

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ВЕРХОВОДОВА ЮЛІЯ ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 615.246:615.322:615.017:615.015.13:615.015.14

ФАРМАКОЛОГІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНОВАНИХ
ФІТОЕКСТРАКТІВ ШАВЛІЇ ЛІКАРСЬКОЇ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ТА КОРЕКЦІЇ
ДИСБІОТИЧНИХ ПОРУШЕНЬ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

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

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
КІРЕЄВ Ігор Володимирович,
Національний Фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
директор Навчально-наукового інституту прикладної
фармації

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
ЗАЙЧЕНКО Ганна Володимирівна,
Національний медичний університет
імені О. О. Богомольця МОЗ України (м. Київ),
завідувач кафедри фармакології

доктор медичних наук, професор
МІНУХІН Валерій Володимирович,
ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова
Національної академії медичних наук України» (м. Харків),
директор

Захист відбудеться «11» травня 2021 р. о 12:30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

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

Автореферат розісланий «8» квітня 2021 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д-р фарм. наук, професор

К. Г. Щокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Антибіотик-асоційована діарея (ААД) є актуальною проблемою галузі охорони здоров'я. ААД розвивається за даними різних авторів у (5–35) % пацієнтів, які отримують антибіотики (L. C. McDonald et al., 2017; Mark S. Riddle et al., 2016; M. A. Silverman et al., 2017; А. А. Плоскирева, 2016). ААД значно знижує якість життя пацієнтів, працездатність, а в разі ускладнення інфекцією *C. difficile* є ймовірність летальних випадків (B. E. Lacy et al., 2016; H. Philpott et al., 2011; A. Shin et al., 2020). В епоху активного застосування антибіотиків і проблеми антибіотикорезистентності проблема лікування і профілактики ААД стає ще більш актуальною (P. Oka et al., 2020; Ю. П. Успенский, Ю. А. Фоминых, 2013). Незважаючи на те, що головним етіологічним фактором ААД є антибіотикотерапія, для лікування важкої ААД (*C. difficile*) застосовують антибіотики (ванкоміцин, фідаксоміцин, метронідазол), моноклональні антитіла та ін. (M. Y. Alikhani et al., 2016; H. Stier, S. C. Bischoff, 2016; R. Orenstein, R.L. Patron, 2019). І навіть це не завжди приводить до повного одужання (T. J. Louie, et al., 2011).

В результаті ААД відбуваються дисбіотичні зміни кишечника, що погіршує прогноз і перебіг хвороби (M. M. Шаповалова та співавт., 2018; A. Deshpande et al., 2015). Як відомо, мікрофлора людини надзвичайно складна частина організму, яка відповідає за імунітет, метаболізм, травлення та інші життєво важливі процеси. При ААД важливим є запобігання і корекція таких порушень. Вчені рекомендують пробіотики *S. boulardii* і *LGG* для профілактики і лікування дисбіозу кишечника, в тому числі при ААД (H. Zhou et al., 2018; L. C. McDonald et al., 2017; О. Е. Чернишова, 2015). На даному етапі питання застосування пробіотиків широко обговорюється вченими всього світу (J. P. Mills et al., 2018; M. Sartelli et al., 2019). Число публікацій на тему пробіотиків на PubMed з 1999 року по 2020 рік зросло з 357 до > 27000. На Українському ринку не так багато пробіотиків, які ґрунтуючись на даних доказової медицини, можна застосовувати для профілактики і лікування ААД (Мухамед Мофтах Элаати, 2012; В. Г. Майданник, 2017; С. М. Ткач, 2020). З огляду на дані літератури, є рекомендації для застосування високодозних пробіотиків, що містять не менше $5 \cdot 10^6$ КУО/г *S. boulardii*, понад $17 \cdot 10^9$ КУО/г *LGG* (H. И. Урсова, 2013; Н. В. Гончар., А. Н. Суворов, М. С. Федорова, 2014).

Згідно літературних даних, однією з перспективних рослин, які здатні зменшувати диспепсичні явища, діарею, мають вітрогінний, епітелійпротекторний, антимікробний, протизапальний ефекти є *S. officinalis* (G. Ahmad, E. Mahdi, 2017; A. F. Afonso et al., 2019).

Вищезазначене стало підставою для пошуку ефективного та безпечного екстракту *S. officinalis*, в перспективі застосування для профілактики та корекції дисбіотичних порушень асоційованих з ААД.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Робота є фрагментом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956, 2014–2023 рр.), в яких дисертант є співвиконавцем.

Мета і завдання дослідження. *Мета роботи* – експериментальне обґрунтування доцільності застосування екстрактів *S. officinalis* для профілактики та корекції дисбіотичних порушень асоційованих з прийомом антибактеріальних препаратів і ААД.

Для досягнення поставленої мети були поставлені такі *завдання*:

1. Дослідити гостру токсичність екстрактів *S. officinalis* за умов внутрішньошлункового застосування.

2. Провести скринінгові фармакологічні дослідження з метою виявлення найбільш ефективних фітоекстрактів за антимікробною активністю.

3. Провести скринінгові фармакологічні дослідження з визначення умовно-терапевтичної дози фітоекстрактів за діуретичною активністю.

4. Дослідити протизапальну активність екстрактів *S. officinalis* на моделях карагенінового та зимозанового набряків.

5. Встановити капіляррозміцнюючу активність екстрактів *S. officinalis* на моделі спонтанного гемолізу.

6. Оцінити мембраностабілізуючу активність екстрактів *S. officinalis* за проникності судин.

7. Дослідити ефект екстрактів *S. officinalis* на кишкову мікробіоту, гематологічні, біохімічні показники при експериментальному дисбіозі у щурів.

8. Дослідити ефект екстрактів *S. officinalis* на кишкову стінку при експериментальному коліті с дисбіотичними порушеннями.

Об'єкт дослідження – фармакологічна корекція дисбіотичних порушень.

Предмет дослідження – фармакологічна активність екстрактів *S. officinalis* в умовах експериментального інфекційного коліту.

Методи дослідження. Токсикологічні (дослідження гострої токсичності), фармакологічні (вивчення протизапальної, діуретичної, капіляррозміцнюючої та мембраностабілізуючої активностей, моделювання експериментального дисбіоза на фоні коліту), гематологічні (визначення вмісту гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів, лейкоцитарної формули, швидкість осідання крові), біохімічні (визначення вмісту у сироватці крові загального білка, сечовини, а також активності ензиму аланінамінотрансферази (АлАТ); визначення рівня активних продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП) та відновленого глутатіону (ВГ) у гомогенаті кишечника), гістологічні (дослідження морфоструктури стінки кишечника), мікробіологічні (дослідження антимікробної активності), статистичні методи дослідження (медіана, стандартне відхилення, t-критерій Стьюдента, критерій Мана-Уїтні тощо).

Наукова новизна отриманих результатів. Дисертантом встановлено, що при внутрішньошлунковому введенні лабораторним мишам обох статей екстракти, що були досліджені, відносяться до V класу, практично нетоксичні речовини згідно з загальноприйнятою класифікацією за К. К. Сидоровим.

Встановлено, що досліджені екстракти *S. officinalis* у більшості мали антимікробну дію на рівні слабоактивних або активних речовин. Визначено, що включення L-лізину до екстракта № 2 (комплекс фенольних сполук) (екстракт № 4) забезпечувало більш виражену антимікробну дію на більшість штамів у порівнянні з

екстрактом № 2. В результаті проведення скринінгових досліджень екстрактами лідерами обрано екстракти № 2 та № 4.

Виявлено, що антидіуретичний ефект більшості екстрактів (№№ 3, 4, 5, 6, 9 та 10) виявився в діапазоні доз (10–50) мг/кг, зникаючи зі збільшенням дози, дозу 50 мг/кг ми визнали умовно-терапевтичною та в подальшому використовували її для вивчення фармакодинамічних властивостей досліджуваних речовин.

Вперше доведено, що екстракт № 4 (фенольний екстракт з додаванням L-лізину) проявив найвиразнішу антиексудативну активність на моделі гострого карагенінового набряку протягом всього дослідження та дорівнював 93 % на 4 годину дослідження.

Встановлено, що під дією досліджуваних фітоекстрактів максимальна протизапальна активність на моделі зимозанового набряку спостерігалась протягом двох годин і склала для фітоекстракту №4 – 44 %, для фітоекстракту № 2 – 40,6 %. В результаті дослідження встановлено, що у досліджуваних екстрактів здатність стабілізувати мембрани клітин на рівні вітаміну Е у фітоекстракту № 2 та перевищувати за цією активністю у екстракту № 4. Мембраностабілізуюча активність екстракта № 2 та екстракта № 4 склала 25 % та 31,5 % відповідно.

В результаті дослідження впливу екстрактів *S. officinalis* на судинну проникність визначено, що фітоекстракти виявили виразну капіляррозміцнювальну активність. Фітоекстракт № 4 виявився дещо більш активним, ніж екстракт № 2. Найбільш виражений судинозміцнювальний ефект фітокомплекс №4 проявив при підвищенні судинної проникності, що викликана ін'єкцією формаліну, карагеніну, гістаміну та білку. Профарбування цих папул сповільнювалось у 2,0, 1,8, 1,7 та 1,7 рази відповідно у порівнянні з контрольною групою.

