чинив протизапальний вплив, про що свідчить зниження кількості лейкоцитів у 1,4 рази ($p<0,05$), зниження маркеру запалення – загального білку у 1,3 рази ($p<0,05$) та зменшував цитолітичні прояви, що підтверджується зниженням активності АлАТ у 1,6 рази ($p<0,05$), відновленням показників ПОЛ-АОС (зниження у сироватці крові ТБК-АП у 1,4 рази ($p<0,05$) та у тканині піхви у 1,6 рази, $p<0,05$). За більшістю показників «Меланізол» перевершував референс-препарати «Гравагін» та СзОО. Гістологічне дослідження підтвердило позитивний вплив «Меланізолу» на моделі «хімічного» вагініту.

5. На тлі інфекційно-запального вагініту, обтяженого *E. coli,* доведено лікувальний ефект «Клімедексу» у дозі 33,31 мг/кг та «Меланізолу» у дозі 21 мг/кг, який полягав у антимікробному впливі по відношенню до УПМ, про що свідчило зниженням pH у 1,4 рази ($p<0,05$). Встановлено зниження проявів запалення, про що свідчила нормалізація показників клінічного аналізу крові (зменшення кількості лейкоцитів у 1,7 рази ($p<0,05$) і у 1,6 рази ($p<0,05$) та ШОЕ у 2,4 рази ($p<0,05$) і у 2,1 рази ($p<0,05$) відповідно) та зниження рівня загального білка у 1,5 рази ($p<0,05$) та 1,4 рази ($p<0,05$) відповідно). Відмічено, що механізм дії «Клімедексу» та «Меланізолу» полягає у відновленні транспортної функції трансферинів, що опосередковано проявилося здатністю відновлювати концентрацію Fe^{2+} у сироватці крові у 1,3 рази ($p<0,05$) в обох випадках), збільшувати ЗЗЗЗ, трансферинове насичення та рівень трансферинів. «Клімедекс» впливав на спорідненість трансферину до Fe^{2+}. Протизапальна, антимікробна, мебраностабілізувальна дія «Меланізолу» та «Клімедексу» була підтверджена ефективним ($p<0,05$) відновленням концентрацій хімічних елементів Na^{+}, K^{+}, Ca^{2+}, Fe^{2+} у піхві тварин.

6. На моделі «іритативного» вагініту «Клімедекс» (33,31 мг/кг) та «Меланізол» (21 мг/кг) проявили позитивний вплив, який полягав у зниженні температури і pH у піхві тварин, відновленні клінічних показників крові, у тому числі показників лейкоцитарних індексів та біохімічних показників крові і піхвового вмісту. З'ясовано вплив засобів на кількість та накопичення глікогену у тканині піхви на 5 добу у 2 рази ($p<0,05$), що підтверджено гістохімічним дослідженням. На моделі гострого вагініту активність «Клімедексу» була виразніша ($p<0,05$) ніж у «Меланізолу». На тлі субхронічного «іритативного» вагініту «Меланізол» проявив кращий ($p<0,05$) лікувальний ефект у порівнянні з «Клімедексом», про що свідчить зниження СРБ у 4,4 рази ($p<0,05$) під впливом «Меланізолу» та у 1,8 рази ($p<0,05$) під впливом «Клімедексу». «Меланізол» ефективніше ($p<0,05$) відновлював ФА ПЯЛ (ФІ та ФЧ підвищувалися у 1,3 рази ($p<0,05$) до рівня ІК) за «Клімедекс» (ФІ та ФЧ лишалися на рівні КП). «Меланізол» за всіма показниками перевищував ($p<0,05$) «Гравагін», «Мікожинакс» та СзОО.

7. Механізм дії комбінованих «Меланізолу» та «Клімедексу» пов'язаний із впливом на показники імунітету, що підтверджено зниженням рівня низькомолекулярних ЦІК (у 1,6 рази ($p<0,05$) та 1,4 рази ($p<0,05$) відповідно) на тлі вагініту. Відмічено, що під впливом «Клімедексу» та «Меланізолу» *in vitro,* спостерігали стимулювання фагоцитозу (збільшення ФЧ на 30 % ($p<0,05$) та 33 % ($p<0,05$) відповідно), підвищення ($p<0,05$) рівня сироваткового і вагінального sIg A та в умовах вагініту вплив на показники ПОЛ-АОС у крові: зменшення рівня ТБК-АП (у 2,8 рази ($p<0,05$) для «Меланізолу» та у 2,3 рази ($p<0,05$) для «Клімедексу»), покращення антиоксидантного захисту, підвищення активність КАТ і СОД (під впливом «Меланізолу» в 1,3 рази і 1,6 рази та «Клімедексу» – в 1,4 рази і 1,7 рази, $p<0,05$ у всіх випадках). У гомогенаті піхви «Клімедекс» та «Меланізол» підвищували КАТ в 1,9 рази та в 1,7 рази і G-SH в 1,3 рази та зменшували ТБК-АП в 1,6 рази і 1,8 рази, відповідно ($p<0,05$ у всіх випадках).

