

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я
Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Верховодова Юлія Володимирівна

УДК 615.246:615.322:615.017:615.015.13:615.015.14

ДИСЕРТАЦІЯ

**Фармакологічна ефективність застосування комбінованих
фітоекстрактів шавлії лікарської для профілактики та корекції
дисбіотичних порушень**

14.03.05 – фармакологія

22 – Охорона здоров'я

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Ю.В. Верховодова

Науковий керівник Ігор Володимирович Кіреєв
доктор медичних наук, професор

Харків – 2021

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	5
АНОТАЦІЯ.....	6
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1 ПРОБЛЕМА АНТИБІОТИК-АСОЦІЙОВАНОЇ ДІАРЕЇ (Огляд літератури)	
1.1 Антибіотик-асоційована діарея – сучасна проблема антибіотикотерапії.....	27
1.2 Роль <i>Clostridium difficile</i> у формуванні та розвитку антибіотик-асоційованої діареї.....	29
1.3 Зміни складу мікробіому кишечника під впливом антибіотиків	31
1.4 Роль (дозозалежність) <i>Lactobacillus</i> вмісних пробіотиків в терапії антибіотик-асоційованої діареї.....	33
1.5 Фітотерапія в сучасній медицині.....	34
1.6 Перспективи пошуку нових похідних з шавлії лікарської.....	35
Висновки до розділу 1.....	38
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1 Досліджувані субстанції.....	39
2.2 Методи дослідження та експериментальні моделі.....	46
РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОГО ПРОФІЛЮ ДІЇ ЕКСТРАКТІВ <i>S.OFFICINALIS</i>	
3.1 Дослідження гострої токсичності екстрактів <i>S. officinalis</i>	59
Висновки до розділу 3.1	61
3.2 Дослідження антимікробної активності екстрактів <i>S. officinalis</i>	62
Висновки до розділу 3.2	68
3.3 Дослідження діуретичної активності екстрактів <i>S. officinalis</i>	69
Висновки до розділу 3.3	73

3.4	Дослідження антиексудативної активності екстрактів <i>S. Officinalis</i> ..	75
	Висновки до розділу 3.4	82
3.5	Дослідження мембраностабілізуючої активності екстрактів <i>S. officinalis</i>	83
3.6	Дослідження капілярозміцнювальної активності екстрактів <i>S. officinalis</i>	85
	Висновки до розділу 3.5, 3.6	86
РОЗДІЛ 4 МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТА ЕКСТРАКТІВ <i>S. OFFICINALIS</i> НА КИШКОВУ МІКРОБІОТУ ПРИ ДИСБІОЗИ У ЩУРІВ		
4.1	Дослідження ефекта екстрактів <i>S.officinalis</i> на кишкову мікробіоту при дисбіотичних порушеннях на фоні експериментального інфекційного коліту у щурів	88
	Висновки до розділу 4.1	95
4.2	Динаміка гематологічних показників при використанні екстрактів <i>S.officinalis</i> в умовах експериментального коліту.....	96
	Висновки до розділу 4.2	100
4.3	Динаміка біохімічних показників при використанні екстрактів <i>S.officinalis</i> в умовах експериментального коліту.....	100
	Висновки до розділу 4.3	103
РОЗДІЛ 5 МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТІНКИ ТОНКОГО ТА ТОВСТОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ІНТРАГАСТРАЛЬНОМУ ЗАСТОСУВАННІ ЕКСТРАКТІВ ШАВЛІЇ ЛІКАРСЬКОЇ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІНФЕКЦІЙНОГО КОЛІТУ У ЩУРІВ		
5.1	Морфологічна характеристика тонкого і товстого кишечника в групі порівняння (інтактні тварини).....	104
5.2	Морфологічні зміни в тонкому і товстому кишечнику у контрольних тварин (модель з мікробним навантаженням).....	106
5.3	Морфологічні зміни тонкого і товстого кишечника у тварин групи екстракта №2 <i>S. officinalis</i>	108

5.4 Морфологічні зміни тонкого і товстого кишечника у тварин групи екстракта №4.....	109
Висновки до розділу 5	111
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	113
ВИСНОВКИ.....	124
СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.....	129
ДОДАТКИ.....	150

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.

АНОТАЦІЯ

Верховодова Ю. В. Фармакологічна ефективність застосування комбінованих фітоекстрактів шавлії лікарської для профілактики та корекції дисбіотичних порушень. – Кваліфікаційна наукова праця 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, 2020.

У дисертації Верховодової Ю.В. проведено оцінку результатів фармакологічного дослідження ефекту екстрактів *S. officinalis* для профілактики та корекції дисбіозу кишечника. Наведено фармакологічні властивості екстрактів *S. officinalis* в аспекті можливого подальшого доклінічного дослідження та розробки на його основі сполуки лідера для профілактики та корекції антибіотик асоційованих дисбіозів. Наведено результати досліджень різних дозувань та ефектів, пов'язаних з ними, виявлення ефективної дози 50 мг/кг. В роботі досліджували екстракти *S. officinalis* (№1 - відвар шавлії, №2 - 50% екстракт з листя шавлії, №3 - 96% екстракт з листя шавлії, №4 - лізиновий комплекс, №5 - аргініновий комплекс, №6 - полісахаридний комплекс, №7 - очищений комплекс, №8 - сапоніновий комплекс, №9 - фенольний комплекс, №10 - флавоноїдний комплекс, №11 - гідроксикоричний комплекс). При дослідженні гострої токсичності було виявлено, що всі екстракти відносяться до класу V, практично нетоксичні речовини, що свідчить про безпечність досліджених сполук.

При дослідженні антимікробної активності екстрактів встановлено, що у більшості випадків екстракти мали антимікробну дію на рівні слабоактивних або активних речовин. Антимікробна активність досліджуваних екстрактів обумовлена наявністю у їх складі альфа та бета

туйону, цинеолу, розмаринової кислоти, фенольних та поліфенольних сполук. Найбільшим антимікробним ефектом володіли екстракти № 4 (комплекс фенольних сполук з L-лізином), №9 (фенольний комплекс), №10 (флавоноїдний комплекс), №11 (гідроксикоричний комплекс), поміж них екстракт № 4 відрізнявся найпотужнішою дією.

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 рази відповідно у порівнянні з контрольною групою.

Дослідження діуретичної активності екстрактів *S. officinalis* показало, що усі екстракти, окрім екстракта №7 (очищений комплекс) володіють антидіуретичним ефектом на рівні адіурекрина. Найбільш вираженим антидіуретичним ефектом володіє екстракт № 4 (лізиновий комплекс) та 5 (аргініновий комплекс). Цей ефект обумовлено дією фенольних сполук - гідроксикоричних кислот, що переважають за кількісним показником на простагландини (антипростагландиновий ефект). Виявлену характеристику екстрактів необхідно враховувати в перспективі застосування за наявності супутньої патології, а саме необхідності корекції дози або можливість застосування при нецукровому діабеті. Оскільки більшість екстрактів проявили ефект у дозі 50 мг/кг, її обрали умовно-терапевтичною.

В результаті дослідження встановлено, що у досліджуваних екстрактах 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 склали 25% та 31,5% відповідно.

В результаті дослідження антиексудативної активності екстрактів *S. officinalis* встановлено, що 9 з 11 екстрактів мають антиексудативний ефект. Екстракт № 5 та 6, які містять у своєму складі, відповідно, L-аргінін та полісахариди антиексудативної активності не мають. Під час усього досліджуваного періоду запалення (4 години) антиексудативну дію виявлено у екстрактах № 1 (відвар шавлії), № 2 (50% екстракт шавлії), № 4 (лізиновий комплекс), № 11 (гідроксикоричний комплекс). Екстракти, які зменшували запалення під час 1-2 години експеримента стали екстракти № 7 (очищений комплекс), № 8 (сапоніновий комплекс), № 9 (фенольний комплекс), № 10 (флавоноїдний комплекс). Екстракт № 3 (96% екстракт шавлії) зменшував запалення під час 3-4 години експеримента.

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%.

Для проведення досліджень дії екстрактів *S. officinalis in vivo* було створено та запатентовано спосіб моделювання інфекційного коліту з дисбіотичними порушеннями у щурів.

Порівняльне дослідження ефекта екстрактів *S. officinalis* (екстракт №2 та №4) на кишкову мікробіоту при дисбіотичних порушеннях на фоні експериментального інфекційного коліту у щурів показало певну ефективність екстрактів у порівнянні з рифаксиміном. Комплекс фенольних сполук з L-лізином *S. officinalis* у дозі 50 мг/кг проявив більш позитивний ефект на нормалізацію індигенної мікрофлори аніж 50 % екстракт *S. officinalis* у дозі 50 мг/кг.

Встановлено, що пребіотична здатність найбільш притаманна екстракту *S. officinalis* №4.

Встановлено, 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. В результаті біохімічних досліджень встановлено, що на тлі експериментального коліту у щурів підтверджені 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. За ефективність дії фітоекстракт №4 був більш активним по відношенню до екстракту №2.

Було проведено морфологічне дослідження стінки тонкого та товстого кишечника щурів при інтрагастральному застосуванні екстрактів *S. officinalis* при інфекційному коліті. Досліджено дію екстрактів №2 і №4 у дозі 50 мг/кг. В результаті експеримента встановлено, що при їх застосуванні помітно слабшали дистрофічні, десквамативні і запальні зміни. Отже, на підставі морфологічного дослідження екстрактів №2 та №4 підтверджені деякі (протизапальні, епітелій-протекторні і опосередковані імуностимулюючі) ефекти.

Перспективною сполукою-лідером можна вважати екстракт №4. Цей екстракт є новим, безпечним та має ряд фармакологічних властивостей для корекції порушень, що виникають в кишечнику при дисбіотичних порушеннях, в тому числі при ААД.

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

Список публікацій здобувача

1. Y.V. Verkhovodova, I.V. Kireyev, O.M. Koshovyi, T.P. Osolodchenko. In vitro antimicrobial study of new modifications of *Salvia officinalis* extracts. *Annals of Mechnikov Institute*. №1. 2019. P. 31-35. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).
2. 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*. Том 13. № 4. 2019. С. 249–254. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).
3. Verkhovodova Yu., 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; Vol.4. №301. P. 165-170. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).
4. 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. 54-68. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).
5. 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*. Том 2. № 10. 2019. С 20-24. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).
6. 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 .(Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).

7. 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 №4*. 2019. С 38-41.(Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).

8. 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*. Харків: НФаУ, 2016. №1 (42). С. 51-54. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).

9. 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; опубліковано 12.05.2020. Бюл. № 9. 4 с. (Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, проведені експериментальних досліджень та оформленні патенту).

10. Спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю : пат. 138320 на корисну модель Україна. № у 2019 04814 / І. В. Кіреєв, О. М. Кошовий, Ю. В. Верховодова, М. М. Мига ; заявл. 06.05.2019 ; опубл. 25.11.2019. Бюл. № 22. 4 с.(Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, проведені експериментальних досліджень та оформленні патенту).

11. Спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями : пат. 140188 на корисну модель Україна. № у 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. 4 с. (Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, проведені експериментальних досліджень та 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: abstracts of XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 21, 2016. Kharkiv, 2016. Vol. 2. P. 85.

14. 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. м. Харків : НФаУ, 2018. С. 31.

15. 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. м. Харків, 2016. Т. 1. С. 116.

16. 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 жовтня. 2018 р., м. Харків: НФаУ, 2018. С. 66.

17. Верховодова Ю. В. Визначення гострої токсичності похідних екстрактів шавлії лікарської (*Salvia officinalis*). *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали III Міжнародної наукової-практичної internet-конференції, м. Харків, 26-28 листопада. 2018 р. м. Харків: НФаУ, 2018. С. 48.
18. Верховодова Ю. В. Вивчення впливу деяких екстрактів шавлії лікарської на діурез у щурів. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції у двох томах, м. Харків 28-29 березня 2018 р. Харків: НФаУ, 2018. Т. 2. С. 72.
19. Verkhovodova Y. V. In vivo study of how some *Salvia officinalis* extracts affect diuresis in rats. *Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекції патологічних станів*: матеріали міжвузівської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю. м. Харків, 5-6 квітня, 2019 р. м. Харків: НФаУ, 2019. С. 9.
20. Verkhovodova Y. V. *Salvia Officinalis* extracts effect on dysbiotic gut microflora. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів*: XXVII Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів, м. Харків 8-10 квітня 2020 р. Харків: НФаУ, 2020. Р 63.
21. 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 інтернет-конференції з міжнародною участю, м. Харків 21 листопада 2019 р. Харків: НФаУ, 2019. С. 49.
22. Верховодова Ю.В. Дослідження протизапальної активності екстрактів *S. Officinalis* на моделі зимозанового набряку. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція*: матеріали III науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю, м. Харків 19 листопада 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 міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків 26-27 листопада 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 міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків 26-27 листопада 2020 року м. Харків: НФаУ, 2020. С 68.

ANNOTATION

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. - Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences (Doctor of Philosophy) in the specialty 14.03.05 - "Pharmacology" (22 - Health Care). - National Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2020.

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 phytocomplex 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.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. ААД є актуальною проблемою галузі охорони здоров'я. ААД розвивається за даними різних авторів у 5-35% пацієнтів, які отримують антибіотики. ААД значно знижує якість життя пацієнтів, працездатність, а в разі ускладнення інфекцією *C.difficile* є ймовірність летальних випадків. В епоху активного застосування антибіотиків і проблеми антибіотикорезистентності проблема лікування і профілактики ААД стає ще більш актуальною. 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. І навіть це не завжди призводить до повного одужання.

В результаті ААД відбуваються дисбіотичні зміни кишечника, що погіршує прогноз і перебіг хвороби. Як відомо, мікрофлора людини надзвичайно складна частина організму, яка відповідальна за імунітет, метаболізм, травлення та інші життєво важливі процеси. При ААД важливим є запобігання і корекція таких порушень. Вчені рекомендують пробіотики *S.boulevardii* і LGG для профілактики і лікування дисбіозу кишечника, в тому числі при ААД. На даному етапі питання застосування пробіотиків широко обговорюється вченими всього світу. Число публікацій на тему пробіотиків на PubMed з 1999 року по 2020 рік зросла з 357 до > 27000. На Українському ринку не так багато пробіотиків, які, ґрунтуючись на даних доказової медицини, можна застосовувати для профілактики і лікування ААД. З огляду на дані літератури, є рекомендації для застосування високодозних пробіотиків, що містять не менше $5 * 10^6$ КУО / г *S.boulevardii* і $> 17 * 10^9$ КУО / г LGG.

Згідно літературних даних, однією з перспективних рослин, які здатні зменшувати диспепсичні явища, діарею, має вітрогінний,

епітелійпротекторний, антимікробний, протизапальний ефекти є *S. officinalis*.

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

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), у яких дисертант є співвиконавцем.

Мета і завдання дослідження. Мета оцінити фармакологічну дію (властивості) екстрактів *S. officinalis*, визначити екстракт лідер, умовно-терапевтичну дозу, визначити екстракт, котрий буде перспективним для створення на його основі лікарського засобу для профілактики і корекції дисбіотичних порушень в тому числі асоційованих з прийомом антибактеріальних препаратів і ААД у пацієнтів в тому числі з наявністю коморбідних патологій.

Для досягнення поставленої мети були поставлені такі завдання:

1. Дослідити гостру токсичність екстрактів *S. officinalis*;
2. Дослідити антимікробну активність екстрактів *S. officinalis*;
3. Дослідити діуретичну активність екстрактів *S. officinalis*;
4. Визначення сполук лідерів та їх умовно-терапевтичних доз;
5. Дослідити протизапальну активність екстрактів *S. officinalis*;
6. Дослідити капіляррозміцнюючу активність екстрактів *S. officinalis*;
7. Дослідити мембраностабілізуючу активність екстрактів *S. officinalis*;
8. Дослідити ефект екстрактів *S. officinalis* на кишкову мікробіоту, гематологічні, біохімічні показники при експериментальному дисбіозі у щурів;

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

Об'єкт дослідження. Дисбіотичні порушення.

Предмет дослідження. Фармакологічна активність екстрактів *S.officinalis* в умовах експеримента.

Методи дослідження. Фармакологічні (дослідження гострої токсичності, протизапальної активності, діуретичної активності екстрактів *S. officinalis*, капілярозміцнюючої, мембраностабілізуючої активностей, моделювання експериментального дисбіоза на фоні коліта у щурів), гістологічні (дослідження ефекта екстрактів *S. officinalis* на кишкову стінку при експериментальному коліті с дисбіотичними порушеннями), мікробіологічні (дослідження антимікробної активності екстрактів *S. officinalis*, біохімічні, статистичні (медіана, стандартне відхилення, t-критерій Стьюдента, критерій Мана-Уїтні тощо).

Наукова новизна дослідження. Дисертантом встановлено, що при внутрішньошлунковому введенні лабораторним мишам обох статей досліджені екстракти 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. Встановлено, 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. Встановлено, 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. Встановлено,

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 склали 25% та 31,5% відповідно. 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 рази відповідно у порівнянні з контрольною групою. В результаті дослідження на моделі інфекційного коліту встановлено антагоністичну активність фітоекстрактів №2 та №4 по відношенню до *E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus*, *C. perfringens* на рівні з препаратом порівняння рифаксиміном. 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. Встановлено, 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. В результаті біохімічних досліджень встановлено, що на тлі експериментального коліту у щурів підтверджені 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. За ефективність дії фітоекстракт №4 був більш активним по відношенню до екстракту №2. В результаті патоморфологічного дослідження встановлено, що в експерименті на моделі інфекційного коліту у групі спостережень, де тварини отримували фітоекстракт №2, 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, були відзначені найбільш виражені позитивні морфологічні 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-лізіна.

Практичне значення результатів дослідження підтверджується патентами України на корисну модель (Патент № 138320; зареєстровано

06.05.2019; опубліковано 25.11.2019; бюл. № 22. Патент № 140188; зареєстровано 04.07.2019; опубліковано 10.02.2020; бюл. № 3), патентом України на винахід (патент № 121367; зареєстровано 06.05.2019; опубліковано 12.05.2020; бюл. № 9; патент № 122640; зареєстровано 04.07.2019 ; опубл. 11.12.2020. Бюл. № 23).

Результати роботи впроваджені в науково-дослідну роботу Одеського національного медичного університету (протокол № 5 від 11 грудня 2019 р. – отримано 2 акти впровадження), отримано сертифікат про впровадження у реєстр Vrupharmexport sprl від 10.11.2019, Брюссель.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота виконана на базі кафедри фармакоterapiї Національного фармацевтичного університету. Разом з науковим керівником поставлено мету і задачі дослідження, розроблено методичні підходи до вибору методів та моделей для виконання експериментальних завдань. Особисто дисертантом проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз та узагальнення літературних даних за темою дисертації, здійснено експерименти, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів з їхнім оформленням у вигляді таблиць, сформульовані висновки дисертації. Усі експериментальні результати отримано автором особисто або за безпосередньої участі. В опублікованих наукових працях наведені результати експериментів. Усі дисертаційні розділи та автореферат написані автором самостійно. Мікробіологічні дослідження властивостей екстрактів та пробіотиків проведено лабораторії біохімії та біотехнології Інститута мікробіології та імунології І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України (зав. лабораторії к. біол. наук, старший науковий співробітник Т.П. Осолодченко). Гістологічні дослідження виконані в ЦНДЛ ХНМУ (при консультуванні доцента С.М. Потапова). Дисертант вдячний всім науковцям за методичну та консультативну допомогу.

Апробація результатів 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 Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи», м. Харків, 13-16 вересня 2016 р. XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student «Topical issues of new drugs development», Kharkiv, April 21, 2016 р. I Міжнародна науково-практична конференція «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів», м. Харків, 30-31 берез. 2017 р. I Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», м. Харків, 18 жов. 2018 р. II Міжнародна науково - практична конференція «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів», м. Харків, 28-29 берез. 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 квіт. 2018 р. III Міжнародна науково-практична internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин», м.Харків, 26-28 листоп. 2018 р. II Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», м. Харків, 21 листоп. 2019 р. III Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти

створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних, і косметичних лікарських засобів», м. Харків, 01 берез. 2019 р. II Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», м. Харків, 21 листоп. 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 квіт. 2019 р. IV Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів», м. Харків, 20 берез. 2020 р. XXVII Міжнародна Науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів», м. Харків, 8-10 квіт. 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 листоп. 2020 р. IV Міжнародна Науково-практична internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин», м. Харків, 26-27 листоп. 2020 р.

РОЗДІЛ 1 ПРОБЛЕМА АНТИБІОТИК-АСОЦІЙОВАНОЇ ДІАРЕЇ

(Огляд літератури)

1.1 Антибіотик-асоційована діарея – сучасна проблема антибіотикотерапії.

У сучасному світі лікування інфекційних хвороб неможливо без призначення антибактеріальних препаратів. Ефективність антибіотиків подарувало людству надію на перемогу над мікроорганізмами. Починаючи з 40-х років все нові і нові класи антибіотиків поповнювали арсенал антимікробних препаратів. На сьогодні застосування антибіотиків має деякі обмеження. Це може бути обумовлено численними проявами побічної дії антибіотиків: алергічні реакції, нейротоксичність, нефротоксичність, гепатотоксичність, гематотоксичність, дисбіотичні порушення [17]. Особливу увагу слід приділити такому небажаному побічному ефекту як антибіотик-асоційована діарея (ААД) [32, 43, 117, 125, 151]. Актуальність ААД обґрунтовується тим, що вона стосується населення працездатного віку, й може знижувати їх якість життя та впливати на працездатність. Згідно даних літератури майже у 5-30% пацієнтів, які отримували антибіотики розвивається ААД [43, 49, 75, 91]. Серед хворих на ААД, що викликається *C. difficile*, у 3-8% пацієнтів можливий розвиток псевдомембранозного коліту, який може привести до інвалідизації і летального результату [52, 54, 91, 117, 128, 151]. Антибіотик-асоційована діарея це захворювання, яке без лікування може тривати досить довго (до 22 днів) (Mc. Farland) або ж ускладнитися *C. difficile* інфекцією [125]. В такому випадку можливий рецидивуючий перебіг ААД, порушення функцій кишечника, погіршення загального самопочуття, розвиток дисбіотичних порушень, зниження імунітету. Відповідно до визначення ВООЗ (2004) ААД характеризується наявністю 3 і більше епізодів неоформлених випорожнень протягом двох або більше послідовних днів, що виникли на фоні застосування антибактеріальних засобів та протягом

восьми тижнів після їх відміни, якщо не виявлено іншої причини. Найчастіше ААД виникає при терапії антибіотиками широкого спектра дії - кліндаміцином, цефалоспоринами, пеніцилінами, фторхінолонами [97, 43].

Основними патогенами, що викликають ААД, є *C. difficile* (13-28%), *C. perfringens* (3-21%), *S. aureus* (1-28%) та *K. oxytoca* (15-35%), але у багатьох випадках точно визначити інфекційний агент неможливо [56, 118]. Окрім вищезазначених патогенів, ААД можуть викликати наступні етіологічні чинники: *Salmonella spp*, бактерії роду протей, ентерокок, а також дріжджові гриби [54, 118].

Ідіопатична (неінфекційна) ААД, виникає у 80% всіх випадків антибіотикоасоційованих станів [27, 67, 117, 124, 135]. Ризик розвитку ідіопатичної ААД залежить від дози препарату, що застосовується.

Заслуговує уваги те, що антибіотики викликають значні зміни фізико-хімічних властивостей слизу. У цьому випадку зменшується зовнішній і внутрішній шар слизу, підвищується проникність кишкової стінки і абсорбція вмісту просвіту кишечника. Під впливом антибіотиків можуть відбуватися трансформації в бік збільшення в популяції нормальної транзиторної флори окремих видів, які характеризуються наявністю факторів патогенності: збільшенням адгезивності, високою біохімічною активністю і ентеротоксинпродукцією, множинною лікарською стійкістю [49].

Серед факторів ризику особливе негативне значення мають коморбідні стани, такі як перенесене хірургічне втручання на органах шлунково-кишкового тракту, застосування препаратів, що знижують кислотність в шлунку, зокрема інгібітори протонної помпи, похилий вік пацієнта, перенесена раніше ААД або запальні захворювання кишечника, тривале перебування в стаціонарі, перебування у відділенні інтенсивної терапії, імуносупресивна терапія, застосування назогастрального зонда [89, 94, 162].

Якщо провідним механізмом діареї є зміна мікрофлори, доцільно застосування таких груп препаратів, як пре- і пробіотики [49, 75, 124, 141, 164].

Оскільки збільшення кількості умовно-патогенної, а саме анаеробної мікрофлори, є важливим патогенетичним компонентом ААД, доцільно проводити елімінацію збудників належними препаратами [52, 68, 69, 77, 93, 98]. Для фармакотерапії *C. difficile* інфекції призначають метронідазол, ванкоміцин або фідаксоміцин [17, 62, 68, 128].

Існує потреба у визначенні альтернативних ефективних підходів до профілактики та лікування інфекції, викликаной *C. difficile*. Є дані про успішне застосування для лікування ААД таких препаратів як людські моноклональні антитіла, спрямовані на дію проти токсину А і В, внутрішньовенні імуноглобуліни, рифаксимін, пробіотиків та фекальної трансплантації [75, 154, 155].

Однак, необхідні подальші дослідження для доказу ефективності та безпеки застосування перерахованих вище засобів у клінічній практиці.

1.2 Роль *Clostridium difficile* у формуванні та розвитку антибіотик-асоційованої діареї.

C. difficile грампозитивна спороутворююча анаеробна бактерія, яка не має інвазивних властивостей, що зазвичай передається фекально-оральним шляхом [79]. До факторів вірулентності *C. difficile* відноситься здатність продукувати токсини: ентеротоксин (токсин А), який пошкоджує стінку кишечника за рахунок стимуляції гуанілатциклази, що супроводжується підвищенням секреції рідини у просвіт кишечника та сприяє розвитку діареї, цитотоксин (токсин В), що має виражені цитопатогенні властивості через інгібування білкового синтезу й пошкодження мембран ентеро- і колоноцитів, стимулює апоптоз епітеліальних клітин шляхом впливу на АТФ-залежні калієві канали мітохондрій, що призводить до втрати клітинами калію та порушень електролітного балансу, та бінарний токсин.

Поєднання факторів вірулентності може виявлятися у клінічному різноманітті: від асимптомного носійства до розвитку коліту і псевдомембранозного коліту [51, 75, 118, 128, 141, 149].

Патогенез *C. difficile* асоційованої діареї в основному починається з порушення балансу кишкової мікробіоти [27]. Спори клостридій ендогенного або екзогенного походження активізуються і виростають в вегетативні форми. Далі патогени проникають в слизовий шар і прикріплюються до ентероцитів, в результаті чого відбувається колонізація травного тракту. Наступний етап патогенезу полягає в продукції токсинів А і В. Ці токсини здатні модифікувати актин цитоскелету епітеліальних клітин, що призводить до дезорганізації останнього та пригнічення і порушення клітинного поділу. В результаті цього епітеліальні клітини кишечника руйнуються та індукується запальний процес [75, 108, 141].

Деякі токсигенні штами (близько 23% ізолятів *C. difficile*) мають бінарний токсин СДТ, який також призводить до дезорганізації цитоскелету епітеліальних клітин. Цей токсин вважають додатковим фактором вірулентності, так як він підсилює дію токсинів А і В, викликаючи більш тяжкий перебіг захворювання [79, 80].

Внаслідок зниження колонізаційної здатності нормальної мікрофлори шлунково-кишкового тракту відбувається істотне зниження її чисельності. В результаті розвивається дефіцит метаболізму і утилізації продуктів, що надходять в просвіт кишечника, що призводить до посилення росту патогенної і умовно патогенної мікрофлори, резистентної до антибіотика, що приймали або іншої причини, що викликала дисбіоз [17]. Слід зазначити, що вищезгадані зміни є сприятливим навколишнім середовищем для розвитку клостридіальної інфекції [125, 128, 134].

Порушення якісного і кількісного складу мікрофлори кишечника супроводжуються зниженням захисних функцій слизової оболонки кишечника і сприяють зростанню патогенних і умовно патогенних

мікроорганізмів. Серед етіологічних чинників інфекційного захворювання провідне місце займає *C. difficile*. Це пов'язано з появою нових високовірулентних штамів *C. difficile* (типи 027, 078, 106) з високою резистентністю до фторхінолонів і цефалоспоринів 2-3 покоління, з якими пов'язують збільшення частоти і тяжкості перебігу *C. difficile* – асоційованої діареї [151, 153]. Захворювання розвивається тільки при зниженні колонізаційної резистентності нормофлори кишечника, що сприяє адгезії збудника до клітин слизової оболонки кишечника [110]. Токсин А зв'язується зі специфічними рецепторами на апікальній поверхні епітеліальних клітин, викликає зміни цитоскелету і пошкодження щільних з'єднань між клітинами. Це сприяє проникненню всередину клітини токсину В, його приєднання до базальної мембрани, підвищення проникності судин, викиду нейропептидів (нейротензину, субстанції Р) і прозапальних цитокінів (лейкотрієнів, простагландину Е2, ІЛ-1, ІЛ6, TNFα), апоптозу епітеліальних клітин, утворення псевдомембран, гіперсекреції води і електролітів [151, 153].

1.3 Зміни складу мікробіому кишечника під впливом антибіотиків.

Більшість випадків ААД викликано зниженням колонізаційної резистентності кишкової мікробіоти. В такому випадку, факультативні ентеропатогени можуть набувати перевагу в зростанні внаслідок порушення прямих і непрямих захисних механізмів. До прямих відносять зниження продукції антимікробних речовин, конкуренція за нутрієнти, метаболізм жирних кислот. До непрямих – зниження продукції коротколанцюгових жирних кислот і поліамінів, порушення метаболізму амінокислот. В результаті зміни, що виникли можуть призвести до пошкодження слизової оболонки кишечника, осмотичної або секреторної діареї [135]. Відомо, що в 10-20% всіх випадків ААД була виявлена токсигенна *C. difficile*. Однак, існують докази, що інші патогени такі як

C. perfringens, *S. aureus*, *K. oxytoca*, *Candida spp.*, *K. pneumoniae* також можуть індукувати руйнування слизової кишкової і призводити до діареї після прийому антибіотиків [56, 118, 152, 153]. Як і у випадку з *C. difficile*, перераховані вище патогени можуть бути виявлені і у здорових людей. Роль цих мікроорганізмів у розвитку ААД не однозначна, вони можуть проявляти себе лише як збільшення кількості колоній. В цьому відношенні етіологічне значення кожного окремого підозрюваного патогену в розвитку кишкового захворювання має бути доведено клінічно і експериментально. У порівнянні з *C. difficile* частим чинником ААД визнана й *C. perfringens*. Аналізуючи дані медичної статистики доведено, що на 1 пацієнта з ААД, чинником якого є *C. perfringens* приходиться до 10 випадків ААД, пов'язаних з *C. difficile* як етіологічним чинником.

Крім зазначених мікроорганізмів як можлива причина ААД розглядаються метицилін стійкий *S. aureus* (MRSA) й *Candida spp.* Для підтвердження етіогенезу ААД були проведені дослідження з частоти виявлення й кількості *Candida spp.* у пацієнтів з ААД і у хворих без діареї, що отримували антибіотики. Результат показав, що застосування антибактеріальних засобів і сама по собі діарея призводять до збільшення числа *Candida spp.* в зразках фекалій. Визначено, що антибіотикотерапія призводить до порушення якісного і кількісного складу / співвідношення облігатної та факультативної мікробіоти, порушення локального метаболізму коротколанцюгових жирних кислот [118]. Як можливий етіопатоген антибіотик-асоційованого геморагічного коліту розглядають цитотоксин продукуючу *K. oxytoca*. В одному з досліджень підтверджено, що в половині випадків діагностованого антибіотик асоційованого геморагічного коліту підтверджено наявність *K. oxytoca* як окремого патогену. У деяких випадках лабораторно підтверджена наявність *K. oxytoca* з токсинами *C. difficile* А + В [56].

1.4 Роль *Lactobacillus* вмісних пробіотиків в терапії антибіотик-асоційованої діареї.

У разі профілактики та лікування ААД раціонально використання препаратів, які містять штами з доказовою базою. LGG є штамом серед лактобацил з достовірно значущим ефектом [52, 88, 98, 126, 162, 163]. LGG – грампозитивна факультативно анаеробна паличка, виділена з просвіту кишечника людини вченими Gorbach and Golden у 80 рр. З того часу були проведені чисельні дослідження і клінічні випробування даного пробіотичного штаму, що довели його ефективність. LGG покращує бар'єрну функцію слизової кишечника [72, 100, 121], продукує молочну кислоту, яка відіграє важливу роль в процесі глюконеогенезу, нормалізує процеси травлення, нейтралізує бродіння і гниття, пригнічує ентеропатогени. LGG також здатні запобігти виникненню цитокін-індукованого пошкодження епітелію [100, 147]. *Lactobacillus rhamnosus* має помірну інгібуючу активність по відношенню до ентеропатогенної *E. coli*. Ця активність може бути обумовлена продукцією органічних кислот, перекису водню [78, 89]. На підставі результатів досліджень було виявлено кілька основних механізмів, за допомогою яких *Lactobacilli* можуть зменшувати зростання патогенів. Вони створюють несприятливий, ворожий мікроклімат, фізично блокуючи доступні бактеріальні рецептори, продукують і виділяють антимікробні субстанції і селективні метаболіти, створюють конкуренцію за есенціальні нутрієнти [100]. Кишкові *Lactobacilli* синтезують жирні кислоти, наприклад, кон'юговану лінолеву кислоту, яка має антиканцерогенну дію [133]. Також *Lactobacilli* можуть виробляти протигрибкові речовини, такі як бензойна кислота, метилгідантоїн, мевалонолактон [100]. LGG беруть участь в процесі під назвою "почуття кворуму". Вони здатні виробляти аутоіндуктор-2, який, передбачувано, є важливою міжвидовою молекулою і може контролювати експресію генів вірулентності багатьох мікроорганізмів [100]. Різні дози

LGG надають комплексний, складний вплив на кишкову мікробіоту і імунну відповідь організму людини [52, 102, 116]. До сих пір проводяться дослідження механізмів дозозалежності, так як результати досліджень неоднозначні [52, 66, 116].

Мета-аналіз 2015 року свідчить про те, що LGG є достовірно ефективним штамом для профілактики антибіотик-асоційованої діареї у дітей і дорослих, які отримували лікування антибіотиками з якої-небудь причини [27, 56, 77, 108].

LGG зменшує тривалість діареї у пацієнтів, які отримують високі дози LGG ($\geq 10^{10}$ КУО/день) [165].

Зниження випадків виникнення хвороби ААД і діареї, викликаной *C. difficile*, спостерігали у пацієнтів, які на фоні антибіотикотерапії профілактично отримували пробіотики на основі *Lactobacillus* [23, 93, 98, 102, 104, 105, 147, 153, 156, 159, 163].

1.5 Фітотерапія в сучасній медицині.

Фітотерапія має тисячолітню історію розвитку. З давніх часів вчені різних [7, 41, 42, 87] країн проявляли інтерес до цілющих властивостей рослин. На Україні досвід фітотерапії висвітлений роботами З. Болтаревича, М.А. Носалея та І.М. Носалея, О. Попова, Г. Смика, В. Комендаря, В. Копухи, Е. Товстухи та ін.

Фітотерапія є актуальним аспектом сучасної медицини, так як в порівнянні з класичною фармакотерапією має ряд переваг таких як відносна дешевизна сировини, широкий спектр фармакологічних ефектів, мінімальні побічні ефекти або їх відсутність, незначна токсичність і біологічна безпечність для організму більшості рослинних засобів, а також специфічні особливості їх активності: значна широта терапевтичного спектру, поступовість нарощування клініко-фармакологічного ефекту, комплексність впливу на різні механізми патологічного процесу, відносно

нечасті прояви алергічних та інших негативних реакцій навіть в умовах їх тривалого застосування [24, 40, 41, 46, 47, 48, 86].

Ці особливості визначають роль фітотерапії та її засобів у тривалому амбулаторному лікуванні пацієнтів із хронічними захворюваннями, на етапі післястаціонарного відновлювального лікування, а також у санаторно-курортних умовах.

