

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

ЗАЛИГІНА ЄВГЕНІЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 615.451.1:634.51:616.33-002

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ГАСТРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ  
ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З НЕЗРІЛИХ ПЛОДІВ ГОРІХА ВОЛОСЬКОГО  
(JUGLANS REGIA L.)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата  
фармацевтичних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор  
**ПОДПЛЕТНЯ Олена Анатоліївна,**  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія  
МОЗ України» (м. Дніпро),  
завідувач кафедри загальної  
та клінічної фармації

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор  
**МАЛОШТАН Людмила Миколаївна,**  
Національний фармацевтичний університет  
МОЗ України (м. Харків),  
завідувач кафедри фізіології та анатомії людини

доктор медичних наук, професор  
**ВОЛОЩУК Наталія Іванівна,**  
Вінницький національний медичний  
університет імені М.І. Пирогова  
МОЗ України (м. Вінниця),  
завідувач кафедри фармакології

Захист відбудеться «20» червня 2019 р. о 13:00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

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

Автореферат розісланий «17» травня 2019 р.

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

Т.С. Сахарова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Пептична виразка шлунку (ПВШ) є однією з найбільш поширених хронічних захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ) та загальною глобальною проблемою охорони здоров'я, яка торкається великої кількості людей у всьому світі, а також залишається однією з провідних причин захворюваності та смертності (Н. Azhari et. al., 2018). Частота пептичної виразки шлунку та дванадцятипалої кишки (ДПК) серед дорослого населення у різних регіонах світу на теперішній час досягає в середньому 7-10 % (М.А. Дудченко та співавт., 2016; Т.Н. Archampong et. al., 2016; М. Tonolini et. al., 2017; Н. Azhari et. al., 2018; С.М. Lemos et. al., 2018) в Україні – 10 %, причому 1 % складають діти (М.А. Дудченко та співавт., 2016), а розповсюдженість інфікування *Helicobacter pylori* є найвищою серед країн Східної Європи (К.У. James Nooi et. al., 2017) і сягає 70 -90 % (А.Е. Дорофєєв та співавт., 2013). Кожен другий хворий лікується амбулаторно, а кожен третій втрачає працездатність повторно протягом одного року. Нерідко перебіг пептичної виразки шлунку та дванадцятипалої кишки переходить у хронічну стадію та може призводити до тяжких ускладнень або навіть до летальних випадків (В.И. Лупальцов и соавт., 2016; Y.J. Yang et. al., 2017). На сьогодні в країнах Західної Європи спостерігається тенденція до зниження числа *Helicobacter pylori* – асоційованих виразкових уражень ШКТ, в той же час кількість ксенобіотик-індукованих гастропатій невпинно росте (А. Nabeeb et. al., 2016). Висока захворюваність, часті рецидиви, тривала непрацездатність хворих, внаслідок цього значні економічні втрати – все це визначає проблему ПВШ до числа найбільш актуальних у сучасній медицині.

Сучасні підходи до фармакотерапії пептичної виразки шлунку та дванадцятипалої кишки включають застосування антисекреторних, гастроцитопротекторних та антибактеріальних засобів (В.И. Лупальцов и соавт., 2016; В. Scally et. al., 2018). Проте сьогодні все актуальнішими є проблеми формування резистентності *Helicobacter pylori* (R. Ghotaslou et. al., 2015; Su Young Kim et. al., 2015) та частих проявів побічних реакцій при застосуванні синтетичних засобів, зокрема найбільш часто використовуваних інгібіторів протонної помпи (А.А. Котвицька та співавт., 2013; L. Targownik et. al., 2018), які здатні підвищувати ризик розвитку діареї (F. Cao et. al., 2017), В<sub>12</sub>-вітамінної недостатності (S.B. Jung et. al., 2015), пневмонії (А.А. Lambert et. al., 2015), деменції (W. Gomm et. al., 2016), хронічної ниркової недостатності (S. Nochaiwong et. al., 2017), інфаркту міокарда (N.H. Shah et. al., 2015), остеопорозу (S. Torvinen-Kiiskinen et. al., 2018; В. Zhou et. al., 2016).

Враховуючи вищенаведене, сьогодні існує необхідність оптимізації противиразкової терапії, одним із можливих шляхів якої є застосування лікарських засобів (ЛЗ) рослинного походження, які мають ряд переваг перед синтетичними (S. Sen et. al., 2009; W. Balkan et. al., 2010; S. Sen et. al., 2010; Т. Тлустова и соавт., 2012; J. Wiley et. al., 2015).

Попри наявність на фармацевтичному ринку пропозицій ЛЗ рослинного походження для лікування різних захворювань ШКТ, спостерігається обмеженість асортименту фітопрепаратів («Обліпихова олія», «Альтан», збір «Гастрофіт»,

«Льону насіння» та ін.), що виявляють комплексну дію на різні ланки патологічного процесу виразкоутворення. Це виправдовує необхідність пошуку перспективних рослинних об'єктів вивчення з метою одержання нових рослинних субстанцій і створення на їх основі нових ЛЗ (А.В. Куркина та співавт., 2016; І.В. Саханда, 2016; Л.І. Шульга, 2018)

У цьому аспекті увагу дослідників привертає горіх волоський (ГВ), який здавна широко використовується у народній медицині (С. Alasalvar, 2009; F. Shahidi, 2009). На сьогодні досліджена противираzkова активність (ПВА) густого екстракту та настоянки з листя ГВ (Т.М. Ковальова, 2002; Н.П. Кісельова, 2002), що був єдиним препаратом на основі ГВ, зареєстрованим на фармацевтичному ринку України (номер реєстраційного посвідчення UA/2273/01/01). Достатня в Україні сировинна база горіха волоського (А. Мартинюк, 2018) та велика кількість фармакологічних ефектів (протизапальний, антиоксидантний, мембраностабілізуювальний, репаративний, в'язучий та протимікробний) (Т.М. Ковальова, 2002; Т. Fukuda, 2009), актуалізує доцільність фармакологічного дослідження ЛРС горіха волоського, як перспективної для створення ефективних та безпечних противираzkових засобів для профілактики та лікування захворювань ШКТ (А. G. Panossian et. al., 2016; Д.Н. Головкин и соавт., 2017). Дисертаційна робота присвячена вивченню потенційних ЛЗ у вигляді густих екстрактів з незрілих плодів ГВ, які отримані із застосуванням різних екстрагентів: екстракт густий водний – ЕГВ та екстракти густі водно-спиртові – ЕГВС 30, ЕГВС 70, ЕГВС 96, де в якості екстрагенту використано спирт етиловий 30 %, 70 %, 96 %, відповідно.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» в рамках тем: «Фармакологічний аналіз дії лікарських засобів природного походження» (номер держреєстрації 0111 U 008124) та «Експериментально-теоретичне обґрунтування фармакологічної дії лікарських засобів рослинного походження» (номер держреєстрації 0117 U 002048). Дисертант є співвиконавцем зазначених тем.

**Мета і завдання дослідження.** Метою дисертаційного дослідження було експериментальне обґрунтування доцільності застосування густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського для профілактики та лікування виразкових уражень шлунку різного генезу.

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

1. Провести скринінг противираzkової дії густих водного та водно-спиртових екстрактів з незрілих плодів горіха волоського на моделі гострої спирто-преднізолонової виразки шлунка у щурів, визначити екстракт-лідера та його умовно-ефективну дозу (УЕД).

2. Оцінити противираzkову дію екстракту-лідера при різних режимах введення (лікувальному, профілактичному та лікувально-профілактичному) за умов гострого токсичного пошкодження шлунка спирто-преднізолоновою сумішшю. З'ясувати вплив екстракту-лідера на функціональні показники роботи ШКТ у визначеній УЕД.

3. Визначити ефективність екстракту-лідера при оптимальному режимі введенні на перебіг НПЗЗ-індукованих виразкових уражень шлунка та його вплив на стан прооксидантно-антиоксидантних, цитолітичних та білоксинтетичних процесів.

4. Оцінити протизапальну активність екстракту-лідера на експериментальних моделях запалення викликаних різними флогогенами (карагенін, формалін).

5. З'ясувати антимікробну активність екстракту-лідера.

6. Визначити гепатопротекторну активність екстракту-лідера на моделі гострого парацетамолового гепатиту.

7. Встановити гостру токсичність густих екстрактів з незрілих плодів ГВ та субхронічну токсичність екстракту-лідера при введенні щурам.

*Об'єкт дослідження:* фармакокорекція виразкових ушкоджень шлунка.

*Предмет дослідження.* Противираzkова, антисекреторна, протизапальна, антибактеріальна, гепатопротекторна активність густого екстракту з незрілих плодів горіха волоського.

**Методи дослідження:** фармакологічні (моделювання спирто-преднізолонової, диклофенакової, індометацинової виразки; дослідження секреції шлункового соку; дослідження моторно-евакуаторної функції; моделювання формалінового та карагенінового набряку кінцівки у щурів; моделювання парацетамолового гепатиту); мікробіологічні: *in vitro* визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) та мінімальної бактерицидної концентрації (МБК), методом серійних розведень у бульйоні та методом серійних розведень в агарі; токсикологічні (дослідження гострої та субхронічної токсичності; оцінка рухово-дослідницької реакції та емоційної активності щурів у тесті «відкрите поле»); біохімічні (визначення вмісту загального білку (ЗБ), креатиніну, сечовини, глюкози, холестеролу (ХР), загальних ліпідів,  $\beta$ -ліпопротеїдів, відновленого глутатіону (ВГ), тіобарбітурової кислоти реактантів (ТБК-Р), глікогену, жовчних кислот (ЖК); активності аспартатамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), гама-глутамілтранспептидази (ГГТ), лужної фосфатази (ЛФ)), гематологічні (визначення вмісту гемоглобіну, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), гематокриту, еритроцитів, лейкоцитів), гістологічні (світлової мікроскопії) та методи математичної статистики.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Експериментально обґрунтовано доцільність застосування густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського для профілактики та лікування ксенобіотик-індукованих виразкових уражень ШКТ.

Отримані нові дані щодо наявності противираzkової дії густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського та визначено залежність противираzkової активності від фізико-хімічних властивостей екстрагенту. Екстракти можна розташувати за вираженістю противираzkової дії наступним чином: ЕГВС 30 > ЕГВС 70 > ЕГВ > ЕГВС 96. Встановлена умовно ефективна доза екстракту-лідера ЕГВС 30 – 25 мг/кг, у якій він за проявом противираzkового ефекту не поступався препарату-порівняння альтану (89,7 % та 65,4 %, відповідно). Встановлено, що найбільш сприятливим є лікувально-профілактичний режим застосування ЕГВС 30, як противираzkового засобу.