8. У дослідах *in vitro* показано слабкий сперміцидний вплив «Меланізолу» та «Клімедексу» 40 % ($p<0,05$) та 37 % ($p<0,05$) відповідно через 60 с. Засоби поступалися препарату порівняння «Еротекс». У МТТ-тесті на клітинах карциноми печінки людини HepG2 олія чайного дерева та метронідазол проявили дозозалежний цитотоксичний вплив (олія чайного дерева у концентраціях 0,028-0,28 мкл/мл чинила цитотоксичний ефект від 33,46 до 81,04% ($p<0,05$), розчин метронідазолу в концентраціях 0,0018-0,072 % спричиняв цитотоксичність від 29,74 % ($p<0,05$) до 64,68 % ($p<0,05$) відповідно). Флуконазол та кліндаміціну фосфат чинили слабкий цитотоксичний вплив щодо клітин HepG2 у максимальній концентрації 0,28 мкг/мл (10,5 % та 10 % відповідно). Дексаметазон не виявив токсичного або проліферативного впливу у діапазоні доз 0,08-0,004 мкг/мкл за тих же умов. При сумісному застосуванні у еквівалентних концентраціях інгредієнти «Меланізолу» та «Клімедексу» по відношенню до клітин HepG2 проявили цитотоксичний вплив, що становив 76 % та 25 % відповідно. Додаткове дослідження «Меланізолу» та його складових на культурах клітин SiHa, HeLa, MCF-7 та C33-A у досліді *in vitro* показало, що у дозі 0,14 мкг/мл олія чайного дерева виявила антипроліферативну дію (55 %, $p<0,05$) по відношенню до культури SiHa (HPV-16-залежних); метронідазол не виявив цитотоксичного впливу. При сумісному застосуванні не відмічено синергічного ефекту.

9. Дослідження параметрів безпеки «Меланізолу» та «Клімедексу» *in vivo* довело безпеку їхнього застосування (під впливом засобів не змінювалася тривалість естрального циклу і не виникало алергічних проявів). У оваріектомованих щурів-самиць доведено відсутність місцевоподразнювальної дії «Меланізолу». Експериментально доведено, що «Меланізол» та його Плацебо за умов повторного субхронічного (30 діб) вагінального введення в умовно-терапевтичних дозах щурам-самицям та кролям-самицям не викликали відхилень показників здорових тварин, не впливали на загальноклінічні та біохімічні показники крові та склад сечі. У кролів-самиць не спостерігали достовірно значущих відхилень рівнів статевих гормонів. Отримані результати були підтверджені гістологічними дослідженнями.

10. Комплекс отриманих результатів обґрунтовує доцільність застосування комбінованих вагінальних супозиторіїв (песаріїв) «Меланізол» та «Клімедекс» для лікування НВ. При цьому «Клімедекс» є перспективнішим при гострих НВ як інфекційної, так і неінфекційної етіології, як засобу з вираженим антимікробним, протигрибковим, протизапальним, репаративним, антиоксидантним та імуновідновлювальним впливом. «Меланізол» є перспективнішим засобом при субхронічних вагінітах та вагінітах з рецидивуючим перебігом як засіб з протизапальною, антимікробною, протигрибковою, помірною ранозагоювальною, антиоксидантною, імуновідновлювальною дією та засобом, що не чинить токсичного впливу на органи та системи за умов субхронічного застосування. Обидва засоби можна застосовувати з профілактичною метою за умов підготовки до втручань у піхву, які призводять до пошкодження СОП, що потребує підтвердження у клінічних дослідженнях.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Степанова К. О., Должикова О. В., Малоштан А. В. Вивчення місцево подразнювальної дії та впливу на стан естрального циклу нових песаріїв «Клімедекс», «Меланізол» та «Фітовагін». *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. № 4(15). С. 36–37. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу та проведенні дослідів, участь в узагальненні даних, підготовка до друку статті*).