Речовини, які містяться в лікарських рослинах, набагато рідше, ніж синтетичні, викликають алергічні реакції. Оскільки їх синтез відбувається в умовах природного навколишнього середовища, то за своєю природою вони ближче до людського організму.

Лікарські рослини містять в собі безліч різних біологічно активних речовин і мікроелементів, які надають лікувальну дію і можуть бути використані як компоненти для синтезу нових препаратів [36, 145, 150, 152, 160].

Однак, поряд з цим, рослини містять баластні речовини і відрізняються щодо компонентного складу в залежності від місця і клімату, де вони росли. Також деякі рослини мають токсичну дію.

Основним завданням сучасної фітофармакології і фітотерапії є більш глибоке вивчення патогенетичних механізмів дії біологічно активних речовин лікарських рослин і можливість їх комбінування як між собою, так і з синтетичними препаратами [40, 41, 46].

1.6 Перспективи пошуку нових похідних з *S. officinalis*.

S. officinalis володіє широким спектром біологічно активних речовин таких як органічні кислоти (олеанолова, урсолова, хлорогенова та ін.), мікроелементи, вітаміни P і PP, гіркоти, фітонциди, флавоноїди, алкалоїди, дубильні і смолисті речовини, а також значною кількістю ефірного масла, що містить пінен, цинеол, туйон, борнеол, сальвен і інші терпенові сполуки [1, 2, 3, 26, 85, 86].

Сучасні дослідження підтверджують багатогранність фармакологічної дії *S. officinalis* [1, 6]. *S. officinalis* ефективна при лікуванні таких захворювань як депресія, деменція, ожиріння, аутизм, захворювання серця, рак. Також впливає на ендокринну систему, зменшує припливи під час менопаузи, знижує інтенсивність потовиділення [2, 7]. Чай *S. officinalis* традиційно використовується для лікування бронхіту, астми, стенокардії, запалення тканин рота, депресій або при різних шкірних захворюваннях. Ефірна олія шавлії використовується зовнішньо при запаленнях і інфекціях м'яких тканин (стоматит, гінгівіт і фарингіт) і внутрішньо при надмірній пітливості і диспепсичних симптомах. Листя шавлії і ефірне масло володіють вітрогінними, спазмолітичними, антисептичними і в'язучими властивостями. Настій з *S. officinalis* використовується для його кровоспинного, естрогенного, антиперспірантного, антиноцицептивного, антисептичного, гіпоглікемічного ефектів [3, 86].

Багато дітерпенів, виділених з деяких видів рослин, що належать до роду *Salvia*, показали цікаві фармакологічні властивості: антиоксидантні, антимікробні, протизапальні, анальгетичні, жарознижувальні, гемостатичні, гіпоглікемічні та протипухлинні [2, 86].

У сучасній літературі описується ефективність застосування *S. officinalis* для лікування судом, виразок, подагри, ревматизму, запалення, запаморочення, тремору, паралічу, диспепсичного синдрому, гастритів, колітів, діареї та гіперглікемії. Серед флавоноїдів *S. officinalis* розмаринова кислота широко вивчена на предмет її протиракової дії. Протипухлинні ефекти цього флавоноїду, пов'язані, принаймні частково, з пригніченням шляху мітоген-активованої протеїнкінази/позаклітинної сигнальної кінази, придушенням активних форм кисню і ядерного фактора транскрипції-каппа В, і зниження експресії прозапального гена циклооксигенази-2, він також пригнічує ангіогенез в ендотеліальних клітинах. Антимутагенний ефект *S. officinalis*, в основному, пов'язаний з його монотерпеновими сполуками,

такими як туйон, камфора, лімонен і 1,8-цинеол. Флавоноїди і терпени є сполуками, які сприяють протизапальну і антиноцицептивну дію *S. officinalis*. Карнозол і урсолова кислота відносяться до терпенів / терпеноїдів з протизапальним потенціалом. Протизапальна дія урсолової кислоти в два рази сильніше, ніж індометацина [3].

Антимікробні ефекти *S. officinalis* приписуються сполукам терпенів і терпеноїдів, виявленим в цій рослині. Було показано, що камфора, туйон і 1,8-цинеол мають антибактеріальну дію. Олеанолова кислота і урсолова кислота, два тритерпеноїди *S. officinalis*, які чинять інгібуючу дію на ріст бактерій із множинною лікарською стійкістю, таких як стійкі до ванкомицину ентерококи, стійка до пеніциліну стрептококова пневмонія і стійкі до метициліну *S. aureus*. Вплив урсолової кислоти на *Enterococcus faecium* і бактерії з множинною лікарською стійкістю сильніше, ніж у ампіциліну [3].

Дітерпени карнозол і карнозна кислота – потенційні біологічно активні речовини, що інгібують активність mPGES-1. Карнозна кислота, але не карнозол, блокувала утворення PGE2 при стимуляції ліпополісахаридом [5].

Відомо, що *E. coli*, *K. pneumoniae* і *K. oxytoca* є збудниками хвороб, які можуть бути більш-менш серйозними і передаватися перорально. Більш того, всі ці збудники стають все більш стійкими до синтетичних антибіотиків, що призводить до неефективного лікування деяких пацієнтів. З цієї причини зріс інтерес до виявлення природних антибактеріальних агентів в *S. officinalis*. Основною перевагою використання природних агентів є те, що вони не викликають резистентність до антибіотиків, як це відбувається при тривалому застосуванні синтетичних антибіотиків [86].

Висновки до розділу I:

Аналіз літературних джерел показав, що ААД та дисбіотичні порушення, що виникають на її фоні є актуальною проблемою в галузі охорони здоров'я. Ускладнення, що виникають при інфікуванні *C. difficile* погіршують прогнози пацієнтів з ААД. Це може приводити до інвалідизації та зростанню смертності населення працездатного віку, значно знижувати якість життя.

Зважаючи на популярність призначення антибіотиків та розвитку небажаних наслідків їх застосування доцільним напрямком сучасної науки є профілактика та лікування пробіотиками, що мають доказову базу. Велика кількість наукових даних щодо застосування *S. boulardii*, *Lactobacillus* вмістних пробіотиків свідчить про актуальність цієї теми у науковій спільноті.

S. officinalis містить велику кількість біологічно активних сполук, які мають антимікробні, протизапальні, антиканцерогенні, антимуtagenні, ранозагоюючі, кровоспинні, гіполіпідемічні, гіпоглікемічні, нейропротективні, імуномодулюючі та інші фармакологічні ефекти.

Сполуки, виділені з *S. officinalis* у перспективі є сучасною безпечною альтернативою антибіотикам, засобам що застосовуються для профілактики та лікування терапевтичних, гастроентерологічних, гінекологічних, онкологічних захворювань.

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Досліджувані субстанції.

Для дослідження були предоставлені екстракти шавлії лікарської які були одержані на кафедрі фармакогнозії НФаУ під керівництвом проф., д. фарм. наук О.М. Кошового. Способи одержання та характеристика хімічної структури досліджуваних екстрактів наведено в таблиці 2.1.1.

Таблиця 2.1.1

	Назва субстанції	Характеристика
1	Сухий екстракт на основі відвару листя шавлії лікарської (екстракт 1)	<p>Для отримання екстракту 500,0 г сухої сировини (листя шавлії лікарської), подрібненої до розміру часток 2-3 мм, заливали 5000,0 мл води очищеної, враховуючи коефіцієнт поглинання, нагрівали за температури 80 – 90 °С протягом 1 години та потім настоювали протягом доби та упарювали у вакуум-циркуляційному апараті до сухого екстракту, який у подальшому і досліджували (екстракт 1).</p> <p>Екстракт 1 – аморфний гігроскопічний порошок від світло-коричневого до коричневого кольору, зі специфічним запахом який містить в своєму складі цукри (глюкоза, галактоза, рамноза, рибоза, арабіноза), низьколанцюгові полісахариди, амінокислоти, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди та дубильні речовини. В сухому екстракті вміст флавоноїдів становить 4,76 %, вміст гідроксикоричних кислот – 11,48 %, вміст суми фенольних сполук становить – 18,48 %. Серед гідроксикоричних кислот: кавової кислоти – 323,15 мг/100 г, розмаринової кислоти – 323,72 мг/100 г; серед флавоноїдів: лютеоліну – 163,7 мг/100 г, апігеніну – 136,84 мг/100 г, апігенін-7-О-глікозиду – 478,23 мг/100 г, лютеолін-7-О-глюкозиду – 1042,75 мг/100 г, кверцетин-3-О-арабінозиду – 422,54 мг/100 г, 3-метоксилютеоліну – 80,03 мг/100 г. Екстракт добре розчинний у воді.</p>

2	<p>Сухий екстракт з листя шавлії, який був одержаний екстракцією 50 % етанолом (екстракт 2)</p>	<p>Для отримання екстракту 500,0 г сухої сировини (листя шавлії лікарської), подрібненої до розміру часток 2-3 мм, заливали 2500 мл 50 % розчину етанолу, враховуючи коефіцієнт поглинання, настоювали при кімнатній температурі протягом доби. Екстракцію сировини проводили 2 рази новими порціями розчинника по 1500 мл та об'єднували. У подальшому об'єднані витяги упарювали у вакуум-циркуляційному апараті до сухого екстракту, який у подальшому і досліджували (екстракт 2).</p> <p>Екстракт 2 – аморфний гігроскопічний порошок від світло-коричневого до коричневого кольору, зі специфічним запахом, який містить у своєму складі моноцукри, амінокислоти, фенолкарбонів та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, терпеноїди та хлорофіли. Вміст гідроксикоричних кислот – 7,15 %, флавоноїдів – 3,71 %, фенольних сполук – 19,45 %, хлорофілів а та б – 0,27 %. Серед гідроксикоричних кислот: кавової кислоти – 56,7 мг/100г, розмаринової кислоти – 595,84 мг/100 г; Серед флавоноїдів: лютеоліну – 292,02 мг/100 г, апігеніну – 403,59 мг/100 г, апігенін-7-О-глікозиду – 642,52 мг/100 г, лютеолін-7-О-глюкозиду – 955,33 мг/100 г, 3-метоксилютеоліну – 95,57 мг/100 г, кверцетин-3-О-арабінозиду – 543,16 мг/100 г. Екстракт добре розчинний в 50 % розчині етанолу.</p>
---	--	---

3	<p>Сухий екстракт з листя шавлії, який був одержаний 96 % етанолом (екстракт 3)</p>	<p>Для отримання екстракту 500,0 г сухої сировини (листя шавлії лікарської), подрібненої до розміру часток 2-3 мм, заливали 2500 мл 96 % розчину етанолу, враховуючи коефіцієнт поглинання, настоювали при кімнатній температурі протягом доби. Екстракцію сировини проводили 2 рази новими порціями розчинника по 1500 мл та об'єднували. У подальшому об'єднані витяги упарювали у вакуум-циркуляційному апараті до сухого екстракту, який у подальшому і досліджували (екстракт 3).</p> <p>Екстракт 3 – аморфний порошок світло-зеленого кольору зі специфічним запахом. Містить в своєму складі хлорофіли а та b (1,23 %), ефірна олія – 5,76 % (Вміст у ефірній олії: 1,8-цинеол – 8,84 %, α-туйон – 20,05 %, β-туйон – 10,1 %, камфора – 17,05 %, борнеол – 4,85 %). Також містить моноцукри, амінокислоти, фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти (5,23 %), флавоноїди. Серед флавоноїдів (3,52 мг/100 г): лютеоліну – 187,5 мг/100 г, апігеніну – 176,3 мг/100 г, лютеолін-7-О-глюкозиду – 326,6 мг/100 г, 3-метоксилютеоліну – 145,8 мг/100 г, кверцетин-3-О-арабінозиду – 312,6 мг/100 г. Екстракт добре розчинний у 96 % спирті етиловому, погано розчинний у воді.</p>
---	--	--

4	Комплекс фенольних сполук з L-лізином (Лізиновий комплекс)	<p>До екстракту 2 розчиненому у 50 % розчині етанолу додавали L-лізин у трьохкратній еквімолярній кількості по відношенню до суми фенольних сполук та настоювали протягом доби. У подальшому розчин упарювали у вакуум-циркуляційному апараті до сухого екстракту, який у подальшому і досліджували. При цьому утворювались кон'югати амінокислоти з фенольними сполуками, що підтверджують зміни на загальних УФ-спектрах екстрактів та у ТШХ профілі.</p> <p>Отриманий екстракт – аморфний гігроскопічний порошок від світло-коричневого до коричневого кольору, зі специфічним запахом. Отримана субстанція містить комплекс фенольних сполук (1,5 % гідроксикоричних кислот; 1,4 % флавоноїдних сполук; 8,61 % поліфенольних сполук;) з амінокислотою L-лізин; вміст лізину становить – 22,29 %. Серед гідроксикоричних кислот: кавової кислоти – 44,04 мг/100 г, розмаринової кислоти – 462,85 мг/100 г; серед флавоноїдів: лютеоліну – 226,84 мг/100 г, апігеніну – 313,51 мг/100 г, апігенін-7-О-глікозиду – 499,11 мг/100 г, лютеолін-7-О-глюкозиду – 742,11 мг/100 г, 3-метоксилютеоліну – 74,24 мг/100 г, кверцетин-3-О-арабінозиду – 421,92 мг/100 г.</p>
---	---	--

5	Комплекс фенольних сполук з аргініном (Аргініновий комплекс)	<p>До екстракту 2 розчиненому у 50 % розчині етанолу додавали аргініну у трьохкратній еквімолярній кількості по відношенню до суми фенольних сполук та настоювали протягом доби. У подальшому розчин упарювали у вакуум-циркуляційному апараті до сухого екстракту, який у подальшому і досліджували. При цьому утворювались кон'югати амінокислоти з фенольними сполуками, що підтверджують зміни на загальних УФ-спектрах екстрактів та у ТШХ профілі.</p> <p>Отриманий екстракт – аморфний порошок порошок від світло-коричневого до коричневого кольору, зі специфічним запахом. Отримана субстанція містить комплекс фенольних сполук (1,4 % гідроксикоричних кислот; 1,3 % флавоноїдних сполук; 8,27 % поліфенольних сполук) у комплексі з амінокислотою аргінін; вміст аргініну становить – 25,52%. Серед гідроксикоричних кислот: кавової кислоти – 42,23 мг/100 г, розмаринової кислоти – 443,72 мг/100 г; серед флавоноїдів: лютеоліну – 217,47 мг/100 г, апігеніну – 300,55 мг/100 г, апігенін-7-О-глікозиду – 478,48 мг/100 г, лютеолін-7-О-глюкозиду – 711,43 мг/100 г, 3-метоксилютеоліну – 71,17 мг/100 г, кверцетин-3-О-арабінозиду – 404,49 мг/100 г.</p>
---	---	--

6	Полісахаридний комплекс	<p>Екстракт 1 розчиняли у рівній кількості води та додавали до чотирьохкратної кількості 96 % етанолу, осад відділяли центрифугуванням та сушили (вміст вологи до 5 %).</p> <p>Отриманий екстракт – аморфний гігроскопічний порошок світло-коричневого кольору, яка містить у своєму складі комплекс низьколанцюгових полісахаридів листя шавлії лікарської (компоненти: глюкоза, галактоза, рамноза, рибоза, арабіноза), розчинних у 20 % етанолі та воді.</p>
7	Екстракт 2, який був очищений від амінокислот	<p>5 % розчин екстракту 2 пропустили через катіоніт КУ-2 для очищення від амінокислот. Елюат управи доя сухого екстракту (екстракт 7).</p> <p>Отриманий екстракт – аморфний гігроскопічний порошок від світло-коричневого до темно-коричневого кольору, який містить у своєму складі комплекс фенольних сполук (гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, дубильні речовини) розчинних у 50% спирті, які додатково очищені від катіонів металів та амінокислот. Вміст гідроксикоричних кислот – 7,15%, флавоноїдів – 3,71 %, фенольних сполук – 19,45 %, хлорофілів а та b – 0,27 %. Серед гідроксикоричних кислот: кавової кислоти – 56,7 мг/100 г, розмаринової кислоти – 595,84 мг/100 г; серед флавоноїдів: лютеоліну – 292,02 мг/100 г, апігеніну – 403,59 мг/100 г, апігенін-7-О-глікозиду – 642,52 мг/100 г, лютеолін-7-О-глюкозиду – 955,33 мг/100 г, 3-метоксилютеоліну – 95,57 мг/100 г, кверцетин-3-О-арабінозиду – 543,16 мг/100 г. Екстракт добре розчинний в 50 % розчині етанолу.</p>

8	Сапонін- овий комплекс	<p>10 г екстракту 2 розчинили у 100 мл води очищеної та додали хлористоводневу кислоту до рН 2-3. Осад, який утворився, відділили центрифугуванням та висушили до вмісту вологи не більше 5 % (екстракт 8).</p> <p>Отриманий екстракт – аморфний гігроскопічний порошок світло-коричневого кольору, яка містить у своєму складі комплекс сапонінів тритерпенової природи. Серед сапонінів домінують похідні олеанолової та урсолової кислот.</p>
9	Фенольний комплекс	<p>Надосадову рідину, яка залишилася після одержання сапонінового комплексу, прогідролізували та провели фракціонування з бутанолом. Бутанольну фракцію висушили до сухого екстракту (екстракт 9).</p> <p>Отриманий екстракт – аморфний гігроскопічний порошок світло-коричневого кольору, яка містить у своєму складі комплекс агліконів фенольних сполук листя шавлії лікарської (лютеолін, апігенін, кверцетин).</p>
10	Флавоноїд- ний комплекс	<p>Водний розчин екстракту 2 пропустили через катіоніт КУ-2, добре промили водою очищеною, після чого 50 % розчином етанолу провели елювання екстракту. Елюат упарили до сухого екстракту (екстракт 10).</p> <p>Отриманий екстракт – аморфний гігроскопічний порошок світло-коричневого кольору, яка містить у своєму складі комплекс глікозидів фенольних сполук (флавоноїди, гідроксикоричні кислоти).</p>

11	Комплекс гідрокси-коричних кислот	<p>Водний розчин екстракту 2 пропустили через катіоніт КУ-2, провели елюювання водою очищеною. Елюат упарили до сухого екстракту (екстракт 11).</p> <p>Отриманий екстракт – аморфний гігроскопічний порошок світло-коричневого кольору, яка містить у своєму складі комплекс гідрофільних фенольних сполук, у більшості представлений гідроксикоричними кислотами.</p>
----	--	--

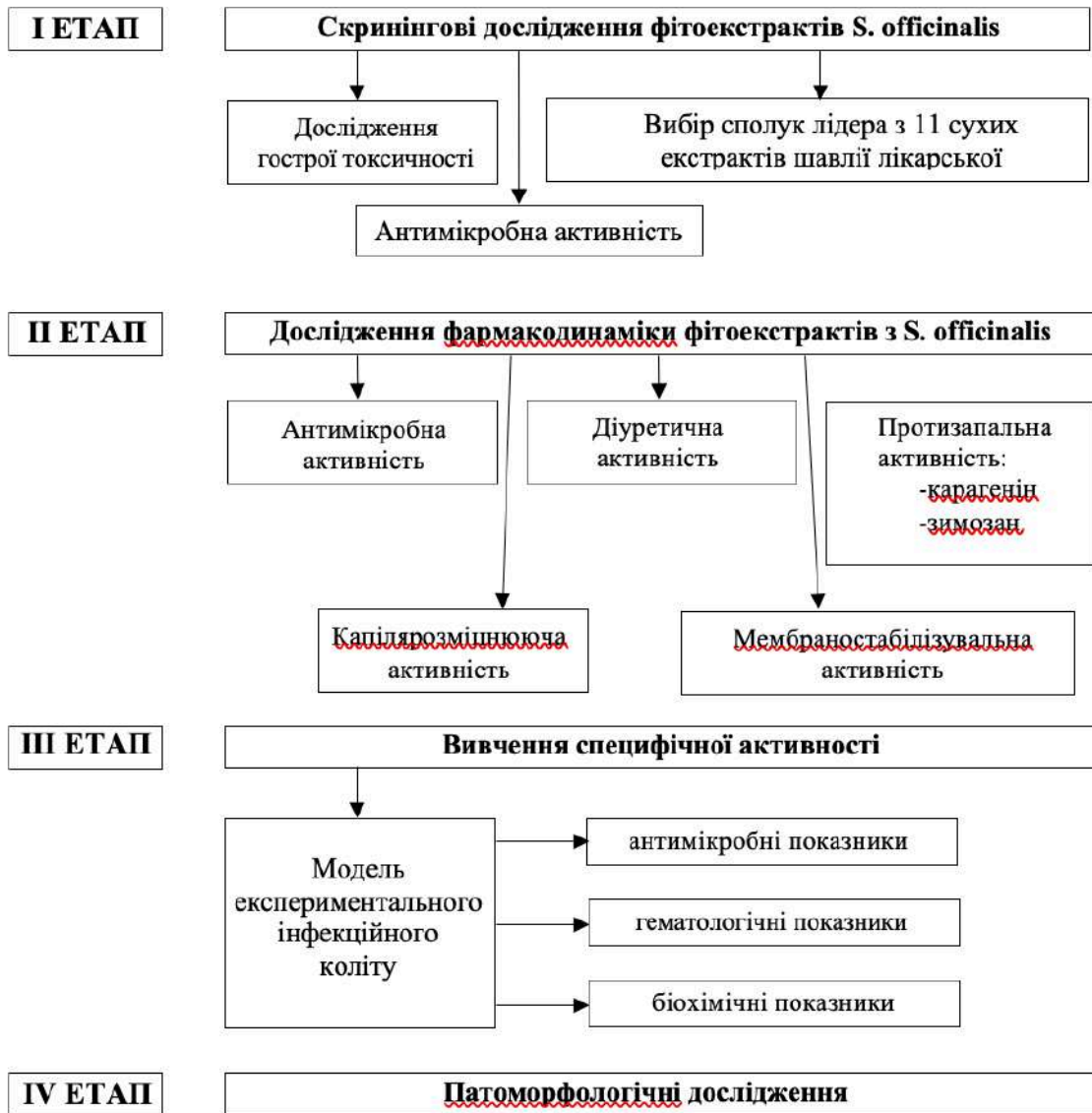
2.2 Методи дослідження та експериментальні моделі.

При вирішенні поставлених у роботі завдань було використано загальноприйняті методи дослідження: фізичні, мікробіологічні (мікроскопія, ідентифікація бактерій за культурально-морфологічними ознаками, визначення антагоністичної активності); клінічні, математичні (статистична обробка результатів дослідження).

Утримання і догляд за тваринами, індукцію дисбактеріозу, зараження, лікування та виведення щурів з експерименту проводили відповідно до положень Ухвали Першого національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (2001 р.), Конвенції ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р., норм закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [82].

Екпериментальні досліджені представлені у схемі досліджень.

Схема досліджень



При приготуванні мікробних суспензій з необхідною кількістю мікроорганізмів використовували електронний прилад Densi-La-Meter (виробництва PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм) згідно з інструкцією до приладу та інформаційним листом про нововведення в системі охорони здоров'я №163-2006 “Стандартизація приготування мікробних суспензій”, м. Київ.

Мікробіологічні дослідження проводились на базі лабораторії біохімії та біотехнології ДУ “Інститута мікробіології і імунології імені І. І.

Мечникова АМН України” під керівництвом кандидата біологічних наук Т.П. Осолодченко відповідно до рекомендацій МОЗ. При аналізі використовували музейні штами з колекції інституту.

Приготування мікропрепаратів проводили за класичною методикою [33]. Для вивчення **гострої токсичності** відповідно до методичних рекомендацій із доклінічного вивчення лікарських засобів дослідження середньосмертельної дози токсичності нових лікарських засобів або субстанцій відібрані після карантину і попередньо індивідуально помічені лабораторні білі миші розподілялись на групи за методом випадкового вибору [39]. Перед оральним введенням досліджуваної фітосубстанції тварини голодували 3 години. За допомогою спеціального зігнутого металевго зонда екстракти вводили внутрішньошлунково. Після перорального введення екстрактів допуск до їжі надавався через 3 години. За тваринами спостерігали щодня 14 діб, фіксуючи дату загибелі. Оскільки листя шавлії лікарської широко застосовується в медицині та є нетоксичною сировиною, вивчили гостру токсичність у дозах III, IV, V класів токсичності. Через низьку токсичність фармакологічної речовини не можна визначити ЛД₅₀, максимальна доза, яка була введена тваринам 6000 мг/кг маси тіла (М.Л. Біленький).

Антимікробну активність похідних екстрактів шавлії лікарської визначали в експерименті *in vitro* за стандартною методикою дифузії в агар — методом «колодязів», який ґрунтується на здатності активної речовини дифундувати в агар із засіяною тест-культурою. Результати, отримані за допомогою цього методу, дозволяють характеризувати антимікробну активність досліджуваного зразка, тому що зони затримки росту мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії біологічно активних речовин у щільне живильне середовище. Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препарату використовували тест-штами: *Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922,

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653. При аналізі використовували музейні штами [33]. Для дослідження використовували 10% розчини екстрактів, розчинниками служили вода очищена, 50% та 96 % етанол. Після розведення екстрактів етанолом, їх випарювали в термостаті при температурі 60°C протягом 60 хвилин. Метод дифузії препарату в агар проводили з використанням методики «колодязів». Для дослідження використовували чисті культури мікроорганізмів.

Оцінку антимікробної активності проводили за наступними критеріями [33]:

– відсутність зони затримки росту мікроорганізмів навколо «колодязя», а також зони затримки діаметром до 6-10 мм оцінювали як нечутливість мікроорганізмів до внесеного в «колодязь» зразка;

– зони затримки росту діаметром 11-20 мм оцінювали як чутливість культури до досліджуваного зразка;

– зони затримки росту діаметром понад 20 мм оцінювали як показник високої чутливості мікроорганізмів до зразка [33].

Створювали максимально сприятливі умови для культивування мікроорганізмів, а саме: м'ясо-пептонний агар для отримання добової культури бактерій, середовище Сабуро — для 48-годинної культури гриба роду *Candida*. Чашки Петрі однакового розміру встановлювали на горизонтальну поверхню (відрегульовану за ватерпасом) та заливали до них по 10 мл стерильного, не зараженого тест-культурою «голодного» агару. Після застигання першого шару щільного живильного середовища на його поверхню встановлювали циліндри, виготовлені з нержавіючої сталі (висота 10 мм, зовнішній діаметр 8 мм) та заливали їх «зараженим» середовищем, а з метою визначення чутливості гриба роду *Candida* — середовищем Сабуро в кількості 15 мл. Для другого шару стерильне щільне живильне середовище, розлите в пробірки в кількості 15 мл, розплавляли на

водняній бані, охолоджували до температури 45°C та інокулювали суспензіями тест-культур. Мікробне навантаження складало $1 \cdot 10^5$ КУО/мл [33].

Після застигання другого шару циліндри виймали, та в «колодязі», які утворилися між першим та другим шарами щільних живильних середовищ, вносили стерильною градуйованою піпеткою досліджуваний зразок. Використовували 10 % водні розчини екстрактів шавлії лікарської приготовані *ex tempore* в кількості 0,3 мл. У якості розчинників також використовували 50% спирт етиловий, 96% спирт етиловий (10% розчини). В якості контролю окремо дослідили активність води (плацебо), 50% спирта етилового, 96% спирта етилового (активності не виявлено), ліктрави – листя *S. officinalis* як референт (розчин готували за інструкцією). Експериментальні чашки Петрі інкубували в термостаті при +37°C протягом 24 год. для культивування бактерій при +25°C протягом 48 год. — гриба роду *Candida*. Діаметр зон затримки росту тест-культур вимірювали в мм, включаючи діаметр «колодязя».

Дані не підпорядковувалися нормальному закону розподілу. Були використані непараметричні методи (розраховувалася медіана, верхній і нижній квантиль). Для порівняння активності екстрактів шавлії лікарської використовували критерій Краскела - Уолліса. При виявленні відмінностей між двома групами використовували U-критерій Манна – Уїтні [25].

Дослідження **капілярозміцнюючої активності** екстрактів проводили за методом Голікова П.П. Лабораторних щурів розподілили за групами по 6 голів на 3 групи: 1 - контрольна група; 2 - екстракт №2; 3 - екстракт №3. Екстракти вводили інтрагастрально у профілактичному режимі у дозі 50 мг/кг 7 діб. Тварин розміщували на поверхні та вистрігали шорстку на животі розміром 3 на 4 см. У стегнову вену туберкуліновим шприцем вводили 1% розчин трипанового синього розчиненого у фізіологічному

розчині із розрахунку 2 мл/кг. Флогогенні засоби (3% розчин формаліна, карагенін, гістамін, нерозведений яєчний білок) вводили через 10 хв. після введення трипанового синього. Результати оцінювали по часу профарбування папул в секундах.

Вивчення впливу досліджуваних екстрактів на **видільну функцію нирок** проводили на білих нелінійних щурах масою 130-160 г, отриманих з віварію Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ, за методом Берхіна Є.Б. (1977).

До початку проведення експериментальних досліджень щурів витримували протягом 2 годин без їжі і води. Досліджувані екстракти № 1, 2, 3 вводили перорально у дозах 10, 20, 50, 70 мг/кг (по 6 щурів для кожної дози). Екстракти № 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 вводили аналогічним чином у дозах 10, 20, 50, 70 мг/кг (по 6 щурів для кожної дози). Як препарати порівняння використано петльовий діуретик фуросемід (10 мг/кг *per os*), тіазидний діуретик гідрохлортіазид (50 мг/кг, *per os*) та препарат задньої долі гіпофізу адіурекрин (2 ОД, підшкірно). Групи препаратів порівняння та контролю містили по 6 щурів.

Досліджувані екстракти вводили за допомогою зонда в шлунок у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, приготованої *ex tempore*. Через 30 хвилин щурам внутрішньошлунково за допомогою спеціального металевого зонда вводили водопровідну воду з розрахунку 3 мл на 100 г маси тіла тварини. Сечу збирали через 2 години та через 4 години.

Проводили статистичний аналіз отриманих даних з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) та виконанням апостеріорного *post-hoc* аналізу на основі критеріїв НЗР або Шеффе. Статистично значущими вважали результати за $p \leq 0,05$ [25].

Дослідження **мембраностабілізуючої активності** екстрактів *S.officinalis* проводили за методикою F.C. Jager (Л. М. Вороніна, 1996). На протязі 7 днів вводили інтрагастрально екстракти №2 та №4 у дозах 50

мг/кг. Як референт застосовували вітамін Е у дозі 50 мг/кг. Н 4 добу дослідження у лабораторних щурів брали кров та вивчали ступінь гемолізу.

Дослідження **антиексудативної активності** екстрактів *S. officinalis* проводили на білих безпородних щурах обох статей масою 200-250 г. Були використані 2 моделі запалення (карагенінова та зимозанова). Антиексудативну активність екстрактів вивчали на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням в задню лапку щурів 0,1 мл 1% розчину карагеніну (агент, що індукує циклооксигеназний шлях запальної реакції) через 1 годину після інтрагастрального введення водного розчину досліджуваного екстракту. Вимірювання обсягу лапки здійснювали за допомогою онкометра до початку досліду і щогодини протягом 4 годин [39]. Перед введенням екстрактів тварини голодували протягом 3 годин. Екстракти №№1-11 вводили у дозах 50 мг/кг (по 6 щурів у кожній групі). Як препарат порівняння використовували диклофенак натрію ПрАТ Фармацевтична фірма «Дарниця» Україна в дозі 8 мг/кг, який вводили в аналогічному екстрактам режимі. Група інтактного контролю та група препарату порівняння містили по 5 щурів.

Антиексудативну активність розраховували за формулою:

$$A\% = 100\% - \left(\frac{(V_d - V_{дп}) * 100}{(V_k - V_{кп})} \right)$$

(2.2.1)

A% антиексудативна активність,

V_д – об'єм дослідної лапки,

V_{дп} – початковий об'єм дослідної лапки,

V_к – об'єм лапки контрольної групи,

V_{кп} – початковий об'єм лапки контрольної групи.

У патогенезі зимозановго набряку провідна роль належить лейкотрієнам, що активують каскад запальних процесів (О.В. Стефанов). Як препарат порівняння було обрано кверцетин виробництва Борщагівського

ХФЗ, Україна в дозі 50 мг/кг, механізм дії якого полягає у пригніченні переважно синтезу лейкотриєнів [44].

В обох серіях досліджувальні сполуки вводили щурам за 1 годину та були в одних умовах експерименту.

Отримані результати представлено у вигляді середнього та його стандартного відхилення ($M \pm SD$). Статистичний аналіз міжгрупових відмінностей виконано з використанням t-критерію Стьюдента з поправкою Сйтса на множинні порівняння. Статистично значущими вважали результати при $p \leq 0,05$.

Для дослідження впливу екстрактів шавлії, на кишкову мікробіоту та кишкову стінку при наявності запального процесу в кишечнику і дисбактеріозі було створено та запатентовано корисну модель **“Спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями”** (патент на корисну модель № 140188 від 10.02.2020 р., патент на винахід №122640 від 11.12.2020 р.).

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, C. albicans, C. Perfringens* упродовж 3 днів. Використання циклофосфаміду у заданій дозі дозволяє змоделювати зниження реактивності організму та створити умови схильності до розвитку інфекції. Цей спосіб дозволяє контролювано відтворювати клостридіальний коліт і його ознаки, а саме, зниження захисних сил організму та інфікування умовно патогенною та патогенною мікрофлорою з подальшим розвитком запалення кишечника та дисбіотичних порушень.

Попередньо помічених нелінійних білих щурів обох статей ділили на дві групи по 7 тварин кожна: контрольну та досліджувану. Контрольна група представлена інтактними тваринами. Досліджувані тварини знаходилися у вільному доступі до води та їжі. З метою створення

експериментального дисбіозу тваринам проводили імуносупресію шляхом внутрішньом'язового введення циклофосфаміду у добовій дозі 0,6 мг/кг 7 днів. Екзогенне мікробне навантаження здійснювали введенням у шлунок кожної тварини досліджуваної групи, з використанням спеціальної зігнутої металевої канюлі, 1 мл суспензії яка складалась з *S. aureus* (10^9 клітин/мл), *C. albicans* (10^{10} клітин/мл), *C. perfringens* (10^8 клітин/мл) упродовж 3 днів.

Наступні 5 днів розраховані на експозицію мікроорганізмів *in vivo* або для проведення лікування гіпотетичною досліджуваною субстанцією.

На 15 день усіх щурів виводили з експерименту. Евтаназію тварин здійснювали у стані наркозу ефіром шляхом дислокації шийних хребців. Для вивчення порожнинної мікрофлори збирали випорожнення щурів та висіювали на поживні середовища.

Для мікробіологічного дослідження зразки випорожнень збирали на 11 та 15 добу. Зразки змішували з 0,9 % розчином натрію хлориду та стерильною петлею висівали на тверді поживні середовища.

Чашки Петрі з посівами ставили в термостат. Через 24 години проводили оцінку для *C. albicans*. Для інших збудників (окрім *C. albicans* та *C. perfringens*) оцінку чашок Петрі проводили після 72 години інкубації у термостаті. Оцінювали морфологічні та культуральні властивості колоній. Готували мазки та забарвлювали за методом Грама. У світловому мікроскопі оцінювали морфологічні властивості мікроорганізмів. Результати, отримані за допомогою цього методу, дозволяли охарактеризувати кількісний та якісний склад досліджуваного зразка.

Ідентифікацію *C. perfringens* проводили шляхом використання середовища Вільсон-Блер. Через 48 годин після знаходження зразків у термостаті при наявності колоній темного кольору результат вважали позитивним.

Матеріалом для морфологічного дослідження послужили фрагменти тонкого і товстого кишечника, вирізані відразу ж після виведення тварин з

експерименту. З фрагментів вирізали стандартні шматочки на всю товщину стінки органу, потім матеріал фіксували в 10 % водному розчині нейтрального формаліну та після спиртової проводки піддавали парафіновій проводці. Готували серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м. Оглядові препарати, забарвлені гематоксиліном і еозином, використовували для оцінки стану досліджуваних тканин і морфологічного дослідження.

Гістологічні методики виконували за прописами, викладеним в інструкціях по гістологічній техніці і гістохімії. Гістологічні дослідження виконані в ЦНДЛ ХНМУ (при консультуванні доцента Потапова С.М.).

Дослідження ефекта екстрактів *S. officinalis* на кишкову мікробіоту при дисбіотичних порушеннях на фоні експериментального інфекційного коліту у щурів.