Доповнено наукові дані щодо противираzkової активності ЕГВС 30 при виразкових ураженнях шлунка різного генезу (на моделі стероїдного виразкового ураження шлунку виразковий індекс знизився в 9,8 рази по відношенню до модельної патології, на моделях НПЗЗ-індукованих виразок – індометацинової та

диклофенаковій – у 12,1 та 4,3 рази, відповідно. Альтан в аналогічних умовах знижував виразковий індекс на всіх моделях майже в 3 рази.

Розширено уявлення про механізм гастропротекторної дії, складовою якої є антиоксидантна активність. Доведена здатність ЕГВС 30 нормалізувати проксидантно-атиоксидантний баланс, про що свідчить достовірне зростання вмісту ВГ в середньому на 36 % та зменшення ТБК-Р в середньому на 26 % ( $p < 0,05$ ); гальмувати цитолітичні процеси, достовірно знижуючи активність АсАТ, АлАТ, ГГТ; сприяти посиленню білоксинтетичних процесів, на що вказує зростання вмісту ЗБ в 1,25 рази та зменшення сечовини в 2 рази, при відтворенні ксенобіотик-індукованих виразках шлунка.

Доведена здатність ЕГВС 30 помірно посилювати моторно-евакуаторну функцію кишечника на 30,0 % ( $p < 0,05$ ) та пригнічувати кислотоутворювальну функцію шлунка на 26,36 % ( $p < 0,05$ ).

Можливою складовою гастропротекторної дії є протизапальна активність ЕГВС 30. У дослідах на моделі карагенінового набряку, протизапальна активність виявилась на рівні 37,3 % ( $p < 0,05$ ) з максимумом на 120 хв, а на моделі формалінового набряку на рівні 30,3 % ( $p < 0,05$ ) з максимумом на 180 хв, за якою він поступається препарату порівняння диклофенаку натрію (47,1; 43,1 %).

Розширено уявлення про протимікробну активність ЕГВС 30. За зменшенням значень МБК, визначених методом серійних розведень у бульйоні, мікроорганізми можна розташувати наступним чином: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ( $> 750$  мкг/мл)  $>$  *Escherichia coli* ATCC 25922 (46,875 мкг/мл)  $>$  *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (5,859375 мкг/мл)  $>$  *Candida albicans* № 690 (1,464844 мкг/мл). При дослідженні антибактеріальної дії ЕГВС 30 методом серійних розведень в агарі, встановлена протимікробна активність ЕГВС 30, що в концентрації 50 мкг/мл пригнічує ріст штамів тест-культур: *Shigella flexneri* 1a № 8516, *Shigella sonnei* 2K коліцінотіп 1, а в концентрації 25 мкг/мл - *Campylobacter jejuni* № 108, тобто за силою прояву виступає на рівні з альтаном 10 мкг/мл та тетрацикліном 30 мкг/мл та перевищує протимікробну активність левофлоксацину 5 мкг/мл та еритроміцину 15 мкг/мл.

Отримано нові дані про гепатопротекторну активність ЕГВС 30 на моделі лікарського ураження печінки парацетамолом. Встановлено, що ЕГВС 30 сприяє підвищенню антиоксидантного захисту печінки, про що свідчить зростання вміст ВГ та зменшення ТБК-Р в 1,7 та 1,4 рази, відповідно; пригнічує активність цитолітичних процесів, знижуючи активність АлАТ на 38 % ( $p < 0,05$ ) та сприяє відновленню холеекскреторної і холатоутворювальної функції органа, на що вказує зростання швидкості секреції жовчі в та вмісту в ній жовчних кислот в 1,4 рази.

Поряд з високою противиразковою активністю ЕГВС 30 є безпечним лікарським засобом, що належать до V класу токсичності – «Практично нетоксичні речовини» ( $LD_{50} > 5000$  мг/кг) за класифікацією Сидорова К. К. (1983 ). Отримані результати з вивчення токсико-фармакологічного профілю ЕГВС 30 свідчать про його високу безпеку та ефективність при лікуванні виразкової патології ШКТ.

**Практичне значення отриманих результатів.** Отримані результати обґрунтовують доцільність подальшого вивчення та впровадження ЕГВС 30, як

фітозасобу для профілактики та лікування виразкових уражень шлунку різного генезу.

Результати роботи обґрунтовують доцільність використання фітопрепарату для мінімізації негативного впливу глюкокортикостероїдів (ГКС), алкоголю та нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) на ШКТ. За результатами дослідження запропоновано застосування густого водно-спиртового екстракту з незрілих плодів горіха волоського як безпечного гастропротекторного засобу (патент України на корисну модель № 118186, 2017 р.; інформаційний лист МОЗУ № 53-2017, 2017 р.)

Результати роботи впроваджено у науково-дослідницьку роботу низки кафедр: ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» - кафедр фармакології і клінічної фармакології (протокол № 5 від 14.11.2018 р.), медичної біології, фармакогнозії та ботаніки (протокол № 3 від 28.09.2018 р.), загальної та клінічної фармації (протокол № 3 від 11.10.2018 р.); Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова - кафедра фармакології (протокол № 2 від 25.09.2018 р.); Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ - кафедра клінічної фармакології (протокол № 8 від 06.09.2018 р.); ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України» - кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою (протокол № 1 від 14.01.2019 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертант особисто провів патентно-інформаційний пошук за темою дисертації, відпрацював алгоритми експериментів, взяв участь в експериментальних дослідженнях, провів статистичну обробку й аналіз отриманих результатів з оформленням їх у вигляді таблиць та рисунків, сформулював основні положення та висновки. Всі розділи дисертації та автореферат написані та оформлені автором самостійно. Разом із науковим керівником сформульовано мету та завдання дослідження, визначено методологію досліджень. Особисту участь у кожному дослідженні наведено у списку опублікованих праць за темою дисертації.

Співавторами наукових праць є науковий керівник О.А. Подплетня, та науковці, спільно з якими проведено деякі дослідження, – І.П. Кошова, К.В. Соколова, С.П. Кайдаш, Н.В. Логвиненко, І.О. Селіна, Н.В. Хомяк, В.Ю. Слесарчук. Персональний внесок дисертанта в усіх опублікованих працях зі співавторами вказано за текстом дисертації, а також в авторефераті у списку фахових публікацій.

Автор висловлює глибоку вдячність за надані об'єкти дослідження колективу кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ, очолюваної д.фарм.н., проф. С.В. Гарною, та особисто к.фарм.н. Ю.С. Прокопенко. У дисертаційній роботі Ю.С. Прокопенко за темою: «Розробка та валідація методів контролю якості оригінального фітотерапевтичного засобу для лікування псоріазу» (2011 р) не використані результати та матеріали дисертаційної роботи Є.В. Залигіної.

Мікробіологічні дослідження проведені за участю та під керівництвом к.мед.н. І.П. Кошової на кафедрі мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» та на базі

Централізованої Бактеріологічної лабораторії Лівобережжя КЗ «Міська клінічна лікарня № 9» ДОР». Гістологічні дослідження виконані за участю та під керівництвом лікаря-патологоанатома вищої категорії відділу патологічної анатомії К.В. Циганкова в КЗ «Міська багатoproфільна клінічна лікарня № 4 ДОР» Дисертант вдячний всім науковцям за консультативну допомогу.

**Апробація матеріалів дисертації.** Основні положення роботи представлено на науково-практичних конференціях різного рівня: VII науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 30-31 жовтня 2014 р.), II міжнародна науково-практична internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (м. Харків, 21-23 березня 2016 р.), Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні проблеми клінічної, теоретичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації» (м. Одеса, 8-9 квітня 2016 р.), VIII Національний з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (м. Харків, 13-16 вересня 2016 р.), VI науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р.), V Національний з'їзд фармакологів України (м. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р.), II міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 28-29 березня 2018 р.).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 16 наукових робіт, з яких 7 статей, у тому числі 1 стаття у зарубіжному виданні, 1 патент України на корисну модель та 1 інформаційний лист, 7 тез у матеріалах науково-практичних форумів.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів, висновків, списку використаної літератури та трьох додатків. Обсяг основного тексту складає 141 сторінок. Робота ілюстрована 35 таблицями, 62 рисунками. Список використаних джерел містить 346 найменувань, з них кирилицею 97 та 249 латиницею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальні фармакологічні дослідження проведено на статевозрілих лабораторних тваринах обох статей (208 білих мишак, масою 16-22 г. та 426 білих нелінійних щурах, масою 180-220 г.), які утримувалися в умовах віварію ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», відповідно до чинних санітарно-гігієнічних норм. Досліди проводились з дотриманням принципів біоетики, про що свідчать висновки комісії з питань біомедичної етики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» - протоколи №2 від 15.02.2012 р., № 6 від 18.04.2018 р.

Об'єктами дослідження було обрано чотири густі екстракти (водний та водно-спиртові - в якості екстрагенту використано воду та спирт етиловий 30 %, 70 %, 96 %), які цілеспрямовано отримані на кафедрі якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ



к.фарм.н. Прокопенко Ю.С., шляхом комплексної переробки незрілих плодів молочно-воскової стиглості ГВ (*Juglans regia* L.)

Методами фітохімії визначено якісний склад БАР водного та трьох водно-спиртових екстрактів із незрілих плодів ГВ. Сума танінів у перерахунку на пірогалол ( $C_6H_6O_3$ ; М. м. 126,1) для водного екстракту складає 1,94 %, для водно-спиртових екстрактів (спирт етиловий 30, 70 та 96 %) – 2,02; 2,10 та 1,42 %, відповідно. Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин ( $C_{27}H_{30}O_{16}$ ; М. м. 610,5) становить 0,43 % – у водному екстракті ГВ та відповідно 0,37; 0,51; 0,40 % для водно-спиртових екстрактів. Найбільшу кількість окиснювальних поліфенолів у перерахунку на танін ( $C_{76}H_{52}O_{46}$ ; М. м. 1701,2) вміщує водний екстракт (5,44%), в той же час кількість окиснювальних поліфенолів у водно-спиртових 30 %, 70 %, 96 % екстрактах не має достовірних відмінностей та відповідно складає 3,28 %, 3,50 %, 3,12 % (Ю.С. Прокопенко, 2011).

