

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ЦЕМЕНКО КАРИНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК:615.254.1:615.322:616.62

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ
АКТИВНОСТЕЙ ЕКСТРАКТІВ З ЛИСТЯ БРУСНИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ
(VACCINIUM VITIS-IDAÉA)**

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків –2021

Дисертацією є рукопис.

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

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор
КІРЕЄВ Ігор Володимирович
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків), професор кафедри
фармакології та фармакотерапії

Офіційні опоненти:

доктор фармацевтичних наук, професор
ПОДПЛЕТНЯ Олена Анатоліївна
ДЗ «Дніпровська медична академія МОЗ
України», завідувачка кафедри загальної та
клінічної фармації

доктор медичних наук, професор
РОЖКОВСЬКИЙ Ярослав Володимирович
Одеський національний медичний університет,
завідувач кафедри фармакології та фармакогнозії

Захист відбудеться «20» квітня 2021 р. о 10⁰⁰ 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 «__» березня 2021 р.

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

К. Г. Щокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Інфекції сечовивідних шляхів (ІСШ), що супроводжуються запаленням, є однією з найбільш значущих проблем практичної медицини та посідають третє місце серед усіх інфекційних захворювань загалом (F. Wagenlehner et al., 2012; B. Wullt et al., 2018; C. Gama et al., 2020; M. Frellick, 2017). Важливе клінічне значення ІСШ визначається їх поширеністю, труднощами діагностики в певних вікових групах хворих (діти, літні люди), несприятливим впливом на здоров'я і працездатність, великими економічними витратами на діагностику та лікування (F. Wagenlehner et al., 2012; K. Gupta et al., 2011; K. Gupta, 2014). ІСШ – одна з причин хронічної ниркової недостатності (T. Johansen et al., 2011; F. Wagenlehner, 2020), що визначає важливість їх своєчасного лікування і проведення ефективної профілактики.

Традиційна терапія ІСШ включає застосування антибіотиків і фітопрепаратів (J. Ernst, 2009; T. Pehkonen et al., 2008). З урахуванням того, що інфекційно-запальний процес у сечовивідних шляхах нерідко рецидивує, пацієнтам необхідно проведення повторних курсів антибактеріальної терапії (S. Geerlings, 2016; F. Wagenlehner et al., 2018). Лікування сучасними синтетичними антибактеріальними засобами часто супроводжується вираженими побічними реакціями, а ефективність більшості з них, як правило, має тенденцію до зниження (А. Г. Дьяченко, 2012; Ю. Л. Волянський и др., 2013). Це явище обумовлене появою антибіотикорезистентних форм збудників у зв'язку з активним поширенням резистентних штамів мікроорганізмів, а впровадження в лікувальну практику нових антибактеріальних препаратів характеризується значними витратами фінансів та часу на їх отримання, вивчення механізму дії, доклінічні і клінічні випробування, знижуючи актуальність їх своєчасності (Ю. Л. Волянський и др., 2013; Д. Д. Іванов, 2015). Усе це визначає постійний інтерес науковців до удосконалення терапії ІСШ (В. М. Булаев, 2013; А. А. Карпеев, 2012). Одним із можливих напрямків вирішення цього питання є пошук перспективних фітосубстанцій та подальша розробка уроантисептиків рослинного походження (А. А. Карпеев, 2012; М. Н. Лютикова, 2011). Безпечність переважної більшості рослинних засобів дозволяє призначати їх тривалими курсами на початкових стадіях, на етапах протирецидивного або реабілітаційного лікування (J. Ernst, 2009; T. Pehkonen et al., 2008; Т. В. Самбукова и др., 2017). Призначення пацієнтам з ІСШ рослинних засобів є патогенетично обґрунтованим (M. Hoda et al., 2014; L. Beaulieu et al., 2011; М. Н. Лютикова, 2013), оскільки вони виявляють полімодальний вплив: мають здатність обмежувати поширення запального набряку, проявляють антибактеріальні та діуретичні властивості, покращуючи при цьому мікроциркуляцію і протидіючи подальшому поширенню патологічного процесу, чинять імуномодулювальну дію і потенціюють ефект антибактеріальних засобів (Н. Л. Волобой и др., 2012; М. В. Эрман, 2014). Одним із шляхів вирішення питання щодо створення нових високоефективних засобів рослинного походження є їх модифікація, зокрема збагачення БАР шляхом додавання амінокислот (Ю. М. Степанов, 2005; О. М. Koshovyi, 2016).

Перспективною в цьому плані лікарською рослиною є брусниця звичайна. Аналіз сучасних рослинних лікарських препаратів і дієтичних добавок, що містять сировину з листя брусниці звичайної, свідчить про недостатню кількість їх на українському фармацевтичному ринку. Це обумовлює актуальність подальшого поглибленого дослідження фармакологічних властивостей та створення більш зручних нових модифікованих галенових та новогаленових фітосубстанцій з листя брусниці звичайної в комплексі з амінокислотами, зокрема з аргініном, з метою підвищення стабільності, біодоступності та ефективності, що дозволить розширити номенклатуру вітчизняних рослинних лікарських засобів. На кафедрі фармакогнозії НФаУ (м. Харків) під керівництвом професора О. М. Кошового були одержані нові модифіковані галенові та новогаленові фітосубстанції з листя брусниці звичайної, що стало підставою для експериментального вивчення їх фармакодинаміки та безпеки з перспективою рекомендації до подальших досліджень та створення лікарських засобів для лікування інфекційно-запальних захворювань сечовивідних шляхів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Робота виконана в межах науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету з проблеми МОЗ України «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956, 2014–2023 рр.), у якій дисертант є співвиконавцем.

Мета і завдання дослідження. *Мета роботи* – експериментальне обґрунтування доцільності розробки нових модифікованих галенових та новогаленових лікарських засобів з листя брусниці звичайної як ефективних уроантисептичних засобів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

1. Провести скринінгові дослідження антибактеріальної та діуретичної активностей нових модифікованих галенових та новогаленових фітосубстанцій з листя брусниці звичайної та на підставі одержаних результатів визначити фітосубстанцію-лідера та її умовно-терапевтичну дозу.

2. Вивчити гостру та хронічну токсичність фітосубстанції-лідера.

3. Дослідити спектр фармакологічної активності фітосубстанції-лідера КГФА: аналгетичну, протизапальну, вплив на психоемоційний стан щурів.

4. На моделі інсулінорезистентності дослідити антигіперглікемічний ефект фітосубстанції-лідера.

5. Дослідити ефективність фітосубстанції-лідера на експериментальній моделі запалення сечовивідних шляхів.

Об'єкт дослідження – фармакологічна корекція інфекцій сечовивідних шляхів.

Предмет дослідження – фармакологічна активність модифікованих галенових та новогаленових фітосубстанцій з листя брусниці звичайної.

Методи дослідження: Фармакологічні (експериментальне моделювання запалення сечовивідних шляхів на фоні кріогенного впливу, моделювання запалення: модель карагенінового та зимозанового набряків, дослідження діуретичних властивостей, вивчення аналгетичної активності: тест «гаряча

пластина» та модель «оцтовокислих корчів», вивчення впливу фітосубстанції-лідера на психоемоційний стан експериментальних тварин на моделях «відкрите поле» та «піднесений хрестоподібний лабіринт», моделювання інсулінорезистентності), біохімічні (визначення активності функціонального стану нирок та печінки), токсикологічні (визначення гострої та хронічної токсичності), гістологічні (дослідження гістоструктури нирок, печінки, міокарду, надниркових залоз, слизової фундального відділу шлунка), мікробіологічні (антимікробні властивості досліджуваних фітосубстанцій вивчено методом дифузії в агар у модифікації «колодязів» відносно наступних музейних штамів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NCTC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* 885 ATCC, які є найбільш частими збудниками ІСШ).

Наукова новизна отриманих результатів. У роботі вперше проведене дослідження фармакологічних властивостей нових модифікованих галенових та новогаленових фітосубстанцій з листя брусниці звичайної. Вперше виявлено фітосубстанцію-лідера, яка представляє собою комплекс глікозидів фенольних сполук з листя брусниці звичайної в комбінації з амінокислотою аргінін, що обґрунтовує доцільність розробки на її основі нового уроантисептика. Вперше досліджено фармакодинаміку цієї фітосубстанції на різних експериментальних моделях.

Доведено, що досліджуваній фітосубстанції-лідеру (КГФА) притаманні уроантисептична, антибактеріальна, діуретична, протизапальна, аналгетична, антигіперглікемічна дії, визначено умовно-терапевтичну дозу фітосубстанції-лідера – 100 мг/кг.

Вперше доведена ефективність КГФА як уроантисептика на експериментальній моделі ІСШ у щурів, що спричинена кріогенним впливом, за зниженням кількості КУО основного уропатогену *E.coli* з 6 доби та відсутністю мікрофлори на 10 добу, а також зменшенням лейкоцитурії з 8 по 12 добу експерименту.

Поряд з вираженими уроантисептичним та діуретичним ефектом КГФА характеризується високим профілем безпеки: належить до VI класу токсичності за умов одноразового введення («відносно нешкідливі» речовини за класифікацією К. К. Сидорова) та відсутністю хронічної токсичності за умов багаторазового введення.

Вперше доведена антибактеріальна активність КГФА до основних уропатогенів. КГФА виявляє антибактеріальну активність та максимальний антибактеріальний ефект у відношенні *E.coli*, який є основним уропатогеном (діаметр зони затримки росту складав 18 мм).

Вперше встановлено дозозалежний діуретичний ефект у КГФА відповідно на рівні 83 %, 109 %, 201 %, 207 % ($p < 0,05$) в дозах 25 мг/кг, 50 мг/кг, 75 мг/кг і 100 мг/кг, що обґрунтувало її вибір як фітосубстанції-лідера.

Вперше доведена протизапальна активність КГФА: на моделі карагенінового набряку на рівні 33%, 42%, 24% ($p < 0,05$) на першу, другу, третю години; на моделі

зимозанового набряку на рівні 54%, 43%, 23 % ($p < 0,05$) на першу, другу, третю години експерименту.

