

## АНОТАЦІЯ

*Мірзалієв М.Т.* Експериментальне дослідження ефективності екстракту капусти городньої (*Brassica oleracea* L.) при виразкових ураженнях. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація» (22 – охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертаційну роботу присвячено виявленню гастропротекторних властивостей сухого екстракту з надземної частини капусти городньої. Капуста городня має багатовіковий досвід застосування в народній медицині і світову популярність завдяки своїм унікальним властивостям. Вона культивується по всій території України і має достатню сировинну базу. Сухий екстракт з капусти городньої (СЕКГ) містить комплекс БАР: флавоноїди, органічні кислоти, полісахариди, сірковмісні глікозиди – глікобрасидін, неоглікобрасидін, пектинові речовини, похідні гідроксикоричної кислоти, поліфеноли, кумарини, каротиноїди, сапоніни, а також специфічні БАР - метил-метіонін-сульфон, індол-3-карбінол, сірковмісні глікозиди (сульфорафан). Аналізуючи викладене можна зробити висновок, що БАР СЕКГ мають всі властивості, які необхідні для лікування виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки. Розглянувши фітохімічні властивості капусти городньої, можна стверджувати про наявність вираженого противиразкового потенціалу БАР, що входять до її складу, а створення препаратів на основі екстракту капусти городньої дозволить розширити і оптимізувати фітотерапію виразкової хвороби.

Тому метою даної роботи стало вивчення фармакологічної (гастропротекторної) активності СЕКГ та експериментальне обґрунтування його застосування. Для досягнення поставленої мети дисертаційної роботи нами був поетапно проведений комплекс фармакологічних досліджень, який включав вирішення таких завдань – як теоретичне обґрунтування доцільності

створення нових лікарських препаратів на основі БАР капусти городньої, а зокрема, для корекції захворювань шлунково-кишкового тракту; дослідження фармакологічних властивостей та проведення поглибленого вивчення противиразкової дії СЕКГ, а саме, дослідження противиразкової активності на моделях гострих, підгострих і хронічних виразкових уражень слизової оболонки шлунка у щурів.

На першому етапі було досліджено і обґрунтовано противиразкові складові СЕКГ. На моделях гострого карагенінового та зимозанового набряку лапи у дослідних тварин найбільшу ефективність СЕКГ виявляє в дозі 50 мг/кг, яку обрано як умовно-терапевтичну для подальших експериментів.

Альтерація є пусковим механізмом будь-якого запального процесу незалежно від етіологічного чинника. Вплив СЕКГ у дозі 50 мг/кг на перебіг альтеративної запальної реакції вивчали на моделі альтеративного запалення шкіри та підшкірної клітковини у щурів, яке викликали підшкірним введенням розчину оцтової кислоти одночасно із внутрішньоочеревинним введенням декстрану. Встановлено виражену антиальтеративну та ранозагоювальну дію СЕКГ, про що свідчило прискорення швидкості загоєння та зменшення площі ран під впливом СЕКГ з 4-го дня лікування. За швидкістю загоєння ран СЕКГ перевершує дію препарату порівняння - альтану на дев'яту добу лікування в 1,5 рази.

Можливу антипроліферативну активність (здатність речовин зменшувати утворення грануляційно-фіброзної тканини) СЕКГ вивчали на моделі «ватної гранульоми» у щурів. Екстракт капусти гальмував утворення гранульоми: маса сухої грануляційно-фіброзної тканини достовірно зменшилася на 29% у порівнянні з нелікованим контролем, але поступався за своєю ефективністю препарату порівняння – індометацину, який гальмував утворення гранульоми на 44%.

Перебіг виразкового процесу шлунку та дванадцятипалої кишки характеризується наявністю больового синдрому, тому для препаратів, призначених для корекції запалення слизової оболонки шлунка та

дванадцятипалої кишки, важлива аналгетична дія. Для вивчення механізмів периферичної аналгетичної дії СЕКГ використовували модель «оцтовокислих корчів». Аналіз отриманих результатів свідчить про здатність СЕКГ вірогідно зменшувати кількість корчів у мишей у порівнянні з контрольною групою.