В якості експериментальних тварин брали безпородних клінічно здорових білих щурів масою 200,0-250,0 грам, яких попередньо витримували в карантині. Усіх тварин утримували в однакових умовах (температура, вологість, освітлення, раціон харчування).

Для доказовості створеного експериментально інфекційного коліту напередодні експерименту тварин обстежували на відповідність мікробіоти кишечника нормофлорі щурів. В якості контролю були обрані інтактні тварини, яких не піддавали інфікуванню.

Модельну патологію та приготування суспензій з необхідною кількістю мікроорганізмів відтворювали за алгоритмами описаними вище.

Лікування тварин починали на 11 добу та проводили протягом 5 діб, усі препарати вводили per os. Щурів було розподілено на групи по 6 особин: група №1 отримувала 50% екстракт *S. officinalis* у дозі 50 мг/кг, група №2 – комплекс фенольних сполук *S. officinalis* з L-лізином по 50 мг/кг, група №3 – рифаксимін по 10 мг/кг, група №4 – отримувала плацебо (стерильна вода). Контрольна група №5 - інтактні тварини.

Мікробіологічне дослідження випорожнень проводили на 11 день від зараження тварин (до початку лікування) та на 15 день експеримента (після п'ятиденного лікування) у лабораторії біохімії та біотехнології ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України».

Виділення збудників з випорожнень проводили загальноприйнятими методами бактеріологічного дослідження дисбактеріозів [61]. Ідентифікацію вилучених культур мікроорганізмів здійснювали за морфологічними, тінкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями загальноприйнятими методами відповідно до визначника бактерій Берджи. Отримані результати дозволяють характеризувати кількісний та якісний склад досліджуваних зразків.

Усі результати були зведені в таблиці та проаналізовані математичним методом з використанням непараметричних характеристик за критерієм Мана-Уїтні [25].

Визначення пребіотичної активності.

В експериментах використовували препарати бацил, які склалися з *B. bifidum* та *Lactobacillus rhamnosus*. Препарат "Bifidobacterium dry" попередньо розчиняли в середовищі і активували при температурі 37-38°C протягом 24 годин. Потім цей препарат вводили в живильне середовище, що підготовлене до культивування, в діапазоні 5 доз на 1 літр середовища. Культивування мікроорганізмів проводили в анаеробних умовах на модифікованому середовищі Bluraux.

Препарат "Лацидофіл" попередньо розчинили у середовищі MRS-1 (рН 6,7 ± 0,1) і відновили при 37±0,5°C протягом 24 годин. Потім в кількості 10% культуру вводили у підготовлене середовище KD-5. Для визначення ефективності дії на ріст мікроорганізмів *L. rhamnosus* R0011 ND у живильному середовищі включали зразки досліджуваних екстрактів шавлії. Кількість живих бактерій визначали підрахунком колоній на середовищі MRS-4.

Мікроскопію культур проводили за допомогою світлового мікроскопа Granum. За основними морфологічними характеристиками декларовані культури біфідо- та лактобактерій відповідали встановленим умовам.

Морфологічне дослідження.

В основу цього дослідження покладено **порівняльне морфологічне дослідження змін тонкого і товстого кишечника**. Для здійснення поставленої мети було проведено експеримент на безпородних білих лабораторних щурах, які склали 4 групи. Дослідна група 1 представлена тваринами, які отримували екстракт №2 в дозуванні 50 мг/кг. У дослідну групу 2 увійшли тварини, які одержували екстракт №4 в дозуванні 50 мг/кг. Групу 3 (контроль моделі з мікробним навантаженням) склали 6 тварин. Групу 4 (групу порівняння) склали 6 інтактних тварин.

В якості експериментальних тварин брали безпородних клінічно здорових білих щурів масою 200,0-250,0 грам, яких попередньо витримували в карантині. Усіх тварин утримували в однакових умовах (температура, вологість, освітлення, раціон харчування).

Лікування тварин починали на 11 добу та проводили протягом 5 діб, усі препарати вводили per os.

Експериментальних тварин виводили з експерименту на 15 добу від початку експерименту шляхом дачі загального наркозу відповідно до міжнародних вимог до проведення експериментів на тваринах.

Матеріалом для морфологічного дослідження послужили фрагменти тонкого і товстого кишечника, вирізані відразу ж після виведення тварин з експерименту. З фрагментів вирізали стандартні шматочки на всю товщину стінки органу, потім матеріал фіксували в 10% водному розчині нейтрального формаліну і після спиртової проводки піддавали парафіновій проводці. Готували серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м. Оглядові препарати, забарвлені гематоксиліном і еозином, використовували для оцінки стану досліджуваних тканин і морфометричного дослідження. Перегляд

мікропрепаратів проводили під світловим мікроскопом Granum, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Tour View. Гістологічні методики виконували за прописами, викладеним в інструкціях по гістологічній техніці і гістохімії. Гістологічні дослідження виконані в ЦНДЛ ХНМУ (при консультуванні доцента Потапова С.М.) [16, 32].

Результати оформили у вигляді таблиць та обробили статистично з використанням U-критерія Манна-Уїтні.

Для дослідження гематологічних та біохімічних показників на фоні модельної патології користувалися уніфікованими колориметричними методами з використанням наборів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна.

Процеси перекисного окиснення ліпідів у гомогенаті кишечника визначали за вмістом ТБК-АП (И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили, 1977), стан антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом ВГ (Н.Г. Щербань и соавт., 2004).

РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОГО ПРОФІЛЮ ДІЇ ЕКСТРАКТІВ *S. OFFICINALIS*

3.1 Дослідження гострої токсичності екстрактів *S. officinalis*.

Актуальним завданням сучасної фармакології є пошук та створення безпечних лікарських засобів рослинного походження. Цілеспрямоване вивчення профілю безпеки *S. officinalis* є важливим етапом у дослідженні її фармакологічних властивостей. З літературних джерел відомо, що ефірні олії, фенольні сполуки *S. officinalis* можуть мати токсичні властивості [7, 55, 58, 73, 84]. Представлені для дослідження екстракти з *S. officinalis* були синтезовані вперше та раніше не вивчалися. Саме тому першим етапом стало дослідження їх гострої токсичності. Було досліджено гостру токсичність доз 500 мг/кг, 4000 мг/кг, 6000 мг/кг маси тіла нових фітосубстанцій з листя *S. officinalis*.

Гостру токсичність екстрактів шавлії лікарської вивчали з використанням 216 лабораторних мишей (12 груп по 6 тварин, 3 дози), яких поділили на групи: екстракт №1-12. Після завершення експерименту (через 14 діб) встановили, що екстракти № 1-11, що відносяться до класу V, практично нетоксичні згідно з загальноприйнятою класифікацією за К.К. Сидоровим. Результати представлені у таблиці 3.1.1.

Таблиця 3.1.1

Результати дослідження гострої токсичності екстрактів шавлії лікарської

	Речовина	Доза мг/кг		
		III Помірно токсичні	IV Малотоксичні	V Практично нетоксичні
1	екстракт №1 – сухий екстракт на основі відвару листя шавлії (відвар шавлії)	500	4000	6000
	тварин в групі	6	6	6
	загибло тварин	0	0	3
	% загиблих тварин	0%	0%	50%

Продовження таблиці 3.1.1

2	екстракт №2 – сухий екстракт з листя шавлії, одержаний 50 % етанолом (50 % екстракт шавлії)			
	тварин в групі	6	6	6
	загинуло тварин	0	0	2
	% загиблих тварин	0%	0%	33%
3	екстракт №3 – сухий екстракт з листя шавлії, одержаний 96 % етанолом (96% екстракт шавлії)			
	тварин в групі	6	6	6
	загинуло тварин	0	0	2
	% загиблих тварин	0%	0%	33%
4	екстракт №4 – комплекс фенольних сполук з L-лізином (лізиновий комплекс)			
	тварин в групі	6	6	6
	загинуло тварин	0	0	3
	% загиблих тварин	0%	0%	50%
5	екстракт №5 – комплекс фенольних сполук з аргініном (аргініновий комплекс)			
	тварин в групі	6	6	6
	загинуло тварин	0	0	3
	% загиблих тварин	0%	0%	50%
6	екстракт №6 – полісахаридний комплекс			
	тварин в групі	6	6	6
	загинуло тварин	0	1	3
	% загиблих тварин	0%	17%	50%
7	екстракт №7 – очищений комплекс			
	тварин в групі	6	6	6
	загинуло тварин	0	1	3
	% загиблих тварин	0%	17%	50%
8	екстракт №8 – сапоніновий комплекс			
	тварин в групі	6	6	6

Продовження таблиці 3.1.1

	загинуло тварин	0	0	3
	% загиблих тварин	0%	0%	50%
9	екстракт №9 – фенольний комплекс			
	тварин в групі	6	6	6
	загинуло тварин	0	0	4
	% загиблих тварин	0%	0%	67%
10	екстракт №10 – флавоноїдний комплекс			
	тварин в групі	6	6	6
	загинуло тварин	0	1	3
	% загиблих тварин	0%	17%	50%
11	екстракт №11 – комплекс гідрофільних фенольних сполук			
	тварин в групі	6	6	6
	загинуло тварин	0	0	4
	% загиблих тварин	0%	0%	67%
12	Контроль			
	тварин в групі	6	6	6
	загинуло тварин	0	0	0
	% загиблих тварин	0%	0%	0%

Висновки до розділу 3.1:

Було досліджено гостру токсичність екстрактів № 1-11 з листя *S. officinalis*. Встановлено, що при внутрішньошлунковому введенні лабораторним мишам обох статей досліджені екстракти відносяться до V класу, практично нетоксичні речовини згідно з загальноприйнятою класифікацією за К.К. Сидоровим. Це може служити підставою для обґрунтування подальшого вивчення екстрактів *S. officinalis*.

Список наукових праць опублікованих за матеріалами розділу:

1. Верховодова Ю. В. Вивчення гострої токсичності вперше отриманих екстрактів шавлії лікарської. *Art of Medicine*. 2(10), 2019. С. 20-24.
2. Тези “Вивчення гострої токсичності похідних екстрактів шавлії лікарської (*Salvia officinalis*)” збірник матеріалів III Міжнародної науково-практичної internet-конференції 26-28.11.2018.

3.2 Дослідження антимікробної активності екстрактів *S. officinalis*.

На даний час серед значущих проблем сучасної терапії інфекційних хвороб найважливішою визнана проблема резистентності до протимікробних препаратів. За рішенням ВООЗ проблема стійкості до антимікробних препаратів є однією з 10 проблем, що глобально загрожують здоров'ю населення. Основним фактором, що обумовлює появу лікарсько-стійких патогенів є неправильне та надмірне застосування протимікробних препаратів. Наслідками швидкого формування лікарської резистентності визнані підвищений ризик негативних клінічних результатів, збільшення термінів хвороби, розвиток ускладнень і летальні результати. Відсутність ефективних протимікробних препаратів може призвести до підвищеної загрози сучасної медицини в лікуванні інфекцій, в тому числі при виконанні складних хірургічних операцій і проведенні хіміотерапії онкологічних захворювань. Тому на сьогодні є кілька напрямків в подоланні проблеми антибіотикорезистентності: це створення інноваційних антибіотиків та пошук нових антибактеріальних препаратів рослинного походження. Перевагами останніх слід назвати повільне формування лікарської стійкості у мікроорганізмів.

Однією з перспективних за наведеним призначенням визнана рослина *S. Officinalis* [85]. З літературних джерел відомо, що ефірні олії *S.officinalis* мають виражену активність відносно як грампозитивних (*B. subtilis*, *B.cereus*, *B.megatherium*, *S. epidermidis*) та грамнегативних (*E.coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Klebsiella oxytoca*) бактерій та грибів *C.albicans* [81, 86, 63, 64]. Виражені антимікробні властивості пов'язують, перш за все, з наявністю у хімічному складі ефірної олії *S. officinalis* альфа та бета туйону, цінеолу, які призводять до зниження проникності мембран, деструкції структур мікробних клітин з наступним порушенням внутрішньоклітинного метаболізму, зниження і пригнічення активності аеробного дихання [70]. Враховуючи, що останнім часом значно

збільшилося виявлення змішаних інфекцій, стає доцільним застосування препаратів з вираженою антибактеріальною та протигрибковою дією [90].

Враховуючи данні літератури та наявність в хімічному складі компонентів, яким притаманна антибактеріальна дія на як на грампозитивні, так й грамнегативні мікроорганізми, а також антифунгальна активність, необхідним етапом фармакологічного вивчення нових фітоекстрактів стало дослідження протимікробних властивостей в умовах *in vitro*.

Для вивчення антибактеріальної та антифунгальної активностей екстрактів шавлії лікарської було виготовлено зразки екстрактів шляхом водної екстракції та екстракції 50% та 96% спиртом (таблиця 2.1.1), які апробували на штаммах культур (таблиця 3.2.1).

Протигрибкові активності водних і метанольних/водних екстрактів *S. officinalis* були оцінені і охарактеризовані з точки зору фенольних сполук. Відвар і метанол/водний екстракт дали найбільш виражені і протигрибкові властивості, позитивно пов'язані з їх фенольним складом [6, 7].

Нумерація екстрактів у таблиці збігається з переліком екстрактів у розділі 2 матеріали і методи. У таблиці екстракт 12 – препарат референт ліктрави – листя *S. officinalis*.

**Результати дослідження антимікробної активності екстрактів
S. officinalis**

		Середнє значення та стандартне відхилення					
Фітосубстанція	Розчинення	E. coli	S. aureus	B. subtilis	Candida	P. aeruginosa	Proteus
1	H ₂ O	17±1	21±1	15±1	15±1	13±1	15±1
	50%С ₂ Н ₅ ОН	18±2	20±2	18±1	16±1	16±1	16±1
	96%С ₂ Н ₅ ОН	18±1	18±2	20±2	19±2	17±2	17±1
2	H ₂ O	14±1	17±1	14±1	14±1	15±1	15±1
	50%С ₂ Н ₅ ОН	13±2	12±1	14±2	16±1	14±1	15±1
	96%С ₂ Н ₅ ОН	15±1	16±2	16±1	16±2	15±2	15±1
3	H ₂ O	16±1	17±2	15±2	14±1	14±2	14±1
	50%С ₂ Н ₅ ОН	19±1	12±1	14±1	14±2	16±1	16±1
	96%С ₂ Н ₅ ОН	15±1	16±1	15±1	15±1	12±1	15±1
4	H ₂ O	18±2	17±1	13±2	16±1	17±1	15±2
	50%С ₂ Н ₅ ОН	20±2	18±1	15±1	17±2	15±1	16±1
	96%С ₂ Н ₅ ОН	20±2	15±1	15±1	15±1	16±1	16±2
5	H ₂ O	16±2	15±1	14±2	15±2	14±2	16±2
	50%С ₂ Н ₅ ОН	14±1	18±2	17±1	15±1	14±2	14±1
	96%С ₂ Н ₅ ОН	16±2	16±2	15±2	19±1	12±1	15±1
6	H ₂ O	18±1	16±1	15±2	17±1	16±2	14±2
	50%С ₂ Н ₅ ОН	16±1	15±2	15±1	15±2	15±1	15±2
	96%С ₂ Н ₅ ОН	15±1	15±1	14±1	16±1	15±2	14±2
7	H ₂ O	14±2	16±1	16±1	14±1	14±2	14±1
	50%С ₂ Н ₅ ОН	14±1	13±2	17±2	14±1	15±1	15±2
	96%С ₂ Н ₅ ОН	14±2	14±1	14±1	15±1	13±1	16±1
8	H ₂ O	14±2	16±2	15±2	16±2	16±1	14±1
	50%С ₂ Н ₅ ОН	16±2	14±2	14±2	13±1	15±2	16±2
	96%С ₂ Н ₅ ОН	14±2	15±1	13±1	17±1	16±2	13±1
9	H ₂ O	20±1	16±1	14±1	18±2	17±2	15±2

Продовження таблиці 3.2.1

	50%С ₂ Н ₅ ОН	15±1	14±2	18±2	16±1	20±1	16±2
	96%С ₂ Н ₅ ОН	17±1	19±1	16±2	18±1	16±1	14±2
10	H ₂ O	15±1	14±2	14±1	15±1	14±2	14±2
	50%С ₂ Н ₅ ОН	15±1	15±2	18±2	17±1	20±1	16±2
	96%С ₂ Н ₅ ОН	17±2	18±2	16±1	16±2	17±1	15±1
11	H ₂ O	15±1	14±2	14±1	15±1	14±2	14±2
	50%С ₂ Н ₅ ОН	15±1	15±2	18±2	17±1	20±1	16±2
	96%С ₂ Н ₅ ОН	17±2	18±2	16±1	16±2	16±1	16±1
12	H ₂ O	16±1	19±1	14±1	13±2	13±1	14±1
	50%С ₂ Н ₅ ОН	16±1	18±1	15±1	14±2	13±1	14±1
	96%С ₂ Н ₅ ОН	18±1	19±1	18±1	16±2	15±1	15±2
13	H ₂ O	0	0	0	0	0	0
14	50%С ₂ Н ₅ ОН	0	0	0	0	0	0
15	96%С ₂ Н ₅ ОН	0	0	0	0	0	0

Аналізуючи дані дослідження, було встановлено, що досліджувані зразки фітоекстрактів виявили помірні антимікробні властивості. Так, бактерії штаму *S.aureus* АТСС 26923 виявили найбільшу чутливість відносно зразка №1, отриманого шляхом розчину у воді та екстрагування 50% спиртом: зона затримки росту становила 21 та 22 мм відповідно. Аналізуючи активність зразка №1 стосовно представників грамнегативних мікроорганізмів, слід визнати значно меншу вираженість протимікробної активності. Так, стосовно *Proteus vulgaris* АТСС 4636 та *E.coli* АТСС 25922 діаметр зони затримки росту зразка №1 отриманого шляхом екстрагування 96% спиртом були більшими в 1,13 та в 1,06 рази у порівнянні з показниками зразків розчинених водою та екстрагованих за допомогою 50% спирту. Середній показник активності зразка №1 фітоекстракту шавлії лікарської відповідно до *P.aeruginosa* АТСС 27853 становив 15,33 мм.

Одночасно до зразка №1 отриманого шляхом екстрагування 96% спиртом виявили чутливість гриби роду *Candida* на рівні 19 мм.

Модифікація екстракту №1 за рахунок збільшення кількісного вмісту фенольних сполук (екстракт №9) призвело до збільшення чутливості грамнегативних бактерій. Так, серед зразків екстракту №1 відносно *E.coli* найбільш активним виявився зразок отриманий шляхом розчинення водою (діаметр зони затримки росту збільшився у 1,3 рази і становив 20,0 мм. Стосовно *P.aeruginosa* зафіксована також більш виражена активність, яка становила 20,0 мм, що в 1,25 рази перевищувала активність зразку екстракту №1, отриманого екстрагуванням 50% спиртом. Отримані результати корелюють з даними літературних джерел, а наявність антимікробної дії обумовлена наявністю у складі екстракту №1 розмаринової кислоти, а протимікробні властивості екстракту №9 пов'язані зі збільшенням у складі кількості фенольних сполук.

При визначенні антимікробної активності зразку фітоекстракту №2 було виявлено, що незалежно від шляхів отримання (водне розчинення, екстрагування 50% чи 96% спиртом) рівень протимікробної дії реєструвався в межах 12 – 17 мм. При цьому найбільша активність (17 мм) реєструвалася у зразка отриманого водним розчиненням відносно *S.aureus*. Наявність супутньої антимікробної дії обумовлена вміщенням поліфенольних сполук та розмаринової кислоти.

З метою визначення впливу амінокислот на рівень антимікробної активності до складу фітоекстрактів №2 та №4 були введені відповідно L-лізин (зразок №4) та аргінін (зразок №5). Результати досліджень показали, що введення до складу аргініну суттєво не впливало на антимікробну дію. Одночасно, включення амінокислоти L-лізину до складу фітоекстракту №4 супроводжувалося підвищенням рівня протимікробної активності, особливо по відношенню до грамнегативних мікроорганізмів. Так, відносно *E.coli* рівень прояву протимікробної активності зразку екстракту №4 залежно від

способу отримання змінився наступним чином: зразок фітоекстракту, отриманий розчинений водою, виявив збільшення рівня антимікробної активності з 14,0 мм до 18,0 мм, зразок, отриманий шляхом екстрагування 50% спиртом показав протимікробний рівень 20,0 мм, що в 1,5 рази перебільшував початковий рівень (13,0 мм), а зразок, отриманий екстрагуванням 96% спиртом, виявив активність на рівні 16,0 мм. Згідно отриманих результатів, встановлено, що найбільший вплив стосовно *Proteus vulgaris* виявили спиртові екстракти ($p_w = 0,03$) причому найбільш активним був екстракт №1, отриманий екстрагуванням 96% спиртом ($p_u = 0,02$).

Серед 12 зразків екстрактів шавлії лікарської визначено 4 фітоекстракти: № 4, 9, 10,11 ($p_w = 0,03$), дія яких статистично значуще відрізнялася ($p_u = 0,1$). В цілому введення до складу екстракту №2 L-лізину призвело до збільшення рівня притаманних антимікробних властивостей. Останнє доводить перспективність зазначеної сполуки для подальших доклінічних та клінічних досліджень. У співставленні з ефірними оліями *S.officinalis* притаманні деякі токсичні ефекти.

Таким чином, доведено, що фітоекстрактам *S. officinalis*, до складу яких входять альфа та бета туйон, цинеол, розмаринова кислота, фенольні та поліфенольні сполуки, притаманна антимікробна дія, яка варіює на рівні слабоактивних або активних речовин.

Введення до складу фітоекстракту №2 L-лізину, забезпечувало більш виражену антимікробну дію відносно більшості штамів мікроорганізмів у порівнянні зі зразком №2.

Виходячи з вищенаведеного, досліджувані екстракти слід розглядати як потенційно ефективні сполуки за антимікробним призначенням.

Висновки до розділу 3.2:

1) Досліджені екстракти *S. officinalis* у більшості мали антимікробну дію на рівні слабоактивних або активних речовин. Це пояснюється наявністю в складі екстрактів альфа та бета туйону, цинеолу, розмаринової кислоти, фенольних та поліфенольних сполук.

2) Включення L-лізину до екстракта №2 (екстракт № 4) забезпечувало більш виражену антимікробну дію на більшість штамів у порівнянні з екстрактом № 2.

3) Похідні екстрактів шавлії лікарської є перспективними об'єктами для подальшого вивчення протизапальної активності як потенційних ефективних речовин для лікування та профілактики інфекційних захворювань кишечника.

4) Результати роботи впроваджено у науково-дослідну та навчальну роботу кафедри фармакогнозії та технології ліків Одеського національного медичного університету. Підтверджено актом впровадження, протокол №5 від 11 грудня 2019 р.

Список опублікованих праць за матеріалами розділу:

1. Y.V. Verkhovodova, I.V. Kireyev, O.M. Koshovyi, T.P. Osolodchenko. In vitro antimicrobial study of new modifications of *Salvia officinalis* extracts. *Annals of Mechnikov Institute*. №1. 2019. P. 31-35.
2. 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 жовтня. 2018 р., м. Харків: НФаУ, 2018. С. 66.*
3. Verkhovodova Y. V. In vitro study of antimicrobial activity of some *salvia officinalis* extracts. *Topical issues of new drugs development: abstracts of XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student, April 21, 2016. Kharkiv, 2016. Vol. 2. P. 85.*

4. 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 жовтня. 2018 р., м. Харків: НФаУ, 2018. С. 66.

3.3 Дослідження діуретичної активності екстрактів *S. officinalis*.

Щорічно у всьому світі НПЗЗ приймає близько тридцяти мільйонів осіб, в тому числі з ААД. НПЗЗ призначають для фармакотерапії лихоманки, гострого чи хронічного болю та запалення. НПЗЗ також є однією з найбільш частих причин виникнення побічних ефектів медикаментозної терапії.

Оскільки відомо, що *S. officinalis* має протизапальні властивості, то можна припустити, що ця рослина також має вплив і на сечовидільну функцію нирок. Завданням нашого дослідження було виявити вплив екстрактів *S. officinalis* на сечовидільну функцію нирок з метою встановлення необхідності корекції дози потенціального лікувального засобу за наявності у пацієнта коморбідної патології.

Літературні дані щодо впливу екстрактів *S. officinalis* на сечовидільну функцію нирок досить обмежені, саме тому доповнення наукових даних є актуальним. Також оригінальним є те, що деякі екстракти були модифіковані амінокислотами, тож це надає новизну науковим даним.

В літературі описані наукові дані щодо різних видів *Salvia*, але на території України поширена саме *S. officinalis*, тому актуальним є вивчення і доповнення знань щодо саме цього виду [8, 9, 10, 11].

Об'єктами дослідження стали 11 екстрактів листя *S. officinalis*.

Числові показники діурезу щурів на тлі застосування екстрактів листя *S. officinalis* наведено у таблиці 3.3.1.

Вплив екстрактів листя *S.officinalis* на діурез у щурів

Екстракт №	Доза, мг/кг	Діурез через 2 години, мл/100 г	Діурез через 4 години, мл/100 г
1	10	0,33 ± 0,08*	1,0 ± 0,13*
	20	0,4 ± 0,13	0,63 ± 0,1*
	50	0,5 ± 0,14	0,8 ± 0,18
2	10	0,62 ± 0,08	1,07 ± 0,1*
	20	0,33 ± 0,05*	0,85 ± 0,12*
	50	0,58 ± 0,12	1,15 ± 0,16
3	10	0,38 ± 0,08*	0,78 ± 0,25
	20	0,47 ± 0,05	0,83 ± 0,21*
	50	0,52 ± 0,1	1,02 ± 0,16
4	10	0,45 ± 0,1	0,57 ± 0,08*
	20	0,47 ± 0,1	0,53 ± 0,16*
	50	0,47 ± 0,16	0,55 ± 0,21*
5	10	0,6 ± 0,09	1,03 ± 0,08*
	20	0,58 ± 0,08	1,07 ± 0,1*
	50	0,5 ± 0,1	0,85 ± 0,18*
6	10	0,43 ± 0,08*	0,97 ± 0,08*
	20	0,73 ± 0,08	1,13 ± 0,15
	50	0,63 ± 0,08	1,17 ± 0,14
7	10	0,45 ± 0,1	1,07 ± 0,1
	20	0,52 ± 0,08	1,15 ± 0,12
	50	0,72 ± 0,12	1,4 ± 0,09
8	10	0,47 ± 0,08	0,88 ± 0,13*
	20	0,62 ± 0,12	0,93 ± 0,1*
	50	0,6 ± 0,06	1,0 ± 0,13*

9	10	$0,52 \pm 0,08$	$0,9 \pm 0,15$
	20	$0,53 \pm 0,08$	$1,0 \pm 0,13^*$
	50	$0,62 \pm 0,1$	$1,03 \pm 0,15$
10	10	$0,52 \pm 0,08$	$0,9 \pm 0,17$
	20	$0,58 \pm 0,08$	$0,92 \pm 0,13^*$
	50	$0,62 \pm 0,1$	$1,07 \pm 0,1^*$
11	10	$0,57 \pm 0,1$	$0,88 \pm 0,13^*$
	20	$0,62 \pm 0,15$	$0,98 \pm 0,16$
	50	$0,72 \pm 0,17$	$1,18 \pm 0,21$
Фуросемід	10	$1,0 \pm 0,16^*$	$2,67 \pm 0,39^*$
Гідрохлор-тіазид	50	$0,9 \pm 0,25$	$2,00 \pm 0,17^*$
Адіурекрин	2 ОД	$0,4 \pm 0,15^*$	$0,62 \pm 0,08^*$
Контроль	3 мл/100 г	$0,63 \pm 0,1$	$1,27 \pm 0,08$

Примітка. * – розбіжності статистично значущі ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Як видно з табл. 3.3.1, у щурів контрольної групи через 4 години після введення водного навантаження діурез зростав на 101,6%. Препарати порівняння – петльовий діуретик фуросемід та тіазидний діуретик гідрохлортіазид підвищували діурез на 110% та 57,4% відповідно порівняно з контролем ($p < 0,05$ для обох препаратів). У той же час адіурекрин, введений в дозі 2 ОД, виявляв антидіуретичний ефект, зменшуючи об'єм виділеної сечі на 51,2% ($p < 0,05$ проти контролю). За цих умов практично всі субстанції на основі екстракту *S. officinalis*, як і адіурекрин, зменшували

діурез щурів, які отримували водне навантаження. Із 11 досліджуваних екстрактів тільки екстракт № 7 не впливав на досліджуваний показник.

Найбільш виражену антидіуретичну активність продемонстрував екстракт № 4. При введенні у дозах 10-50 мг/кг він знижував діурез щурів статистично значущо порівняно з контролем на 44,9-58,3% ($p < 0,05$). Зменшення об'єму виведеної сечі у всіх досліджуваних дозах (10, 20, 50 мг/кг) було характерним також для екстракту *S. officinalis* № 5. Проте, зниження цього показника виявилось не таким виразним, як у попередньому випадку, і склало 15,7-33,1% ($p < 0,05$ проти контролю). При цьому такі екстракти, як №№ 3, 6, 9 та 11 знижували діурез у щурів, яким попередньо вводили водне навантаження, лише в одній з досліджуваних доз, у той час, як при введенні цих екстрактів у інших дозах, статистично значущого впливу на сечовиділення не виявлено. Антидіуретичний ефект екстрактів №№ 3, 6, 9 та 11 виявився в діапазоні доз 10-50 мг/кг, практично повністю зникаючи зі збільшенням дози до 70 мг/кг. Подібним був вплив на діурез екстрактів №№ 1, 2, 8 та 10. Ці субстанції зменшували об'єм виділеної щурами сечі у більш низьких дозах (10, 20 або 50 мг/кг), у той час як при зростанні дози до 70 мг/кг такий вплив цих речовин нівелювався. У цілому антидіуретичний ефект екстрактів №№ 1, 3, 6, 8, 9, 10 та 11 був незначним та сягнув 15,7-50,4% ($p < 0,05$ проти контролю).

З огляду на виявлені антидіуретичні властивості екстрактів листя *S. officinalis* представляє інтерес аналіз зв'язку якісного та кількісного складу досліджуваних субстанцій та їх фармакологічної активності. Провідною групою біологічно-активних речовин екстрактів *S. officinalis* є фенольні сполуки. За кількісним складом серед останніх переважають гідроксикоричні кислоти. Як відомо з даних літератури, для гідроксикоричних кислот є характерним вплив на метаболізм арахідонової та інших поліненасичених жирних кислот, а також зменшення утворення їх метаболітів – простагландинів. Останні відіграють важливу роль в процесах

сечоутворення та сечовиділення. Саме блокування утворення простагландинів може пояснювати антидіуретичну активність досліджуваних екстрактів *S. officinalis*. Слід зазначити, що зниження діурезу на тлі використання досліджуваних екстрактів не залежало від їх фізико-хімічних властивостей, а саме – гідрофільності чи ліпофільності. Також звертає увагу той факт, що додавання до фенольних екстрактів листя *S. officinalis* амінокислот (екстракт № 4 з L-лізином та екстракт № 5 з L-аргініном) посилювало антидіуретичну активність цих субстанцій. І навпаки, за умови додаткового очищення екстрактів листя *S. officinalis* від домішок катіонів металів та амінокислот, антидіуретичний ефект практично повністю нівелювався. З цього випливає, що амінокислоти, зокрема, L-лізин та L-аргінін, можуть потенціювати вплив гідроксикоричних кислот на зниження синтезу простагландинів. З огляду на виявлені закономірності, необхідно враховувати, що, з одного боку, додавання до складу фенольних екстрактів листя *S. officinalis* L-лізину чи L-аргініну може посилювати їх протизапальні властивості, а з іншого – може впливати на діурез, знижуючи останній.

Оскільки 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 будемо використовувати її для вивчення фармакодинамічних властивостей досліджувальних речовин.

Висновки до розділу 3.3:

1. Виконано дослідження впливу 11 екстрактів листя шавлії лікарської на діурез у щурів, які отримували водне навантаження. Встановлено, що 10 з 11 досліджуваних екстрактів знижують об'єм виведеної сечі на 15,7-58,3% порівняно з показником інтактних тварин ($p < 0,05$).

2. Найбільш виразний антидіуретичний ефект притаманний фенольним екстрактам листя шавлії лікарської у суміші з амінокислотами L-лізином або L-аргініном. Ці екстракти знижують діурез у щурів в діапазоні доз від 10 мг/кг до 50 мг/кг.
3. При очищенні 50% екстракта *S. officinalis* від катіонів металів та амінокислот антидіуретичний ефект практично повністю зникає.
4. Зменшення діурезу у щурів на тлі прийому екстрактів шавлії лікарської (№№ 1, 2, 3 та 6, 8, 9, 10, 11) є дозозалежним і виявляється у більш низьких дозах (10-50 мг/кг) та повністю зникає при зростанні дози до 70 мг/кг.
5. В основі антидіуретичної дії екстрактів листя шавлії лікарської може полягати здатність гідроксикоричних кислот пригнічувати синтез простагландинів. Амінокислоти L-лізин та L-аргінін, імовірно, потенціюють цей ефект досліджуваних екстрактів.
6. Виявлені закономірності необхідно враховувати при фармакотерапії захворювань з використанням екстрактів *S. officinalis*.

Список наукових праць опублікованих за матеріалами розділу:

1. Верховодова Ю. В. Дослідження впливу екстрактів листя шавлії лікарської на діурез у щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. Том 13. № 4. 2019. С. 249–254.
2. Verkhovodova Y. V. In vivo study of how some *Salvia officinalis* extracts affect diuresis in rats. *Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекції патологічних станів: матеріали міжвузівської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю*. м. Харків, 5-6 квітня, 2019 р. м. Харків: НФаУ, 2019. С. 9.
3. Верховодова Ю. В. Вивчення впливу деяких екстрактів шавлії лікарської на діурез у щурів. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали II Міжнародної*

науково-практичної конференції у двох томах, м. Харків 28-29 березня 2018 р. Харків: НФаУ, 2018. Т. 2. С. 72.

4. 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. м. Харків : НФаУ, 2018. С. 31.

3.4 Дослідження антиексудативної активності екстрактів *S. officinalis*.

Гостре та хронічне запалення є ланкою патогенезу коліту, що може виникати на фоні ААД. Для лікування запалення застосовують стероїдні та нестероїдні протизапальні засоби. Проте клінічна ефективність цих ліків, а також безпека їх використання у різних категорій хворих часто бувають недостатніми [99].

S. officinalis є перспективною лікарською рослиною для використання у медицині з метою терапії станів, що супроводжуються запальним процесом. *S. officinalis* здавна використовується у народній та офіційній медицині як протизапальний, антибактеріальний, протигрибковий засіб. Протизапальна активність лікарської рослинної сировини *S. officinalis* зумовлена великим спектром біологічно-активних компонентів, що входять до її складу, серед яких провідне місце посідають терпеноїди та фенольні сполуки [96].

Незважаючи на те, що фармакологічна активність *S. officinalis* та традиційних галенових препаратів на її основі (настойки, екстракти) є достатньо вивченою, в науковій літературі практично відсутні дані про фармакологічне дослідження окремих фракцій екстракту *S. officinalis*. Мало того, залишається невідомим вплив на запалення екстрактів *S. officinalis* у комплексі з фармакологічними агентами, що можуть потенціювати їх

протизапальну дію, наприклад, амінокислотами. Тому метою дослідження стало вивчення протизапальної активності 11 різних екстрактів *S. officinalis*, зокрема, таких, що містять у своєму складі амінокислоти лізин чи аргінін.

Числові показники антиексудативної активності екстрактів листя *S. officinalis* наведено у таблиці 3.4.1.