2. Должикова О. В., Малоштан Л. М. Експериментальне вивчення протизапальних властивостей нових супозиторіїв вагінальних «Меланізол». *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології :* зб. наук. пр. 2014. Вип. 4 (124). С. 161–166. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

3. Должикова О. В., Малоштан Л. М. Гістоморфологічні дослідження впливу нових супозиторіїв вагінальних «Меланізол» на стан піхви щурів на тлі експериментального вагініту. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2014. № 4-5 (40). С. 25–31. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, моделювання вагініту та підготовка органів до гістологічного дослідження, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

4. Должикова Е. В., Малоштан Л. Н. Влияние суппозиториев вагинальных «Меланизол» на течение експериментального вагинита у крыс. *Медицина и образование в Сибири:* сетевое науч. изд. 2015. № 1. URL: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1667. (Дата обращения : 06.03.2015). (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті)*.

5. Dolzhykova O. V., Maloshtan L. N. Microbiological predication of vaginal suppositories «Melanizol» using for nonspecific vaginitis treatment. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 3(44). С. 20–23. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу та проведенні дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

6. Должикова Е. В., Малоштан Л. Н. Изучение влияния суппозиториев вагинальных «Меланизол» на репродуктивную систему кроликов при длительном применении. *Вестник фармации*. 2016. № 3(73). С. 87–91. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

7. Dolzhykova O. V., Maloshtan L. M. Pathomorphological research of vaginal suppositories "Melanizol" against irritative vaginitis. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 5(46). С. 21–27. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, моделювання вагініту та підготовка до гістологічного дослідження, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

8. Dolzhykova O. V., Maloshtan L. M. Pathomorpological research of vaginal suppositories "Klimedeks" in rats with the irrytative vaginitis. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 6(47). С. 30–36. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, моделювання вагініту та підготовка до гістологічного дослідження, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

9. Dolzhykova O. V., Maloshtan L. M., Yeriomenko R. F., Maloshtan V. A. Effect of the vaginal pessaries «Меланізол»® and «Клімедекс»® on the glycogen level in the vaginal tissue of rats on the background of experimental vaginitis. *Čes. slov. Farm.* 2017. Vol. 66. P. 117–126. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, моделювання вагініту, проведення досліду та підготовка до гістохімічного дослідження, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

10. Должикова О. В., Малоштан Л. М. Вивчення деяких фармакодинамічних особливостей вагінальних супозиторіїв «Клімедекс» та «Меланізол». *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2017. Том 12, № 2. С. 27–31. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

11. Должикова О. В., Малоштан Л. М., Єрьоменко Р. Ф. Вплив супозиторіїв вагінальних на гемостаз заліза на тлі експериментального вагініту, обтяженого *Escherichiacoli*. *Клінічна фармація*. 2017. Т. 21, № 432. С. 31–36. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

12. Должикова О. В., Малоштан Л. М., Буравель Г. О. Вивчення фармакологічних властивостей вагінальних супозиторіїв «Меланізол» та «Клімедекс» на моделі експериментального вагініту. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 3(56). С. 4–9. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, взяття матеріалу для мікробіологічних досліджень, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

13. Должикова О. В., Малоштан Л. М. Вплив супозиторіїв «Меланізол» і «Клімедекс» на фагоцитарну активність поліморфноядерних лейкоцитів *in vitro*. *Фармацевтичний журнал.* 2019. № 3. С. 96–101. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

14. Должикова О. В., Малоштан Л. М. Вплив супозиторіїв «Меланізол» на рівень електролітів у щурів на тлі експериментального вагініту. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 3 (60). С. 57–62. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

15. Должикова Е. В., Малоштан Л. Н. Изменение уровня ЦИК под влиянием суппозиториев «Меланизол» и «Климедекс» на модели експериментального вагинита у крыс. *Фармация Казахстана*. 2019. № 6 (215). С. 14–18. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

16. Dolzhykova O., Maloshtan L. The influence of vaginal suppositories «Melanizol» on the system of LPO-AOS in condition of model of a nonspecific vaginitis in rats. *EUREKA: Health Sciences.* 2019. № 5. P. 21–27. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

17. Должикова О. В., Малоштан Л. М. Вплив супозиторіїв «Меланізол» на клінічні показники крові на тлі неспецифічного вагініту в щурів.