Досліджуваний СЕКГ проявляв помірну знеболюючу дію і зменшував сприйняття больових подразнень на 35% у порівнянні з контролем. Препарат порівняння метамізол натрію зменшував чутливість ноцицепторів щодо хімічного подразника на 54%, а альтан – на 26%. Тобто, досліджуваний сухий екстракт капусти городньої перевершував за аналгетичною активністю рослинний препарат порівняння альтан, але поступався синтетичному препарату порівняння – метамізолу натрію. Це свідчить про те, що СЕКГ здатний пригнічувати больовий синдром за рахунок гальмування біохімічних альгогенів (серотоніну, гістаміну, брадикініну).

До складу СЕКГ входять флавоноїди, каротиноїди, аскорбінова кислота, мікроелементи які є природними антиоксидантами та забезпечують його антиоксидантну і репаративну дії. Антиоксидантний ефект є одним із компонентів мембраностабілізуючої дії. Встановлено, що сухий екстракт капусти городньої має мембранопротекторну дію на рівні 56%, яка за вираженістю перевищувала дію препарату порівняння альтан (44%).

Сірковмісні глюкозинолати і сульфорафан СЕКГ мають ще одну надзвичайно важливу фармакологічну дію – антимікробну та бактерицидну проти *Helicobacter pylori*, яка відіграє найважливішу етіологічну роль майже всіх виразкових уражень шлунку та дванадцятипалої кишки.

Результати дослідження антимікробної активності показали, що СЕКГ впливає на збудників запальних процесів шлунково-кишкового тракту – бактерій кишково-тифозної групи.

Результати проведених досліджень дозволили встановити у СЕКГ протизапальні, антиальтеративні, ранозагоювальні, антипроліферативні,

аналгетичні, мембраностабілізувальні, антиоксидантні і антимікробні властивості.

Аналіз отриманих результатів дозволив визначити спектр фармакологічної дії СЕКГ як достатній, щоб забезпечити виражений позитивний лікувальний вплив на перебіг виразкової хвороби шлунка. Саме тому наступним етапом нашої роботи стало вивчення специфічної фармакологічної активності СЕКГ на експериментальних моделях гострих, підгострих і хронічних виразок шлунка у щурів.

У результаті експерименту встановлено, що СЕКГ на всіх моделях виразок здатен чинити лікувальну дію на слизову оболонку шлунка дослідних тварин і позитивно впливати на перебіг пептичного ушкодження шлунка. На моделі гострої спирто-преднізолонової виразки шлунка у щурів дослідження показали, що під впливом лікувально-профілактичного застосування СЕКГ знижується кількість тварин з виразками, площа виразок і значення виразкового індексу. Противиразкова активність СЕКГ становила 96,5%, що на 17,9% більш ніж при лікуванні альтаном. При морфологічному дослідженні встановлено, що під впливом СЕКГ значно зменшувалась виразність гострого виразково-ерозивного процесу, гемокапілярних розладів і набряку, відбувалося обмеження зон деструкцій, стабілізувалися процеси мукоїдного синтезу, зменшувалася виразність пепсино- і кислотоутворення (за морфологічним станом парієтальних та головних клітин). Все це дозволяє стверджувати, що СЕКГ чинить лікувальну дію на слизову оболонку шлунка і за виразністю гастропротекторної дії перевищує дію вітчизняного рослинного препарату порівняння – альтану.

Моделювання гострої спирто-преднізолонової виразки шлунка в щурів супроводжується активацією системи гідролізу, що проявляється збільшенням трипсиноподібних і еластазоподібних протеїназ і зниженням місцевого антипротеїназного потенціалу гастродуоденальної зони. Введення СЕКГ призводило до зниження активності місцевих неспецифічних протеолітичних ферментів та активації інгібіторів протеїназ слизової

оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки, що перевищувало активність альтану. Під впливом комбінованого застосування СЕКГ та омепразолу спостерігалась повна нормалізація стану місцевого неспецифічного протейназ-інгібіторного потенціалу гастродуоденальної зони.