Таблиця 3.4.1

Антиексудативна активність екстрактів шавлії лікарської на моделі карагенінового набряку ($M \pm SD$), $n=5-6$

Екстракт №	Доза мг/кг	Об'єм лапки, умовних одиниць				
		Вихідний рівень	1 година	2 година	3 година	4 година
1	50	27,8±1,33	32,5 ± 2,43*	32,5 ± 2,07*	31,2 ± 2,23*	30,2 ± 1,17*
2	50	29,7±1,7	38 ± 2,23*	37 ± 1,13*	36 ± 1,83*	36 ± 1,5*
3	50	36±2,48	40,3 ± 3,8	41,1 ± 3,24	41,6 ± 2,76	40,0 ± 3,06*
4	50	25,7±1,75	29,3 ± 2,07*	30,7 ± 2,42*	29,3 ± 1,63*	28,7 ± 2,07*
5	50	30,3±1,75	37,2 ± 3,19	39,3 ± 1,86	43,8 ± 2,04	46,0 ± 5,14
6	50	29,8±3,71	36,8 ± 2,64	40,0 ± 4,29	42,3 ± 3,98	45,3 ± 3,2
7	50	28,2±2,93	33,3 ± 3,61*	37,7 ± 2,34*	41,2 ± 3,43	42,8 ± 1,94
8	50	30,2±3,82	35,3 ± 3,33*	39,7 ± 3,78	42,5 ± 3,73	45,3 ± 2,88
9	50	31,2±3,19	35,2 ± 1,94*	38,8 ± 3,49	43,2 ± 3,97	44,7 ± 1,97
10	50	31,3±2,88	35,8 ± 2,99*	39,8 ± 4,02	42,8 ± 4,45	45,5 ± 3,73
11	50	30,3±3,08	33 ± 3,22*	35,3 ± 3,61*	36,8 ± 3,31*	38 ± 3,44*

Продовження таблиці 3.4.1

Позитивний контроль	–	30,2±5,26	40,8 ± 3,63	41,4 ± 1,95	44,2 ± 4,27	46,2 ± 5,07
Диклофенак	8	33,4±2,07	33,6 ± 1,67*	35,8 ± 2,86*	37 ± 5,15*	34,6 ± 2,07*

Примітка: * – відмінності статистично значущі ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Як видно з таблиці 3.4.1, у щурів групи позитивного контролю (ПК) введення карагеніну спричинило набряк кінцівки, що виявилось зростанням її об'єму на 35,1% на першу годину з поступовим збільшенням до 50,0% на 4 годину. Антиексудативна активність (АА) препарату порівняння диклофенаку натрію склала 74,0-98,0% ($p < 0,05$ проти показника ПК). Протинабрякова дія диклофенаку за цих умов виявилася протягом усього періоду спостереження (від 1 до 4 години), поступово зростаючи на 4 годину. Це засвідчує виражену протизапальну дію диклофенаку натрію, добре описану в публікаціях з експериментальних та клінічних досліджень цього лікарського засобу.

Деякі з досліджуваних екстрактів, у свою чергу, також продемонстрували антиексудативну активність у щурів із карагеніновим набряком. За впливом на об'єм лапки у щурів після субплантарного введення карагеніну досліджувані екстракти *S. officinalis* можна розділити на чотири категорії: а) ті, що не виявили статистично значущого впливу на цей показник; б) ті, що зменшували набряк протягом всього періоду спостереження (з 1-ї по 4-у годину); в) ті, що знижували набряк лише на початку спостереження (1-2 година); г) ті, які редукували набряк лапки наприкінці спостереження (3-4 година). Відтак, екстрактами, які не виявили статистично значущого впливу на об'єм кінцівки щурів після введення агента, який спричиняє запальну реакцію, виявилися субстанції № 5 та 6 –

комплекс фенольних сполук *S. officinalis* у суміші з L-аргініном (аргініновий комплекс) та полісахаридний комплекс *S. officinalis* відповідно. У випадку з екстрактом № 5 відсутність протизапальної активності можна аргументувати тим, що наявний у його складі L-аргінін може включатися у метаболічні шляхи запальної реакції, посилюючи її. Відомо, що на ранніх стадіях запалення L-аргінін служить субстратом для утворення одного із медіаторів цього патологічного процесу – газоподібного оксиду азоту (NO). Більше того, на стадії проліферації L-аргінін може перетворюватися на інші біомолекули (наприклад, пролін та поліаміни), які відіграють провідну роль у запальній реакції.

До категорії екстрактів *S. officinalis*, які виявили антиексудативну активність протягом 1-4 години спостереження, належать екстракти №№ 1, 2, 4 та 11 (екстракт на основі відвару *S. officinalis*; екстракт, отриманий екстракцією 50% розчином етанолу; фенольний екстракт *S. officinalis* з додаванням L-лізину; комплекс гідроксикоричних сполук *S. officinalis*). Для екстракту № 11 була відмічена залежність протизапального ефекту від дози. Екстракт № 11 зменшував набряк лапки в дозі 50 мг/кг – протягом 3-4 години спостереження, що вказує на здатність редукувати запалення під час активації простагландинів. Протизапальна дія екстрактів №№ 1 та 2 не виявилася достовірною у дозі 50 мг/кг по відношенню до контрольного інтакту, тоді як екстракт № 4 достовірно знижував запалення протягом всього експерименту. При цьому, антиексудативний ефект екстракту № 4 зростав поступово зі збільшенням часу дії екстракту. Відтак, екстракт № 4 проявив найвиразнішу АА протягом всього дослідження та дорівнював 93% на 4 годину дослідження. Отримані дані свідчать про виразні протизапальні властивості досліджуваних екстрактів. Та обставина, що екстракти №№ 1, 2 та 4 зменшували запальний набряк лапки щурів протягом усього періоду спостереження свідчить про їх позитивний вплив на усі фази запалення.

До третьої категорії екстрактів, які зменшували набряк лапки протягом 1-2 години спостереження, належать субстанції №№ 7, 8, 9 та 10 (фенольний комплекс, очищений від амінокислот та іонів металів; сапоніновий комплекс; сумарний фенольний комплекс; флавоноїдний комплекс). При цьому екстракт № 7 знижував запалення протягом 1 години спостереження (АА – 51%); екстракт № 8 – також протягом 1 години у дозі 50мг/кг (АА – 51%); АА екстракту № 9 протягом 1 години склала 54%; екстракту № 10 – на першу годину дорівнює – 57% ($p < 0,05$), а на 2 годину – достовірно не відрізнявся ($p < 0,05$ проти ПК для всіх зазначених показників). Отримані дані свідчать про здатність екстрактів №№ 7-10 переважно редукувати запалення на 1-2 годину, спричинене карагеніном.

Єдиним екстрактом *S. officinalis*, який зменшував спричинений карагеніном набряк лапки щурів наприкінці спостереження (4 година), став екстракт № 3 (отриманий екстрагуванням 96% етанолом). На його фоні АА склала 75% (в дозі 20, $p < 0,05$ проти ПК). Здатність екстракту № 3 зменшувати запальну реакцію на 4 годину спостереження вказує на те, що максимум його протизапальної активності приходить на кінцеву фазу запалення.

Таким чином, отримані експериментальні дані свідчать про наявність виразної протизапальної дії різних фракцій екстракту *S. officinalis*, що виявляється за умов циклооксигеназного запального процесу [95]. Тільки полісахаридний комплекс екстракту *S. officinalis*, а також фенольний комплекс у суміші з L-аргініном за цих умов не виявляють статистично значущого впливу на ексудацію, спричинену карагеніном. Для різних фракцій екстракту *S. officinalis* характерним є вплив на окремі ланки запального процесу.

3.4 Дослідження протизапальної активності екстрактів *S. officinalis*, викликаного зимозаном.

Оскільки найбільш виразну антиексудативну активність на моделі гострого карагенінового набряку викликали екстракт № 2 (фенольний екстракт *S. officinalis*, екстрагований 50% етанолом) та екстракт № 4 (фенольний екстракт з додаванням L-лізину).

Дослідження протизапальної активності на моделі зимозанового набряку проводили у цих екстрактів в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг у порівнянні з кверцетином (50 мг/кг).

Експериментальна модель гострого запалення викликаного зимозаном, на сьогодні визнана як така, що найбільше відповідає стадійності патогенезу запального процесу, викликану лейкотриєнами.

На моделі зимозанового набряку за профілактичного застосування гранули кверцетину чинили помірну антиексудативну дію, максимальна активність спостерігалась у першу годину експерименту склала 46,3%. Що підтверджує дані про антиліпооксигеназний механізм протизапальної дії препарату. У середньому антиексудативна активність препарату порівняння склала 41%.

Під дією досліджувальних фітоекстрактів максимальна протизапальна активність спостерігалась протягом двох годин і склала для фітоекстракту №4 – 44 %, для фітоекстракту №2 – 40,6%.

Відповідно до отриманих даних на моделі зимозанового набряку екстракти №№ 2 і 4 виявляли достовірну АЕА у порівнянні з групою позитивного контролю (табл. 3.4.2). За результатами статистичного аналізу 2 екстракта виявили практично рівну протизапальну активність, та десь поступалися препарату порівняння, але достовірних розбіжностей між екстрактами №№ 2, 4 та кверцетином не виявилось.

Отже, на моделі зимозанового набряку екстракти 2 та 4 виявили АЕА, яка за виразністю дорівнювала препарату порівняння гранулам кверцетину.

**Антиексудативна активність екстрактів шавлії лікарської на моделі
зимозанового набряку (M±SD), n=5-6**

Група тварин	Доза, мг/кг	Об'єм лапки (ум.од.)						АЕА, %
		1 год		2 год		3 год		
		АМ	АЕА, %	АМ	АЕА, %	АМ	АЕА, %	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Позитивний контроль	–	20,5±1,30	–	23,6±1,70	–	21,7±1,20	–	–
Гранули кверцетину	50	11,0±1,2*	46,3	13,5±1,4*	42,7	14,3±1,9*	34,0	41,0
Екстракт № 2	50	13,9±1,5*	32,1	14,0±1,8*	40,6	15,0±2,1*	30,8	35,1
Екстракт № 4	50	13,5±1,4*	34,1	13,2±1,6*	44,0	14,8±2,0*	31,7	36,6

Примітка. * – відхилення показника достовірне при порівнянні з позитивним контролем (критерій Ньюмена-Кейсла)

** – відхилення показника достовірне при порівнянні з групою кверцетин (критерій Ньюмена-Кейсла)

АМ – різниця в об'ємі лапок (ум. од.)

АЕА – антиексудативна активність.

Слід зазначити, що на даній моделі ефективність екстрактів була меншою, ніж на моделі набряку, викликаного карагеніном.

Набряк, індукований зимозаном, обумовлений переважно синтезом лейкотриєнів через активацію ліпооксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти. Джерелом утворення лейкотриєнів є лейкоцити, які мігрують у вогнище запалення. За участю ферменту 5-ліпооксигенази арахідонова кислота метаболізується до дигідроксилейкозотетраєвої, яка і проявляє ексудативний ефект [15].

Аналіз динаміки отриманого ефекту досліджених екстрактів показує, що за умов зимозанового набряку активність екстрактів спостерігалась протягом всього експерименту, що вказує на багатофакторність дії досліджуваних екстрактів та обумовлено фенольним фітохімічним складом *S. officinalis* [8, 81, 123].

Висновки до розділу 3.4:

1. Досліджено вплив 11 екстрактів шавлії лікарської на запальний процес, спричинений індуктором циклооксигенази карагеніном. Встановлено, що 9 з 11 екстрактів виявляють виразну антиексудативну активність, зменшуючи запалення лапки щурів на 93%.
2. Екстрактами, що не виявили антиексудативної активності на моделі карагенінового набряку, стали комплекс фенольних сполук *S. officinalis* із L-аргініном (екстракт № 5) та полісахаридний комплекс *S. officinalis* (екстракт № 6).
3. Екстрактами, що зменшували запалення протягом 1-4 години експеримента, стали екстракт на основі відвару *S. officinalis* (екстракт № 1), екстракт, отриманий екстрагуванням 50% етанолом (екстракт № 2), фенольний екстракт *S. officinalis* з додаванням L-лізину (екстракт № 4) та комплекс гідроксикоричних сполук *S. officinalis* (екстракт № 11). Антиексудативна активність на їх тлі склала 31-100% ($p < 0,05$ проти показника інтактного контролю).
4. Екстрактами, що зменшували запальну реакцію під час 1-2 години експеримента, стали 50% екстракт *S. officinalis*, очищений від амінокислот та іонів металів екстракт (екстракт № 7), сапоніновий комплекс (екстракт № 8), сумарний фенольний комплекс (екстракт № 9) та флавоноїдний комплекс (екстракт № 10). Зменшення запалення на їх фоні склало 26-67% ($p < 0,05$ проти показника інтактного контролю).

5. Екстрактом, що зменшував запалення під час 3-4 години експеримента, був екстракт, отриманий екстрагуванням 96% етанолом (екстракт № 3). Зменшення ексудації на його тлі склало 75% ($p < 0,05$ проти показника інтактного контролю).

6. Шавлія лікарська та її комплекси біологічно-активних речовин потребують подальшого експериментального та клінічного вивчення з метою створення нових безпечних та ефективних лікарських засобів.

Список наукових праць опублікованих за матеріалами розділу:

1. Верховодова Ю. В., Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Мига М. М. Дослідження антиексудативної активності екстрактів. *Медична та клінічна хімія*. № 4. Т. 21. 2019. С. 54-60.

2. 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. м. Харків, 2016. Т. 1. С. 116.*

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

3.5. Дослідження мембраностабілізуючої активності екстрактів *S. officinalis*.

Враховуючи дані літератури щодо механізмів розвитку протизапальної реакції, викликаних карагеніном та зимозаном, а також динаміку протизапальної дії екстрактів на даних моделях, можна припустити що

екстракти, отримані з *S. officinalis*, мають мембранопротекторні властивості.

Вивчення впливу екстрактів з шавлії лікарської №2 та №4 на основі комплексу фенольних сполук та фенольних сполук з L-лізином було досліджено в дозі 50 мг/кг на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів за методом F.Yager [12].

Таблиця 3.5.1

Вплив екстрактів шавлії лікарської на спонтанний гемоліз еритроцитів у інтактних тварин, (M±SD), n=6

Експериментальна група	Виразність гемолізу, %	Активність, %
Інтактний контроль	28,5±0,91	-
Екстракт №2 (50 мг/кг)	21,3±0,63*	25,2
Екстракт №4 (50 мг/кг)	19,5±0,85*	31,5
Вітамін Е (50 мг/кг)	21,5±0,92	24,5

Примітка: * – відхилення достовірні щодо значень інтактного контролю (p<0,05)

Відповідно до отриманих даних, достовірне зниження ступеня спонтанного гемолізу у дослідних тварин у порівнянні з групою інтактного контролю спостерігалась під дією двох досліджуваних екстрактів у дозі 50 мг/кг. Їх мембраностабілізуючий ефект був на рівні 31,5% та 25%. Мембраностабілізуюча активність референс-препарату (24,5%) була аналогічна екстракту №2 та дещо поступалась екстракту №4 (фенольний комплекс з L-лізином).

Таким чином, результати досліджень свідчать про наявність у досліджуваних екстрактів з шавлії лікарської здатності стабілізувати

мембрани клітин, на рівні вітаміну Е у екстракта №2 та перевищувати за активністю у екстракта №4.

3.6. Дослідження капіляррозміцнювальної активності екстрактів *S. officinalis*.

За сучасними уявленням гостре запалення починається з фази ранніх судинних змін, що збільшує проникність судин [65]. Враховуючи дані літератури про капіляррозміцнювальні властивості рослинних поліфенолів [103, 107, 119], цікавим було вивчити вплив досліджувальних екстрактів шавлії лікарської на проникність судин передньої черевної стінки щурів під дією різних флогогенів [Голіков П.П.].

Капіляррозміцнювальну дію екстрактів оцінювали за різницею у часі профарбування папул. Результати проведеного експерименту наведені у таблиці 3.6.1.

Таблиця 3.6.1

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 контрольної групи ($p < 0,05$)

Аналіз отриманих даних свідчить, що в групі контрольної патології найбільш швидко профарбувалась ділянка шкіри, куди був уведений білок – 4,05 хв. Потім спостерігалось повільне профарбування шкірних папул, утворених карагеніном (5,85 хв.), гістаміном (6,10 хв) та формаліном (7,20 хв.).

У групі тварин, які попередньо отримували екстракти в дозі 50 мг/кг, профарбування папул сповільнювалося, що свідчить про зменшення судинної проникності. Досліджувальні фітоекстракти виявили виразну капіляррозміцнювальну активність по відношенню до контрольної групи. Однак слід зазначити, що 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.

Таким чином, на підставі отриманих даних можна стверджувати про здатність фітоекстрактів №№2 та 4 знижувати судинну проникність на фоні формалінового, карагенінового та гістамінового запалення, що корелює з даними літератури [100, 40, 61].

Висновки до розділу 3.5 та 3.6:

Було досліджено мембраностабілізуювальну активність екстрактів №2 та №4 з листя *S. officinalis*.

Встановлено у досліджувальних екстрактів здатність стабілізувати мембрани клітин на рівні вітаміну Е у фітоекстракту №2 та перевищувати за цією активністю у екстракту №4.

Встановлена капіляррозміцнювальна активність у фітоекстрактів №2 та №4 з шавлії лікарської за рахунок зменшення запалення судин на фоні формалінового, карагенінового, гістамінового та білкового набряків.

Список наукових праць опублікованих за матеріалами розділів 3.5 та 3.6:

1. Верховодова Ю.В. Мембраностабілізуюча активність екстрактів *S.officinalis*. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських*

рослин: матеріали IV міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків 26-27 листопада 2020 р. Харків: НФаУ, 2020. С 67-68.

2. Верховодова Ю.В. Судиннозміцнююча дія екстрактів *S.officinalis*. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали IV міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків 26-27 листопада 2020 року м. Харків: НФаУ, 2020. С 68.

РОЗДІЛ 4 МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТА ЕКСТРАКТІВ *S. OFFICINALIS* НА КИШКОВУ МІКРОБІОТУ ПРИ ДИСБІОЗІ У ЩУРІВ

4.1 Дослідження ефекту екстрактів *S. officinalis* на кишкову мікробіоту при дисбіотичних порушеннях на фоні експериментального інфекційного коліту у щурів.

В класичній схемі етіологічного лікування інфекційних кишкових розладів, в тому числі ААД, до сьогодні є використання антибіотиків. Головна мета застосування антибіотиків у випадку ААД полягає у нівелюванні зі складу мікробіоти кишечника *C. difficile* або *S. aureus*, *C. perfringens*, *C. albicans*, *K. oxytoca*, *Proteus*, *Enterococcus*, ентеропатогенні штами *Escherichia coli* [53, 54]. Особливу занепокоєність викликає тенденція до росту числа тяжких, рецидивуючих форм ААД, ускладнень, що призводять до інвалідизації пацієнтів молодого, працездатного віку [53]. Усе це, в свою чергу, зумовлює значні економічні витрати, пов'язані з доглядом, лікуванням та реабілітацією пацієнтів [67].

В основі формування дисбіотичних змін є порушення нормобіоценозу кишечника та колонізаційної резистентності, що супроводжують ААД. Серед факторів ризику дисбіотичних явищ, перш за все, визнані тривала та ірраціональна антибактеріальна терапія. На сьогодні найактуальнішою проблемою стала інфекційна патологія, що викликається *C. difficile*. Однак, враховуючи відсутність на даний час в Україні затверджених референс штамів *C. difficile*, в умовах вивчення антимікробної здатності екстрактів *S. officinalis* як мікробіологічна модель були використані штами *C. perfringens*, як представників роду *Clostridia* [52]. Базуючись на результатах попередніх досліджень та даних літератури, стало відомо, що *S. officinalis* притаманні властивості пригнічувати патогенну і умовно-патогенну мікрофлору [55]. Тому, доцільним стало вивчення впливу екстрактів *S. officinalis* на кишкову мікробіоту *in vivo* за умов інфекційного коліту у лабораторних щурів.

При обстеженні заражених тварин на 11 добу експерименту у всіх щурів були виявлені ознаки дисбіозу кишечника. При визначенні ознак дисбіотичних порушень зареєстровано значне зниження кількісних показників представників нормальної мікрофлори кишечника – *E.coli*, біфідобактерій та лактобактерій. Так, у порівнянні з нормальними показниками та групою контролю №5 (інтактні тварини), загальна кількість *E.coli* зменшувалась на 2-3 порядки у 100% випадків ($p_u=0.05$). Одночасно реєструвалося зниження кількості біфідобактерій та лактобактерій відповідно у 100% та 66,7% тварин ($p_u=0.02$). Мікроорганізми, що були використані для відтворення експериментального коліту, виявлялись у підвищеній кількості в 100% досліджуваних тварин (табл. 4.1.1).

Таблиця 4.1.1

Результати мікробіологічного дослідження зразків випорожнень експериментальних тварин на 11 добу експерименту

Кількість тварин	Групи тварин	Загальна кількість кишкових паличок, КУО/г	<i>S. aureus</i> , КУО/г	Біфідобактерії, КУО/г	Лактобактерії, КУО/г	Кандіда, КУО/г	Клостридії
	Нормальні показники мікробіоти	10^4-10^7	10^3-10^5	10^6-10^9	10^6-10^8	$0-10^3$	–
5	Заражені тварини	$1 * 10^3$	$1 * 10^7$	$1 * 10^5$	$<1 * 10^5$	$1 * 10^4$	+
2		$1 * 10^2$	$1 * 10^7$	$1 * 10^4$	$1 * 10^7$	$1 * 10^2$	+
5		$1 * 10^3$	$1 * 10^7$	$1 * 10^4$	$<1 * 10^5$	$1 * 10^4$	+
2		$1 * 10^3$	$1 * 10^6$	$1 * 10^5$	$1 * 10^6$	$1 * 10^4$	+
5	Заражені тварини	$1 * 10^3$	$1 * 10^7$	$<1 * 10^5$	$<1 * 10^5$	$1 * 10^3$	+
1		$1 * 10^3$	$1 * 10^6$	$1 * 10^5$	$<1 * 10^4$	$1 * 10^3$	+
4		$1 * 10^2$	$1 * 10^6$	$1 * 10^4$	$1 * 10^6$	$1 * 10^4$	+
6	Інтактні тварини	$1 * 10^5$	$1 * 10^2$	$1 * 10^8$	$1 * 10^6$	$1 * 10^2$	–
		– $1 * 10^6$	– $1 * 10^3$	– $1 * 10^9$	– $1 * 10^7$	– $1 * 10^3$	–

Так, кількісні показники *S. aureus* у групах експериментальних тварин збільшувались на 2 порядки. Стосовно *C.albicans* встановлено, що у 66,7% випадків показники перевищували нормальні значення на порядок, а у третині випадків (33,3%) відповідали показникам у нормі ($p_u=0.05$). Одночасно від усіх експериментальних щурів були виділені клостридії. Наведені результати доводять формування дисбіотичних явищ, на тлі розвитку інфекційного коліту у щурів.

У тварин контрольної групи № 5 (інтактних тварин) впродовж всього експерименту реєструвались нормальні показники кишкової мікробіоти (табл.4.1.2).

На 15 добу експерименту після п'ятиденного введення 50% екстракту шавлії лікарської у дозі 50 мг/кг у тварин групи № 1 у 100% випадків збільшувалась загальна кількість кишкових паличок ($p_u=0.05$) – у 50% тварин до $1 \cdot 10^4$ КУО/г, у 50% тварин до $1 \cdot 10^5$ КУО/г. Одночасно у тварин групи № 2, де для корегування дисбіотичних явищ застосовували введення екстракта №4, протягом 5 діб у дозі 50 мг/кг реєструвалось збільшення загальної кількості *E.coli* до рівня нормальних показників у 100% випадків ($p_u=0.05$), але у порівнянні з групою №1 показники були вищими та становили $1 \cdot 10^5$ КУО/г та $1 \cdot 10^6$ КУО/г (табл. 4.1.2).

Кількісні показники *S. aureus* у групі № 1 зменшились до нормальних показників у 100% випадків (до 10^4 КУО/г у 16,7% тварин та до 10^5 КУО/г – 83,3%). У групі № 2 показники частоти виявлення золотистого стафілококу були визначені на рівні 10^4 КУО/г у 66,7% та 10^5 КУО/г у 33,3% тварин ($p_u=0.02$). Стосовно визначення *C. albicans* у тварин обох експериментальних груп (№№ 1,2) слід зазначити, що кількість мікроорганізмів зменшилась до норми у 100% випадків ($p_u=0.02$), одночасно зменшилась й кількість клостридій у 2,9 рази відповідно серед тварин кожної групи ($p_u=0.02$).

Дослідження щодо впливу екстрактів шафлії лікарської на представників нормофлори показали збільшення кількості біфідобактерій ($p_u=0.05$) та лактобактерій ($p_u=0.02$) на 1-2 порядки у групах №№ 1, 2. На тлі використання 50% екстракту *S. officinalis* 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 у групі №1 сягала $1 \cdot 10^6$ КУО/г у 66% , а $1 \cdot 10^7$ КУО/г у 34% щурів групи, в той час як в групі тварин №2 кількість лактобактерій до $1 \cdot 10^7$ КУО/г спостерігалась у 83,6% та $1 \cdot 10^8$ КУО/г у 16,7% щурів (таблиця 4.1.2).

Таким чином, екстракт №4 виявив більшу ефективність у корегуванні дисбіотичних змін в умовах експериментального коліту у щурів.

Для лікування відтвореного коліту у тварин експериментальної групи №3 був обраний рифаксимін. Після лікування рифаксиміном у дозі 10 мг/кг на 15 добу експеримента спостерігалось значне зменшення кількості *S. aureus* (до 10^3 КУО/г - 16,7%, до 10^4 КУО/г - 83,3%) та відсутність *C. perfringens* у 100% випадків ($p_u=0.02$). Кількість *C. albicans* залишилась на рівні $1 \cdot 10^4$ КУО/г у 83,3% випадків. Останнє доводить відсутність відновлення нормальної мікрофлори кишечника: кількість біфідобактерій, лактобактерій та кишкових паличок у порівнянні з результатами обстеження на 11 добу лишалось на одному рівні ($p_u=0.02$). Отримані дані можуть бути обумовлені антимікробною дією антибіотика стосовно багатьох представників мікробіоти кишечника, в тому числі й відносно індигенної нормофлори, за виключенням активності стосовно збудників грибкових інфекцій.

Результати мікробіологічного дослідження зразків випорожнень експериментальних тварин за групами на 15 добу експерименту

Група тварин	Застосована речовина та доза, мг/кг	Загальна кількість кишкових паличок, КУО/г	<i>S. aureus</i> , КУО/г	Біфідобактерії, КУО/г	Лактобактерії, КУО/г	Кандіда, КУО/г	Клостридії
	Нормальні показники мікробіоти	10 ⁴ -10 ⁷	10 ³ -10 ⁵	10 ⁶ -10 ⁹	10 ⁶ -10 ⁸	0-10 ³	–
1	50 % екстракт <i>S. officinalis</i> Доза 50 мг/кг	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁸	1 * 10 ⁶	1 * 10 ²	-
		1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁶	1 * 10 ²	-
		1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁷	1 * 10 ²	+
		1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁶	1 * 10 ²	-
		1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁶	1 * 10 ³	+
		1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁶	1 * 10 ⁷	1 * 10 ³	-
2	Комплекс фенольних сполук з L-лізином <i>S. officinalis</i> Доза 50 мг/кг	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁸	1 * 10 ²	+
		1 * 10 ⁶	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁷	1 * 10 ²	-
		1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁸	1 * 10 ⁸	1 * 10 ³	-
		1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁸	1 * 10 ⁷	1 * 10 ²	-
		1 * 10 ⁶	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁷	1 * 10 ²	-
		1 * 10 ⁶	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁸	1 * 10 ⁷	1 * 10 ³	+
3	Рифаксимін 10 мг/кг	1 * 10 ⁵	1 * 10 ³	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁴	-
		1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁵	1 * 10 ³	-
		1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁵	1 * 10 ³	-
		1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁴	-
		1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁴	-
		1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁴	-
4	Стерильна вода	1 * 10 ³	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁵	<1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁴	+
		1 * 10 ²	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁴	<1 * 10 ⁵	1 * 10 ²	+
		1 * 10 ³	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁴	1 * 10 ⁶	1 * 10 ⁴	+
		1 * 10 ³	1 * 10 ⁶	1 * 10 ⁵	1 * 10 ⁷	1 * 10 ⁴	+

Продовження таблиці 4.1.2

		$1 * 10^3$	$1 * 10^7$	$1 * 10^5$	$<1 * 10^5$	$1 * 10^2$	+
		$1 * 10^2$	$1 * 10^6$	$1 * 10^4$	$<1 * 10^5$	$1 * 10^4$	+
5	Інтактні тварини	$1 * 10^5 - 1 * 10^6$	$1 * 10^2 - 1 * 10^3$	$1 * 10^8 - 1 * 10^9$	$1 * 10^6 - 1 * 10^7$	$1 * 10^2 - 1 * 10^3$	-

У щурів контрольної групи № 4, які отримували плацебо, спостерігались явища дисбіозу кишечника впродовж всього експеримента, як на 11, так і на 15 добу обстеження (табл. 4.1.1, 4.1.2). У інтактних тварин контрольної групи № 5 показники кишкової мікробіоти відповідали нормальним значенням протягом всього експерименту (табл. 4.1.1, 4.1.2).

Позитивні результати проведених досліджень щодо впливу досліджуваних екстрактів на мікробіоту дозволили припустити наявність пребіотичної здатності у екстрактів шавлії, що стало доцільним вивчити в подальшому дослідженні.

Визначення пребіотичних властивостей досліджуваних екстрактів проводили методом культивування бактерій *Bifidobacterium bifidum* №1 та *Lactobacillus rhamnosus* R0011 ND на поживних середовищах, до складу яких входили екстракти шавлії № 2 та 4.

В експериментах використовували препарати бацил, які склалися з *B. bifidum* та *Lactobacillus rhamnosus*.

Дослідження показали, що біфідобактерії штаму *Bifidobacterium bifidum* №1 виявили якісний зріст в експериментальних живильних середовищах. Результати скринінгу довели, що введення досліджуваних речовин в живильне середовище супроводжувалось збільшенням кількості біфідумбактерій (10^{10} - 10^{11} КУО/мл). У контролі кількісні показники зросту біфідобактерій були виявлені на рівні 10^9 КУО / мл (табл.4.1.3).

За даними скринінгу *in vitro* пребіотичні властивості найбільш вираженими були у екстракта №4 до складу якого введений комплекс фенольних сполук з додаванням L-лізину.

Таблиця 4.1.3.

Результати кількісного визначення біфідобактерій та лактобактерій

Зразки		Біфідумбактерії	Лактобактерії
		КУО/мл	Кількість живих бактерій, млрд мікробних клітин
Живильне середовище екстрактом №2	з	10^{10}	$6,0 \pm 0,2$
Живильне середовище екстрактом №4	з	10^{11}	$6,2 \pm 0,2$
Контроль (живильне середовище додаткових компонентів)	без	10^9	$5,8 \pm 0,2$

Стосовно визначення впливу екстрактів шавлії на ростові властивості лактобактерій, встановлено, що додавання до складу живильного середовища екстракту №4 супроводжувалося збільшенням біомаси лактобактерій у 1,06, а екстракту №2 відповідно у 1 рази.

В результаті досліджень було встановлено, що культивування біфідобактерій *Bifidobacterium bifidum* №.1 та *lactobacillus L. rhamnosus* R0011 ND в умовах *in vitro* на середовищі з екстрактом шавлії №4 показало кращі темпи зростання та накопичення біомаси.

Таким чином, дослідження показали, що наявність пребіотичних властивостей у досліджуваних екстрактів *S.officinalis* супроводжується посиленням росту як біфідо-, так і лактобактерій.

Висновки до розділу 4.1:

За результатами проведеного дослідження встановлено, що рифаксимін у дозі 10 мг/кг виявляє виражену антибактеріальну активність та супроводжується зниженим рівнем кількісних показників нормальної мікрофлори кишечника, що обумовлює формування дисбіотичних розладів.

Застосування екстрактів *S. officinalis* показало в експерименті антагоністичну дію, порівняно з рифаксиміном, стосовно мікроорганізмів, що були використані для створення коліту у тварин, але не впливає на представників нормальної мікробіоти кишечника.

Встановлено, що пребіотична здатність найбільш притаманна екстракту *S.officinalis* до складу якого введений комплекс фенольних сполук з додаванням L-лізину.

Таким чином, в експерименті *in vivo* виявлено певну ефективність екстрактів *S. officinalis* для корекції дисбіотичних порушень, що виникали при експериментальному інфекційному коліті у щурів.

Список наукових праць опублікованих за матеріалами розділу:

1. 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 інтернет-конференції з міжнародною участю, м. Харків 21 листопада 2019 р. Харків: НФаУ, 2019. С. 49.*
2. 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. 4 с.
3. Спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями : пат. 122640 на винахід Україна. № a 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.

4. Verkhovodova Yu., 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; Vol.4. №301. P. 165-170.

5. Verkhovodova Y. V. Salvia officinalis extracts effect on dysbiotic gut microflora. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матеріали XXVII Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів, м. Харків 8-10 квітня 2020 р. Харків: НФаУ, 2020. Р 63.*

4.2. Динаміка гематологічних показників при використанні екстрактів *S. officinalis* в умовах експериментального коліту

На фоні відтвореної патології відбувалися зміни з боку показників периферійної крові: лейкоцитів, кількості еритроцитів та відповідно гемоглобіну, показника ШОЕ, що використовуються у діагностиці колітів [Пітер Р. Мак Нели под ред. З.А. Акросиной, 2005].

Дослідження проведені на початковому та кінцевому етапах лікування та відображені в таблицях 4.2.1 та 4.2.2.

Аналіз даних таблиці 4.3.1 підтвердив наявність вираженого запального процесу на фоні контрольної патології, про що свідчать значний лейкоцитоз, підвищення ШОЕ та зміни лейкоцитарної формули (достовірне підвищення кількості моноцитів, нейтрофілів по відношенню до інтактного контролю, зниження кількості еритроцитів та гемоглобіну). Також у цей період спостерігали зниження кількості лімфоцитів, що характеризує імуносупресію.

На 15-у добу лікування у тварин групи контрольної патології достовірно був знижений гемоглобін в 1,1 рази, кількість лейкоцитів зроста в 1,3 рази, а показник ШОЕ в 2,0 рази по відношенню до інтактного

контролю. Відмічались зміни з боку лейкоцитарної формули (підвищення кількості моноцитів та нейтрофілів і зниження кількості лімфоцитів). Отримані дані підтверджують наявність запального процесу.

Під дією досліджувальних екстрактів на 15 добу експерименту відмічалось нормалізація показників лейкоцитарної формули. Вплив екстрактів №2 та №4 на гематологічні показники периферичної крові щурів засвідчив достовірне збільшення рівня гемоглобіну та кількості еритроцитів у порівнянні з контрольною патологією. Спостерігалось достовірне зменшення кількості лейкоцитів, знизився показник ШОЕ, що свідчить про пригнічення запального процесу на тлі лікування. При застосуванні екстракту з шавлії з L-лізином (№4) зміни лейкоцитарної формули мали достовірно до контрольної патології позитивний характер: знизилась достовірно кількість нейтрофілів та збільшилась кількість лімфоцитів. Останнє вказує на пригнічення процесів імуносупресії при використанні досліджувального екстракту (№4).

На тлі використання препарату порівняння відбувалась поступова нормалізація гематологічних показників периферичної крові, але вони не досягли значень як у тварин з досліджувальними екстрактами.