Фармацевтичний часопис. 2019. № 3. С. 67–73. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, обробка даних, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

18. Должикова О. В., Малоштан Л. М. Вплив вагінальних супозиторіїв «Клімедекс» на стан системи ПОЛ-АОС на моделі неспецифічного вагініту у щурів. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 4. С. 73–80. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

19. Должикова О. В., Малоштан Л. М., Остапець М. О. Експериментальне дослідження впливу супозиторіїв «Меланізол» та «Клімедекс» на біохімічні показники крові при неспецифічному вагініті. *Клінічна фармація.* 2020. Т. 24, № 1. С. 20–25. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу та проведенні дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

20. Dolzhykova O., Maloshtan L. Research of medical treatment influence of Melanizol suppositories on background of mechanical vaginitis in rats. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2020. № 1 (23). P. 29–33. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

21. Должикова О. В., Малоштан Л. М. Вивчення впливу супозиторіїв вагінальних «Меланізол» при тривалому застосуванні у щурів. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 1(53). С. 82–88. (*Особистий внесок: участь у розробці протоколу, проведення дослідів, участь в узагальненні даних, написання першого варіанту статті*).

22. Должикова О. В., Єрьоменко Р. Ф., Козар В. В., Литвинова О. М. Рівень сироваткових і вагінальних імуноглобулінів при експериментальному вагініті та за умов фармакологічної корекції. *Запорізький медичний журнал*. 2020. Т. 22, № 2 (119). С. 186–191. (*Особистий внесок: участь у розробці концепції та дизайну дослідження, збір даних; аналіз та інтерпретація даних; написання статті*).

23. Степанова К. О., Должикова О. В., Малоштан Л. М., Малоштан А. В. Спосіб моделювання асептичного запалення слизової оболонки піхви: пат. 62115 України на корисну модель. № u 201101356 ; заявл. 07.02.2011 ; опубл. 10.08.2011, Бюл. № 15. (*Особистий внесок: участь у здійсненні патентного пошуку, участь у розробці концепції та дизайну моделі, підбір тварин, розробка критеріїв оцінювання, участь у виконанні дослідження, аналіз даних, написання та оформлення заявки)*.

24. Степанова К. О., Должикова О. В., Доброва В. С., Малоштан А. В. Спосіб визначення протизапальної активності вагінальних лікарських засобів на моделі гострого запалення піхви : пат. 99553 України на винахід. № a 201105765 ; заявл. 10.05.2011; опубл. 27.08.2012, Бюл. № 16. (*Особистий внесок: участь у здійсненні патентного пошуку, участь у розробці концепції та дизайну моделі, підбір тварин, виконання дослідження, пошук критеріїв оцінювання, аналіз даних, написаня та оформлення заявки*).

25. Пуль В. В., Степанова К. О., Должикова О. В. Доцільність використання супозиторіїв для лікування запальних захворювань жіночих статевих органів.

Актуальні питання створення нових лікарських засобів : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених, 21–22 квіт. 2010 р. Харків : НФаУ, 2010. С. 280. *(Особистий внесок – участь в літературному пошуці, аналізі даних та підготовці тез до видання)*

26. Степанова К. О., Должикова О. В., Малоштан Л. М. Вплив песаріїв «Меланізол», «Клімедекс» та «Фітовагін» на стан системи ПОЛ-АОС щурів самиць на тлі «механічного» вагініту. *Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів* : матеріали XXVIII всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 3 лют. 2011 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2011. С. 396–400. *(Особистий внесок:участь в літературному пошуці, дослідженні засобу «Меланізол», аналізі даних та підготовці до видання)*.

27. Малоштан Л. М., Должикова О. В., Степанова К. О. Дослідження впливу песаріїв «Меланізол», «Клімедекс» та «Фітовагін» на перебіг «механічного» вагініту у щурів-самиць. *Фармакологія та лікарська токсикологія* : матеріали IV Нац. з'їзду фармакологів України, м. Київ, 10–12 жовт. 2011 р. Київ : Видавничий дім «Авіцена», 2011. С. 201–202. *(Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез)*

28. Мельничук Є. Р., Степанова К. О., Должикова О. В. Сучасний стан інфекційних захворювань жіночої статевої сфери. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених, м. Харків, 19–20 квіт. 2012 р. Харків : НФаУ, 2012. С. 393. *(Особистий внесок – участь в літературному пошуці, аналізі даних та підготовці тез до видання)*

29. Должикова О. В. Малоштан Л. М., Малоштан А. В., Степанова К. О. Використання м'яких лікарських форм для лікування вагінітів. *Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань* : матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 11–12 квіт. 2013 р. Харків : НФаУ, 2013. С. 82–83. *(Особистий внесок – участь в літературному пошуці, аналізі даних та підготовці тез до видання)*