Вперше досліджено аналгетичну активність КГФА, яка у тесті «hot plate» становила 118 %, 109 % через 30 та 60 хвилин введення ($p < 0,05$) та 88 % через 120, 180, 240 хвилин після введення КГФА, даючи можливість встановити механізм аналгетичної активності та здатності пригнічувати соматичний та гострий біль. При дослідженні аналгетичної активності в моделі «оцтовокислих корчів» можна зробити висновок про здатність КГФА у дозі 100 мг/кг вірогідно зменшувати кількість корчів у мишей у порівнянні з контрольною групою. Аналгетична активність КГФА на моделі «оцтовокислих корчів» становила 39 % ($p < 0,05$). Це свідчить про те, що досліджувана фітосубстанція здатна пригнічувати больовий синдром за рахунок інгібування біохімічних альгогенів (серотоніну, гістаміну, брадикініну).

Встановлено відсутність впливу КГФА на поведінку та вегетативні прояви емоційних реакцій тварин у тесті «відкритого поля», та дуже слабкий анксиолітичний ефект у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт», що верифіковано за статистично значущим зменшенням відносно групи контролю часу перебування тварин у закритих рукавах ($266 \pm 1,81$ сек. проти $256 \pm 2,76$ сек., $p < 0,05$) та паралельним зростанням тривалості знаходження щурів у відкритих рукавах лабіринту ($44 \pm 2,76$ сек. проти $33 \pm 1,81$ сек., $p < 0,05$).

На моделі інсулінорезистентності доведено наявність антигіперглікемічного ефекту КГФА, що підтверджено вірогідним зменшенням загальної площі під кривою AUC_{Glu} на 11,6 % ($p < 0,05$).

Отримані результати обґрунтовують перспективність подальшого вивчення КГФА з метою створення вітчизняного уроантисептика для оптимізації лікування ІСШ.

Практичне значення отриманих результатів. Експериментально обґрунтовано доцільність розробки нового уроантисептика, до складу якого входить досліджувана фітосубстанція КГФА, який може бути рекомендований для профілактики рецидивів інфекцій сечовивідних шляхів для довготривалого застосування. Впровадження нової модифікованої новогаленової фітосубстанції - КГФА сприятиме оптимізації комплексної терапії та профілактики ІСШ.

Запропоновано спосіб одержання лікарського засобу з діуретичною дією з листя брусниці звичайної (пат. 133723 України. № u 2018 09771; заявл. від 1.10.2018; опубл. 25.04.2019, Бюл. № 8).

Запропоновано спосіб моделювання пієлонефриту з подальшою практичною можливістю використання цієї моделі для вивчення ефективності нових синтетичних та рослинних засобів на етапі доклінічних досліджень, які потенційно мають антибактеріальний та уроантисептичний ефекти (пат. 142909 України; заявл. 22.07.2019; опубл. 10.07.2020. Бюл. № 13).

За результатами досліджень створено та опубліковано інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я «Винахід модифікованої, новогаленової фітосубстанції – комплексу глікозидів фенольних сполук з листя

брусниці звичайної в комбінації з аргініном з діуретичною та антибактеріальною активностями» (223-2019).

Результати досліджень упроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу: кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця (протокол №12 від 07.02.2020); кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця (протокол № 99 від 06.02.2020).

Результати досліджень були використані для формування досьє лікарського засобу з уроантисептичною дією, який готується до випуску на бельгійському заводі Vnopharmexport (від 10.12.2019).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Разом із керівником визначена мета та поставлені завдання дослідження, розроблені методичні підходи для вибору моделей та методів проведення експерименту, сформульовані висновки дисертаційної роботи. Дисертантом самостійно проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз і узагальнення літературних даних з проблеми, що досліджується. Дисертант самостійно проводила експериментальні дослідження, статистичну обробку отриманих результатів та їх узагальнення.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведені результати власних експериментальних досліджень, взято участь у аналізі та узагальненні отриманих даних та написанні статей. Співавторами наукових праць є науковий керівник – директор Навчально-наукового інституту прикладної фармації, професор кафедри фармакології та фармакотерапії НФаУ І. В. Кіреєв та науковці – професор кафедри фармакогнозії НФаУ О. М. Кошовий, асистент кафедри фармакогнозії НФаУ М. А. Комісаренко, аспірант кафедри фармакології та фармакотерапії НФаУ І. В. Боцула, асистент кафедри фармакології та фармакотерапії НФаУ К. С. Толмачова, спільно з якими проведено певні дослідження.

Мікробіологічні дослідження проведені на базі кафедри мікробіології, вірусології та імунології ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» за консультативної допомоги та участю к. біол. н., завідувачкою лабораторією Т. П. Осолодченко.

Гістологічні дослідження проведено на базі НФаУ (м. Харків) за консультативної допомоги канд. біол. наук, провідного фахівця ЦНДЛ Ю. Б. Лар'яновської.

Апробація матеріалів дисертації. Матеріали роботи викладалися та обговорювалися на: XXXII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 21 травня 2015 р.); II Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 28–29 березня 2018 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (м. Харків, 12–13 квітня 2018 р.); XXV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, 18–20 April 2018); I Міжнародній науково-практичній конференції «Механізми розвитку патологічних процесів і

хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 18 жовтня 2018 р.); IV Міжнародній науково-практичній конференції «Теорія і практика сучасної науки» (м. Одеса, 23–24 листопада 2018 р.); III Міжнародній науково-практичній конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (м. Харків, 26–28 листопада 2018 р.); III Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 14–15 березня, 2019 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекції патологічних станів» (м. Харків, 5–6 квітня 2019 р.).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 19 наукових праць, серед них 4 статті у наукових фахових виданнях, визначених ДАК МОН України та 1 у закордонному виданні, 11 публікацій тез – у збірниках наукових праць та матеріалах конференцій. На основі проведених досліджень отримано 2 патенти на корисну модель, опубліковано інформаційний лист.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 175 сторінках машинописного тексту і містить анотації українською та англійською мовами, вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів, висновки і перелік використаних джерел літератури в кількості 199 найменувань, з них 86 кирилицею, 109 – латиницею. Обсяг основного тексту дисертації складає 153 сторінки друкованого тексту. Робота проілюстрована 22 таблицями, 15 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень. Об'єктами дослідження стали 13 фітосубстанцій, отриманих з листя брусниці звичайної. Фітосубстанції були одержані на кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора О.М. Кошового. При проведенні досліджень було використано низку препаратів порівняння: препарат «Гіпотіазид» – таблетки, що містять 25 мг гідрохлортіазиду («Sanofi aventis», Угорщина) у дозі 25 мг/кг; препарат «Інурек» – жувальні таблетки, що містять журавлину американську – 150 мг («Farmasierra Manufacturing», Іспанія) у дозі 38 мг/кг; препарат «Вольтарен» – таблетки, що містять диклофенак натрію 25 мг («Novartis», Швейцарія) в дозі 8 мг/кг; препарат «Анальгін» – таблетки, який містять 500 мг метамізолу натрію («Дарниця», Україна) в дозі 50 мг/кг; препарат «Седафітон» – таблетки, що містять екстракт валеріани густої 0,05 г, екстракт пустирника густого 0,03 г, екстракт глоду густого 0,05 г («Фітофарм», Україна) в дозі 0,25 мг/кг; препарат «Амаріл» – таблетки, що містять 2 мг глікопіриду («Sanofi aventis», Угорщина) в дозі 4,2 мг/кг; препарат «Аргінін» – капсули, які містять 1 г амінокислоти L-аргініну («Еліт-фарм», Україна) в дозі 28 мг/кг.

Експериментальні дослідження проводили в ЦНДЛ НФаУ (атестована МОЗ України, посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р.; чинне до 07.12.2019 р.). Експериментальна частина роботи виконана на 588 білих нелінійних щурах, 48 мишах обох статей та 40 хом'ячках, що утримувались відповідно до санітарно-гігієнічних норм (Guide for the care and use of laboratory animals, 2011).

Експерименти були проведені згідно вимог Європейської конвенції з захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986 р.), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», що засвідчено висновком Комісії з питань біоетики НФаУ (протокол № 4 від 15.04.2015 р. та протокол № 2 від 04.11.2019 р.). Процедури, що викликали біль та страждання тварин, проводили під наркозом (ксилазин в/м 5 мг/кг). Загальний дизайн дослідження наведено на рис. 1.