В результаті дослідження на моделі інфекційного коліту доведено антагоністичну активність фітоекстрактів № 2 та № 4 і препарату порівняння рифаксиміна по відношенню до *E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus*, *C. perfringens*. На відміну від рифаксиміна досліджувані фітоекстракти в експерименті не вплинули на представників нормальної мікрофлори. Встановлено, що пребіотична здатність найбільш притаманна екстракту *S. officinalis* № 4. Таким чином, в експерименті *in vivo* виявлено певну ефективність екстрактів *S. officinalis* для корекції дисбіотичних порушень, що виникали при експериментальному інфекційному коліті у щурів.

Визначено, що лікування тварин досліджуваними екстрактами *S. officinalis* № 2 та № 4 в дозах 50 мг/кг на фоні експериментального коліту призвело до нормалізації гематологічних показників периферичної крові у щурів. Екстракт № 4 більш активно пригнічував запальні процеси у слизовій оболонці товстого кишечника, чинив позитивний вплив на гематологічні показники периферичної крові щурів, перевищуючи дію препарату порівняння – рифаксиміну.

Вперше доведені антиоксидантні, мембраностабілізуючі та протизапальні властивості фітоекстрактів з *S. officinalis* № 2 та № 4 в дозі 50 мг/кг, що за ефективністю значно перевищують препарат порівняння рифаксимін, на тлі експериментального коліту у щу.

Вперше встановлено, що на моделі інфекційного коліту у групі спостережень, де тварини отримували фітоекстракт № 2, відзначалося ослаблення дистрофічних,

десквамативних, запальних та ерозивно-виразкових процесів. У групі спостережень, де експериментальні тварини отримували фітоекстракт № 4, були відзначені найбільш виражені позитивні ефекти у порівнянні з модельною патологією та фітоекстрактом № 2, які проявлялися ліквідацією дистрофічних, десквамативних і запальних змін.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані в дисертаційній роботі експериментальні дані дозволили оцінити фармакологічну активність екстрактів *S. officinalis*, визначити сполуку лідер – екстракт № 4, умовно-терапевтичну дозу 50 мг/кг. Обґрунтовано доцільність подальших доклінічних, клінічних досліджень сполуки лідера на основі екстракта *S. officinalis* з додаванням L-лізину.

За результатами проведених досліджень запропоновано спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями (патент України на корисну модель № 140188; 2020 р., патент України на винахід № 122640), спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю (патент України на корисну модель № 138320, 2019 р.) та спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю (патент України на винахід № 121367, 2020 р.).

Результати роботи впроваджені в науково-дослідну і науково-педагогічну роботу кафедри фармакогнозії та технології ліків Одеського національного медичного університету (протокол № 5 від 11 грудня 2019 р.). З результатами досліджень отримано сертифікат про впровадження у реєстр Vrupharmexport sprl від 10.11.2019, Брюссель.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом разом з науковим керівником сформульовані мета та завдання дослідження, обрано методичні підходи, згідно з якими відібрано моделі та методи для виконання експериментальних досліджень. Особисто дисертантом проведено: патентно-інформаційний пошук, аналіз та узагальнення літературних даних за темою дисертації, експериментальні дослідження, статистична обробка, аналіз та систематизація отриманих результатів, сформульовані висновки дисертації. Усі експериментальні результати отримано автором особисто або за безпосередньої участі. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведено результати експериментальних досліджень. Взято участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, у написанні наукових праць та їх підготовці до друку.

Співавторами наукових праць є науковий керівник І. В. Кіреєв та науковці, спільно з якими проведено деякі дослідження – О. М. Кошовий, М. М. Миґа, Т. П. Осолодченко, О. В. Гамуля, Г. В. Вовк, Т. В. Ільїна, С. М. Потапов, С. Є. Молочна.

Мікробіологічні дослідження властивостей екстрактів та пробіотиків проведено у лабораторії біохімії та біотехнології ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» (завідувач лабораторії – канд. біол. наук, старш. наук. співр. Осолодченко Т. П.). Гістологічні дослідження виконані в ЦНДЛ ХНМУ (консультативна допомога – канд. мед. наук, доц. Потапов С. М.). Дисертант вдячний усім науковцям за методичну та консультативну допомогу.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертації викладені та обговорені на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях: XXXII Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 21 травня 2015 р.); XXXIII Всеукраїнська науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів. Сучасна фармакотерапія хронічної обструктивної патології легень» (м. Харків, 8–9 квітня 2016 р.); VIII Національний з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (м. Харків, 13–16 вересня 2016 р.); XXIII Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених та студентів «Topical issues of new medicines development» (Харків, 21 квітня, 2016 р.); I Міжнародна науково-практична конференція «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 30–31 березня 2017 р.); I Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 18 жовтня 2018 р.); II Міжнародна науково-практична конференція «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 28–29 березня 2018 р.); Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 80-річчю з дня народження д-ра фармац. наук проф. О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (м. Харків, 12–13 квітня 2018 р.); III Міжнародна науково-практична internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (м. Харків, 26–28 листопада 2018 р.); II Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 21 листопада 2019 р.); III Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних, і косметичних лікарських засобів» (м. Харків, 01 березня 2019 р.); Науково-практична міжвузівська конференція молодих учених та студентів з міжнародною участю «Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекції патологічних станів» (м. Харків, 05 квітня 2019 р.); IV Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів» (м. Харків, 20 березня 2020 р.); XXVII Міжнародна Науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (м. Харків, 8–10 квітня 2020 р.); Галузева міжвузівська конференція присвячена дню хворого (м. Харків, 11 лютого 2020 р.); III Науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 19 листопада 2020 р.); IV Міжнародна Науково-практична internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (м. Харків, 26–27 листопада 2020 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 24 наукові праці, у тому числі 8 статей, серед яких 7 у профільних виданнях, рекомендованих МОН України та 1 у закордонному науковому виданні, що індексується у базі Scopus та Web of

Science, 2 патенти України на корисну модель, 2 патент України на винахід, 12 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 149 сторінках машинописного тексту та містить анотації українською та англійською мовами, вступ, огляд літератури, розділ «Матеріали та методи досліджень», 3 розділи власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», висновки та список використаних джерел літератури, який містить 165 наукових джерел (кирилицею – 49, латиницею – 116) та 9 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 128 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 14 таблицями, 10 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Для дослідження були представлені екстракти шавлії лікарської (*Salvia officinalis* L. род – *Salvia*), які були одержані на кафедрі фармакогнозії НФаУ під керівництвом д-ра фарм. наук, проф. О. М. Кошового: екстракт № 1 (сухий екстракт на основі відвару листя *S. officinalis*), екстракт № 2 (сухий екстракт з листя *S. officinalis*, одержаний 50 % етанолом), екстракт № 3 (сухий екстракт з листя *S. officinalis*, одержаний 96 % етанолом), екстракт № 4 (комплекс фенольних сполук з L-лізином), екстракт № 5 (комплекс фенольних сполук з аргініном), екстракт № 6 (полісахаридний комплекс), екстракт № 7 (очищений комплекс), екстракт № 8 (сапоніновий комплекс), екстракт № 9 (фенольний комплекс), екстракт № 10 (флавоноїдний комплекс), екстракт № 11 (комплекс гідрофільних фенольних сполук). При проведенні досліджень були використані наступні препарати порівняння: листя шавлії (*S. officinalis*) (ПрАТ «Ліктрави» Україна, пач. 50 г); фуросемід (Борщагівський ХФЗ ПАО Україна, табл. 40 мг) у дозі 10 мг/кг, гідрохлортіазид (Борщагівський ХФЗ ПАО Україна, табл. 25 мг) у дозі 50 мг/кг, адіурекрин (ЗАТ «Індар» Україна, порошок 10 г (10 000 ОД)) у дозі 2 ОД, диклофенак натрію (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» Україна, табл. 25 мг) у дозі 8 мг/кг; вітамін Е (АТ «Київський вітамінний завод» Україна, капс. 100 мг) у дозі 50 мг/кг; «Альфа нормікс» (рифаксимін) (Альфа Вассерманн С.п.А., Італія, табл. 200 мг) у дозі 10 мг/кг; кверцетин (Борщагівський ХФЗ, Україна, гранули 0,04 г) у дозі 50 мг/кг.

Дози препаратів при проведенні досліджень розраховували по готовій лікарській формі за допомогою коефіцієнту видової стійкості Ю. Р. Риболовлева (1979), виходячи з добової дози для людини. Препарати вводили внутрішньошлунково у вигляді водних суспензій.

Експериментальні дослідження фармакологічної активності та безпечності екстрактів *S. officinalis* виконано на 578 стандартизованих тваринах (362 щурах та 216 мишах). Тварини утримувалися в однакових умовах, на стандартному раціоні харчування відповідно до санітарно-гігієнічних вимог (Ю. М. Кожемякін, 2002) у віварії ЦНДЛ НФаУ (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р.; чинне до 07.12.2019 р.). Дотримувалися принципів Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту і Ради ЄС «Про захист тварин, що використовуються з науковою метою» (Брюссель, 2010), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від

21.02.2006 р. зі змінами та Наказу МОН молодь спорту України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» № 249 від 01.03.2012 р., що засвідчено висновками Комісії з питань біоетики НФаУ (протокол № 01 від 02.10.2019 р.).