Таблиця 4.2.1

Вплив досліджувальних екстрактів на гематологічні показники щурів на моделі експериментального коліту (3 доба), n=7

Показники	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Фітоекстракт №2 (50 мг/кг)	Фітоекстракт №4 (50 мг/кг)	Рифаксимін (10 мг/кг)
Гемоглобін, г/л	116,5±2,33	100,0±2,50*	105,3±2,41*	109,2±2,10*	101,5±2,6*
Еритроцити, 10 ¹² /л	4,5±0,15	3,3±0,18*	3,7±0,19*	3,7±0,16*	3,5±1,9*
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	7,73±0,1	14,1±0,41*	12,5±0,51*	12,9±0,61*	13,5±0,81*
Лейкоцитарна формула, %					
нейтрофіли	27,61±0,51	33,88±0,91*	33,62±1,30*	320,5±0,88*	34,5±0,77*
еозинофіли	1,76±0,25	3,75±0,16*	2,5±0,51*	2,6±0,48*	2,71±0,65*
моноцити	2,88±0,23	3,05±0,35	3,75±0,50	3,00±0,45	4,05±0,38
лімфоцити	68,13±1,67	59,63±1,33*	59,6±1,70	60,2±2,03	59,5±2,66
ШОЕ, мм/год	2,14±0,13	4,25±0,16*	3,88±0,15*	3,88±0,13*	4,0±0,17*

Примітка: * – відхилення достовірне щодо інтактного контролю, $p \leq 0,05$

** – відхилення достовірне щодо контрольної патології, $p \leq 0,05$

*** – відхилення достовірне щодо референс-препарату, $p \leq 0,05$

Таблиця 4.2.2

Вплив досліджувальних екстрактів на гематологічні показники щурів на моделі експериментального коліту (15 доба), n=7

Показники	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Фітоекстракт №2 (50 мг/кг)	Фітоекстракт №4 (50 мг/кг)	Рифаксимін (10 мг/кг)
Гемоглобін, г/л	117,0±2,46	107,3±3,01	112,5±3,05	115,1±2,71**	109,5±2,5
Еритроцити, 10 ¹² /л	4,06±0,13	3,58±0,14	4,03±0,16**	4,03±0,15**	3,82±0,10
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	7,52±0,51	10,25±0,25*	8,93±0,56	8,51±0,65**	9,32±0,71
Лейкоцитарна формула, %					
нейтрофіли	28,3±1,82	34,5±1,62*	29,5±2,31	28,5±1,72**	32,3±1,8
еозинофіли	1,83±0,25	2,83±0,31*	2,0±0,50	2,0±0,45	2,05±0,3
моноцити	2,5±0,32	3,21±0,25	2,95±0,42	2,83±0,31	3,3±0,41
лімфоцити	67,3±2,1	60,1±2,05*	63,5±2,20	65,2±2,15	61,3±2,0
ШОЕ, мм/год	2,18±0,14	3,83±0,31*	2,50±0,28**	2,14±0,14**	3,0±0,3

Примітка: * – відхилення достовірне щодо інтактного контролю, $p \leq 0,05$

** – відхилення достовірне щодо контрольної патології, $p \leq 0,05$

*** – відхилення достовірне щодо референс-препарату, $p \leq 0,05$

Висновки до розділу 4.2:

Лікування тварин досліджувальними екстрактами шавлії лікарської №2 та №4 в дозах 50 мг/кг на фоні експериментального коліту призвело до нормалізації гематологічних показників периферичної крові у щурів.

Екстракт №4 (фенольний + L-лізин) більш активно пригнічував запальні процеси у СОТК, чинив позитивний вплив на гематологічні показники периферичної крові щурів, перевищуючи дію препарату порівняння – рифаксиміну.

4.3 Динаміка біохімічних показників при використанні екстрактів з *S. officinalis* в умовах експериментального коліту.

Як свідчать експериментальні дані у тварин групи контрольної патології у сироватці крові, вміст сечовини був вищим у 1,6 разів за рівень сечовини у сироватці тварин з групи інтактного контролю. Рівень загального білка у тварин контрольної групи був у 1,3 рази нижчий відносно інтактних тварин, що є наслідком порушення діяльності ШКТ. Гіпопротеїнемія викликає розвиток ацидозу, що призводить до клубочкової недостатності нирок та ураження печінки у дослідних тварин на тлі сформованої патології [Джон Хопкінс, 2007, с.325]. Також на тлі експериментального коліту, який, згідно із зазначеним вище, набув характеру системної патології, на 15 добу лікування у групі КП спостерігали вірогідне підвищення рівня АлАТ у 2,4 рази в порівнянні з інтактом.

Здатність досліджувальних фітоекстрактів нормалізувати показники загального білка та сечовини свідчила про їх позитивну терапевтичну дію на протікання експериментальної патології. Під впливом фітоекстракту №2 у досліджувальній дозі, рівень сечовини майже нормалізувався, а рівень

загального білка дещо був підвищений в 1,1 рази у порівняння з показниками групи КП (таблиця 4.3.1).

Застосування фітоекстракту №4 (фенольний + L-лізин) достовірно зменшувало вміст сечовини та рівень загального білка в сироватці крові, а також рівень маркерного ферменту цитолізу АлАТ в 1,8 разів. Даний показник відповідав рівню інтактного контролю.

У тварин, яких лікували референс-препаратом рівень АлАТ зменшився в 1,2 рази, але в той же час, був вищим у 2 рази за рівень аналогічного показника у інтактних тварин. У сироватці крові рівень сечовини зменшився лише у 1,3 рази і не досягав до такого у інтактного контролю.

Результати дослідження процесів ПОЛ у гомогенаті кишечника характеризували за умов відтвореної патології ступінь ендогенної інтоксикації [107, 165]. У групі контрольної патології на 15 добу експерименту у гомогенаті тканини відмічали достовірно, щодо інтактного контролю, збільшення рівня ТБК-активних продуктів та зменшення рівня GSH. Вказані зміни підтверджують виразність патологічного процесу. Активація пероксидного окиснення мембранних ліпідів сприяла порушенню цілісності клітинних мембран, що призводило до цитолітичних процесів, про що було вказано вище та збігається з даними літератури [70, 91, 152, 165].

Під впливом екстрактів з шавлії лікарської на 15-ту добу експерименту рівень ТБК-активних продуктів значно зменшився, а під дією екстракту №4 достовірно зменшився відносно ІК. Рівень GSH був значно вищим за показник контрольної патології та препарату порівняння. Інактивація антиоксидантної системи (GSH) мала компенсаторний характер та була спрямована на інгібування ПОЛ (зменшення рівня ТБК-активних продуктів). Отримані результати свідчать про антиексудативну активність та підтверджують

**Вплив досліджувальних екстрактів на біохімічні показники у щурів на моделі експериментального коліту
(n=7)**

Показники	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Фітоекстракт №2 (50 мг/кг)	Фітоекстракт №4 (50 мг/кг)	Рифаксимін (10 мг/кг)
Біохімічні показники в сироватці крові					
Загальний білок, г/л	54,40±1,03	42,31±1,34*	46,52±1,82	48,22±1,74	44,47±1,19
Сечовина, ммоль/л	5,27±0,50	8,40±0,39*	6,05±0,48	5,73±0,22**	6,47±0,42
АЛАТ, ммоль/год·л	0,29±0,02	0,70±0,02*	0,43±0,04**	0,38±0,02**	0,57±0,03**
Біохімічні показники в гомогенаті тканини					
ТБК-АП, мкмоль/г	32,30±1,41	61,42±2,70*	48,30±4,19*/**	42,40±3,19**	55,80±2,70*
GSH, ум.од.	154,44±4,69	131,53±2,93*	140,50±3,03**	150,00±3,52**	135,62±2,31

Примітка: * – відхилення достовірне щодо інтактного контролю, $p \leq 0,05$

** – відхилення достовірне щодо контрольної патології, $p \leq 0,05$

*** – відхилення достовірне щодо референс-препарату, $p \leq 0,05$

встановлені раніше виразні мембраностабілізуючі та капіляррозміцнюючі властивості фітоекстрактів з *S. officinalis*.

На тлі лікування рифаксиміном (10 мг/кг) показник ТБК-активних продуктів залишався на рівні контрольної патології і поступався за числовим значенням фітоекстрактам. Рівень GSH залишався майже на рівні КП. Таким чином, препарат порівняння не виявив антиоксидантних властивостей і в умовах даної модельної патології поступився за рівнем терапевтичної дії досліджуваним фітоекстрактам №2 та №4.

Висновки до розділу 4.3:

За результатами біохімічних досліджень на тлі експериментального коліту у щурів підтверджені антиоксидантні, мембраностабілізуючі та протизапальні властивості фітоекстракти з шавлії лікарської №2 та №4 в дозі 50мг/кг, що за ефективністю значно перевищують препарат порівняння. За ефективність дії фітоекстракт №4 був більш активним по відношенню до екстракту №2.

РОЗДІЛ 5 МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТІНКИ ТОНКОГО ТА ТОВСТОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ІНТРАГАСТРАЛЬНОМУ ЗАСТОСУВАННІ ЕКСТРАКТІВ *S. OFFICINALIS* ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІНФЕКЦІЙНОГО КОЛІТУ У ЩУРІВ

5.1 Морфологічна характеристика тонкого і товстого кишечника в групі порівняння (інтактні тварини).

Слизова оболонка (СО) тонкого кишечника представлена кишковими ворсинками пальцевидної форми. Епітеліальна вистілка збережена на всьому протязі, вона утворена шаром призматичних ентероцитів, між якими визначаються келихоподібні клітини. У цитоплазмі останніх міститься багато слизового секрету, ядро відтиснуто в базальну частину. У складі еозинофільного слизового секрету в просвіті кишки - окремі слущені ентероцити. Оскільки покривний епітелій, займаючи прикордонне положення, постійно зазнає впливу травмуючих чинників, епітеліоцити швидко «зношуються», гинуть і десквамуються. Джерелом відновлення загиблих ентероцитів є стовбурові клітини в епітелії крипт. Субепітеліальна базальна мембрана тонка, чітко виражена. У власній пластинці слизової оболонки (ВПСО), утвореної пухкою сполучною тканиною, визначалися кишкові залози. Тут же у вигляді дифузної клітинної інфільтрації - нечисленні лімфоцити, макрофаги, плазматичні клітини, фібробласти і фіброцити, а також солітарні лімфоїдні фолікули (Рис. 5.1.1).

Підслизова оболонка (ПО) представлена тонким шаром пухкої сполучної тканини з мережею помірно повнокровних кровоносних і лімфатичних судин. Також в ПО виявлялися макрофаги, плазматичні клітини, лімфоцити (Рис. 5.1.1).

М'язова оболонка (МО) утворена циркулярним і поздовжнім шарами гладкої мускулатури. Міжм'язова сполучна тканина з ознаками незначного набряку.

У СО, ПО і МО помірно виражене повнокров'я судин мікроциркуляторного русла.

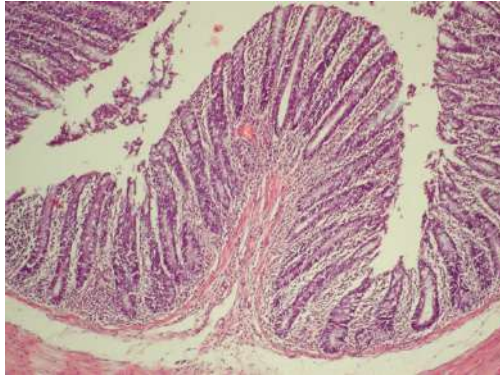


Рис. 5.1.1. Тонкий кишечник. Гістологічна будова відповідає нормі. Епітеліальна вистілка збережена на всьому протязі. Інтактні тварини. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 100$

Епітеліальний покрив СО товстого кишечника представлений цілісним шаром колоноцитів, серед яких виявлялися келихоподібні клітини зі світлою цитоплазмою. На поверхні епітеліального покриву визначався еозинофільний слиз, в якому виявлялися в невеликій кількості десквамовані епітеліоцити. Субепітеліально базальна мембрана рівномірно тонка. ВПСО містила невелику кількість дифузно розсіяних клітинних елементів: макрофагів, лімфоцитів, поодиноких плазмоцитів, а також фібробластів і фіброцитів. У ВПСО визначалися тісно розташовані крипти, в отворах яких також визначалася еозинофільна слиз (Рис. 5.1.2), а в базальному відділі ВПСО виявлялися щілиновидні лімфатичні судини.

Підслизова основа (ПО) з невеликою кількістю дифузно розсіяних клітинних елементів - макрофагів, лімфоцитів, фібробластів, фіброцитів. Відзначається помірне повнокров'я судин мікроциркуляторного русла.

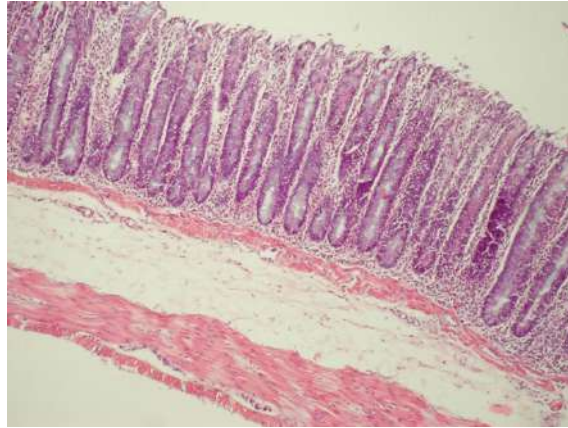


Рис. 5.1.2. Товстий кишечник. Гістологічна будова відповідає нормі. Інтактні тварини. Зabarвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$

5.2 Морфологічні зміни в тонкому і товстому кишечнику у контрольних тварин (модель з мікробним навантаженням).

У тварин даної групи спостережень виявлялася картина катарально-десквамативного, катарально-ерозивного і ерозивно-виразкового ентероколіту.

У тих спостереженнях, де мав місце катарально-десквамативний ентероколіт, на поверхні СО і в просвіті тонкого і товстого кишечника визначався слиз, скупчення нейтрофілів і велика кількість десквамованного епітелію. У ВПСО спостерігався великий набряк і виражена запальна інфільтрація за участю нейтрофілів, лімфоцитів, еозинофілів, плазматичних клітин (Рис. 5.2.1).

У ПО тонкого і товстого кишечника також спостерігався набряк, дифузна запальна інфільтрація і повнокров'я кровоносних і лімфатичних судин. Запальний інфільтрат був представлений макрофагами, лімфоцитами і нейтрофільними гранулоцитами.

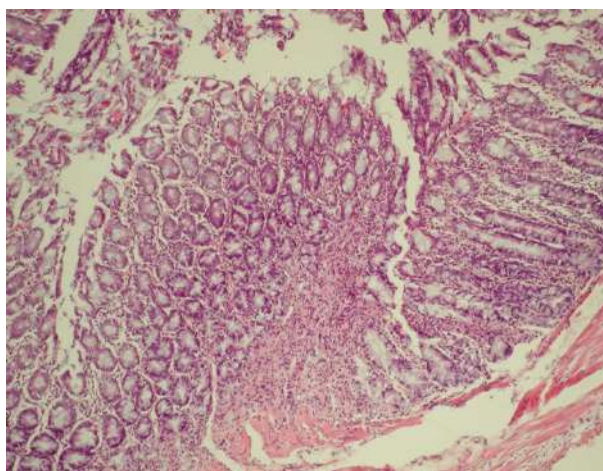


Рис. 5.2.1. У просвіті тонкого кишечника слиз і десквамований епітелій. У ВПСО набряк з вираженою запальною інфільтрацією. Модель з мікробним навантаженням. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$

У МО виявлялися ознаки набряку та дистрофічні зміни в нервових стовбурах і вузлах м'язово-кишкового сплетіння. Зазначалося помірно виражене повнокров'я судин мікроциркуляторного русла.

У товстому кишечнику в зонах зі збереженою СО крипти, в порівнянні з групою інтактних тварин, були вкорочені, розташовувалися значно менш щільно, мали розширені просвіти. Келихоподібні клітини великі, округлі, з ознаками гіперсекреції слизу. У ділянках катарально-виразкового ураження крипти були відсутні, а у ВПСО визначалася виражена запальна інфільтрація з макрофагів, лімфоцитів і нейтрофілів (Рис. 5.2.2).

У зонах максимально виражених некробіотичних і десквамативних змін виявлялися не тільки поверхневі і глибокі ерозії, але також виразки і крипт-абсцеси, представлені скупченнями нейтрофілів в підставі крипт, з руйнуванням останніх (Рис. 5.2.3).

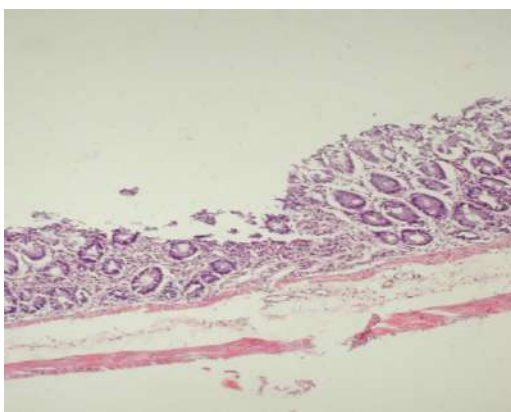


Рис. 5.2.2. Товстий кишечник. В ділянці виразкового ураження СО виражена запальна інфільтрація. Модель з мікробним навантаженням. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$

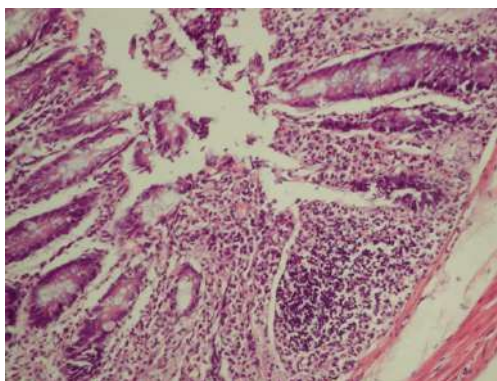


Рис. 5.2.3. Тонкий кишечник. Формування крипт-абсцесів. Модель з мікробним навантаженням. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$

5.3 Морфологічні зміни тонкого і товстого кишечника у тварин з групи екстракту №2 50 мг/кг.

У тонкому і товстому кишечнику на тлі використання дози 50 мг/кг 50% екстракту з листя *S. officinalis* з боку епітеліального покриву мали місце помірні дистрофічні і слабо виражені десквамативні зміни. Запальні зміни помітно слабшали, інфільтрація ВПСО і ПО, хоча і носила дифузний характер, була представлена лімфоцитами, гістіоцитами, одиничними макрофагами, але в той же час нейтрофіли не виявлялися. Ерозії визначалися рідше і мали

переважно поверхневий характер (Рис. 5.3.1, рис. 5.3.2). Гіперплазія келихоподібних клітин і гіперсекреція слизу були відсутні. В усіх прошарках тонкого і товстого кишечника спостерігалася помірна гіперемія, в той же час лейкоцитарні стази не визначались.

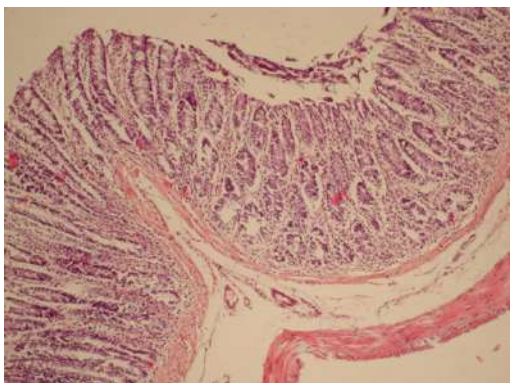


Рис. 5.3.1. Тонкий кишечник. Помірні дистрофічні і слабо виражені десквамативні зміни ентероцитів. 50 мг/кг екстракту №2. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$

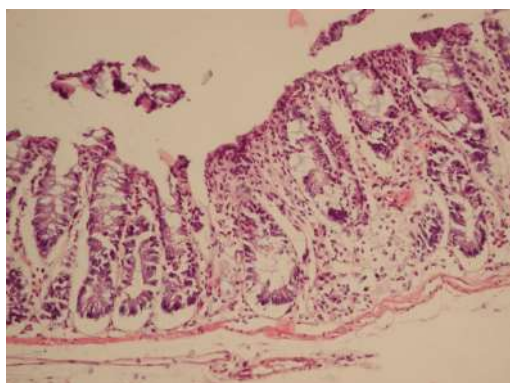


Рис. 5.3.2. Товстий кишечник. Ослаблення запальних, дистрофічних і десквамативних змін колоноцитів. 50 мг/кг екстракту №2. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$

5.4 Морфологічні зміни тонкого і товстого кишечника у тварин групи екстракту №4 50 мг/кг.

У тонкому кишечнику на тлі застосування 50 мг/кг екстракту №4 з боку покривного епітелію були відзначені дистрофічні зміни і помірно виражена

десквамація епітелію, а також нечисленні поверхневі гострі ерозії. Гіперплазія келихоподібних клітин і гіперсекреція слизу не характерні. У запальному інфільтраті, який виявлявся в ВПСО і ПО, визначалися лімфоцити, гістіоцити, поодинокі макрофаги. В усіх прошарках кишечника спостерігалось повнокров'я судин.

На всьому протязі товстого кишечника в запальному інфільтраті, який визначався у ВПСО і ПО, виявлялися лімфоцити, гістіоцити і макрофаги (Рис. 5.4.1). Для колоноцитів характерні дистрофічні зміни і помірно виражена десквамація. Ерозії виявлялися не постійно, носили поверхневий характер. Гіперплазія келихоподібних клітин і гіперсекреція слизу були виражені.

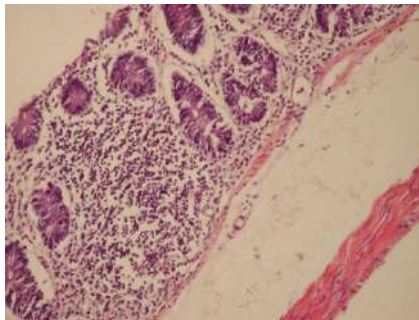


Рис. 5.4.1. Товстий кишечник. Виражені запальні зміни за участю лімфоцитів, гістіоцитів і макрофагів у ВПСО. 50 мг/кг екстракту №4. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 200$

Запальні прояви істотно слабшали у тонкому кишечнику, інфільтрація ВПСО і ПО була представлена лімфоцитами, гістіоцитами без участі нейтрофілів і макрофагів. Визначалася гіперплазія лімфоїдних фолікулів і поверхневе ерозування СО (Рис. 5.4.2).

На всьому протязі товстого кишечника в запальному інфільтраті, який визначався не тільки у ВПСО, але і в ПО, визначалися лімфоцити, гістіоцити і макрофаги. Для колоноцитів були характерні слабо виражені дистрофічні і

десквамативні зміни. Ерозії носили поверхневий характер. Гіперплазія келихоподібних клітин і гіперсекреція слизу були відсутні.

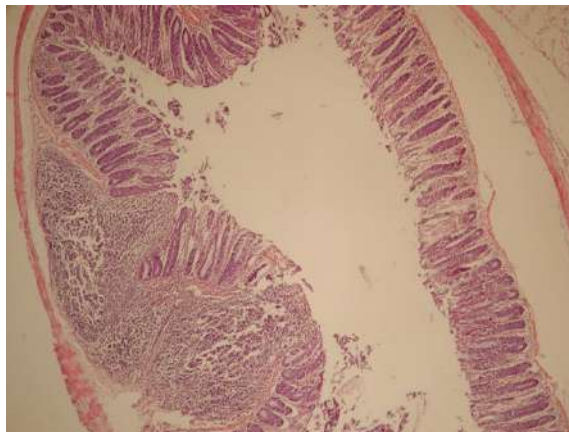


Рис. 5.4.2. Тонкий кишечник. Гіперплазія лімфоїдного фолікула. 50 мг/кг екстракту №4. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 50$

Висновки до розділу 5:

1. У групі інтактних тварин (порожній контроль) будова тонкого і товстого кишечника морфологічно відповідає нормі. Зміни дистрофічного, запального або циркуляторного характеру в тонкому і товстому відділах кишечника відсутні.
2. Індукована мікробним навантаженням патологія кишечника є адекватною моделлю експериментального ентероколіту. В умовах даної моделі у експериментальних тварин розвивався катарально-десквамативний, катарально-ерозивний та ерозивно-виразковий ентероколіт, морфологічні прояви якого варіювали від помірних до виражених.
3. Для групи спостережень, в якій тварини отримували екстракт №2 з листя *S. officinalis*, характерний позитивний ефект при призначенні екстракта №2 50 мг/кг, який характеризувався ослабленням дистрофічних, десквамативних, запальних та ерозивно-виразкових процесів у порівнянні з модельною патологією. Зменшувалася гіперплазія келихоподібних клітин і гіперсекреція

слизу і посилювалася гіперплазія лімфоїдних фолікулів з ознаками плазматизації. Таким чином, підтверджені деякі (протизапальні, епітелій-протекторні і опосередковані імуностимулюючі) ефекти екстракту №2 з листя *S. officinalis*.

4. У групі спостережень, де тварини отримували екстракт №4 50 мг/кг, відзначалася позитивна морфологічна динаміка, яка характеризувалася ослабленням дистрофічних, десквамативних, запальних та ерозивно-виразкових процесів. Була виражена гіперплазія лімфоїдних фолікулів з їх плазматизацією. Таким чином, як і в попередній групі спостережень, знайшли підтвердження протизапальні, епітелій-протекторні та ознаки опосередкованого імуностимулюючого ефектів даного екстракта.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Широке використання антибіотиків обумовлює актуальність проблеми ААД та дисбіотичних порушень асоційованих з нею. Вищеописані стани значно погіршують якість життя пацієнтів працездатного віку та можуть призвести до значних економічних та соціальних наслідків, в тому числі до інвалідизації. Існує проблема циркуляції *C. difficile* серед госпітальних хворих, що отримували антибіотики. Інфікування *C. difficile* може обумовлювати більш тяжкий перебіг ААД, аж до розвитку ПМК. Інше актуальне питання є розвиток бактеріальної антибіотикорезистентності. У свою чергу розвиваються порушення нормального складу біологічних ніш макроорганізму, ентеротоксинопродукція, зменшення кількості нормофлори, збільшення кількості патогенної та умовно патогенної мікрофлори кишечника.

З літературних джерел відомо про антимікробні, протизапальні, в'яжучі, ранозагоюючі та інші властивості *S. officinalis*, також вона росте на Україні і є вітчизняна сировинна база. В сучасній науці різні автори активно досліджують та публікують дані про фармакологічні властивості біологічно активних речовин *S. officinalis*. Тож ця рослина є перспективною. Кафедрою фармакогнозії було отримано та надано для дослідження 11 екстрактів *S. officinalis* різної хімічної структури (в тому числі екстракти модифіковані амінокислотами L-лізин та L-аргінін). Усе це є основою для дослідження фармакологічних ефектів екстрактів на основі *S. officinalis*. Ми дослідили фармакологічні властивості наступних екстрактів *S. officinalis*: відвар *S. officinalis*, 50% екстракт *S. officinalis*, 96% екстракт *S. officinalis*, комплекс фенольних сполук з L-лізином, комплекс фенольних сполук з аргініном, полісахаридний комплекс, очищений комплекс, сапоніновий комплекс, фенольний комплекс, флавоноїдний комплекс, гідроксикоричний комплекс.

За методичними рекомендаціями доклінічних досліджень нових біологічно активних сполук першочерговою задачею стало дослідити гостру токсичність новостворених екстрактів *S. officinalis*. Дані проведених досліджень переконливо доводять, що усі сполуки відносяться до V класу токсичності за класифікацією К.К. Сидорова, тобто є практично нетоксичними речовинами.

Наступним етапом стало визначення антимікробної активності на музейних штамах *in vitro*. Встановлено, що усім дослідженим сполукам притаманна антимікробна дія різного рівня вираженості. Це обумовлено наявністю в складі екстрактів альфа та бета туйону, розмаринової кислоти, цинеолу, поліфенольних та фенольних сполук. Модифікація екстракта №2 (50% екстракт *S. officinalis*) шляхом додавання амінокислоти L-лізину (екстракт №4 – комплекс фенольних сполук з L-лізином) виявила більш виражену антимікробну дію відносно штамів умовно-патогенних мікроорганізмів у порівнянні з екстрактом № 2. Найбільш виражену антимікробну дію по відношенню до грам + та грам – флори мав екстракт № 4 (комплекс фенольних сполук з L-лізином). Як препарат порівняння використовували листя *S. officinalis* (Ліктрави).

В результаті дослідження діуретичної активності виявлено, що з 11 екстрактів, тільки екстракт №7 (очищений комплекс) не має антидіуретичної дії. Зниження об'єма виведеної сечі відбувалось на рівні 15,7-58,3% порівняно з показником інтактних тварин. Найбільш вираженим антидіуретичним ефектом володіють екстракти, що містять у своєму складі фенольні сполуки у суміші з амінокислотами L-лізином або L-аргініном. Ці екстракти знижують діурез у щурів в діапазоні доз від 10 мг/кг до 50 мг/кг. Антидіуретичний ефект практично повністю зникає при очищенні фенольного екстракту листя шавлії лікарської від катіонів металів та амінокислот. Антидіуретичний ефект

досліджених екстрактів (окрім екстракта № 7) має дозозалежний ефект і виявляється у низьких дозах і зникає при збільшенні дози з 70 мг/кг. Відомо, що гідроксикоричні кислоти можуть пригнічувати синтез простагландинів, тож ймовірно в основі антидіуретичної дії може полягати саме цей механізм. Амінокислоти L-лізин та L-аргінін, вірогідно, потенціюють цей ефект.

Наступним етапом було досліджено антиексудативну активність 11 екстрактів *S. officinalis*. Усі досліджені екстракти, що мали АА були умовно поділені на 4 категорії: а) ті, що не виявили статистично значущого впливу на цей показник; б) ті, що зменшували набряк протягом всього періоду спостереження (з 1-ї по 4-у годину); в) ті, що знижували набряк лише на початку спостереження (1-2 година); г) ті, які редукували набряк лапки наприкінці спостереження (3-4 година).

Було встановлено, що 9 з 11 екстрактів мають виразну антиексудативну активність та зменшують набряк лапки щурів на 26-100%. Екстракт № 5, 6 (аргініновий комплекс, полісахаридний комплекс) не мають статистично значущого впливу на запалення на моделі карагенінового набряку. L-аргінін, що входить до складу екстракта № 5 може включатися у метаболічні шляхи запальної реакції та посилювати її. L-аргінін може бути субстратом для утворення газоподібного оксиду азоту (II), що є медіатором запалення. Також, L-аргінін здатний перетворюватись на інші біомолекули (поліаміни, пролін), які мають провідну роль у запаленні. Екстракти №№ 1, 2, 4, 11 (відвар *S. officinalis*, 50% екстракт *S. officinalis*, фенольний екстракт *S. officinalis* з додаванням L-лізину, комплекс гідроксикоричних сполук *S. officinalis*) зменшують запалення під час 1-4 години експеримента.

Оскільки фітосполуки у скринінгових дослідженнях щодо діуретичної активності показали дозозалежний ефект, була вибрана умовно терапевтична доза, що склала 50 мг/кг. Також за більш активною дією були обрані 2 сполуки

– фенольний комплекс з L-лізином (№4) та фітоекстракт №2 – комплекс фенольних сполук.

Більшість лікарських рослин, що використовуються у терапії захворювань ШКТ, мають протизапальну, кровоспинну, капіляррозміцнювальну, мембраностабілізуючу, антимікробну дію [161].

Приймаючи до уваги патогенетичні механізми запалення та клінічний перебіг уражень тонкого і товстого кишечника терапевтичну цінність становлять лікарські рослини, які у своєму складі містять фенольні сполуки, яким притаманна різна фармакологічна активність.

Тому фітокомплекси з *S.officinalis* викликали інтерес щодо вивчення антиексудативних властивостей на моделях запалення різного генезу [13].

Рослинні поліфеноли мають універсальний механізм дії завдяки вираженим комплексоутворюючим властивостям; здатності з'єднуватись з білками, антиоксидантній та мембраностабілізуючій дії, здатності ущільнювати цитоплазму і міжклітинну рідину, що на мікроциркуляторному рівні призводить до гальмування обміну рідиною між судинами та тканиною [3]. Пригніченню процесу ексудації сприяють також виражені капіляррозміцнювальні властивості фенольних сполук, обумовлені стабілізацією клітинних, внутрішньоклітинних мембран та пригніченням гіалуронідази [29].

За результатами дослідження антиексудативна активність (АА) препарату порівнянна з диклофенаком натрію і склала у середньому 86% проти групи позитивного контролю.

Протинабрякова дія диклофенаку за цих умов виявилася протягом усього періоду спостереження, поступово зростаючи на 4 години. Це засвідчує виражену протизапальну дію його, добре описану в літературних джерелах [95].

До категорії екстрактів *S.officinalis*, які виявили антиексудативну активність протягом перших 4 годин спостереження в дозі 50 мг/кг, належать фітоекстракти №№ 1, 2, 4 та 11. З чотирьох досліджуваних екстрактів найбільш виразну протизапальну активність виявили фітокомплекс №4 (фенольний комплекс з L-лізином) та фітокомплекс №2 (фенольний комплекс на основі 50% розчину етанолу).

Таким чином, отримані експериментальні дані свідчать про наявність виразної протизапальної дії різних фракцій *S.officinalis*, що виявляється за умов циклооксигеназного запального процесу. Тільки фенольний комплекс екстракту *S.officinalis* (№2), а також фенольний комплекс у суміші з L-лізином виявили позитивний вплив на усі фази запалення.

Для з'ясування можливого механізму антиексудативної дії в подальшому досліджували 2 фітокомплекси №2 та №4.

Наявність літературних даних про виразний гальмівний вплив рослинних поліфенолів на утворення лейкотриєнів, одного з провідних чинників розвитку запального процесу, обумовила доцільність проведення дослідження антиексудативної активності фітокомплексів №№2 та 4 на моделі зимозанового набряку.

В умовах зимозанового набряку в дозі 50 мг/кг фітокомплекси виявили помірну антиліпооксигеназну активність. Протизапальна дія досліджуваних фітокомплексів №№2 та 4 скала менш виразну протизапальну дію (40,6% та 44,0%, відповідно), ніж референс-препарат кверцетин у дозі 50 мг/кг (46,3%), але не була достовірною.

Враховуючи експериментальні дані, можна припустити, що протизапальна дія досліджуваних фітоекстрактів пов'язана з впливом на простагландинову та лейкотриєнову фази запалення. Антиексудативний ефект

фітокомплексів, на нашу думку, зумовлений наявністю в його складі комплексу флавоноїдів, які виявили даний ефект [3].

З літературних джерел відома здатність флавоноїдів інгібувати фосфоліпази, ЦОГ і частково ліпооксигеназу, тим самим гальмувати каскад арахідонової кислоти, синтез ПГ, лейкотриєнів [48].

Відомо, що флавоноїди здатні збільшувати зв'язування гістаміну з білками, послаблюючи тим самим його дію та зменшуючи судинну проникність під час запалення.

Відомо, що протизапальна дія лікувальних засобів реалізується за рахунок їх мембраностабілізуючих та антиоксидантних властивостей, а також стабілізації клітинних мембран та зменшення проникності судинної стінки [46].

На моделі спонтанного гемолізу еритроцитів у досліджуваних фітокомплексів була встановлена здатність стабілізувати мембрани клітин. На рівні вітаміну Е була мембраностабілізуюча дія у фітоекстракті №2. Фітокомплекс №4 достовірно перевищував за цим показником референс-препарат та довів мембранопротекторні властивості.

В основі розвитку запального процесу слизової оболонки товстого кишечника лежить підвищення судинної (капілярної) проникності. Враховуючи дані літератури про капіляррозміцнювальні властивості рослинних поліфенолів [3], цікавим було вивчення впливу фітоекстрактів на проникність судин передньої черевної стінки у щурів.

Встановлено, що досліджувані фітоекстракти виявили виразну капіляррозміцнювальну активність по відношенню до контрольної групи. Найбільш виражений судинозміцнювальний ефект проявив фітокомплекс №4 при підвищенні судинної проникності, що викликана ін'єкцією формаліну,

карагеніну та гістаміну. Профарбування цих сполук сповільнювалась у 2,0, 1,8 та 1,7 рази у порівнянні з контрольною групою.

Результати експерименту свідчать про те, що фітокомплекс, модифікований L-лізином проявляє протизапальну дію за наявності у його складі фенольних сполук, які мають здатні послаблювати активність біогенних амінів, внаслідок чого знижується проникність судинної стінки, що корелює з даними літератури [2].

Застосування фітопрепаратів, яким притаманна антимікробна активність, вимагає вивчення впливу досліджуваних зразків на мікробіоту кишечника. Тому наступним етапом досліджень стало визначення антимікробних властивостей фітоекстрактів в умовах експериментального інфекційного коліту. Враховуючи отримані раніше результати щодо антимікробних властивостей екстрактів шавлії, як найбільш ефективні, в умовах скринінгу *in vivo* були використані фітоекстракти №2 (50% екстракт *S. officinalis*) та №4 (комплекс фенольних сполук *S. officinalis* з L-лізином). Для відтворення у щурів експериментального інфекційного коліту використовували циклофосфамід (перші 7 діб) з наступним інтрагастральним введенням протягом 3-х діб суміші мікроорганізмів (*S.aures*, *C.perfringens*, *C.albicans*). Корекцію дисбіотичних змін проводили шляхом п'ятиденного інтрагастрального введення 50% екстракта *S. officinalis* (експериментальна група №1) та комплексу фенольних сполук з L-лізином (експериментальна група №2) у дозах 50 мг/кг. Отримані результати порівнювали з групою контролю патології та групою, де застосовували препарат порівняння рифаксимін (доза 10 мг/кг).