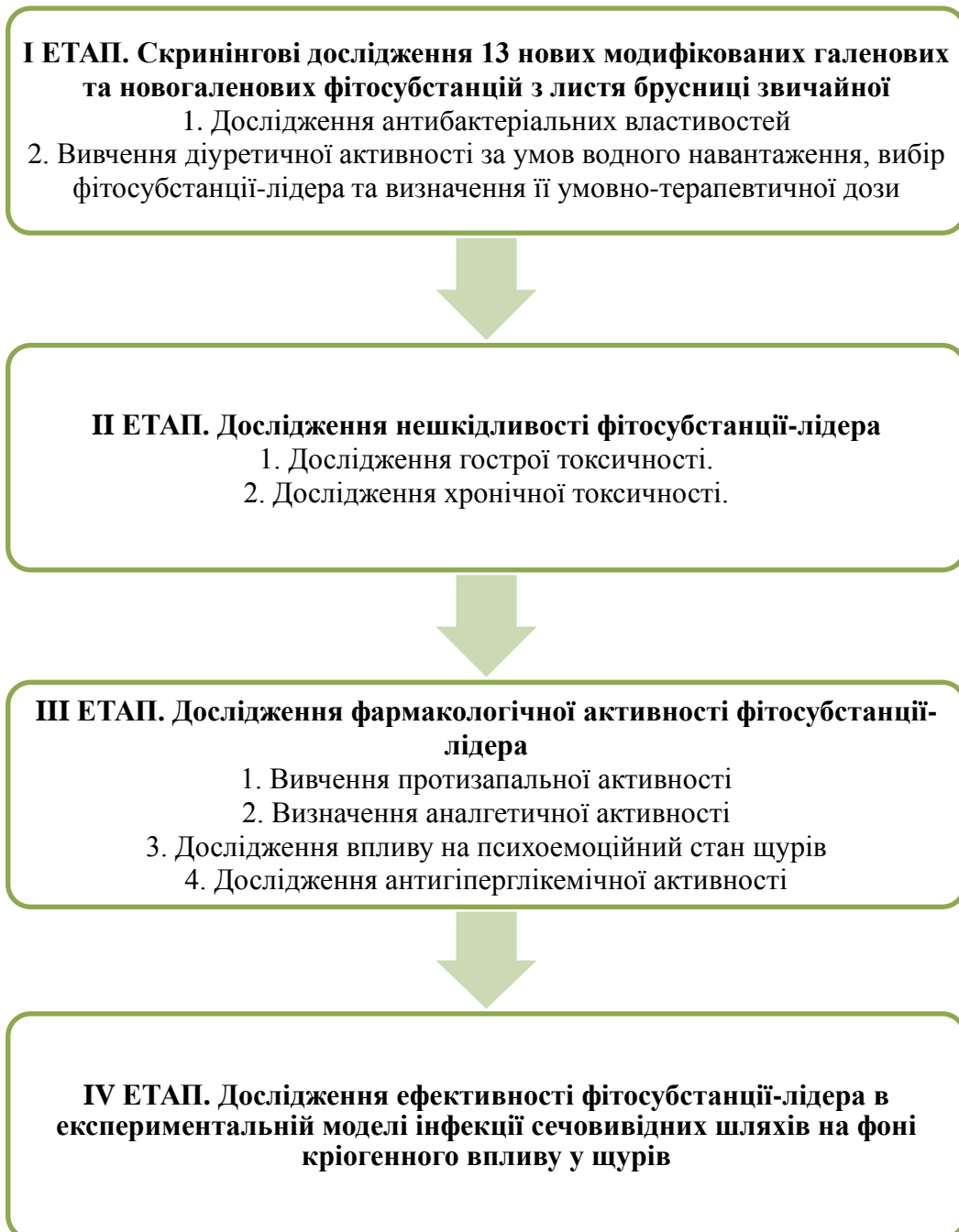


Рис. 1 – Загальний дизайн дослідження

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

Скринінг антибактеріальної активності одержаних екстрактів проводили методом дифузії в агар у лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова під керівництвом канд. біол. наук Осолодченко Т. П. (Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р.).

Визначення діуретичної активності 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). За загальноновживаними формулами визначали: концентрацію іонів натрію й калію в сечі за методом полум'яної фотометрії ПАЖ-2 (С. J. Drees et al., 2018); концентрацію креатиніну (ммоль/л) на спектрофотометрі при довжині хвилі 590 нм за методом Фоліна в модифікації Є. Б. Берхіна; швидкість клубочкової фільтрації (S. Kovarikova, 2018; В. М. Коеппен, В. А. Stanton, 2019).

Гостру токсичність КГФА встановлювали за експрес-методом Т. В. Пастушенка (А. В. Стефанов, 2002). Клас токсичності визначили за загальноприйнятою класифікацією К. К. Сидорова (1973).

Гістоморфологічні дослідження печінки, нирок, міокарду, надниркових залоз, слизової шлунка, гонад самців та самок щурів проводили стандартними методами світлової мікроскопії Granum з використанням забарвлень гематоксилін-еозином (Г. А. Меркулов, 1969; Ю. Б. Ларяновська, 2005; А. L. Mescher, 2018; R. Nayak, 2018).

Вивчення біохімічних показників функціонального стану печінки (визначення АлАт, АсАт, альбуміну, білірубіну в сироватці крові) та функціонального стану нирок (визначення сечовини в сечі та в сироватці крові, креатиніну в сечі та сироватці крові) проводили на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі MarLab (Італія) згідно інструкцій до кожного набору окремо.

Протизапальну активність КГФА 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 фітсубстанцій (О. В. Стефанов, 2001). Вимірювання величини набряку лап у щурів при гострому ексудативному запаленні проводили за допомогою сучасного приладу плетизмометру Panlab (Іспанія).

Аналгетичну активність КГФА та препаратів порівняння досліджували на моделях «гаряча пластина» та «оцтовокислих корчів» (О. В. Стефанов, 2001).

Для *вивчення емоційно-поведінкової реактивності* у щурів були використані 2 тести – «відкрите поле» (ВП) та «піднесений хрестоподібний лабіринт» (ПХЛ). У тесті ВП досліджували орієнтовно-дослідницьку реакцію, рівень прихованого емоційного напруження, в тесті ПХЛ – рівень тривожності (А. Н. Миронов, 2012).

Дослідження *антигіперглікемічних властивостей* КГФА вивчали за допомогою перорального глюкозотолерантного тесту (А. Н. Миронов, 2012). Рівень

глюкози в цільній крові визначали електрохімічним експрес-методом за допомогою глюкометра One Touch Ultra Easy[®] (LifeScan, США) із застосуванням тест-смужок One Touch Ultra[®] (LifeScan, США) згідно інструкції до застосування.

Уроантисептичні властивості були досліджені на моделі запалення сечовивідних шляхів на фоні кріогенного впливу (А. В. Лукьянов, В. Т. Долгих, Э. Г. Потиевский, 2006). Для відтворення моделі запалення сечовивідних шляхів використовували штам *E. coli* ATCC 25922, одержаний з ДУ «ІМІ НАМН», який вирощували на поживному агарі. Для відтворення моделі використовували дозу *E. coli* ATCC 25922 10^9 мікробних клітин на 1 мл фізіологічного розчину. Для приготування суспензії використовували прилад Densi-La-Meter (виробництва PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). Введення здійснювали ректально. Після кріогенного впливу для визначення наявності запального процесу на етапі скринінгу з метою відбору шурів для продовження дослідження проводили оцінку сечового осаду за допомогою тест-смужок CitoLab, Farmasco (О. Н. Соловйов, 2015). Сечу шурів піддавали загальному лабораторному аналізу з мікроскопією сечового осаду стандартними методами (D. Vouyou, E. Harpur, 2018). Мікроскопічне дослідження та фотофіксацію мікропрепаратів проводили за допомогою мікроскопа Optika B-1000BF («Optika», Італія).

Методи статистичного аналізу. Експериментальні дані оброблено методами варіаційної статистики за допомогою програм ліцензійного пакету «Statistica[®] for Windows» (StatSoft Inc., США) і «Microsoft Office Excel 2013» (Microsoft, США) за критерієм t Ст'юдента у випадку нормального розподілу, та за критерієм U Манна-Уїтні – в інших випадках. Відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$ (М. А. Islam, А. Al-Shina, 2018; А. Indrayan, К. R. Malhotra, 2018).

Результати та їх обговорення. У рамках скринінгового дослідження антибактеріальної активності 13 нових галенових та новогаленових фітосубстанцій з листя брусниці методом дифузії в агар підтвердили наявність активності у досліджуваних фітосубстанцій. За результатами мікробіологічного дослідження виявили фітосубстанцію з більш вираженим антибактеріальним ефектом по відношенню до основних уропатогенів – фітосубстанцію № 12, яка представляє собою комплекс глікозидів фенольних сполук з амінокислотою аргінін. Вона чинить антибактеріальну дію з показником середньої активності і виявляє максимальний ефект щодо основного уропатогену *E. coli* (діаметр зони затримки росту дорівнював 18 мм ($p < 0,05$)). до *S. aureus*, *P. vulgaris* та *P. aeruginosa* – помірний антибактеріальний ефект (діаметр зони затримки росту – 16 мм ($p < 0,05$)), і *C. albicans* (зона затримки росту – 17 мм ($p < 0,05$)). Відсутність амінокислоти у фітосубстанції № 13 призводить до зниження антибактеріальної активності (зони затримки росту на рівні 12 мм ($p < 0,05$) до *E. coli*, до *S. aureus* на рівні 13 мм, до *P. vulgaris* спостерігався ріст, а до *C. albicans* 14 мм ($p < 0,05$)). Дані результати свідчать про низьку чутливість тест-мікроорганізмів до даної фітосубстанції (рис. 2).

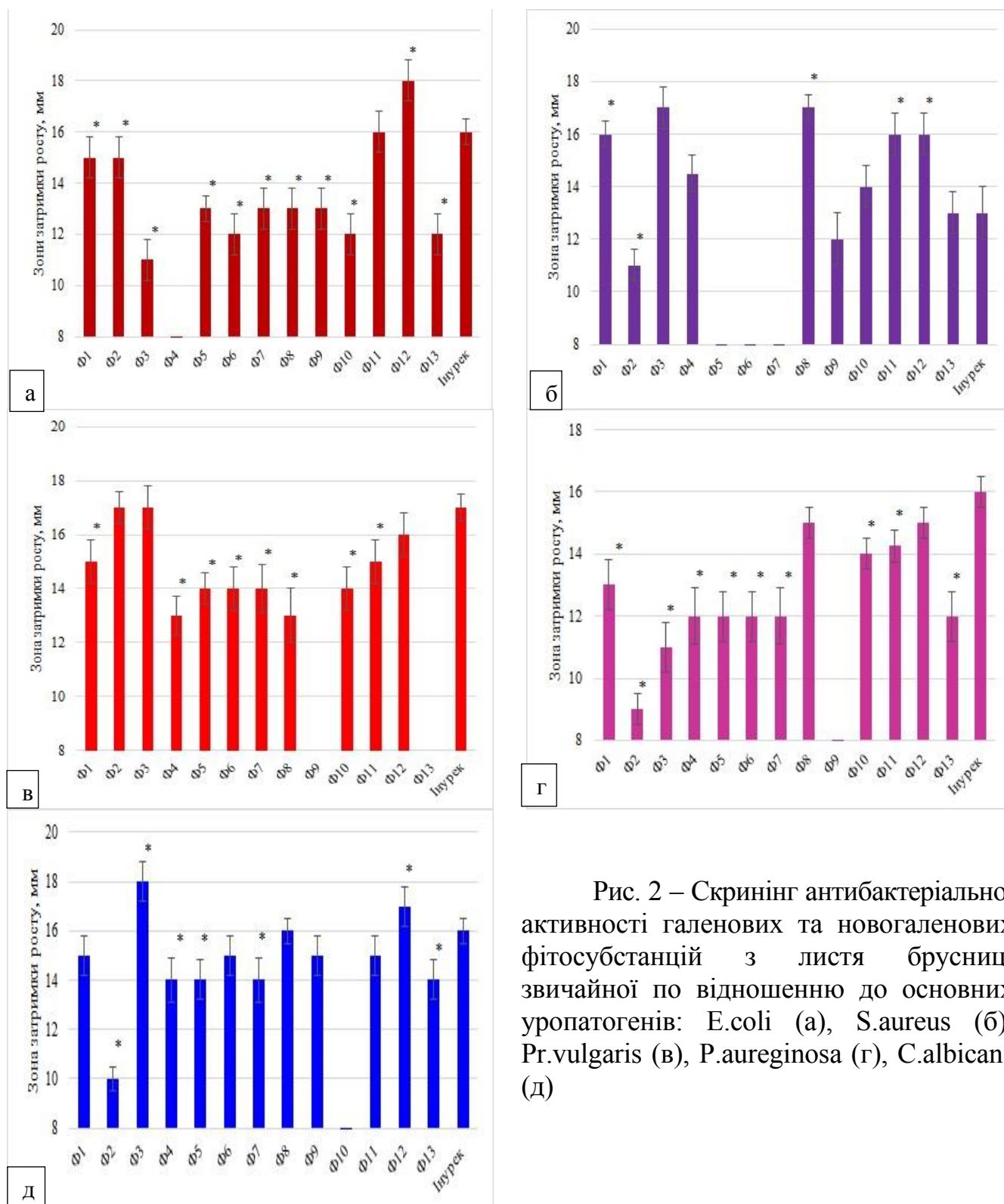


Рис. 2 – Скринінг антибактеріальної активності галенових та новогаленових фітосубстанцій з листя брусниці звичайної по відношенню до основних уропатогенів: *E.coli* (а), *S.aureus* (б), *Pr.vulgaris* (в), *P.aureginosa* (г), *C.albicans* (д)