В якості препаратів порівняння було обрано: альтан («Альтан», 10 мг, табл., в/о, ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) у дозі 1 мг/кг – для оцінки гастропротективної дії (Л.В. Яковлева зі співавт., 2002; І.В. Карбушева, 2003); диклофенак натрію («Натрію диклофенак-КВ», 25 мг, капс., ПАТ «Київський вітамінний завод», Україна) у дозі 8 мг/кг – для оцінки протизапальної активності (Г.С. Курт-Аметова, 2012; М.В. Зупанець, 2015; Г.В. Павлюк-Гаврилова, 2016); силімарин («Легалон 70», 70 мг, капс., MADAUS GmbH, Німеччина) у дозі 30 мг/кг - для оцінки гепатопротекторної дії (С.М. Дрогвоз, 2002). Оцінку антибактеріальної дії досліджуваного екстракту-лідера проводили методом серійних розведень в агарі у порівнянні з левофлораксацином («Левофлораксин», 500 мг, табл., в/о, ПрАТ «Технолог», Україна) у дозі 5 мкг/мл, тетрацикліном («Тетрациклін», 100 мг, табл., в/о, РУП «Белмедпрепарати», Республіка Білорусь) у дозі 30 мкг/мл, еритроміцином («Еритроміцин», 500 мг, табл., в/о, ТОВ «Фарма Лайф», Україна) у дозі 15 мкг/мл (Д.А. Степанский и соавтор., 2014).

Скринінг ПВА густих екстрактів з незрілих плодів ГВ проводили на щурах у лікувально-профілактичному режимі введення на спирто-преднізолонувій моделі «гострих» виразок шлунка (О.В. Стефанов, 2002). Дослідженню підлягали дози 10, 25, 50 мг/кг та референс-препарат альтан у дозі 1 мг/кг, які вводили внутрішньошлунково щоденно одноразово. Оцінку ефективності препаратів проводили за показником противиразкової активності (ПВА, %). За результатами скринінгу, було обрано екстракт-лідер – ЕГВС 30, для якого проведено поглиблені фармакологічні дослідження. Для визначення УЕД екстракту лідеру досліджено дози (5, 10, 25, 50, 100 мг/кг). УЕД склала 25 мг/кг.

Противиразкову дію ЕГВС 30 в УЕД оцінювали при різних режимах введення: лікувальному (через годину після введення спирто-преднізолонувій суміші), профілактичному (за 3 дні до введення спирто-преднізолонувій суміші) та лікувально-профілактичному (щоденно одноразово, починаючи за 3 дні до моделювання патології, і закінчуючи в день відтворення виразки; останнє введення через 1 год після введення спирто-преднізолонувій суміші). Найбільш оптимальним виявився лікувально-профілактичний режим введення. Крім цього, при лікувально-профілактичному режимі введення ЕГВС 30 в УЕД, проводили біохімічне дослідження сироватки крові тварин за допомогою стандартних тест-наборів НПВ

«Філісіт-Діагностика» (Україна). Визначали вміст ЗБ, сечовини; активності АсАТ, АлАТ, ГГТ. Прооксидантно-антиоксидантний баланс оцінювали за вмістом ВГ в еритроцитах та ТБК-Р в сироватці крові. Також вивчали стан СОШ мікроскопічно (О.Ю. Реброва, 2002; В.И. Юнкеров, 2002). Морфологічні дослідження здійснено стандартними методами світлової мікроскопії (фарбуванням препаратів гематоксиліном та еозином, ШК-реакція; мікрофотографуванням гістологічних препаратів під мікроскопом Zeiss "Primo Star" фотокамерою DCM 500). Вивчення впливу на секрецію шлункового соку ЕГВС 30 проводили за методом Н.І. Андрєєвої та С.А. Шарової (1978), а на моторно-евакуаторну функцію ШКТ за методом J.S. Stickney та співавторів (1951).

Поглиблений аналіз впливу ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг на стан СОШ щурів оцінювали на НПЗЗ-індукованих моделях ураження шлунку у лікувально-профілактичному режимі введення. Ерозивно-геморагічне ураження шлунка викликали одноразовим інтрагастральним введенням індометацину в дозі 20 мг/кг після 24 годинної харчової депривації (О.В. Стефанов, 2002). Диклофенак-індуковану виразку шлунку у щурів відтворювали на білих нелінійних щурах, шляхом дрібного внутрішньошлунково введення протягом 7 днів (загальна доза 50 мг/кг) (Е.Д. Даниленко, 2014). Противиразкову активність, стан прооксидантно-антиоксидантних, цитолітичних та білоксинтетичних процесів, а також макроскопічні та гістологічні показники у цих дослідах оцінювали за методами згаданими раніше.

Протизапальну дію ЕГВС 30 вивчали на моделі гострого асептичного запалення кінцівки, спричиненого субплантарним введенням 0,05 мл 1 % розчину карагеніну та 0,1 мл 2 % розчину формаліну. Вимірювання величини набряку лап у щурів проводили у динаміці через 1, 2, 3 год після введення флогогенів. Досліджувані препарати вводили внутрішньошлунково за 1 год до субплантарного введення розчинів флогогенів. (О.В. Стефанов, 2002; Г.С. Курт-Аметова, 2012; М.В. Зупанець, 2015; Г.В. Павлюк-Гаврилова, 2016).

Оцінку протимікробної активності ЕГВС 30 проводили відповідно до методичних рекомендацій МВ 9.9.5-143-2007 «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів», затверджених наказом МОЗ України від 05.04.2007 №167, методом серійних розведень у бульйоні (як тест-культури були використанні музейні штами: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 та *Candida albicans* № 690) та методом серійних розведень в агарі (*Salmonella typhimurium* № 532, *Shigella flexneri* 1a № 8516, *Shigella sonnei* 2К коліцінотип 1, *Campylobacter jejuni* № 108).

Гепатопротекторну дію ЕГВС 30 вивчали на моделі лікарського ураження печінки, викликаного шляхом однократного перорального введення парацетамолу в дозі 1250 мг/100 г маси тіла тварин у вигляді суспензії на 2 % крохмальному клейстері протягом 2-х днів (С.М. Дроговоз, 2018). Гепатопротекторну дію досліджуваного екстракту та препарату порівняння оцінювали за показниками стану печінки (активності АлАТ у сироватці крові та вмісту ТБК-Р, ВГ, глікогену у гомогенаті печінки, а також за коефіцієнтом маси печінки (КМП). З метою оцінки активності жовчоутворювальної та жовчовидільної функції органа визначали

швидкість секреції жовчі, вміст ЖК і ХР жовчі та холато-холестеринового коефіцієнту (ХХК) (С. М. Дроговоз та співав., 1994; М.П. Скакун, 2005; Т.С. Свінціцька та співав., 2015). Вираженість холестазу оцінювали за активністю ЛФ, а стан обмінних процесів за вмістом глікогену в печінці та рівнем глюкози, загальних ліпідів, ХР і ЗБ в сироватці крові. Біохімічні показники досліджували за допомогою методик, що згадували раніше.

Дослідження гострої токсичності проводили за експрес-методом Т.В. Пастушенко та співавт. (1985), субхронічну токсичність досліджували протягом 90 діб, згідно з методичними рекомендаціями, щодо експериментального вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів (О.В. Стефанов, 2002). Гематологічний аналіз здійснено стандартними методами лабораторної діагностики (В.С. Камышников, 2004). Біохімічні та гістологічні показники досліджували за допомогою методик, що згадували раніше.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою пакету програм Statistica v.6.1 (Statsoft Inc., США) (ліцензійний № AGAR909 E415822 FA). Гіпотезу про нормальний закон розподілу показників перевіряли за критерієм Колмогорова-Смірнова, Шапіро-Уїлка. Порівняння статистичних характеристик проводили для середніх величин з урахуванням закону розподілу за t-критерієм Ст'юдента або U-критерієм Манна-Уїтні, при множинному порівнянні використовували поправку Бонфероні, для відносних величин – за двостороннім точним критерієм Фішера. Зміни вважали статистично значущими при  $p < 0,05$  (В.И. Юнкеров, 2002; О.Ю. Реброва, 2002).

**Результати та їх обговорення.** На першому етапі скринінгу було обрано найбільш ефективний за ПВА екстракт з незрілих плодів ГВ, яким виявився ЕГВС 30. На етапі визначення УЕД встановлено послідовність доз, яка характеризує ПВА екстракту:  $5 \text{ мг/кг} < 100 \text{ мг/кг} < 10 \text{ мг/кг} < 25 \text{ мг/кг} < 50 \text{ мг/кг}$ . Дози 25 та 50 мг/кг виявили максимальну ПВА - 89,7 % та 94,2 %, відповідно. Оптимальною ефективною дозою ЕГВС 30 було обрано 25 мг/кг, оскільки збільшення дози до 50 мг/кг не призвело до суттєвого достовірного збільшення ПВА і поліпшення загального стану СОШ тварин.

В результаті дослідження впливу ЕГВС 30 на секреторну функцію шлунка, було встановлено, що інтенсивність секреції шлункового соку зменшилася на 26,4 % відносно інтактного контролю, при цьому показник зв'язаної кислотності склав лише 9,77 %, але ці зміни були статистично недостовірними. Достовірно зменшилась загальна та вільна кислотність на 33,5 % та 46,1 %, відповідно). На підставі одержаних результатів можна стверджувати, що ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг знижує секреторну функцію шлунка, ймовірно, за рахунок 0,37 % флавоноїдів у його складі (D. Vi et al., 2016; D. Hayes et al., 2016).

Експериментально встановлено істотний вплив ЕГВС 30 на рухову активність ШКТ (підвищення моторики на 30,0 %), що свідчить про виключення можливого розвитку закріплюючого ефектів при його застосуванні (I. Bouabdallah et al., 2014).

Подальшим кроком було визначення ефективності ЕГВС 30 на моделі спирто-преднізолонової виразки шлунка щурів у різних режимах введення. Показник ПВА при лікувально-профілактичному режимі склав 89,7 %, а при профілактичному та лікувальному - 79,2 % та 83,3 %, відповідно (табл. 1). Результати макроскопічного

дослідження були підтверджені даними біохімічних досліджень плазми крові щурів (табл. 2).

Таблиця 1

**Порівняння ефективності ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг при виразкових ураженнях шлунка**

Модель	Режим введення	Препарат	МП	Зміна показників стану СОШ відносно групи МП	ПВА, %
			ВІ	ВІ, рази	
СП	П-Р	ЕГВС 30	4,0	↓4,8	79,2
		Альтан		↓2,7	62,5
	Л-Р	ЕГВС 30	4,17	↓6,0	83,3
		Альтан		↓3,0	68,0
	ЛП-Р	ЕГВС 30	4,33	↓9,8	89,7
		Альтан		↓3,9	74,4
І	ЛП-Р	ЕГВС 30	4,0	↓12,1	86,1
		Альтан		↓4,1	75,7
Д	ЛП-Р	ЕГВС 30	4,17	↓4,3	76,7
		Альтан		↓2,3	56,0

Примітка. ↓ – зниження показника, рази; СП, Д, І – спирто-преднізолонова, диклофенакова, індометацинова моделі виразок, відповідно; П-Р, Л-Р, ЛП-Р – профілактичний, лікувальний, лікувально-профілактичний режим введення, відповідно.