Результати досліджень випорожнень тварин групи 1 показали відновлення загальної кількості *E. coli*. В групі № 2 (комплекс фенольних сполук з L-лізином *S. officinalis* у дозі 50 мг/кг) загальна кількість *E. coli* також

відновились до нормальних показників у 100% випадків, але відрізнялась за розподілом та була вищою на порядок ($1 \cdot 10^6$ КУО/г) у порівнянні з групою 1, що свідчить про більш потужний ефект. При аналізі випорожнень у групі тварин 1 на вміст *S. aureus* виявлено зменшення кількісних показників до рівня 10^4 - 10^5 КУО/г у співвідношенні 50%/50% тварин. Одночасно в експериментальній групі 2 встановлено зниження рівня кількісних показників стафілококів до 10^4 КУО/г - 10^5 КУО/г, але у співвідношенні 66,7%/ 33,3% відповідно.

Тож, фітоекстракт шавлії лікарської №2 виявив більш виражену антимікробну дію по відношенню до *S. aureus*. Одночасно оба фітоекстракти виявили здатність нівелювати кількість *C. albicans* та нормалізувати показники нормобіоти кишечника. крім того під дією досліджуваних фітоекстрактів зменшилась частота виявлення клостридій зі 100% до 34% випадків у кожній групі, що вказує на антиклостридіальну здатність екстрактів *S. officinalis*.

Особливий інтерес викликає вплив фітоекстрактів *S. officinalis* на стан нормпальної мікрофлори. Результати досліджень доводять, що застосування досліджуваних екстрактів шавлії лікарської супроводжувалося відновленням на 1-2 порядки кількісних показників біфідо- та лактобактерій. Так, при застосуванні 50% екстракту *S. officinalis* рівень біфідобактерій досягав $1 \cdot 10^6$ КУО/г (норма 10^6 - 10^9 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 при застосуванні комплексу фенольних сполук з L-лізином кількість біфідобактерій підвищувалась до $1 \cdot 10^8$ КУО/г у 50% тварин та $1 \cdot 10^7$ КУО/г у 50% тварин. Визначення кількості лактобактерій показало, що у тварин групи №1 рівень виявлення становив $1 \cdot 10^6$ КУО/г у 66% , а $1 \cdot 10^7$ КУО/г у 34%, в той час як в групі тварин №2 кількість лактобактерій спостерігалась на рівні $1 \cdot 10^7$ КУО/г у 83,6% та $1 \cdot 10^8$

КУО/г у 16,7% щурів. Тож, комплекс фенольних сполук з додаванням L-лізину *S. officinalis* більш потужно впливав на співвідношення нормальної індигенної мікрофлори щурів, аніж 50% екстракт *S. officinalis*. При застосуванні рифаксиміна в дозі 10 мг/кг не призводило до відновлення стану нормальної мікрофлори кишечника та не виявляв антифунгальної активності.

Отримані результати, що показали позитивний вплив досліджуваних екстрактів на представників нормальної мікрофлори дозволив припустити наявність пребіотичної здатності у екстрактів шавлії лікарської. Для вивчення цих особливостей досліджуваних речовин був проведений скринінг. Згідно з отриманими даними встановлено, що культивування біфідобактерій на живильних середовищах до складу яких були додані екстракти *S.officinalis*, супроводжувалося збільшенням біомаси біфідобактерій на 2 порядки у порівнянні з контролем (10^9 КУО/мл). Оцінюючи ростові властивості модифікованих живильних середовищ, встановлено, що середовище з екстрактом №4 перевищував у 1,1 рази активність фітоекстракту №2 та контроль у 1,2 рази. Стосовно визначення впливу досліджуваних екстрактів на росові властивості лактобактерій, встановлено, що додавання до живильних середовищ комплексу фенольних сполук з додаванням L-лізину (екстракт №4) супроводжувалося збільшенням кількісних показників лактобактерій у 1,06 рази у порівнянні з контролем. На живильному середовищі з додаванням екстракту №2 активність була дещо нижчою.

За даними проведеного скринінгу *in vitro* виявилось, що пребіотичні властивості найбільш вираженими були у екстракта №4 до складу якого введений комплекс фенольних сполук з додаванням L-лізину.

Під дією досліджуваних фітоекстрактів нормалізувались гематологічні показники у щурів, що підтверджує їх протизапальну дію. Спостерігалось достовірне ($p \leq 0,05$) збільшення рівня гемоглобіну та кількості еритроцитів у

порівняння з контрольною патологією. Відбулось достовірне зменшення загальної кількості лейкоцитів, знизився показник ШОЕ, що свідчить про пригнічення запального процесу на тлі лікування.

При застосуванні фітокомплексу №4, зміни лейкоцитарної формули мали достовірно, по відношенню до КП, позитивний характер: достовірно ($p \leq 0,05$) знизилась кількість нейтрофілів та збільшилась кількість лімфоцитів. Останнє вказує на пригнічення процесів імуносупресії при використанні досліджуваного екстракту (№4).

На тлі використання препарату порівняння – рифаксиміну відбувалась поступова нормалізація гематологічних показників периферійної крові, але вони були менш показова, та не досягали до значень інтактного контролю.

Під дією фітокомплексу в модифікації з L-лізином знижувався рівень сечовини та підвищувався рівень загального білка та активність ферменту АлАТ у 1,8 рази, що свідчить про нормалізацію процесів метаболізму.

У тварин, яких лікували фітокомплексом №2, позитивні біохімічні зміни були менш виражені.

Лікування тварин рефернс-препаратом показало деяке зменшення рівня загального білка, але ці показники не були достовірні по відношенню до КП, та значно відрізнялися від ІК.

Під впливом фітокомплексів з *S. officinalis* рівень ТБК-АП у гомогенаті значно зменшився у порівнянні з нелікованими тваринами. Пригнічення процесів ПОЛ може бути пов'язане, як з антирадикальною дією поліфенолів, що входять до складу фітокомплексів, так і з стимулюючими властивостями антиоксидантної системи. Рівень CSH був вищим за показник контрольної патології та препарату порівняння у фітокомплексу №4 у 1,14 та 1,1 рази відповідно у фітокомплексу №2 у 10,7 та 10,3 рази відповідно. Відновлення вмісту CSH забезпечило компенсацію процесів ПОЛ, що відбулося зниженням

рівня ТБК-АП на 30,9% під дією фітоекстракту №4 та 21,8% - під дією фітоекстракту №2.

Отримані результати свідчать про виразну антиоксидантну активність досліджуваних фітокомплексів, та підтверджують встановлені раніше мембраностабілізуючі властивості.

Наступним етапом стало морфологічне дослідження стінки тонкого та товстого кишечника щурів при інтрагастральному застосуванні екстрактів *S. officinalis* при дисбіотичних порушеннях, що розвинулись на фоні інфекційного коліту у щурів. Ми дослідили екстракт №2 та №4 у дозах 50 мг/кг у порівнянні з моделлю з мікробним навантаженням помітно слабшали дистрофічні, десквамативні і запальні зміни. Таким чином, на підставі морфологічного дослідження в описаних групах підтверджені деякі протизапальні, епітелій-протекторні ефекти.

ВИСНОВКИ

ААД та дисбіотичні порушення, які виникають внаслідок застосування антибіотиків є актуальною проблемою в медицині. *S. difficile* може ускладнювати перебіг ААД та призводити до зростання смертності, інвалідизації населення працездатного віку, знижувати якість життя. Згідно літературних даних *S. officinalis* має антимікробні, протизапальні, антиканцерогенні, антимутагенні, ранозагоюючі, кровоспинні, гіполіпідемічні, гіпоглікемічні, нейропротективні, імуномодулюючі та інші фармакологічні ефекти. Нами було досліджено фармакологічні властивості та залежність доза-ефект оригінальних екстрактів отриманих з листя *S. officinalis*: відвар *S. officinalis* (екстракт №1), 50% екстракт *S. officinalis* (екстракт №2), 96% екстракт *S. officinalis* (екстракт №3), комплекс фенольних сполук з додаванням L-лізіна (екстракт №4), комплекс фенольних сполук з аргініном (екстракт №5), полісахаридний комплекс (екстракт №6), очищений комплекс (екстракт №7), сапоніновий комплекс (екстракт № 8), фенольний комплекс (екстракт №9), флавоноїдний комплекс (екстракт №10), комплекс гідрофільних фенольних сполук (екстракт №11). В результаті дисертаційного дослідження було вирішено поставлені наукові завдання та отримано наступні результати:

1. В результаті дослідження гострої токсичності екстрактів з листя *S. officinalis* встановлено, що при внутрішньошлунковому введенні лабораторним мишам обох статей екстракти відносяться до V класу, практично нетоксичні речовини згідно з загальноприйнятою класифікацією за К.К. Сидоровим.
2. Нами було досліджено антимікробну активність 10 % водних екстрактів *S. officinalis*. У більшості вони мали антимікробну дію на рівні слабоактивних або активних речовин. Це можна пояснити наявністю в складі екстрактів

альфа та бета туйону, цинеолу, розмаринової кислоти, фенольних та поліфенольних сполук. Включення L-лізину до 50% екстракта *S. officinalis* (екстракт № 4) - забезпечувало більш виражену антимікробну дію на більшість штамів у порівнянні з екстрактом №2 *S. officinalis*. Включення аргініну до екстракта №2 *S. officinalis* не вплинуло на антимікробну активність.

3. Наступним етапом було дослідження впливу екстрактів *S. officinalis* на видільну функцію нирок у щурів за умов водного навантаження. 10 з 11 екстрактів знижують об'єм виведеної сечі на 15,7-58,3% порівняно з показником інтактних тварин. Найбільшим антидіуретичним ефектом володіють екстракт №4, екстракт №5 в діапазоні доз від 10 мг/кг до 50 мг/кг. В основі антидіуретичної дії екстрактів листя *S. officinalis* може полягати здатність гідроксикоричних кислот пригнічувати синтез простагландинів. Амінокислоти L-лізин та L-аргінін, імовірно, потенціюють цей ефект досліджуваних екстрактів. В результаті дослідження виявлено, що якщо очистити 50% екстракт *S. officinalis* від катіонів металів та амінокислот антидіуретичний ефект практично повністю зникає. Зменшення діурезу у щурів на фоні застосування екстрактів (№№ 1, 2, 3 та 6, 8, 9, 10, 11) є дозозалежним і виявляється у більш низьких дозах (10-20 мг/кг) та повністю зникає при зростанні дози до 70 мг/кг. Виявлені закономірності необхідно враховувати при фармакотерапії захворювань з використанням екстрактів *S. officinalis*.

4. Сполуками-лідерами обрано екстракт №2, екстракт №4. Умовно-терапевтична доза 50 мг/кг.

5. Наступним було досліджено протизапальну фармакологічну активність екстрактів *S. officinalis* на моделі карагенінового та зимозанового набряку. 9 з 11 екстрактів виявляють виражену антиексудативну активність, зменшуючи запалення лапки щурів на 26-100%. Комплекс фенольних сполук *S. officinalis*

із L-аргініном (екстракт № 5) та полісахаридний комплекс *S. officinalis* (екстракт № 6) не мають антиексудативної активності. Відвар *S. officinalis* (екстракт № 1), 50% екстракт *S. officinalis* (екстракт № 2), фенольний комплекс з додаванням L-лізину (екстракт № 4) та комплекс гідроксикоричних сполук *S. officinalis* (екстракт № 11) зменшували запалення під час 1-4 години експеримента, АА 31-100%. 50% екстракт *S. officinalis*, очищений комплекс (екстракт № 7), сапоніновий комплекс (екстракт № 8), фенольний комплекс (екстракт № 9), флавоноїдний комплекс (екстракт № 10) зменшували запальну реакцію під час 1-2 години експеримента. Запалення на їх фоні склало 26-67%. 96% екстракт (екстракт № 3) зменшував запалення під час 3-4 години експеримента. Зменшення ексудації на його фоні склало 73-90%. На моделі зимозанового набряку екстракти 2 та 4 виявили антиексудативну активність, яка за виразністю дорівнювала препарату порівняння гранулам кверцетину. Слід зазначити, що на даній моделі ефективність екстрактів була меншою, ніж на моделі набряку, викликаного карагеніном.

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 рази відповідно у порівнянні з контрольною групою.

7. 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 склали 25% та 31,5% відповідно.

8. Наступним етапом ми дослідили ефект інтрагастрального 5 денного застосування 50% екстракта *S. officinalis* 50 мг/кг, комплексу фенольних сполук з L – лізином 50 мг/кг за умов дисбіотичних порушень на фоні експериментального інфекційного коліту у щурів у порівнянні з рифаксиміном. В результаті дослідження отримано наступні наукові дані: екстракти *S. officinalis* володіють антагоністичною дією щодо патогенної та умовно-патогенної мікрофлори кишечника щурів в умовах дослідження, опосередковано відновлюють показники нормофлори. Застосування рифаксиміна у дозі 10 мг/кг для лікування експериментального інфекційного коліту у щурів призводить до зниження кількості бактеріальних інфекційних агентів, але не впливає на грибки. До того ж утримує кількість нормальної мікрофлори кишечника на зниженому рівні, що не дає змогу відновити дисбіотичні розлади в повному обсязі. Встановлено пребіотичну активність у екстракта №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. Встановлено, 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. В результаті біохімічних досліджень встановлено, що на тлі експериментального коліту у щурів підтверджені 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. За ефективність дії фітоекстракт №4 був більш активним по відношенню до екстракту №2.

9. 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.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аминова М. З. Антибактериальные и противовоспалительные свойства лекарственного растения шалфей. *Фитотерапия*. 2018. № 10 (27). С. 41–55.
2. Барабой В. А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. Киев : Наук. думка, 1976. 260 с.
3. Биологическая активность соединений из растительных источников / М. Н. Ивашев и др. *Фундаментальные исследования*. 2013. № 10. С. 1482–1484.
4. Вивчення антиексудативної активності ліофілізованого екстракту з трави хамерію вузьколистого / О. М. Олещук та ін. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 55–60.
5. Вивчення антипроліферативної активності густих екстрактів листя та кореня лопуха великого / Мохамад Махмуд Ассаф та ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. № 4 (15). С. 16–18.
6. Возможность фитотерапии при заболеваниях системы пищеварения / А. В. Куркина и др. *Фармация и фармакология*. 2016. Т. 4, № 2 (15). С. 26–40.
7. Гудзь Н. І., Шанайда М. І., Дармограй Р. Є. Шавлія лікарська (*Salvia officinalis* L.): перспективи використання сировини як джерела рослинних препаратів антиоксидантної та антимікробної дії. *News of pharmacy*. 2020. № 2 (100). С. 11–19.
8. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 2–е вид., Т. 3. Харків : Держ. п–во «Науково–експертний фармакопейний центр», 2014. 732 с.
9. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид., доп. 1. Харків : Держ. п–во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

10. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.
11. Державний реєстр лікарських засобів України : Інформаційний фонд. Перелік субстанцій вітчизняного та іноземного виробництва, зареєстрованих (перереєстрованих) в Україні станом на 21.05.2020 р. / Міністерства охорони здоров'я України ; Державний реєстр лікарських засобів України ; Державне підприємство «Державний експертний центр». URL: <http://www.drlz.kiev.ua/>. (дата звернення: 25.05.2020).
12. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред.: чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ : Авіценна, 2001. 528 с.
13. Дослідження антимікробних властивостей ліофілізованого екстракту трави хамерію вузьколистого (*Chamerion angustifolium* (L.)) / Г. І. Фещенко та ін. *V національний з'їзд фармакологів України* : матеріали V нац. з'їзду фармак., 18–20 жовт. 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 130–131.
14. Дослідження гострої токсичності та протизапальної активності екстрактів трави деяких видів роду *salvia* / М. Семенченко та ін. Київ, 2013. С. 84-87.
15. Дроговоз С. М., Деримедведь С. В., Николенко В. В. Влияние противовоспалительных средств с нетрадиционным механизмом действия на экссудативную фазу воспаления. *Фізіологічно активні речовини*. 1999. № 2 (28). С. 86–89.
16. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М. : Мир, 1960. 648 с.
17. Макаренко О. М., Петров П. І., Лугіна С. В. Сучасний погляд на проблему профілактики та лікування дисбактеріозу. *Вісник ВДНЗУ*

«Українська медична стоматологічна академія». 2016. Т. 16, Вип. 2 (54). С. 294–300.

18. Марчишин С. М., Стойко Л. І. Визначення фенольних сполук у траві *Centaurium erythraea* Rafn. методом ВЕРХ. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 1. С. 15–17.

19. Методические рекомендации. Определение активности антибактериальных средств наружного применения для лечения гнойновоспалительных инфекций / сост. Н. Ф. Калениченко и др. Харьков, 1991. 16 с.

20. Методические указания по санитарно–эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов. Москва, 2011. URL: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293757/4293757373> (Дата обращения: 12.05.2015).

21. Миронова А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Москва : Гриф и К, 2012. Ч. 1. 944 с.

22. Мізюк Р. М. Дослідження протимікробної активності культивованих і дикоростучих лікарських рослин галичини відносно основних збудників гнійно–септичних інфекцій : дис. канд. мед. наук. Івано–Франківськ, 2016. 175 с.

23. Мухамед Мофтах Элаати. Микробиологическое обоснование совместного использования пробиотиков и антибиотиков при коррекции дисбактериозов кишечника : дис. канд. биол. наук. Харків, 2012. 164 с.

24. Основи фітотерапії та гомеопатії : навч. посіб. / О. І. Волошин та ін. Вижниця : Черемош, 2010. 256 с.

25. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов. Руководство по экспериментальному

- (доклинічному) изучению новых фармакологических веществ. Москва : Ремедиум, 2000. С. 349–354.
26. Особенности химического состава видов рода *Salvia L.* / В. С. Доля и др. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2013. № 3 (13). С. 83–85.
27. Патогенез, современные аспекты профилактики и терапии антибиотик–ассоциированной диареи / [М. М. Шаповалова](#) и др. *The Russian Archives of Internal Medicine*. 2018. № 6. Р. 424–429.
28. Передерий Е. А., Юнусова И. А. Изучение антимикробной активности густого экстракта листьев шалфея лекарственного в сочетании с различными веществами с целью создания лекарственного препарата для применения в гинекологии. *Аспирантский Вестник Поволжья*. 2018. № 5–6. С. 27–31.
29. Передерий Е. А., Юнусова И. А. Экспериментальное изучение противовоспалительных свойств модельных смесей густого экстракта шалфея лекарственного. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2018. Т. 17, № 3. 26–30 с.
30. Перепелиця О. О., Руденко С. С. Вміст фторидів у рослинах лучних біотопів Чернівецької області. *Вісник Запорізького національного університету*. 2007. Вип. 1. С. 159–164.
31. Перспективи створення нових оригінальних препаратів на основі субстанцій рослинного походження / О. А. Рубан та ін. *Фітотерапія. Часопис*. 2012. № 2. С. 63–65.
32. Пирс Э. Гистохимия (теоретическая и прикладная). М. : Иностр. лит., 1962. 962 с.
33. Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів" : Наказ від 5 квітня 2007

року № 167 / МОЗ. 2007. URL: <https://ips.ligazakon.net/document/MOZ6809>
(Дата звернення: 08.02.2020).

34. Прозоровский В. Б. Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентрации биологически активных веществ. Санкт–Петербург, 1992. 42 с.

35. Рыдловская А. В. Противовоспалительные свойства нового растительного препарата артрофлекс и анализ механизма его действия : автореф. дис. канд. биол. наук. Санкт-Петербург, 2007. 23 с.

36. Спиридонов А. В. Роль фитотерапии при синдроме раздраженного кишечника. *Научный альманах*. 2015. № 10. С. 72–78.

37. Спосіб одержання засобу з антимікробною активністю з цінеоловмісної рослинної сировини : пат. на винахід 89924 Україна / Кошовий О. М., Передерій Є. О., Кухтенко О. С. № а 2009 03856 ; заявл. 21.04.2009 ; опуб. 10.03.2010, Бюл. № 5. 6 с.

38. Спосіб одержання фармакологічно активної субстанції з протизапальною та антимікробною дією : пат. 122804 Україна / Марчишин С. М., Фещенко Г. І., Олещук О. М., Козир Г. Р., Ткачук Н. І., Кошова О. Ю. № и 2017 08078 ; заявл. 03.08.2017 ; опубл. 25.01.2018, Бюл. № 2.

39. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. рек. Киев : Авиценна, 2002. 528 с.

40. Сучасна фітотерапія : навч. посіб. / С. В. Гарна та ін. Харків : «Друкарня Мадрид», 2016. 580 с.

41. Тигиева З. Б. Изучение общетоксического, местнораздражающего и противовоспалительного действия мази с фитоэкстрактами. *Научные ведомости. Сер. Медицина. Фармация*. 2011. № 4 (99), вып. 13/2. С. 54–56.

42. Товстуха Є. С. Золоті рецепти української народної медицини. Київ : КМ Publishing, 2010. С. 406–407.

43. Успенский Ю. П., Фоминых Ю. А. Антибиотик–ассоциированная диарея: актуальность проблемы, профилактика и терапия. *Архивъ внутренней медицины*. 2013. № (2). С. 46–53.
44. Фармакологічне дослідження протиабрюкової активності екстрактів листя та кореня лопуха / Мохамад Махмуд Ассаф та ін. *Запорожский медицинский журнал*. 2011. Т. 13, № 3. С. 25–27.
45. Хаджиева З. Д., Лежнева Л. П., Бирюкова Д. В., Мазурина М. Н. Обоснование выбора вспомогательных веществ гелей с фитокомплексами крапивы двудомной и шалфея лекарственного. *Современные проблемы науки и образования*. 2014. № 6. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=16217> (Дата обращения: 15.05.2020).
46. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія. Київ : Вид–во А. С. К., 2003. С. 257.
47. Чекман І. С., Завалько І. В. Флавоноїди: фармакотерапевтичний аспект. *Фітотерапія. Часопис*. 2008. № 1. С. 3–11.
48. Чекман І. С., Туманов В. А., Сирова Г. О., Горчакова Н. О. Зв'язок між хімічною будовою сполук та біологічною активністю (огляд літератури). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 3. С. 4–9.
49. Чернишова О. Е. Патогенетичне обґрунтування застосування пробіотиків при антибіотикоасоційованих діареях у дітей. *Здоров'я дитини*. 2015. № 6 (66). С. 97–101.
50. Юнес Б. Роль *Clostridium difficile* в формуванні антибиотик-ассоциированной диареи у детей: дис. канд. мед. наук. Москва, 2013. 120 с.
51. 2019 update of the WSES guidelines for management of *Clostridioides* (*Clostridium*) *difficile* infection in surgical patients / M. Sartelli et al. *World J. Emerg. Surg.* 2019. № 14. Art. 8. URL: <https://wjeb.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13017-019-0228-3> (Date of access: 04.04.2019).

52. A practical guide for probiotics applied to the case of antibiotic-associated diarrhea in The Netherlands / V. Agamennone et al. *BMC Gastroenterol.* 2018. Vol. 18, № 103. URL: <https://doi.org/10.1186/s12876-018-0831-x> (Date of access: 01.02.2019).
53. Abdel-Daim A., Hassouna N., Hafez M., Ashor M. S., Aboulwafa M. M. Antagonistic activity of Lactobacillus isolates against Salmonella typhi in vitro. *Biomed Res Int.* 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/680605> (Date of access: 12.03.2019).
54. Abou Chakra C. N., Pepin J., Sirard S., Valiquette L. Risk factors for recurrence, complications and mortality in Clostridium difficile infection: a systematic review. *PLoS One.* 2014. 9. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098400> (Date of access: 10.02.2018).
55. Ahmad G., Mahdi E. Pharmacological properties of Salvia officinalis and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine.* 2017. № 7 (4). P. 433–440.
56. Alikhani M. Y., Shahcheraghi F., Khodaparast S., Mozaffari Nejad A. S., Moghadam M. K, Mousavi S. F. Molecular characterisation of Klebsiella oxytoca strains isolated from patients with antibiotic-associated diarrhoea. *Arab. J. Gastroenterol.* 2016. Vol. 17, № 2. P. 95–101.
57. American Gastroenterological Association Medical Position Statement on Constipation / American Gastroenterological Association ; A. E Bharucha et al. *Gastroenterol.* 2013. № 144. P. 211–217.
58. Anti-inflammatory and analgesic properties of salvigenin, Salvia officinalis flavonoid extracted / A. H. Mansourabadi et al. *Advanced Herbal Medicine.* 2015. Vol. 1, № 3. P. 31–41.

59. Antimicrobial activity of noncytotoxic concentrations of *Salvia officinalis* extract against bacterial and fungal species from the oral cavity / J. R. de Oliveira et al. *Gen. Dent.* 2019. Vol. 67, № 1. P. 22–26.
60. Bartfay W. J., Bartfay E., Green-Johnson J. Gram-negative and gram positive antibacterial properties of the whole plant extract of willow herb (*Epilobium angustifolium*). *Biol. Res. Nurs.* 2012. Vol. 14, № 1. P. 87–90.
61. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology / J. Vandepitte et. al. 2nd ed. Geneva : World Health Organization, 2003. 167 p.
62. Beaugerie L., Petit J. C. Antibiotic-associated diarrhoea. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* 2004. № 18 (2). P. 337–352.
63. Beheshti-Rouy M., Azarsina M., Rezaie-Soufi L. The antibacterial effect of sage extract (*Salvia officinalis*) mouthwash against *Streptococcus mutans* in dental plaque: a randomized clinical trial. *Iran J. Microbiol.* 2015. Vol. 7, № 3. P. 173–177.
64. Bioassay-guided isolation of anti-*Candida* biofilm compounds from methanol extracts of the aerial parts of *Salvia officinalis* (Annaba, Algeria) / N. Kerkoub et al. *Front. Pharmacol.* 2018. Vol. 10, № 9. P. 1418. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01418> (Date of access: 04.02.2020).
65. Bjarnason I., Scarpignato C. Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Gastroenterology.* 2018. № 154. P. 500–514.
66. Black C. J., Ford A. C. Global burden of irritable bowel syndrome: trends, predictions and risk factors. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2020. № 17 (8). P. 473–486.
67. Buono J. L., Carson R. T., Flores N. M. Health-related quality of life, work productivity, and indirect costs among patients with irritable bowel syndrome with diarrhea. *Health Qual. Life Outcomes.* 2017. № 15 (1). URL:

<https://hqlo.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12955-017-0611-2> (Date of access: 14.05.2018).

68. Butler C. C., Duncan D., Hood K. Does taking probiotics routinely with antibiotics prevent antibiotic associated diarrhoea? *BMJ*. 2012. № 344. URL: <https://doi.org/10.1136/bmj.e682> (Date of access: 17.09.2016).

69. Cai J., Zhao C., Zhang Y., Zhao M., Zhao Q. Comparative efficacy and tolerability of probiotics for antibiotic-associated diarrhea: Systematic review with network meta-analysis. *United European Gastroenterol J*. 2018. № 6. P. 169–180.

70. Carnosol and carnosic acids from *Salvia officinalis* inhibit microsomal prostaglandin E2 synthase-1 / J. Bauer et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2012. Vol. 342, № 1. P. 169–176.

71. Characterization of the Probiotic Yeast *Saccharomyces boulardii* in the Healthy Mucosal Immune System / L. E. Hudson et al. *PLoS One*. 2016. Vol. 11, № 4. e0153351. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153351> (Date of access: 16.05.2016).

72. Chatterjee S., Kar P., Das T., Ray S., Ganguly S., Rajendiran C., Mitra M. Randomised placebo-controlled double blind multicentric trial on efficacy and safety of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium* BB-12 for prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *J. Assoc. Physicians*. 2013. Vol. 61, № 10. P. 708–712.

73. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia / M. R. Khedher et al. *EXCLI J*. 2017. Vol. 16. P. 160–173.

74. Cherringtona C. A., Hintona M., Meada G. C., Choprab I. Organic Acids: Chemistry, Antibacterial Activity and Practical Applications. *Advances in Microbial Physiology*. 1991. № 32. P. 87–108.

75. Clinical T Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and

Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) / L. C. McDonald et al. *Clinical Infectious Diseases*. 2018. Vol. 66, № 7. P. e1–e48. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6018983/pdf/cix1085.pdf> (Date of access: 13.10.2019).

76. Conway P. L., Goldin B. R., Gorbach S. L. Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *J. Dairy Sci.* 1987. № 70. P. 1–12.

77. Czerucka D., Rampal P. Diversity of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 mechanisms of action against intestinal infections. *World J. Gastroenterol.* 2019. Vol. 25, № 18. P. 2188–2203.

78. Davoodabadi A., Soltan Dallal M. M., Lashani E., Tajabadi Ebrahimi M. Antimicrobial Activity of *Lactobacillus* spp. Isolated From Fecal Flora of Healthy Breast-Fed Infants Against Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Jundishapur J. Microbiol.* 2015, Vol. 8, № 12. e27852. DOI: <https://doi.org/10.5812/jjm.27852> (Date of access: 20.04.2016).

79. Deshpande A., Pasupuleti V., Thota P., Pant C., Rolston D. D., Hernandez A. V., Donskey C. J., Fraser T. G. Risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection: a systematic review and meta-analysis. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2015. Vol. 36, № 4. P. 452–460.

80. Deshpande G.C., Rao S.C., Keil A.D., Patole S.K. Evidence-based guidelines for use of probiotics in preterm neonates. *BMC Med.* 2011 Aug 2;9:92. DOI: 10.1186/1741-7015-9-92.

81. Dual-cooled solvent-free microwave extraction of *Salvia officinalis* L. essential oil and evaluation of its antimicrobial activity / Zuo-Fu Wei et al. *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 120, № 15. P. 71–76. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669018303698> (Date of access: 21.11.2018).

82. European convention for the protection of vertebrate animals used for the experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 1986. 11 p. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b> (Date of access: 13.11.2015).
83. European Pharmacopoeia. 2014. 8.0. URL: https://www.edqm.eu/medias/fichiers/index_english.pdf (Date of access: 02.10.2017).
84. European Union herbal monograph on *Salvia officinalis* L., folium / Committee on herbal medicinal products. London, 2016. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-european-union-herbal-monograph-salvia-officinalis-l-folium-revision-1_en.pdf (Date of access: 19.10.2017).
85. European Union herbal monograph on *Salvia officinalis* L., folium / European Medicines Agency (EMA). 2016 URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-monograph/final-european-union-herbal-monograph-salvia-officinalis-l-folium-revision-1_en.pdf (Date of access: 04.02.2020).
86. Evaluation of Antioxidant Activity, Toxicity, and Phenolic Profile of Aqueous Extracts of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) and Sage (*Salvia officinalis* L.) Prepared at Different Temperatures / N. S. Sotiropoulou et. al. *Appl. Sci.* 2020. Vol. 10, №7. DOI: <https://doi.org/10.3390/app10072270> (Date of access: 25.11.2020).
87. Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. / N. Martins et al. *Food Chemistry*. 2015. Vol. 170. P. 378–385.
88. Evans C. T., Johnson S. Prevention of *Clostridium difficile* Infection with Probiotics. *Clin. Infect. Dis.* 2015. Vol. 60, Suppl. 2. P. S122–S128.
89. Evans M., Salewski R., Christman M., Girard S., Tompkins T. Effectiveness of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus rhamnosus* for the management of

antibiotic-associated diarrhoea in healthy adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *British Journal of Nutrition*. 2016. Vol. 116, № 1. P. 94–103.

90. Extraction of carnosic acid and carnosol from sage (*Salvia officinalis* L.) leaves by supercritical fluid extraction and their antioxidant and antibacterial activity / V. Pavić et al. *Plants*. 2019. № 8 (1). P. 16.

91. Farooq P. D., Urrunaga N. H., Tang D. M., von Rosenvinge E. C. Pseudomembranous colitis. *Dis. Mon*. 2015. Vol. 61, № 5. P. 181–206.

92. Ford A. C., Sperber A. D., Corsetti M., Camilleri M. Irritable bowel syndrome. *Lancet*. 2020. № 396 (10263). P. 1675–1688.

93. Fox M. J., Ahuja K. D., Robertson I. K., Ball M. J., Eri R. D. Can probiotic yogurt prevent diarrhoea in children on antibiotics? A double-blind, randomised, placebo-controlled study. *BMJ Open*. 2015. Vol. 5, № 1. e006474. URL: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2014-006474> (Date of access: 16.01.2016).

94. Frändemark A., Törnblom H., Jakobsson S., Sofie Jakobsson, Magnus Simrén. Work productivity and activity impairment in irritable bowel syndrome (IBS): a multifaceted problem. *Am. J. Gastroenterol*. 2018. № 113. P. 1540–1549.

95. Gan T. J. Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. *Current Medical Research and Opinion*. 2010. Vol. 26, № 7. P. 1715–1731.

96. Ghorban A., Esmailizadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2017. Vol. 7, Iss. 4. P. 433–440. URL <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2225411017300056> (Date of access: 16.11.2017).

97. Global prevalence of irritable bowel syndrome according to Rome III or IV criteria: a systematic review and meta-analysis / P. Oka et al. *Lancet Gastroenterol. Hepatol*. 2020. № 5 (10). P. 908–917.

98. Goldenberg J. Z., Yap C., Lytvyn L., Lo C. K. F., Beardsley J., Mertz D., Johnston B. C. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006095.pub4> URL: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD006095.pub4/full> (Date of access: 15.01.2017).
99. Gorczyca P., Manniello M. NSAIDs: Balancing the Risks and Benefits. *US Pharmacist*. 2016. Vol. 41. № 3. P. 24–27.
100. Goudarzi M., Goudarzi H., Rashidan M. Probiotics: an update on mechanisms of action and clinical applications. *Novel Biomed*. 2014. Vol. 2, № 1. P. 22–30.
101. Grzegorzczak, Matkowski A., Wysokińska H. Antioxidant activity of extracts from in vitro cultures of *Salvia officinalis* L. *Food Chemistry*. Volume 104, Issue 2, 2007, P. 536-541.
102. Guo Q., Goldenberg J. Z., Humphrey C., El Dib R., Johnston B. C. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.cd004827.pub5> (Date of access:10.06.2019).
103. Herbal and plant therapy in patients with inflammatory bowel disease / A. Triantafyllidia et al. *Annals of Gastroenterology*. 2015. Vol. 28. P. 210–220.
104. Hickson M. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* infection. *Therap. Adv. Gastroenterol*. 2011. Vol. 4, № 3. P. 185–197.
105. Hummel S., Veltman K., Cichon C., Sonnenborn U., Schmidt M. A. Differential targeting of the E-cadherin/ β -catenin complex by Gram-positive probiotic lactobacilli improves epithelial barrier function. *Appl. Environ. Microbiol*. 2012. № 78. P. 1140–1147.

106. In vitro antibacterial activity of some Iranian medicinal plant extracts against *Helicobacter pylori* / M. Hajimahmoodi et al. *Nat. Prod. Res.* 2011. № 25 (11). P. 1059–1066.
107. Intestinal anti-inflammatory activity of the *Serpylli herba* extract in experimental models of rodent colitis / F. Algieri et al. *Journal of Crohn's and Colitis.* 2014. Vol. 8. P. 775–788.
108. Ivashkin V. T., Yushchuk N. D., Mayev I. V., Lapina T. L., Poluektova Ye. A., Shifrin O. S., Tertychny A. S., Trukhmanov A. S., Sheptulin A. A., Baranskaya Ye. K., Lyashenko O. S., Ivashkin K. V. Diagnostics and treatment of *Clostridium difficile*-associated disease: Guidelines of the Russian gastroenterological association. *Ross. Z. gastroenterol. Gepatol. Koloproktol.* 2016. Vol. 26, № 5. P. 56–65.
109. Jakovljevic M., Jokic S. Bioactive Profile of Various *Salvia officinalis* L. Preparations: review. *Plants.* 2019. Vol. 8, № 3. Art. 55. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants8030055>. URL: <https://www.mdpi.com/2223-7747/8/3/55> (Date of access: 17.04.2019).
110. Juszczuk K., Grudlewska K., Mikucka A., Gospodarek E. Fecal microbiota transplantation — methods of treatment of recurrent *Clostridium difficile* infections and other diseases. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine.* 2017. № 71. P. 220–226.
111. Karimzadeh S., Farahpour M.R. Topical application of *Salvia officinalis* hydroethanolic leaf extract improves wound healing process. *Indian J Exp Biol.* 2017 Feb;55(2):98-106. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30183236/> (Date of access 17.03.2017).
112. Khalil S. R. Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. *African Journal of Biotechnology.* 2011. Vol. 10, № 42. P. 8397–8402.