Виходячи із мети і завдань дисертаційної роботи, експериментальні дослідження виконували за алгоритмом, наведеним на рис. 1.

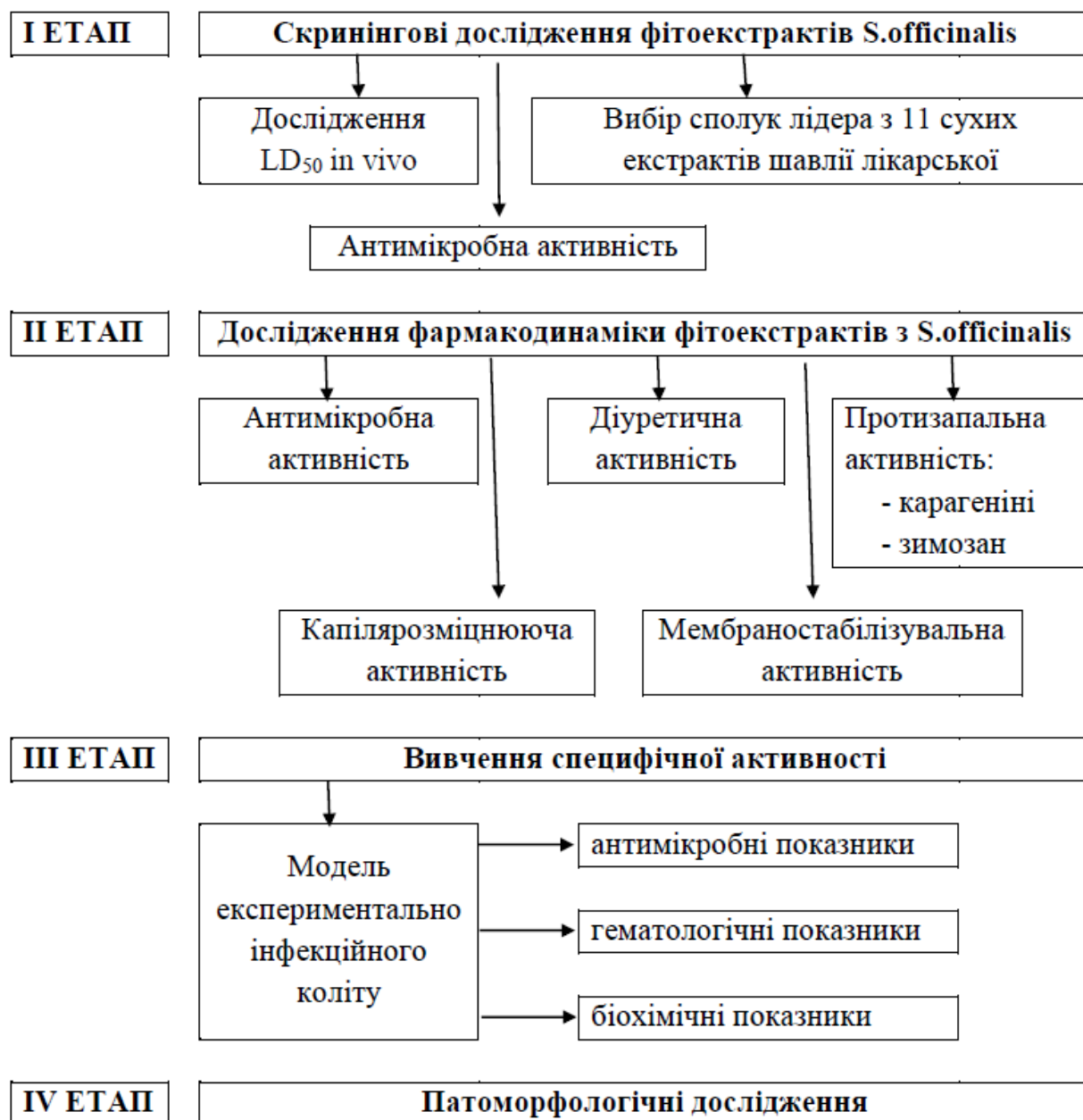


Рис. 1 Дизайн дослідження

У досліджах використовувались експериментальні моделі згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України «Доклінічні дослідження лікарських засобів» (О. В. Стефанов, 2001).

Гостру токсичність фітоекстрактів встановлювали за експрес-методом Т. В. Пастушенка на мишах при одноразовому внутрішньошлунковому введенні

(А. В. Стефанов, 2002). Клас токсичності визначили за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова (1973).

Проведено скринінгове вивчення антимікробної активності досліджуваних екстрактів з метою встановлення найбільш фармакологічно активних фітооб'єктів. Вивчення антимікробної дії фітоекстрактів шавлії проводили методом дифузії в агар у лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» під керівництвом канд. біол. наук Осолодченко Т. П. (Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р.). В якості тест-культур використовували: грампозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* ATCC 26923, спорову культуру *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грамнегативну культуру *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 4636 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Антифунгальну дію з'ясовували відносно *Candida albicans* ATCC 885/653. Для грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів застосовували м'ясо-пептонний агар, для дріжджеподібних грибів – агар Сабуро.

Визначення діуретичної активності фітоекстрактів *S. officinalis* проводили за методом Є. Б. Берхіна. Діуретичну дію речовин оцінювали за кількістю виділеної сечі через 2 та 4 години від початку експерименту в умовах 3 % водного навантаження від маси тварини (В. М. Брюханов и соавт., 2009; С. Ю. Штриголь та співавт., 2009).

Антиексудативну активність (АА) фітоекстрактів *S. officinalis* досліджували на моделі карагенінового та зимозанового набряків. Гостре асептичне запалення відтворювали введенням 1 %-ного розчину карагеніну та 2 %-ого розчину зимозану, які вводили щурам субплантарно в об'ємі 0,1 мл на тварину через 1 годину після введення досліджуваних фітоекстрактів (О. В. Стефанов, 2001). Вимірювання величини набряку лап у щурів при гострому ексудативному запаленні проводили за допомогою механічного онкометра.

Вивчення мембраностабілізуючої активності фітоекстрактів *S. officinalis* проводили за методом Ф. С. Jager (Л. М. Вороніна, 1996), який ґрунтується на визначенні за довжини хвилі 540 нм екстинкції позаеритроцитарного гемоглобіну, що надходить до крові внаслідок спонтанного гемолізу, викликаного ПОЛ киснем повітря.

Капілярозміцнювальну дію досліджувальних фітоекстрактів *S. officinalis* встановлювали за методом П. П. Голікова (1964), використовуючи різні флогогенні речовини (гістамін, карагенін, білок, формалін). Вплив препаратів на судинну проникність оцінювали за часом профарбовування папул у місці ін'єкцій у хвилинах.

Для дослідження впливу екстрактів *S. officinalis* на кишкову мікробіоту та кишкову стінку при наявності запального процесу досліджували на тлі експериментального інфекційного коліту (Пат. на корисну модель 140188, пат. на винахід № 122640). Для відтворення моделі проводили імуносупресію шляхом внутрішньом'язового введення циклофосфаміду у дозі 0,6 мг/кг упродовж 7 днів при мікробному навантаженні per os *S. aureus* (10^9 клітин/мл), *C. albicans* (10^{10} клітин/мл), *C. perfringens* (10^8 клітин/мл) упродовж 3 днів. При приготуванні мікробних суспензій з необхідною кількістю мікроорганізмів використовували

електронний прилад Densi-La-Meter (виробництва PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). На 15 день усіх щурів виводили з експерименту шляхом евтаназії під ефірним наркозом шляхом дислокації шийних хребців. Для мікробіологічного дослідження зразки випорожнень збирали на 11 та 15 добу та висівали на тверді поживні середовища. Оцінювали морфологічні та культуральні властивості колоній, а потім готували мазки, забарвлювали їх за методом Грама і досліджували морфологічні властивості мікроорганізмів за допомогою світлового мікроскопу Granum.

В експериментах з вивчення пребіотичних властивостей екстрактів *S. officinalis* на тлі експериментального інфекційного коліту у щурів використовували препарати бацил «*Bifidobacterium dry*» та «*Lacidofil*», які містили *Bifidobacterium bifidum* і *Lactobacillus rhamnosus* відповідно.

Вивчення гематологічних (визначення гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів, лейкоцитарної формули та ШОЕ) та біохімічних показників (визначення загального білку, сечовини та АЛАТ у сироватці крові) на тлі експериментального коліту проводили уніфікованими колориметричними методами з використанням наборів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів у гомогенаті кишечника оцінювали за вмістом ТБК-АП (И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, 1977), а стан антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом ВГ (Н. Г. Щербань и соавт., 2004).

Гістоморфологічні дослідження тонкого і товстого кишечника щурів проводили стандартними методами світлової мікроскопії Olympus VX-41 з подальшим мікроскопічним фотографуванням з використанням забарвлень гематоксилін-еозином (Г. А. Меркулов, 1969; A. L. Mescher, 2018; R. Nayak, 2018). Гістологічні дослідження виконані в ЦНДЛ ХНМУ (при консультуванні доц. С. М. Потапова).