Згідно проведеного скринінгового дослідження діуретичної активності найбільш виражений лінійний дозозалежний діуретичний ефект мала фітосубстанція № 12, яка в дозах 25 мг/кг, 50 мг/кг, 75 мг/кг та 100 мг/кг вірогідно збільшувала діурез через 4 години експерименту на рівні 83 %, 109 %, 201 %, 207 % відповідно ($p < 0,05$). Максимальний діуретичний ефект фітосубстанції № 12 можна пояснити саме комбінацією фенольних сполук з аргініном. Видалення амінокислот із

фітосубстанції № 12 (фітосубстанція № 13) призводить до зниження діуретичної активності через 4 години спостереження на рівні 45 %, 46 %, 87 %, 94 % ($p < 0,05$).

Результати дослідження діуретичної активності обґрунтували вибір фітосубстанції № 12 (комплекс глікозидів фенольних сполук з листя брусниці звичайної в комбінації з аргініном) як фітосубстанції-лідера з усього переліку досліджуваних фітосубстанцій, якій дали умовну назву «КГФА» з умовно-терапевтичною дозою 100 мг/кг.

Згідно результатів вивчення специфічної діуретичної активності КГФА, можна припустити механізм діуретичної дії досліджуваної фітосубстанції, який полягає в підвищенні екскреції ендogenous креатиніну, що може свідчити про зростання ШКФ за рахунок посилення ниркового кровообігу і зменшення внутрішньосудинного об'єму плазми в результаті збільшення проникнення капілярів. Екскреція ендogenous креатиніну в сечі на фоні водного навантаження в групі, яка отримувала КГФА, збільшилась у 1,6 разу ($p < 0,05$). Про перевагу натрійуретичної дії КГФА над калійуретичною свідчить показник натрій-калієвого коефіцієнта сечі, який через 7 діб введення КГФА вірогідно зріс у 1,67 разу порівняно з групою контролю ($p < 0,05$).

Таким чином, за однократного та курсового введення КГФА в дозі 100 мг/кг за умов водного навантаження посилювався водний діурез, натрійурез, калійурез, збільшувалася екскреція ендogenous креатиніну в сечі, що може бути свідченням ефективності КГФА як перспективного лікарського засобу з діуретичною активністю.

За результатами вивчення гострої токсичності КГФА встановлено, що у дозі 20000 мг/кг вона не призводить до загибелі тварин, не впливає негативним чином на стан внутрішніх органів. Отримані дані свідчать, що КГФА за токсикологічною класифікацією К. К. Сидорова (1973) відноситься до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини).

Важливим етапом доклінічних досліджень безпечності майбутніх лікарських засобів є вивчення їх впливу на біохімічні показники, морфологічний стан внутрішніх органів експериментальних тварин при тривалому застосуванні. Оцінку впливу КГФА в дозі 100 мг/кг на гематологічні, біохімічні, функціональні показники, а також гістоструктуру внутрішніх органів щурів проводили протягом 3 місяців (рис. 3–5).

Як показали проведені дослідження, за внутрішньошлункового введення КГФА у дозі 100 мг/кг протягом 3 місяців не спостерігали у піддослідних тварин ознак інтоксикації та летальних ефектів. Встановлено, що введення КГФА щурам протягом 3 місяці не викликає суттєвих порушень функціонального стану органів тварин, не справляє токсичного впливу на загальнотрофічні процеси та не викликає у експериментальних тварин помітних морфологічних змін у стані досліджених органів (рис. 3–5).

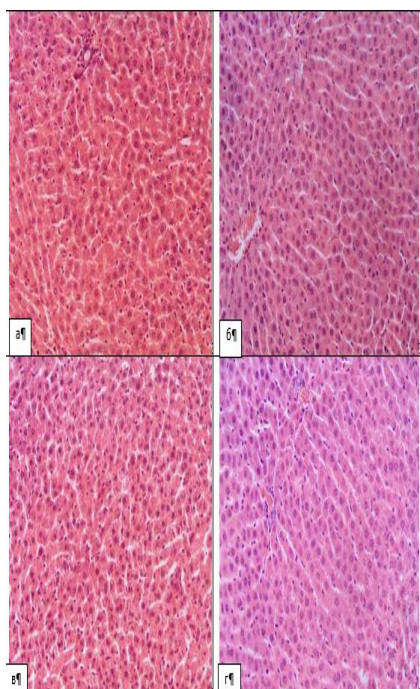


Рис. 3 – Мікропрепарат печінки щурів: інтактних (а - ♂, в - ♀) та щурів, що отримували КГФА у дозі 100 мг/кг (б - ♂, г - ♀). Радіальна спрямованість тяжів гепатоцитів збережена, ознаки дистрофії клітин відсутні. Гематоксилін-еозин. x200

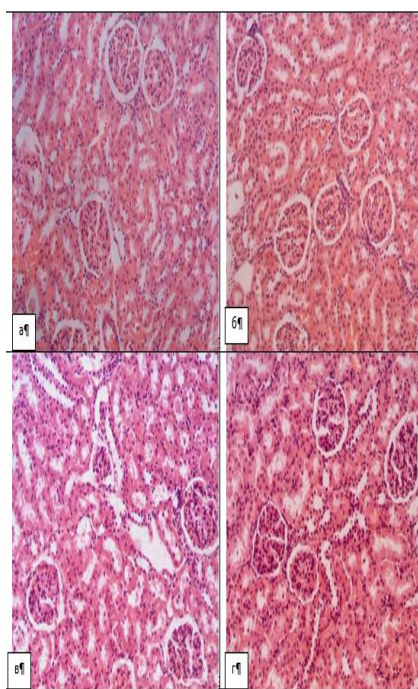


Рис. 4 – Мікропрепарат нирки щурів: інтактних (а - ♂, в - ♀) та щурів, що отримували КГФА у дозі 100 мг/кг (б - ♂, г - ♀). Незмінений стан ниркових тілець та звивистих каналців нефронів. Гематоксилін-еозин. x200

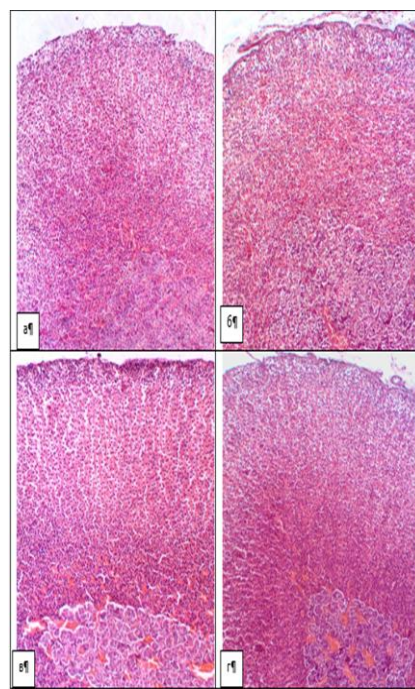


Рис. 5 – Мікропрепарат надниркової залози щурів: інтактних (а - ♂, в - ♀) та щурів, що отримували КГФА у дозі 100 мг/кг (б - ♂, г - ♀). Стан адренокортикоцитів та хромафінних клітин мозкової речовини не змінено. Гематоксилін-еозин x100

Наступним етапом нашої роботи було вивчення протизапальної активності. На моделі карагенінового набряку протизапальна активність КГФА на першу годину становила 33 % ($p < 0,05$), на третю – 24 % ($p < 0,05$) відносно контролю. Пік активності припадав на другу годину дослідження – 42 % ($p < 0,05$). Антиексудативна активність препарату порівняння диклофенаку натрію протягом 3 годин дослідження складала 75 %; 72 % та 67 % ($p < 0,05$) відповідно (рис. 6а). Результати дослідження демонструють наявність вираженої протизапальної дії КГФА й можливий його гальмівний вплив на медіатори ранньої фази запалення – біогенні аміни та кініни. На моделі зимозанового набряку антиексудативна дія КГФА на 30 хвилину, першу та другу години набряку (час активності біогенних амінів, серотоніну, кінінів і лейкотрієнів) була найвищою та становила 72 %, 54 %, 43 % відповідно і знижувалась до 23 % на третій годині розвитку набряку (час активності простагландинів). Динаміка вираженості антиексудативної активності препарату порівняння диклофенаку натрію була аналогічною до такої КГФА протягом перших двох годин (на рівні 64 %, 47 %, 39 % відповідно на 30 хвилину, 1 та 2 годину), проте, на відміну від КГФА, не знижувалась на 3 годину набряку – 40 % (рис. 6б).