113. Kharazian N. Identification of flavonoids in leaves of seven wild growing *Salvia L.* (Lamiaceae) species from Iran. *Progress in Biological Sciences*. 2013. Vol. 3, № 2. P. 81–98.
114. Khare R., Upmanyu N., Jha M. Exploring the potential effect of Methanolic extract of *Salvia officinalis* against UV exposed skin aging: In vivo and In vitro model. *Curr Aging Sci*. 2019 Aug 8. DOI: 10.2174/1874609812666190808140549. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31393258/> (Date of access 25.06.2019).
115. Khedher M. R. B., Khedher S. B., Chaieb I., Tounsi S., Hammami M. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. *EXCLI J*. 2017. № 16. P. 160–173.
116. Lactobacillus rhamnosus GG modulates innate signaling pathway and cytokine responses to rotavirus vaccine in intestinal mononuclear cells of gnotobiotic pigs transplanted with human gut microbiota / H. Wang et al. *BMC Microbiol*. 2016. № 109. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0727-2>. URL: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-016-0727-2> (Date of access: 10.09.2016).
117. Lacy B. E., Mearin F., Lin Chang, Chey W. D., Lembo A. J., Simren M., Spiller R. Bowel disorders. *Gastroenterology*. 2016. Vol. 150, № 6. P. 1393–1407.
118. Larcombe S., Hutton M. L., Lyras D. Involvement of Bacteria Other Than *Clostridium difficile* in Antibiotic-Associated Diarrhoea. *Trends in Microbiology*. 2016. Vol. 24, Iss. 6. P. 463–476.
119. Lemle K. *Salvia officinalis* used in pharmaceuticals. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2018. Vol. 294, Iss. 1. URL: https://ui.adsabs.harvard.edu/link_gateway/2018MS&E..294a2037L/doi:10.1088/1757-899X/294/1/012037 (Date of access: 07.10.2019).

120. Łokieć K., Klupińska G., Walecka-Kapica E. Estimation of small intestinal bacterial overgrowth in patients with constipation and diarrhea irritable bowel syndrome. *Pol. Merkur. Lekarski*. 2014. № 36 (215). P. 307–310.
121. Mack D. R., Ahrne S., Hyde L., Wei S., Hollingsworth M. A. Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of *Lactobacillus* strains to intestinal epithelial cells in vitro. *Gut*. 2003. Vol. 52, № 6. P. 827–833.
122. Mack D. R., Michail S., Wei S., Macdougall L., Hollingsworth M. A. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *Am. J. Physiol.* 1999. № 39. P. G941–G950.
123. Maleki S. J., Crespo J. F., Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry*. 2019. № 299. P. 125–124.
124. Mark S. Riddle, Herbert L. DuPont, Bradley A. Connor. ACG Clinical Guideline: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Acute Diarrheal Infections in Adults. *Am. J. Gastroenterol.* 2016. № 111. P. 602–622.
125. McFarland L. V. Probiotics for the Primary and Secondary Prevention of *C. difficile* Infections: A Meta-analysis and Systematic Review. *Antibiotics*. 2015. Vol. 4, № 2. P. 160–178.
126. McFarland L. V., Evans C. T., Goldstein E. J. C. Strain-specificity and disease-specificity of probiotic efficacy: A systematic review and meta-analysis. *Front. Med.* 2018. № 5. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00124> URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2018.00124/full> (Date of access: 11.09.2019).
127. McFarland L. V., Huang Y., Wang L., Malfertheiner P. Systematic review and meta-analysis: Multi-strain probiotics as adjunct therapy for *Helicobacter pylori* eradication and prevention of adverse events. *United European Gastroenterol. J.* 2016. Vol. 4, № 4. P. 546–561.

128. McFarland L. V., Ozen M., Dinleyici E. C., Goh S. Comparison of pediatric and adult antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infections. *World J. Gastroenterol.* 2016. Vol. 22, № 11. P. 3078–3104.
129. McGiff J. C., Wong P.-Y. Prostaglandins and Renal Function: Implication for the Activity of Diuretic Agents. *ACS Symposium Series.* 1978. Vol. 83. P. 1–11.
130. Mills J. P., Rao K., Young V. B. Probiotics for prevention of *Clostridium difficile* infection. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2018. Vol. 34, № 1. P. 3–10.
131. Miraj S., Kiani S. A review study of therapeutic effects of *Salvia officinalis* L. *Der Pharmacia Lettre.* 2016. Vol. 8, № 6. P. 299-303. URL: <https://www.scholarsresearchlibrary.com/articles/a-review-study-of-therapeutic-effects-of-salvia-officinalis-l.pdf> (Date of access 11.12.2017).
132. Miraj, S., Kiani, S.. A review study of therapeutic effects of *Salvia officinalis* L. *Der Pharmacia Lettre.* 2016. Vol. 8, № 6. P. 299–303.
133. O’Shea E. F., Cotter P. D., Stanton C., Ross R. P., Hill C. Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid. *Int. J. Food Microbiol.* 2012. № 152. P. 189–205.
134. Pérez-Cobas A. E., Moya A., Gosalbes M. J., Latorre A. Colonization Resistance of the Gut Microbiota against *Clostridium difficile*. *Antibiotics.* 2015. № 4. P. 337–357.
135. Philpott H., Gibson P., Thien F. Irritable bowel syndrome – an inflammatory disease involving mast cells. *Asia Pac. Allergy.* 2011. № 1. P. 36–42.
136. Phytochemical Composition and Bioactive Effects of *Salvia africana*, *Salvia officinalis* 'Icterina' and *Salvia mexicana* Aqueous Extracts / A. F. Afonso et al. *Molecules.* 2019. Vol. 24, № 23. P. 4327. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules24234327> (Date of access: 22.12.2019).

137. Phytochemical composition and *in vitro* screening of the antimicrobial activity of essential oils on oral pathogenic bacteria / R. Tardugno et al. *Formerly Natural Product Letters*. 2018. Vol. 32, Iss. 5. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14786419.2017.1329730> (Date of access: 25.06.2018).
138. Phytochemistry, pharmacology and traditional uses of different *Epilobium* species (Onagraceae): A review / S. Granica et al. *J. of Ethnopharmacology*. 2014. Vol. 156, № 28. P. 316–346.
139. Pineiro M., Asp N.G., Reid G., Macfarlane S., Morelli L., Brunser O., Tuohy K. FAO Technical meeting on prebiotics. *J Clin Gastroenterol*. 2008 Sep;42 Suppl 3 Pt 2:S156-9. DOI: 10.1097/MCG.0b013e31817f184e. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18685504/> (Date of access: 13.04.2018).
140. Prevalence and Strain Characterization of *Clostridioides* (*Clostridium*) *difficile* in Representative Regions of Germany, Ghana, Tanzania and Indonesia – A Comparative Multi-Center Cross-Sectional Study / M. Seugendo et al. *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9. P. 1–7.
141. Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strains as biotherapeutic tools: is there room for improvement? / M. L. Palma et al. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2015. Vol. 99, № 16. P. 6563–6570.
142. Quigley E. M. Prucalopride: safety, efficacy and potential applications. *Ther. Adv. Gastroenterol*. 2012. № 5 (1). P. 23–30.
143. Ruiz-Mirazo K., Briones C., Escosura A. Prebiotic Systems Chemistry: *New Perspectives for the Origins of Life Chemical Reviews*. 2014. № 114 (1). P. 285–366.
144. *Salvia officinalis* L. Essential Oils from Spain: Determination of Composition, Antioxidant Capacity, Antienzymatic, and Antimicrobial Bioactivities / A.-B. Cutillas et al. *Chemistry and Biodiversity*. 2017. URL:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.201700102> (Date of access: 16.02.2018).

145. Salvia spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy / M. Sharifi-Rad et al. *Trends in Food Science & Technology*. 2018. Vol. 80. P. 242–263.

146. Satriano J. Arginine pathways and the inflammatory response: interregulation of nitric oxide and polyamines: review article. *Amino Acids*. 2004. Vol. 26, № 4. P. 321–329.

147. Segers M., Lebeer S. Towards a better understanding of Lactobacillus rhamnosus GG - host interactions. *Microb. Cell Fact.* 2014. № 13, Suppl. 1. URL: <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-13-S1-S7> (Date of access: 02.04.2015).

148. Shamnas M., Kumar R., Teotia U. Antioxidant and anti-inflammatory activity of methanol extract of Salvia officinalis flowers. *American Journal of PharmTech Research*. 2014. Vol. 4, № 2. P. 166–175.

149. Shin A., Ballou S., Camilleri M., Xu H., Lembo A. Information- and Health-care Seeking Behaviors in Patients With Irritable Bowel Syndrome. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2020. № 18 (12). P. 2840–2842.

150. Siddalinga M. S. M., Vidyasagar G. M. Medicinal plants used in the treatment of Gastrointestinal disorders in Bellary district. *Indian J. Tradit. Knowl.* 2013. Vol. 12, № 2. P. 321–325.

151. Silverman M. A., Konnikova L., Gerber J. S. Impact of Antibiotics on Necrotizing Enterocolitis and Antibiotic-Associated Diarrhea. *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 2017. Vol. 46, № 1. P. 61–76.

152. Soetan K. O., Olaiya C. O., Oyewole O. E. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *African J. of Food Science*. 2010. Vol. 4, № 5. P. 200–222.

153. Spinler Jennifer K., Ross Caná L., Savidge Tor C. Probiotics as adjunctive therapy for preventing *Clostridium difficile* infection — What are we waiting for? *Anaerobe*. 2016. № 41. P. 51–57.
154. Stier H., Bischoff S.C. Influence of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 on the gut-associated immune system. *Clin. Exp. Gastroenterol.* 2016. № 9. P. 269–279.
155. Swidsinski A., Loening-Baucke V., Schulz S., Manowsky J., Verstraelen H., Swidsinski S. Functional anatomy of the colonic bioreactor: Impact of antibiotics and *Saccharomyces boulardii* on bacterial composition in human fecal cylinders. *Syst. Appl. Microbiol.* 2016. Vol. 39, № 1. P. 67–75.
156. Szajewska H., Kołodziej M. Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children and adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015. Vol. 42, № 10. P. 1149–1157.
157. Toxic essential oils. Part V: Behaviour modulating and toxic properties of thujones and thujone-containing essential oils of *Salvia officinalis* L., *Artemisia absinthium* L., *Thuja occidentalis* L. and *Tanacetum vulgare* L. / N. S. Radulović et al. *Food and Chemical Toxicology.* 2017. Vol. 105. P. 355–369. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.044> (Date of access: 12.09.2018).
URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21806843/> (Date of access: 12.06.2014).
158. 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.* № 1. 2019. P. 31–35.
159. Volyansky Yu. L., Gritsenko I. S., Shirobokov V. P. Study of specific activity of antimicrobial drugs. Kyiv, 2004. 40 p.
160. Wagner H., Bladt S. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas.* 2nd ed. Berlin : Springer-Verlag, 1995. 384 p.

161. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants / World Health Organization. Geneva, 2009. Vol. 4. P. 343–361.
162. Williams D., Adcock L. Probiotics for Antibiotic-Associated Diarrhea and Clostridium difficile Infection: A Review of Clinical Effectiveness. Ottawa: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, 2018. 29 p.
163. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. Probiotics and prebiotics / F. Guarner et al. 2017. URL: <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english> (Date of access: 11.04.2017).
164. Zhou H., Zhang H. J., Guan L., Zhang Y. N., Li Y., Sun M. J. Mechanism and therapeutic effects of Saccharomyces boulardii on experimental colitis in mice. *Mol. Med. Rep.* 2018. Vol. 18, № 6. P. 5652–5662.
165. Zhu Y. H., Li X. Q., Zhang W., Zhou D., Liu H. Y., Wang J. F. Dose-dependent effects of Lactobacillus rhamnosus on serum interleukin-17 production and intestinal T-cell responses in pigs challenged with Escherichia coli. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. Vol. 80, № 5. P. 1787–1798.

ДОДАТКИ
Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Y.V. Verkhovodova, I.V. Kireyev, O.M. Koshovyi, T.P. Osolodchenko. In vitro antimicrobial study of new modifications of *Salvia officinalis* extracts. *Annals of Mechnikov Institute*. №1. 2019. P. 31-35. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).
2. 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*. Том 13. № 4. 2019. С. 249–254. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).
3. Verkhovodova Yu., 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; Vol.4. №301. P. 165-170. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).
4. 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. 54-68. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).
5. 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*. Том 2. № 10. 2019. С 20-24. (Брала участь у

плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).

6. 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. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).

7. 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* №4. 2019. С 38-41. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).

8. 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*. Харків: НФаУ, 2016. №1 (42). С. 51-54. (Брала участь у плануванні та проведенні експеримента, оформленні та аналізі результатів, формуванні висновків, підготовці статті).

9. 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; опубліковано 12.05.2020. Бюл. № 9. 4 с. (Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, проведенні експериментальних досліджень та оформленні патенту).

10. 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 ; опубл. 25.11.2019. Бюл. № 22. 4 с.(Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, проведені експериментальних досліджень та 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. 4 с. (Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, проведені експериментальних досліджень та 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: abstracts of XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student, April 21, 2016. Kharkiv, 2016. Vol. 2. P. 85.*

14. 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. м. Харків : НФаУ, 2018. С. 31.*

15. Миґа 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.* м. Харків, 2016. Т. 1. С. 116.
16. 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 жовтня. 2018 р., м. Харків: НФаУ, 2018. С. 66.*
17. Верховодова Ю. В. Визначення гострої токсичності похідних екстрактів шавлії лікарської (*Salvia officinalis*). *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали III Міжнародної наукової-практичної internet-конференції, м. Харків, 26-28 листопада. 2018 р. м. Харків: НФаУ, 2018. С.48.
18. Верховодова Ю. В. Вивчення впливу деяких екстрактів шавлії лікарської на діурез у щурів. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції у двох томах, м. Харків 28-29 березня 2018 р.* Харків: НФаУ, 2018. Т. 2. С. 72.
19. Verkhovodova Y. V. In vivo study of how some *Salvia officinalis* extracts affect diuresis in rats. *Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекції патологічних станів: матеріали міжвузівської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю. м. Харків, 5-6 квітня, 2019 р.* м. Харків: НФаУ, 2019. С. 9.
20. Verkhovodova Y. V. *Salvia officinalis* extracts effect on dysbiotic gut microflora. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матеріали*

XXVII Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів, м. Харків 8-10 квітня 2020 р. Харків: НФаУ, 2020. Р 63.

21. 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 інтернет-конференції з міжнародною участю*, м. Харків 21 листопада 2019 р. Харків: НФаУ, 2019. С. 49.

22. Верховодова Ю.В. Дослідження протизапальної активності екстрактів *S. Officinalis* на моделі зимозанового набряку. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: матеріали III науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю*, м. Харків 19 листопада 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 міжнародної науково-практичної internet-конференції*, м. Харків 26-27 листопада 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 міжнародної науково-практичної internet-конференції*, м. Харків 26-27 листопада 2020 року м. Харків: НФаУ, 2020. С 68.

25. Акт впровадження №1 у науково-педагогічну роботу Одеського національного медичного університету (протокол № 5 від 11 грудня 2019 р.).

26. Акт впровадження №2 у науково-педагогічну роботу Одеського національного медичного університету (протокол № 5 від 11 грудня 2019 р.).

27. Сертифікат про впровадження у реєстр *Vrupharmexport sprl* від 10.11.2019, Брюссель.

Додаток Б

Апробація результатів дисертації.

Основні положення дисертації викладені та обговорені на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях:

1. XXXII Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів», (м.Харків, 21 травня 2015 р., форма участі – усна доповідь);
2. 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., форма участі - усна доповідь);
3. VIII Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи», (м. Харків, 13-16 вересня 2016 р.,форма участі – публікація тез);
4. XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student «Topical issues of new drugs development», (Kharkiv, April 21, 2016 р., форма участі – публікація тез);
5. I Міжнародна науково-практична конференція «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів», (м. Харків, 30-31 берез. 2017 р., форма участі – усна доповідь);
6. I Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», (м. Харків, 18.10.2018 р., форма участі – усна доповідь з публікацією тез);

7. II Міжнародна науково - практична конференція «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів», (м. Харків, 28-29 берез. 2018 р., форма участі – усна доповідь з публікацією тез);
8. 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 квіт. 2018 р., форма участі – усна доповідь з публікацією тез);
9. III Міжнародна науково-практична internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин», (м. Харків, 26-28.11.2018 р., форма участі –постерна доповідь з публікацією тез);
10. II Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», (м. Харків, 21.11.2019 р., форма участі – усна доповідь з публікацією тез);
11. III Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних, і косметичних лікарських засобів», (м. Харків, 01.03.2019 р., форма участі - усна доповідь з публікацією тез);
12. II Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», (м. Харків, 21 листопада 2019 р., форма участі – усна доповідь);
13. Науково-практична міжвузівська конференція молодих учених та студентів з міжнародною участю «Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекції патологічних станів», (м. Харків, 05.04.2019 р., форма участі – публікація тез);

14. IV Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів», (м. Харків, 20 березня 2020 р., форма участі – постерна доповідь з публікацією тез);
15. XXVII Міжнародна Науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів», (м. Харків, 8-10 квітня 2020 р., форма участі – публікація тез);
16. Галузева міжвузівська конференція присвячена дню хворого, (м. Харків, 11 лютого 2020 рік, форма участі – усна доповідь);
17. III Науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», (м. Харків, 19 листопада 2020 р., форма участі – публікація тез);
18. IV Міжнародна Науково-практична internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин», (м. Харків, 26-27 листопада 2020 р., форма участі – публікація тез).





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **121367** (13) **C2**
 (51) МПК (2020.01)
A61K 36/537 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
 A61P 31/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
 ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
 СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
 УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2019 04796</p> <p>(22) Дата подання заявки: 06.05.2019</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 12.05.2020</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 25.10.2019, Бюл.№ 20</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.05.2020, Бюл.№ 9</p>	<p>(72) Винахідник(и): Кіреєв Ігор Володимирович (UA), Кошовий Олег Миколайович (UA), Верховодова Юлія Володимирівна (UA), Міга Михайло Мирославоич (UA)</p> <p>(73) Власник(и): Верховодова Юлія Володимирівна, пр. Тракторобудівника, 102, кв. 107, м. Харків, 61118 (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 92310 U, 11.08.2014 UA 110990 C2, 10.03.2016 CN 105250373 A, 20.01.2016 CN 105663312 A, 15.06.2016 RO 128710 A0, 30.08.2013 EP 2999520 A1, 30.03.2016 МИГА М.М. та ін. Фітохімічне вивчення сухого екстракту зі шроту листя шавлії лікарської після одержання етилацетатного екстракту. Фармація та фармакологія, 2015, Т. 24, № 5, С. 148 – 152 НОКЕНКОВСЬКА І.В. та ін. Шавлія лікарська – сучасні аспекти застосування (огляд літератури). Біологія та фармація, 2014, № 2, С. 58 – 61 MUNTANA FAWZI et al. Anti-inflammatory effect of sage (Salvia officinalis) extracts on oral health. Iraqi dental journal, 2017, Vol. 39, no. 1, P. 1 – 6 VALERIA DAL PRA et al. Anti-inflammatory activity of fractionated extracts of Salvia officinalis. Journal of applied pharmaceutical science, 2011, Vol. 1, no. 7, P. 67 – 71 GESSILDA ALCANTARA NOGUEIRA DE MELO et al. Anti-inflammatory activity of Salvia officinalis L. Journal of medicinal plants research, 2012, Vol. 6, no. 35, P. 4934 – 4939 АМИНОВА М.З. и др. Антибактериальные и противовоспалительные свойства лекарственного раствора шалфея. Фитотерапия, 2018, № 10 (27), С. 41 – 55</p>
--	---

UA 121367 C2

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНОГО ЗАСОБУ З ЛИСТЯ ШАВЛІЇ ЛІКАРСЬКОЇ З АНТИЕКСУДАТИВНОЮ АКТИВНІСТЮ

(57) Реферат:

UA 121367 C2

Винахід належить до способу одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим, упарювання та сушіння, винаходом передбачено, що після екстракції до об'єднаних спиртових витяжок додають розраховану кількість амінокислоти L-лізин та настоюють протягом 12 годин, упарюють до 1/20-1/22 попереднього об'єму та сушать до отримання сухого продукту.

UA 121367 C2

Винахід належить до хіміко-фармацевтичної галузі, зокрема до способів одержання біологічно активних речовин з рослинної сировини, а саме способів одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю.

5 Відомий спосіб одержання екстракту з листя шавлії лікарської [1], який вибрано за протитип, полягає у багаторазовій екстракції листя шавлії лікарської після видалення ефірної олії 50 % розчином спирту етилового у співвідношенні 1:3-1:9 при кімнатній температурі протягом доби, упарюванням одержаного рідкого екстракту до 1/20-1/22 попереднього об'єму, очищенням шляхом відстоювання та відокремлення над осадом рідчини, яку піддають стерилізації.

10 До недоліків способу можна віднести використання двох розчинників різної полярності, що в подальшому впливає на розчинність кінцевого продукту; багатостадійність та трудомісткість процесу; великі часові затрати на екстракцію; вміст етилового спирту у кінцевому продукті, що значно обмежує можливість використання цього засобу у таких груп пацієнтів, як діти, жінки у період годування груддю, вагітні, люди, які керують транспортними засобами чи працюють з потенційно небезпечними механізмами.

15 Задача винаходу є створення нового способу одержання комплексу біологічно активних речовин шляхом екстракції листя шавлії лікарської розчином спирту етилового при заданих умовах та додавання на певному етапі амінокислоти, в результаті чого одержують біологічно активну субстанцію у вигляді сухого екстракту з вираженою антиексудативною дією, яка може бути рекомендована до використання як діюча речовина у складі лікарських засобів, виконаних у різних лікарських формах і придатних до тривалого застосування внаслідок м'якої дії та високим профілем безпеки.

20 Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим, упарювання та сушіння, винаходом передбачено, що після екстракції до об'єднаних спиртових витяжок додають розраховану кількість амінокислоти L-лізину та настоюють протягом 12 годин, упарюють до 1/20-1/22 попереднього об'єму та сушать до отримання сухого продукту.

Одержаний комплекс фенольних сполук з L-лізином у вигляді мілкового порошку зручний для подальшого використання у виробництві різних лікарських форм та в процесі зберігання.

30 Заявлений спосіб одержання передбачає використання як рослинної сировини листя шавлії лікарської. Шавлія лікарська (*Salvia officinalis* L.) широко культивується в Україні ефіроолійна, лікарська та декоративна рослина [2]. Офіційною сировиною є листя шавлії лікарської. Його застосовують як в'язучу, бактерицидну і протизапальну лікарську рослинну сировину у вигляді настою, у складі грудних зборів, при захворюваннях шлунково-кишкового тракту, печінки та жовчного міхура. Відомий лактогінний ефект фітопрепаратів з шавлією.

35 Лізин (2,6-діаміногексанова кислота, α, ε - амінокапронова кислота) - одна з незамінних протеїногенних амінокислот з основними властивостями [3]. Міститься в усіх організмах у складі молекул білків і пептидів, входить до складу активних центрів ферментів. Лізин є будівельним матеріалом кров'яних тілець, вона зміцнює кровоносну систему та підтримує нормальний ріст клітин. Ця амінокислота бере участь у синтезі антитіл, гормонів, ферментів, у формуванні колагену та відновленні тканин. Лізин також знижує рівень тригліцеридів у сироватці крові. Він має протівірусну активність, особливо щодо вірусів, які викликають герпес і гострі респіраторні інфекції.

40 Введення L-лізину на одній із стадій одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської обумовлено посиленням антиексудативної активності кінцевого продукту, що підтверджено експериментальним шляхом, крім того, необхідністю покращити розчинність та технологічні властивості екстракту, що дозволяє збільшити біодоступність, посилити фармакологічну активність, зменшити вміст біологічно активних речовин в одній дозі комплексу та відповідно знизити ризик прояву побічної дії.

50 Лізин додають у трикратній еквімолярній кількості відносно до суми фенольних сполук у перерахунку на гапову кислоту у екстракті. Саме така кількість лізину забезпечує приєднання лізину до більшості вільних фенольних залишків у екстракті, що дозволяє досягти значного покращення технологічних характеристик комплексу, покращення біодоступності та значного збільшення фармакологічної ефективності.

55 Всі параметри заявленого способу визначено експериментальним шляхом з урахуванням біологічної активності одержаних комплексів, ефективності, доступності та нешкідливості реактивів, практичного відтворення способу у промислових умовах.

Винахід пояснюється прикладами.

60 Приклад 1. 1 кг подрібненого шляхом вальцювання до розмірів часток 2,5-3,0 мм сухого листя шавлії лікарської заливали 5 л 50 % розчину етилового спирту та настоювали при

UA 121367 C2

кімнатній температурі протягом 8 годин, екстракцію повторювали тричі з новою порцією екстрагенту. Одержані спиртові витяжки об'єднували. Загальний об'єм склав 12,5 л. До об'єднаних витяжок додавали 80 г амінокислоти L-лізину та настоювали 12 годин при кімнатній температурі. Після настоювання екстракт упарювали при температурі 85 °C під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 890 мм рт. ст. до об'єму водного залишку 0,7 л. Кубовий залишок являв собою густу темно-коричневу рідину, яку сушили у розпилювальній сушарці з температурою теплоносія на вході 160 °C і на виході - 85 °C до сухого екстракту.

Вихід готового продукту становить 37,7 %.

Отриманий сухий екстракт з листя шавлії лікарської містить не менше ніж 8 % поліфенольних сполук в перерахунку на галову кислоту; 0,7 % гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту; 2 % флавоноїдних сполук в перерахунку на рутин.

Приклад 2. Антиексудативну активність екстракту з листя шавлії лікарської, одержаного за заявленим способом, вивчали у дослідках на лабораторних щурах масою 150-200 г на моделі гострого запального набряку [4], викликаного субплантарним введенням в задню лапку щурів 0,1 мл 1 % водного розчину карагеніну.

В експерименті брали участь по 7 щурів в дослідних групах для кожної дози та по 5 щурів в контрольній групі і групі порівняння. Препарат порівняння диклофенак використовували у дозі 8 мг. Водний розчин одержаного комплексу фенольних сполук з L-лізином, приготованого ек тетроге, вводили в дозах 10, 20, 50, 70 мг внутрішньошлунково за 1 годину до введення карагеніну.

Вимірювання об'єму лапки здійснювали за допомогою анжметра до початку досліді і щогодини протягом 4 годин. Оцінювали ступінь пригнічення набряку в порівнянні з групою диклофенаку і контрольною групою.

Результати обробляли статистично з використанням і критерію Стюдента.

Результати дослідження наведені у таблиці 1.

Аналіз даних таблиці 1 свідчить, що комплекс фенольних сполук з L-лізином у дозі 10 мг має достовірно виражену антиексудативну активність у порівнянні з диклофенаком натрію та більшими дозами (20, 50, 70 мг).

Додавання амінокислоти L-лізину призвело до зниження ефективної дози та посилення антиексудативного ефекту.

Таблиця 1

Антиексудативна активність одержаного екстракту з листя шавлії лікарської

Група тварин	Доза, мг/кг	Антиексудативна активність, %			
		1 година	2 година	3 година	4 година
Контроль		активності не виявлено	активності не виявлено	активності не виявлено	активності не виявлено
Диклофенак натрію	8	98	79	74	93
Комплекс фенольних сполук з L-лізином	10	72	73	86	94
	20	65	55	74	81
	50	79	81	93	93
	70	69	66	82	89

Приклад 3. Нешкідливість екстракту з листя шавлії лікарської, одержаного за заявленим способом, оцінювали за рівнем гострої токсичності [5] після однократного внутрішньошлункового введення в дозах 500 мг/кг, 4000 мг/кг і 5000 мг/кг здоровим білим нелінійним мишам. Спостереження за тваринами проводили протягом 14 днів. Результати обробляли статистично.

Результати дослідження наведені у таблиці 2.

Аналіз даних таблиці 2 свідчить, що у дозі 6000 мг/кг із 6 щурів загинуло 3 щура, тобто 50 % досліджуваних тварин. Це говорить про те, що комплекс фенольних сполук з L-лізином належить до класу V практично нетоксичні речовини згідно з загальноприйнятою класифікацією за К.К. Сидоровим.

UA 121367 C2

Таблиця 2

Вивчення гострої токсичності одержаного екстракту з листя шавлії лікарської

Речовина	Доза, мг/кг		
	III Помірно токсичні	IV Малотоксичні	V Практично нетоксичні
Комплекс фенольних сполук з L-лізином	500	4000	6000
тварин в групі	6	6	6
загибло тварин	0	0	0
% загиблих тварин	0 %	0 %	50 %
Контроль	вода	вода	вода
тварин в групі	6	6	6
загибло тварин	0	0	0
% загиблих тварин	0 %	0 %	0 %

Таким чином, заявлено новий спосіб одержання безпечної фітосубстанції, а саме комплексу фенольних сполук шавлії лікарської з L-лізином з вираженою антиексудативною активністю. Спосіб є простим у відтворенні, економічним, екологічно безпечним та може бути здійснений в умовах промислового виробництва з використанням стандартного обладнання. Екстракт, одержаний за заявленим способом, проявляє виражену антиексудативну дію та низьку токсичність й є перспективним для створення нових лікарських засобів.

Джерела інформації:

1. Пат. № 92310 Україна. МПК А61К 36/537, А61Р 31/00. Спосіб одержання засобу з листя шавлії лікарської з антимікробною та протизапальною активністю / Г.В. Вовк, О.М. Кошовий, А.М. Ковальова, В.А. Рибак, А.М. Комісаренко, М.М. Мига. - № u201402605; заявл. 14.03.2014; опубл. 11.08.2014, бюл. № 11.

2. Прокопенко Т.С. Шавлія. Фармацевтична енциклопедія /ред. В.П. Черних, І.М. Перцев, Київ, 2010, С 1598.

3. Северьянова П.А., Долгинцев М.Е. Современные представления о действии аминокислоты L-лизина на нервную и иммунную регуляторные системы. Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье", 2007. № 2, С. 67-79.

4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рек. /За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Здоров'я, 2001. - С 292-306.

5. Коваленко В.М. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів /Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рек.] /В.М. Коваленко, О.В. Стефанова, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг [за ред.: член-кор. АМН України О.В. Стефанова] - К.: Авіцена, 2001. - С 74-97.

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим, упарювання та сушіння, який відрізняється тим, що після екстракції до об'єднаних спиртових витяжок додають розраховану кількість амінокислоти L-лізин та настоюють протягом 12 годин, упарюють до 1/20-1/22 попереднього об'єму та сушать до отримання сухого продукту.

Комп'ютерна верстка Л. Цванюкська

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільськогосподарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01608, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **138320** (13) **U**
 (51) МПК (2019.01)
A61K 36/537 (2006.01)
 A61P 31/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
 ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
 СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
 УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2019 04814</p> <p>(22) Дата подання заявки: 06.05.2019</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.11.2019</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.11.2019, Бюл.№ 22</p>	<p>(72) Винахідник(и): Кіреєв Ігор Володимирович (UA), Кошовий Олег Миколайович (UA), Верховодова Юлія Володимирівна (UA), Мига Михайло Мирославович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): Верховодова Юлія Володимирівна, пр. Тракторобудівників, 102, кв. 107, м. Харків, 61118 (UA)</p>
--	--

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ШАВЛІЇ ЛІКАРСЬКОЇ З АНТИЕКСУДАТИВНОЮ АКТИВНІСТЮ

(57) Реферат:

Спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим, упарювання та сушіння. Після екстракції до об'єднаних спиртових витяжок додають розраховану кількість амінокислоти L-лізину та настоюють протягом 12 годин, упарюють до 1/20-1/22 попереднього об'єму та сушать до отримання сухого продукту.

UA 138320 U

Корисна модель належить до хіміко-фармацевтичної галузі, зокрема стосується способів одержання біологічно активних речовин з рослинної сировини, а саме способів одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю.

Відомий спосіб одержання екстракту з листя шавлії лікарської [1], який є найближчим аналогом, полягає у багаторазовій екстракції листя шавлії лікарської після видалення ефірної олії 50 % розчином спирту етилового у співвідношенні 1:3-1:9 при кімнатній температурі протягом доби, упарюванням одержаного рідкого екстракту до 1/20-1/22 попереднього об'єму, очищенням шляхом відстоювання та відокремлення надосадової рідини, яку піддають стерилізації.

До недоліків способу можна віднести використання двох розчинників різної полярності, що в подальшому впливає на розчинність кінцевого продукту; багатостадійність та трудомісткість процесу; великі часові затрати на екстракцію; вміст етилового спирту у кінцевому продукті, що значно обмежує можливість використання цього засобу у таких груп пацієнтів, як діти, жінки у період годування груддю, вагітні, люди, які керують транспортними засобами чи працюють з потенційно небезпечними механізмами.

В основу корисної моделі поставлена задача створення нового способу одержання комплексу біологічно активних речовин шляхом екстракції листя шавлії лікарської розчином спирту етилового при заданих умовах та додавання на певному етапі амінокислоти, в результаті чого одержують біологічно активну субстанцію у вигляді сухого екстракту з вираженою антиексудативною дією, яка може бути рекомендована до використання як діюча речовина у складі лікарських засобів, виконаних у різних лікарських формах і придатних до тривалого застосування внаслідок м'якої дії та високим профілем безпеки.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання засобу з антиексудативною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим, упарювання та сушіння, згідно з корисною моделлю передбачено, що після екстракції до об'єднаних спиртових витяжок додають розраховану кількість амінокислоти L-лізину та настоюють протягом 12 годин, упарюють до 1/20-1/22 попереднього об'єму та сушать до отримання сухого продукту.

Одержаний комплекс фенольних сполук з L-лізином у вигляді дрібного порошку зручний для подальшого використання у виробництві різних лікарських форм та в процесі зберігання.

Заявлений спосіб одержання передбачає використання як рослину сировину листя шавлії лікарської. Шавлія лікарська (*Salvia officinalis* L.) широко культивується в Україні ефіроолійна, лікарська та декоративна рослина [2]. Офіційною сировиною є листя шавлії лікарської. Його застосовують як в'яжучу, бактерицидну і протизапальну лікарську рослину сировину у вигляді настою, у складі грудних зборів, при захворюваннях шлунково-кишкового тракту, печінки та жовчного міхура. Відомий лактогінний ефект фітопрепаратів з шавлією.

Лізин (2,6-діаміногексанова кислота, α , ϵ -амінокапронова кислота) - одна з незамінних протейногенних амінокислот з основними властивостями [3]. Міститься в усіх організмах у складі молекул білків і пептидів, входить до складу активних центрів ферментів. Лізин є будівельним матеріалом кров'яних тілець, вона зміцнює кровоносну систему та підтримує нормальний ріст клітин. Ця амінокислота бере участь у синтезі антитіл, гормонів, ферментів, у формуванні колагену та відновленні тканин. Лізин також знижує рівень тригліцеридів у сироватці крові. Він має протівірусну активність, особливо щодо вірусів, які викликають герпес і гострі респіраторні інфекції.

Введення L-лізину на одній із стадій одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської обумовлено посиленням антиексудативної активності кінцевого продукту, що підтверджено експериментальним шляхом, крім того необхідністю покращити розчинність та технологічні властивості екстракту, що дозволяє збільшити біодоступність, посилити фармакологічну активність, зменшити вміст біологічно активних речовин в одній дозі комплексу та відповідно знизити ризик прояву побічної дії.

Лізин додають у трикратній еквімолярній кількості відносно суми фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту у екстракті. Саме така кількість лізину забезпечує приєднання лізину по більшості вільних фенольних залишків у екстракті, що дозволяє досягти значного покращення технологічних характеристик комплексу, покращення біодоступності та значного збільшення фармакологічної ефективності.