30. Должикова Е. В., Малоштан А. В., Малоштан Л. Н., Кононенко А. Г. Влияние суппозиториев вагинальных «Меланизол» и «Фитовагин» на систему ПОЛ-АОС на фоне експериментального вагинита. *Фундаментальные и прикладне исследования, разработк и применение високих технологий в промышленности и экономике* : сб. ст. Пятнадцатой междунар. науч.-практ. конф., г. Санкт-Петербург, 25–26 апр. 2013 г. Санкт-Петербург : Изд-во политехн. ун-та, 2013. Т. 1: Высокие технологии, исследования, финансы. С. 138–141. *(Особистий внесок – участь в літературному пошуці, дослідженні засобу «Меланізол», аналізі даних та підготовці до видання)*.

31. Гейдерих А. С., Должикова Е. В. Перспективы использования масла чайного дерева в медицине и фармации. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали I Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 20–21 берез. 2014 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2014. С. 67–68. *(Особистий внесок – участь в літературному пошуці, аналізі даних та підготовці тез до видання)*.

32. Должикова О. В. Вплив тривалого застосування вагінальних супозиторіїв

«Меланізол» на функції нирок у здорових щурів. *Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю та школою молодих вчених, м. Харків, 1–3 жовт. 2014 р. Харків : Титул, 2014. С. 39–40. *(Особистий внесок – участь в літературному пошуці, аналізі даних та підготовці тез до видання. Друк тез та доповідь)*.

33. Должикова Е. В. Влияние длительного введения суппозиториев вагинальных «Меланизол» на организм здоровых кролей. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2015* : сб. тез. докладов 69-й науч.-практ. конф. и студентов и молодых ученых с междунар. участием, г. Минск, 15–17 апр. 2015. Минск : БГМУ, 2015. С. 1596.

34. Сиващенко В. В., Должикова Е.В. Морфологические изменения во влагалище крыс при экспериментальном вагините. S*cience and medicine: a modern view of youth* : collection of abstracts of II International Scientific-Practical Conference of Students and Young Scientists, Dedicated to the 85th Anniversary of Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, April 23–24, 2015. Almaty, 2015. P. 155. *(Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез)*.

35. Должикова О. В., Малоштан Л.М. Вплив супозиторіїв вагінальних «Меланізол» на рівень білку у щурів на тлі експериментального вагініту щурів. *Безпека та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування* : матеріали Четвертої наук.-практ. конф., присвяч. пам’яті проф., д-ра мед. наук. Вікторова О.П., м. Київ, 11–12 жовт. 2016 р. Київ, 2016. С. 30–31. *(Особистий внесок – участь в літературному пошуці, аналізі даних та підготовці тез до видання)*.

36. Должикова О. В. Дослідження супозиторіїв вагінальних «Меланізол» та «Клімедекс» на тлі іритативного вагініту у щурів. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції* : матеріали VII Нац. конгр. патофізіологів України з міжнар. участю, м. Харків, 5–7 жовт. 2016 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 77.

37. Боднарчук И. И., Должикова Е. В. Применение суппозиториев вагинальных «Меланизол» и «Климедекс» при экспериментальном вагините у крыс. *Медицинская наука: достижения и перспективы* : маретиалы XI науч.-практ. конф. Молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абу али ибн Сино с междунар. участием, посвят. 25-летию гос. независимости Республики Таджикистан, г. Душанбе, 26 апр. 2016 г. Душанбе, 2016. С. 321–322. *(Особистий внесок – участь в дослідженні засобу «Меланізол», узагальненні результатів та підготовці тез)*

38. Должикова О. В., Малоштан Л. М. Головні напрямки фармакотерапії неспецифічних вагінітів. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19–20 верес. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 2. С. 282–283. *(Особистий внесок – участь в літературному пошуці, аналізі даних та підготовці тез до видання)*.

39. Должикова О. В., Комісова Т. Є., Іонов І. А. Застосування нових вагінальних супозиторіїв для лікування запальних захворювань жіночої репродуктивної

систем. *Природнича наука й освіта: сучасний стан і перспективи розвитку* : матеріали II Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 20–22 верес. 2019 р. Харків : ХНПУ, 2019. С. 81–83. *(Особистий внесок – участь в експерименті, узагальненні результатів та підготовці тез. Друк тез та доповідь*).