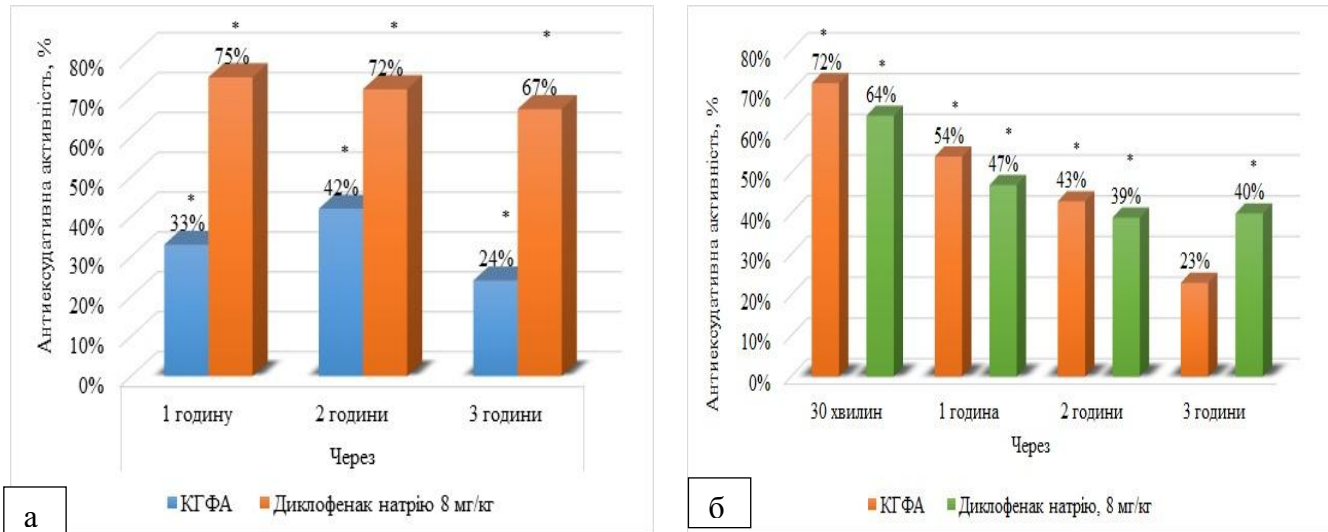


Рис. – б Антиексудативна активність КГФА у дозі 100 мг/кг на моделі карагенінового (а) та зимозанового (б) набряку у щурів

Перебіг ІСШ часто характеризується наявністю больового синдрому, тому для препаратів, призначених для корекції цієї патології, наявність аналгетичної дії є важливою. Аналгетичний ефект КГФА на моделі «гаряча пластина» становив 118 % ($p < 0,05$) через 30 хвилин після введення, 109 % ($p < 0,05$) через 60 хвилин, 94 % ($p < 0,05$) через 120 хвилин, 88 % ($p < 0,05$) через 180 хвилин після введення КГФА. Видалення аргініну з фітосубстанції характеризувалось зменшенням аналгетичного ефекту, який становив 94 % ($p < 0,05$) через 30 хвилин, 52 % ($p < 0,05$) через 60 та 120 хвилин та на 34 % ($p < 0,05$) через 180 та 240 хвилин. Амінокислота аргінін взагалі не виявила аналгетичний ефект у порівнянні з контрольною групою. КГФА перевищував за аналгетичним ефектом препарат порівняння «Анальгін», на 29 % ($p < 0,05$) через 30 хвилин після введення, на 90 % ($p < 0,05$) через 240 хвилин, але поступався йому через 60, 120, 180 хвилин після введення та препарату порівняння «Вольтарен» на 6 % ($p < 0,05$) через 30 хвилин після введення, на 82 % ($p < 0,05$) через 60 хвилин, на 88 % ($p < 0,05$) через 120 хвилин.

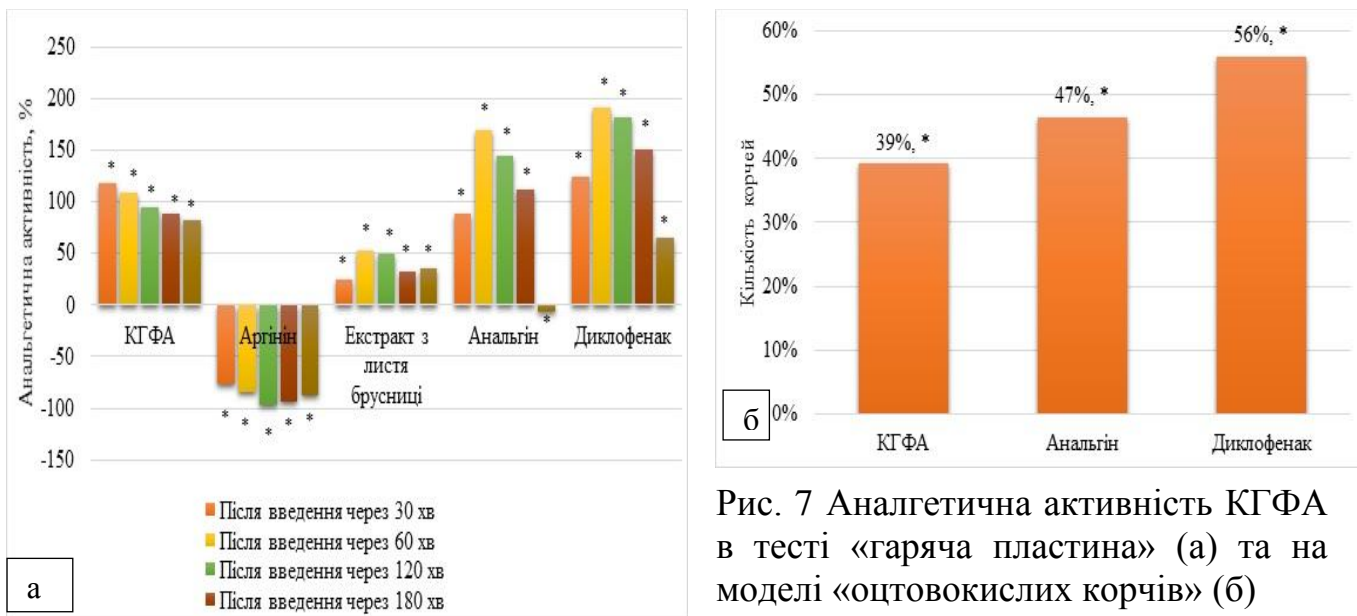


Рис. 7 Аналгетична активність КГФА в тесті «гаряча пластина» (а) та на моделі «оцтовокислих корчів» (б)

На моделі «оцтовокислих корчів» доведено здатність КГФА у дозі 100 мг/кг вірогідно зменшувати кількість корчів у мишей у порівнянні з контрольною групою. Аналгетична активність КГФА дорівнювала 39 % ($p < 0,05$), при цьому аналгетична дія препаратів порівняння «Анальгін» – 47 % і «Вольтарен» – 56 % ($p < 0,05$). За вираженістю аналгетичного ефекту КГФА поступається обом препаратам порівняння. Це свідчить про те, що досліджувана фітосубстанція здатна пригнічувати больовий синдром за рахунок інгібування біохімічних альгогенів (серотоніну, гістаміну, брадикініну).

Аналізуючи дві моделі, можна зробити висновок, що аналгетична активність КГФА відмічається як на центральній моделі альгезії – тесті «гаряча пластина», яка характеризується супраспинальним рівнем організації больової чутливості, так і на моделі «оцтовокислих корчів», що характеризується периферичним механізмом виникнення больового синдрому.

При експериментальній оцінці впливу КГФА на поведінку та емоційні реакції тварин доведено, що КГФА у тесті «відкритого поля» не чинить впливу на локомоторну активність (кількість перетнутих квадратів), орієнтовно-дослідницьку діяльність (кількість вертикальних стійок та обстежених отворів), а також на показники вегетативного супроводу емоційних реакцій (грумінг, уринації, дефекації) щурів. Не було відмічено статистично значущої різниці між показниками у щурів на тлі КГФА та відповідними показниками групи контролю (рис. 8).

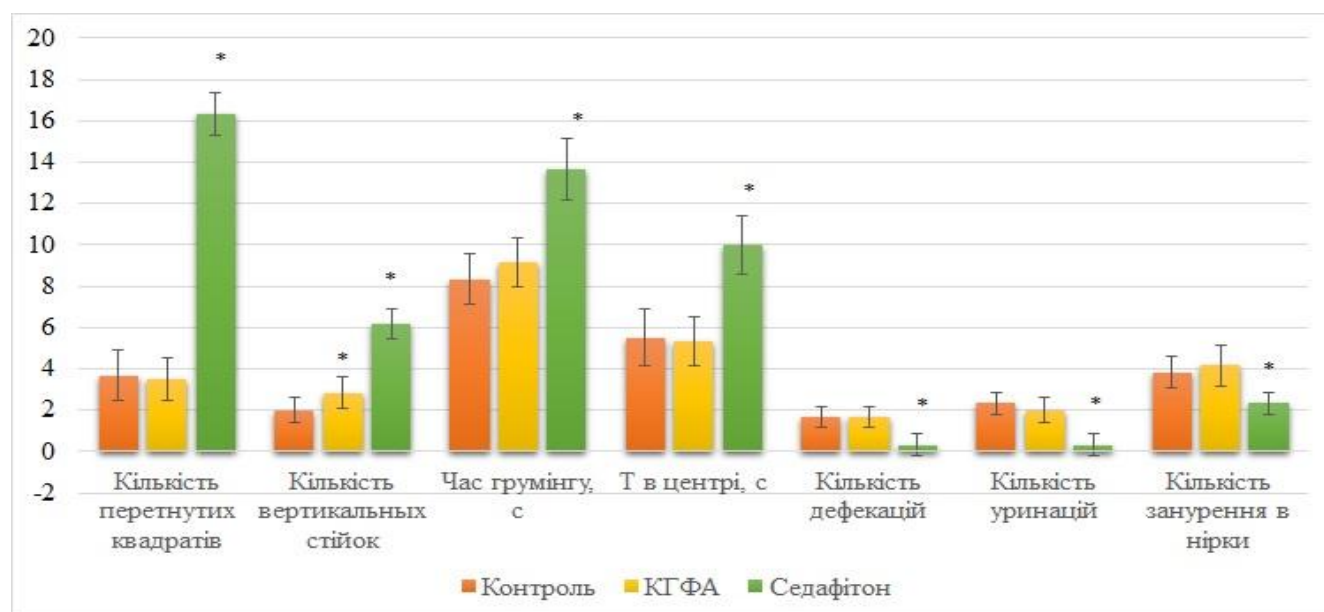


Рис. 8 – Вплив КГФА на поведінку та емоційні реакції тварин у тесті «відкрите поле»

Відомо, що тест «піднесеного хрестоподібного лабіринту» базується на природному страху та униканні щурами відкритих освітлених просторів. КГФА чинить слабкий анксиолітичний ефект, що верифіковано за статистично значущим зменшенням часу перебування тварин у закритих рукавах та паралельним збільшенням тривалості знаходження щурів у відкритих рукавах лабіринту відносно контролю (рис. 9).