Всі параметри заявленого способу визначено експериментальним шляхом з урахуванням біологічної активності одержаних комплексів, ефективності, доступності та нешкідливості реактивів, практичного відтворення способу у промислових умовах.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. 1 кг подрібненого шляхом вальцювання до розмірів часток 2,5-3,0 мм сухого листя шавлії лікарської заливали 5 л 50 % розчину етилового спирту та настоювали при кімнатній температурі протягом 6 годин, екстракцію повторювали тричі з новою порцією екстрагенту. Одержані спиртові витяжки об'єднували. Загальний об'єм склав 12,5 л. До об'єднаної витяжки додавали 80 г амінокислоти L-лізину та настоювали 12 годин при кімнатній температурі. Після настоювання екстракт упарювали при температурі 85 °C під вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 690

Спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим, упарювання та сушіння. Після екстракції до об'єднаних спиртових витяжок додають розраховану кількість амінокислоти L-лізин та настоюють протягом 12 годин, упарюють до 1/20-1/22 попереднього об'єму та сушать до отримання сухого продукту.

Спосіб одержання сухого екстракту з листя шавлії лікарської з антиексудативною активністю, що включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим, упарювання та сушіння, який **відрізняється** тим, що після екстракції до об'єднаних спиртових витяжок додають розраховану кількість амінокислоти L-лізин та настоюють протягом 12 годин, упарюють до 1/20-1/22 попереднього об'єму та сушать до отримання сухого продукту.





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122640** (13) **C2**

(51) МПК

G09B 23/28 (2006.01)**G01N 33/50** (2006.01)**C12N 1/20** (2006.01)**C12R 1/19** (2006.01)**C12R 1/49** (2006.01)**C12R 1/725** (2006.01)**G01N 33/53** (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2019 07468</p> <p>(22) Дата подання заявки: 04.07.2019</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 11.12.2020</p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: 10.12.2019, Бюл.№ 23</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 10.12.2020, Бюл.№ 23</p>	<p>(72) Винахідник(и): Кіресв Ігор Володимирович (UA), Кошовий Олег Миколайович (UA), Верховодова Юлія Володимирівна (UA), Міга Михайло Мирославович (UA), Потапов Сергій Миколайович (UA), Осолодченко Тетяна Павлівна (UA)</p> <p>(73) Володілець (володільці): Верховодова Юлія Володимирівна, пр-кт Тракторобудівників, 102, кв. 107, м. Харків, 61118 (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: RU 2477894 C1, 20.03.2013 Oka, Kentaro et al. "Establishment of an Endogenous Clostridium difficile Rat Infection Model and Evaluation of the Effects of Clostridium butyricum MIYAIRI 588 Probiotic Strain." <i>Frontiers in microbiology</i> 18 Jun. 2018vol. 9 1264, P. 1-9 Осиков М.В., Симонян Е.В., и др. Экспериментальное моделирование болезни Крона и язвенного колита. - <i>Журнал Современные проблемы науки и образования.</i> 2016, vol. № 4, С.1-9 RU 2316055 C1, 27.01.2008 RU 2604044 C1, 10.12.2016 RU 2644539 C2, 12.02.2018 UA 45593 A, 15.04.2002 UA 18233 A, 25.12.1997 UA 23932 A, 31.08.1998 UA 95224 U, 10.12.2014 EP 2876167 A1, 21.11.2013</p>
--	--

UA 122640 C2

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ КОЛІТУ З ДИСБІОТИЧНИМИ ПОРУШЕННЯМИ

(57) Реферат:

Винахід належить до способу моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями у щурів, що включає в себе імуносупресію, викликану шляхом внутрішньом'язового введення

UA 122640 C2

циклофосфаміду у дозі 0,6 мг/кг упродовж 7 днів при мікробному навантаженні per os Staphylococcus aureus, Candida albicans, Clostridium perfringens упродовж 3 днів.

UA 122640 C2

Винахід належить до медицини та патологічної фізіології, а саме стосується способів моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями тонкого і товстого кишечника у лабораторних тварин, і може бути використаний при дослідженнях патологій кишечника та вивченні ефективності лікування колітів при апробації нових лікарських препаратів.

5 Антибіотикотерапія докорінно змінила лікування бактеріальних інфекцій та врятувала значну кількість людських життів. Проте останні роки характеризуються зростанням питомої ваги небажаних ефектів антибіотикотерапії, а саме антибіотикоасоційованої діареї (AAD), дисбіозів та інших уражень кишечника. Основним потенційно загрозливим ефектом антибактеріальної терапії є AAD, викликана бактеріальною інфекцією. Оскільки антибіотики порушують якісний та
10 кількісний склад мікрофлори кишечника, що може призводити до розмноження у ньому *Clostridium difficile* та розвитку діареї. Наразі інфекція, що викликається токсигенними штамми *Clostridium difficile*, є визнаною причиною AAD у 10-30 % дітей на високому доказовому рівні в усьому світі [1]. Також, AAD етіологічно може бути пов'язана з впливом й інших мікроорганізмів: *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, а
15 також грибів роду *Candida* тощо. Дисбіотичні зміни травного каналу поглиблюють коліт, впливають на тяжкість і тривалість хвороби, негативно впливають на стан неспецифічної резистентності організму.

Тому, є нагальна потреба у розробці достовірної та легко відтворюваної моделі коліту з дисбіотичними порушеннями, яка дозволить вивчити характер змін, склад і властивості
20 кишкової мікрофлори, а також обґрунтувати раціональні підходи до лікування та корекції.

Відомі способи моделювання дисбіозу кишечника [2] у лабораторних тварин шляхом впливу антибактеріальних препаратів на кишкову мікрофлору з подальшим визначенням кількості життєздатних мікроорганізмів на початку та наприкінці досліджу. До недоліків способу можна
25 віднести те, що модель не передбачає розвиток коліту; мікробне навантаження умовно патогенною та анаеробною мікрофлорою.

Відомий спосіб моделювання виразкового коліту [3] у лабораторних тварин шляхом ректального введення 0,1 мл 6 % розчину йодацетаміду в 1 % розчині метилцелюлози. Аутопсію проводили через дві та шість годин після введення. Недоліком способу є грубий
30 вплив на слизову кишечника, що патогенетично не відтворює процес розвитку ендogenous запального процесу у відповідь на інфекцію в цілому. Крім того, модель не передбачає мікробне навантаження умовно патогенною та анаеробною мікрофлорою.

Відомий спосіб моделювання виразкового коліту [4], що передбачає двократне ректальне введення 1 мл 4,0 % розчину оцтової кислоти з інтервалом один тиждень. Формування
35 виразкового коліту спостерігають вже на третю добу від початку експерименту. Недоліком способу є недостатній рівень інформативності та відтворюваності, що впливає перш за все з недостатнього рівня селективного ураження товстої кишки оцтовою кислотою. Крім того, модель не передбачає мікробне навантаження умовно патогенною та анаеробною мікрофлорою.

Задача винаходу полягає у створенні нової моделі коліту з дисбіотичними порушеннями тонкого і товстого кишечника, який відтворює дисбіотичні порушення кишечника та запалення
40 стінки кишечника з її ушкодженням на фоні пригнічення імунної відповіді та екзогенного (per os) мікробного навантаження умовно патогенною та анаеробною флорою.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями у щурів, який включає в себе імуносупресію, винаходом
45 передбачено, що імуносупресію викликають шляхом внутрішньом'язового введення циклофосфаміду у дозі 0,6 мг/кг упродовж 7 днів при мікробному навантаженні per os *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium perfringens* упродовж 3 днів.

Використання циклофосфаміду у заданій дозі дозволяє змоделювати зниження реактивності організму та створити умови схильності до розвитку інфекції.

Запропонований спосіб дозволяє контролювано відтворювати клостридіальний коліт і його
50 ознаки, а саме, зниження захисних сил організму та інфікування умовно патогенною та патогенною мікрофлорою з подальшим розвитком запалення кишечника та дисбіотичних порушень.

Причинно-наслідковий зв'язок між суттєвими ознаками винаходу і технічним результатом полягає у тому, що при запропонованому способі моделюванні коліту визначається наявність
55 дисбіотичних порушень мікробіоти кишечника та виникає його запалення. Ці процеси можна моніторувати за допомогою посіву зразків калу на живильні середовища з подальшою мікроскопією. Також рекомендоване приготування і мікроскопія гістологічних зразків кишечника для моніторингу запального процесу.

Всі параметри заявленого способу визначені експериментальним шляхом, їх сукупність є
60 новою, не відомою з джерел інформації.

UA 122640 C2

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1. Експеримент проводили у відповідності з принципами біоетики, норм та положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та наукових цілей" (Страсбург, 1986), "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим національним конгресом біоетики (Київ, 2001).

5 Попередньо помічених нелінійних білих щурів обох статей ділили на дві групи по 7 тварин кожна: контрольну та досліджувану. Контрольна група представлена інтактними тваринами. Досліджувані тварини знаходилися у вільному доступі до води та їжі. З метою створення експериментального дисбіозу тваринам проводили імуносупресію шляхом внутрішньом'язового
10 введення циклофосфаміду у добовій дозі 0,6 мг/кг 7 днів. Екзогенне мікробне навантаження здійснювали введенням у шлунок кожної тварини досліджуваної групи, з використанням спеціальної зігнутої металеві канюлі, 1 мл суспензії, яка складалась з *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (10^9 клітин/мл), *Candida albicans* (*C. albicans*) (10^{10} клітин/мл), *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) (10^8 клітин/мл) упродовж 3 днів.

15 Наступні 5 днів розраховані на експозицію мікроорганізмів *in vivo* або для проведення лікування гіпотетичною досліджуваною субстанцією.

На 15 день усіх щурів виводили з експерименту. Евтаназію тварин здійснювали у стані наркозу ефіром шляхом дислокації шийних хребців. Для вивчення порожнинної мікрофлори збирали кал та висіювали на живильні середовища.

20 Для мікробіологічного дослідження кал збирали на 11 та 15 добу. Матеріалом для морфологічного дослідження послужили фрагменти тонкого і товстого кишечника, вирізані відразу ж після виведення тварин з експерименту.

Приклад 2. Для мікробіологічного дослідження зразки випорожнень збирали на 11 та 15 добу. Зразки змішували з 0,9 % розчином натрію хлориду та стерильною петлею висіювали на тверді живильні середовища за методом Голда.

25 Чашки Петрі з посівами ставили в термостат. Через 24 години проводили оцінку для *C. albicans*.

Для інших збудників (окрім *C. albicans* та *C. perfringens*) оцінку чашок Петрі проводили після 72 години інкубації у термостаті. Оцінювали морфологічні та культуральні властивості колоній. Готували мазки та забарвлювали за методом Грама. У світловому мікроскопі оцінювали морфологічні властивості мікроорганізмів. Результати, отримані за допомогою цього методу, дозволяли охарактеризувати кількісний та якісний склад досліджуваного зразка.

Ідентифікацію *C. perfringens* проводили шляхом використання середовища Вільсон-Блер. Через 48 годин після знаходження зразків у термостаті при наявності колоній темного кольору
35 результат вважали позитивним.

Результати дослідження наведені у таблицях 1-4.

Таблиця 1

Результати мікробіологічного дослідження зразків випорожнень на 11 добу у експериментальній групі з мікробним навантаженням

Зразок №		Загальна кількість кишкових паличок, КУО	<i>S. aureus</i>	Біфідобактерії, КУО	Лактобактерії, КУО	Кандида, КУО	Клостридії
	Нормальні показники	10^4 - 10^7	10^3 - 10^5	10^6 - 10^9	10^6 - 10^8	0- 10^3	-
1		2×10^8	1×10^6	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^4	+
2		2×10^8	1×10^6	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^4	+
3		2×10^8	1×10^7	1×10^5	$<1 \times 10^4$	10^4	+
4		2×10^8	1×10^6	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^5	+
5		2×10^8	1×10^7	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^4	+
6		2×10^8	1×10^6	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^4	+
7		2×10^8	1×10^6	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^4	+

UA 122640 C2

Таблиця 2

Результати мікробіологічного дослідження зразків випорожнень
на 15 добу у експериментальній групі з мікробним навантаженням

Зразок №		Загальна кількість кишкових паличок, КУО	S. aureus	Біфідобактерії, КУО	Лактобактерії, КУО	Кандида, КУО	Клостридії
	Нормальні показники	10^4 - 10^7	10^3 - 10^5	10^6 - 10^9	10^8 - 10^8	0 - 10^3	-
1		2×10^8	1×10^5	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^4	+
2		2×10^8	1×10^7	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^4	+
3		2×10^8	1×10^8	1×10^4	$<1 \times 10^5$	10^4	+
4		2×10^8	1×10^7	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^5	+
5		2×10^8	1×10^7	1×10^3	$<1 \times 10^5$	10^4	+
6		2×10^8	1×10^6	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^4	+
7		2×10^8	1×10^6	1×10^5	$<1 \times 10^5$	10^4	+

Таблиця 3

Результати мікробіологічного дослідження зразків випорожнень
на 11 добу у групі інтактних тварин

Зразок №		Загальна кількість кишкових паличок, КУО	S. aureus	Біфідобактерії, КУО	Лактобактерії, КУО	Кандида, КУО	Клостридії
	Нормальні показники	10^4 - 10^7	10^3 - 10^5	10^6 - 10^9	10^8 - 10^8	0 - 10^3	-
1		1×10^6	1×10^4	1×10^7	1×10^7	1×10^2	-
2		1×10^7	1×10^3	1×10^7	1×10^7	1×10^3	-
3		1×10^7	1×10^4	1×10^7	1×10^7	1×10	-
4		1×10^5	1×10^4	1×10^8	1×10^7	1×10^3	-
5		1×10^7	1×10^5	1×10^7	1×10^7	1×10^3	-
6		1×10^7	1×10^4	1×10^8	1×10^7	1×10^2	-
7		1×10^7	1×10^4	1×10^7	1×10^7	1×10^3	-

Таблиця 4

Результати мікробіологічного дослідження зразків випорожнень
на 15 добу у групі інтактних тварин

Зразок №		Загальна кількість кишкових паличок, КУО	S. aureus	Біфідобактерії, КУО	Лактобактерії, КУО	Кандида, КУО	Клостридії
	Нормальні показники	10^4 - 10^7	10^3 - 10^5	10^6 - 10^9	10^8 - 10^8	0 - 10^3	-
1		1×10^7	1×10^4	1×10^7	1×10^6	1×10^2	-
2		1×10^6	1×10^3	1×10^7	1×10^7	1×10^2	-
3		1×10^7	1×10^4	1×10^7	1×10^7	1×10^3	-
4		1×10^5	1×10^4	1×10^8	1×10^7	1×10^3	-
5		1×10^7	1×10^5	1×10^7	1×10^8	1×10^2	-
6		1×10^7	1×10^4	1×10^8	1×10^7	1×10^2	-
7		1×10^7	1×10^4	1×10^7	1×10^7	1×10^3	-

UA 122640 C2

Аналіз таблиці 1 та таблиці 2 свідчить, що у досліджуваній групі з мікробним навантаженням на 11 та 15 добу експерименту спостерігалось зменшення числа лактобактерій до $<1 \times 10^5$ КУО, біфідобактерій до 10^5 КУО; достовірне збільшення кількості умовно патогенної мікрофлори та поява патогенної мікрофлори - клостридій. Що свідчить про розвиток виражених дисбіотичних порушень. В групі інтактних тварин (таблиці 4 і 5) на 11 та на 15 добу експерименту зберігалися нормальні показники кишкової мікробіоти.

Приклад 3. Матеріалом для морфологічного дослідження послужили фрагменти тонкого і товстого кишечника, вирізані відразу ж після виведення тварин з експерименту. З фрагментів вирізали стандартні шматочки на всю товщину стінки органа, потім матеріал фіксували в 10 % водному розчині нейтрального формаліну та після спиртової проводки піддавали парафіновій проводці. Готували серійні зрізи товщиною $4-5 \times 10^{-6}$ м. Оглядові препарати, забарвлені гематоксиліном і еозином, використовували для оцінки стану досліджуваних тканин і морфологічного дослідження. Вивчення мікропрепаратів проводили на мікроскопі Olympus BX-41 з подальшим мікроскопічним фотографуванням.

Результати дослідження свідчать, що для групи інтактних тварин не характерні будь-які морфологічні зміни дистрофічного, запального або циркуляторного характеру в тонкому і товстому відділах кишечника (Фіг. 1, 2). В умовах моделі мікробного навантаження запальний процес охоплював тонкий і товстий кишечник, при цьому морфологічна картина змін була однотипною в обох відділах кишечника, характеризувалася розвитком катарально-десквамативного або ерозивно-виразкового ентероколіту. Зазначалося значне пошкодження слизової оболонки, десквамація епітелію, гіперплазія і гіпертрофія келихоподібних клітин з ознаками гіперпродукції слизу, а також утворення ерозій і виразок. Запальний процес торкався не тільки власної пластинки слизової оболонки, але також поширювався на підслизову оболонку і м'язову оболонку, що було показником тяжкого перебігу захворювання (Фіг. 3-5).

Таким чином, заявлено новий спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями тонкого і товстого кишечника у щурів. Спосіб є простим, легко відтворюваним, достовірним, а також зручним для дослідження фармацевтичних препаратів та композицій, направлених на лікування дисбіотичних та запальних порушень кишечника.

Фіг. 1. Тонкий кишечник. Гістологічна будова відповідає нормі. Епітеліальне вистилання збережене на всій ділянці. Інтактні тварини. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$.

Фіг. 2. Товстий кишечник. Гістологічна будова відповідає нормі. Інтактні тварини. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$.

Фіг. 3. У просвіті тонкого кишечника слиз і десквамований епітелій. У власній пластинці слизової оболонки набряк з вираженою запальною інфільтрацією. Модель з мікробним навантаженням. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 100$.

Фіг. 4. Товстий кишечник. В ділянці виразкового ураження слизової оболонки виражена запальна інфільтрація. Модель з мікробним навантаженням. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$.

Фіг. 5. Тонкий кишечник. Формування крипт-абсцесів. Модель з мікробним навантаженням. Забарвлення гематоксиліном і еозином, $\times 200$.

Джерела інформації:

1. Клінічні можливості застосування комплексного пробіотика "Пробіс" з метою профілактики та лікування антибіотикоасоційованої діареї та інших запальних уражень кишечника (огляд літератури) / Ю.В. Марушко, А.О. Леонов // Современная педиатрия. - 2016. - № 8 (80). - С. 123-128.

2 Патент 2477894 РФ, МКИ6 C01D 23/28. Способ моделирования дисбактериоза кишечника у лабораторных животных / Чичерин И. Ю., Ердякова А. С, Дармов И. В., Погорельский И. П., Лундовских И. А. - заявл. 05.12.2011; опубл. 20.03.2013, бюл. № 1.

3. Активність мієлопероксидази в слизовій оболонці товстої кишки щурів за умов тривалої антибіотикотерапії та при експериментальному виразковому коліті / Курочка А., Довбинчук Д. // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проблеми регуляції фізіологічних функцій. - 2013. - № 16. - С. 46-48.

4. Морфофункціональний стан ободової кишки щурів за умов дії похідних піролу на тлі експериментального коліту / Сна М., Кузнецова Г., Рибальченко В. // Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Розділ IV. Фізіологія людини і тварин. - 2015. - № 2. - С. 151-155.

UA 122640 C2

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 Спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями у щурів, що включає в себе імуносупресію, який **відрізняється** тим, що імуносупресію викликають шляхом внутрішньом'язового введення циклофосфаміду у дозі 0,6 мг/кг упродовж 7 днів при мікробному навантаженні per os *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium perfringens* упродовж 3 днів.

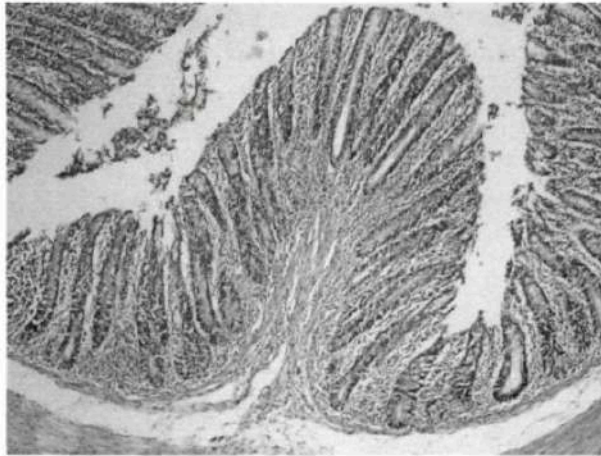


Fig.1

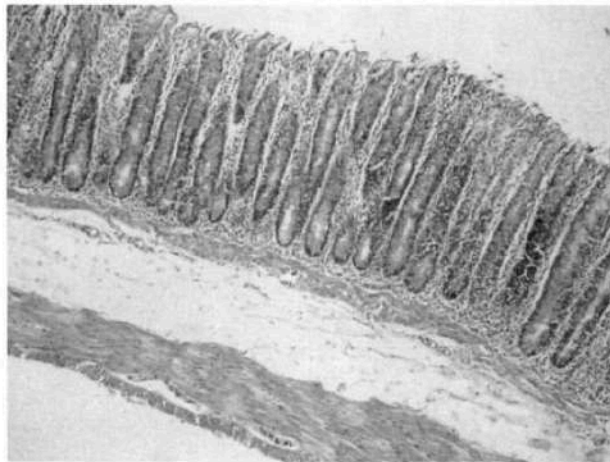
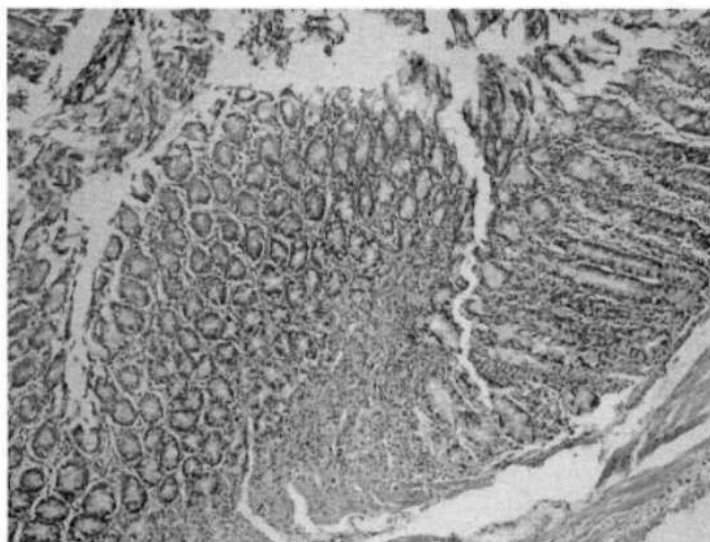
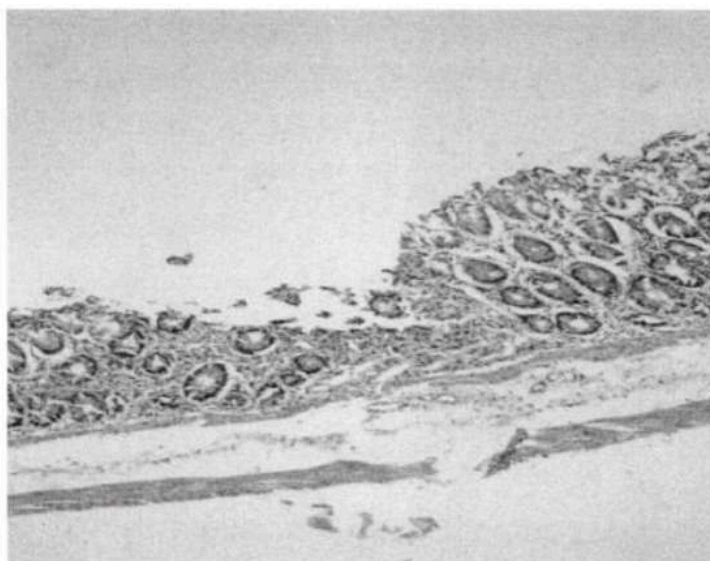


Fig.2

UA 122640 C2

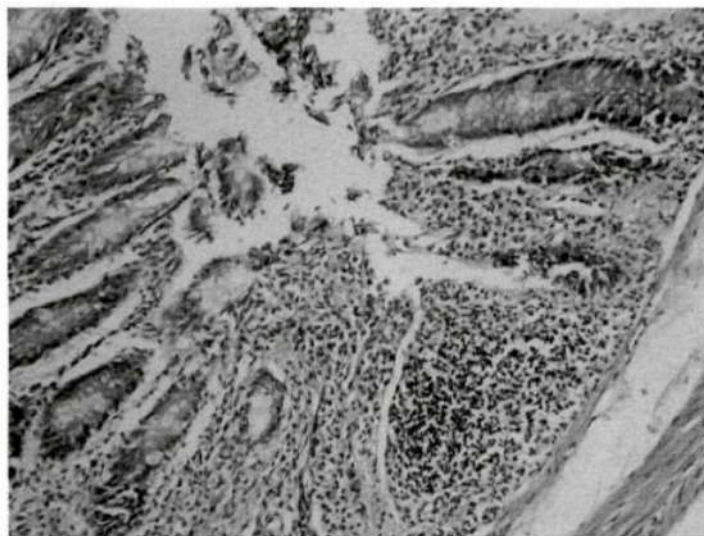


Фіг.3



Фіг.4

UA 122640 C2



Фиг.5





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **140188** (13) **U**
 (51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
 ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
 СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
 УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2019 07465</p> <p>(22) Дата подання заявки: 04.07.2019</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.02.2020</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.02.2020, Бюл.№ 3</p>	<p>(72) Винахідник(и): Кіресь Ігор Володимирович (UA), Кошовий Олег Миколайович (UA), Верховодова Юлія Володимирівна (UA), Мига Михайло Мирославович (UA), Потапов Сергій Миколайович (UA), Осолодченко Тетяна Павлівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): Верховодова Юлія Володимирівна, пр-кт Тракторобудівників, 102, кв. 107, м. Харків, 61118 (UA)</p>
---	---

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ КОЛІТУ З ДИСБІОТИЧНИМИ ПОРУШЕННЯМИ**(57) Реферат:**

Спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями у щурів включає в себе імуносупресію. Імуносупресію викликають шляхом внутрішньом'язового введення циклофосфаміду у дозі 0,6 мг/кг упродовж 7 днів при мікробному навантаженні per os (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium perfringens*) упродовж 3 днів.

UA 140188 U

Корисна модель належить до медицини та патологічної фізіології, а саме до способів моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями тонкого і товстого кишечника у лабораторних тварин, і може бути використаний при дослідженнях патологій кишечника та вивченні ефективності лікування колітів при апробації нових лікарських препаратів.

Антибіотикотерапія докорінно змінила лікування бактеріальних інфекцій та врятувала значну кількість людських життів. Проте останні роки характеризуються зростанням питомої ваги небажаних ефектів антибіотикотерапії, а саме антибіотикоасоційованої діареї (ААД), дисбіозів та інші ураження кишечника. Основним потенційно загрозливим ефектом антибактеріальної терапії є ААД викликана бактеріальною інфекцією. Оскільки антибіотики порушують якісний та кількісний склад мікрофлори кишечника, що може призводити до розмноження у ньому *Clostridium difficile* та розвитку діареї. Наразі інфекція, що викликається токсигенними штамами *Clostridium difficile*, є визнаною причиною ААД у 10-30 % дітей на високому доказовому рівні в усьому світі [1]. Також, ААД етіологічно може бути пов'язана з впливом й інших мікроорганізмів: *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, а також грибів роду *Candida* тощо. Дисбіотичні зміни травного каналу поглиблюють коліт, впливають на тяжкість і тривалість хвороби, негативно впливають на стан неспецифічної резистентності організму.

Тому, є нагальна потреба у розробці достовірної та легковідтворюваної моделі коліту з дисбіотичними порушеннями, яка дозволить вивчити характер змін, склад і властивості кишкової мікрофлори, а також обґрунтувати раціональні підходи до лікування та корекції.

Відомі способи моделювання дисбіозу кишечника [2] у лабораторних тварин шляхом впливу антибактеріальних препаратів на кишкову мікрофлору з подальшим визначенням кількості життєздатних мікроорганізмів на початку та наприкінці досліду. До недоліків способу можна віднести те, що модель не передбачає розвиток коліту; мікробне навантаження умовно патогенною та анаеробною мікрофлорою.

Відомий спосіб моделювання виразкового коліту [3] у лабораторних тварин шляхом ректального введення 0,1 мл 6 % розчину йодацетаміду в 1 % розчині метилцелюлози. Аутопсію проводили через дві та шість годин після введення. Недоліком способу є грубий хімічний вплив на слизову кишечника, що патогенетично не відтворює процес розвитку ендогенного запального процесу у відповідь на інфекцію в цілому. Крім того, модель не передбачає мікробне навантаження умовно патогенною та анаеробною мікрофлорою.

Відомий спосіб моделювання виразкового коліту [4], що передбачає двократне ректальне введення 1 мл 4,0 % розчину оцтової кислоти з інтервалом один тиждень. Формування виразкового коліту спостерігають вже на третю добу від початку експерименту. Недоліком способу є недостатній рівень інформативності та відтворюваності, що впливає перш за все з недостатнього рівня селективного ураження товстої кишки оцтовою кислотою. Крім того, модель не передбачає мікробне навантаження умовно патогенною та анаеробною мікрофлорою.

Завдання корисної моделі полягає у створенні нової моделі коліту з дисбіотичними порушеннями тонкого і товстого кишечника, який відтворює дисбіотичні порушення кишечника та запалення стінки кишечника з її ушкодженням на фоні пригнічення імунної відповіді та екзогенного (*per os*) мікробного навантаження умовно патогенною та анаеробною флорою.

Поставлене завдання вирішується таким чином, що у способі моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями у щурів, який включає в себе імуносупресію, корисною моделлю передбачено, що імуносупресію викликають шляхом внутрішньом'язового введення циклофосфаміду у дозі 0,6 мг/кг упродовж 7 днів при мікробному навантаженні *per os* *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium perfringens* упродовж 3 днів.

Використання циклофосфаміду у заданій дозі дозволяє змоделювати зниження реактивності організму та створити умови схильності до розвитку інфекції.

Запропонований спосіб дозволяє контрольовано відтворювати клостридіальний коліт і його ознаки, а саме, зниження захисних сил організму та інфікування умовно патогенною та патогенною мікрофлорою з подальшим розвитком запалення кишечника та дисбіотичних порушень.

Причинно-наслідковий зв'язок між суттєвими ознаками корисної моделі і технічним результатом полягає у тому, що при запропонованому способі моделюванні коліту визначається наявність дисбіотичних порушень мікробіоти кишечника та виникає його запалення. Ці процеси можна моніторувати за допомогою посіву зразків кала на поживні середовища з подальшою мікроскопією. Також рекомендоване приготування і мікроскопія гістологічних зразків кишечника для моніторингу запального процесу.

Всі параметри заявленого способу визначені експериментальним шляхом, їх сукупність є новою, не відомою з джерел інформації.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. Експеримент проводили у відповідності з принципами біоетики, норм та положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та наукових цілей" (Страсбург, 1986), "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах"

Спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями у щурів включає в себе імуносупресію. Імуносупресію викликають шляхом внутрішньом'язового введення циклофосфаміду у дозі 0,6 мг/кг упродовж 7 днів при мікробному навантаженні per os (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium perfringens*) упродовж 3 днів.

Спосіб моделювання коліту з дисбіотичними порушеннями у щурів, що включає в себе імуносупресію, який **відрізняється** тим, що імуносупресію викликають шляхом внутрішньом'язового введення циклофосфаміду у дозі 0,6 мг/кг упродовж 7 днів при мікробному навантаженні per os (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium perfringens*) упродовж 3 днів.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
В.о. проректора з науково-педагогічної
(учбово-методичної) роботи,
Одеського національного медичного університету
д.т.н., д.мед.н., професор Шандра О.А.
» _____ 20__ р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Результати експериментального дослідження з вивчення фармакологічної (антибактеріальної) активності фітокомплексів з шавлії лікарської.
- 2. Установа-розробник, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакотерапії, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, 61002, здобувач Верховодова Ю.В.
- 3. Джерело інформації:**
 1. Verkhovodova, Y. V. In vitro antimicrobial study of new modifications of *Salvia officinalis* extracts. / Y.V. Verkhovodovoda, I.V. Kireyev, O.M. Koshovyi, T.P. Osolodchenko // Annals of Mechnikov Institute, №1, 2019. P. 31-35.
- 4. Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії та технології ліків Одеського національного медичного університету.
- 5. Форма впровадження:** науково-дослідна і науково-педагогічна робота кафедри фармакогнозії та технології ліків Одеського національного медичного університету.
- 6. Результати впровадження:** застосування результатів наукових досліджень Верховодової Ю.В. дозволить розширити знання студентів 5 курсу (спеціалізація «Лікарські рослини і фітотерапія») про сучасні дані щодо фармакологічної (антимікробної) дії нових екстрактів шавлії лікарської.
- 7. Терміни впровадження:** 2019-2020 навчальний рік.
- 8. Зауваження та пропозиції:** немає

Розглянуто та затверджено на засіданні кафедри фармакогнозії Одеського національного медичного університету, протокол № 5 від 11 грудня 2019 р.

Відповідальний за впровадження

Зав. кафедри фармакогнозії

Одеського національного медичного університету

д.мед.наук, професор


Я.В. Рожковський

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
В.о. проректора з науково-педагогічної
(учбово-методичної) роботи,
Одеського національного медичного університету
з.д.н., д.мед.н., професор Шандра О.А.
» 20__ р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Результати експериментального дослідження з фітохімічного та фармакологічного (протизапального) вивчення фітокомплексів з шавлії лікарської.
- 2. Установа-розробник, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакотерапії, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, 61002, здобувач Верховодова Ю.В.
- 3. Джерело інформації:**
 1. Вовк Г.В. Фітохімічне та фармакологічне дослідження дистиляційної витяжки з листя шавлії лікарської. / Вовк Г.В., Мига М.М., Кошовий О.М., Верховодова Ю.В., Кіреєв І.В. // Український біофармацевтичний журнал. – Харків: НФаУ, 2016. – №1 (42). – С. 51-54
- 4. Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії та технології ліків Одеського національного медичного університету.
- 5. Форма впровадження:** науково-дослідна і науково-педагогічна робота кафедри фармакогнозії та технології ліків Одеського національного медичного університету.
- 6. Результати впровадження:** застосування результатів наукових досліджень Верховодової Ю.В. дозволить розширити знання студентів 5 курсу (спеціалізація «Лікарські рослини і фітотерапія») про сучасні дані щодо фармакологічної (протизапальної) дії шавлії лікарської та фітохімічні особливості екстрактів шавлії лікарської.
- 7. Терміни впровадження:** 2019-2020 навчальний рік.
- 8. Зауваження та пропозиції:** немає

Розглянуто та затверджено на засіданні кафедри фармакогнозії та технології ліків Одеського національного медичного університету, протокол № 5 від 11 грудня 2019 р.

Зав. кафедри фармакогнозії
Одеського національного медичного університету
д.мед.наук, професор

 Я.В. Рожковський



„APPROVED“

Chief Executive Officer
«Brupharmexport sprl»

Brussels, November 10th 2019

CERTIFICATE OF IMPLEMENTATION

The results of the research of the scientists from the National University of Pharmacy (Verkhovodova Yulia, Myha Mikhailo, Kireyev Igor and Koshovyi Oleh) were used to prepare Modules of the drug registration dossier for the medicines – *Salvia officinalis* dry extract.

Review of primary database on chemical composition, pharmacological activity and use of *Salvia officinalis* medicines in pharmaceutical and medical practice was used in the formation of The Module 2. Summary of the CTD. in the registration dossier for the medicinal product.

The results of the research were used in the elaboration of the technology of the *Salvia* leaves dry extract production on the industrial capacities of the enterprise according to the draft technological documentation. Drafts of quality control techniques for the *Salvia* dry extract have been developed, tested in the laboratory and used in the quality analysis of the extracts obtained with the industrial equipment. The obtained results were used in the development of The Module 3. Quality. in the registration dossier for the developed medicine.

The results of the preclinical research of the *Salvia* dry extract in toxicity, antimicrobial, anti-inflammatory and diuretic activity were used in the creation of The Module 4 in the registration dossier.

The research results were carried out at a high scientific level, there are no comments on their quality, reliability and reproducibility in industrial and laboratory conditions.

Chief Executive Officer

E. Vandecaeter