40. Должикова О. В., Малоштан Л. М., Козар В. В. Неспецифічний вагініт: доклінічне вивчення терапевтичної ефективності комбінованих супозиторіїв із рослинними компонентами : метод. рек. Харків : НФаУ, 2020. 31 с. *(Особистий внесок: участь у розробці структури рекомендацій, написання першого варіанту методичних рекомендацій, узагальненні матеріалів та їх підготовці до друку)*.

41. Степанова К. О., Должикова О. В., Малоштан Л. М., Малоштан А. В. Спосіб моделювання експериментального вагініту у щурів : інформ. лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 44-2011. Київ : Центр «Укрмедпатентінформ» МОЗ України, 2011. 2 с. *(Особистий внесок – розробці концепції та дизайну дослідження, підбір тварин для дослідження, розробка критеріїв оцінювання, участь у підготовці інформаційного листа до видання)*.

42. Малоштан Л. М., Должикова О. В., Гейдеріх Г. С. Використання методики визначення трансферинів сироватки крові, як діагностичного критерію неспецифічного вагініту, обтяженого аеробною мікрофлорою : інформ. лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 147-2014. Київ : Центр «Укрмедпатентінформ» МОЗ України, 2014. 3 с. *(Особистий внесок: участь в розробці концепції та дизайну дослідження, збір та аналіз даних, участь у підготовці інформаційного листа до видання)*.

АНОТАЦІЯ

Должикова О. В. **Експериментальне обґрунтування оптимізації лікування неспецифічних вагінітів комбінованими вагінальними супозиторіями з рослинними оліями.** – На правах рукопису.

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

У дисертаційній роботі обґрунтовано доцільність оптимізації лікування неспецифічних вагінітів гострого та хронічного перебігу, збільшення ефективності та безпечності супозиторіїв вагінальних (песаріїв) за рахунок додавання до їхнього складу рослинних олій: обліпихової та олії чайного дерева.

За результатами досліджень доведено, що «Меланізол» та «Клімедекс» проявляють антимікробну, протигрибкову, протизапальну, антиоксидантну, мембраностабілізуючу активності на моделях вагінітів неінфекційної етіології та вагініту, обтяженого *E. coli*, а також на вагінітах гострого та хронічного перебігу. Механізм дії досліджуваних песаріїв полягає у активації місцевого імунітету, а саме підвищенні активності sIgA, ФА ПЯЛ *in vitro*, відновленні балансу Ca^{2+}, K^{+} та Na^{+}, покращенні транспорту Fe^{2+} та підвищенні рівня трансферинів. Доведено високу ефективність та безпеку засобу «Меланізол» при субхронічному застосуванні. «Клімедекс» є перспективнішим при гострих вагінітах як

інфекційної, так і неінфекційної етіології як засіб з антимікробною, протигрибковою, протизапальною, репаративною, антиоксидантною та імуностимулювальною дією. «Меланізол» – при хронічних вагінітах та вагінітах з рецидивуючим перебігом. Обидва засоби можуть також застосовуватись як профілактичні під час підготовки до втручань у піхву, які призводять до пошкодження слизової оболонки, що потребує підтвердження клінічними дослідженнями.

Ключові слова: запальні захворювання жіночої статевої системи, неспецифічний вагініт, доклінічні дослідження, вагінальні супозиторії (песарії), антимікробна активність, протизапальна активність, олія чайного дерева, обліпихова олія.

АННОТАЦИЯ

Должикова Е. В. **Экспериментальное обоснование оптимизации лечения неспецифических вагинитов комбинированными вагинальными суппозиториями с растительными маслами**. – На правах рукописи.

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

В диссертационной работе обоснована целесообразность оптимизации лечения неспецифических вагинитов острого и хронического течения, увеличение эффективности и безопасности суппозиториев вагинальных (пессариев) за счет добавления в их состав растительных масел: облепихового и масла чайного дерева.