Результати та їх обговорення. У результаті вивчення гострої токсичності екстрактів шавлії при внутрішньошлунковому введенні мишам обох статей було встановлено, що фітоекстракти з листя *S. officinalis* відносяться до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини) за класифікацією К. К. Сидорова.

Вивчення антимікробної активності фітоекстрактів показало, що у більшості випадках досліджувальні зразки проявили помірні властивості. Зразок № 1 проявив найбільшу активність відносно бактерій штаму *S. aureus*, а на *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *P. aeruginosa* та грибів роду *Candida* показав менш виражену активність. Модифікація екстракту № 1 за рахунок збільшення кількісного вмісту фенольних сполук (екстракт № 9) призвело до збільшення чутливості грамнегативних бактерій. При визначенні антимікробної активності зразку фітоекстракту №2 було виявлено, що рівень протимікробної дії реєструвався в межах (12–17) мм, найбільш чутливий – *S. aureus*. Вміст L-лізину у складі фітоекстракту № 4 супроводжувалось підвищенням рівня протимікробної активності, особливо по відношенню до грамнегативних мікроорганізмів (15–20) мм. Включення аргініну (фітоекстракт № 5) не вплинуло на антимікробну активність.

Результати дослідження діуретичної активності показали, що 10 з 11 фітоекстрактів володіють антидіуретичними властивостями. Фітоекстракт № 7, показник якого був на рівні інтактного контролю, не впливав на діурез. Найбільш виражену

антидіуретичну активність продемонстрував екстракт № 4. При введенні у дозах 10 мг/кг, 20 мг/кг та 50 мг/кг він вірогідно знижував діурез через 4 години у щурів порівняно з інтактним контролем на 55,1 %, 58,3 % та 56,7 % відповідно та не поступався за активністю препарату порівняння адіурекрину. Фітоекстракт № 5 у дозах 10 мг/кг, 20 мг/кг та 50 мг/кг також проявив вірогідний антидіуретичний ефект, знижуючи діурез відносно інтактного контролю на 19,0 %, 15,8 % та 33,1 % відповідно ($p < 0,05$) та поступався препарату порівняння адіурекрину. Фітоекстракти №№ 1, 2, 3, 6, 8, 9, 10 та 11 знижували діурез у дозах 10 мг/кг та 50 мг/кг; при зростанні дози до 70 мг/кг ефект зникає. За результатами досліджень фітоекстракти №№ 2 та 4 були обрані як сполуки-лідери з умовно-терапевтичною дозою 50 мг/кг.

Вивчення протизапальних властивостей на моделі карагенінового набряку кінцівки щурів показало, що фітоекстракти №№ 5 та 6 не мають антиексудативних властивостей. Екстракти №№ 1, 2, 4, 11 зменшували запалення протягом 1–4 годин спостереження, їх антиексудативна активність дорівнювала (31–93) %. Фітоекстракт № 4 вірогідно знижував запалення протягом всього експерименту, АА дорівнював 93 % на 4 годину дослідження ($p < 0,05$). Фітоекстракти №№ 7, 8, 9, 10 вірогідно зменшували запальну реакцію тільки на першу годину експерименту, антиексудативна активність яких становила 51 %, 51 %, 54 % та 57% відповідно ($p < 0,05$), а на 2 годину – вірогідно не відрізнялася у порівнянні з позитивним контролем. Екстракт № 3 проявив антиексудативну активність на 4 годину спостереження (АА – 75 %), впливаючи на кінцеву фазу запалення. На моделі зимозанового набряку кінцівки щурів протизапальна активність фіто екстрактів №№ 2 та 4 спостерігалася протягом двох годин, набряк вірогідно зменшувався на 40,6 % та 44,0 % відповідно ($p < 0,05$) у порівнянні з позитивним контролем, яка за виразністю дорівнювала препарату порівняння – гранулам кверцетину.

Експериментальні дослідження з вивчення мембраностабілізуючих властивостей екстрактів *S. officinalis* за умов *in vitro*, показали, що екстракт № 2 зменшував ступінь спонтанного гемолізу на 25,2 % і не поступався референс-препарату – вітаміну Е (24,5 %) (рис. 2).

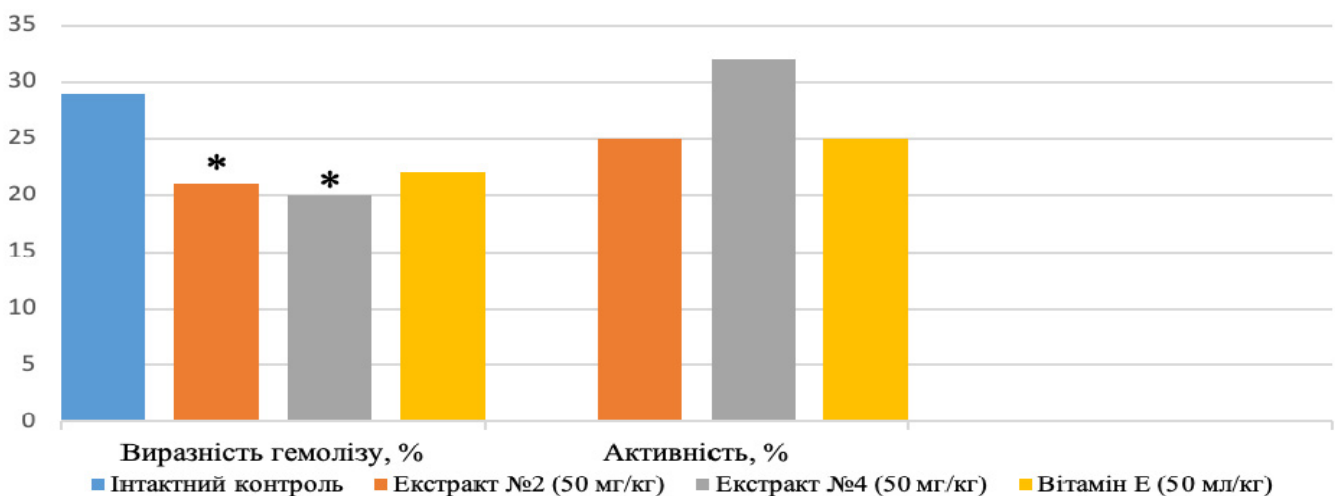


Рис. 2 Вплив екстрактів *S. officinalis* № 2 та № 4 на спонтанний гемоліз еритроцитів у інтактних тварин ($n = 6$)

Примітка. * – відхилення достовірні щодо значень ІК ($p < 0,05$).

Мембраностабілізуючий ефект екстракту № 4 був на рівні 31,5 % і перевищував активність препарату порівняння та екстракту № 2.

За результатами дослідження впливу екстрактів *S. officinalis* на судинну проникність встановлено, що фітоекстракти виявили виразну капіляррозміцнювальну активність по відношенню до контрольної групи, про що свідчить швидкість профарбування шкірних папул, утворених формаліном, карагеніном, гістаміном та білком (табл. 1). Найбільш активним виявився фітоекстракт №4, який вірогідно сповільнював профарбовування у 2,0, 1,8, 1,7 та 1,7 разу відповідно у порівнянні з ІК ($p < 0,05$). Профарбування шкірних папул при застосуванні фітоекстракту №2 вірогідно (окрім білкової папули) сповільнювались у 1,3 1,9 1,6 та 1,4 разу відповідно у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$).

Таблиця 1

Вплив екстрактів шавлії лікарської на судинну проникність, ($M \pm SD$), ($n=6$)

Експериментальна група	Швидкість профарбування папул при введенні флогогенів, хв.			
	гістамін	карагенін	білок	формалін
Контрольна група	6,10 ± 0,15	5,85 ± 0,21	4,05 ± 0,24	7,20 ± 0,25
Екстракт №2	9,50 ± 0,20*	11,00 ± 0,12*	5,50 ± 0,12	9,50 ± 0,54*
Екстракт №4	10,55 ± 0,18*	10,50 ± 0,15*	7,03 ± 0,15*	14,50 ± 0,16*

Примітка. * – відхилення достовірні щодо значень ІК ($p < 0,05$)