В результаті дослідів ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг на спирто-преднізолоновій, диклофенаковій та індометациновій моделях виразкового ураження шлунка мав ефективність аналогічну за показником ПВА. ССТВ в групі тварин, що отримувала ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг на моделі спирто-преднізолонової виразки зменшився в порівнянні з групою модельної патології (МП) в 6,5 разів; на моделях диклофенакової та індометацинової стан покращився в 3,6 та 4,8 рази, відповідно. Показники ПВА для ЕГВС 30 на моделі спирто-преднізолонової, диклофенакової та індометацинової виразки мали відповідні значення 89,7, 76,7 та 86,1 %. Для препарату-порівняння ці показники склали 74,4, 56,0 та 75,7 %, відповідно. Таким чином, ЕГВС 30 у лікувально-профілактичному режимі введення в умовах НПЗЗ-індукованих виразок шлунка виявляв ПВА, яка за вираженістю перевершувала референс-препарат на 15,3, 20,7 та 10,4 %, відповідно. (табл. 1).

Механізм дії ЕГВС 30 на моделі спирто-преднізолонової виразки пояснюється його здатністю за рахунок флавоноїдів, поліфенольних сполук (нафтохінонів), окиснювальних поліфенолів, що входять до його складу, знижувати вплив агресивних факторів шлункового соку, поліпшувати енергетичне та пластичне забезпечення тканин (D. Vi et al., 2016; D. Hayes et al., 2016).

**Порівняння ефективності ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг на різних моделях виразок шлунка при лікувально-профілактичному режимі введення за біохімічними показниками**

Біохімічні показники		Відсоток змін відносно групи модельна патологія, %					
		СП		І		Д	
		ЕГВС 30	Альтан	ЕГВС 30	Альтан	ЕГВС 30	Альтан
<b>В еритроцитах</b>							
ВГ	мкмоль/л	МП		МП		МП	
		3,72 ± 0,16*		4,02 ± 0,19*		3,92 ± 0,21*	
	%	↑49,46*	↑33,33*	↑28,36*	↑17,41*	↑29,08*	↑28,06*
<b>В сироватці крові</b>							
ТБК-Р	ммоль/л	МП		МП		МП	
		0,62 ± 0,06*		0,60 ± 0,08*		0,65 ± 0,10*	
	%	↓32,26*	↓24,19*	↓21,67*	↓25,00*	↓23,08*	↓32,31*
АсАТ,	ммоль/л год	МП		МП		МП	
		0,94 ± 0,02*		1,09 ± 0,04*		1,06 ± 0,06*	
	%	↓30,85*	↓8,51*	↓38,53*	↓17,43*	↓31,13*	↓16,04*
АлАТ	ммоль/л год	МП		МП		МП	
		0,93 ± 0,01*		0,99 ± 0,01*		1,05 ± 0,05*	
	%	↓12,90*	↓11,83*	↓24,24*	↓17,17*	↓20,0*	↓8,57*
ГГТ	од/л	МП		МП		МП	
		13,51 ± 0,55*		14,93 ± 0,26*		15,06 ± 0,38*	
	%	↓32,79*	↓28,94*	↓33,77*	↓17,55*	↓38,51*	↓30,0*
ЗБ	г/л	МП		МП		МП	
		55,67 ± 1,37*		55,45 ± 1,11*		56,25 ± 1,25*	
	%	↑24,07*	↑15,63*	↑24,56*	↑16,09*	↑25,0*	↑16,30*
Сечовина	ммоль/л	МП		МП		МП	
		12,82 ± 0,82*		12,84 ± 0,85*		13,08 ± 0,75*	
	%	↓49,64*	↓50,31*	↓49,77*	↓50,23*	↓52,45*	↓50,92*

Примітка. \* – відмінності, статистично значущі відносно групи модельної патології на рівні значущості ( $p < 0,05$ ) за t-критерієм Ст'юдента з поправкою Бонфероні (Bonferroni test) при множинних порівняннях; відносних показників – за двостороннім точним критерієм Фішера (Fisher exact); ↓ – зниження показника; ↑ – підвищення показника; СП, Д, І – спирто-преднізолонова, диклофенакова, індометацинова, моделі виразок, відповідно.

Загальновідомо, що механізм дії традиційних НПЗЗ і, зокрема, індометацину та диклофенаку, реалізується антициклооксигеназним шляхом через блокаду біосинтезу простагландинів, які є цитопротекторами для СОШ (Г.С. Курт-Аметова, 2012; М.В. Зупанець, 2015; Г.В. Павлюк-Гаврилова, 2016). На моделях НПЗЗ-індукованих виразок, механізм противиразкової дії ЕГВС 30 пояснюється здатністю БАР, що входять до складу досліджуваного екстракту, зменшувати ульцерогену дію

зазначених лікарських препаратів, тобто сповільнювати процеси дистрофічних змін епітелію, відновлювати мікроциркуляцію у поверхневих відділах слизової оболонки і прискорювати клітинне оновлення епітелію (В. Cryer, 2003; J.J. Ofman, С.Н. Maclean, W.L. Straus et al. 2003; Г.Г. Варванина, 2007).

Дані противиразкової активності підтверджені як результатами макроскопічних досліджень стану СОШ (табл. 1), так і біохімічними маркерами, на моделях спирто-преднізолонової, диклофенакової та індометацинової виразки (табл. 2).

Зміни біохімічних показників плазми крові щурів на різних моделях виразок шлунка підтвердили здатність ЕГВС 30 при введенні його у лікувально-профілактичному режимі, попереджувати деструкцію тканин шлунку (про що свідчить нормалізація рівня ЗБ) та впливати на інтенсивність протікання цитолізу (на що вказує зниження активності АлАТ та АсАТ). Слід зазначити, що на нормалізацію вказаних біохімічних показників досліджуваній екстракт впливав в більшій мірі ніж референс-препарат (табл. 2).

Щодо впливу ЕГВС 30 на прооксидантно-антиоксидантний дисбаланс, який оцінювали за рівнем ВГ в еритроцитах та вмістом ТБК-Р в сироватці крові, досліджуваній екстракт чинив вплив на рівні препарату порівняння.

На моделі спирто-преднізолонової виразки ЕГВС 30 та альтан в однаковій мірі здатні знижувати вміст сечовини та активність ГГТ, але досліджуваній екстракт дещо в більшій мірі підвищував вміст ЗБ, але ця розбіжність не є достовірно значущою.

Гострі деструктивні зміни СОШ спостерігалися при моделюванні спирто-преднізолонової, диклофенакової та індометацинової виразок, що підтверджено як макроскопічними показниками СОШ (табл. 1), так і біохімічними дослідженнями сироватки крові щурів (табл. 2). Даний факт підтверджують результати мікроскопічного дослідження стану СОШ, згідно яких ЕГВС 30 достовірно знижував виразність виразкової деструкції та глибину ураження СОШ (рис. 1-6).

Таким чином, ЕГВС 30 виявляє ПВА і здатен нормалізувати стан СОШ і біохімічні показники плазми крові тварин, незалежно від моделі виразки. При цьому його ефективність не поступається препарату порівняння. За ступенем впливу на показники ПВА та ССТВ, ефективність введення ЕГВС 30 на різних моделях можна розташувати наступним чином: спирто-преднізолонова > індометацинова > диклофенакова.

Певні розбіжності у прояві противиразкової активності ЕГВС 30, можна пояснити різницею етіологічних чинників при моделювання виразок. Введення суміші преднізолону та спирту етилового супроводжується вираженим стресом та призводить до підсилення шлункової секреції (О.В. Стефанов, 2002). Зниження ПВА досліджуваного екстракту при індометациновому та диклофенаковому ураженнях шлунка можна пояснити обтяженням перебігу виразкового процесу на тлі виснаження захисно-адаптаційних можливостей СОШ. Відмінності ПВА на моделях НПЗЗ-індукованих виразок можна пояснити різницею кратності введення ульцерагенного агенту. Однократне введення індометацину призводило до розвитку стану аналогічного у клінічній практиці до гострого гастриту. На відміну від цього, диклофенакову виразку моделювали дробовим введенням ксенобіотика та отримували латентну форму гастропатії. (Е.Д. Даниленко, 2014).



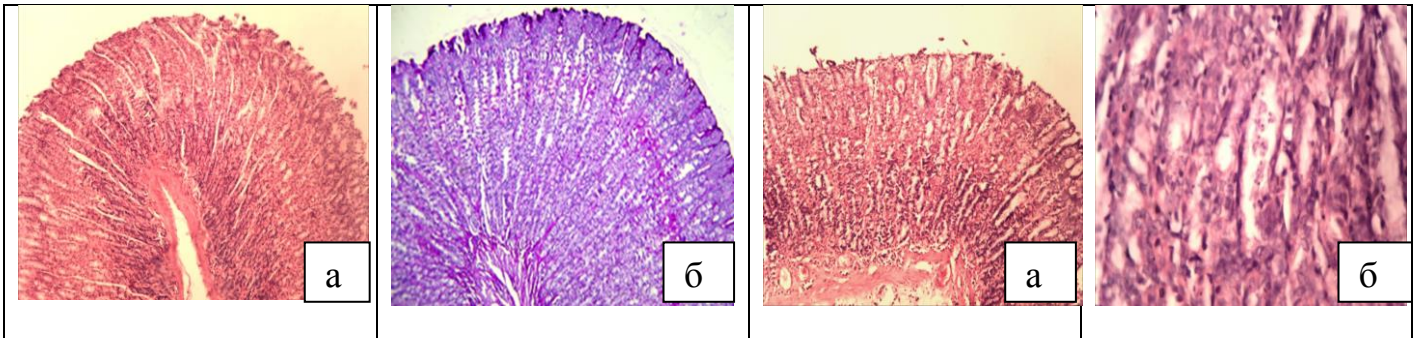


Рис. 1 Мікропрепарат дна шлунку щурів групи спирто-преднізолонової модельної патології. Нерівномірне, виражене зниження слизоутворення. (а) Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 100$ ; (б) ШК-реакція, зб.  $\times 100$ .