СЕКГ при гострому виразковому ураженні шлунка сприяє процесам відновлення високомолекулярних білків та фосфоліпідів в клітинах слизової оболонки шлунка, що призводить до відновлення структурно-функціонального стану слизової оболонки за типом реституції.

Експериментальна виразка шлунка, викликана ацетилсаліциловою кислотою, за тривалістю і характером перебігу являє собою субхронічне ураження слизової оболонки шлунка і розглядається як модель виразки, що має клінічний аналог у людей, які вживають аспірин.

На моделі АСК-гастропатії досліди показали, що СЕКГ знижує набряк і запалення слизової оболонки, пошкодження якої зменшується у 3,3 рази у порівнянні з контролем. За противиразковою активністю досліджуваний СЕКГ (83%) та інгібітор протонної помпи – омепразол (81%) майже рівні, а гастропротекторна дія альтану на 11% поступається СЕКГ. Максимальну противиразкову активність проявляє комбінація СЕКГ з омепразолом (94%), яка достовірно зменшує ризик розвитку пошкоджень СОШ та перевершує монотерапію СЕКГ, омепразолом та альтаном.

Серед факторів гастропротекції значну роль відіграє достатня функціональна активність слизового шару, основним компонентом якого є слиз – мукоїдний секрет, що забезпечує захисну функцію слизового бар'єру. Оцінка стану слизової оболонки залозистого відділу шлунка щурів підтвердила, що СЕКГ у дозі 50 мг/кг достовірно відновлював здатність покривних клітин епітелію до нормальної секреції нейтральних мукополісахаридів у слизовій оболонці шлунка тварин з АСК-гастропатією, на відміну від альтану, після введення якого повного відновлення слизового бар'єру не відбувалося. При комбінованому введенні СЕКГ та омепразолу на тлі АСК інтенсивність ШПК-реакції поверхнево-ямкового епітелію слизової

оболонки на всіх досліджених ділянках не змінювалася порівняно з інтактним контролем.

Хронічна оцтова виразка шлунка у щурів обрана з урахуванням її високої відтворюваності і відповідності виразці шлунка у людини. До виразкового процесу є залученими усі шари шлункової стінки, відзначається ексудація і лейкоцитарна інфільтрація слизового, підслизового і м'язового шарів шлунка поблизу виразки.

На моделі ураження шлунка, викликаного оцтовою кислотою встановлена виражена противиразкова активність СЕКГ (54,26) на рівні омепразолу (54,62). Максимальна противиразкова активність (72,75) виявлена при застосуванні комбінації СЕКГ з омепразолом, яка за виразкозагоюючим ефектом перевершує монотерапію СЕКГ, омепразолом та альтаном (35,08).

Репаративна регенерація є компонентом адаптивної тканинної реакції, в умовах порушення репаративних потенцій слизової оболонки розвиваються хронічні захворювання шлунково-кишкового тракту. Оскільки, остаточною метою противиразкової терапії є загоєння виразкового дефекту, а основу цього процесу складає репаративна регенерація, представляло інтерес дослідити репаративні властивості СЕКГ на моделі хронічної оцтової виразки. Під впливом СЕКГ вміст РНК та ДНК в слизовій оболонці вірогідно підвищувався у 2,8 та 2,4 рази відповідно на однаковому рівні з омепразолом. За здатністю активізувати синтетичні процеси СЕКГ та омепразол достовірно переважали альтан.

Найвиразніший ефект посилення репаративних процесів встановлено при сумісному застосуванні СЕКГ та омепразолу, що виявлялося достовірним підвищенням вмісту РНК і ДНК у слизовій оболонці шлунка у 3,2 і 2,9 рази відповідно порівняно з контролем. Вказана комбінація за збільшенням рівня РНК перевершувала СЕКГ, омепразол та альтан на 13,6%, 26,7% та 97,7% відповідно, й була ефективнішою за досліджувані засоби за підвищенням ДНК – на 18,3%, 8,8% та 101,4% 107% відповідно.