Наступним етапом нашої роботи було вивчення ефекту екстрактів *S. officinalis* на кишкову мікробіоту *in vivo* при дисбіотичних порушеннях на фоні експериментального інфекційного коліту у щурів. Референс-препаратом був рифаксимін у дозі 10 мг/кг; 50 % екстракт *S. officinalis* (№ 2) та комплекс фенольних сполук з L-лізином (№ 4) застосовували у дозі 50 мг/кг протягом 5 днів. Аналізуючи отримані дані було встановлено, що екстракти шавлії володіють антагоністичною дією щодо патогенної та умовно-патогенної мікрофлори кишечника щурів в умовах дослідження, опосередковано відновлюють показники нормофлори. Так, екстракти №№ 2 та 4 збільшували загальну кількість кишкових паличок ($1 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^5$ КУО/г), кількість *S. aureus* зменшилась до показників норми ($1 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^5$ КУО/г). Екстракт № 4 збільшував загальну кількість *E. coli* до рівня нормальних показників ($1 \cdot 10^5 - 1 \cdot 10^6$ КУО/г), але у порівнянні з групою, що отримувала екстракт № 2, показники були вищими. Стосовно визначення *C. albicans* у тварин обох експериментальних груп слід зазначити, що кількість мікроорганізмів зменшилась до норми у 100 % випадків ($p_u = 0.02$), одночасно зменшилась й кількість клостридій у 2,9 разу відповідно серед тварин кожної групи ($p_u = 0.02$). При дослідженні впливу екстрактів шавлії лікарської на представників нормофлори показали збільшення кількості біфідобактерій та лактобактерій на 1–2 порядки. Так, при застосуванні екстракту № 2 рівень біфідобактерій досягав $1 \cdot 10^6$ КУО/г у 16,7 % тварин, $1 \cdot 10^7$ КУО/г у 66 % тварин та $1 \cdot 10^8$ КУО/г у 16,7 % тварин, в той час, як застосування екстракту № 4 супроводжувалося підвищенням кількості біфідобактерій до $1 \cdot 10^8$ КУО/г у 50 % тварин та $1 \cdot 10^7$ КУО/г у 50 % тварин. Одночасно кількість лактобактерій при застосуванні екстракту № 2 сягала

$1 \cdot 10^6$ КУО/г у 66 %, а $1 \cdot 10^7$ КУО/г у 34 % щурів групи, в той час як екстракт № 4 збільшував кількість лактобактерій до $1 \cdot 10^7$ КУО/г у 83,6 % та $1 \cdot 10^8$ КУО/г у 16,7 % щурів. Екстракт № 4 виявив більш ефективну пребіотичну активність, ніж екстракт № 2. На тлі застосування рифаксиміна у дозі 10 мг/кг для лікування експериментального інфекційного коліту у щурів спостерігалось значне зменшення кількості *S. aureus* ($1 \cdot 10^3$ – $1 \cdot 10^4$ КУО/г) та відсутність *C. perfringens* у 100 % випадків. Кількість *C. albicans* залишилась на рівні $1 \cdot 10^4$ КУО/г у 83,3 % випадків, що доводить відсутність відновлення нормальної мікрофлори кишечника, яке обумовлено антимікробною дією препарату на мікробіоту.

Гематологічні дослідження периферичної крові на тлі експериментального інфекційного коліту показали, що при застосуванні фітоекстрактів шавлії лікарської відбувалися нормалізація показників лейкоцитарної формули; достовірне збільшення рівня гемоглобіну та кількості еритроцитів у порівнянні з КП ($p \leq 0,05$); достовірне зменшення кількості лейкоцитів, а також знизився показник ШОЕ у порівнянні з КП ($p \leq 0,05$), що свідчить про пригнічення запального процесу. При використанні препарату порівняння відбувалась поступова нормалізація гематологічних показників периферичної крові, але вони не досягли значень як у тварин з досліджувальними екстрактами (рис. 3).

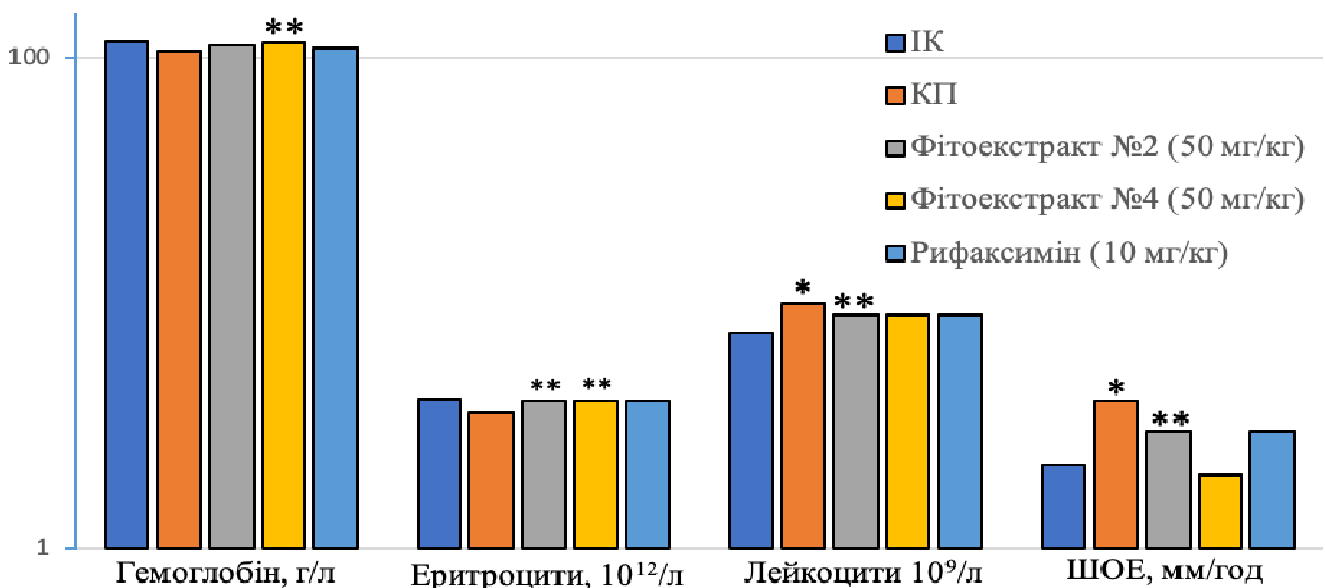


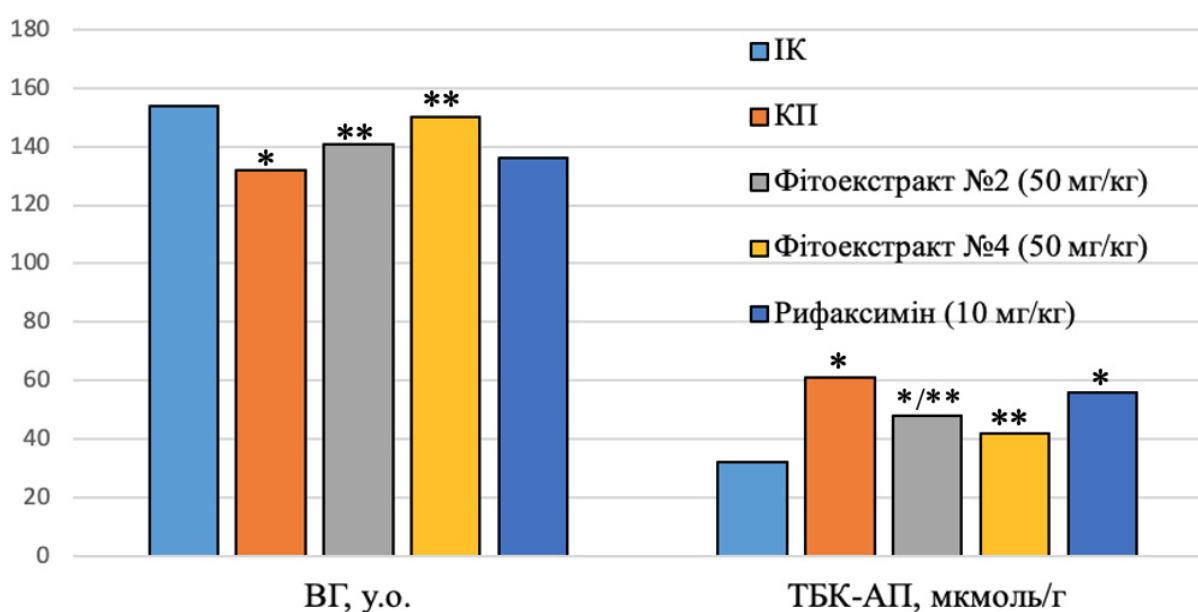
Рис. 3 Вплив екстрактів *S. officinalis* № 2 та № 4 на гематологічні показники щурів на моделі експериментального інфекційного коліту на 15 добу ($n = 7$)

Примітка. * – відхилення достовірні щодо значень ІК, $p \leq 0,05$; ** – відхилення достовірні щодо значень КП, $p \leq 0,05$.

Аналізуючи результати біохімічних досліджень впливу екстрактів *S. officinalis* на тлі експериментального інфекційного коліту встановлено, що фітоекстракт № 2 у дозі 50 мг/кг нормалізував рівень сечовини ($6,05 \pm 0,48$), а рівень загального білка дещо був підвищений ($46,52 \pm 1,82$) у порівнянні з КП. Застосування фітоекстракту № 4 у дозі 50 мг/кг призводило до вірогідного зменшення вмісту сечовини ($5,73 \pm 0,22$) у порівнянні з КП ($p \leq 0,05$) та зменшував кількість загального білку ($48,22 \pm 1,74$). Рівень маркерного ферменту цитолізу АЛАТ при застосуванні

екстрактів № 2 та 4 вірогідно зменшував в 1,6 та 1,8 раз відповідно, у порівнянні з КП ($p \leq 0,05$). При застосуванні референс-препарату рифаксиміну у дозі 10 мг/кг рівень загального білку збільшився в 1,1 разу, а сечовина зменшилась в 1,3 разу у порівнянні з КП; рівень АЛАТ вірогідно зменшився в 1,2 разу у порівнянні з КП ($p \leq 0,05$).