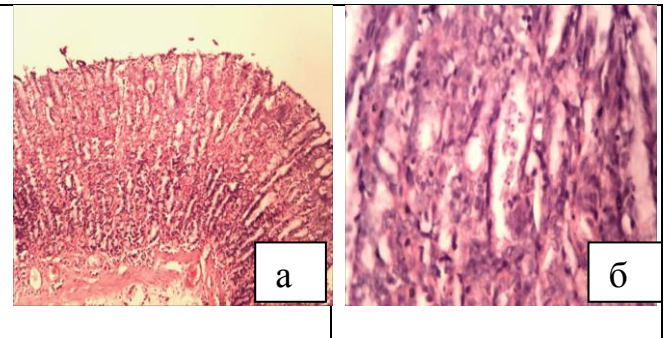


Рис. 2 Мікропрепарат фундального відділу шлунку щурів, що отримували ЕГВС 30 в умовах спирто-преднізолонового ураження. (а) Ділянки злушування покривного епітелію, домішка білка в просвіті залоз. Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 100$ ; (б) Скупчення гинучих поліморфноядерних лейкоцитів в просвіті залози. Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 400$ .

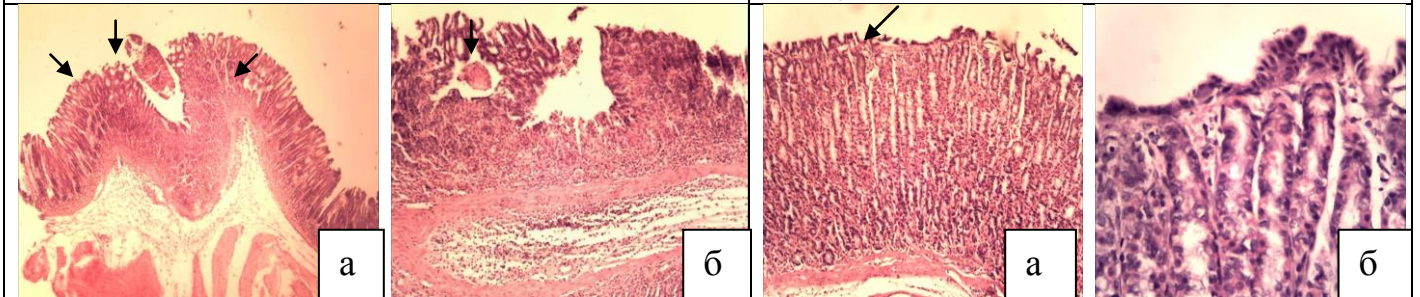


Рис. 3 Мікропрепарат фундального відділу слизової оболонки шлунку щурів групи індометацинової модельної патології. (а) Очищується від некротичних мас ерозія до  $\frac{1}{2}$  товщини слизової оболонки, вогнища некрозу в середньої третини слизової оболонки. набряк підслизового шару. Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 40$ ; (б) Глибока ерозія, поруч - некротичний секвестр всередині слизової оболонки. Запальна інфільтрація підслизового шару. Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 100$ .

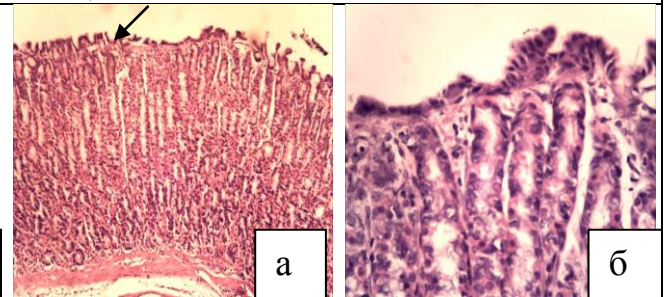


Рис. 4 Мікропрепарат фундального відділу слизової оболонки шлунку щурів, що отримували ЕГВС 30 в умовах індометацинового ураження. (а) Епітелізація поверхневої ерозії. Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 100$ ; (б) Епітелізація поверхневої ерозії. Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 400$ .

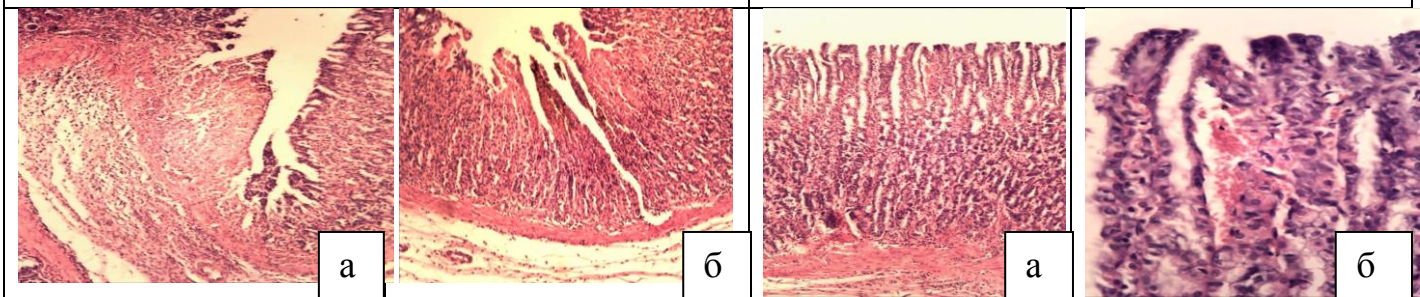


Рис. 5 Мікропрепарат дна шлунку щурів групи диклофенакової модельної патології. (а) Гостра виразка. Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 100$ ; (б) Ерозійний дефект з некрозом до  $\frac{2}{3}$  товщини слизової оболонки. Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 100$ .

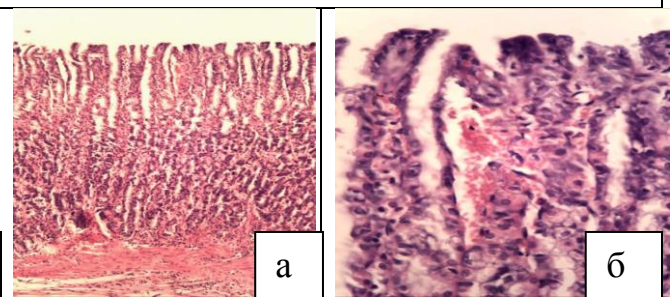


Рис. 6 Мікропрепарат дна шлунку щурів, що отримували ЕГВС 30 в умовах диклофенакового ураження. (а) Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 100$ ; (б) Діapedезний крововилив. Забарвлення гематоксилін і еозин, зб.  $\times 400$ .

Таким чином, отримані результати свідчать про перспективність використання ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг при виразковому ураженні шлунку, викликаного різною тривалістю прийому НПЗЗ.

*Оцінка протизапальної та антимікробної дії ЕГВС 30.* В патогенезі ушкодження СОШ ключову роль відіграє запальний процес (P. Malfertheiner et al., 2009; А.Е.Дорофеев та співавт., 2013). Результати дослідів свідчать про значну антиексудативну дію ЕГВС 30 на моделі карагенінового набряку кінцівок щурів - максимальне достовірне зниження набряку відносно МП спостерігалось на рівні 37,3 % ( $p < 0,05$ ) на 120 хв. Препарат порівняння - диклофенак натрію виявив протизапальну активність (ПЗА) протягом всього досліді на рівні 38,1-47,1 %, на 120 хв. цей показник склав 47,1 %, що узгоджується з провідними механізмами його протизапальної дії (Г.Г. Варванина та співавт., 2007). Наявність ПЗА у досліджуваного екстракту має цінність для забезпечення противиразкової дії. ПЗА досліджуваного екстракту реалізується завдяки наявності в його хімічному складі флавоноїдів та нафтохінонів (юглону), що виявляють інгібуючий вплив на ферменти ЦОГ та стабілізують мембрани клітин. (A.N. Carey et al., 2013).

При формаліновому набряку ЕГВС 30 продемонстрував достатньо виразні антиексудативні властивості, які пов'язані, ймовірно, зі збереженням структурної цілісності мембрани та зменшенням судинної проникності завдяки високому вмісту поліфенольних сполук (S.Y. Al-Okbi et al., 2014). Слід зазначити, що антиексудативна дія ЕГВС 30 є менш виражена, ніж у препарату порівняння, але ці відмінності є недостовірними. Максимальна ПЗА спостерігалась на 180 хв. - 30,3 % для ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг та 43,1 % - для препарату порівняння.

Методом серійних розведень у бульйоні встановлено значення МІК та МБК (табл.3), які для *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 склали 0,7324 та 5,859375 мкг/мл; *Escherichia coli* ATCC 25922 – 1,464844 та 46,875 мкг/мл; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 – 5,859375 та > 750 мкг/мл; *Candida albicans* № 690 – 0,183105 та 1,464844 мкг/мл, відповідно (табл. 3).

Таблиця 3

**Встановлені МБК та МІК водних розчинів ЕГВС 30 для тест-штамів**

Тест-культура	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,7324	5,859375
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1,464844	46,875
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	5,859375	>750
<i>Candida albicans</i> № 690	0,183105	1,464844

При дослідженні антибактеріальної дії ЕГВС 30 методом серійних розведень в агарі, встановлено, що ЕГВС 30 в концентрації 100 мкг/мл і 50 мкг/мл пригнічує



ріст штамів тест-культур *Shigella flexneri* 1a № 8516, *Shigella sonnei* 2К коліцінотип 1, а в концентрації 25 мкг/мл - *Campylobacter jejuni* № 108, в той же час в концентрації 25 мкг/мл слабо пригнічує ріст *Shigella flexneri* 1a № 8516 і *Shigella sonnei* 2К коліцінотип 1 (Ю.Л. Волянський та співавт., 2004).

Механізм антимікробної дії ЕГВС 30 ми пов'язуємо з вмістом в його складі достатньої кількості дубильних речовин (таніни у перерахунку на пірогалол 2,02%, окиснювальні поліфеноли у перерахунку на танін 3,28 %). У свою чергу таніни за рахунок своїх фізико-хімічних властивостей мають можливість впливати на розмноження і ріст мікроорганізмів (МО) двома шляхами: з одного боку впливаючи на клітинну стінку бактерій, а з іншого - змінюючи кислотно-лужний баланс (*pH*) середовища. (I. Junaid et al., 2013; F. Zakavi et al., 2013; Q. Yang et al., 2018).