Дослідження впливу СЕКГ на кислотоутворюючу функцію шлунка за показниками: загальний об'єм шлункового соку; загальна, вільна та зв'язана кислотність показали, що застосування СЕКГ достовірно не стимулює кислотоутворювальну функцію шлунка.

Експериментальні дані впливу СЕКГ на моторно-евакуаторну функцію шлунка і кишечника свідчать про те, що введення СЕКГ приводило до посилення рухової активності ШКТ в 1,5 рази, що перевершувало вплив на перистальтику ШКТ препарату порівняння – альтану.

Обов'язковим фрагментом роботи при фармакологічному вивченні нового засобу є дослідження гострої та специфічної (місцевоподразливої) токсичної дії. Встановлено, що ЛД<sub>50</sub> СЕКГ при внутрішньоочеревинному шляху введення становить  $5667 \pm 387,8$  мг/кг (для мишей) і  $5833 \pm 417$  мг/кг (для щурів). Це дозволяє віднести СЕКГ до класу «відносно нешкідливих» речовин за класифікацією К.К. Сидорова. Результати вивчення місцевоподразливої дії свідчать про відсутність такої у СЕКГ в різних концентраціях при контакті зі слизовою оболонкою ока.

На моделі активної шкірної анафілаксії СЕКГ не спричиняє вивільнення гістаміну, що свідчить про відсутність анафілактогенного ефекту.

В умовах *in vitro* в реакції дегрануляції опасистих клітин не виявлено змін показника дегрануляції порівняно з контролем, що свідчить про відсутність у досліджуваного екстракту алергізувальних властивостей.

Таким чином, згідно з метою наших досліджень було проведено різнобічне експериментальне вивчення СЕКГ. Нам вдалося довести наявність у СЕКГ противиразкової дії (репаративної, антиальтеративної, протизапальної, антиоксидантної, мембраностабілізуючої, антимікробної). Також встановлені особливості противиразкової дії СЕКГ залежно від моделі виразок.

*Ключові слова:* капуста городня, екстракт, противиразкова активність, омепразол, експериментальні моделі виразок, ефективна доза, гастропротекторні властивості, репарація.

*Список публікацій здобувача:*

1. Kononenko N., Mirzaliyev M., Chikitkina V. Study of allergenic properties of dry extract of cabbage garden. *Norwegian Journal of development of the international science*. 2020. № 48. С. 50-52. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз та узагальнення даних, підготовка статті до друку)

2. Кононенко Н.Н., Мирзалиев М.Т., Чикиткина В.В. Исследование безвредности сухого экстракта капусты огородной. *Norwegian Journal of development of the international science*. 2020. № 46. С. 52-55. (Особистий внесок – відтворення модельних патологій, аналіз даних, підготовка статті)

3. Кононенко Н.Н., Мирзалиев М.Т., Чикиткина В.В. Исследование противоязвенных свойств сухого экстракта капусты огородной на модели хронической ацетатной язвы желудка. *Norwegian Journal of development of the international science*. 2020. № 38. С. 49-53. (Особистий внесок – відтворення модельних патологій, аналіз даних, підготовка статті)

4. Mirzaliyev M., Kononenko N., Chikitkina V. Study of the antiulcer activity of dry extract of garden cabbage on a model of subchronic gastric ulcer. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. № 4 (20). С. 4-9. (Особистий внесок – відтворення модельних патологій, аналіз даних, підготовка статті)

5. Kononenko N., Mirzaliyev M., Chikitkina V. Influence of dry extract of brassica oleracea on the morphological structure of the gastric mucosa of rats during an experimental ulcer caused by alcohol-prednisolone mixture. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. № 3 (19). С. 30-41. (Особистий внесок – відтворення модельних патологій, аналіз даних, підготовка статті)