Визначення маркерів ПОЛ та антиоксидантної системи у гомогенаті тканини показало, що на тлі інфекційного коліту екстракти шавлії № 2 та № 4 у дозі 50 мг/кг рівень ТБК-активних продуктів вірогідно зменшився відносно КП ($p \leq 0,05$); рівень ВГ вірогідно збільшився в 1,1 та 1,4 разу відповідно у порівнянні з КП ($p \leq 0,05$). Препарат порівняння рифаксимін в дозі 10 мг/кг не виявив антиоксидантних властивостей і в умовах даної модельної патології поступився за рівнем



терапевтичної дії досліджуваним фітоекстрактам (рис. 4).

Рис. 4 Вплив екстрактів *S. officinalis* № 2 та № 4 на маркери ПОЛ (ТБК-АП, ВГ) щурів на моделі експериментального інфекційного коліту на 15 добу ($n = 7$)

Примітка. * – відхилення достовірні щодо значень ІК, $p \leq 0,05$; ** – відхилення достовірні щодо значень КП, $p \leq 0,05$.

Гістоморфологічні дослідження на тлі експериментального інфекційного коліту показали, що в експерименті на моделі інфекційного коліту у групі спостережень, де тварини отримували фітоекстракт № 2 у дозі 50 мг/кг, відзначалася позитивна морфологічна динаміка у порівнянні з контрольною патологією, яка характеризувалася ослабленням дистрофічних, десквамативних, запальних та ерозивно-виразкових процесів. У групі спостережень, де експериментальні тварини отримували фітоекстракт № 4 у дозі 50 мг/кг, були відзначені найбільш виражені позитивні морфологічні ефекти у порівнянні з модельною патологією та фітоекстрактом № 2, які проявлялися ліквідацією дистрофічних, десквамативних і запальних змін (рис. 5).

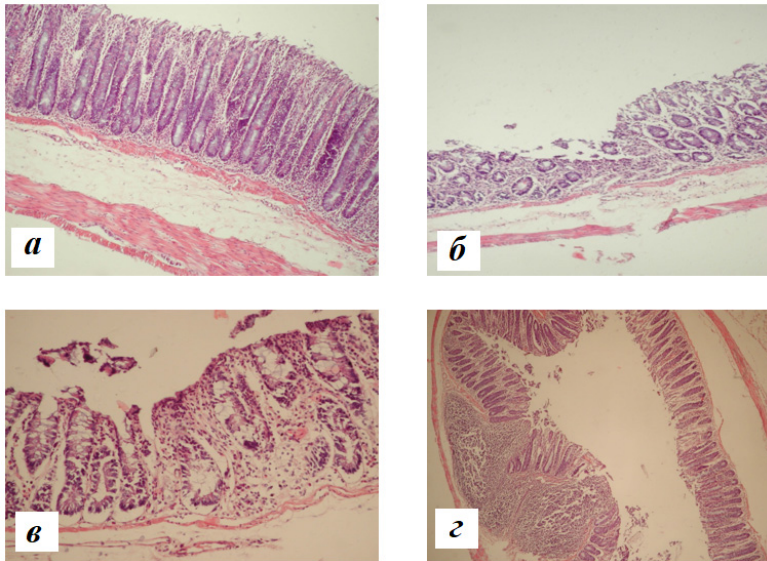


Рис. 5 Мікрофотографія препаратів товстого кишечника:

а - Інтактні тварини. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$

б - Контрольна патологія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$

в - Застосування екстракту № 2 у дозі 50 мг/кг на тлі експериментального інфекційного коліту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$

г - Застосування екстракту № 4 у дозі 50 мг/кг на тлі експериментального інфекційного коліту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 50$

Таким чином, результати дисертаційної роботи підтверджують, що фітоекстракти *S. officinalis* належать до практично нетоксичних речовини, володіють антимікробною, діуретичною, протизапальною, антиоксидантною та мембраностабілізуючою активностями, виявляють певну ефективність для корекції дисбіотичних порушень, які виникли при експериментальному інфекційному коліті. Найактивніші серед фітооб'єктів, екстракти №№ 2 та 4 у дозах 50 мг/кг можуть бути рекомендовані для подальших доклінічних та клінічних досліджень з метою створення вітчизняних препаратів для профілактики та корекції дисбіотичних порушень.

ВИСНОВКИ

ААД та дисбіотичні порушення, які виникають внаслідок застосування антибіотиків є актуальною проблемою в медицині. *C. difficile* може ускладнювати перебіг ААД та призводити до зростання смертності, інвалідизації населення працездатного віку, знижувати якість життя. Нами було досліджено фармакологічні властивості та залежність доза-ефект оригінальних екстрактів отриманих з листя *S. officinalis*. В результаті дисертаційного дослідження було вирішено поставлені наукові завдання та отримано наступні результати:

1. За результатами вивчення гострої токсичності екстрактів з листя *S. officinalis* встановлено, що при внутрішньошлунковому введенні у дозі 6000 мг/кг лабораторним мишам обох статей екстракти відносяться до V класу, практично нетоксичні речовини згідно з загальноприйнятою класифікацією за К. К. Сидоровим.

2. Доведено, що екстракти *S. officinalis*, які були досліджені, у більшості мали антимікробну дію на рівні слабоактивних або активних речовин. В результаті проведення скринінгових досліджень екстрактами лідерами обрано екстракти № 2 та № 4. Встановлено, що включення L-лізину до 50 % екстракта *S. officinalis* (екстракт № 4) забезпечувало більш виражену антимікробну дію на більшість штамів у порівнянні з екстрактом № 2.

3. При вивченні діуретичної активності було встановлено, що екстракти володіють антидіуретичною активністю і знижують об'єм виведеної сечі на

(15,7–58,3) %. В скринінгових дослідженнях за діуретичною активністю встановлено умовно-терапевтичну дозу фітоекстрактів шавлії для щурів – 50 мг/кг.

4. Визначена протизапальна дія досліджуваних фітоекстрактів на моделях карагенінового та зимозанового набряків. Найвиразнішу достовірну антиексудативну активність проявив екстракт № 4 протягом всього дослідження та дорівнював 93 % ($p < 0,05$) на 4 годину дослідження. Максимальна протизапальна активність на моделі зимозанового набряку спостерігалась протягом двох годин і склала для фітоекстракту № (4–44) % ($p < 0,05$), для фітоекстракту № 2 – 40,6 % ($p < 0,05$) і за виразністю дорівнювала препарату порівняння гранулам кверцетину.

5. Встановлено, що досліджувані фітоекстракти на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів здатні стабілізувати мембрани клітин на рівні вітаміну Е (24,5 %) у екстракту № 2 (25,2 %) та перевищувати за цією активністю у екстракту № 4 (31,5 %).

6. В результаті дослідження впливу екстрактів *S. officinalis* на судинну проникність встановлено, що фітоекстракти виявили виразну капіляррозміцнювальну активність. Фітоекстракт №4 виявився дещо більш активним ніж екстракт № 2. Найбільш виражений судинозміцнювальний ефект фітокомплекс № 4 проявив при підвищенні судинної проникності, що викликана ін'єкцією формаліну, карагеніну, гістаміну та білку. Профарбування цих папул сповільнювалось у 2,0, 1,8, 1,7 та 1,7 разу відповідно у порівнянні з контрольною групою.

7. За умов експериментального інфекційного коліту *in vivo* доведена антагоністична дія фітоекстрактів №№ 2, 4 щодо препарату порівняння рифаксиміну по відношенню до *E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus*, *C. perfringens*. Встановлена пребіотична активність у екстракта №4. Корируюча дія досліджуваних екстрактів на тлі інфекційного коліту підтверджена нормалізацією до інтактного контролю: гематологічних показників периферичної крові (вірогідне збільшення гемоглобіну та кількості еритроцитів, вірогідне зменшення кількості лейкоцитів та ШОЕ ($p \leq 0,05$)) та біохімічних показників (зменшення вмісту сечовини, збільшення вмісту загально білку, вірогідне зменшення АлАТ в 1,6 і 1,8 разу ($p \leq 0,05$) у крові та вірогідне зменшення ТБК-АП, вірогідне збільшення ВГ в 1,1 та 1,4 разу ($p \leq 0,05$) відповідно у гомогенаті тканини).

8. В результаті патоморфологічного дослідження встановлено, що в експерименті на моделі інфекційного коліту у групі спостережень, де тварини отримували фітоекстракт № 2 у дозі 50 мг/кг, відзначалася позитивна морфологічна динаміка у порівнянні з модельною патологією, яка характеризувалася ослабленням дистрофічних, десквамативних, запальних та ерозивно-виразкових процесів. У групі спостережень, де експериментальні тварини отримували фітоекстракт № 4 у дозі 50 мг/кг, були відзначені найбільш виражені позитивні морфологічні ефекти у порівнянні з модельною патологією та фітоекстрактом № 2, які проявлялися ліквідацією дистрофічних, десквамативних і запальних змін.