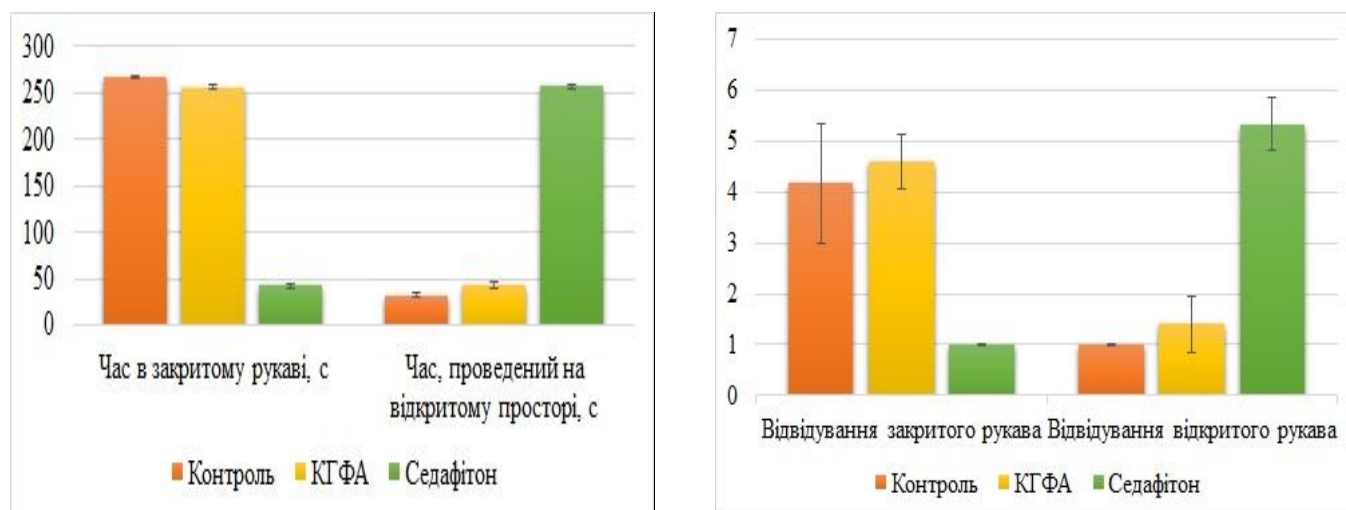


Рис. 9 – Вплив КГФА на тривожність тварин у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт»

При дослідженні антигіперглікемічної активності встановлено, що КГФА в дозі 100 мг/кг впродовж 7 діб перед ПГТТ вагомо не впливав на показники вуглеводного обміну у хом'ячків. Базальна та пікова постпрандіальна концентрація глюкози в цій групі статистично не відрізнялися від аналогічних показників у групі КП ($p > 0,05$). Проте за характером глікемічної кривої видно, що повернення до вихідного рівня глюкози відбувалося дещо швидше ніж у групі КП, на що вказує наявність вірогідних відмінностей рівня глікемії на 120 та 180 хв ($p < 0,05$, рис. 10). До того ж сукупний вектор незначних змін у характері постпрандіальної глікемії призводив до вірогідного зменшення загальної площі під кривою AUC_{Glu} на 10 % ($p < 0,05$, рис. 10).

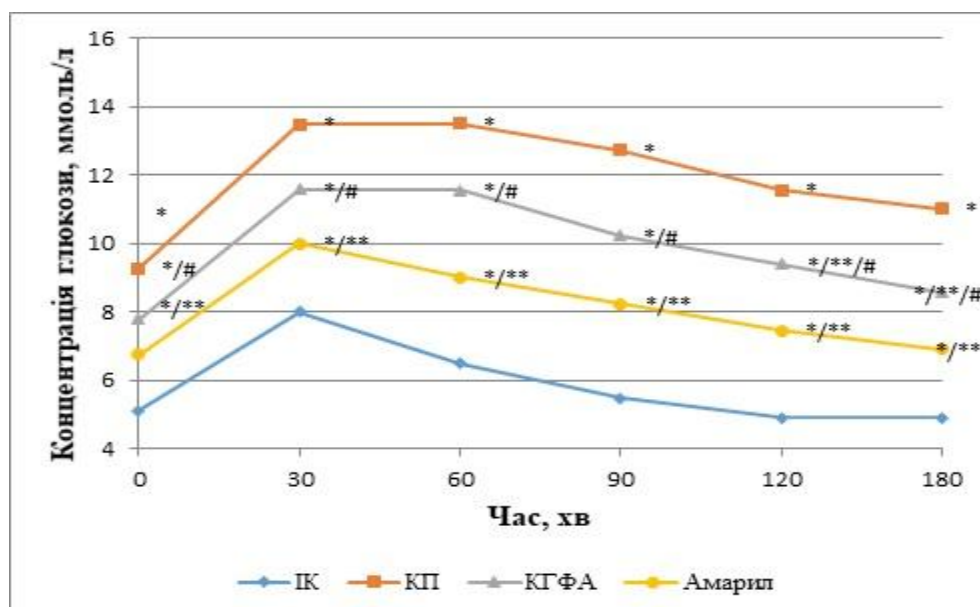


Рис. 10 – Динаміка рівня глюкози в крові самців хом'ячків під час ПГТТ впродовж 180 хвилин

Отримані дані вказують, що КГФА у дозі 100 мг/кг за курсового введення виявляв антигіперглікемічні властивості та викликав фармакокорекцію проявів інсулінорезистентності та толерантності клітин до глюкози.

На експериментальній моделі ІСШ доведено наявність уроантисептичного ефекту КГФА, що підтверджено достовірним порівняно з контрольною патологією зниженням КУО *E. coli* ATCC 25922 на 6 добу ($(7,2 \pm 0,7) \times 10^5$ проти $(4,8 \pm 0,6) \times 10^6$, $p < 0,05$), на 7 добу ($(1,2 \pm 0,4) \times 10^4$ проти $(2,3 \pm 0,7) \times 10^6$, $p < 0,05$), на 8 добу ($(3,6 \pm 0,5) \times 10^3$ проти $(2,1 \pm 0,6) \times 10^6$, $p < 0,05$), на 9 добу ($(1,4 \pm 0,6) \times 10^2$ проти $(1,5 \pm 0,7) \times 10^6$, $p < 0,05$), на 10 добу (мікрофлора не вилучена проти $(8,9 \pm 0,8) \times 10^5$, $p < 0,05$), та лейкоцитурії на 8 добу ($(5 \pm 1,03)$ лейкоцитів проти $(36 \pm 3,76)$, $p < 0,05$), на 9 добу ($(4 \pm 1,03)$ проти $(36 \pm 3,76)$, $p < 0,05$), на 10 добу ($(4 \pm 0,63)$ проти $(36 \pm 3,76)$, $p < 0,05$), на 11 добу ($(4 \pm 0,52)$ проти $(33 \pm 2,74)$, $p < 0,05$), на 12 добу ($(3 \pm 0,52)$ проти $(36 \pm 2,04)$, $p < 0,05$). За вираженістю уроантисептичного ефекту КГФА переважав препарат порівняння «Інурек» та призводив до більш швидкого (на 2 доби) зниження КУО в 1 мл сечі.

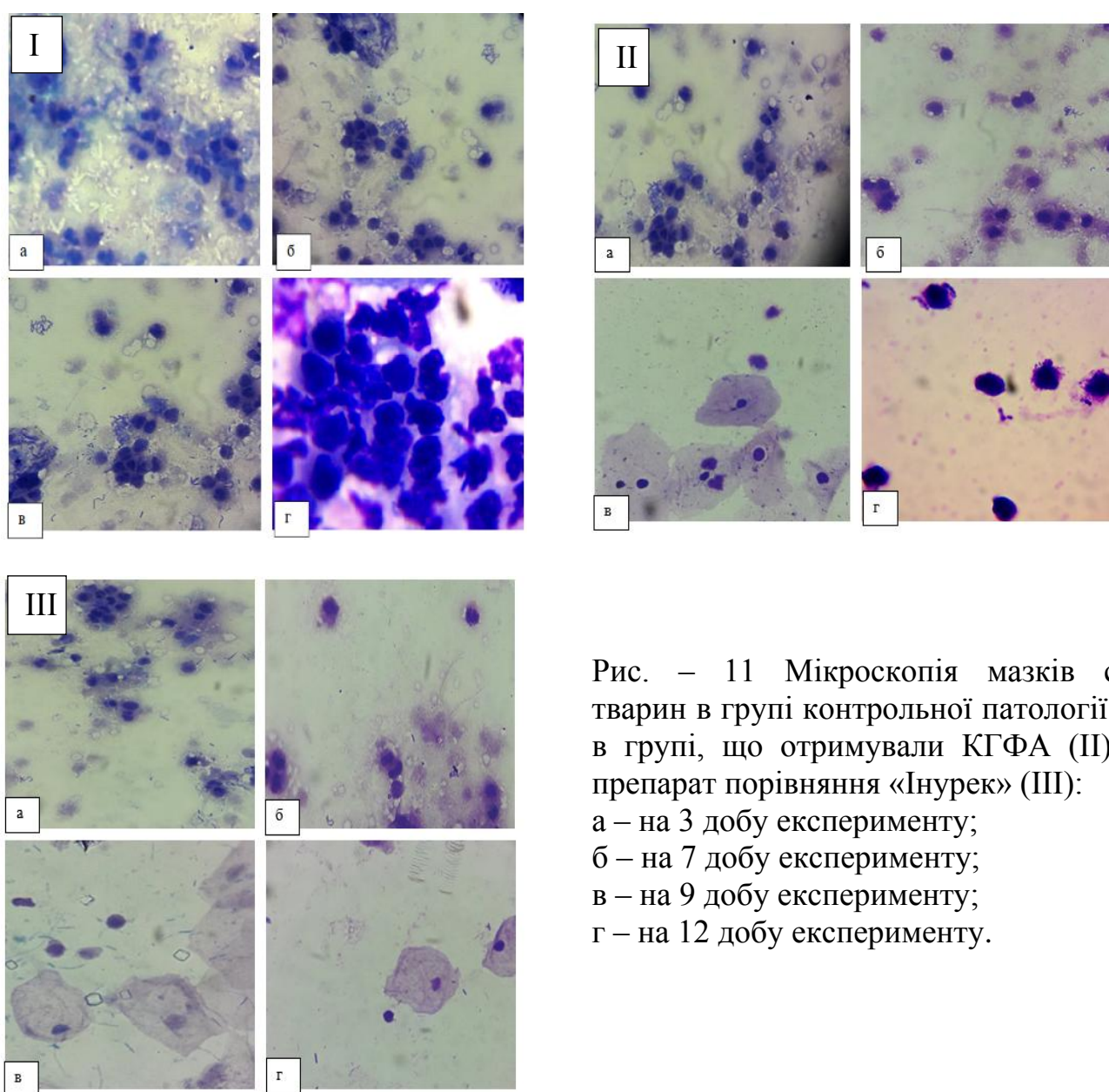


Рис. – 11 Мікроскопія мазків сечі тварин в групі контрольної патології (I), в групі, що отримували КГФА (II) та препарат порівняння «Інурек» (III):
 а – на 3 добу експерименту;
 б – на 7 добу експерименту;
 в – на 9 добу експерименту;
 г – на 12 добу експерименту.