Результаты исследований доказывают, что суппозитории (пессарии) «Меланизол» и «Климедекс» проявляют антимикробную, противогрибковую, противовоспалительную, антиоксидантную, мембраностабилизирующую активности на моделях вагинитов неинфекционной этиологии и вагинита, отягощенного *E. coli*, а также на вагинитах острого и хронического течения. Механизм действия исследуемых пессариев заключается в активации местного иммунитета, а именно повышении активности sIgA, фагоцитарной активности полиморфноядерных лейкоцитов (ПЯЛ) *in vitro*, восстановлении баланса Ca^{2+}, K^{+} и Na^{+}, улучшении транспорта Fe^{2+} и повышении уровня трансферринов. Доказана высокая эффективность и безопасность средства «Меланизол» при субхроническом применении. При этом «Климедекс» является более перспективным при острых вагинитах как инфекционной, так и неинфекционной этиологии в качестве средства с антимикробным, противогрибковым, противно-воспалительным, репаративным, антиоксидантным и иммуностимулирующим действием; «Меланизол» – при хронических вагинитах и вагинитах с рецидивирующим течением. Также оба средства могут быть применены в качестве профилактических при подготовке к вмешательству во влагалище, которое приводит к повреждению слизистой оболочки, что требует подтверждения в клинических исследованиях.

Ключевые слова: воспалительные заболевания женской половой системы, неспецифический вагинит, доклинические исследования, вагинальные суппозитории (песарии), антимикробная активность, противовоспалительная активность, масло чайного дерева, облепиховое масло.

SUMMARY

Dolzhykova O. V. The experimental substantiation of the treatment optimization of nonspecific vaginitis with combined vaginal suppositories containing plant oils. – A qualifying scientific work as a manuscript.

The thesis for a degree of Doctor of Pharmacy in specialty 14.03.05 “Pharmacology”. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The thesis is devoted to generalization of the treatment optimization of nonspecific vaginitis of acute and chronic course. An increase in the effectiveness and safety of vaginal suppositories (pessaries) by adding such plant oils as sea buckthorn and tea tree oil to their composition has been substantiated.

It has been found that the combination of tea tree oil with metronidazole in “Melanizol” pessaries allows to expand the range of their activity against museum and clinical strains of both aerobic and anaerobic and *C. albicans* that can provoke nonspecific vaginitis (NV) under certain conditions. For the first time, on the model of vaginal inflammation caused by different phlogogens (carrageenan and zymosan), the anti-inflammatory activity of “Melanizol” pessaries in the dose of 21 mg/kg (44.92 % for carrageenan and 20 % for zymosan, $p<0.05$) has been proven to be significantly ($p<0.05$) superior to “Gravagin” pessaries in the dose of 30 mg/kg.

The effectiveness of “Melanizol” on the background of “mechanical” and “chemical” vaginitis in rats has been proven. It has been confirmed by planimetric, physicochemical, clinical and biochemical studies of the blood and vaginal discharge. In our model of “chemical” vaginitis the effectiveness of “Melanizol” pessaries was confirmed histologically. By its efficiency “Melanizol” exceeded the “Gravagin” ($p<0.05$).

For the first time, in the case of vaginitis in rats burdened with *E. coli*, the effectiveness of the combined pessaries “Klimedeks” (33.31 mg/kg) and “Melanizol” (21 mg/kg) has been determined and proven by a distinct effect on clinical and biochemical indicators. It has been found that the anti-inflammatory, antimicrobial, membrane-stabilizing activities of the pessaries studied are indirectly associated with the restoration of disturbed concentrations of Na^+, K^+, Ca^{2+}, Fe^{2+} in the animal vaginal discharge. In this experimental model of vaginitis, it has been found that the mechanism of action of these two combined drugs is to reduce the opportunistic pathogenic micriflora level by increasing the total iron-binding capacity in the blood serum and the transferrin level, which limits the availability of Fe^{2+} microorganisms. It has been proven that “Klimedeks” pessaries are superior to “Micogynax” vaginal tablets, while “Melanizol” pessaries exceeds “Gravagin”.

The advantage of the effectiveness of “Klimedeks” (33.31 mg/kg) over “Melanizol” (21 mg/kg) on the background of acute “irritative” vaginitis in rats has been confirmed by physicochemical (decrease in the pH level by 1.13 and 0.63 in the vagina, respectively; $p<0.05$), hematological (decrease in the number of leukocytes, ESR), and biochemical indicators. “Klimedeks” pessaries (33.31 mg/kg) showed a significantly ($p<0.05$) more pronounced local effect on “Melanizol” confirmed biochemically. The restoration of the native microflora has been also observed against the background of the treatment with the pessaries studied by increasing gram-positive rods, which is facilitated by the increase in the amount of glycogen in the vaginal tissue. The advantage of “Melanizol” (21 mg/kg) over “Klimedeks” (33.31 mg/kg) on the background of subchronic vaginitis in ratshas been proven by the hematological and biochemical studies.