9. Отримані результати є підґрунтям для проведення подальших доклінічних та клінічних досліджень задля цілеспрямованої розробки на основі екстрактів *S. officinalis* лікарських препаратів з антимікробною, пребіотичною,

протизапальною, мембраностабілізувальною та антиоксидантною активностями та розширення асортименту вітчизняних лікарських засобів для профілактики та корекції дисбіотичних порушень.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Вовк Г. В., Мига М. М., Кошовий О. М., Верховодова Ю. В., Кіреєв І. В. Фітохімічне та фармакологічне дослідження дистиляційної витяжки з листя шавлії лікарської. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 1 (42). С. 51–54. (Особистий внесок дисертанта: аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка отриманих даних, підготовка статті).

2. Верховодова Ю. В., Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Мига М. М. Дослідження антиексудативної активності екстрактів з листя *Salvia officinalis*. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21, № 4. С. 54–60. DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i4.10839. (Особистий внесок дисертанта: аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка отриманих даних, підготовка статті).

3. Верховодова Ю. В., Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Мига М. М., Молочна С. Є. Вивчення гострої токсичності вперше отриманих екстрактів шавлії лікарської. *Art of medicine*. 2019. № 2 (10). С. 20–24. (Особистий внесок дисертанта: аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка отриманих даних, підготовка статті).

4. Verkhovodova Y. V., Kireyev I. V., Koshovyi O. M., Osolodchenko T. P. In vitro antimicrobial study of new modifications of *Salvia officinalis* extracts. *Annals of Mechnikov Institute*. 2019. № 1. С. 31–35. Режим доступу : http://nbuv.gov.ua/UJRN/ami_2019_1_7. (Особистий внесок дисертанта: аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка отриманих даних, підготовка статті).

5. Верховодова Ю. В., Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Мига М. М. Дослідження впливу екстрактів листя шавлії лікарської на діурез у щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. Т. 13, № 4. С. 249–254. DOI:10.33250/13.04.249 (Особистий внесок дисертанта: аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка отриманих даних, підготовка статті).

6. Мига М. М., Верховодова Ю. В., Кошовий О. М., Кіреєв І. В., Ільїна Т. В. Фітохімічний профіль та протизапальна активність сухих екстрактів з листя шавлії лікарської. *Фітотерапія*. Часопис. 2019. № 4. С. 38–41. DOI:10.33617/2522-9680-2019-4-38. (Особистий внесок дисертанта: аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка отриманих даних, підготовка статті).

7. Verkhovodova Y., Kireyev I., Koshovyi O., Myha M., Osolodchenko T. The effect of common sage extracts on the intestinal microbiota in experimental infectious

colitis. *Georgian Medical News*. 2020. № 4 (301). P. 165–170. (Особистий внесок дисертанта: аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка отриманих даних, підготовка статті).

8. Мига М. М., Кошовий О. М., Гамуля О. В., Верховодова Ю. В., Кіреєв І. В., Комісаренко А. М. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 1 (32). С. 61–71. (Особистий внесок дисертанта: аналіз літературних джерел, участь у експерименті, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка отриманих даних, підготовка статті).

9. Спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю: пат. 138320 на корисну модель Україна. № u 2019 04814 / І. В. Кіреєв, О. М. Кошовий, Ю. В. Верховодова, М. М. Мига; заявл. 06.05.2019; опуб. 25.11.2019. Бюл. № 22. 3 с. (Особистий внесок дисертанта: здійснення патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, аналіз результатів, оформленні патенту).

10. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю: пат. 121367 на винахід Україна. № а 2019 04796 / І. В. Кіреєв, О. М. Кошовий, Ю. В. Верховодова, М. М. Мига; заявл. 06.05.2019; опубл. 12.05.2020. Бюл. № 9. 5 с. (Особистий внесок дисертанта: здійснення патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, аналіз результатів, оформленні патенту).

11. Спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями: пат. 140188 на корисну модель Україна. № u 2019 07465 / І. В. Кіреєв, О. М. Кошовий, Ю. В. Верховодова, М. М. Мига, С. М. Потапов, Т. П. Осолодченко; заявл. 04.07.2019; опубл. 10.02.2020. Бюл. № 3. 3 с. (Особистий внесок дисертанта: здійснення патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, аналіз результатів, оформленні патенту).

12. Спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями : пат. 122640 на винахід Україна. № а 2019 07468 / І. В. Кіреєв, О. М. Кошовий, Ю. В. Верховодова, М. М. Мига, С. М. Потапов, Т. П. Осолодченко ; заявл. 04.07.2019 ; опубл. 11.12.2020. Бюл. № 23. 4 с. (Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, проведені експериментальних досліджень та оформленні патенту).

13. Verkhovodova Y. V. In vitro study of antimicrobial activity of some salvia officinalis extracts. *Topical issues of new drugs development* : матеріали XXIII міжнар. наук.-практ. конф. мол. вчених та студ., м. Харків, 21 квіт. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. Т. 2. С. 85.

14. Мига М. М., Кошовий О. М., Верховодова Ю. В. Дослідження фенольного складу та протизапальної активності сухого екстракту з листя шавлії лікарської. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13–16 верес. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. Т. 1. С. 116.

15. Верховодова Ю. В. Вивчення впливу деяких екстрактів шавлії лікарської на діурез у щурів. *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 28–29 берез. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. Т. 2. С. 72.

16. Верховодова Ю. В. Вивчення впливу екстрактів шавлії лікарської на діурез у щурів. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80-річчю з дня народження д-ра фармац. наук проф. О. М. Гайдукевича, м. Харків, 12–13 квіт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 31.

17. Верховодова Ю. В. Антибактеріальна активність похідних екстрактів шавлії лікарської. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : матеріали I наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 18 жовт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 66.

18. Верховодова Ю. В. Визначення гострої токсичності похідних екстрактів шавлії лікарської (*Salvia officinalis*). *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали III міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26–28 листоп. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 48.

19. Verkhovodova Y. V., Kireev I. V. In vivo study of how some *Salvia officinalis* extracts affect diuresis in rats. *Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекції патологічних станів* : матеріали міжвуз. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів з міжнар. участю, м. Харків, 5–6 квіт., 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 9.

20. Verkhovodova Y. V. Evaluation of the antimicrobial activity of common sage extracts on infectious colitis model in white rats. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : тези доповідей II науково-практичної internet-конференції з міжнар. участю, м. Харків, 21 лист. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 49.

21. Verkhovodova Y. V. *Salvia Officinalis* extracts effect on dysbiotic gut microflora. *Topical issues of new drugs development* : матеріали XXVII міжнар. наук.-практ. конф. мол. уч. та студ., м. Харків, 8–10 квіт. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 63.

22. Верховодова Ю. В. Дослідження протизапальної активності екстрактів *S.officinalis* на моделі зимозанового набряку. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : тези доповідей III науково-практичної internet-конференції з міжнар. участю, м. Харків, 19 лист. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 74.

23. Верховодова Ю. В. Мембраностабілізуюча активність екстрактів *S.officinalis*. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали IV міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26–27 листоп. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 67–68.

24. Верховодова Ю. В. Судиннозміцнююча дія екстрактів *S.officinalis*. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали IV міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26–27 листоп. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 68.

АНОТАЦІЯ

Верховодова Ю. В. Фармакологічна ефективність застосування комбінованих фітоекстрактів шавлії лікарської для профілактики та корекції дисбіотичних порушень. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.03.05 – «Фармакологія» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2021.

Дисертаційна робота присвячена вивченню фармакологічних властивостей екстрактів *S. officinalis* для профілактики та корекції дисбіозу кишечника. За результатами проведених досліджень були встановлені фітосубстанції-лідери та ефективна доза. Результати вивчення гострої токсичності фітоекстрактів шавлії показали V клас за класифікацією К. К. Сидорова.

При дослідженні антимікробної активності встановлено, що у більшості випадків екстракти мали антимікробну дію на рівні слабоактивних або активних речовин. Найбільший ефект встановлений у екстракта № 4.

Дослідження діуретичної активності екстрактів *S. officinalis* показало, що усі екстракти, окрім екстракту № 7, володіють антидіуретичним ефектом на рівні адіурекрина.

Доведена помірна антиексудативна активність у екстрактів шавлії. Встановлені виражені капіляро- та судинозміцнювальні властивості у фітоекстракта № 4.

На моделі експериментального інфекційного коліту доведено, що екстракти *S. officinalis* №№ 2 та 4 ефективні до *E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus*, *C. perfringens* та не впливають на мікробіоту; позитивно впливають на гематологічні та біохімічні показники периферичної крові, перевищуючи дію препарату порівняння.

В результаті патоморфологічного дослідження встановлено, що в експериментальних групах відзначалася позитивна морфологічна динаміка у порівнянні з модельною патологією.

Ключові слова: антибіотик-асоційована діарея, шавлія лікарська, екстракти, фенольні сполуки, лізин, гостра токсичність, антимікробна активність, діуретична активність, протизапальна активність, мікробіота, морфологічне дослідження.

АННОТАЦИЯ

Верховодова Ю. В. Фармакологическая эффективность применения комбинированных фитоекстрактов шалфея для профилактики и коррекции дисбиотических нарушений. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук (доктора философии) по специальности 14.03.05 – «Фармакология» (22 – Охрана здоровья). – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2021.