Отже, результати дисертаційної роботи підтверджують, що КГФА у дозі 100 мг/кг виявляє виражену уроантисептичну дію, має діуретичні, протизапальні, анагетичні, антигіперглікемічні, антимікробні властивості. Імовірно досліджувана фітосубстанція проявляє широкий спектр фармакологічних ефектів за наявності біологічно активних речовин, які були виявлені під час фітохімічного дослідження.

Результати роботи експериментально обґрунтовують доцільність подальшого дослідження КГФА та впровадження його як ефективного рослинного уроантисептика для застосування як з профілактичною метою, так і в комплексній фармакотерапії ІСШ.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне та експериментальне вирішення актуальної наукової задачі, що полягає в обґрунтуванні доцільності розробки нового модифікованого новогаленового рослинного засобу з листя брусниці звичайної для оптимізації фармакотерапії ІСШ.

1. За результатами дослідження антибактеріальної активності 13 нових модифікованих галенових та новогаленових фітосубстанцій з листя брусниці звичайної встановлено, що фітосубстанція № 12 виявила помірну антибактеріальну активність по відношенню до основних уропатогенів *E. coli*, *S. aureus*, *P. Vulgaris*, *P. aeruginosa* і *C. albicans* (зони затримки росту склали від 16 мм до 18 мм, $p < 0,05$), інші 12 фітосубстанцій виявили низьку антибактеріальну активність до досліджуваних мікроорганізмів (зони затримки росту склали від 10 мм до 15 мм, $p < 0,05$).

Встановлена діуретична активність для всіх досліджуваних фітосубстанцій в інтервалах доз (25–100) мг/кг на рівні (45–207) %, окрім фітосубстанції № 4 (полісахаридний комплекс), яка виявила антидіуретичний ефект. Визначено дозозалежний діуретичний ефект у фітосубстанції № 12 (комплекс глікозидів фенольних сполук в комбінації з аргініном, КГФА) відповідно на рівні 83 %, 109 %, 201 %, 207 % ($p < 0,05$) в дозах 25 мг/кг, 50 мг/кг, 75 мг/кг і 100 мг/кг, що обґрунтувало її вибір як фітосубстанції-лідера.

2. За результатами дослідження гострої токсичності встановлено, що LD_{50} КГФА знаходиться за межами 20000 мг/кг та згідно з токсикологічною класифікацією речовин К.К. Сидорова фітосубстанція належить до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини). Встановлено, що КГФА в дозі 100 мг/кг при довготривалому введенні не викликає суттєвих порушень функціонального стану органів тварин, не спричиняє токсичного впливу на загальнотрофічні процеси та не призводить до морфологічних змін у стані досліджених органів, що підтверджено відсутністю достовірних змін біохімічних, гематологічних та функціональних показників.

3. Доведена протизапальна активність КГФА: на моделі карагенінового набряку на рівні 33 %, 42 %, 24 % ($p < 0,05$) на першу, другу, третю години; на моделі зимозанового набряку на рівні 54 %, 43 %, 23 % ($p < 0,05$) на першу, другу, третю години експерименту. Визначена динаміка та вираженість протизапальної

активності КГФА дає змогу припустити, що в механізмі її реалізації лежить значний гальмівний вплив на медіатори ранньої фази запалення – біогенні аміни та незначний – на простагландини.

Встановлена аналгетична активність КГФА: в тесті «гаряча пластина» на рівні 118 %, 109 % через 30 та 60 хвилин після введення ($p < 0,05$), на рівні 88 % ($p < 0,05$) впродовж 120, 180, 240 хвилин; на моделі «оцтовокислих корчів» – 39 % ($p < 0,05$). Доведено, що аналгетичний ефект КГФА (відповідно 118 %, 109 %, 88 %, $p < 0,05$) перевищував аналгетичний ефект окремих складових: екстракту брусниці звичайної (53 %, 50 %, 32 %, $p < 0,05$), та аргініну (відсутній ефект). Наявність аналгетичного ефекту на двох моделях свідчить про залучення периферичного і центрального компонентів до його реалізації.

Визначено відсутність впливу КГФА на поведінку та вегетативні прояви емоційних реакцій тварин у тесті «відкритого поля», та слабкий анксиолітичний ефект у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт», що верифіковано за статистично значущим зменшенням відносно групи контролю часу перебування тварин у закритих рукавах ($266 \pm 1,81$ сек. проти $256 \pm 2,76$ сек., $p < 0,05$) та паралельним зростанням тривалості знаходження щурів у відкритих рукавах лабіринту ($44 \pm 2,76$ сек. проти $33 \pm 1,81$ сек., $p < 0,05$).

4. На моделі інсулінорезистентності доведено наявність антигіперглікемічного ефекту КГФА, що підтверджено вірогідним зменшенням загальної площі під кривою AUC Glu на 10 % ($p < 0,05$).

5. На експериментальній моделі ІСШ доведено наявність уроантисептичного ефекту КГФА, що підтверджено достовірним порівняно з контрольною патологією зниженням КУО *E. coli* ATCC 25922 на 6 добу ($(7,2 \pm 0,7) \times 10^5$ проти $(4,8 \pm 0,6) \times 10^6$, $p < 0,05$), на 7 добу ($(1,2 \pm 0,4) \times 10^4$ проти $(2,3 \pm 0,7) \times 10^6$, $p < 0,05$), на 8 добу ($(3,6 \pm 0,5) \times 10^3$ проти $(2,1 \pm 0,6) \times 10^6$, $p < 0,05$), на 9 добу ($(1,4 \pm 0,6) \times 10^2$ проти $(1,5 \pm 0,7) \times 10^6$, $p < 0,05$), на 10 добу (мікрофлора не вилучена проти $(8,9 \pm 0,8) \times 10^5$, $p < 0,05$), та лейкоцитурії на 8 добу ($(5 \pm 1,03)$ лейкоцитів проти $(36 \pm 3,76)$, $p < 0,05$), на 9 добу ($(4 \pm 1,03)$ проти $(36 \pm 3,76)$, $p < 0,05$), на 10 добу ($(4 \pm 0,63)$ проти $(36 \pm 3,76)$, $p < 0,05$), на 11 добу ($(4 \pm 0,52)$ проти $(33 \pm 2,74)$, $p < 0,05$), на 12 добу ($(3 \pm 0,52)$ проти $(36 \pm 2,04)$, $p < 0,05$). За вираженістю уроантисептичного ефекту КГФА переважав препарат порівняння «Інурек» та призводив до більш швидкого (на 2 доби) зниження КУО в 1 мл сечі.

6. Отримані результати обґрунтовують перспективність подальшого вивчення КГФА з метою створення на його основі нового ефективного та безпечного вітчизняного уроантисептика з полімодальним впливом для лікування та профілактики ІСШ.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Цеменко К. В. Діуретична активність фітосубстанцій із листя брусниці звичайної. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Вип. 3 (28). С. 312–317. (Особистий внесок: проведення обробки та аналізу

літературних джерел, розробка схеми експерименту, проведення досліджень, статистична обробка, написання та оформлення статті).

2. Цеменко К. В., Кіреєв І. В., Кошовий О. М. Оцінка емоційно-поведінкової реактивності у щурів після введення комплексу брусниці звичайної в комбінації з аргініном. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. Вип. 1 (58). С. 50–54. (Особистий внесок – проведення клінічних спостережень, систематизація та статистична обробка результатів, підготовка матеріалів до друку).

3. Цеменко К. В., Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Толмачова К. С., Боцула І. В. Вивчення гострої токсичності у мишей після введення фітосубстанції глікозидів фенольних сполук з листя брусниці звичайної в комбінації з амінокислотою аргінін. *Клінічна фармація*. 2019. Вип. 3 (23). С. 52–56. (Особистий внесок – проведення клінічних спостережень, систематизація та статистична обробка результатів, підготовка матеріалів до друку).

4. Tsemenko K. V., Kireev I. V., Komissarenko M. A., Koshovyi O. M. The study of the analgesic activity of the modified extract from *Vaccinium vitis-idaea* leaves. *The Pharma Innovation Journal*. 2019. № 8 (4). P. 929–931. (Особистий внесок – виконання експериментальних досліджень; аналіз та систематизація отриманих результатів; підготовка матеріалу до друку).

5. Study of the antibacterial activity of new modified galenic and novogalenic phytosubstances from *vaccinium vitis-idaea* leaves / Tsemenko K. V., Kyreev I. V., Osolodchenko T. P. *Annals of Mechnikov Institute*. 2020. № 3. P. 54–57. (Особистий внесок – виконання клінічних досліджень, систематизація матеріалів, підготовка статті до друку).

6. Цеменко К. В., Кошовий О. М., Кіреєв І. В., Комісаренко М. А. Спосіб одержання лікарського засобу з діуретичною дією з листя брусниці звичайної: пат. 133723 України на корисну модель № u201809771; заявл. 1.10.2018; опубл. 25.04.2019, Бюл. № 8. (Особистий внесок – патентний пошук, проведення експериментальних досліджень, оформлення патенту).