*Оцінку гепатопротекторної дії ЕГВС 30.* В умовах гострого парацетамолового ураження печінки, введення ЕГВС 30 сприяло підвищенню активності антиоксидантного захисту печінки, про що свідчить вірогідно вищий в 3,3 рази вміст ВГ по відношенню до тварин групи МП. Зростання антиоксидантного захисту під впливом ЕГВС 30 забезпечувало інгібування інтенсивності перекисного окиснення ліпідів – вміст ТБК-Р зменшувався в 1,7 рази. Застосування препарату порівняння силімарину також сприяло зростанню вмісту ВГ в 4,2 рази та зменшенню ТБК-Р в 1,9 рази. ЕГВС 30 та препарат порівняння виявили вірогідну антицитолітичну активність: активність АЛАТ знижувалася в 1,6 та 1,8 рази, відповідно. Під впливом ЕГВС 30 та силімарину нормалізувався вміст глікогену та знижувався КМП. Застосування ЕГВС 30 сприяло вірогідному зниженню вмісту ХР жовчі в 1,4 рази поряд з підвищенням рівня ЖК в 1,2 рази та зниженням активності ЛФ в 1,4 рази, що вказує на поліпшення холатосинтетичної функції печінки і зниження проявів холестази на тлі введення екстракту. Підвищення ХХК в 1,7 рази, щодо групи МП вказує на зниження літогенних властивостей жовчі, що також свідчить про відновлення процесу утворення холатів жовчі з ХР. Препарат порівняння працював на рівні досліджуваного ЕГВС 30. Також під впливом ЕГВС 30 та силімарину спостерігалось зростання швидкості секреції жовчі в 1,35 та 1,6 рази відповідно, що вказує на покращення жовчоекскреторної функції органу під дією досліджуваних засобів. Препарат порівняння в 1,2 рази більш виразніше збільшував цей показник, ніж ЕГВС 30, але ці відмінності не були достовірними.

Гепатопротекторна дія ЕГВС 30 значною мірою реалізується за рахунок антиоксидантних властивостей, а саме шляхом знешкодження активних форм кисню та зменшення оксидативного стресу, що реалізується за рахунок полісахаридів, нафтохінонів, флавоноїдів у складі досліджуваного екстракту (С. Sánchez-González et al., 2017; К.О. Kalko et al., 2018).

*Токсикологічна характеристика густих водно-спиртових екстрактів з незрілих плодів горіха волоського.* У досліджах з визначення гострої токсичності для всіх досліджуваних екстрактів встановлено значення LD<sub>50</sub>, яке становить > 5000 мг/кг, тобто вони належать до V класу токсичності - практично нетоксичні речовини (К.К. Сидоров, 1983). Для ЕГВС 30 визначено субхронічну токсичність. Застосування досліджуваного екстракту впродовж 90 діб у щурів не викликало загибелі тварин. На 30 та 90 добу експерименту достовірних змін маси тіла

відносно вихідного стану (ВС) та фізіологічної норми у всіх групах тварин зареєстровано не було (табл. 4).

Таблиця 4

**Вплив ЕГВС 30 на динаміку змін маси тіла (n=6)**

Показники	Час реєстрації	Група піддослідних тварин		
		Інтактний контроль	ЕГВС 30 25 мг/кг	Альтан 1мг/кг
Маса тіла у піддослідних тварин (M±m, n=6)	ВС, г	221,02±2,19	220,45±2,48	220,57±2,01
	30 доба, г	221,03±2,34	220,43±2,50	220,58±2,03
	90 доба, г	218,05±1,26	220,33±2,57	220,60±2,03

Примітки: n – кількість тварин у групі; ВС – вихідний стан.

Субхронічне введення ЕГВС 30 не чинило токсичного впливу на їх загальний стан та зміни поведінкових реакцій, що підтверджено біохімічними, гематологічними дослідженнями (табл. 5).

Таблиця 5

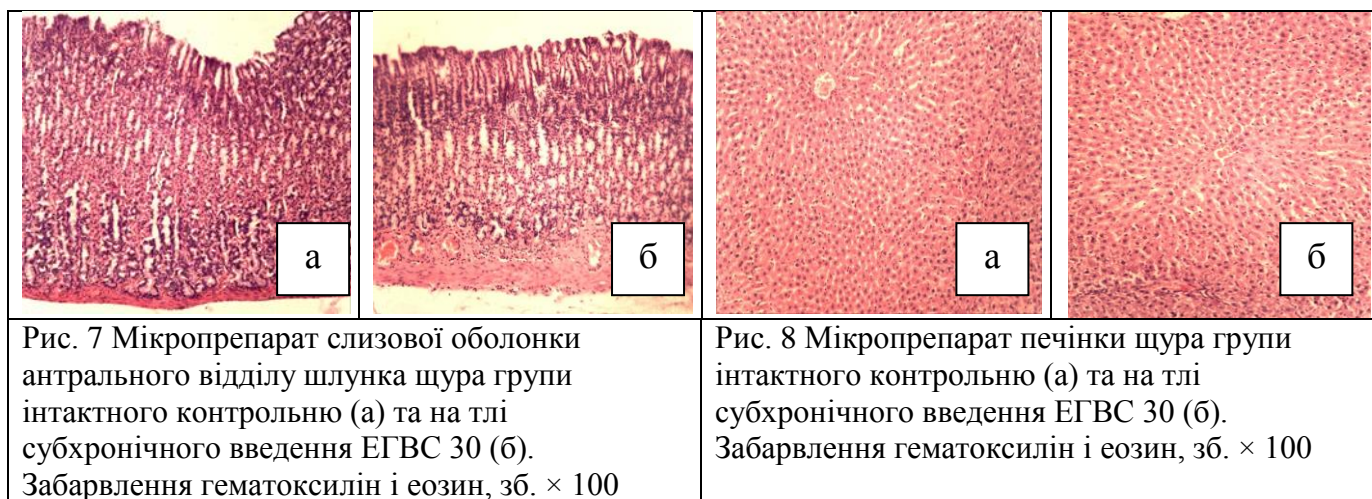
**Вплив ЕГВС 30 при субхронічному введенні на окремі показники вуглеводного, білкового, ліпідного обміну, небілкові азотисті речовини та гематологічні дані (M ± m, n=6) на 90 добу**

Показник	Група тварин		
	Інтактний контроль	ЕГВС 30, 25 мг/кг	Альтан, 1 мг/кг
Біохімічний аналіз крові			
Глюкоза, ммоль/л	6,52 ± 0,06	5,18 ± 0,11*	6,25 ± 0,12
ЗБ, г/л	60,41 ± 0,57	60,75 ± 0,65	58,54 ± 0,76
Сечовина, ммоль/л	7,03 ± 0,11	7,10 ± 0,09	7,12 ± 0,08
Креатинін, мкмоль/л	57,35 ± 0,11	56,25 ± 0,18*	57,53 ± 0,16
ХР, ммоль/л	2,63 ± 0,08	2,40 ± 0,07	3,12 ± 0,09*
Загальні ліпіди, ммоль/л	131,28 ± 1,12	122,15 ± 1,03*	149,28 ± 1,37*
β-ліпопротеїди, ум.од.	28,17 ± 0,39	10,00 ± 0,34*	21,88 ± 0,65*
Клінічний аналіз крові			
Гемоглобін, г/л	131,68 ± 1,4	122,96 ± 1,95*	120,05 ± 0,42*
ШОЕ, мм/год	2,62 ± 0,04	2,57 ± 0,04	2,57 ± 0,03
Гематокрит, %	39,35 ± 0,30	39,08 ± 0,39	40,05 ± 0,13
Еритроцити, 10 <sup>12</sup> од/л	6,83 ± 0,07	6,73 ± 0,10	6,63 ± 0,12
Лейкоцити, 10 <sup>9</sup> од/л	10,32 ± 0,15	10,02 ± 0,12	9,68 ± 0,24

Примітки: \* – відмінності, статистично значущі відносно групи модельної патології на рівні значущості p<0,05 (за t-критерієм Ст'юдента) з поправкою Бонфероні (Bonferroni test) при множинних порівняннях; n – кількість тварин у групі; ВС – вихідний стан.

Вміст сечовини та креатиніну в плазмі коливались в межах фізіологічної норми. Контроль показників функцій гепатобіліарної системи виявив здатність ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг знижувати в плазмі крові кількість  $\beta$ -ліпопротеїдів, загальних ліпідів, ХР. При аналізі білкового обміну достовірних змін під впливом досліджуваних препаратів не виявили. Щодо вуглеводного обміну, то субхронічне введення досліджуваного екстракту впродовж 3 місяців викликає достовірно значущі зміни рівня глюкози крові – при введенні ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг, рівень цукру знизився майже на 20,6 % (табл. 5). Це можна пояснити здатністю БАР, які входять до складу екстрактів з незрілих плодів ГВ, збільшувати розмір острівців Лангерганса, підвищувати рівень інсуліну і знижувати рівень глікозильованого гемоглобіну (J. Iran, M. Rahimzadeh, S. Jahanshahi, S. Moein, M.R. Moein, 2014).

У шлунках тварин, що одержували ЕГВС 30 протягом 90 діб (рис. 7б) на відміну від групи інтактного контролю (рис. 7а), можна відзначити повнокров'я СОШ, помірний набряк строми фовеолярного шару, розширення просвіту власних залоз, переважно в шийчному відділі, що може свідчити про посилення слизоутворення. Гістологічна структура печінки щурів, які отримували ЕГВС 30 не мала патологічних змін. Жовчні капіляри, розташовані між печінковими балками, мали просвіт звичайної форми, без ділянок розширення. Синусоїди печінкових часток мали однаковий просвіт. У центральних та периферичних відділах печінкових часток явищ стазу не виявлено, що свідчить про нормальний стан мікроциркуляторного русла в органі. Мали місце помірне повнокров'я, зерниста дистрофія гепатоцитів, незначна лімфоцитогістіоцитарна інфільтрація портальних трактів (рис. 8б).



Таким чином, встановлені експериментально противиразкова дія та супутні фармакодинамічні ефекти ЕГВС 30, обґрунтовують доцільність подальшого вивчення цього об'єкту та застосування його в комплексній корекції ксенобіотик-індукованих гастропатій.

## ВИСНОВКИ

Запальні захворювання ШКТ залишаються невирішеною проблемою сьогодення. Гастротоксичність лікарських препаратів, промислові та побутові речовини, неякісна питна вода, їжа промислового виробництва, зловживання алкоголем, паління можуть спровокувати розвиток запальних процесів СОШ та ДПК. Сьогодні існує необхідність у гастропротекторних ЛЗ, які здатні покращити функції ШКТ, поліпшити прогноз при пептичній виразці шлунку та дванадцятипалої кишки.

У дисертаційній роботі наведено нове рішення актуальної наукової задачі, що визначається експериментально-теоретичним обґрунтуванням доцільності та ефективності застосування густого водно-спиртового (30% спирт етиловий) екстракту з незрілих плодів ГВ в комплексній фармакотерапії виразкових уражень шлунку різної етіології, як протизапального, протимікробного та гастро- та гепатопротекторного засобу. Розширено уявлення про фармакологічні ефекти густого екстракту з незрілих плодів ГВ.