Диссертационная работа посвящена изучению фармакологических свойств экстрактов *S. officinalis* для профилактики и коррекции дисбиоза кишечника. По результатам проведенных исследований были установлены фитосубстанции-

лидеры и эффективная доза 50 мг/кг. Результаты изучения острой токсичности фитоекстрактов шалфея показали V класс по классификации К. К. Сидорова.

При исследовании антимикробной активности установлено, что в большинстве случаев экстракты имели антимикробное действие на уровне слабоактивных или активных веществ. Наибольший эффект установлен у экстракта № 4.

Исследования диуретической активности экстрактов *S. officinalis* показали, что все экстракты, кроме экстракта №7, обладают антидиуретическим эффектом на уровне адиурекрина.

Доказана умеренная антиэкссудативная активность у экстрактов *S. officinalis*. Установлены выраженные капилляро- и сосудоукрепляющие свойства у фитоекстракта № 4.

На модели экспериментального инфекционного колита доказано, что экстракты *S. officinalis* №№ 2 и 4 эффективны по отношению к *E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus*, *C. perfringens* и не влияют на микробиоту; положительно влияют на гематологические и биохимические показатели периферической крови, превышая действие препарата сравнения.

В результате патоморфологического исследования установлено, что в экспериментальных группах отмечалась положительная морфологическая динамика по сравнению с модельной патологией.

Ключевые слова: антибиотик-ассоциированная диарея, шалфей, экстракты, фенольные соединения, лизин, острая токсичность, антимикробная активность, диуретическая активность, противовоспалительная активность, микробиота, морфологическое исследование.

SUMMARY

Verkhovodova Yu. V. Pharmacological evaluation of the effectiveness of extracts of Common Sage for the prevention and treatment of dysbiotic disorders associated with the use of antibacterial agents. – The manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences (Doctor of Philosophy) in the specialty 14.03.05 – "Pharmacology" (22 – Health). – National Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

In the dissertation of Verkhovodova Yu.V. the results of the pharmacological study of the effect of probiotics for the prevention and correction of intestinal dysbiosis were evaluated. The pharmacological properties of *S. officinalis* extracts in the aspect of possible further preclinical research and development on its basis of the leader compound for prevention and correction of antibiotic-associated dysbioses are given. The results of studies of different dosages and the effects associated with them, identifying the effective dose 50 mg/kg.

Extracts of *S. officinalis* were investigated in the study (№1 – *S. officinalis* decoction, № 2 – 50 % *S. officinalis* leaf extract, № 3 – 96 % *S. officinalis* leaf extract, № 4 – lysine complex, № 5 – arginine complex, № 6 – polysaccharide complex, № 7 – purified complex, № 8 – saponin complex, № 9 – phenolic complex, № 10 – flavonoid

complex, № 11 – hydroxycinnamic complex). In the study of acute toxicity, it was found that all extracts belong to class V, almost non-toxic substances, which indicates the safety of the studied compounds.

When studying the antimicrobial activity of the extracts, it was found that in most cases the extracts had an antimicrobial effect at the level of weakly active or active substances. The antimicrobial activity of the studied extracts is due to the presence in their composition of alpha and beta thujone, cineole, rosemary acid, phenolic and polyphenolic compounds. Extracts № 4 (complex of phenolic compounds with L-lysine), № 9 (phenolic complex), № 10 (flavonoid complex), № 11 (hydroxycinnamic complex) had the greatest antimicrobial effect, among them extract № 4 had the most powerful action.

As a result of studying the effect of *S. officinalis* extracts on vascular permeability, it was found that phytoextracts showed a pronounced capillary-strengthening activity. Phytoextract № 4 was slightly more active than extract № 2. The most pronounced vasostrengthening effect of phytoextract was shown during increased vascular permeability caused by injection of formalin, carrageenan, histamine and protein. Staining of these papules was slowed by 2.0, 1.8, 1.7 and 1.7 times, respectively, compared with the control group.

A study of the diuretic activity of *S. officinalis* extracts showed that all extracts, except the extract № 7 (purified complex) have an antidiuretic effect at the level of adiurecrine. The extract № 4 (lysine complex) and 5 (arginine complex) have the most pronounced antidiuretic effect. This effect is due to the action of phenolic compounds – hydroxycinnamic acids, which predominate quantitatively on prostaglandins (antiprostaglandin effect). The identified characteristics of the extracts must be taken into account in the prospect of use in the presence of concomitant pathology, namely the need for dose adjustment or use in case of diabetes insipidus. Since most extracts showed an effect at a dose of 50 mg/kg, it was chosen conditionally therapeutic.

As a result of the study, it was found that the studied extracts have the ability to stabilize cell membranes at the level of vitamin E in phytoextract № 2 and exceed this activity in extract № 4. The membrane stabilizing activity of extract № 2 and extract № 4 was 25 % and 31.5 %, respectively.

As a result of research of the antiexudative activity of extracts of *S. officinalis* it is established that 9 of 11 extracts have the antiexudative effect. Extract № 5 and 6, which contain, respectively, L-arginine and polysaccharides have no antiexudative activity. During the entire study period of inflammation (4 hours) antiexudative effect was found in extracts № 1 (*S. officinalis* decoction), № 2 (50 % *S. officinalis* extract), № 4 (lysine complex), № 11 (hydroxycinnamic complex). Extracts that reduced inflammation during 1–2 hours of the experiment were extracts № 7 (purified complex), № 8 (saponin complex), № 9 (phenolic complex), № 10 (flavonoid complex). Extract № 3 (96 % *S. officinalis* extract) reduced inflammation during 3–4 hours of the experiment.

It was found that under the action of the studied phytoextracts the maximum anti-inflammatory activity in the model of zymosan edema was observed for two hours and amounted to № 4 – 44 % for phytoextract, 40.6 % for phytoextract № 2.

To study the effects of extracts of *S. officinalis* in vivo, a method of modeling infectious colitis with dysbiotic disorders in rats was created and patented.

A comparative study of the effect of *S. officinalis* extracts (complex of phenolic compounds with L-lysine and 50 % *S. officinalis* extract) on intestinal microbiota in dysbiotic disorders on the background of experimental infectious colitis in rats showed some effectiveness of extracts compared with rifaximin. The complex of phenolic compounds with L-lysine *S. officinalis* at a dose of 50 mg/kg showed a more positive effect on the normalization of the indigenous microflora than 50 % extract of *S. officinalis* at a dose of 50 mg/kg. It was found that the prebiotic ability is most characteristic of the extract of *S. officinalis* № 4.

It was found that the treatment of animals with the studied extracts of *S. officinalis* № 2 and № 4 at doses of 50 mg/kg on the background of experimental colitis led to the normalization of hematological parameters of peripheral blood in rats. The №4 extract more actively suppressed inflammatory processes in the mucous membrane of the large intestine, had a positive effect on the hematological parameters of the peripheral blood of rats, exceeding the effect of the comparison drug – rifaximin. Due to the effectiveness of the phytoextract №4 was more active in relation to the extract № 2.

A morphological study of the wall of the small and large intestine of rats was performed with intragastric application of extracts of *S. officinalis* in infectious colitis. The effect of extracts № 2 and № 4 at a dose of 50 mg/kg was studied.

As a result of the experiment, it was found that their use significantly weakened dystrophic, desquamative and inflammatory changes. Therefore, based on the morphological study of extracts № 2 and № 4, some (anti-inflammatory, epithelial-protective and indirect immunostimulatory) effects were confirmed.

A promising leader compound can be considered an extract of №4. This extract is new, safe and has a number of pharmacological properties for the correction of disorders that occur in the intestine in dysbiotic disorders, including AAD.

Key words: antibiotic-associated diarrhea, sage, extracts, phenolic compounds, lysine, acute toxicity, antimicrobial activity, diuretic activity, anti-inflammatory activity, microbiota, morphological study.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

C. difficile – Clostridium difficile;
C. perfringens – Clostridium perfringens;
C. albicans – Candida albicans;
S. aureus – Staphylococcus aureus;
S. officinalis – Salvia officinalis;
K. oxytoca – Klebsiella oxytoca;
E. coli – Escherichia coli;
K. pneumoniae – Klebsiella pneumoniae;
S. boulardii – Saccharomyces boulardii;
LGG – Lactobacillus rhamnosus GG;
АА – антиексудативна активність;
ААД – антибіотик-асоційована діарея;
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я;
ВПСО – власна пластинка слизової оболонки;
ДУ – державна установа;
ЗФВ – знижені ферментативні властивості;
ІК – інтактний контроль;
МО – м'язова оболонка;
НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби;
НФаУ – Національний фармацевтичний університет;
ПО – підслизова оболонка;
СО – слизова оболонка.

Підписано до друку 05.04.2021. Формат 60x84/16. Папір офсетний.
Гарнітура Times ET. Умов. друк. арк. 0,9. Наклад 100 прим. Замов. № 0405/5-21.

Надруковано з готових оригінал-макетів у друкарні ФОП Петров В. В.
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.

Запис № 2400000000106167 від 08.01.2009 р.
61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137,
тел. (057) 778-60-34, e-mail:bookfabrik@mail.ua