7. Цеменко К. В., Кіреєв І. В., Толмачова К. С. Модель піелонефриту в умовах холодового стресу на фоні інфікування лактозонегативним штамом *E. coli*: пат. 142909 України на корисну модель № u201908862; заявл. 22.07.2019; опубл. 10.07.2020, Бюл. № 13. (Особистий внесок: патентний пошук, проведення експериментальних досліджень, оформлення патенту).

8. Цеменко К. В., Кіреєв І. В., Кадук Ю. Г. Фармакотерапевтическая эффективность фитопрепаратов на основе брусники в комплексном лечении больных острым циститом. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали XXXII Всеукр. наук. - практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21 трав. 2015 р. Харків : НФау, 2015. Т. 2. С. 364.

9. Цеменко К. В. Вивчення токсичності екстрактів плодів та листя *Vaccinium vitis-idaea*. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали XXXII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 8 квіт. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. С. 210

10. Tsemenko K. V. Diuretic activity complex of phenolic compounds from crowberry leaves. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVII

міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів, м. Харків, 18–20 квіт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 288.

11. Цеменко К. В. Антибактеріальна активність екстрактів брусниці звичайної. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : зб. матер. I міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 18 жовт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 253.

12. Цеменко К. В. Визначення аналгетичної активності комплексу брусниці звичайної в комбінації з аргініном. *Теорія і практика сучасної науки* : зб. матер. IV міжнародної науково-практичної конференції, м. Одеса, 23–24 лист. 2018 р. С. 134.

13. Цеменко К. В. Антибактеріальна активність комплексу брусниці з аргініном. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 14–15 бер. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 2. С. 300.

14. Tsemenko K. V. Estimation of emotional and behavioral reactivity in rats after the introduction of a complex of vaccinum vitis-idaea common in combination with arginine. *Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекції патологічних станів* : зб. матер. міжнародної науково-практичної конференції, м. Харків, 5–6 квіт. 2019 р. С. 28.

15. Цеменко К. В. Протизапальна активність фітосубстанцій з листя брусниці звичайної-комплексу глікозидів фенольних сполук в комбінації з аргініном. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* : зб. матеріалів міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених, м. Харків, 15 трав. 2019 р. С. 187.

16. Цеменко К. В. Уроантисептична дія комплексу брусниці звичайної з аргініном. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації* : матеріали наук : матеріали практи. Internet – конф., м. Харків, 22–23 жовт. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 290–291.

17. Цеменко К. В. Дослідження емоційно-поведінкової реакції у щурів у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» після введення комплексу глікозидів фенольних сполук в комбінації з амінокислотою аргінін. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : матеріали наук. матеріали практи. internet-конфер. з міжнар. участю, м. Харків, 29 лист. 2019. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 363.

18. Цеменко К. В. Вивчення хронічної токсичності комплексу глікозидів фенольних сполук в комбінації з амінокислотою аргінін. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 12–13 бер. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. Т. 2. С. 613.

19. Цеменко К. В., Кіреєв І. В. Винахід модифікованої, новогаленової фітосубстанції – комплексу глікозидів фенольних сполук з листя брусниці звичайної в комбінації з аргініном з діуретичною та антибактеріальною активностями: інформ. лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 223-2019. Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2019, 3 с. (*Особистий внесок: участь в експерименті, аналізі даних та підготовці листа до видання*).

АНОТАЦІЯ

Цеменко К. В. Вивчення фармакологічних активностей екстрактів з листя брусниці звичайної (*Vaccinium vitis-idaea*). – На правах рукопису.

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

Дисертаційну роботу присвячено дослідженню фармакологічних властивостей нових модифікованих галенових і новогаленових фітосубстанцій з листя брусниці звичайної.

За результатами проведених скринінгових досліджень, які включали вивчення нових модифікованих галенових та новогаленових фітосубстанцій з листя брусниці звичайної було встановлено фітосубстанцію-лідер, яка представляє собою комплекс глікозидів фенольних сполук з амінокислотою аргініном, що отримала умовну назву – КГФА та ефективну дозу цієї фітосубстанції.

Доведена відсутність токсичної дії при одноразовому та багаторазовому внутрішньошлунковому введенні КГФА.

Проведено поглиблене вивчення фармакологічних властивостей КГФА та її вплив на компоненти запалення та охарактеризовано ймовірний механізм протизапального ефекту КГФА.

Встановлена аналгетична активність КГФА в тесті «гаряча пластина» та на моделі «оцтовокислих корчів». Припущено, що в реалізації аналгетичного ефекту залучені периферичні і центральні компоненти.

Встановлено відсутність впливу КГФА на поведінку та вегетативні прояви емоційних реакцій тварин у тесті «відкритого поля», та слабкий анксиолітичний ефект у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт».

На моделі інсулінорезистентності доведено наявність антигіперглікемічного ефекту КГФА, що підтверджено вірогідним зменшенням загальної площі під кривою

На експериментальній моделі ІСШ доведено наявність уроантисептичного ефекту КГФА, що підтверджено достовірним порівняно з контрольною патологією зниженням КУО *E. coli* АТСС 25922. За вираженістю уроантисептичного ефекту КГФА переважав препарат порівняння «Інурек» та призводив до більш швидкого зниження КУО в 1 мл сечі.

Ключові слова: нові модифіковані галенові та новогаленові фітосубстанції з листя брусниці звичайної, протизапальна активність, антибактеріальна активність, діуретична активність, експериментальна модель ІСШ, уроантисептичні властивості, хронічна токсичність.

АННОТАЦИЯ

Цеменко К.В. Экспериментальное изучение фармакологических активностей экстрактов из листьев брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea*). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 «Фармакология» (22 – здравоохранение) – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2021.

По результатам проведенных скрининговых исследований, которые включали изучение новых модифицированных галеновых и новогаленовых фитосубстанций из листьев брусники обычной было установлено фитосубстанцию-лидер, которая представляет собой комплекс гликозидов фенольных соединений в комбинации с аминокислотой аргинином, получившей условное название – КГФА и условно-терапевтическую дозу этой фитосубстанции.

Доказано отсутствие токсического действия при однократном и многократном внутривенном введении КГФА.

Проведено углубленное изучение фармакологических свойств КГФА и его влияние на компоненты воспаления и охарактеризован возможный механизм противовоспалительного действия КГФА.

Установлена анальгетическая активность КГФА в тесте «горячая пластина» и на модели «уксуснокислых корчей». Предполагается, что в реализации анальгетического эффекта вовлечены периферические и центральные компоненты.

Установлено отсутствие влияния КГФА на поведение и вегетативные проявления эмоциональных реакций животных в тесте «открытого поля», и слабый анксиолитический эффект в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

На модели инсулинорезистентности доказано наличие антигипергликемической активности КГФА, что подтверждено возможным уменьшением общей площади под кривой.

На экспериментальной модели ИМП доказано наличие уроантисептического эффекта КГФА, что подтверждено достоверным по сравнению с контрольной патологией снижением КОЕ *E. coli* ATCC 25922. По выраженности уроантисептического эффекта КГФА превышал препарат сравнения «Инурек» и приводил к более быстрому снижению КОЕ в 1 мл мочи

Ключевые слова: новые модифицированные галеновые и новогаленовые фитосубстанции из листьев брусники обыкновенной, противовоспалительная активность, антибактериальная активность, диуретическая активность, экспериментальная модель ИМП, уроантисептические свойства, хроническая токсичность.

SUMMARY

Tsemenko K. V. Experimental study of the pharmacological activities of ordinary lingonberry extracts (*Vaccinium vitis-idaea*) – Qualification scientific work on the rights of a manuscript.

The dissertation on competition of a scientific degree of candidate of pharmaceutical Sciences, specialty 14.03.05 "Pharmacology" (22 – health). National University of pharmacy of Ministry of health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

Based on the results of the screening studies, which included the study of new modified galenic and novogalenic phytosubstances from *Vaccinium vitis-idaea* leaves, a leader phytosubstance was established, which is a complex of glycosides of phenolic compounds in combination with the amino acid arginine, which received the code name – CGPA and a conditionally therapeutic dose of this phytosubstance.

The absence of toxic effects with single and multiple intragastric administration of CGPA has been proven.

An in-depth study of the pharmacological properties of CGPA and its effect on the components of inflammation were provided and the mechanism of anti-inflammatory effect of CGPA was characterized.

The analgesic activity of CGPA in the test "hot plate" and in the model of "acetic acid cramps" was established. It is assumed that peripheral and central components are involved in the implementation of the analgesic effect.

It was found that there was no effect of CGPA on the behavior and vegetative manifestations of emotional reactions of animals in the "open field" test, and a mild anxiolytic effect in the "elevated plus maze" test.

On the model of insulin resistance, the presence of the antihyperglycemic effect of CGPA was proved, which was confirmed by a possible decrease in the total area under the curve.

On the experimental model of UTI, the presence of the uroantiseptic effect of CGPA was proved, which was confirmed by a significant decrease in colony-forming units of *E. coli* ATCC 25922 compared with the control pathology. In terms of the severity of the uroantiseptic effect, CGPA exceeded the reference drug Inurec and led to a more rapid decrease in colony-forming units in 1 ml of urine.

Key words: new modified galenic and novogalenic phytosubstances from *Vaccinium vitis idaeae* leaves, anti-inflammatory activity, antibacterial activity, diuretic activity, experimental model of UTI, uroantiseptic properties, chronic toxicity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активна речовина

ІК – інтактний контроль

ІСШ – інфекції сечових шляхів

КГФА – комплекс глікозидів фенольних сполук з листя брусниці звичайної в комбінації з амінокислотою аргініном

КП – контрольна патологія

ЛД – летальна доза

НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби

ПХЛ – піднесений хрестоподібний лабіринт

ПГТТ – пероральний глюкозотолерантний тест

ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації

Підписано до друку 15.03.2020 р. Формат 60x84/16.
Папір офсетний. Гарнітура Times ET. Ум. друк. арк. 0,9.
Наклад 100 пр. Зам. № 0315/2-21.

Надруковано з готового оригінал-макету у друкарні ФОП В. В. Петров
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.
Запис № 24800000000106167 від 08.01.2009 р.
61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137, тел. (057) 78-17-137.
e-mail:bookfabrik@mail.ua