1. У результаті скринінгових досліджень густих екстрактів з незрілих плодів ГВ на моделі гострої спирто-преднізолонової виразки шлунку у щурів встановлено, що екстракт густий водно-спиртовий (30 % спирт етиловий) (ЕГВС 30) має найвищу противиразкову дію у дозах 25 та 50 мг/кг - 89,6 % та 94,2 % ( $p < 0,05$ ), відповідно. Встановлено умовно-ефективну дозу ЕГВС 30 - 25 мг/кг за ПВА у якій він не поступається активності препарату порівняння альтану (65,4 %).

2. Встановлена виражена противиразкова активність ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг у трьох режимах введення (профілактичному, лікувальному та лікувально-профілактичному) на моделі спирто-преднізолонового виразкового ураження шлунку відповідно на рівні 79,2; 83,3; та 89,7 % ( $p < 0,05$ ), що відповідає активності альтану (62,5; 68,0; 74,4 %). Найбільшу активність досліджуваний екстракт виявив при застосуванні у лікувально-профілактичному режимі введення. Виражена противиразкова активність ЕГВС 30 за умов лікувально-профілактичного режиму введення підтверджена результатами змін біохімічних показників (зростання вмісту ВГ та зменшення ТБК-Р в 1,5 рази, тобто відновленням прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. Окрім цього під впливом ЕГВС 30 спостерігалось інгібування цитолітичних процесів, про що можна судити за зниженням активності АлАТ, АсАТ та ГГТ на 12,9; 30,85 та 32,79 %, відповідно ( $p < 0,05$ ). Результати мікроскопічних досліджень підтверджують зменшення кількості і глибини виразкових дефектів, гемокапілярних розладів та набряку СОШ. Також виявлено антисекреторний (зниження секреторної функції шлунку на 26,4 % ( $p < 0,05$ ) та кислотності шлункового соку на 33,5 % ( $p < 0,05$ )) та помірний прокинетичний ефект ЕГВС 30 (підвищення моторики ШКТ на 30,0 % ( $p < 0,05$ )).

3. Встановлена противиразкова дія ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг при лікувально-профілактичному введенні на моделях НПЗЗ-індукованих виразок шлунку на рівні 86,1% ( $p < 0,05$ ) при індометацин-індукованій та на рівні 76,7 % ( $p < 0,05$ ) при диклофенак-індукованій, що співставляється з ПВА препарату порівняння альтану (75,7; 56,0 %) ( $p < 0,05$ ). Виявлено здатність ЕГВС 30 при індометацин- та

диклофенак-індукованих виразках шлунка корегувати проксидантно-антиоксидантний дисбаланс (збільшення вмісту ВГ на 28,36 та 29,08 % ( $p < 0,05$ ) та зменшення ТБК-Р на 21,7 та 23,1% ( $p < 0,05$ ), відповідно) та інгібувати цитолітичні процеси (достовірне зниження активності АсАТ в 1,7 та 1,45 рази; АлАТ в 1,32 та 1,25 рази та ГГТ в 1,5 і 1,6 рази, відповідно), що сприяло відновленню білоксинтетичних процесів (підвищення рівня загального білка в 1,25 рази та сечовини в 2,0 рази, відповідно).

4. Встановлена протизапальна активність ЕГВС 30 в дозі 25 мг/кг на моделі карагенінового набряку на рівні 37,3 % ( $p < 0,05$ ) з максимумом на 120 хв та на моделі формалінового набряку на рівні 30,3 % ( $p < 0,05$ ) з максимумом на 180 хв, за якою він поступається препарату порівняння диклофенаку натрію (47,1; 43,1 %).

5. Доведена антимікробна активність ЕГВС 30. Методом серійних розведень у бульйоні встановлено значення МІК та МБК. За чутливістю мікроорганізми можна розташувати наступним чином: *Candida albicans* № 690 > *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 > *Escherichia coli* ATCC 25922 > *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. При дослідженні антибактеріальної дії ЕГВС 30 методом серійних розведень в агарі, встановлена протимікробна активність ЕГВС 30 до всіх мікроорганізмів, що вивчались, але у різній концентрації: у концентрації 100 мкг/мл - пригнічує ріст *Salmonella typhimurium* № 532, у концентрації 50 мкг/мл та більше - *Shigella flexneri* 1a № 8516, *Shigella sonnei* 2K коліцінотіп 1, *E. coli* ATCC 25922 та *P. aeruginosa* ATCC 27853, а у концентрації 25 мкг/мл на більше - *Campylobacter jejuni* № 108 та *S. aureus* ATCC 25923.

6. Встановлено гепатопротекторну активність ЕГВС 30 на моделі гострого лікарського гепатиту, спричиненого парацетамолом. ЕГВС 30 сприяє підвищенню антиоксидантного захисту печінки - зростанню вмісту ВГ та зменшенню ТБК-Р в 1,7 та 1,4 рази, відповідно. Досліджуваний екстракт пригнічує активність цитолітичних процесів - знижує активність АлАТ на 38 % ( $p < 0,05$ ) та сприяє відновленню холеекскреторної і холатоутворювальної функції органа, про що свідчить зростання швидкості секреції жовчі в та вмісту в ній жовчних кислот в 1,4 рази. Виявлено, що під впливом ЕГВС 30 мала місце виражена достовірна нормалізація вмісту загальних ліпідів та ХР в сироватці крові тварин. ЕГВС 30 не впливав на вміст глюкози та ЗБ. Силімарин виявляв аналогічний ЕГВС 30 вплив в регулюванні метаболічних процесів у печінці.

7. Встановлено, що густі екстракти з незрілих плодів ГВ належать до V класу токсичності – «Практично нетоксичні речовини» ( $LD_{50} > 5000$  мг/кг) за класифікацією Сидорова К. К. (1983). Субхронічне введення (90 діб) ЕГВС 30 у дозі 25 мг/кг у щурів не викликало загибелі тварин, не чинило токсичного впливу на їх загальний стан, поведінкові реакції, біохімічні та гематологічні показники.

8. Результати проведеного дослідження обґрунтовують доцільність подальшого фармакологічного вивчення густих екстрактів з незрілих плодів ГВ та екстракту-лідера ЕГВС 30 в якості безпечних противиразкових засобів для профілактики та лікування виразкових уражень шлунка, в тому числі ксенобіотик-індукованих.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Залигіна Є. В., Подплетня О. А. Актуальність розробки вітчизняних фітопрепаратів з горіха волоського. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 2. С. 29-31. (Особистий внесок – участь у пошуку літературних джерел, їх аналізі та узагальненні та підготовці статті).

2. Залигіна Є. В., Подплетня О. А. Скринінгове дослідження противиразкової активності густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 6 (51). С. 47-52. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті).

3. Залыгина Е. В., Кошечая И. П., Подплетня Е. А. Противомикробная активность густого водно-спиртового экстракта незрелых плодов ореха грецкого. *East European Scientific Journal*. 2017. № 1 (17). P. 127-134. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті).

4. Залыгина Е. В., Подплетня Е. А. Исследование противоязвенной активности густого экстракта незрелых плодов грецкого ореха на модели диклофенак-индуцированной язвы желудка крыс. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2017. Т. 10, № 3 (25). С. 324-328. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті).

5. Залигіна Є. В. Порівняльне вивчення токсичності густого водно-спиртового екстракту з незрілих плодів горіха волоського та препарату Альтан за повторного введення шурам. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 6 (56). С. 72-82.

6. Залигіна Є. В., Подплетня О. А., Соколова К. В. Противиразкова дія екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського на моделі гострої спиртово-преднізолонної виразки шлунка щурів у різних режимах введення. *Клінічна фармація*. 2018. Т. 22, № 3. С. 46-51. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті).

7. Zalyhina Ye., Kaidash S., Khomiak N., Slesarchuk V., Lohvynenko N., Selina I. Hepatoprotective effect of spissum extract from immature Walnut based on model of paracetamol-induced acute liver injury in rats. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2019. Vol. 11. №1. S. 19-26. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті).

8. Залигіна Є. В. Застосування густого водно-спиртового екстракту з незрілих плодів горіха волоського як безпечного гастропротекторного засобу: патент на корисну модель 118186 Україна, МПК А61К36/00 (2017.01). № u 2017 01441; заявл. 16.02.2017; опубл. 25.07.2017. Бюл. № 14.

9. Залигіна Є. В., Педоренко Д. В., Слесарчук В. Ю., Подплетня О. А. Перспективність розробки лікарських засобів на основі екстрактів горіха волоського для профілактики та комплексного лікування стресових виразок.

«Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм»: матеріали VII науково-практичної конференції, м. Тернопіль, 30-31 жовтня 2014 р. «Здобутки клінічної і експериментальної медицини». 2014. № 2 (21). С. 233-234.

10. Залигіна Є. В. Незрілі плоди горіха волоського – перспективна лікарська сировина для отримання лікарських препаратів комплексного впливу на розлади шлунково-кишкового тракту. «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин»: матеріали II міжнародної науково-практичної internet- конференції, м. Харків, 21-23 березня 2016 р. Харків. 2016. С. 110-111.

11. Потапова Т. М., Залигіна Є. В., Соколова К. В., Слесарчук В. Ю., Подплетня О. А. Гастроцитопротекторні властивості лікарських рослин в фармакотерапії кислотозалежних захворювань ШКТ. «Актуальні проблеми клінічної, теоретичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації»: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, м. Одеса, 8-9 квітня 2016 р. Одеса. 2016. С. 149-153.

12. Залигіна Є. В., Подплетня О. А. Експериментальне дослідження впливу густого екстракту з незрілих плодів горіха волоського на функціональні показники роботи шлунково-кишкового тракту. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13-16 вересня 2016 р. Харків, 2016. Т.2. С. 45-46.

13. Залигіна Є. В., Подплетня О. А. Гастропротекторна активність густого екстракту горіха волоського в умовах гострої спирто-преднізолонової виразки шлунка у щурів. «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»: матеріали VI наук.-практичної конференції з міжн. участю, Тернопіль, 10-11 листопада 2016р., Тернопіль, 2016. С. 331-332.

14. Залигіна Є. В., Подплетня О. А., Слесарчук В. Ю., Кайдаш С. П. Порівняння гастропротекторної ефективності густого екстракту горіха волоського на виразки шлунка в щурів за умов різних модельних патологій. *V Національний з'їзд фармакологів України*: матеріали V Національного з'їзду фармакологів України, м. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 50-51.

15. Залигіна Є. В., Слесарчук В. Ю., Подплетня О. А., Бабаніна Н. Ю. Перспективи створення нових противиразкових лікарських засобів на основі біологічно активних речовин горіха волоського. «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів»: матеріали II міжн. науково-практичної конференції, м. Харків, 28-29 березня 2018 р. Харків, 2018. у 2-х т. – Х.1. – 268 с.