It has been found that “Klimedeks” (33.31 mg/kg) and “Melanizol” (21 mg/kg) have the immunostimulatory effect and affect the local immunity (*in vitro* stimulation of polymorphonuclear leukocyte (PMNL) phagocytosis, the level of sIgA in the blood serum and vaginal discharge, and circulating immune complexes (CIC) decrease in the blood). They also show the mebrane-protective effect with the involvement of antioxidant-prooxidant system (increased activity of superoxide dismutase in the blood, catalase in the blood and the vaginal tissue, level of reduced glutathione (G-SH) in the vaginal tissue, reactants that react with thiobarbituric acid (TBA-AP) in the vaginal tissue and the blood serum of the experimental animals).

Proved in the experience *in vitro* on the culture of HepG2, that “Melanizol” detected active cytotoxic effect compared to “Klimedeks” and “Melanizol” has developed cytotoxic influence on the culture of SiHa. Safety studies of “Klimedeks” and “Melanizol” showed safe for use *in vivo*.

The results obtained substantiate the expediency of using combined vaginal pessaries “Melanizol” and “Klimedeks” for the treatment of NV. “Klimedeks” is more promising in acute vaginitis, both infectious and non-infectious etiology as an agent with the antimicrobial, antifungal, anti-inflammatory, reparative, antioxidant and immunostimulatory effects. “Melanizol” is a more promising agent for chronic vaginitis and vaginitis with a recurrent course, as an agent with the anti-inflammatory, antimicrobial, antifungal, moderate wound healing, antioxidant, immunostimulatory effect, and does not have toxic effects on organs and systems under conditions of its subchronic use. Both drugs can also be used as preventive drugs in preparation for surgical intervention, which requires confirmation in clinical trials.

Key words: inflammatory diseases of the female reproductive system, nonspecific vaginitis, preclinical studies, pessaries, antimicrobial activity, anti-inflammatory activity, tea tree oil, sea buckthorn oil.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза
АОС –антиоксидантна система
АсАТ – аспартатамінотранс-фераза
БАР – біологічно активна речовина
БВ – бактеріальний вагіноз
ДМСО – диметилсульфоксид
ЗЗЖСО – запальні захворювання жіночих статевих органів
ЗЗЗЗ – загальна залізо-зв’язувальна здатність
ЗПУП – загальна площа ураженої піхви
ІЗЛК – індекс зсуву лейкоцитів крові
ІК – інтактний контроль
ІКр – індекс Кребса
ІСЛМ – індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів
ІСНМ – індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів
КАТ – каталаза
КМ – коефіцієнт маси
КП – контрольна патологія
ЛІ – лейкоцитарний індекс
ЛІІ – лейкоцитарний індекс інтоксикації
ЛДГ – лактатдегідрогеназа
ЛФ – лужна фосфатаза
МБК – мінімальна бактерицидна концентрація
МІК – мінімальна інгібуюча концентрація
НВ – неспецифічний вагініт
НЗЗЗ – ненасичена залізо-зв’язувальна здатність
НТ – насичення трансферинів
ПА – протизапальна активність
ПАФ – повний ад'ювант Фрейнда
ПЕО – поліетиленоксид
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
ПЯЛ – поліморфноядерні лейкоцити
СОД – супероксиддисмутаза
СзОО – супозиторії з обліпиховою олією
СРБ – С-реактивний білок
ТБК-АП – реактанти, що взаємодіють з тіобарбітуровою кислотою
УПМ – умовно-патогенні мікроорганізми
ФА – фагоцитарна активність
ФІ – фагоцитарний індекс
ФЧ – фагоцитарне число
ЦІК – циркулюючі імунні комплекси
ШИК – Шифф-йодна кислота
ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів
ЯІ – ядерний індекс
G-SH – glutathione (L-reduced), відновлений глутатіон
HPV – human papillomavirus
Ig – імуноглобулін
sIg – секреторний імуноглобулін

Формат 60х84/16. Ум. друк. арк. 1.9. Тир. 100 прим. Зам. № 100-21.
Підписано до друку 16.02.2021. Папір офсетний.

Надруковано з макету замовника у ФОП Бровін О.В.
61022, м. Харків, вул. Трінклера, 2, корп.1, к.19. Т. (057) 758-01-08, (066) 822-71-30
Свідоцтво про внесення суб'єкта до Державного реєстру
видавців та виготовників видавничої продукції серія ДК 3587 від 23.09.09 р.

СТИЛЬ-ИЗДАТ®
ТИПОГРАФИЯ
www.stil-izdat.com