6. Кононенко Н.М., Мирзалиев М.Т., Чикиткина В.В. Влияние сухого экстракта капусты огородной на местный неспецифический протеиназ-ингибиторный потенциал слизистой оболочки желудка на модели острой язвы желудка. *Фармацевтический журнал*. 2019. Т.74, № 6. С. 77-84. (Особистий внесок – відтворення модельних патологій, аналіз даних, підготовка статті)

7. Kononenko N.M, Mirzaliyev M.T, Ostapets M.O. The effect of the Brassica oleracea extract on the structural components of mucous cells of the



stomach in its ulcerative damage. *Вісник фармації*. 2018. № 1(93). С. 54-57. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз та узагальнення даних, підготовка статті до друку)

8. Спосіб одержання засобу з протизапальною, противиразковою, репаративною дією: пат. на корисну модель №140984 UA / М.Т. Мірзалієв, М.М. Кузнецова, І.О. Журавель, Н.М. Кононенко, В.В. Чікіткіна Заявл. 26.12.2019. опубл. 10.03.2020. Бюл. №5. (Особистий внесок – проведення патентного пошуку, аналіз даних, підготовка патенту)

9. Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Використання рослинного екстракту капусти городньої у якості протизапального та противиразкового засобу при лікуванні виразкових уражень шлунка Інформаційний лист № 208-2018.Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). – Київ. – 2018. С. 4.

10. Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Дослідження впливу екстракту капусти городньої на перистальтичну активність кишечника. *Ліки – людині: сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 14-15 березня 2019 р. Харків, 2019. С. 146-147. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез)

11. Mirzaliev M.T. The influence of the extract of the cabbage garden on the proliferative inflammation phase. Topical issues of new medicines development: матеріали XXVI міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 10-12 квітня 2019 р. Харків, 2019. С. 245-246. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез)

12. Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Дослідження анальгетичної активності екстракту капусти городньої. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: матеріали наук.-практ. конф. з між нар. участю, присвяч. 20-й річниці заснування Дня фарм. працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р. Харків, 2019. С. 283-284. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез)

13. Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Дослідження мембранопротекторної активності сухого екстракту капусти городньої. *Dynamics of the development of world science: abstracts of II International Scientific and Practical conference, Vancouver, 23-25 October, 2019.* С. 536-539.

(Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез)

14. Kononenko N., Mirzaliev M. Study of antiexudative activity of dry extract of cabbage garden. *Topical issues in Pharmacy and Medical Sciences: abstracts of I International Scientific and Practical conference, Tokyo, 21-22 October, 2019.* С. 145-148. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез)

15. Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Вплив екстракту капусти городньої на секреторну функцію шлунка. *Ліки - людині: сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : матеріали II Міжнар. наук.- практ. конф., м. Харків, 28-29 березня 2018 р. Харків, 2018.* С. 170-171. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез)

16. Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Дослідження противиразкової дії екстракту капусти городньої на моделі хронічної виразки шлунка. *Advances of science: proceedings of articles the international scientific conference, Czech Republic, Karlovy Vary-Ukraine, Kyiv, 28 September 2018.* С. 1693-1696. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез)

17. Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Вплив сухого екстракту капусти городньої на моторно-евакуаторну функцію кишечника. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: матеріали I наук.- практ. Інтернет- конф. з між нар. участю, м. Харків, 18 жовтня 2018 р. Харків, 2018.* С. 124-125. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез)

18. Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Експериментальне вивчення проти виразкової активності екстракту капусти городньої на моделі спирто-преднізолонової виразки шлунка в щурів. *Paragraphs in medicine: materials of the international scientific conference, Lublin Republic of Poland, 9 March 2017.*

С. 157-160. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез)

19. Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Перспективи створення нового гастропротекторного засобу на основі капусти городньої. *Ліки - людині: сучасні проблеми фармакоterapiї і призначення лікарських засобів* : матеріали I Міжнар. наук.- практ. конф., м. Харків, 30-31 березня 2017 р. Харків, 2017. С. 180-181. (Особистий внесок – участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тез)