16. Залигіна Є. В. Подплетня О. А. Використання екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського в корекції експериментального виразкового ураження шлунку: інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я. Укрмедпатентінформ МОЗ України. Київ, 2017. № 53. 4 с. (Особистий внесок – участь в проведенні експериментальних досліджень та підготовці інформаційного листа).

## АНОТАЦІЯ

**Залигіна Є.В. Експериментальне вивчення гастропротекторної дії густого екстракту з незрілих плодів горіха волоського (*Juglans regia* L.). – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05. – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2019.

Дисертаційна робота присвячена аналізу гастропротекторної активності густого водно-спиртового (30% спирт етиловий) екстракту з незрілих плодів горіха волоського (ЕГВС 30).

На першому етапі було отримано чотири екстракти з незрілих плодів горіха волоського (водний та водно-спиртові 30, 70 та 96%) та досліджено сучасними фізико-хімічними методами їх якісний та кількісний склад. Шляхом скринінгу було обрано найбільш ефективний за противиразковою активністю екстракт з незрілих плодів горіха волоського, яким виявився ЕГВС 30, та визначено його умовно-терапевтичну дозу.

В експерименті виявлено гастропротекторні властивості ЕГВС 30 в дозі 25 мг/кг. В умовах спирто-преднізолонового, індометацинового та диклофенакового виразкового ураження шлунку ЕГВС 30 виявляє гастропротекторну дію, а саме достовірно знижує виразність виразкової деструкції та глибину ураження СОШ та нормалізує біохімічні показники плазми крові тварин. ЕГВС 30 має протизапальні властивості – гальмує розвиток карагенінового та формалінового набряків. ЕГВС 30 чинить антимікробну дію відносно музейних і клінічних штамів мікроорганізмів та виявляє гепатопротекторні властивості. Данні токсикологічних досліджень доводять безпечність ЕГВС 30. Результати дослідження експериментально обґрунтовують доцільність створення нового гастропротекторного препарату на основі ЕГВС 30.

*Ключові слова:* густий екстракт, горіх волоський, гастропротекторна активність, гепатопротекторна дія, протизапальна активність, протимікробна активність.

## АННОТАЦИЯ

**Залыгина Е.В. Экспериментальное изучение гастропротекторного действия густого экстракта из незрелых плодов ореха грецкого (*Juglans regia* L.). – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2019.

Диссертация посвящена анализу гастропротекторной активности густого водно-спиртового (30% спирт этиловый) экстракта из незрелых плодов ореха грецкого (ЕГВС 30).

На первом этапе было получено четыре экстракта из незрелых плодов ореха грецкого (водный и водно-спиртовые 30, 70 и 96%) и исследован их качественный и количественный состав современными физико-химическими методами. Путем скрининга был выбран наиболее эффективный, по противоязвенной активности,



экстракт из незрелых плодов ореха грецкого, которым оказался ЕГВС 30, и определена его условно-терапевтическая доза.

В эксперименте выявлены гастропротекторные свойства ЕГВС 30 в дозе 25 мг/кг. В условиях спирто-преднизолонового, индометацинового и диклофенакового язвенного повреждения желудка ЕГВС 30 выявляет гастропротекторное действие, а именно достоверно снижает выраженность язвенной деструкции и глубину поражения СОЖ и нормализует биохимические показатели плазмы крови животных. ЕГВС 30 обладает противовоспалительными свойствами - тормозит развитие карагенинового и формалинового отеков. ЕГВС 30 оказывает антимикробное действие в отношении музейных и клинических штаммов микроорганизмов и проявляет гепатопротекторную активность.

Данные токсикологических исследований доказывают безопасность ЕГВС 30. Результаты исследования экспериментально обосновывают целесообразность создания нового гастропротекторного препарата на основе ЕГВС 30.

*Ключевые слова:* густой экстракт, орех грецкий, гастропротекторная активность, гепатопротекторное действие, противовоспалительная активность, противомикробная активность.

## SUMMARY

**Zalygina Ye.V. The experimental study of gastroprotective action of dense extract from crude walnut fruit (*Juglans regia* L.).** – The manuscript.

The thesis for a Candidate of Pharmaceutical Science Degree (PhD) in speciality 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy of Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The dissertation is concerned with the new solution of the actual scientific problem, which is determined by the experimental and theoretical substantiation of the efficiency of application of a dense hydroalcoholic (30 % ethyl alcohol) extract from crude walnut (*Juglans regia* L.) fruit in the complex pharmacotherapy of ulcerous stomach lesions of different etiologies. The investigated hydroalcoholic extract (30 % ethyl alcohol) from crude walnut fruit (DEHA 30) is selected as the leading extract among the extracts from crude fruits of *Juglans regia* (JR) for anti-ulcer activity as a result of screening studies.

The investigated extracts from crude JR fruit were obtained at the Department of Quality, Standardization and Certification of Drugs of the National University of Pharmacy for guidance of Ph.D. Prokopenko Yu. S. The extracts have the appearance of dense masses of yellow-brown color with a specific odor of naproquinones, sweet to taste, are soluble in hydrophilic solvents and alcohols.

As a result of screening studies on the model of acute alcohol-prednisolone stomach ulcer in rats it was found that the hydroalcoholic extract (30 % ethyl alcohol) from crude walnut fruit has the highest anti-ulcer activity at doses of 25 mg/kg (89.6 %) which is inferior ( $p < 0,05$ ) to the activity of the reference drug Altan (65.4 %).

The next stage in the study of DEHA 30 as an anti-ulcer medicine was the determination of the conditionally effective dose for anti-ulcer activity in the model of acute alcohol-prednisolone stomach ulcer in rats, which made up 25 mg/kg for anti-ulcer

activity, in which the extract reduces the secretory function of the stomach by 26.4 % ( $p < 0,05$ ).

Subsequently, the efficacy of DEHA 30 in a conditionally effective dose of 25 mg/kg in different administration modes was investigated. On the model of alcohol-prednisolone ulcerative lesion of the stomach was established the expressive anti-ulcer activity of DEHA 30 at a dose of 25 mg/kg for prophylactic, therapeutic and therapeutic and prophylactic modes, at 79.2, 83.3 and 89.7 % ( $p < 0,05$ ), respectively, which corresponds to the activity of the Altan (62.5; 68.0; 74.4 %).

The maximum efficacy of DEHA 30 at a dose of 25 mg/kg was established in the treatment-prophylactic mode of administration, which was confirmed by the results of macroscopic and microscopic studies of the gastric mucosa and on the parameters of prooxidant-antioxidant balance, cytolysis activity and protein-synthetic processes. Histologically, a decrease in the number and depth of defects, hemocapillary disorders, edema of the mucous membrane of the stomach was established.

The gastroprotective activity of the test extract on models of NSAID-induced gastric ulcers: indomethacin (20 mg/kg intragastric once) and diclofenac (50 mg/kg intragastric fractional introduction) were investigated.

The anti-ulcerative effect of DEHA 30 at a dose of 25 mg/kg in the therapeutic and prophylactic mode of administration has been established at the level of 86.1 % ( $p < 0.05$ ) on indomethacin-induced and at 76.7 % ( $p < 0.05$ ) on diclofenac-induced gastropathy, which comparable to the effect of the reference drug Altan (75.7, 56.0%) ( $p < 0.05$ ).

An important component of the manifestation of gastroprotective action is anti-inflammatory activity. The anti-inflammatory activity of DEHA 30 in the conditionally effective dose in the aseptic edema models was established: at 37.3 % ( $p < 0.05$ ) with a maximum of 120 minutes on the carrageenan edema model and at 30.3 % ( $p < 0.05$ ) with a maximum of 180 minutes on the model of formalin edema, which is inferior to the drug for comparison – diclofenac sodium (47.1, 43.1 %).

Antimicrobial activity of DEHA 30: at 50  $\mu\text{g/ml}$  it inhibits the growth of strains of test cultures: *Shigella flexneri* 1a No. 8516, *Shigella sonnei* 2K colicinotype 1, at 25  $\mu\text{g/ml}$  inhibits *Campylobacter jejuni* № 108 growth and weakly inhibits the growth of *Shigella flexneri* 1a No. 8516 and *Shigella sonnei* 2K colicinotype 1.

Hepatoprotective activity of DEHA 30 was detected on the model of medicinal lesion of the liver with paracetamol (increasing the content of RG by 1.7 times and decreasing TBA-R by 1.4 times and ALT activity on 38.0 % ( $p < 0.05$ ).

Experimental studies which carried out show that there is no specific sensitivity and toxic effect of dense extracts (aqueous and hydroalcoholic 30, 70 and 96 %) from crude JR fruit with single intragastric administration to mice and rats at a dose of 5000 mg/kg. According to the classification of Sidorov K. K. (1983) dense extracts of crude walnut fruit can be attributed to the class V – particularly non-toxic substances.

Chronic administration (90 days) of DEHA 30 at a dose of 25 mg/kg in rats did not cause death of animals, did not have a toxic effect on their general condition, behavioral reactions, biochemical and hematological data.

*Key words:* thick extract, walnut, gastroprotective activity, hepatoprotective effect, anti-inflammatory activity, anti-microbial activity.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза;  
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;  
ВГ – відновлений глутатіон;  
ВІ – виразковий індекс;  
ВС – вихідний стан;  
ГВ – горіх волоський;  
ГГТ – гама-глутамілтранспептидаза;  
ГКС – глюкокортикостероїди;  
ДПК – дванадцятипала кишка;  
ЕГВС 30 – екстракт густий водно-спиртовий (30 % спирт етиловий) з незрілих плодів горіха волоського;  
ЖК – жовчні кислоти;  
ЗБ – загальний білок;  
КМП – коефіцієнт маси печінки;  
ЛР – лікарські рослини;  
ЛРС – лікарська рослина сировина;  
ЛФ – лужна фосфатаза;  
МБК – мінімальна бактерицидна концентрація;  
МІК – мінімальна інгібуюча концентрація;  
МО – мікроорганізм;  
МП – модельна патологія;  
ПВА – противиразкова активність;  
ПВШ – пептична виразка шлунка;  
ПЗА – протизапальна активність;  
СОШ – слизова оболонка шлунка;  
ССТВ – середній ступінь тяжкості виразки;  
Тв - відсоток тварин з виразками у групі;  
ТБК-Р - тіобарбітурової кислоти реактанти;  
ХР – холестерол;  
ХХК – холатно-холестероловий коефіцієнт;  
УЕД – умовно-ефективна доза;  
ШК-реакція – реакція Шиффа (periodic acid-Schiff (PAS) reaction);  
n – кількість спостережень;  
M – середня арифметична величини;  
m – стандартна помилка середньої;  
LD<sub>50</sub> – (аббревіатура від англ. Lethal Dose, 50% — смертельна доза 50 %);  
p – рівень статистичної значущості.